

A női kismedencei süllyedéssel kórképek és a stresszinkontinencia hátterének vizsgálata



Kozma Bence dr.

Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Szülészeti és Nőgyógyászati Intézet, Debrecen
(Igazgató: Prof. dr. Póka Róbert egyetemi tanár)

Témavezető: Prof. dr. Takács Péter

Az értekezés védésének időpontja: 2019. március 20.

A fokozat odaítélése az Intézmény Doktori Tanácsának döntése alapján: 2019. március 27.

A medencefenék diszfunkciói magukban foglalják az alsó húgyutak működési zavarait, a kismedencei süllyedést, a székletürítés zavarait, valamint a medencefenék funkcionális zavaraihoz köthető kismedencei fájdalmat és szexuális diszfunkciót. Ezen kórképek összesített élettartam prevalenciája a női populációban meghaladja az 50 százalékot. A medencefenék diszfunkcióinak okai multifaktoriálisak. A prolapszusok etiológiájában szerepet játszhat a hüvelyi szülés alatt létrejövő m. levator ani sérülés, amelynek vizsgálatára újabban a levator-urethra távolság mérése terjedt el az irodalomban, mint a levator avulzió kvantitatív meghatározása. Kutatásunk során a m. levator ani egy- vagy kétoldali avulziója és az egyes hüvelyi kompartmenteket érintő prolapszus, valamint a POP-Q-státusz közötti lehetséges összefüggések feltárására törekedtünk. Azt találtuk, hogy súlyosabb prolapszus esetén nagyobb eséllyel mutatható ki kétoldali levator avulzió, mint enyhébb prolapszus esetén. Emellett bizonyítottuk, hogy azon betegeknél, ahol a prolapszus mindhárom vaginális kompartmentet érinti, szintén gyakrabban fordul elő kétoldali levator avulzió, mint azoknál, ahol a prolapszus csak egy területet érint. Hasonlóan gyakrabban fordult elő kétoldali levator izom avulzió azon prolapszusoknál, amelyek az apikális kompartmentet érintik, mint azoknál, ahol a prolapszus csak a hátsó kompartmentet érinti. Eredményeink arra engednek következtetni, hogy a súlyos, több kompartmentet érintő vagy az apikális kompartmentet érintő prolapszusban szenvedő nők körében a leggyakoribb a kétoldali levator avulzió. Összefoglalásként megállapítottuk, hogy a nyugalmi helyzetben történt LUG mérésével igazolt kétoldali levator ani avulzió több kompartmentet érintő súlyosabb prolapszussal járhat együtt. Egy másik gyakori kismedencei diszfunkcionális kórkép, a stresszinkontinencia kezelésében szerepet kapnak a lézer és az alacsony energiájú rádiófrekvenciás kezelések is, amelyek közös jellemzője és fontos támadáspontja a hüvelyfalra gyakorolt hőhatás. Ennek érdekében vizsgálatunk egyik célja volt a hüvelyfali simaizomsejtek proliferációjának, valamint az elasztin- és kollagénszintek mérése hőhatás után. Megállapíthatjuk, hogy a hőkezelés egyértelműen változást okoz a hüvelyfal és a periurethrális régió simaizom-sejtjeinek extracelluláris mátrixában, az elasztin- és a kollagéntermelés fokozódik, amely felelős lehet számos innovatív kezelési lehetőség hatásáért.

Kulcsszavak: kollagén, elasztin, hüvely, hőkezelés, levator ani avulzió, levator-urethra távolság, prolapszus, transzperineális ultrahangvizsgálat

Investigation of the background of female pelvic organ prolapse and stress urinary incontinence

Pelvic floor disease is a common term for lower urinary tract dysfunction, pelvic organ prolapse, defecation disorders, chronic pelvic pain and sexual dysfunction related to pelvic floor abnormalities. The total lifetime prevalence of pelvic floor disease is more than 50 percent in the female population. Background of the disease is multifactorial. One of the risk factors is vaginal delivery itself, when the anal levator muscle itself gets compromised. Traditionally the distance between the levator and the urethra is measured to quantitatively evaluate the avulsion of the levator muscle.

In one of our studies that is summarized in this thesis we focused on the possible association between the uni- or bilateral levator muscle avulsion, prolapses of different vaginal compartments and the POPQ status of the patients. We found that

Érkezett: 2019. március 21. Közlésre elfogadva: 2019. április 17. Received: 21 March 2018 Accepted: 17 April 2019

Levelezési cím: Dr. Kozma Bence, 4032 Debrecen, Nagyerdei krt. 98., e-mail: bence.kozma@med.unideb.hu

bilateral levator muscle avulsion is more likely to be associated with severe pelvic organ prolapse. Multi compartment prolapses are also more frequently associated with bilateral levator avulsion. Patients with apical prolapses are also more likely to have bilateral levator avulsion, than those whom only suffer from posterior compartment prolapse. We found that the measurement of the levator urethra gap (LUG) at rest that refers to levator muscle avulsion might be an indicator for severe pelvic organ prolapse.

