



МЕДИЦИНСКИ УНИВЕРСИТЕТ

Плевен

**Факултет Здравни грижи
Катедра Акушерски грижи**

Д-р Александър Константинов Кунев

**ФАКТОРИ, ВЛИЯЕЩИ ВЪРХУ УСПЕВАЕМОСТТА НА
ПРОЦЕДУРИТЕ ПО ИНТРАУТЕРИННА ИНСЕМИНАЦИЯ**

АВТОРЕФЕРАТ

**НА ДИСЕРТАЦИОНЕН ТРУД ЗА ПРИСЪЖДАНЕ НА НАУЧНО-ОБРАЗОВАТЕЛНА
СТЕПЕН „ДОКТОР“**

Област на висше образование: 7. Здравеопазване и спорт

Професионално направление: 7.1. Медицина

Научна специалност: Акушерство и гинекология

Научен ръководител: Доц. д-р Надежда Хинкова, дм

Официални рецензенти: Проф. д-р Елена Димитракова д.м.

Проф. д-р Стефан Иванов д.м.н.

Плевен

2019

Дисертационният труд е одобрен и насочен за защита от разширен катедрен съвет на катедра „Акушерски грижи“ , МУ – гр. Плевен.

Пациентите включени в проучването във връзка с дисертацията са преминали курс на лечение чрез интраутеринна инсеминация в “МЦРЗ Д-р Щерев” гр. Русе. Дисертационният труд съдържа 142 страници и е онагледен с 13 таблици и 31 фигури и снимки. Библиографията обхваща 175 литературни източника, от които на кирилица са 8 и 167 на латиница.

Защитата на дисертационния труд ще се проведе на 28.10.2019г. от 13:30 часа в зала «Луи Пастьор» на Факултета по Фармация към МУ-Плевен.

Съдържание

Използвани съкращения	4
Увод	5
Цел и задачи	8
Материали и методи	9
Методика при провеждане на интраутеринна инсеминация	9
Изследван контингент	12
Използвани методи	13
Клинични методи	13
Диагностични методи	14
Лабораторни методи	29
Информационни и анкетни методи	30
Статистически методи	31
Резултати, собствени проучвания и обсъждане	32
Влияние на възрастта върху успеваемостта на IUI	32
Влияние на изходните стойности на спермограмата на мъжа и начина на обработка върху успеваемостта на IUI	34
Влияние на BMI на мъжа и на жената върху успеваемостта на IUI	37
Влияние на реинсеминацията върху успеваемостта на IUI	39
Съпоставяне на резултатите от инсеминации на естествен и стимулиран цикъл	41
Влияние на обема на аплицираната проба и вида на използвания катетър върху успеваемостта на IUI	42
Съпоставяне на резултатите от партньорски инсеминации и такива с анонимен донор	44
Изводи	45
Приноси	47
Заклучение	47
Публикации във връзка с дисертационния труд	48

Използвани съкращения:

AI – Artificial insemination; изкуствена инсеминация

BMI – Body Mass Index

DGS – Density gradient separation

HSG – Hysterosalpingogram; ХСГ - хистеросалпингография

ID (KID; IUI – D) – insemination by donor

IH (KIH; IUI – H) – insemination by husband

IVF – in vitro fertilization

IUI – intrauterine insemination

TZI - teratozoospermia index; тератозооспермален индекс

АРТ – асистирани репродуктивни техники

ИТМ – индекс на телесната маса

СЗО – Световна здравна организация

УЗИ – Ултразвуково изследване

УВОД

Основен медико-биологичен фактор, който определя репродуктивното състояние на семейството и оказва влияние върху възпроизводствения процес е безплодието. Безплодието (лат. *Sterilitas*) е невъзможността да се осъществи оплождане, поради временно действаща или трайна причина.

Според Световната здравна организация (СЗО) безплодието е: „Болест на репродуктивната система, определена от неуспеха да се постигне бременност след 12 месеца или повече редовен, небезопасен сексуален живот“. [56]. От съвременна гледна точка, ненастъпването на бременност след 12 месеца при нормален полов живот и желание за дете се приема, че двойката е потенциално безплодна.

Причините за безплодие в семейството са многообразни. Те са може да са свързани, както с патологичните промени в репродуктивната система на жената и мъжа, така също и с наличието на извънгенитални заболявания. Поради тази причина се отбелязва голям напредък в изучаването на различни форми на безплодие и внедряването на нови методи на диагностика, лечение и профилактика с все по-голяма ефективност. Една от първите стъпки в развитието на асистиранията репродукция е изкуствената инсеминация (*Artificial insemination AI*).

Изкуствената инсеминация е метод за лечение на стерилитета, известен още от преди ерата на *in vitro* оплождането. Мнозина смятат този метод за съвременна технология, но първата успешна човешка вътрематочна инсеминация е извършена през 1950 г. и се предхожда от векове научни изследвания и експерименти.

Изкуствената инсеминация, процесът чрез който спермата се аплицира в женския репродуктивен тракт с цел да се постигне бременност, за първи път е тестван върху животни. Съвременните техники, използвани в тази процедура са били изпробвани първоначално върху едър рогат добитък от млекопроизводители, целящи да се подобри производството на мляко чрез заплождане на крави със сперма на „генетично добри“ бикове.

