本文引用:孙家珍,南燕,陈帆,等.复发性自然流产患者排卵期宫腔灌注人绒毛膜促性腺激素对子宫内膜容受性的影响[J].新乡医学院学报,2014,31(4):287-289.

【临床研究】

复发性自然流产患者排卵期宫腔灌注人绒毛膜促性腺激素对子宫内膜容受性的影响

孙家珍[1],南 燕[2],陈 帆[1],申素芳[1]
(1.新乡医学院第三附属医院生殖医学科,河南 新乡 453003;2.新乡医学院第三附属医院妇产科,河南 新乡 453003)

摘要: **目的** 观察复发性自然流产(RSA)患者宫腔灌注人绒毛膜促性腺激素(hCG)后着床窗期子宫内膜胞饮突的发育情况,探讨胞饮突的发育情况与雌二醇(E_2)及黄体酮(P)之间的关系。**方法** 53例RSA患者随机分为对照组($n=27$)和灌注组($n=26$)。灌注组于排卵前2 d及排卵日分别给予hCG 500×10^3 IU·L^{-1}宫腔灌注1次,对照组不予任何处理。2组均于排卵后第6~8天取少许子宫内膜,行扫描电镜(SEM)观察。取内膜日晨患者空腹采静脉血3 mL,检测血清E_2和P水平。**结果** 对照组和灌注组着床窗期E_2水平分别为(534.50±90.65)、(544.85±133.48)pmol·L^{-1},2组比较差异无统计学意义($P>0.05$);对照组和灌注组着床窗期P水平分别为(61.34±12.82)、(80.45±6.42)nmol·L^{-1},2组比较差异有统计学意义($P<0.05$)。对照组胞饮突成熟率为59.26%,低于灌注组的69.23%,差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** RSA患者着床窗期胞饮突发育不良,宫腔灌注hCG可使成熟期胞饮突数量增加,在一定程度上改善了子宫内膜容受性。雌激素水平与胞饮突的发育可能无直接关系。

关键词: 复发性自然流产;宫腔灌注;人绒毛膜促性腺激素;胞饮突
中图分类号: R714.21 **文献标志码:** A **文章编号:** 1004-7239(2014)04-0287-03

Effect of intrauterine infusion human chorionic gonadotrophin in ovulation on endometrial receptivity of recurrent spontaneous abortion patients

SUN Jia-zhen[1],NAN Yan[2],CHEN Fan[1],SHEN Su-fang[1]
(1. *Department of Reproductive Medicine, the Third Affiliated Hospital of Xinxiang Medical University, Xinxiang* 453003, *Henan Province, China*; 2. *Department of Obstetrics and Gynecology, the Third Affiliated Hospital of Xinxiang Medical University, Xinxiang* 453003, *Henan Province, China*)

Abstract: **Objective** To observe the development of endometrial pinopode during the implantation window of the recurrent spontaneous abortion (RSA) patients after intrauterine infusion human chorionic gonadotropin (hCG), and explore the relationship of pinopode developmental situation with estradiol (E_2) and progesterone (P). **Methods** Fifty-three RSA patients were randomly divided into control group ($n=27$) and infusion group ($n=26$). The infusion group was given intrauterine infusion hCG 500×10^3 IU·L^{-1} at 2 days before ovulation and the day of ovulation. The control group was not given any treatment. The endometrial tissue of the two groups was taken at 6-8 days after ovulation, and then was observed with scanning electron microscope (SEM). Meanwhile, 3 mL fasting venous blood was collected for detecting the concentration of E_2 and P. **Results** In the implantation window, the E_2 levels of control group and the infusion group were (534.50±90.65), (544.85±133.48) pmol·L^{-1} respectively; there was no statistic difference between the two groups ($P>0.05$). The P levels of control group and the infusion group were (61.34±12.82), (80.45±6.42) nmol·L^{-1} respectively; there was statistic difference between the two groups ($P<0.05$). The maturing rate of pinopode in control group was 59.26%, and in infusion group was 69.23%; there was statistic difference between the two groups ($P<0.05$). **Conclusions** The pinopode of the RSA patients is hypogenetic during the implantation window; intrauterine infusion hCG can increase the number of mature pinopode and improve the endometrial receptivity to some extent. There may be no direct relations between estrogen level and the development of pinopode.