In the other study summarized in this thesis, we investigated a laboratory model for vaginal smooth muscle cell (SMC) response to heat exposure. Low frequency energy based methods by laser or radiofrequency play role in the treatment of urinary stress incontinence. The theoretical basis of these methods is the thermal effect on vaginal SMC. Our aim was to investigate the effect of heat exposure on vaginal SMC proliferation, elastin and collagen production. We found that heat exposure has a positive effect on the extracellular matrix formation of vaginal SMC, as collagen and elastin production increases but proliferation rate of the cells is not compromised.

We believe that our findings give possible background for future research on the field of urogynecology.

Keywords: collagen, elastin, vagina, heat, levator ani avulsion, levator-urethra gap, pelvic organ prolapse, transperineal ultrasound

A doktori értekezés előzményei és célkitűzései

Magyarországon, hasonlóan a fejlett országok mutatóihoz, felgyorsult a népesség előregedési folyamata. A KSH adatai szerint 2018. január 1-jén száz gyermekre 130 időskorú (65 éves és idősebb) lakos jutott. Ezzel összhangban nő a medencefeneket érintő kórképek prevalenciája. A medencefenék diszfunkciói magukban foglalják az alsó húgyutak működési zavarait, a kismencedei süllyedést (Pelvic Organ Prolapse – POP), a székletürítés zavarait, valamint a medencefenék funkcionális zavaraihoz köthető kismencedei fájdalmat és szexuális diszfunkciót. Ezen kórképek összesített élettartam prevalenciája a női populációban meghaladja az 50 százalékot. A tartósan magas egészséggel összefüggő életminőség iránti igény és az a tény, hogy a felsorolt kórképek jelentős negatív hatással bírnak az életminőség tekintetében ellentétes folyamatok, amelyek azt eredményezik, hogy az érintett nők növekvő számban fordulnak szakellátáshoz medencefenéssel összefüggő kórképek miatt.

Vizsgálataink tervezése során a női kismencedei süllyedéses kórképek és a stresszinkontinencia hátterének vizsgálatát tűztük ki célul.

A stresszinkontinencia kezelése során szerepet kapnak a lézer és az alacsony energiájú rádiófrekvenciás kezelések is, amelyek közös jellemzője és fontos támadáspontja a hüvelyfalra gyakorolt hőhatás. Hipotézisünk szerint az átadott hőhatással lehet a hüvelyfalban és a periurethrális szövetekben elhelyezkedő simaizomsejtek azon képességére, hogy megváltoztassák az extracelluláris mátrix összetételét. Ennek érdekében célunk volt a simaizomsejtek proliferációjának, valamint az elasztin- és kollagénszintek mérése hőhatás (65 °C) után.

A kismencedei süllyedéses kórképek vizsgálata során célunk a m. levator ani egy- vagy kétoldali avulziója és az egyes hüvelyi kompartmenteket érintő prolapszus, valamint a POP-Q-státusz közötti lehetséges összefüggések feltárása volt. Hipotézisünk szerint azon betegeknél, akiknél több kompartmentet érintő süllyedés és magasabb POP-Q-stádium igazolható nagyobb eséllyel mutatható ki szélesebb levator-urethra távolság (LUG) és kétoldali levator ani avulzió.

Betegadatok és módszerek

Hőhatás vizsgálata a hüvelyfali simaizomsejtek elasztin és kollagén termelésére

A hüvelyi simaizomsejtek izolálása és karakterizálása

Az elülső hüvelyfal teljes vastagságából történt mintavétel négy, POP és/vagy stresszinkontinencia (SUI) által nem érintett nőnél, akik hasi méheltávolításon estek át jóindulatú nőgyógyászati elváltozás miatt. A mintaadó páciensek előzményében nem szerepelt immunológiai vagy kötőszöveti betegség, endometriosis, és a mintavételt megelőző időszakban nem részesültek hormonterápiában, illetve nem használtak pesszáriumot. A mintavételt minden esetben megelőzte írásbeli beleegyezés. Az uterus eltávolítása után mintegy 5×5 mm-es teljes vastagságú hüvelyfaldarabok kerültek eltávolításra a hüvelycsonk területéről steril körülmények között, majd primer simaizomsejt-kultúrákat hoztunk létre az irodalomban már leírt módszert követve. A mintákat hideg DMEM/F12 oldatban (Invitrogen, Carlsbad, CA) tároltuk, amelyet előzőleg 10% FBS-sel (Fetal Bovine Serum), 1 mM glutaminnal, 0,075% Na₂HCO₃ és 100 µg/ml penicillin-streptomycin kombinációjával egészítettünk ki. Legfeljebb 4 órával a gyűjtést követően a minták a hideg tenyésztő médiumba kerültek. A fragmentumokat PBS (phosphate-buffered saline) oldatban háromszor átmostuk, majd fibronectin bevonatú műanyag edényekre (Thermo Fischer Scientific, Rochester, NY) vittük fel. A kezdeti növekedést követően a simaizomsejtek fenotípusához hasonló morfológiájú sejteket klónoztunk és szaporítottunk a sejtenyésztésben.