С развитието на науката, откриването на нови техники за обработка на сперматозоиди и подобряване успеваемостта на процедурите, се появяват различни видове инсеминации, различаващи се основно в подхода на поставяне на семенната течност: вътревагинална, вътрецервикална, вътрематочна и интрафалопиева инсеминация.

Най-добре разработения и най-често използвания в наши дни метод е вътрематочната инсеминация или *intrauterine insemination IUI*. Днес тя е усъвършенствана и има своето място в лечението на безплодните двойки. Същността на процедурата е в аплицирането на предварително обработени съпружески или донорски сперматозоиди директно в матката на жената. Методът е неинвазивен и значително по-евтин от различните модификации на оплождането *in vitro*. Много важно условие за провеждане на инсеминацията е наличието на поне една проходима маточна тръба.

В деня на очакваната овулация съпругът отделя материал (семенна течност), който се обработва в лабораторни условия. Целта на обработката е да се сепарират най-добре подвижните сперматозоиди, като същевременно гаметите се отмиват от семенната плазма, която съдържа простагландини, лимфокини, цитокини, както и антигени и инфекционни агенти.

Аплицирането на необработен еякулат в матката може да предизвика тежки инфекции и дори анафилактичен шок.

Обработката на семенната течност става в специализирани IVF лаборатории, оборудвани с необходимата за целта апаратура и разполагащи със специални хранителни среди, градиенти и други консумативи. Обработените сперматозоиди се аплицират в матката на жената със специално предназначен за това катетър за интраутеринна инсеминация, индивидуално опакован, стерилен, за еднократна употреба.

Показанията за прилагане на контролирана вътрематочна инсеминация са следните:

- 1) мъжки фактор: умерена олигозооспермия; астенозооспермия. При случаите на азооспермия или тежка олигозооспермия се прилага инсеминация с донорски сперматозоиди .
- 2) цервикален фактор при жената
- 3) неизяснен стерилитет
- 4) невъзможен коитус, дължащ се на проблеми с еякулацията, импотентност или вагинизъм.

Анализът на литературата за последните 15 години показва, че при конвенционалната интраутеринна инсеминация със сперматозоиди от партньора резултатите силно варират (между 3 и 26% по данни на различни автори). Факторите, влияещи върху резултативността на процедурите по интраутеринна инсеминация са много, като най-общо могат да бъдат

разделени на две групи: физиологични и технологични. В групата на физиологичните влизат възраст на жената, общ медицински статус, стойности на спермограмата на мъжа. Към технологичните фактори спадат начинът на обработката на семенната течност, стимулация на цикъла, обем на инсеминационната проба, вид на използвания катетър и др.

Цел и задачи

Целта на настоящето проучване е да се изследва влиянието на някои от основните фактори, определящи резултата при лечение на инфертилитет чрез процедура по интраутеринна инсеминация. За целта се поставят следните задачи:

1. Да се съпоставят различни възрастови групи на жени, подложени на вътрематочна инсеминация, като се определи оптималната възраст за постигане на най-висок процент успешни процедури.
2. Да се изследват изходните стойности на спермограмата и начина на обработка на семенната течност.
3. Да се определи влиянието на ВМІ на мъжа и жената върху успяемостта на процедурата.
4. Да се оцени ролята на повтарянето на инсеминацията на следващия ден (реинсеминацията), като средство за положително повлияване на крайния резултат.
5. Да се оцени ефективността на стимулация на овулацията, при жени с ановулаторни цикли, като се използват различни уринарни и рекомбинантни гонадотропини, както и мониторирането на цикъла при жени с нормален овулаторен цикъл, за правилно отчитане на настъпила овулация.
6. Да се определи значението на обема на аплицираната проба и вида на използвания катетър.

7. Да се съпоставят резултатите от инсеминация със сперматозоиди на партньора и такава със замразени сперматозоиди от анонимен донор.

Материали и методи

1. Методика при провеждане на интраутеринна инсеминация

- Предварителна подготовка

Дейностите по предварителна подготовка засягат както жената, така и мъжа. Като стартова точка са необходими микробиологични изследвания на влагалищен секрет за жената и еякулат за мъжа, както и кръвни тестове за HIV, хепатит В и С и сифилис, съгласно Наредба 28 за Дейности по Асистирана Репродукция.

За мъжа основната подготовка се изразява в изследване на еякулата (разширена спермограма) и при нужда стимулираща терапия.

При жената се проследява спонтанен естествен цикъл или при нужда се индуцира овулация с лека стимулация. Редовно се изследват плазмените нива на FSH, LH и E₂ и се извършват чести ултразвукови прегледи. Ако имаме възможност да уловим LH-пика с кръвен или уринарен тест, то настъпването на овулация става от 12 до 20 часа след това. При използването на Прегнил 5000 Е мускулно това време е от 34 до 38 часа, т.е. средно 36 часа. Ние използваме предимно прегнил, който аплицираме мускулно при наличие на следните условия: да имаме доминантен фоликул 19-22 мм, ендометриума да е >M, тип 11-12 мм и да видим SR синдром в цервикалния канал. При близо 85% от пациентите овулацията настъпва и ние я доказваме по ултразвуков път като видим колабирал фоликул на мястото на доминантния и свободна течност в *Cavum Douglasi*.

При установена овулация чрез ехограф или LH-пик се пристъпва към същинското инсеминиране.

