

СТЕРИЛИТЕТ
ЕНДОСКОПСКИ И ЕМБРИОЛОГИЧНИ
АСПЕКТИ

Г.КОЗОВСКИ
К.АЛЕКСАНДРОВ

При написването на този атлас, се ръководихме от желанието си да покажем, че модерното лечение на стерилитета включва както методите за асистирана репродукция, така и ендоскопските оперативни техники.

Подобно издание, обединяващо и професионално разглеждащо и двете теми няма аналог в българската медицинска литература. Надяваме се, че нашият атлас ще бъде от съществена помощ за специалистите акушер-гинеколози и ще допринесе за повишаване на квалификацията им.

Специални благодарности на проф. Козовски, който създаде водещата лаборатория за асистирана репродукция и един от първите центрове за ендоскопска хирургия в България.

Г. Козовски
К. Александров

СЪДЪРЖАНИЕ

I. ЕНДОСКОПСКИ ОПЕРАЦИИ НА АДНЕКСИТЕ

1. Тубарна бременност
2. Тубарен стерилитет
3. Заболявания на яйчниците
4. Компликации

II. КЛИНИЧНА ЕМБРИОЛОГИЯ

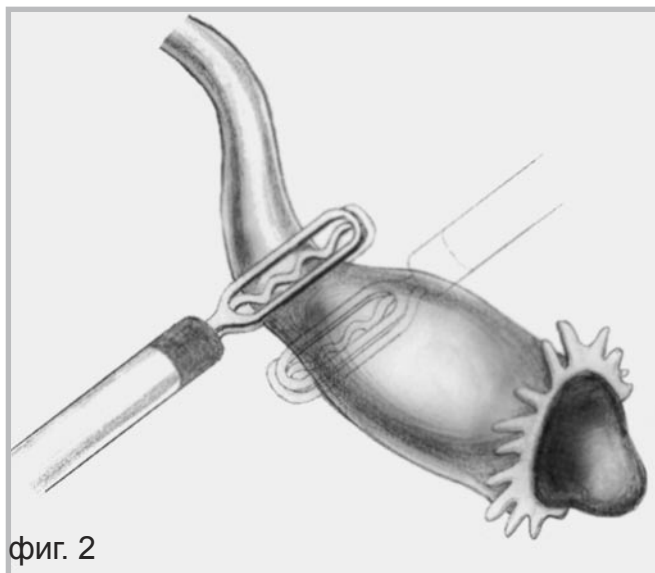
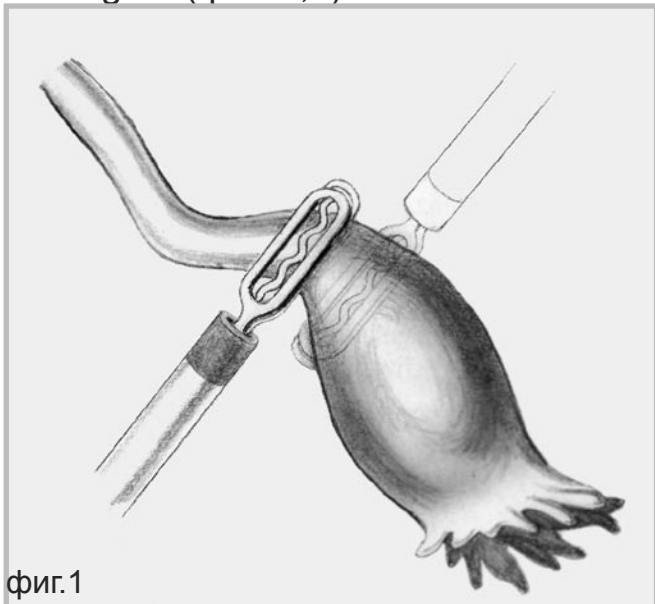
1. Оплождане и развитие на ембриона в IVF условия
2. ICSI (Intracytoplasmic Sperm Injection)
3. Асистирано излюпване (Assisted hatching)

Ендоскопски операции при тубарна бременност

Обемът на оперативната интервенция се определя от това, дали е налице тубарен аборт или тубарна руптура и от това доколко е запазена анатомията на тръбата.

Тубарен аборт

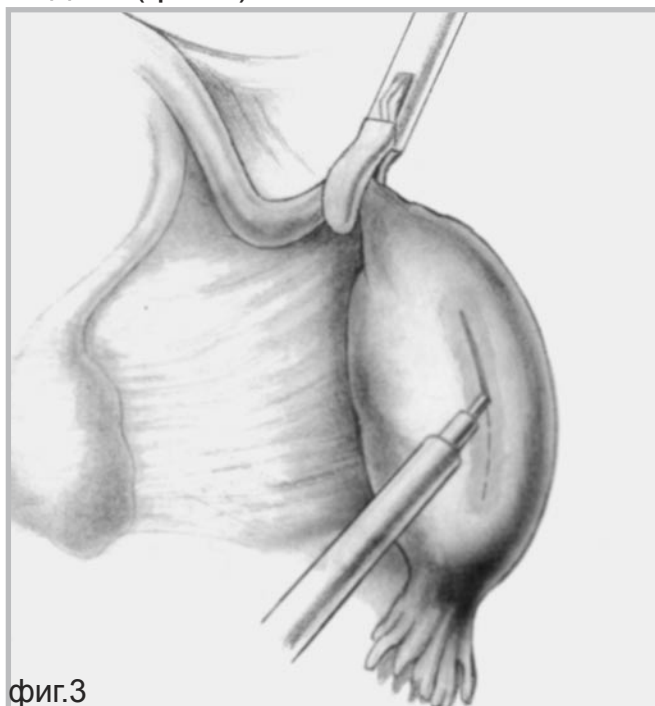
Ендоскопската находка при този вариант обикновено е представена от конгломерат от коагулуми във фимбриалната част на засегнатата тръба. Често са налице адхезии към яйчника, тазовата стена или Дъгласовото пространство, по-рядко към матката, сигмата или оментума. Целта на операцията е след адхезиолиза да бъде отстранен трофобласт с обвиващия го хематом. В някои случаи трофобласт не може да бъде диференциран и се доказва хистологично. Евентуалното кръвотечение от ложето на хематома се спира с биполярна или монополярна спрей коагулация. Загинал в ампуларната част на тръбата трофобласт, може да бъде отстранен чрез изтискване по посока на фимбриите, чрез посменно редуване на две прозоречни клампи- milking out (фиг. 1,2).



Този метод не е възможен при ненарушена тубарна бременност, когато е показана ампуларна салпинготомия.

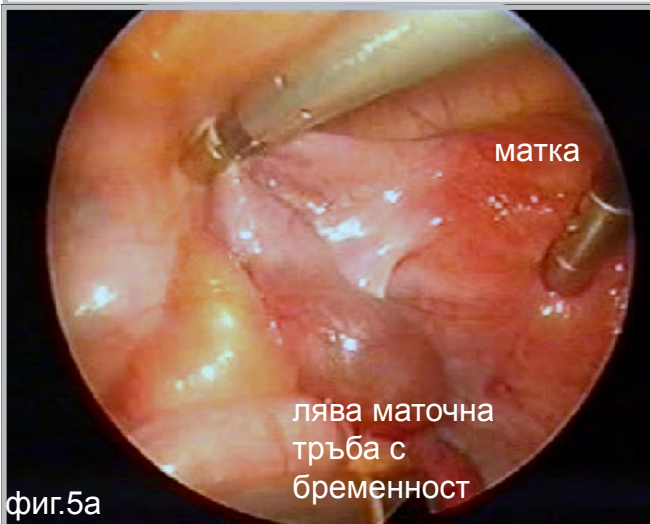
Ненарушена тубарна бременност

Мястото на развитие на трофобласта е маркирано от синкаво оцветено удебеляване на маточната тръба (фиг. 5). Засегнатата част на тръбата се фиксира между две клампи и се отваря надлъжно по лежащата срещу мезосалпинкса стена (фиг. 3, 6). Използва се моно- или биполярно рязане. Екстрахира се трофобласта (фиг. 4, 7), промива се ложето му и се коагулират кръвящите съдове (фиг. 8).