Key words: recurrent spontaneous abortion; intrauterine infusion; human chorionic gonadotropin; pinopode

DOI: 10.7683/xxyxyxb.2014.04.014
收稿日期: 2014-01-13
基金项目: 新乡医学院研究生科研创新支持计划项目(编号:YJSCX201245Y)
作者简介: 孙家珍(1987-),女,河南平顶山人,硕士研究生在读,主要从事中西医结合妇产科工作。
通信作者: 申素芳(1956-),女,河南新乡人,硕士,主任医师,教授,硕士研究生导师,主要从事妇科肿瘤、微创和不孕不育等方面的研究。

复发性自然流产(recurrent spontaneous abortion,RSA)指同一性伴侣连续发生 3 次及以上的自然流产,但大多数专家认为连续发生 2 次流产即应重视并给予评估,因为其再次流产的风险与 3 次者相近[1]。本研究以 RSA 患者为研究对象,从超声、扫描电镜(scanning electron microscope,SEM)及内分泌 3 个方面了解其着床窗期子宫内膜容受性的状态,以寻找造成复发性流产的原因,为其治疗提供理论依据。

1　资料与方法

1.1　一般资料　选取新乡医学院第三附属医院 2011 年 12 月至 2013 年 6 月就诊的 RSA 患者 60 例(失访 7 例)。53 例患者随机分为 2 组,对照组 27 例,平均年龄(30.1 ±3.6)岁,不良孕产次数 2.7 ±0.8,子宫内膜厚度(9.33 ±1.83)mm;灌注组 26 例,平均年龄(29.1 ±2.8)岁,不良孕产次数 2.7 ±0.7,子宫内膜厚度(9.07 ±1.56)mm。2 组患者年龄、不良孕产次数和子宫内膜厚度比较差异无统计学意义($P>0.05$)。纳入标准:年龄 25 ~35 岁;月经周期基本正常(25 ~ 35 d);无内科并发症,经检查确诊输卵管通畅,且均已排除子宫畸形、子宫颈松弛、子宫肌瘤、染色体异常、生殖系统感染等因素;排除男方因素的影响;近 3 个月未使用过性激素类药物。全部标本采集时均知情告知并签署同意书,研究方法符合伦理学标准。

1.2　研究方法

1.2.1　超声监测及内膜标本收集　从月经第 10 天开始,连续阴道超声行卵泡监测直至排卵(如不排卵则放弃本周期检查),排卵后第 6 ~8 天为着床窗期。同时根据卵泡直径大小决定宫腔灌注人绒毛膜促性腺激素(human chorionic gonadotropin,hCG)时间。灌注组于排卵前 2 d 及排卵日分别给予 hCG 500×10^3 IU • L^{-1}子宫腔灌注 1 次,对照组不予任何处理,2 组于排卵后第 6 ~8 天用特制子宫内膜取样器抽取少许子宫内膜,将抽取的子宫内膜用生理盐水冲洗干净后,固定于 40 g • L^{-1}戊二醛溶液中储藏于 4 ℃ 冰箱待行 SEM 观察,SEM 下观察子宫内膜胞饮突的发育。

1.2.2　雌孕激素检测　2 组研究对象均于取内膜日抽肘静脉血 3 mL,离心取血清,采用全自动荧光磁微粒酶免分析系统/酶联免疫分析仪(日本,型号:AIA360)对雌二醇(estradiol,E_2)和黄体酮(progesterone,P)进行定量检测。

1.2.3　hCG 宫腔灌注方法　(1)患者取膀胱截石位,用窥器暴露宫颈;(2)用无菌棉签擦拭子宫颈外口及子宫颈管内的黏液;(3)将连接于 1 mL 注射器的人工授精导管置入子宫腔、距宫底 2 cm 处,缓慢将 hCG 注射液 0.5 mL 灌注到子宫腔内;(4)灌注 hCG 后,阴道窥器放置于原处,若无 hCG 注射液反流,5 min 后从阴道内取出窥器;(5)术后平卧休息约 10 min。