- В деня на овулацията и интраутеринната инсеминация (*Фиг. 1*)

След установяване на овулация, партньорът отделя семенна течност, като преди това е добре да има от 3 до 5 дни полово въздържание. Еякулатът се анализира в семинологичната лаборатория и се обработва по подходящ начин (simple washing, swim up, gradient separation). Чрез обработката от него се изолират и концентрират само качествените подвижни сперматозоиди в подходяща среда. В стерилна спринцовка се изтеглят 0,5 – 0,8 мл от обработената проба, поставя се катетър за интраутеринна инсеминация и се предава от биолога в лабораторията на лекаря в манипулационната, в която ще се извърши процедурата.

Самата процедура на инсеминиране е кратка, не отнема повече от 5-10 минути и не изисква анестезия и не е болезнена. Жената е позиционирана на гинекологичен стол, както е при стандартен гинекологичен преглед. Поставя се спекулум, за да се визуализира маточната шийка, след това се почиства шийката, катетърът се вкарва през цервикалния канал и пробата се аплицира в матката на жената. След извършването на инсеминацията пациентката остава в легнало положение 15-30 минути.

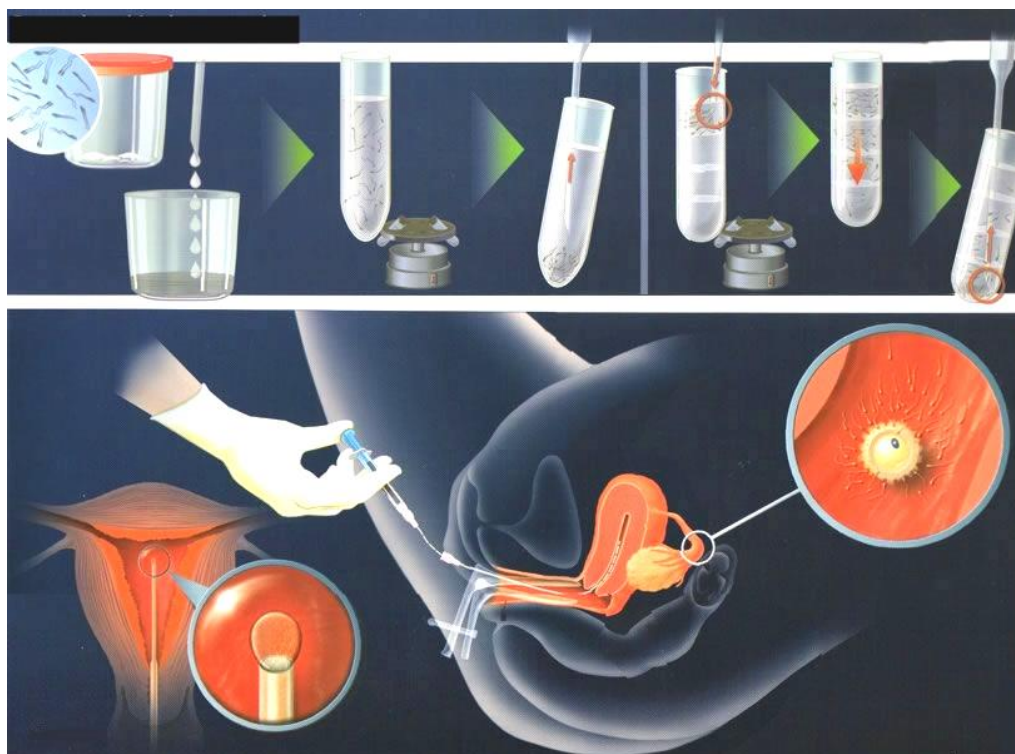
- След инсеминацията

Препоръчителна е поддръжка на лутеалната фаза с цел доставяне на оптимално количество прогестерон. Това от своя страна води до поддръжка на лигавица с дебелина над 8-9 мм в подхорящ секреторен вид от една страна, а

от друга променя цитотоксичния отговор в посока на задържане на бременността.

Препаратите, които се използват могат да се дават през устата (например Утрогестан и Дуфастон), локално (напр. гел Кринон) или мускулно (напр. Прегнил по 1500 Е през 3 дни).

Около 14 дни след инсеминацията може да се установи наличие или липса на бременност чрез уринарен или по-точно чрез кръвен тест за бременност (β -ЧХГ).