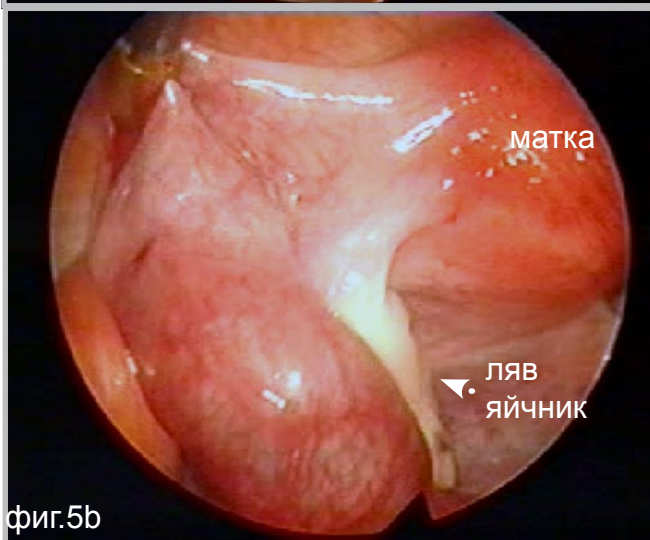




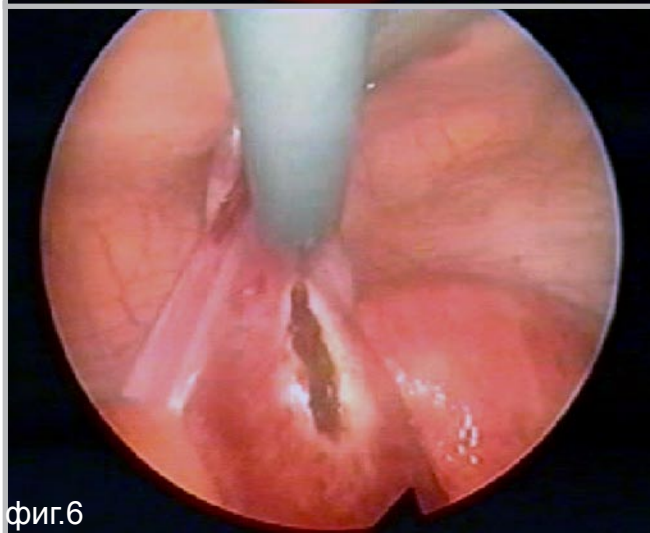
фиг.4



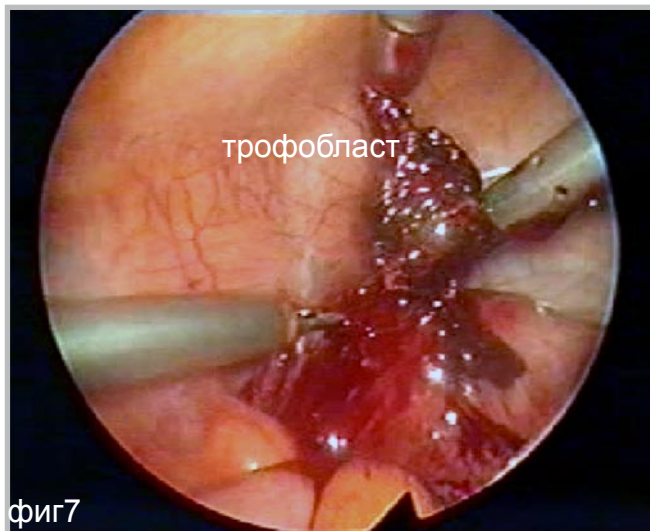
фиг.5а



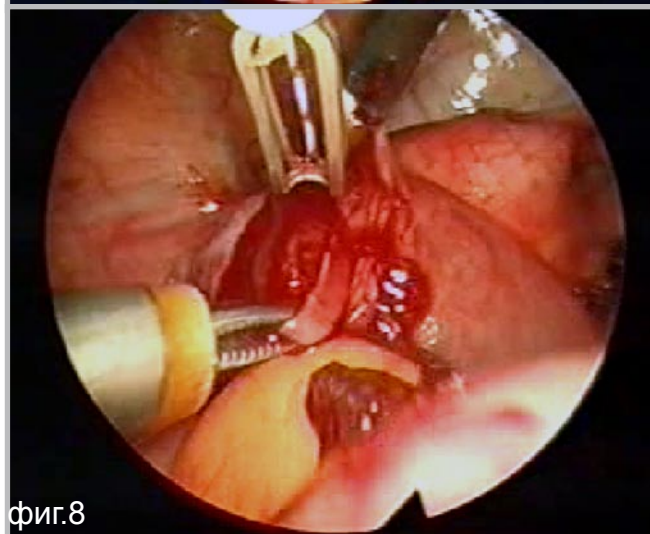
фиг.5b



фиг.6



фиг7



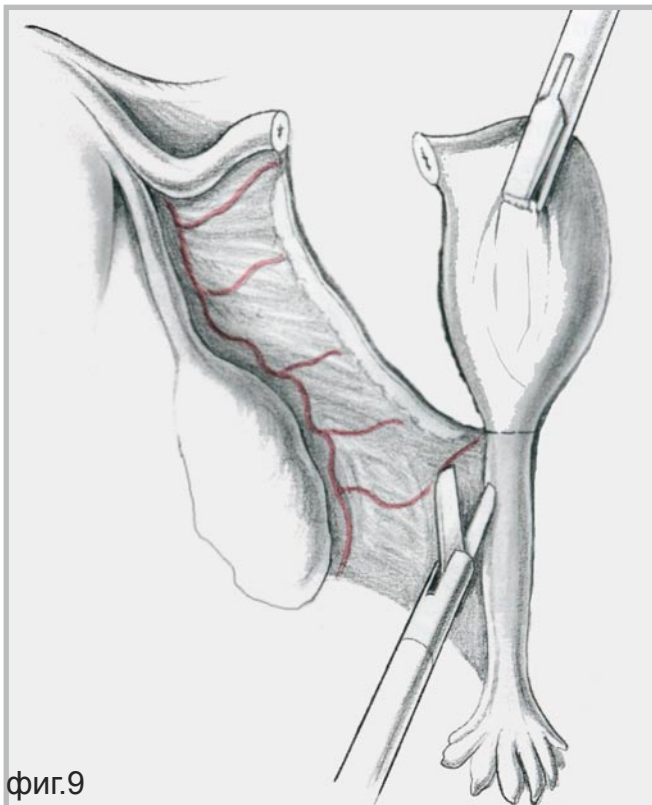
фиг.8

Тубарна руптура

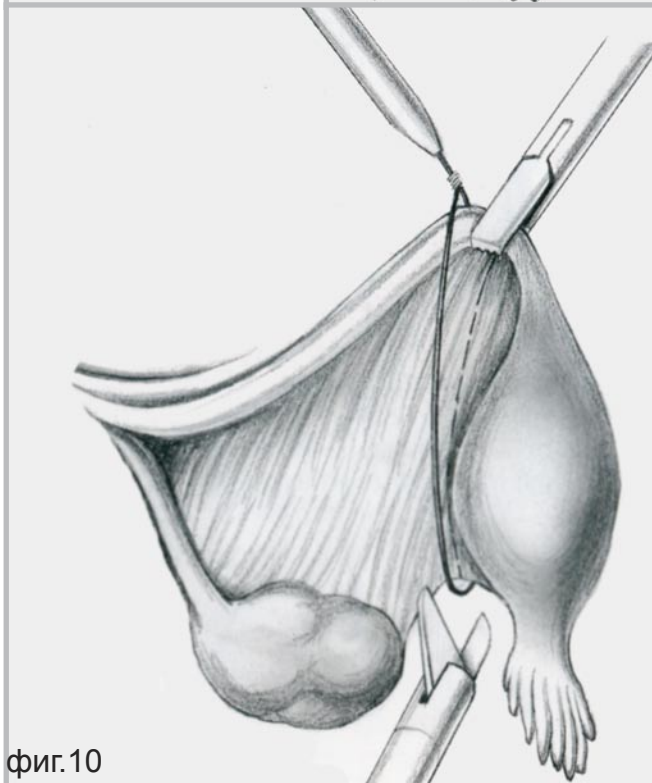
При руптура на маточната тръба, която обикновено е придружена с по-обилно кръвотечение, препоръчваме преминаване към сегментна, парциална или тотална salpingectomy.

При сегментната salpingectomy засегнатата част на маточната тръба се изолира от двете страни чрез биполярна коагулация. Подлежащият месосалпикс се коагулира по същия начин, след което се изрязва частта на маточната тръба с трофобласта (фиг.9).

Парциалната salpingectomy започва с коагулиране и прерязване на маточната тръба проксимално от извънматочната бременност. Коагулира се и се прерязва месосалпиксът по протежение на тръбата.



фиг.9



фиг.10

Операцията завършва с биполярна коагулация и прерязване на lig.infundibuloovaricum. При тази операция може да се използва биполярна ножица, чрез която може да се коагулира и реже едноактно(фиг.11-15).

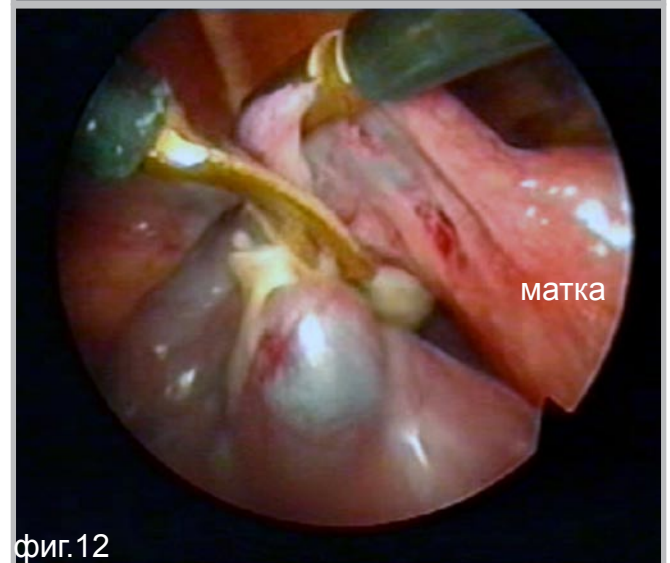
Засегнатата част на тръбата може да се захване с клампа, да се издърпа и да се лигира с примка на Röder,

след което се изрязва(фиг10). Методът е удачен ако бременността се развива в ампуларната част на тръбата.

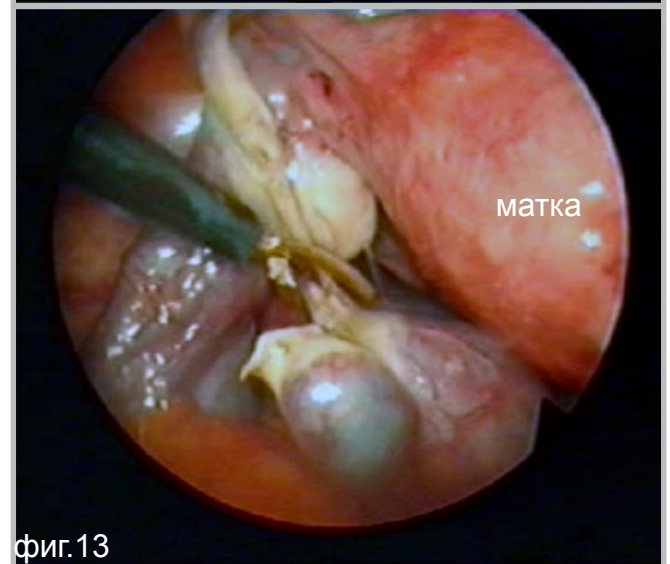
При тоталната salpingectomy, маточната тръба се коагулира проксимално на 1 cm от маточния рог и се отстранява изцяло(фиг.16).



фиг.11



фиг.12



фиг.13



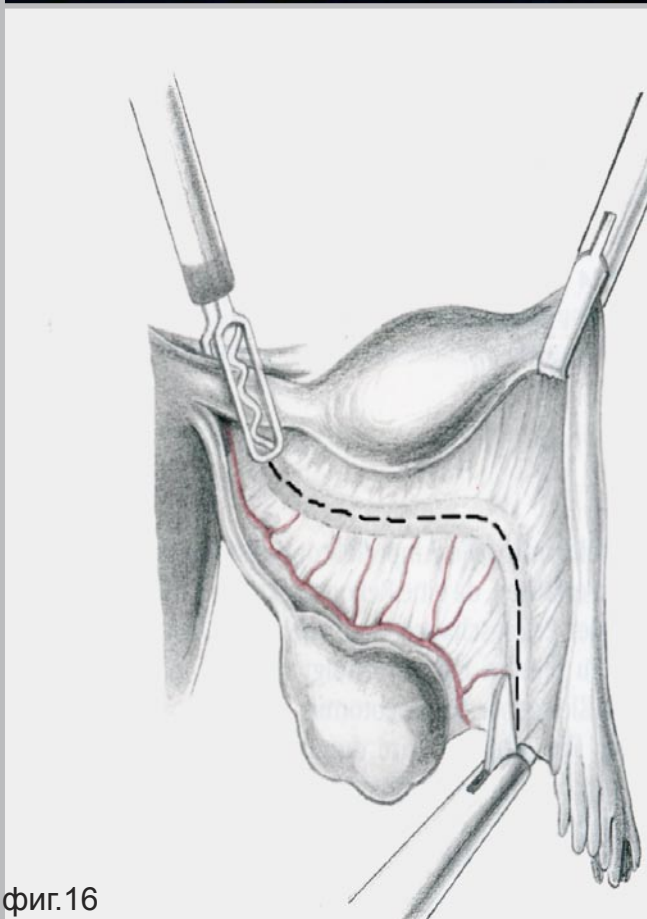
коагулация на мезосалпинкса

фиг.14



отделената тръба с бременността

фиг.15



фиг.16

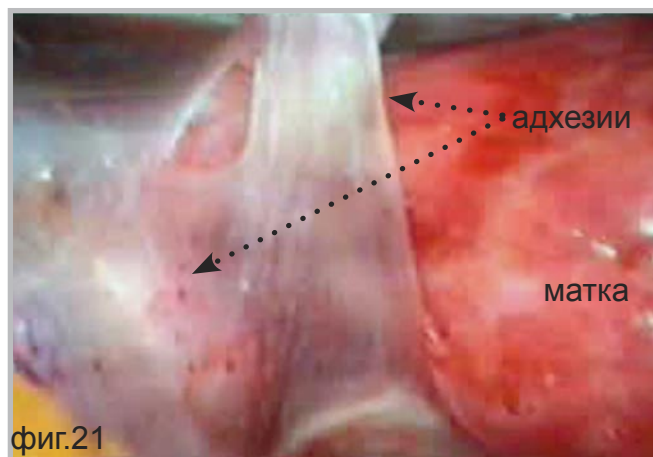
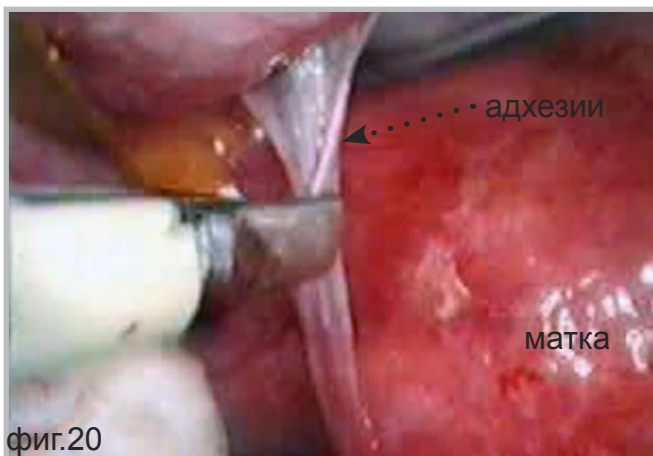
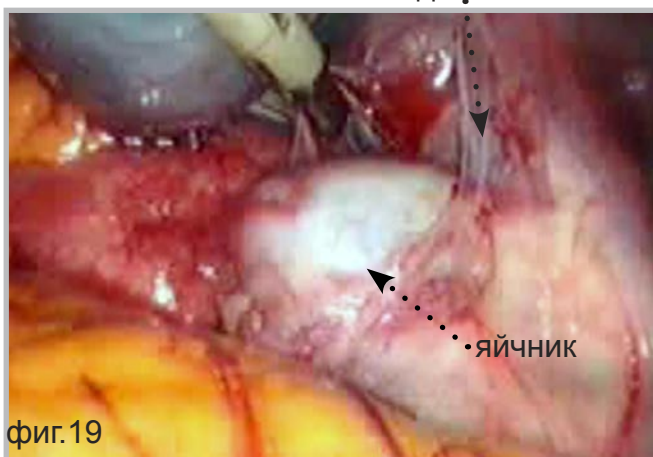
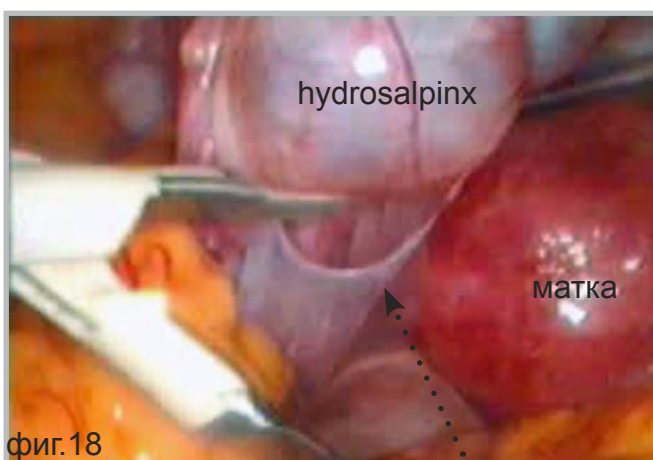
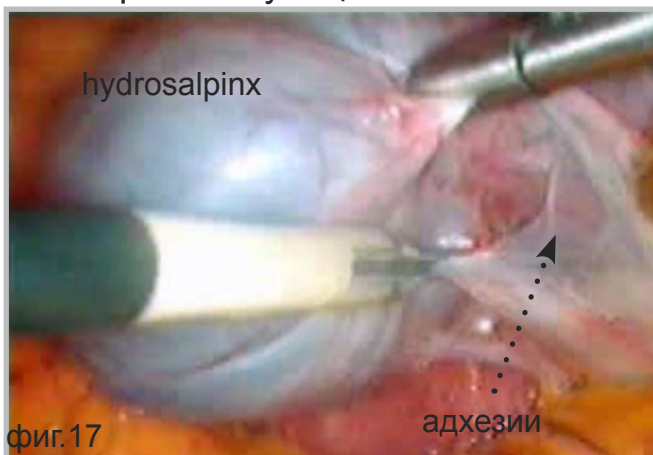
Ендоскопски операции при тубарен стерилитет