Nyolcclayukú fibronectinnel bevont lemezt használtunk a sejtek karakterizálására, lyukanként 5000 sejttel. A sejteket 80%-os konfluenciánál kétszer átmostuk PBS-oldattal, majd 4%-os PBA-oldatban fixáltuk 37 °C-on 30 percig. Az F-aktin rostok citoplazmán belüli eloszlásának igazolására a fixált sejteket Tryton X100 0,1%-os és Rhodamine Phalloidin oldatába helyeztük 37 °C-on 45 percen keresztül. Ezt követően a nukleinsavak festésére DAPI-tartalmú közegben kezeltük a sejteket (Vectashield, Vector Laboratories,

Burlingame, CA), és glicerínbe mérítve konfokális mikroszkóppal végeztük a képkalkotást. Emellett a 8 lyukú lemezen az immuncitokémiai festést is elvégeztük. Hidrogén-peroxid és metanol elegyével blokkoltuk az endogén peroxidáz-aktivitást, majd a sejteket előbb elsődleges egér antitestekkel, majd biotinilált egér antiimmunglobulinnal és streptavidin-biotin-peroxidáz komplexszel (LSABTM +/HRP kit, Dako, Carpinteria, CA) kezeltük. A hidrogén-peroxid jelenlétében diamino-benzidint használtunk kromogénként. A reakciókat követően hematoxinil festékekkel festettük meg a tenyészeteket. Mindegyik művelet szobahőmérsékleten (22 °C) zajlott. A simaizomsejtek azonosítására simaizomsejt elleni aktin ellenanyagokat használtunk (monoklonális egér AT, 1:250, 30 perc inkubáció, 1A4-es klón, katalógusszám: #0851, Dako, Carpinteria, CA). A caldesmon (egy kalmodulin-kötő fehérje) expressziót monoklonális egér-antitesttel vizsgáltuk, 1:100, 30 percig inkubálva (h-CD klón, katalógusszám: #M3557, Dako, Carpinteria, CA). A citokémiai festés citrát pufferben ment végbe. Negatív kontrollként egér szérumot alkalmaztunk az egérantitest helyett.

3-(4,5-Dimetiltiazol-2-yl)-2,5-difeniltetrazolium bromid – MTT) Assay

Az MTT-assay elvégzéséhez a simaizomsejt-kultúráink egy részét (negyediktől hatodik lyukig) az eredeti lemezről 96 lyukú lemezre (Costar, Cambridge, MA) vittük át 5000 sejt/lyuk mennyiségben, 200 µl-re kiegészítve DMEM/F-12 10% FBS-sel vegyített oldattal. Majd 65 °C-on 30 vagy 60 másodpercig inkubáltuk modellezve a lézerkezelés termikus hatását. Ezt követően a sejtproliferáció értékelése 3-[4,5-dimetil-tiazol-2-yl]-2,5-difenil tetrazolium-bromid (MTT) assay segítségével történt 24 és 48 óránál, a piacon elérhető MTT-assay kit (American Type Culture Collection, katalógusszám: #30-1010K, Manassas, VA) segítségével. A kezelt és a kontrollcsoport mintáinak vizsgálatát összesen a lemez 6 lyukában ismételtük. Az életképes sejtek számát 24 és 48 óránál határoztuk meg, a sejteket 1 mg/ml MTT-ben inkubáltuk 4 órán át. Az MTT-t hasznosított élő sejtek formában kristályok formájában akkumulálódtak, melyet 90% izopropil-alkohol, 2,5% SDS és 0,004 N sósav oldatában oldottunk, majd az oldat optikai denzitását 570 nm-nek mértük.

Fastin Assay Elastin kimutatásához

A vizsgálat elvégzéséhez a simaizomsejt-kultúra egy részét 96 lyukú lemezre (5000 sejt/lyuk) (Costar, Cambridge, MA) vittük át, a sejtek 200 µl 10% FBS-tartalmú DMEM/F-12 oldatban kerültek felvételre és közel 100 százalékos konfluenciáig folytattuk a tenyésztést. A felhasználandó médiumot előmelegítettük 65 °C-ra, majd a sejtekre rámérve 30 vagy 60 másodpercig termosztátba helyeztük. A kezelt és a kontrollcsoport mintáinak vizsgálatát összesen a lemez 6 lyukában ismételtük. A felülúszó és a sejtlyázatok gyűjtése a Fastin Elastin assay kezelés megkezdését követő 48 óra múlva történt. A kezelést Fastin Elastin assay kit (Biocolor Ltd, UK) végeztük a gyártó utasításainak meg-

felelően. A Fastin Elastin assay egy kvantitatív festékkötődési eljárás, ami az elasztin kimutatására szolgál biológiai mintákban. Az alkalmazott festék négyszeresen telített 5, 10, 15, 20-tetrafenil-21,23-porfirin (TPPS). A festék az emlős elasztinban található bázikus és nem poláros aminosav szekvenciákhoz kötődik. A festék-kötött elasztint minden mintából és sztenderdből egyaránt 513 nm-en mértük. Minden mérést négyszer ismételtünk. A minták összehasonlításához az elasztin mennyiségét sejtszámra normalizáltuk.