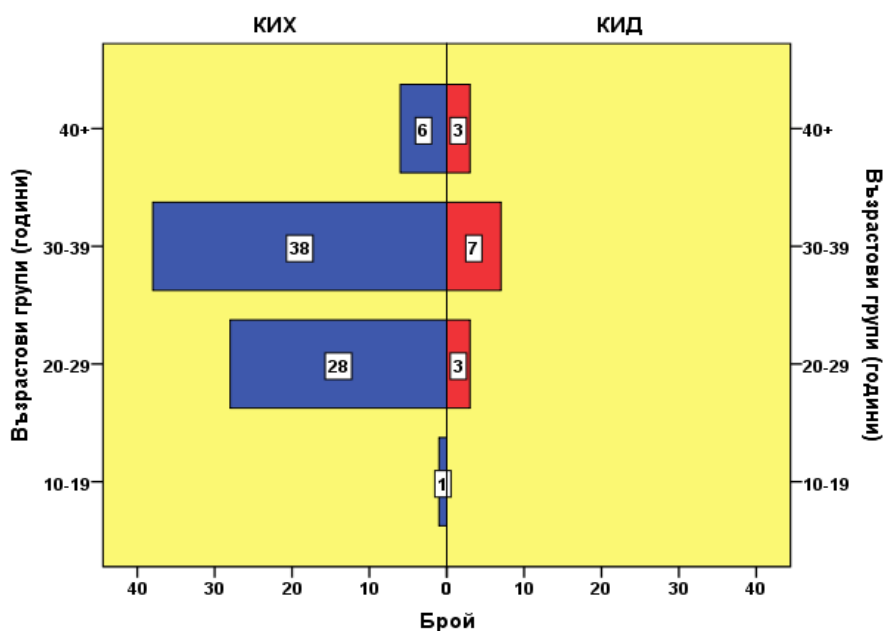
Фигура 1: В деня на инсеминацията

2. Изследван контингент

Проведено е ретроспективно клинично проучване относно циклите на вътрематочна инсеминация на жени, преминали курс на лечение в “МЦРЗ Д-р Щерев” гр. Русе за периода от март 2012 до декември 2015 г.

В проучването участват 86 жени със средна възраст $31,83 \pm 5,58$ години в диапазона 19-43 години. От тях 73 (84,9%) са от групата КИН и 13 (15,1%) от група КИД.

Възрастовата група с най-голяма численост (38) от група КИН е 30-39 години, следвана от 20-29 години с 28, а с най-малка (1) – 10-19 години. В група КИД с най-голяма численост (7) е възрастова група 30-39 години, следвана от 20-29 и 40+ години с по 3, докато по-млади от 20 години в тази група липсват напълно (фиг. 2).



Фигура 2: Разпределение на участниците в проучването по групи и възраст

3. Използвани методи

3.1. Клинични методи

- Снемане на акушеро-гинекологична анамнеза на жената и оценка на обективното ѝ състояние и гинекологичен статус
- Андрологичен преглед на мъжа
- Установяване на бременност се изследват стойностите на хормона Човешки хорион-гонадотропин (hCG).

hCG се продуцира от плацентата по време на бременност. Биологичното действие на hCG е свързано с поддържане на жълтото тяло по време на бременността. Серумът на бременна жена съдържа главно интактен hCG. hCG може да бъде регистриран с кръвен тест най-рано около 11 дни след зачеване. В общия случай hCG се удвоява на всеки 48-72 часа, като нивата му достигнат най-високи стойности в 8 до 11 гестационна седмица и след това намаляват през останалата част от бременността, без да се нормализират. Нива на hCG по-ниски от 5mIU/ml се разглеждат като отрицателен тест за бременност, и всяко ниво по-високо от 25mIU/ml се разглежда като положителен тест за бременност. Разглеждането на еднократно изследван hCG е недостатъчно като информация за диагностика. Когато има въпроси касаещи здравето на бременността, многократното изследване на hCG през 2 дни дава много по-точен поглед на ситуацията. Чрез трансвагиналния ултразвук може да се види най-рано гестационен сак, когато ЧХГ нивата достигнат 1000 - 2000mIU/ml. След положителен кръвен тест за бременност, ако стойностите на hCG са над 25mIU/ml, пациентките се преглеждат с ултразвук седмица след теста. Проследяване на бременността е

индивидуално определено. В случаите, когато има т.нар „биохимична бременност”- положителен тест, без развитие на клинична бременност, на пациентките се препоръчва да изчакат 1 месец преди следваща процедура.

3.2. Диагностични методи

- Изследване на семенната течност (спермограма)

То е първото и задължително условие в андрологичната практика. Предоставя важна информация за цитогенната функция на тестисите и секреторната дейност на акцесорните полови жлези. Точното отчитане на параметрите на еякулата и отклоненията в основните показатели, позволява своевременно насочване към използване на разширени диагностични методи – морфологични (цитологични, цитохимични, биопсични), хормонални, микробиологични, имунологични и други (Fauser et al., 2003; WHO, 1992).

Спермата се получава чрез мастурбация след период от 2 до 5 дни полово въздържание, тъй като при по-малко от 2 дни може да покаже понижена концентрация, а при повече от 5 дни понижена подвижност. Препоръчва се пациентът да не е употребявал алкохол през последните 24 часа и антибиотици през последните 10 дни.

Пациентите осигуряват еякулата в стерилен лабораторен контейнер. Получаването става на място. Контейнерите задължително се етикетират предварително с имената на пациента. След отделяне на семенна течност от пациента, контейнерът се предава в семинологична лаборатория, където се отчитат отделните параметри на спермограмата, в зависимост от това дали тя е обикновена или разширена.

При макроскопското изследване на еякулата се определят:

Време на втечняване – след отделяне, семенната течност се оставя за до 30 минути при 37°C или до 60 минути при стайна температура да се втечни. Отчита се времето на втечняване и се пристъпва към отчитане на останалите параметри на спермограмата.

Обем на еякулата – измерва се най-често със спринцовка. Като норма се приема обем между 2,0 и 6,0 мл. При обем < 2,0 мл се поставя диагноза хиповолемия, а при такъв > 6,0 мл хиперволемия.