Една от най-честите причини за стерилитет при жените е поради увреждане на маточните тръби. Пораженията варират от пълна обструкция с формиране на hydro-, pyo- или haematosalpinx до частичната непроходимост- phymosis. При наличието само на адхезии, проходимостта на маточните тръби може да е запазена, но да е променена тяхната ориентация и фимбриалната им част да е изолирана от яйчниците- pseudohydrosalpinx. До нормално забременяване след ендоскопска пластика на маточните тръби се достига в 50% от случаите с тънкостенен хидросалпикс и в 15% от случаите с дебелостенен. Поради ниския процент на забременяване и поради високата честота на тубарна бременност при случаите на дебелостенен хидросалпикс и увредена мукоза се предпочитат технологиите за асистирана репродукция (ТАР). В тези случаи препоръчваме задължително отстраняване на хидросалпинксите, което многократно подобрява успеваемостта при ТАР.

Adhaesiolysis (Salpingoovariolysis)

Адхезиите могат да обхванат освен маточните тръби (фиг.17,18) и яйчниците (фиг.19), сигмата, матката (фиг.20,21), Дъгласовото пространство и оментума. Когато е обхваната дисталната част на тръбата и фимбриалният отвор е механично изолиран от сраствания, се формира pseudohydrosalpinx. Тръбата е със запазена проходимост, фимбриален апарат и мукоза. Адхезиите се прерязват в близост до серозата на маточната тръба.

Кървотечение обикновено липсва. При нужда се използва биполярна или спрей коагулация.

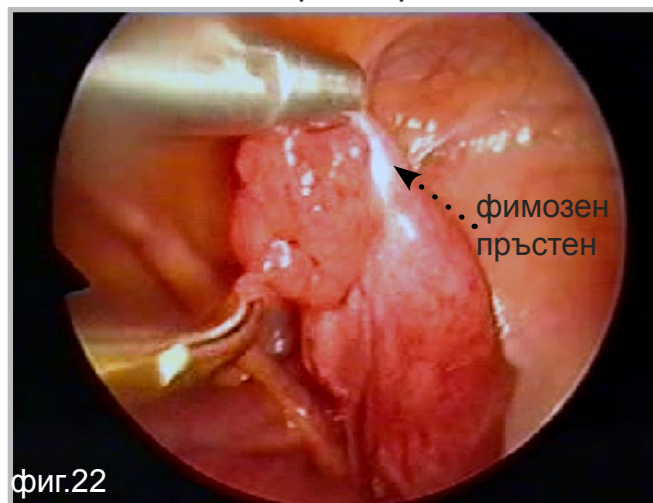


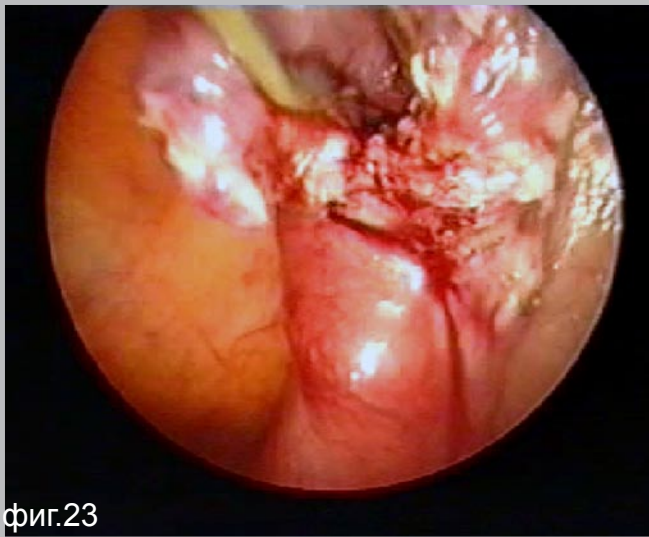
Fimbriolysis

С този термин се означава освобождаването и разделянето на фимбриите без намеса върху останалата част на маточната тръба. При pseudohydrosalpinx е достатъчно само освобождаването на фимбриалния край на тръбата от адхезиите, докато при rhymosis се налага и пластика на маточната тръба.

Fimbrioplastika

Фимбриите при rhymosis са интравертирани и фиксирани в това положение от пръстеновидно стеснение на дисталния край на маточната тръба. Фимбриалният отвор е частично до точковидно стеснен. С моно- или биполярна ножица се прерязва фиксиращият пръстен, след което фимбриите спонтанно се екстравертират и се възстановява дисталният отвор на тръбата.





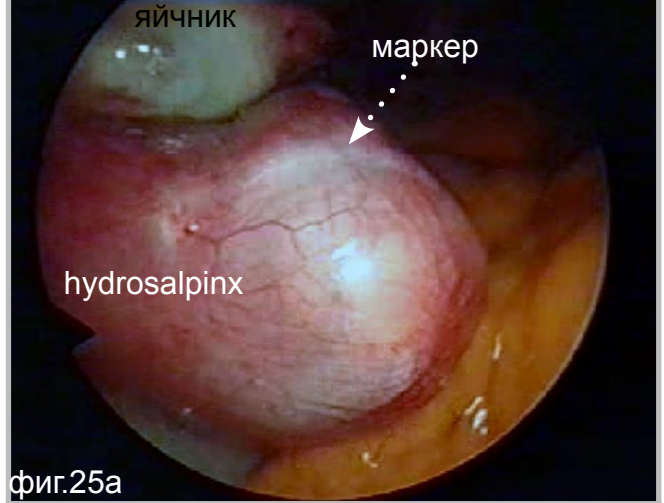
фиг.23

Salpingostomia

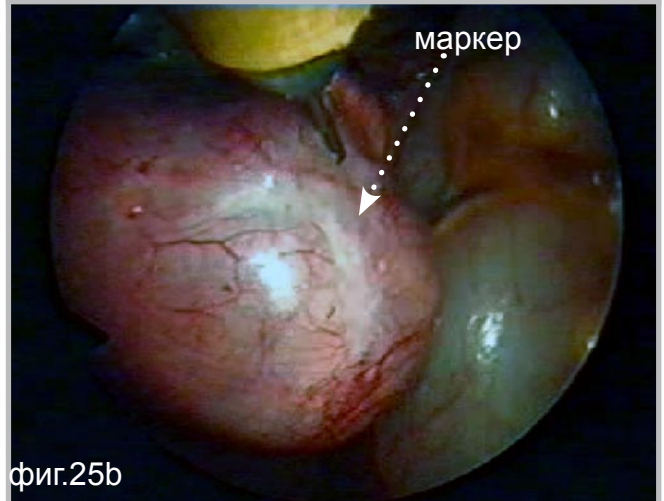
Операцията се налага при hydrosalpinx (Фиг.24), т.е. при напълно обтурирана в дисталната си част тръба. На мястото на слепване на фимбриите се формира съединителна тъкан, която е аваскуларна и поблезникава на цвят и маркира мястото на оперативния срез. Най-честите форми на този маркер са: +, Y или - (Фиг.25). Маркерът се очертава с монополярна за предпочитане спрей коагулация, след което се разрязва с моно- или биполярна ножица (Фиг.26, 27). Свободните краища на тръбата се екстравертират и фиксират в това положение чрез шевове-cuff technique (Фиг.28-31) или чрез биполярна коагулация на серозата на тръбата на 1cm от края (Bruhat, Howering, Фиг.32).