Sircol Kollagén Assay

A Sircol Assay (Biocolor Ltd., UK) is festékkötődési eljárás, amelynek célja a sav- és pepszin-oldékony kollagén molekulák kimutatása. Az assay segítségével megbecsülhető a gyors növekedési és fejlődési fázisában a kollagénszintézis sebessége. A Sircol assay in vitro sejt-kultúrában és in vitro extracelluláris mátrixban termelődött kollagén mennyiségét is képes mérni. A simaizomsejteket 96 lyukú lemezen (5000 sejt/lyuk) (Costar, Cambridge, MA) tenyésztettük, a sejtek 200 µl 10% FBS-tartalmú DMEM/F-12 oldatban kerültek felvételre és közel 100 százalékos konfluenciáig folytattuk a tenyésztést. A felhasználandó médiumot előmelegítettük 65 °C-ra, majd a sejtekre rámérve 30 vagy 60 másodpercig termosztátba helyeztük. A kezelt és a kontrollcsoport mintáinak vizsgálatát összesen a lemez 6 lyukában ismételtük. A felülúszó és a sejtlyázatok gyűjtése az assay kezelés megkezdését követő 48 óra múlva történt. A kollagén mennyiségének meghatározása Sircol kollagén assay segítségével történt, a gyártó utasításainak megfelelően. Az elhasznált médium eltávolítását követően a sejtekhez 0,5 M hideg ecetsav és 0,1 mg/ml pepszin elegyét adtuk hozzá. A kivonatokot Sirius vörös festékekkel inkubáltuk, majd detektáltuk az abszorbananciát 555 nm-en, spektrofotométer segítségével.

Speciális számítások és statisztikai feldolgozás

Az adatok feldolgozását többszemponos varianciaanalízissel végeztük (ANOVA). Szignifikánsnak tekintettük, ha $p < 0,05$. A statisztikai számításokat SigmaStat szoftverrel végeztük el (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

Levator-urethra távolság (LUG) meghatározása transperinealis 3D ultrahanggal és a különböző típusú kismedencei prolapszusok összefüggésének vizsgálata

Betegcsoport

Retrospektív kohort vizsgálatunkban 98 női páciens vett részt. A beválogatási kritériumok alapján minden páciensnek kismedencei süllyedéses panaszai voltak. Kizárásra kerültek azon esetek, ahol a dokumentáció kitöltése nem megfelelően történt és ahol a rögzített ultrahangvolumen-adatok pontos feldolgozásra nem voltak alkalmasak. A vizsgálat etikai engedéllyel rendelkezett. Minden páciens esetében megtörtént a demográfiai alapadatok, a szülészeti és sebészeti

előzmények felvétele, valamint a POP-Q-vizsgálat és a LUG mérése.

A kismedencei süllyedés mértékének megállapítása

A kismedencei süllyedés mértékének megállapítása a POP-Q-pontrendszer felvételével történt. Azon betegek kerültek a vizsgálatba bevonásra, ahol a süllyedéses panaszok mellett (pl.: kidudorodás vagy csomó érzése, illetve „valami mintha kicsúszna a hüvelyemből”) a POP-Q-vizsgálat szerint dokumentálhatóan II. vagy ennél nagyobb stádiumú anterior vagy posterior kompartmentet érintő prolapszus VAGY a hüvely teljes hosszának legalább felét meghaladó apikális süllyedés volt jelen. Az apikális prolapszus tekintetében figyelembe vettük a korábbi vizsgálatok során alkalmazott beválogatási mértéket is. Vizsgálatunk céljainak megfelelően a prolapszusokat a POP-Q-vizsgálat alapján enyhe (II. stádium) és súlyos (III. és IV. stádium) csoportokra osztottuk, valamint felosztást végeztünk aszerint is, hogy mely kompartmenteket érinti.

Ezek alapján:

- 1-es típus: csak a mellső kompartmentet érintő prolapszus,
- 2-es típus: csak a hátsó kompartmentet érintő prolapszus,
- 3-as típus: a mellső és a hátsó kompartmentet érintő prolapszus,
- 4-es típus az apikális kompartmentet, vagy apikális kompartmentet is érintő prolapszus.

A vizsgálat elsődleges célja a levator avulzió vizsgálata volt, amelyet három kategóriába soroltunk: nincs sérülés, egyoldali avulzió, illetve kétoldali avulzió.

A LUG mérése 3D Transperineális Tomografikus Ultrahangvizsgálattal

A páciensek vizsgálata hátsó kőmetező helyzetben történt. A transzducert (hasi vagy hüvelyi vizsgálófej, GE Healthcare, Voluson E8, Ausztria) a hüvelybemenethez és a külső húgycsőnyíláshoz illetve történt a leképezés, olyan módon, hogy a vizsgálófej hossz tengelye a páciens testének hossz tengelyéhez illeszkedett és a leképezés során nem gyakoroltunk nyomást a test illeszkedő területére. A volumen felvétele nyugalmi állapotban történt, mentésre került és feldolgozása később történt meg a 4D View software segítségével (Ver. 5.0 GE Medical Systems). A volumenek feldolgozása az irodalomban elfogadott módon történt. Azonosításra került az a mid-szagittális axiális sík, ahol a hiátus mérete a legkisebb és ezt a síkot használtuk a további mérések elvégzésére. Tomografikus képeket hoztunk létre ebben a síkban, valamint fölötté 2,5, illetve 5 mm-rel. A LUG mérése során a kalipert az urethra közepén helyeztük el, majd onnan mértünk a ramus pubis inferioron lévő izomtapadás legmediálisabb pontjáig. A mérést mindkét oldalon elvégeztük és rögzítettük. Bár az LUG mérésének eredeti Dietz általi leírása a mérést az izomkontrakció állapotában javasolta, az azóta megjelent közlemények szerint azonban a nyugalmi és a kontrakció során mért LUG nem különbözik egymástól.