1.2.4　SEM 结果判定　根据 Stavreus 等[2]的标准:发育中胞饮突:微绒毛细长,浓密直立,其顶部膜状突起逐渐形成,并发展到整个细胞的顶部,继而微绒毛变短变少,相互融合;发育成熟胞饮突:微绒毛完全消失,膜状突起变大,高于纤毛细胞,形状如蘑菇;退化胞饮突:膜状突起萎缩,微绒毛重新出现。

1.3　统计学处理　应用 SPSS 17.0 统计分析软件进行数据分析和统计学处理,计量资料用均数 ± 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,组间比较采用 t 检验;计数资料比较采用χ^2 检验,以 $\alpha=0.05$ 为检验水准。

2　结果

2.1　2 组患者着床窗期血清 E_2、P 水平比较　对照组和灌注组患者着床窗期血清 E_2 水平分别为(534.50 ±90.65)、(544.85 ±133.48)pmol • L^{-1},2 组比较差异无统计学意义($P>0.05$);对照组和灌注组患者着床窗期血清 P 水平分别为(61.34 ±12.82)、(80.45 ±6.42)nmol • L^{-1},2 组比较差异有统计学意义($P<0.05$)。

2.2　胞饮突电镜下的观察结果　对照组发育中胞饮突 11 例,成熟胞饮突 16 例,退化胞饮突 0 例,胞饮突成熟率 59.26%;灌注组发育中胞饮突 6 例,成熟胞饮突 18 例,退化胞饮突 2 例,胞饮突成熟率 69.23%。灌注组胞饮突成熟率高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。

3　讨论

RSA 的病因复杂,包括胚胎因素、母体因素、父亲因素及环境因素等。妊娠的标志性事件是胚胎着床,而子宫内膜容受性是影响胚胎着床的重要因素[3]。hCG 既可影响子宫内膜中的血管形成,增加其渗透性和母-胎之间血液供应而有利于胚胎入侵,还可通过延迟子宫内膜蜕膜化进程及延长子宫内膜着床窗等功能,进而提高临床妊娠率。故子宫内膜

容受性的好坏可能是导致 RSA 发生的因素之一。

雌激素和孕激素可调控子宫内膜的发育，根据胚胎着床期激素的研究，孕激素作用于被雌激素激发过的子宫内膜，可提高子宫内膜容受性，为胚胎着床准备适宜的环境。本研究结果显示，灌注组和对照组着床窗期 E_2 水平比较差异无统计学意义；灌注组着床期 P 水平高于对照组，差异有统计学意义。同时灌注组的成熟胞饮突数量较多。由此可推断胞饮突的发育在一定程度上依赖孕激素水平的高低，而雌激素和孕激素的协同作用对着床窗的形成是必需的。故雌激素和孕激素水平失调可能是导致胞饮突在 RSA 患者子宫内膜表达下调的重要原因之一，从而导致流产的发生。

子宫内膜容受性又称“着床窗”，是内膜的一种状态。现已证实子宫内膜具有最佳容受性是胚胎侵入和妊娠建立的关键因素[4]，同时胞饮突的适当发育和子宫腔内膜表面胞饮突的丰富表达，均与着床成功密切相关。而成熟期胞饮突的出现标志着子宫内膜容受性已处于最佳状态[5]。本研究中灌注组成熟期胞饮突表达率为 69.23%，对照组为 59.26%，灌注组成熟期胞饮突表达率高于对照组，差异有统计学意义。当 P 水平达到 $(80.45 \pm 6.42)\ nmol \cdot L^{-1}$ 时，对成熟期胞饮突有促进作用。由此说明成熟期胞饮突的表达可能与着床成功及早期流产密切相关。