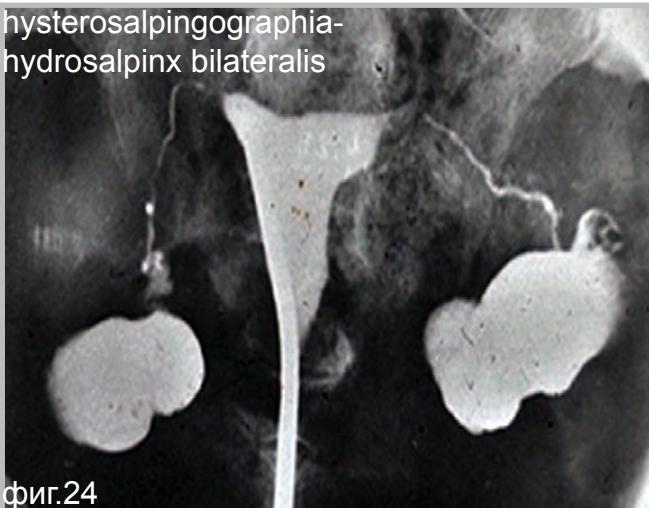
фиг.25



фиг.25а



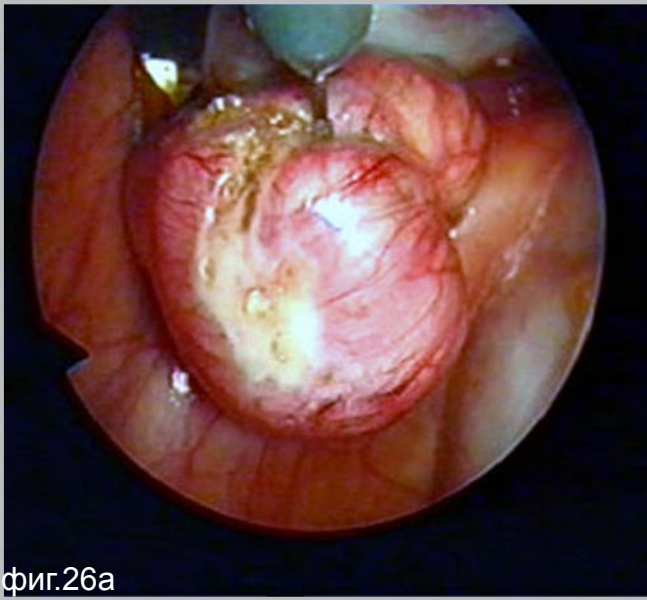
фиг.25b



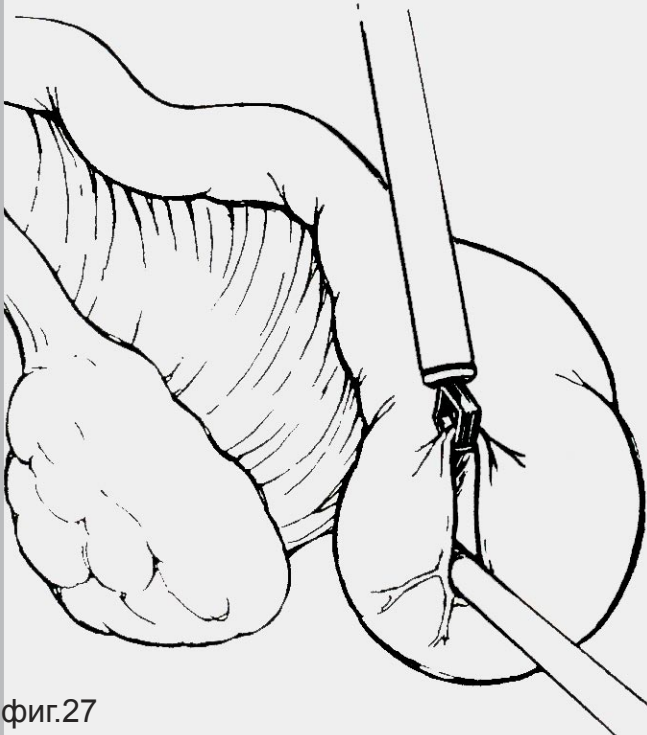
фиг.24



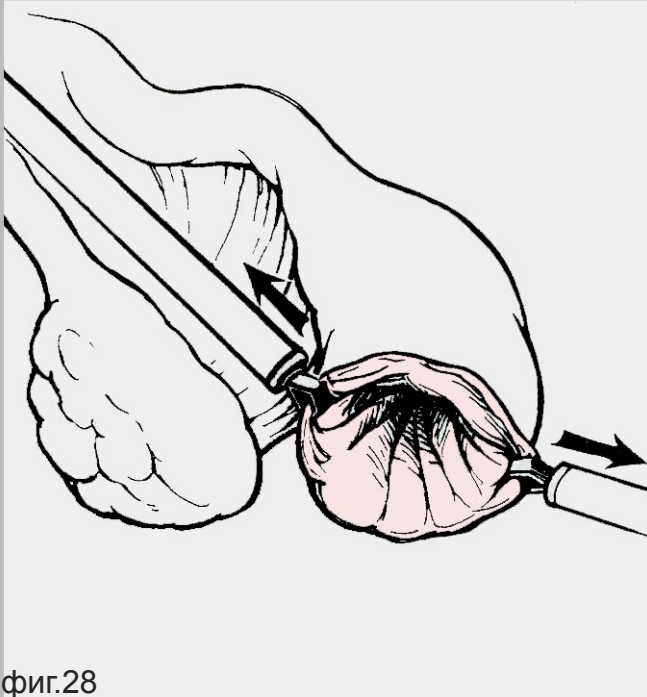
фиг.26



фиг.26а



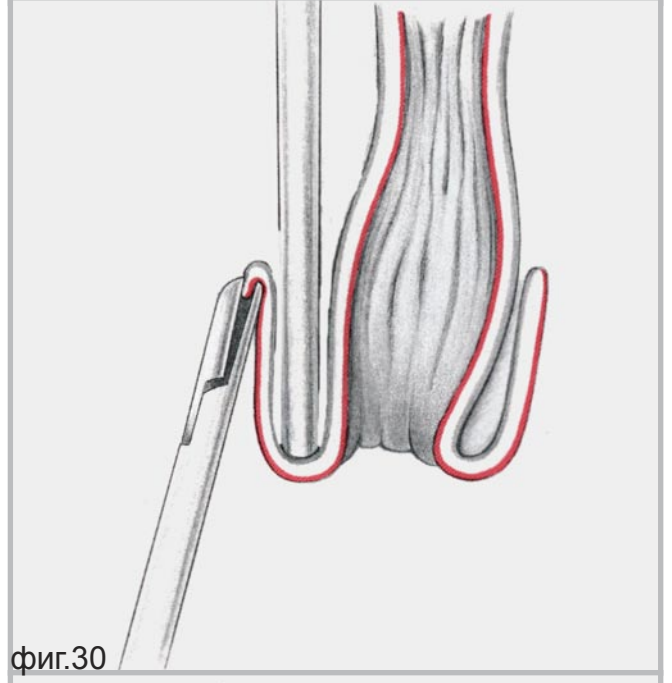
фиг.27



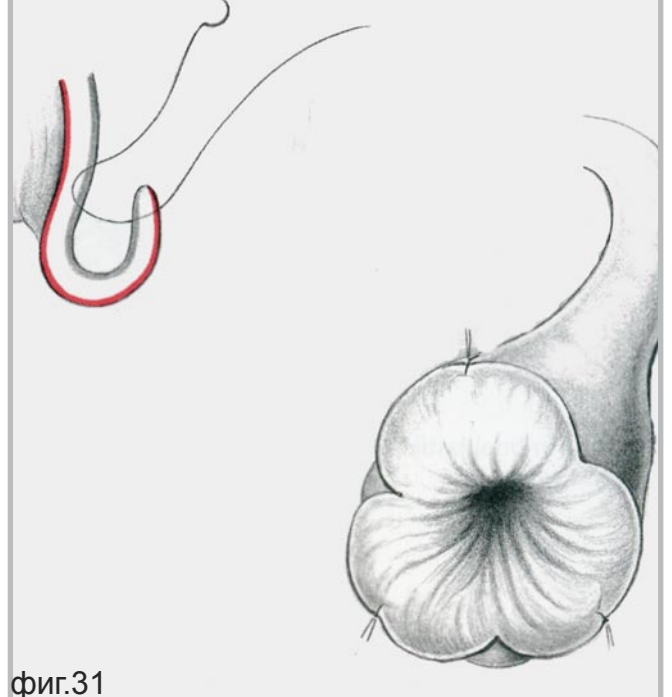
фиг.28



фиг.29



фиг.30



фиг.31

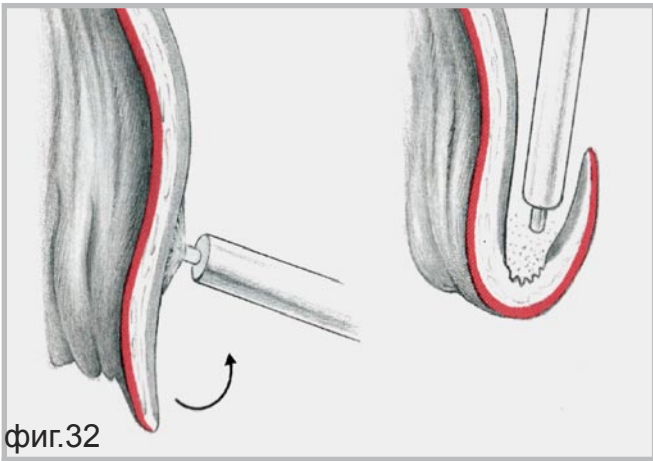
Ендоскопски операции при заболявания на яйчниците

Ovarcystostomia (Fenestratio)

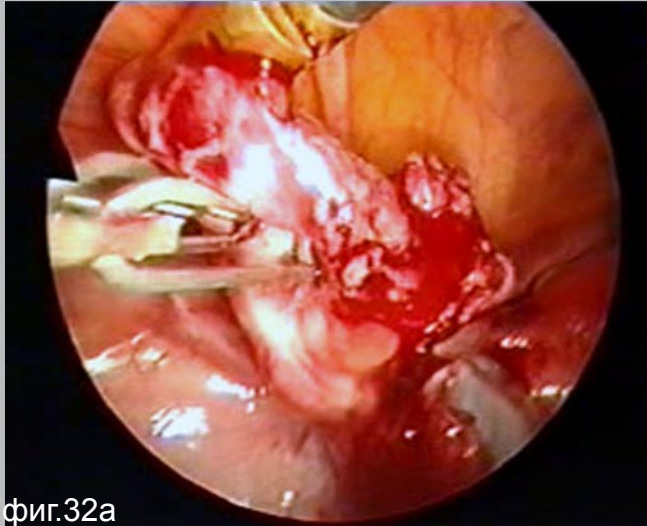
Методът се използва при ретенционни и фоликуларни кисти по изключение и при ендометриоми. След аспирация на съдържимото в стената на кистата се изрязва отвор с минимален диаметър 1cm. Кухината се промива и ръбовете и вътрешната и повърхност се коагулират с биполярна пинсета.

Cystectomy

Яйчникът се фиксира за lig. ovarii proprium и се разрязва надлъжно, по контрамезовариалната страна (фиг.33). Ръбовете на среза се разтварят и се залавя капсулата на кистата (фиг.34). В някои случаи обелването на капсулата се осъществява чрез спираловидно навиване на държащата я клампа (фиг.35). В други случаи се налага използването на дисектор и ножица.