Цвят – нормално цветът се определя като опалесцентен, бял до бледо жълт цвят, слонова кост. Ако еякулатът има жълт или червеник цвят – това е показател за възпаление. Цветът може да е бисър/прозрачен, обикновено при ниска концентрация на сперматозоиди или азооспермия.

Вискозитет – отчита се като нормален ако след аспирация на в спринцовка втечненият еякулат пада на капчици. Ако се точи на нишки до 2 см вискозитетът е повишен, а ако нишките са повече от 2 см, то вискозитетът е силно повишен. Повишеният вискозитет обикновено се свързва с наличие на инфекция или проблем с простатните секрети и изисква задълбочен преглед при специалист уролог-андролог.

Желатинови образувания – отчита се наличието или липсата им в еякулата.

pH – измерва се чрез pH ленти, като нормата е между 7,5 – 8,0.

При микроскопското изследване на еякулата се отчитат:

Аглутинати – наличие или липса на слепвания между подвижни сперматозоиди. Определя се големината на аглутинатите според броя сперматозоиди, участващи в слепването и вида на аглутинатите според мястото на слепване: главична, опасна или смесена аглутинация. Наличието на аглутинати може да е признак на автоимунни антитела и се препоръчват допълнителни диагностични тестове.

Агегати – отчита се наличие или липса на слепвания на сперматозоиди с други клетки или на слепване между неподвижни сперматозоиди помежду им.

Други клетки – описват се клетките, различни от сперматозоиди, например епителни клетки, еритроцити, кръгли клетки. Наличието на кръгли клетки с концентрация $>5 \cdot 10^6$ се определя като патология. Кръглите клетки могат да са незрели сперматозоиди, което е показател за увреждане на тестикуларните функции или левкоцити, което е показател за възпаление.

Определяне на концентрацията и подвижността на сперматозоидите – използва се специална броителна камера Makler[®] (MTG, Germany, *фиг. 3*). Тази камера е с дебелина $10\mu\text{m}$ ($1/10$ от хемоцитометъра), което я прави най-плоската от всички известни броителни камери. Сперматозоидите се движат в една фокална равнина. Камерата има мрежа с 10×10 квадрата. Размерът на един квадрат е $100\mu\text{m} \times 100\mu\text{m}$. Капка от втечнената проба се накапва в камерата, поставя се покривното стъкло без да се притиска и пробата се гледа на светлинен микроскоп с фазов контраст.

Преброяват се сперматозоидите в 10 квадрата на зрително поле, подобно на хемоцитометър. Този брой, умножен по 10^6 е **концентрацията на сперматозоидите в 1 мл** като норма за тази концентрация се приема $\geq 20 \cdot 10^6$

сперматозоида/1мл. Тази концентрация се умножава по обема на пробата и така получаваме **общата концентрация на спематозоидите в целия обем.** При понижена концентрация на сперматозоидите се поставя диагноза Olygozoospermia..

При липса на сперматозоиди в нативния еякулат се пристъпва към центрофугиране на пробата. Ако в утайката се открият сперматозоиди се поставя диагноза Cryptozoospermia, а ако и там липсват сперматозоиди – Azoospermia.



Фигура 3: Makler counting chamber

След това се отчита подвижността на сперматозоидите като последователно се преброяват: бързо прогресивно подвижните сперматозоиди (тип А), бавно прогресивно подвижните (тип В), непрогресивно подвижните (тип С) и неподвижните (тип D).

Броят на сперматозоидите от всеки тип подвижност се преизчислява в съответната им концентрация в 1 мл, а сборът от тези концентрации дава концентрацията на сперматозоидите в 1 мл. След това подвижността се преизчислява в проценти по формулата:

Брой сперматозоиди от типа подвижност

$$\frac{\text{Брой сперматозоиди от типа подвижност}}{\text{Общ брой сперматозоиди в 1 мл}} \cdot 100 = \% \text{ сперматозоиди от тази подвижност}$$

Като норма се приемат стойности при които тип А $\geq 25\%$, тип А+В $\geq 35\%$, а подвижните сперматозоиди като цяло (тип А+В+С) $\geq 40\%$. При намалена подвижност се поставя диагноза Asthenozoospermia, а при липса на подвижни сперматозоиди – Necrozoospermia.

Анализ на морфологията на сперматозоидите – извършва се съгласно стриктните критерии на Крюгер (Разширена спермограма). За анализ на морфологията се прави намазка от семенната течност върху предметно стъкло, фиксира се и се оцветява. Правилната оценка на морфологията е важна част, защото има данни, че влошената морфология на сперматозоидите е свързана със спонтанните аборти.

Основните части на сперматозоида са глава, шийка, междинна част и опашка. Съгласно стриктните критерии на Крюгер, един сперматозоид е нормален, ако липсват дефекти във всяка от тези части. (Фиг. 4)

Главата трябва да е с овална форма и размери дължина 4-5 μm и ширина 2,5-3,5 μm . Акрозомният участък да се разграничава добре, да заема 40-70% от главата и да не съдържа големи или повече от 2 малки вакуоли. Междинната част трябва да е с дължина приблизително колкото дължината на главата, без задебеления и основната ѝ ос да съвпада с главната ос на главата. Цитоплазматичните остатъци с големина повече от

1/3 от главата на сперматозоида също се смятат за дефект. Опашката на сперматозоида трябва да е постепенно изтъняваща по дължината си, без счупвания под ъгъл по-малък от 90°.