hCG 可通过与靶细胞表面的 hCG/LH 受体结合，在胚胎发育、妊娠早期黄体功能的维持及胎盘形成的过程中发挥重要的生物学作用。研究显示，hCG 是胚胎植入过程中最为密切的信号分子，具有刺激妊娠黄体形成并分泌大量的孕酮以维持妊娠的作用[6]。Licht 等[7]、王会妍等[8]研究表明宫腔内灌注 hCG $500 \times 10^3\ IU \cdot L^{-1}$ 后能够显著抑制子宫内膜中的胰岛素样生长因子结合蛋白 1（insulin-like growth factor binding protein-1，IGFBP-1）及巨噬细胞集落刺激因子（macrophage colony stimulating factor，M-CSF）的水平，从而引发其下游效应而有助于妊娠的发生。2011 年，Mansour 等[9]研究显示，胚胎移植前宫腔灌注 $500 \times 10^3\ IU \cdot L^{-1}$ hCG，可以提高胚胎植入率和妊娠率。

在 RSA 患者中，妊娠早期 hCG 能够吸引调控 T 细胞到胚胎母体的交界面上，进而增强母-胎间的免疫对话，降低早期流产率[10]。hCG 还可通过其对子宫内膜的作用，增加子宫内膜着床点的局部血管生成，以促进胚胎的成功着床[11]，从而减少早期流产的发生。本研究发现，RSA 患者宫腔灌注 hCG 后 SEM 下子宫内膜在着床窗期胞饮突的形态及数量明显优于对照组的子宫内膜，表明 hCG 对子宫内膜胞饮突的形成及表达有促进作用，这在一定程度上可改善子宫内膜的容受性，减少早期流产的发生。

参考文献：

[1] 谢幸. 妇产科学[M]. 8 版. 北京：人民卫生出版社，2013：47-51.

[2] Aghajanova L，Stavreus-Evers A，Nikas Y，*et al*. Coexpression of pinopodes and leukemia inhibitory factor，as well as its receptor，in human endometrium[J]. *Fertil Steril*，2003，79 (3)：808-814.

[3] 南燕，段予新，李玉洁. 坤泰胶囊对不孕症患者子宫内膜容受性的影响[J]. 新乡医学院学报，2012，29 (5)：384-385.

[4] Mikoajczyk M，Skrzypczak J，Wirstlein P. No correlation between pinopode formation and LIF and MMP2 expression in endometrium during implantation window[J]. *Folia Histochem Cytobiol*，2011，49 (4)：615-621.

[5] 杨海燕，林文琴，叶碧绿. 子宫内膜形态对子宫内膜容受性影响研究进展[J]. 生殖医学杂志，2010，19 (1)：67-70.

[6] Tsampalas M，Gridelet V，Berndt S，*et al*. Human chorionic gonadotropin：a hormonewith immunological and angiogenic properties[J]. *J Reprod Immunol*，2010，85 (1)：93-98.

[7] Licht P，Losch A，Dittrich R. Novel insights into human endometrial paracrinology and embryo-maternal communication by intrauterine microdialysis[J]. *Hum Reprod Update*，1998，4 (5)：532-538.

[8] 王会妍，张帅，张云山. 胚胎移植前宫腔内灌注 hCG 在 IVF-ET 中的应用及 hCG 提高种植率和妊娠率的有关机制[J]. 生殖与避孕，2012，32 (9)：593-598.

[9] Mansour R，Tawab N，Kamal O，*et al*. Intrauterine injection of human chorionic gonadotropin before embryo transfer significantly improves the implantation and pregnancy rates in in vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection：aprospective randomized study[J]. *Fertil Steril*，2011，96 (6)：1370-1374.

[10] Zhao M，Chang C，Liu Z，*et al*. Treatment with low-dose aspirin increased the level LIF and integrin β_3 expression in mice during the implantation window[J]. *Placenta*，2010，31 (12)：1101-1105.

[11] Kol S，Humaidan P. LH (as HCG) and FSH surges for final oocyte maturation：sometimes it takes two to tango[J]. *Reprod Biomed Online*，2010，21 (5)：590-592.

（本文编辑：孟　月　英文编辑：孟　月）