фиг.32

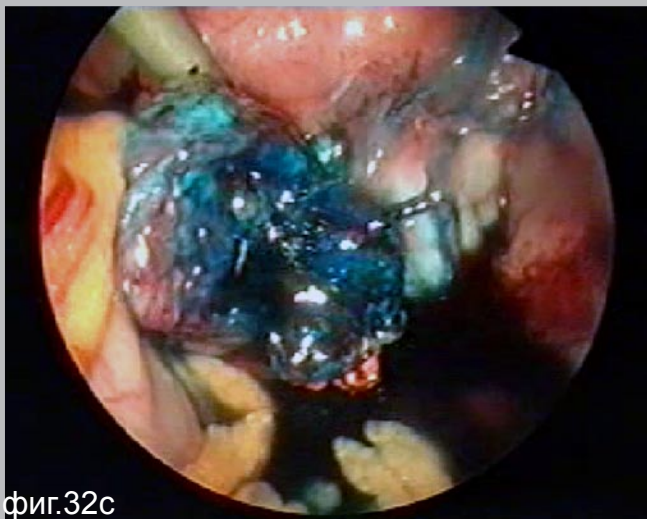


фиг.32а

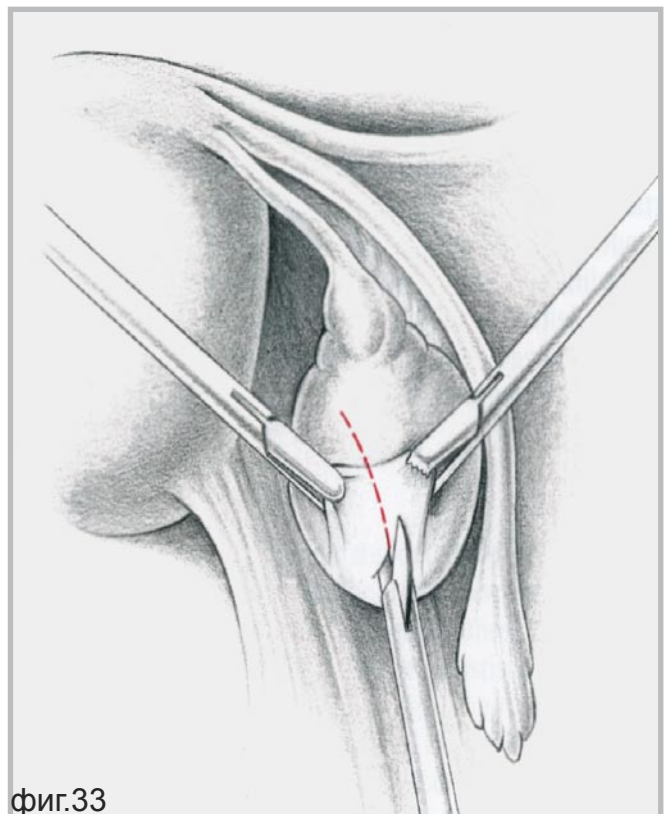


новоформиран
фимбрилен отвор

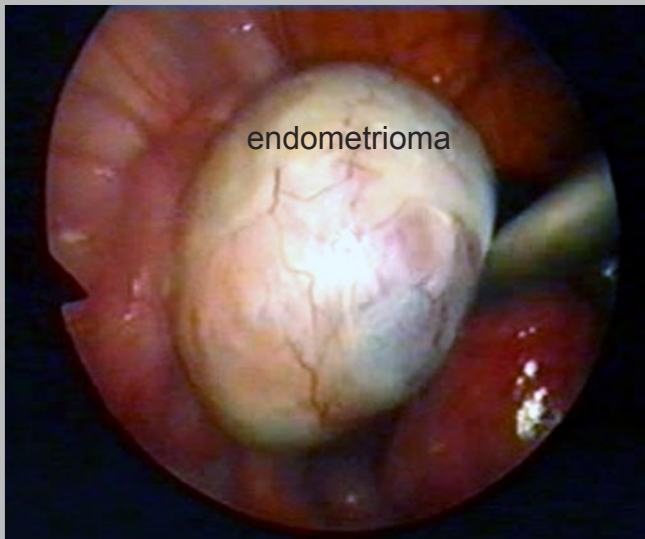
фиг.32b



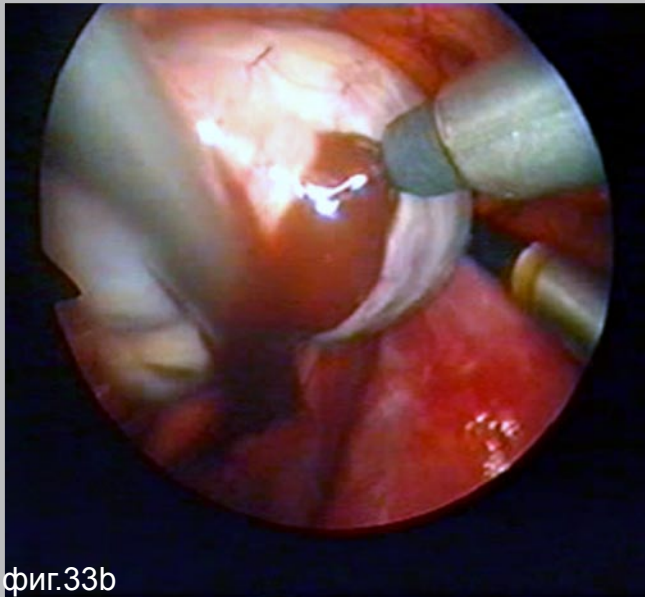
фиг.32c



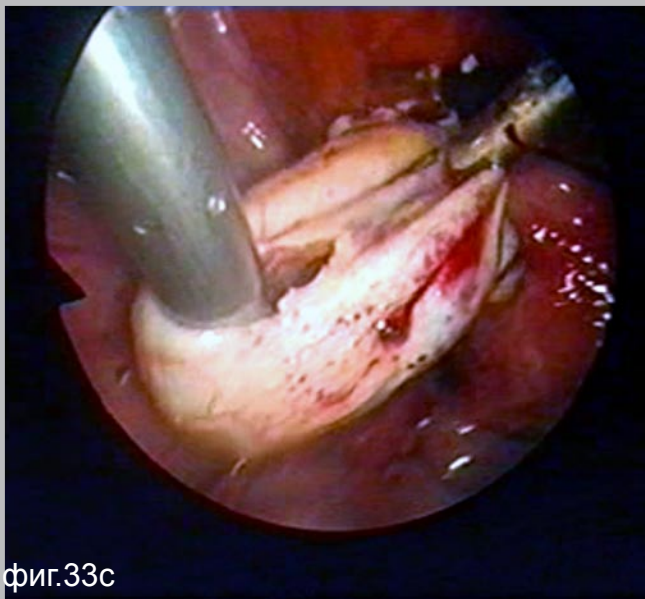
фиг.33



фиг.33а

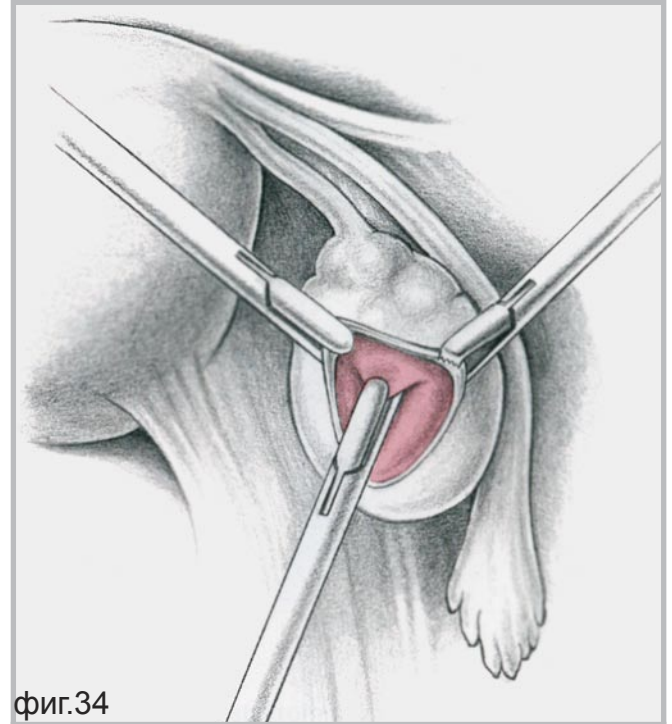


фиг.33б

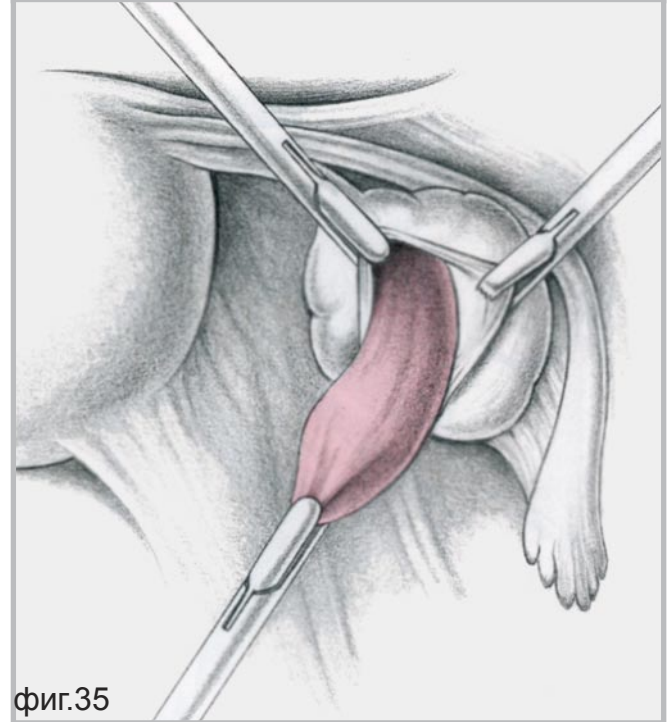


фиг.33с

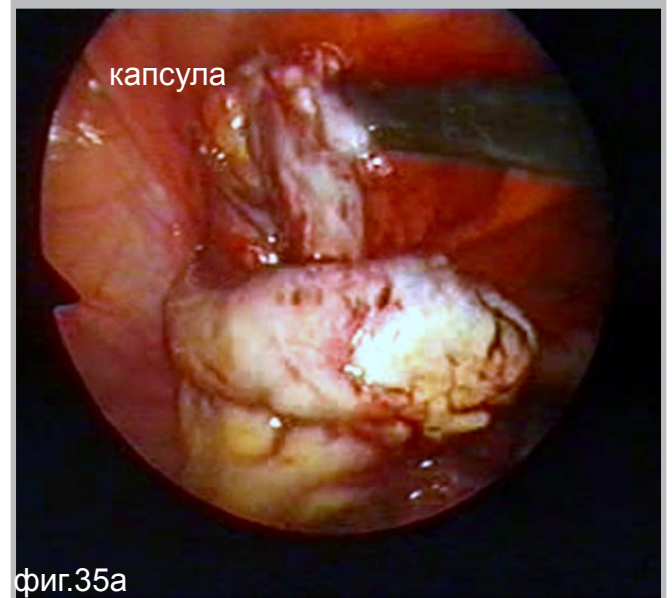
Отделената капсула се екстрахира , а ложето ѝ се коагулира с биполярна пинсета или спрей(фиг.36). Не е задължително оформилата се кухина да бъде затворена с шевове(фиг.37).