Най-често срещаните аномалии в морфологията са:

В областта на главата – микроцефалия, макроцефалия, аморфни, крушовидни, удължени, кръгли глави, липса или малка акрозома, наличие на вакуоли, двойни главички;

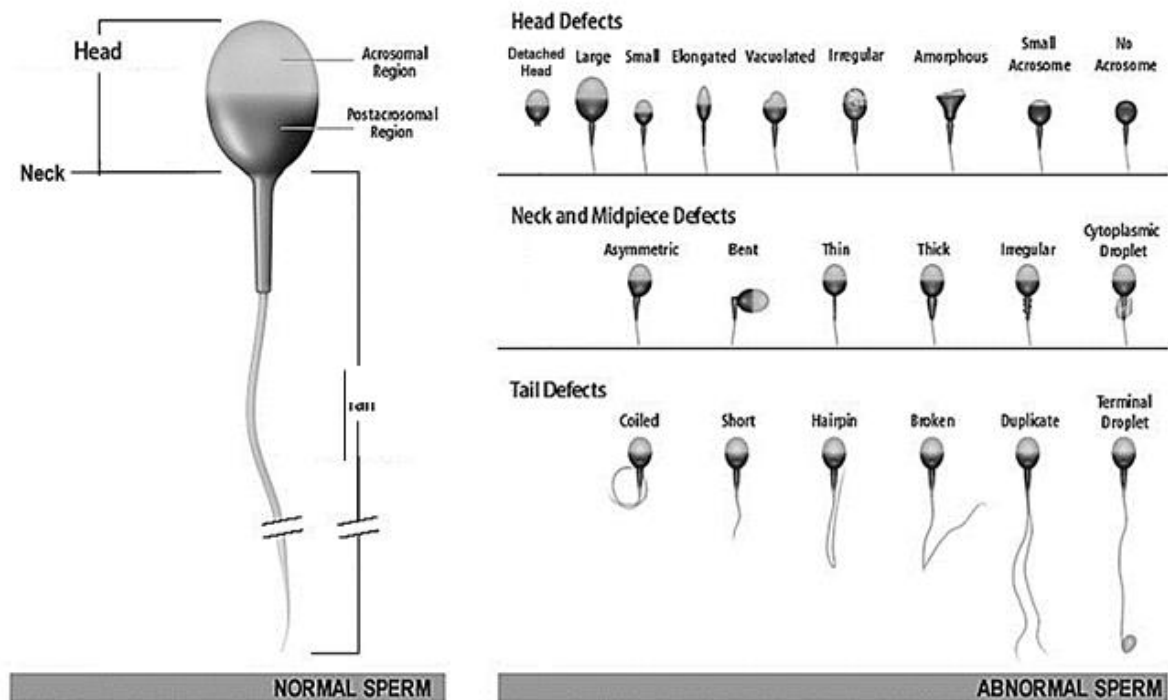
В областта на шийката и междинната част – асиметрично разположение спрямо главата, удебелена, тънка, огъната, с цитоплазматични остатъци;

В областта на опашката: пречупена под ъгъл 90°, къса, завита, двойна;

За анализ на морфологията се преброяват най-малко 200 сперматозоида и се отчитат: брой сперматозоиди с дефекти в главата, брой сперматозоиди с дефекти в шийката, брой сперматозоиди с дефекти в опашката, брой сперматозоиди с цитоплазматични остатъци. Изчислява се TZI тератозооспермален индекс, като нормата му е $\leq 1,6$.

Резултата се извежда като % сперматозоиди с нормална морфология и % сперматозоиди с абнормална морфология. Съгласно СЗО при $\leq 4\%$ сперматозоиди с нормална морфология се поставя диагноза Teratozoospermia и ниска оплодителна способност; при 5-14% сперматозоиди с нормална морфология – Normozoospermia с прогноза за вероятна или вероятна към ниска оплодителна способност; при $>14\%$

сперматозоиди с нормална морфология – Normozoospermia с добра оплодителна способност.



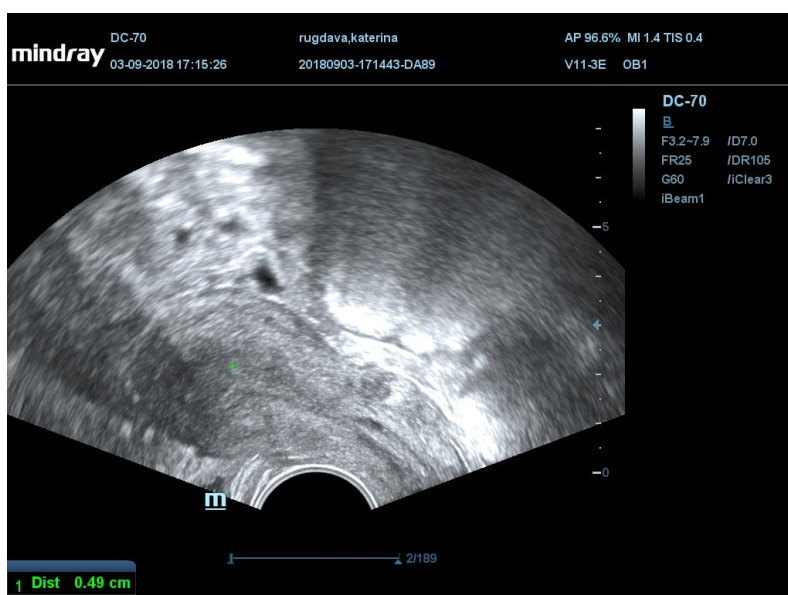
Фигура 4: Схема на сперматозоиди с нормална морфология и аномалии в морфологията