Speciális számítások és statisztikai feldolgozás

A statisztikai számításokat minden lényeges változó esetében elvégeztük. A folyamatos változók eseteiben megtörtént az átlagok és a standard deviációk számítása. A kategorikus változók eseteiben frekvencia és százalékos arány kiszámítását végeztük el. Student-féle t-próbát használtunk két csoport közötti átlagértékek összehasonlítására. Multinominális logisztikus regressziós algoritmust (generalized logit model) használtunk a prolapszus stádiuma és típusa, valamint a levator sérülés összefüggésének vizsgálatára. A statisztikai számításokat az SAS szoftverrel végeztük (Ver. 9.4, SAS Institute Inc, Cary, NC, USA). A szignifikanciaszintet $\alpha=0,05$ határoztuk meg.

Eredmények

Hőhatás vizsgálata a hüvelyfali simaizomsejtek elasztin- és kollagéntermelésére

A hőhatás (65 °C, 30 vagy 60 másodpercig, 48 óránál mérve) nem okozott jelentős változást a hüvelyfali simaizom sejtproliferáció tekintetében (relatív sejtszám, átlag \pm SD, 0,34 \pm 0,01 vs. 0,34 \pm 0,01 vs. 0,35 \pm 0,01, $p=NS$).

Szignifikáns emelkedés volt mérhető a sejtfelszíni elasztin mennyiségét tekintve a hőhatás után 48 órával [átlag \pm SD, 30 sec 155 \pm 5% a kontrollhoz képest ($p<0,01$), illetve 60 sec 516 \pm 40% a kontrollhoz képest ($p<0,01$)].

Ugyanakkor a 60 másodperces hőhatásnak kitett sejtek esetében a kontrollhoz képest szignifikánsan kevesebb tropoelasztin volt mérhető a tenyésztő médiumban 48 óra múlva a kontrollhoz képest. 30 másodperces hőhatás esetén nem tapasztaltunk szignifikáns változást [átlag \pm SD, 30 sec 102 \pm 5% a kontrollhoz képest ($p=NS$), illetve 60 sec 70 \pm 2% a kontrollhoz képest ($p=0,04$)].

Szignifikáns emelkedés volt mérhető a sejtfelszíni kollagéntermelést tekintve a hőhatás után 48 órával [átlag \pm SD, 30 sec 170 \pm 6% a kontrollhoz képest ($p<0,01$), illetve 60 sec 123 \pm 6% a kontrollhoz képest ($p<0,01$)].

Hőhatást követően a sejtenyésző médiumba szekretált kollagén szintjében nem tapasztaltunk szignifikáns eltérést [átlag \pm SD, 30 sec 120 \pm 20% a kontrollhoz képest ($p=NS$), illetve 60 sec 100 \pm 20% a kontrollhoz képest ($p=NS$)].

Levator-urethra távolság (LUG) meghatározása transperinealis 3D ultrahanggal és a különböző típusú kismedencei prolapszusok összefüggésének vizsgálata

A vizsgálatba 98 páciens került bevonásra, akiknek prolapszussal összefüggő panaszai voltak. Átlagos életkoruk 63 év volt (\pm SD, \pm 13), átlagosan három előzményi terhességet (\pm SD, \pm 1) és három előzményi szülést (\pm SD, \pm 1) regisztráltunk. Az átlagos BMI 30-nak adódott (\pm SD, \pm 7). A beválogatott páciensek átlagos POP-stádiuma 2 volt és 40 esetben szerepelt az előzményben prolapszus ellenes műtét

vagy hysterectomia. Mind a 98 páciens klinikai vizsgálata során felvételre kerültek a POP Q-státusz koordináta pontjai.

Az prolapszusok átlagos stádiuma 2 volt. 56 páciens esetében a prolapszus csak egy hüvelyi kompartmentet érintett. 23 esetben találtunk két és 19 esetben három kompartmentet érintő süllyedést. A vizsgált mintában a leggyakrabban érintett kompartment az anterior volt. 34 nő esetében csak az anterior, míg 19 páciensnél csak a posterior kompartmentet érintette a süllyedés. 13 nőnél anterior és posterior prolapszus egyaránt jelen volt. A LUG szignifikánsan nagyobbak adódott a több kompartmentet érintő prolapszusban szenvedő páciensekben, mint az egy kompartmentre korlátozó prolapszus esetén ($28,9 \pm 4,1$ mm vs. $22,7 \pm 4,1$ mm, $p < 0,01$). Hasonlóan, súlyosabb stádiumú (3-4. stádium) prolapszus esetén az LUG szintén szignifikánsan nagyobbak adódott, mint enyhe fokú (II. stádium) esetben ($28,8 \pm 4,7$ mm vs. $23,3 \pm 4,5$ mm, $p < 0,01$). A súlyos fokú prolapszusban szenvedő páciensek esetében 32x gyakrabban fordult elő kétoldali levator avulzió mint azoknál, akinél a prolapszus enyhe stádiumú volt.