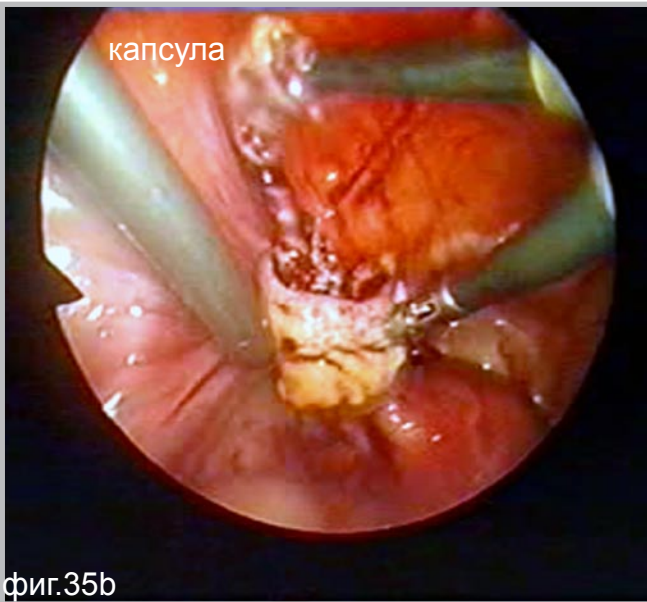
фиг.34



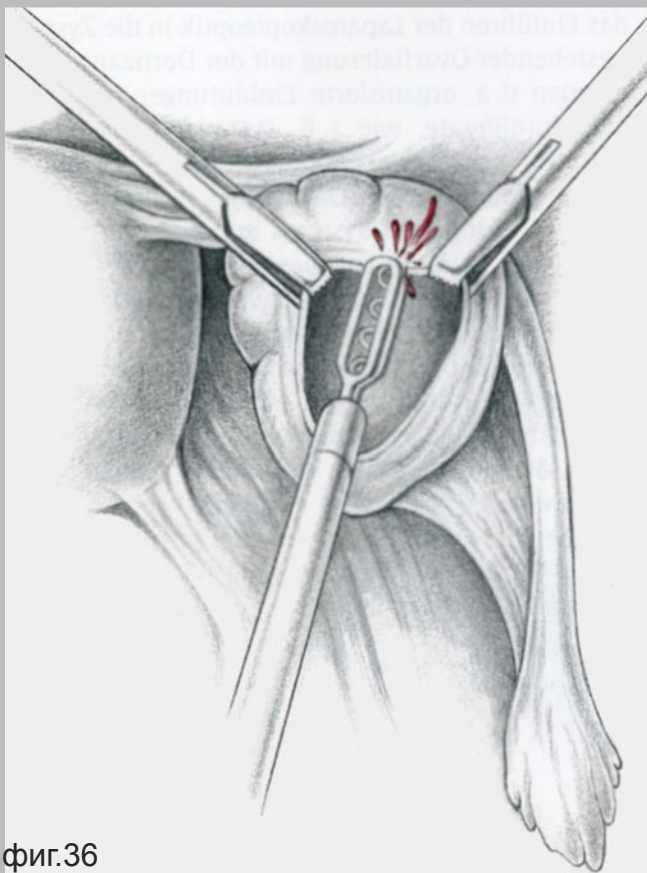
фиг.35



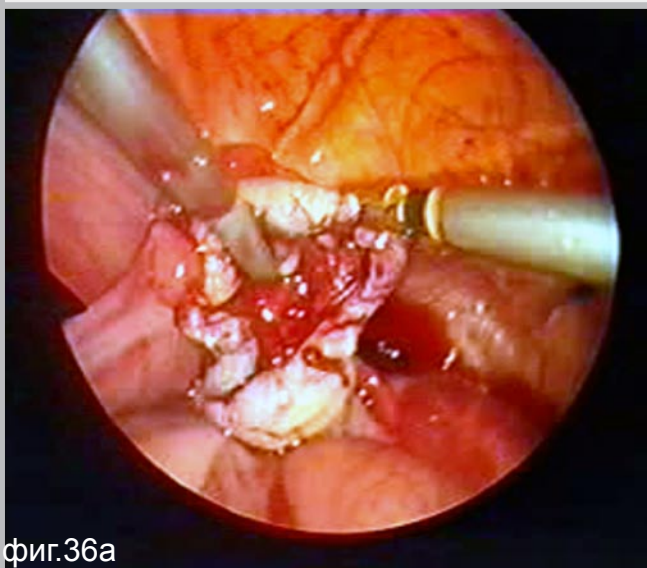
фиг.35а



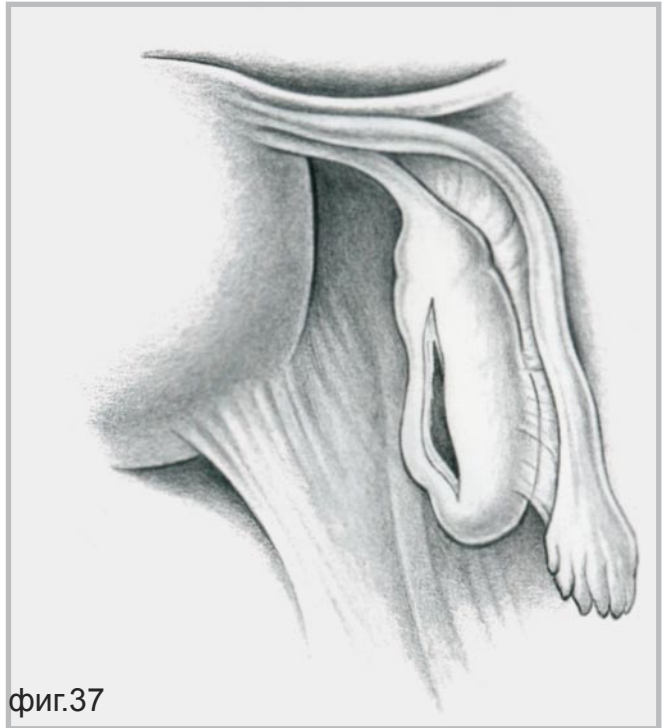
фиг.35b



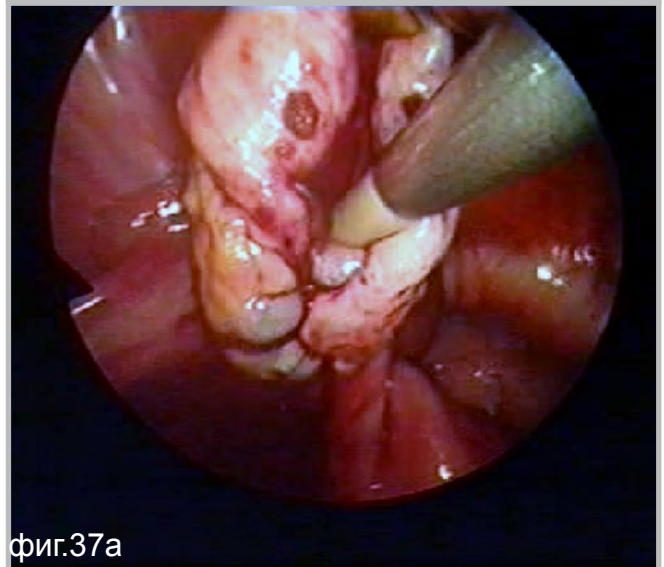
фиг.36



фиг.36a



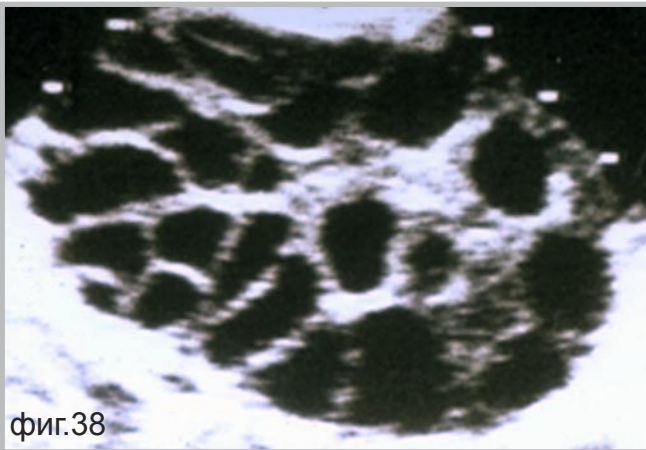
фиг.37



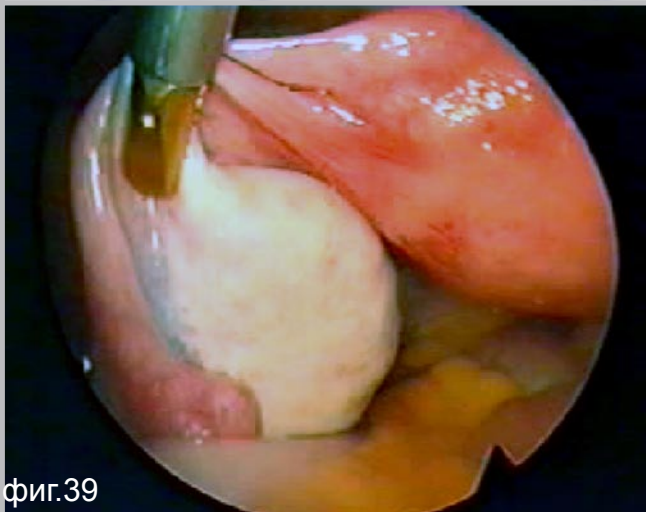
фиг.37a

Мултиплено монополярно пунктиране на яйчниците (Каутеризация)

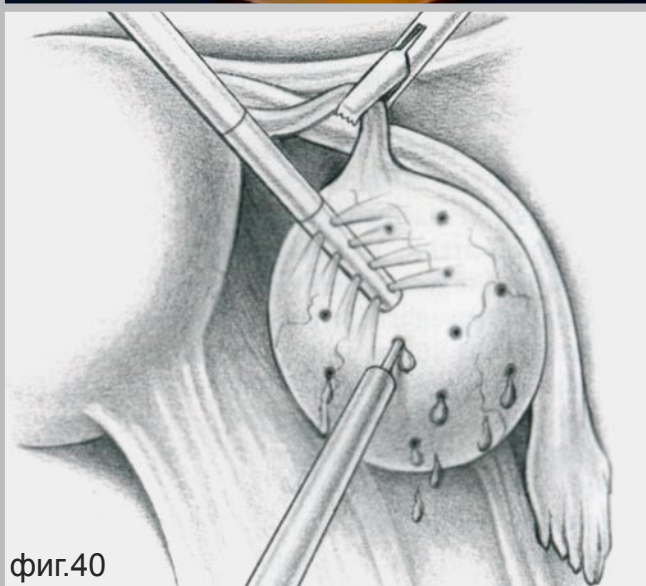
Тази операция се прилага при поликистична болест на яйчниците(фиг.38) и липса на овулация и напълно е изместила клиновидната резекция на яйчниците. След фиксиране на яйчника(фиг.39) , капсулата му се пунктира с моно- или биполярна игла или лазер(фиг.40). Прието е на всеки яйчник да се правят между 20 и 30 отвърстия. Евентуалното кръвотечение се спира със спрей коагулация. Яйчниците се промиват за да се предотврати образуването на синехии.



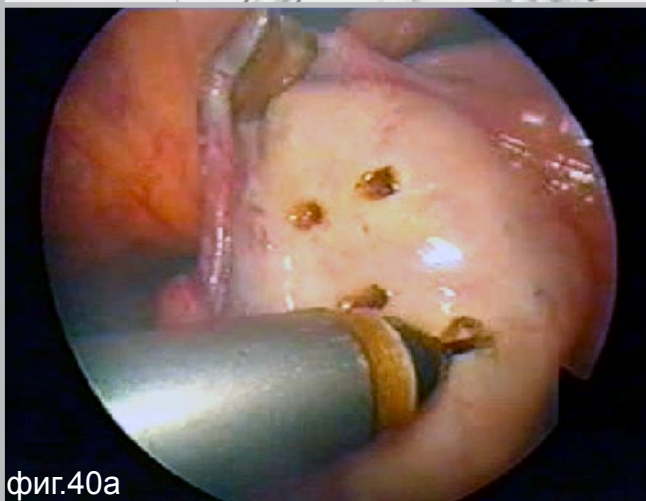
фиг.38



фиг.39



фиг.40



фиг.40а

Компликации

Наи-честите компликации при ендоскопски операции са лезиите на черва, пикочен мехур, уретери и кръвоносни съдове.

Лезии на черва

Това усложнение обикновено възниква при въвеждането на иглата на Veress или троакари, особено при пациенти с предхождащи коремни операции.

Възможност за увреждане на червата има и при отстраняването на чревни адхезии чрез обикновено, моно- и биполярно рязане или лазер. Най-опасни са термичните лезии на червата при коагулация, с последващо формиране на секвестри и перфорации.

За намаляване на риска от директна перфорация на черво, при лапаротомирани пациенти, се препоръчва иглата на Veress и троакара за оптиката да се въвеждат по медиоклавикуларната линия под ляваребрена дъга, където обикновено липсват постоперативни сраствания. При съмнение за лезия, малкият таз на пациента се изпълва с разтвор на Ringer и ректумът се инсуфлира с CO₂. Евентуалните отделящи се мехурчета доказват и визуализират чревния дефект.

Лезии на пикочен мехур

Увреждането на пикочния мехур при въвеждане на допълнителен супрапубичен троакар е рядко и обикновено е следствие на недобре изпразнен или деформиран от сраствания мехур. Възможност за нараняване има и при изрязването или коагулацията на ендометриозни лезии или адхезии, както и при отпрепарирането на пикочния мехур. Дефекта и качеството на неговото

възстановяване се доказват чрез изпълване на мехура с 300-400ml 0,5% разтвор на метиленово синьо. Пикочният мехур се катетеризира за 8-10 дни.

Лезии на уретерите

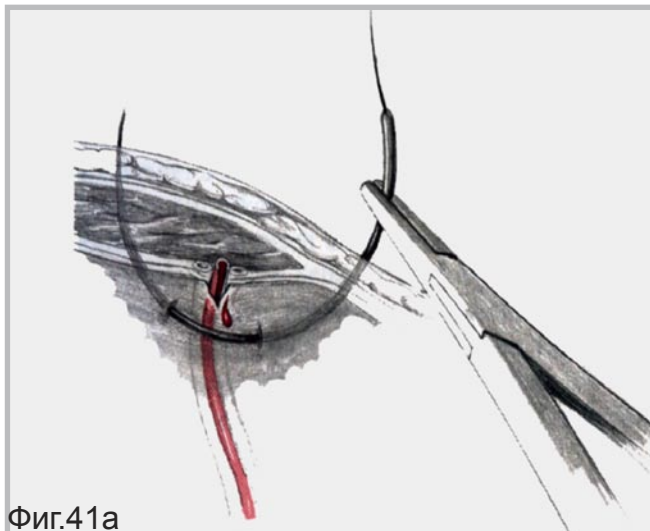
При частично или пълно прерязване на уретер, той се отпрепарира на 2 cm от двете страни на лезията. Уретерът се шинира и краищата му се възстановяват с 2-3 единични мускуло-мускуларни шева (Махон 4/0). Уретералният стенд остава за 4-6 седмици. След свалянето му се проверява херметизацията на уретера чрез венозна пиелограма. При термично увреждане на уретера, той се шинира за 4-6 седмици за да се избегне формирането на стриктури.

Лезии на кръвоносни съдове

Тази компликация възниква при въвеждане на иглата на Veress или троакари и по-рядко при кожния срез, при много слаби пациенти.

Най-често се засяга A. epigastrica inferior и нейни клонове. Въвеждането на допълнителните латерални троакари под ендоскопски контрол с осветяване на коремната стена, при което се визуализира хода на тези артерии, намалява възможността за увреждането им. Кръвотечението от този съд се овладява чрез налагане на Z-образен шев през цялата коремна стена за 24 часа (Фиг.41). Алтернатива е биполярната коагулация на съда, под ендоскопски контрол през тунела направен от троакара (Фиг.42) или компресиране на съда с Foley катетър N:10-12 (Фиг.43).

Нараняването на аортата и илиачните съдове, при въвеждане на троакари е рядко, дължи се на неправилна техника и неопитност и изисква лапаротомия.



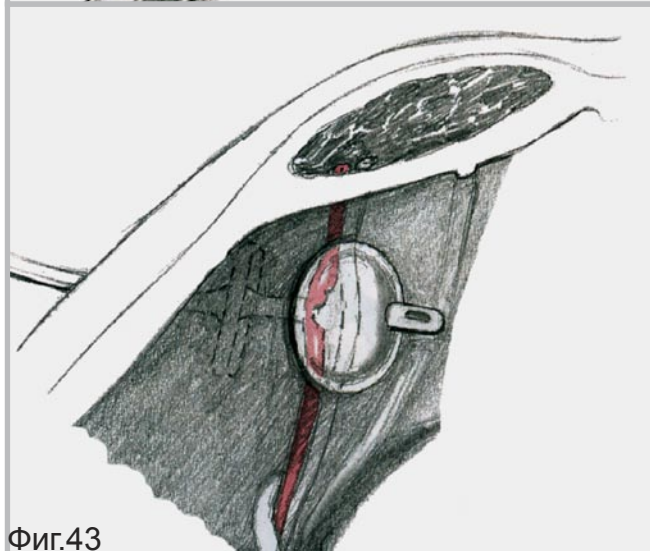
Фиг.41а



Фиг.41b



Фиг.42



Фиг.43

II. Клинична ембриология

1. Оплождане и развитие на ембриона в IVF условия
2. ICSI (Intracytoplasmic Sperm Injection)
3. Асистирано излюпване (Assisted hatching)

Оплождане и развитие на ембриона в IVF условия

Оплождането е процес , който завършва със сливането на мъжкия и женския пронуклеус , водейки до образуване на нов индивид. За успешното реализиране на този процес са необходими :

- 1.Преминаване на сперматозоидите през cumulus oophorus ;
- 2.Взаимодействие между сперматозоидите и zona pellucida ;
- 3.Сливане между един сперматозоид и яйцеклетката;
- 4.Активиране на яйцеклетката;
- 5.Декондензация на ядрото на сперматозоида и образуване на мъжки пронуклеус;
- 6.Образуване на мъжки и женски пронуклеус и тяхното мигриране в центъра на яйцеклетката;
- 7.Образуване на делително вретено и начало на първото делене;

Яйцеклетките в метафаза II са заобиколени от кумулусни маси състоящи се от фоликуларни клетки разпръснати в полимеризиран междуклетъчен матрикс с основна съставка хиалуронова киселина. За да преминат успешно кумулуса сперматозоидите трябва да са капациитирани. Преди преминаването през zona pellucida , сперматозоидите трябва да се свържат с нея и да претърпят акрозомална реакция. Акрзомната реакция е екзоцитна и представлява многократно сливане между клетъчната плазмена мембрана на сперматозоида и външната акрозомална мембрана, в резултат на което се образуват хибридни везикули. Това води до изливане на акрозомалното съдържимо и преминаване на zona

pellucida от оплождащия сперматозоид, който попада в перивителинното пространство и чрез своята главичка се слива с клетъчната мембрана на яйцеклетката. Попаднал в цитоплазмата на яйцеклетката оплождащия сперматозоид стартира серия от последователни процеси известни като активация на яйцеклетката. Тези биохимични и морфологични процеси включват:

- 1.Промяна в потенциала на оолема и рязко покачване на вътре - клетъчната концентрация на калциеви йони, което морфологично води до екзоцитоза на кортикални гранули известна като кортикална реакция. Кортикалните гранули представляват хидролитични ензими освободени в перивителинното пространство чрез екзоцитоза.