- УЗИ

От първия ден на менструалния цикъл, пациентките подлежат на периодичен ултразвуков преглед с цел проследяване на овулацията. Фоликулометрия (дебелина на ендометриума, наличието на доминантен фоликул, SR синдром), хидротубация под ултразвуков контрол. Различаваме три фази: менструална, фоликуларна и секреторна.

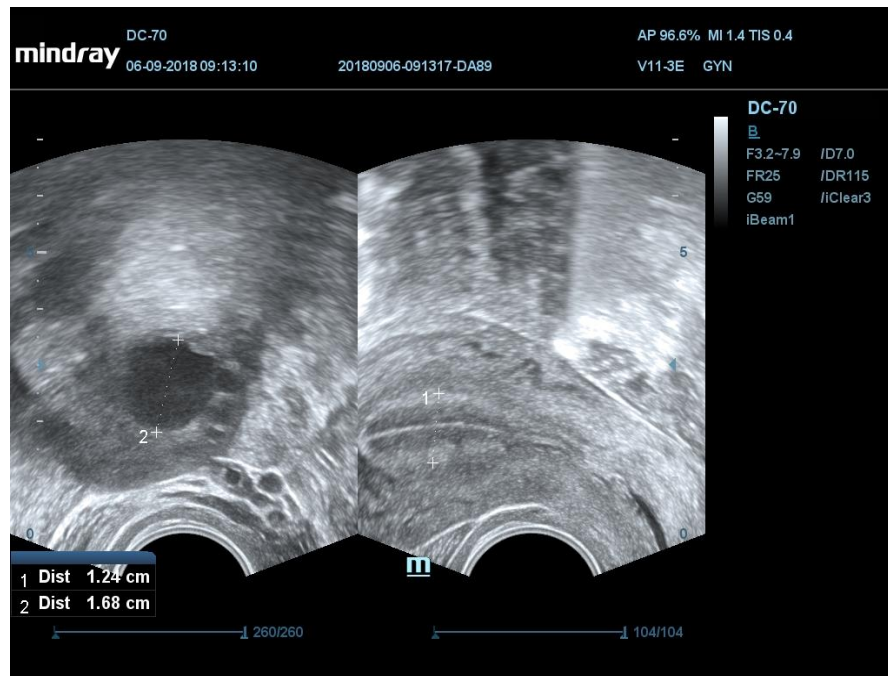
В началото на цикъла е менструацията. Под менструация се разбира настъпващото след смъртта на яйцеклетката изхвърляне на подготвения

предварително за леговище на очакваната оплодена яйцеклетка, но неизползван за тази цел функционален слой на ендометриума, протичащо с кръвотечение. Менструалната течност съдържа кръв, клетки от лигавицата на матката (ендометриални клетки) и слуз. Средната продължителност на периода е между три дни и една седмица, в зависимост от жената. На ехография се вижда еднородна хомогенна дебела черта от 2 до 5 мм (Фиг. 5).