Azon pácienseknél, akiknél a prolapszus két kompartmentet is érint 6,6-szor nagyobb eséllyel mutatható ki kétoldali károsodás, mint azoknál, akiknél a prolapszus csak egy kompartmentre korlátozódik. Azon betegeknél, ahol a prolapszus mindhárom vaginális kompartmentet érinti, 75,8-szor gyakrabban fordul elő levator avulzió, mint azoknál ahol a prolapszus csak egy területet érint.

Ahogy a „Betegadatok és módszerek” fejezetben kifejtésre került a vizsgálat céljainak megfelelően felosztást végeztünk aszerint, hogy a prolapszus mely kompartmenteket érinti. Ezek alapján:

- 1-es típus: csak a mellső kompartmentet érintő prolapszus,
- 2-es típus: csak a hátsó kompartmentet érintő prolapszus,
- 3-as típus: a mellső és a hátsó kompartmentet érintő prolapszus,
- 4-es típus az apikális kompartmentet, vagy apikális kompartmentet is érintő prolapszus.

Azt találtuk, hogy az apikális régiót is érintő (4-es típus) POP-ban 8-szor nagyobb eséllyel találunk unilaterális avulziót és 57-szer nagyobb eséllyel találunk bilaterális avulziót, mint azon esetekben ahol a POP csak a posterior kompartmentet érinti (2-es típus).

Megbeszélés

A stresszinkontinencia a leggyakoribb típusú vizeletinkontinencia, amelynek oka a hasüreg átmeneti nyomásfokozódása és a vizeletkontinenciáért felelős struktúrák, úgymint a hólyagnyak, az urethra és más kismedencei struktúrák meggyengülése. A kontinens állapot megőrzéséhez elengedhetetlenül fontos a kollagén, az elasztikus kötőszövetek és az izomstruktúrák megléte és megfelelő működése, amely struktúrák az életkor előrehaladtával meggyengülnek. Az urethra kontinenciában betöltött szerepét erősíthetik a különböző energiaközlésen alapuló, szöveti feszességet előse-

gítő terápiák. Vizsgálatunk során azt találtuk, hogy a hőhatás nem okoz simaizomsejt-proliferációt, de pozitív hatással bír a kollagén- és elasztinszintézisre.

Számos közlemény foglalkozik a non-ablatív, alacsony energiájú rádiófrekvenciás kezelésekkel, a stresszinkontinencia kezelési lehetőségeiként. Ezen kezelési modalitásokat az FDA a SUI kezelésére befogadta (Renessa/Lyrette, Novasys Medical Inc., Newark, CA). A proximális urethrára gyakorolt alacsony energiájú hőhatás a periurethrális tér kis régióiban kollagén denaturációt okoz, amely a szöveti compliance változásához vezet, funkciójavulást eredményezve. A kezelés során a periurethrális szövetek hőmérséklete 65°C -ra emelkedik. Számos más olyan kezelési lehetőség került már leírásra, amelyek szintén a hüvelyfal szöveti remodelációját célozzák, úgymint az Er: YAG-lézer, a CO_2 -lézer, illetve más, rádiófrekvenciával működő kezelési megoldások. Ezek mindegyike végső soron termikus hatást vált ki mintegy 0,5 mm mélyen a hüvelyfalban.

Vizsgálataink során azt találtuk, hogy a szövetet 65°C -ra melegítő 30, illetve 60 másodpercig tartó hőhatás nem okoz proliferációt a hüvelyfali simaizomsejtekben. Az MTT assay-t 48 órával a hőhatás után végezve azt tapasztaltuk, hogy nem volt szignifikáns különbség a hőhatásnak kitett és a kontrollsejtek életképessége között. Eredményeink azt sugallják, hogy a hüvelyfali szövetek egy perccig, vagy kevesebb ideig tartó, 65°C -ra történő melegítésének nincs negatív hatása a sejtek életképességére. Ugyanakkor megjegyzendő, hogy a simaizomtól eltérő sejtek, mint pl. az idegsejtek, sokkal szenzitívebbek lehetnek a hőhatásra. Megvizsgáltuk a hőhatásnak kitett simaizomsejtek kollagén és elasztin szintézisét is. Mindkét sejt kultúrában vizsgálva a sejt felszíni és a médiumban lévő elasztin és kollagén mennyiségét megállapítottuk, hogy a hő hatására az elasztin szintje mindkét esetben szignifikánsan emelkedik. Hatvan másodperccel a hőhatás után már mintegy ötszörös elasztintermelődést mértünk (sejtszámra normalizálva). Ezzel ellentétben a tropoelasztin esetén nem láttunk hasonló emelkedést a médiumban a hőhatás után: a tropoelasztin-produkció 30 százalékkal csökkent. Ez valószínűleg azzal a ténnyel magyarázható, hogy a simaizomsejtek elasztintermelése inkább sejt felszíni elasztinban valósul meg. A kollagéntermelés vizsgálata során a hőhatás után szignifikánsan magasabb értékeket találtunk a hüvelyfali simaizomsejt-lizátumokban a kontrollhoz képest. Mind 30, mind 60 másodperces hőkezelés után szignifikánsan magasabb kollagéntartalmat mértünk. A hőhatás ugyanakkor nem befolyásolta a szekretált kollagén mértékét a kontrollhoz képest.