- 2.Тези ензими попадайки в непосредствена близост с zona pellucida променят нейните химични и физични свойства, което я прави непроницаема за други сперматозоиди. Нарушения в процеса на екзоцитоза на кортикални гранули може да доведе до пенетрация на повече от един сперматозоид в яйцеклетката - полиспермия. Това води до развитие на генетично абнормни ембриони. Поради това зиготи с повече от 2 пронуклеуса се унищожават в процеса на асистирана репродукция .

Основните морфологични моменти в клиничната ембриология следват определена хронологична последователност :

-Нулев ден

В този ден се добиват и обработват половите клетки (гамети, фиг45-47.), а също така се извършва и инсеминацията на яйцеклетките чрез предварително капациитирани

сперматозоиди (фиг.44.), или чрез ICSI (фиг.61-65).



фиг.44



фиг.45

Незряла яйцеклетка в стадий GV- герминален везикул. Ясно се вижда герминалния везикул, т.е. ядрото на яйцеклетката на фона на тъмна, зърниста цитоплазма.



фиг.46

Незряла яйцеклетка в метафаза I (M I). Това е фазата, чрез която яйцеклетката в стадий GV преминава в зряла яйцеклетка M II (метафаза II). M I яйцеклетката се характеризира с това, че не се визуализира както ядро, така и полярно телце (PB).

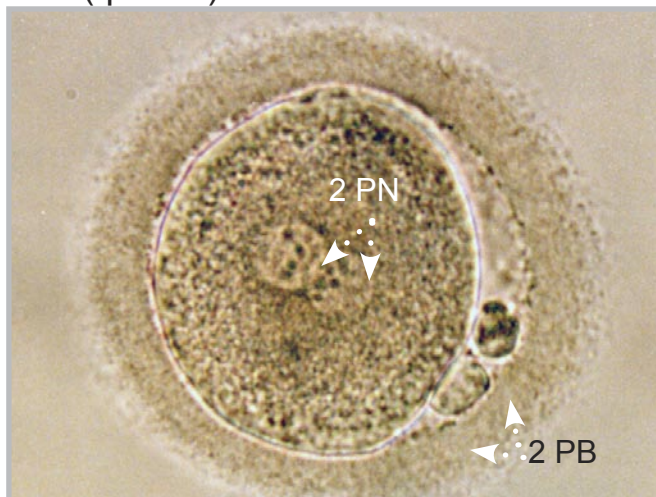


фиг.47

Зряла яйцеклетка в стадий M II (метафаза II). Морфологичният белег на този стадий е наличието на полярно телце (PB) в перивителинното пространство. Само яйцеклетки достигнали този стадий са годни за оплождане (инжектиране).

-Първи ден

Образуване на зигота (оплодена яйцеклетка). При нормално протекло оплождане в центъра на цитоплазмата ясно се визуализират два пронуклеуса, от които единият е мъжки (ядрото на сперматозоида), а другият е женски (ядрото на яйцеклетката), както и две полярни телца в перивителинното пространство (фиг.48).



фиг.48 ,ув.х400

Нормално оплодена яйцеклетка-зигота. В центъра на цитоплазмата се визуализират два пронуклеуса (2PN) с нуклеоли (малките черни точки) в тях. В перивителинното пространство са разположени двете полярни телца (2PB). Нормално оплодената яйцеклетка се характеризира с 2PN и 2PB. Всяка друга конфигурация се приема за абнормно оплождане (фиг.49-51).



фиг.49

3PN+1PB- ICSI ембрион. В този случай третият PN е в резултат от задържане на второто полярно телце.



фиг.50

3PN- IVF ембрион. В случаите на 3PN + 2PB- IVF ембрион, третият пронуклеус е от втори проникнал в яйцеклетката сперматозоид. Тези ембриони са триплоидни.



фиг.51

1PN + 2PB- ICSI ембрион.

-От втори до четвърти ден

Стадий на делене и формиране на бластомери (клетките на същинския ембрион). Първото митотично делене на зиготата е меридианно и води до образуване на два бластомера (фиг.52). Следващото делене на получените два бластомера е относително асинхронно и води до образуване на четири бластомера разположени под формата на кръст (фиг.53.). На трети ден броят на

бластомерите варира от пет до десет, а на четвърти ден поради увеличена контактна повърхност между бластомерите, границите им се заличават (фиг.55). Това е стадият морула, който е предвестник на образуването на бластоцистна кухина.



фиг.52, ув.х400

Ембрион в стадий два бластомера на втори ден след инсеминация.



фиг.53, ув.х400

Четириклетъчен ембрион на втори ден след инсеминация. Бластомерите са с еднакви размери и липсват ацелуларни фрагменти в делителната кухина.



фиг.54, ув.х400

Перфектен десетклетъчен ембрион на трети ден след инсеминация.



фиг.55, ув.х400

Нормална морула на четвърти ден след инсеминация. Границите между бластомерите са заличени и трофоектодермалните клетки са оформени като периферни, плоски клетки.

-От пети до седми ден

В този период се формира бластоциста, която се състои от два вида клетки:

1. Вътрешна клетъчна маса (ICM), от която се развива ембриобласта, т.е. същинския ембрион;

2. Трофоектодермални клетки тапициращи бластоцистната кухина и образуващи течност. От тези клетки се образуват екстраембрионалните структури на бременността: плацентата, пъпна връв и околоплодни мембрани.

Трансферът на бластоциста улеснява селекцията на ембрионите с висок имплантационен потенциал, намалявайки необходимостта от трансфер на няколко ембриона, което от своя страна намалява риска от многоплодна бременност.

Бластоцистите се класифицират по тяхната морфология :

1. Ранна бластоциста - има малка бластоцистна кухина заемаща под 50% от ембриона;

2. Разрастваща се бластоциста, която има голяма бластоцистна кухина с добре оформени трофектодерм и вътрешна клетъчна маса;

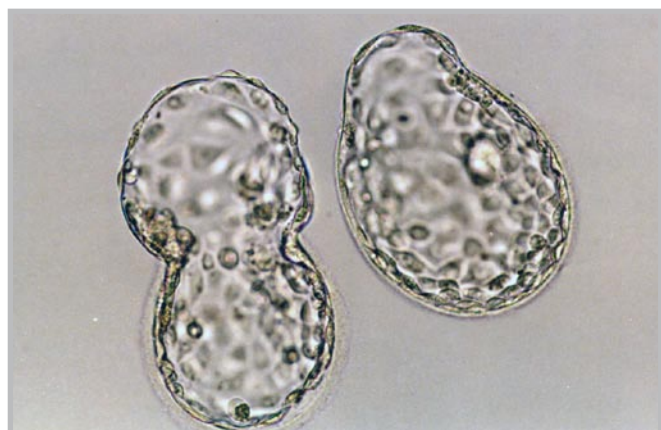
3. Напълно разрастнала се бластоциста .Обемът на бластоцистната кухина е нарастнал значително (250 - 280 микрометра) и zona pellucida е силно изтъняла;

Последният важен процес преди имплантацията е излюпването на ембриона (hatching)- излизане на бластоцистата от zona pellucida, което става на 5 - 7 ден от инсеминацията.



фиг.56 ,ув.х400

Експандиращ бластоцист на пети ден след инсеминация. Zona pellucida е силно изтънена и разкъсана от група трофоектодермални клетки. Визуализира се група клетки наречена вътрешна клетъчна маса (ICM), която представлява същинския ембрион(ембриобласт).



фиг.57 ,ув.х200

Две бластоцисти в процес на излюпване на пети ден след инсеминация. Левият бластоцист е наполовина извън zona pellucida.



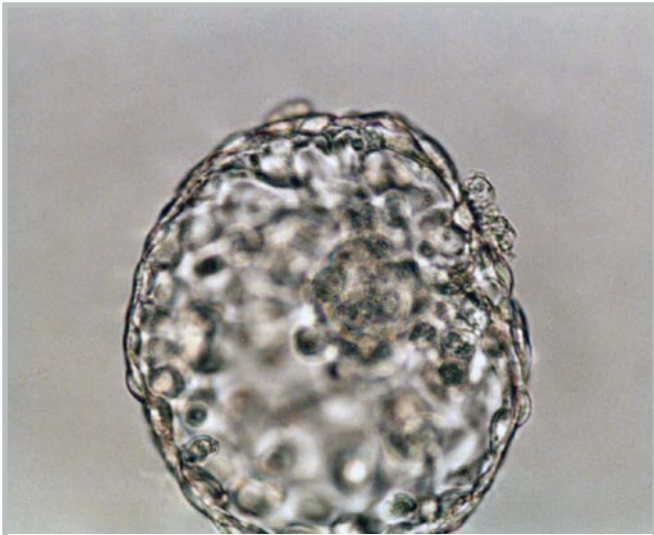
фиг.58 ,ув.х400

Напълно излюпен бластоцист на шести ден след инсеминация.



фиг.59 ,ув.х200

Напълно излюпен бластоцист, прогресивно увеличаващ размера си (сравни със zona pellucida).



фиг.60 ,ув.х400

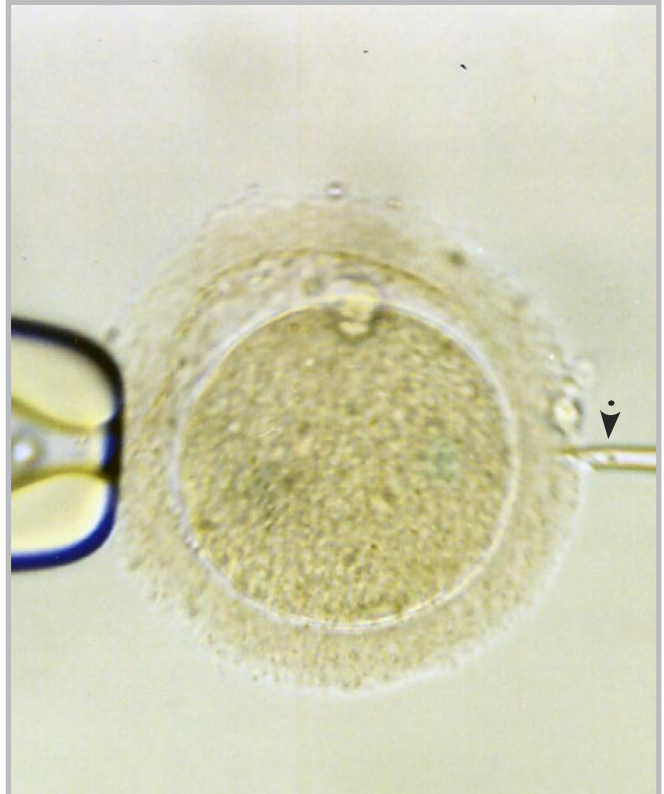
Излюпен бластоцист на шест дни.

ICSI

ICSI (Intracytoplasmic Sperm Injection) представлява инжектиране на един сперматозоид директно в цитоплазмата на яйцеклетката, преминавайки с микроинжекционната пипета през zona pellucida и оволемата.

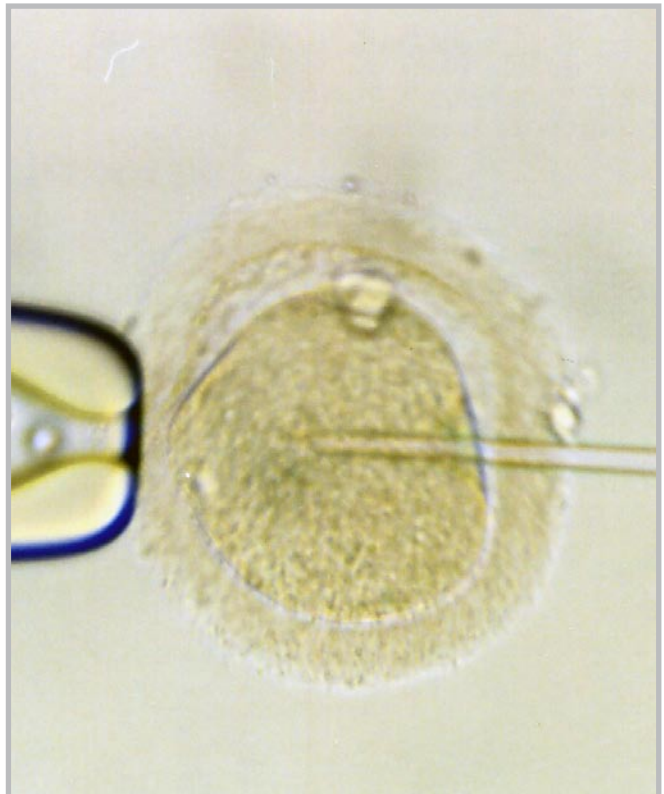
Тази техника на асистирана репродукция е насочена към лечение на мъжки стерилитет в резултат на увредена тестикуларна функция или обструкция на семепроводите, водещи до тежка олиго-астенотератозооспермия или дори до азооспермия.

Безплодието в резултат на обструктивна азооспермия може успешно да се лекува чрез извличане на сперматозоиди от биопсична тестикуларна тъкан, наричано за кратко TESE (Testicular Sperm Extraction, фиг.66-68) и последващо ICSI. Чрез TESE - ICSI могат успешно да се лекуват и някои форми на необструктивна азооспермия.



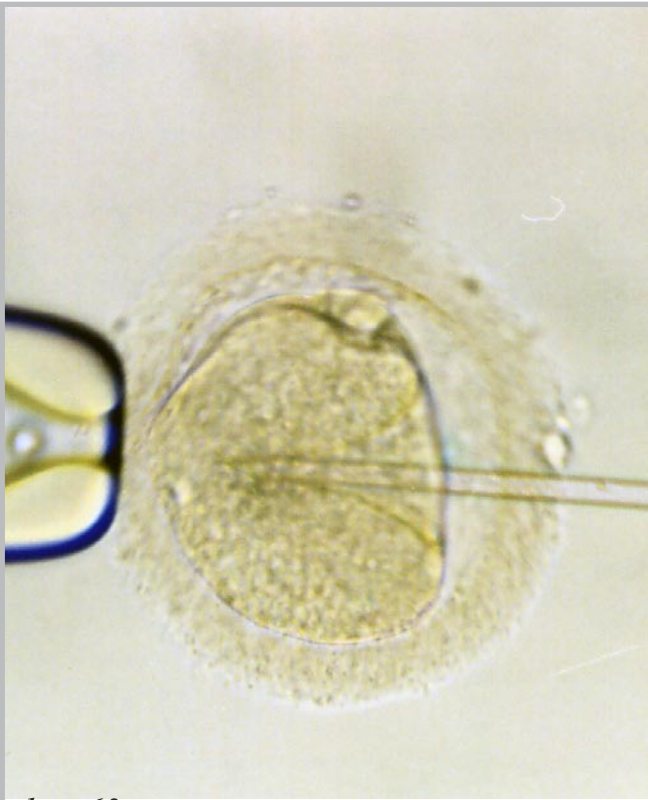
фиг.61

ICSI процедура.Позиция на иглите и яйцеклетката преди въвеждането на ICSI-иглата в яйцеклетката. На върха на ICSI-иглата се вижда сперматозоида.



фиг.62

Въвеждане на ICSI-иглата в яйцеклетката.



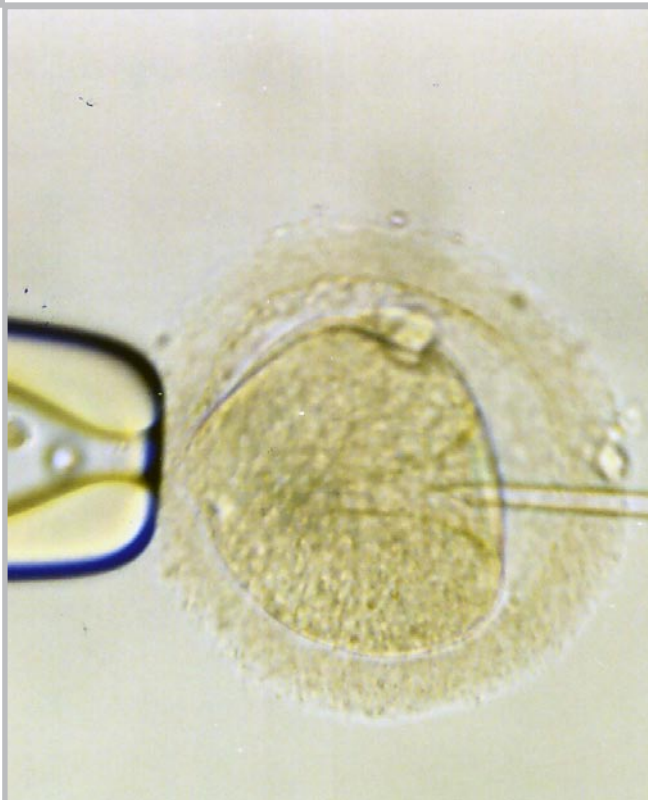
фиг.63

Аспириция на оволемата до рязко потичане на цитозол в ICSI-иглата, което е белег за руптура на оволемата. Следва внимателно инжектиране на сперматозоида в цитоплазмата.



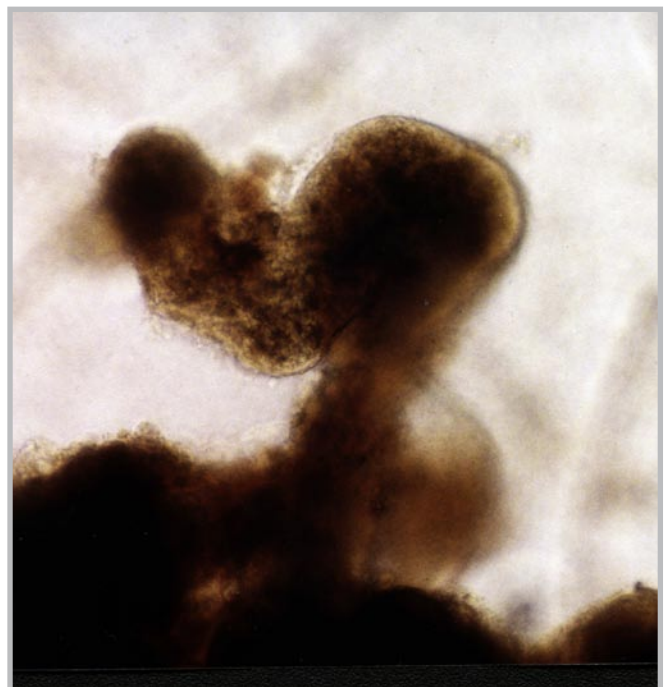
фиг.65

Сперматозоид в средата на цитоплазмата, непосредствено след неговото инжектиране.



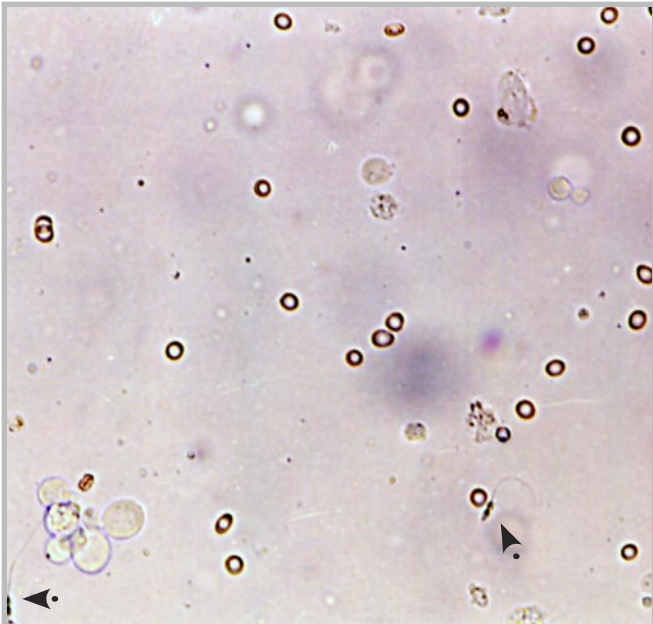
фиг.64

Изваждане на ICSI-иглата от яйцеклетката, след инжектирането на сперматозоида.

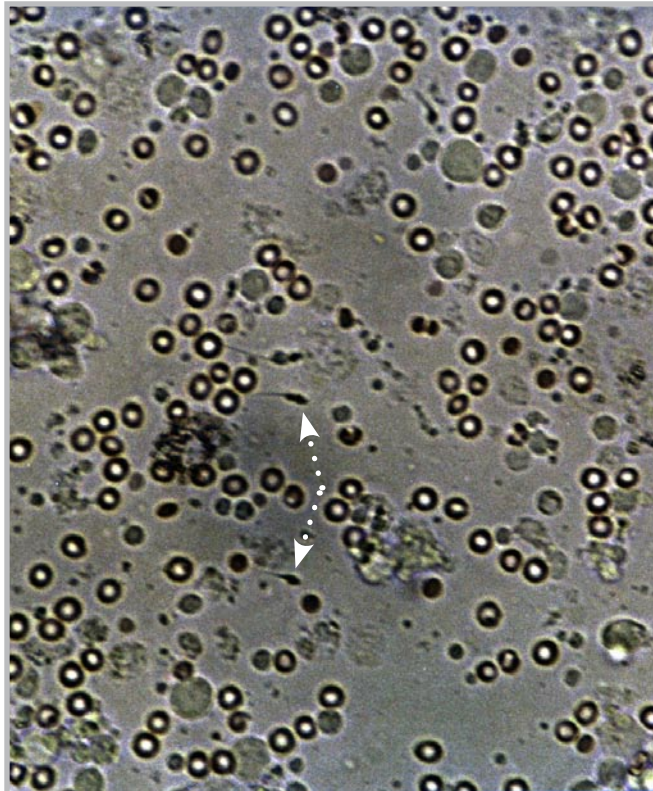


фиг.66

Семиниферен тубул от тестикуларна биопсия.



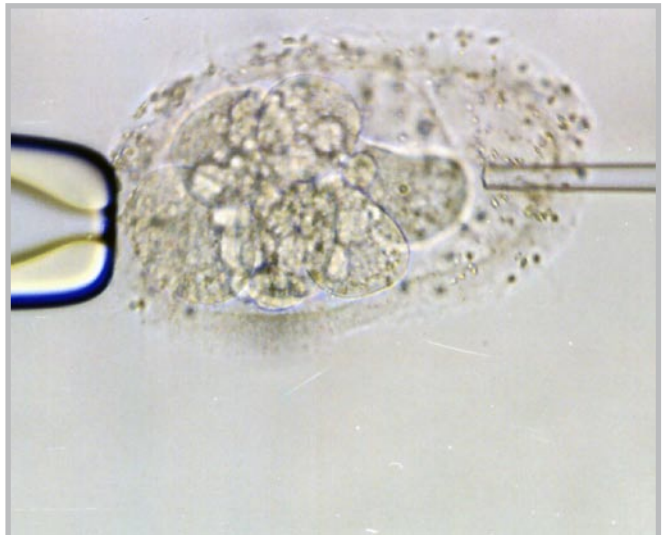
фиг. 67
 Тестбиопсия на тестикуларна тъкан, предхождаща същинската биопсия. Извършва се преди започването на ICSI-TESE и цели предварителното доказване на годни за ICSI сперматозоиди.



фиг. 68
 Биопсия на тестикуларна тъкан. В центъра на снимката се виждат зрели тестикуларни сперматозоиди.

Асистирано излюпване на ембрион (Assisted hatching)

Тази процедура цели да улесни и гарантира излюпването на ембриона, чрез разкъсване на zona pellucida, посредством химични или физични методи. Асистираното излюпване е с противоречива стойност в клиничната ембриология. Все пак се счита, че е показана при пациентки над 40 годишна възраст и при наличие на няколко несполучливи IVF-процедури.



фиг. 69
 Асистирано излюпване (Assisted hatching) на ембрион с лошо качество.



фиг. 70
 Асистирано излюпване (Assisted hatching)