Ismereteink szerint munkacsoportunk elsőként vizsgálta a hőkezelés hatását a hüvelyfali simaizomsejtekre. Eredményeink alátámasztják a hipotézist, miszerint a hüvelyfal hőkezelése pozitív hatással bír a hüvelyfal szöveti remodelációjára, az elasztin- és a kollagéntermelés fokozása, így a kötőszövet strukturális változásán keresztül. A hőhatás leginkább a sejt felszíni elasztin- és kollagéntermelésre van hatással, amely azt sugallja, hogy az újonnan képződő extracelluláris mátrix molekulák a hüvelyfali simaizomsejtek közvetlen környezetében maradnak.

Vizsgálatunk korlátai között említendő a kutatás in vitro természetűe és a kis mintaszám. A statikus környezet és az egyszerűsített laboratóriumi modell természetűen nem képes pontosan modellezni a hüvelyfal és urethra komplex in vivo környezetét. Emellett vizsgálatunkban a tropoelasztin mérése történt (az érett insolubilis elasztin indirekt meghatározásaként) és nem vizsgáltunk más degradációs folyamatokat a különböző matrix metalloproteáz-expressziók mérése által. Az érett elasztin és kollagén meghatározása az extracelluláris mátrixba szekretált tropoelasztin és tropokollagén vizsgálatokból retrospektíven történt. Ebben a sejtkultúrában az újonnan képződött tropoelasztin és tropokollagén gyűjtése a tápoldatból történt, ugyanakkor az érett formák a tenyésztőlemezeken találhatóak. A hőmérséklet pontos beállítása és a két expozíciós idő kiválasztásánál a korábban az FDA által is elfogadott kezelési modalitást vettük figyelembe.

A hüvelyfali simaizomsejtekre gyakorolt hőkezelés vizsgálatát követően megállapíthatjuk, hogy a hőkezelés egyértelműen változást okoz a hüvelyfal és a periurethrális régió extracelluláris mátrixában, amely felelős lehet számos innovatív kezelési lehetőség hatásáért. A kezelés hosszú távú hatásai nem ismertek. További in vitro és in vivo vizsgálatok szükségesek ahhoz, hogy teljesen megértsük a hőhatásra alapozott újabb kezelési lehetőségek hatásmechanizmusát és lehetséges mellékhatásait.

A vizeletinkontinenciához hasonlóan a kismedencei süllyedéses kórképek szintén gyakoriak és az életminőség jelentős romlását eredményezhetik az érintett páciensek körében. A sebészi kezelést igénylő prolapszusok élettartam prevalenciája 11% körüli, míg a prolapszusellenes műtétek utáni kiújulás valószínűsége eléri a 30%-ot. A magas kiújulási ráta szükségessé teszi olyan új diagnosztikus eljárások bevezetését, amelyek növelhetik a műtétes korrekciók tartósságának esélyét.

Vizsgálatunk célja a levator-urethra távolság (Levator-urethra gap – LUG) meghatározása volt transperinealis 3D ultrahang segítségével különböző típusú kismedencei prolapszusokban, valamint a prolapszus és a levator avulzió esetleges összefüggéseinek feltárása. Azt találtuk, hogy súlyosabb prolapszus esetén nagyobb eséllyel mutatható ki kétoldali levator avulzió, mint enyhébb prolapszus esetén. Emellett bizonyítottuk, hogy azon betegeknél, ahol a prolapszus mindhárom vaginális kompartmentet érinti, szintén gyakrabban fordul elő kétoldali levator avulzió, mint azon betegeknél, ahol a prolapszus csak egy területet érint. Hasonlóan gyakrabban fordult elő kétoldali levator izom avulzió azon prolapszusoknál, amelyek az apikális kompartmentet érintik, mint azoknál, ahol a prolapszus csak a hátsó kompartmentet érinti. Eredményeink arra engednek következtetni, hogy a súlyos, több kompartmentet érintő vagy az apikális kompartmentet érintő prolapszusban szenvedő nők körében a leggyakoribb a kétoldali levator avulzió. Klinikailag ezen prolapszusok megoldása gyakran a legnehezebb, ugyanakkor még adekvát terápia után is ezen prolapszusok kiújulása történik meg legnagyobb eséllyel. Ezen prolapszusok operatív megoldásai utáni ismételt kiújulásában – véleményünk szerint – nagy szerepe van an-

nak, hogy a primer műtét előtt a levator avulzió nem kerül felismerésre és a primer műtét során annak korrekciója nem történik meg. A levator izomkomplexen tátongó szélesebb nyílás miatt a műtéti területet ellenállás nélküli nyomás éri a hasüreg felől, amely komoly szerepet játszhat a rosszabb műtéti eredményekben. Hasonlóan a mi eredményeinkhez, más munkacsoportok arra a következtetésre jutottak, hogy azon nőknél, akiknél levator avulzió kimutatható kétszer nagyobb eséllyel diagnosztizálható 2. vagy magasabb stádiumú prolapszus, mint azoknál, akiknél nincs avulzió. Az avulzió eredményeképpen megnő a cystokele és az uterovaginalis prolapszus esélye is. Az MR- vagy ultrahangvizsgálat során felismert pubovisceralis avulziók nemcsak magasabb stádiumú prolapszussal hozhatóak összefüggésbe, de ezen esetekben gyakoribb a prolapszus kiújulása a prolapszusellenes műtétek után is. A kismedencei süllyedés műtét utáni kiújulásának esélye akkor a legkisebb (mintegy 11%), ha a betegség és így a műtétes megoldás is csak a hátsó kompartmentet érintette. Ugyanakkor a legnagyobb eséllyel (mintegy 52%-ban) azon esetekben újul ki a kórkép a műtét után, ha a süllyedés levator avulzióval is társult. Ezzel egybecsengően vizsgálatunk során megállapítottuk, hogy az izolált hátsó kompartment süllyedésekkel jár együtt legkisebb eséllyel a levator avulzió. Valószínűsíthető, hogy a hátsó kompartment műtétei után észlelt alacsony kiújulási ráta részben a levator avulzió meglétének alacsony esélyével magyarázható.

Vizsgálatunk interpretációjánál számos korlátozó tényezővel néztünk szembe. A viszonylag kis mintaszám mellett megjegyzendő, hogy a fizikális vizsgálatot nyugalmi helyzetben végeztük, míg a POP-Q-státusz eredeti leírásában a koordináták felvétele maximális Valsalva-manőver mellett történt. Ugyanakkor Dietz és munkatársai mértékadó közleményükben bizonyították, hogy a nyugalmi helyzet nem befolyásolja a levator defektusok diagnosztizálásának esélyét, így a LUG mérése céljából történő volumen felvétele nyugalmi helyzetben is történhet. Fontos körülmény, hogy vizsgálatunkba csak olyan páciensek kerültek bevonásra, akik süllyedéses tüneteket panasztak és a kismedencei süllyedés a fizikális vizsgálat során is megerősítést nyert. Nem kerültek bevonásra tehát azok az esetek, akik bár tünetekkel bírtak, de a vizsgálat során a süllyedéses kórkép nem került igazolásra. Fentiek miatt fontosnak tartjuk, hogy nagyobb esetszámmal történő vizsgálatokkal kerüljenek igazolásra a POP és a LUG között feltárt összefüggések. Összefoglalásként megállapítottuk, hogy a nyugalmi helyzetben történt LUG méréssel igazolt kétoldali levator anti avulzió több kompartmentet érintő súlyosabb prolapszussal járhat együtt.

A medencefenék diszfunkciói, elsősorban a vizeletinkontinencia és a kismedencei süllyedéses kórképek magas prevalenciája a fejlett világ előregedő típusú társadalmaiban mindinkább nagyobb kihívást jelentenek úgy a pácienseknek, mind az ellátást végző orvosoknak és az egészségügyi ellátórendszereknek egyaránt. A tartósan magas egészséggel összefüggő életminőség iránti igény a fentiek tükrében újabb kutatásokra, újabb diagnosztikus és terápiás technikák bevezetésére sarkallja a területen dolgozó kutatókat.

Jelen munka ezen kihívások területén kívánja elősegíteni az orvostudomány fejlődését.

Az értekezés új tudományos eredményei

Ismereteink szerint munkacsoportunk elsőként vizsgálta a hőkezelés hatását a hüvelyfali simaizom sejtekre.

1. Vizsgálataink során azt találtuk, hogy a szövetet 65 °C-ra melegítő 30, illetve 60 másodpercig tartó hőhatás nem okoz proliferációt a hüvelyfali simaizomsejtekben.
2. Eredményeink azt sugallják, hogy a hüvelyfali szövetek egy percig, vagy kevesebb ideig tartó, 65 °C-ra történő melegítésének nincs negatív hatása a sejtek életképességére.
3. A sejtfelszíni és a médiumban lévő elasztin és kollagén mennyiségét vizsgálva megállapítottuk, hogy a hő hatására az elasztin szintje mindkét esetben szignifikánsan emelkedik.
4. A kollagéntermelés vizsgálata során a hőhatás után szignifikánsan magasabb értékeket találtunk a hüvelyfali simaizomsejt lizátumokban a kontrollhoz képest.

Eredményeink alátámasztják a hipotézist, miszerint a hüvelyfal hőkezelése pozitív hatással bír a hüvelyfal szöveti remodellációjára, az elasztin és a kollagéntermelés fokozása, így a kötőszövet strukturális változásán keresztül. Különböző típusú kismedencei prolapszusokban vizsgálva a levator-uretra távolságot:

5. Azt találtuk, hogy súlyosabb prolapszus esetén nagyobb eséllyel mutatható ki kétoldali levator avulzió, mint enyhébb prolapszus esetén.
 6. Emellett bizonyítottuk, hogy azon betegeknél, ahol a süllyedés mindhárom vaginális kompartmentet érinti, szintén gyakrabban fordul elő kétoldali levator avulzió, mint azoknál ahol a prolapszus csak egy területet érint.
 7. Hasonlóan gyakrabban fordult elő kétoldali levator izom avulzió azon prolapszusoknál, amelyek az apikális kompartmentet érintik, mint azoknál, ahol a prolapszus csak a hátsó kompartmentet érinti.
- Összefoglalásként megállapítottuk, hogy a nyugalmi helyzetben történt LUG mérésével igazolt kétoldali levator ani avulzió több kompartmentet érintő súlyosabb prolapszussal járhat együtt.


European Society of Gynecology

13^o
CONGRESS
of the
EUROPEAN SOCIETY
of
Gynecology

16-19 OCT 2019

AUSTRIA CENTER

VIENNA