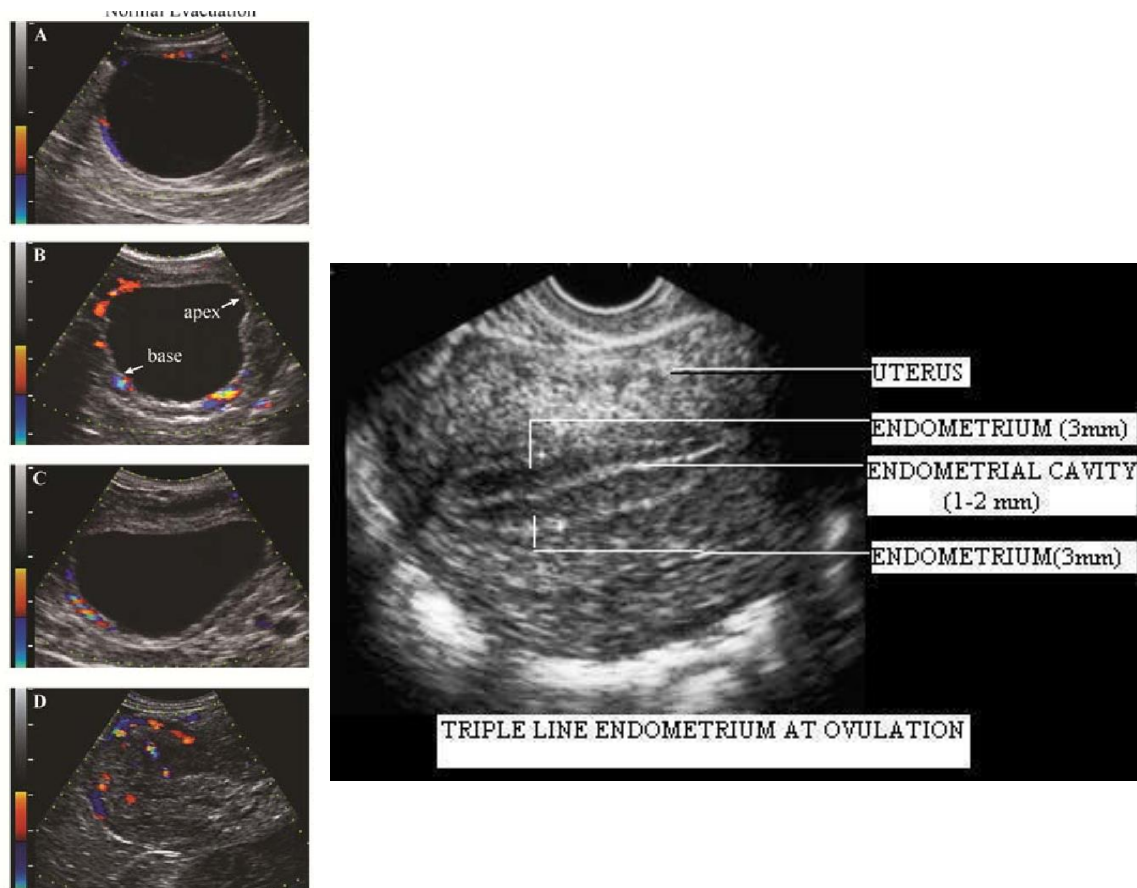
Фигура 5: УЗИ във фаза на менструация

Фоликулярна фаза започва на първия ден на менструацията и завършва с овулацията. Фоликуло-стимулиращият хормон стимулира яйчниците да произведат около пет до 20 фоликула. Само един фоликул от всички ще узрее в яйцеклетка, докато другите умират. Това може да се случи на около 10-я ден на 28-дневен цикъл. Растежът на фоликулите стимулира лигавицата на матката, за да се стъсти в подготовка за възможна бременност. Ехографски това се визуализира с Ендометроум с вид на устни или „мида“ М тип от 6 до 12 мм. (Фиг. 6).



Фигура 6: УЗИ по време на фоликуларна фаза

Овулацията се нарича процесът на пукане на фоликул в яйчника на жената, в резултат на което се освобождава яйцеклетката годна за оплождане. Процесът настъпва 14 дни преди края на цикъла или средно от 24 до 36 часа след повишаване на Лутеинизиращия Хормон. Продължителността на процеса трае 1 – 2 дни, а освободената яйцеклетка може да живее само от 12 до 24 часа. Наблюдават се четири отличителни ехографски маркера. Първият е М тип лигавица 10-12 мм. Вторият е наличие на ”SR“ феномен или наличие на цервикална слуз в цервикалния канал която служи като депо за сперматозидите и за капацитация.. Третият е наличие на свободна течност зад матката която отговаря на фоликуларна течност от спукания фоликул. Четвъртия признак по-рядко се вижда и е една идея по ехо-позитивна стена на матката, дължаща се на хиперемия на серозатана матката, в подготовка за възможна бременност (Фиг. 7).



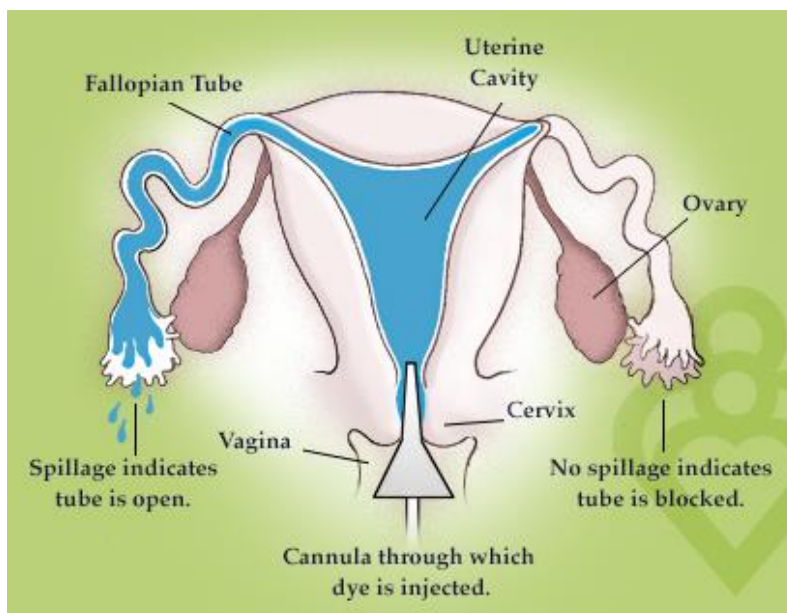
Фигура 7: УЗИ по време на овулация

Лутеалната фаза: по време на овулацията, яйцеклетката се освобождава от своя фоликул, но разкъсаният фоликул остава на повърхността на яйчника. За следващите две седмици фоликулът се превръща в структура, известна като жълтото тяло. Тази структура започва освобождаване на прогестерон заедно с малки количества естроген. Ако оплодената яйцеклетка се имплантира в лигавицата на матката, тя произвежда хормони, които са необходими за поддържане на жълтото тяло. Жълтото тяло продължава да произвеждат повишени нива на прогестерон, които са необходими за поддържане лигавицата на матката. Ехографски това се вижда като хомогенна по-малко или по-

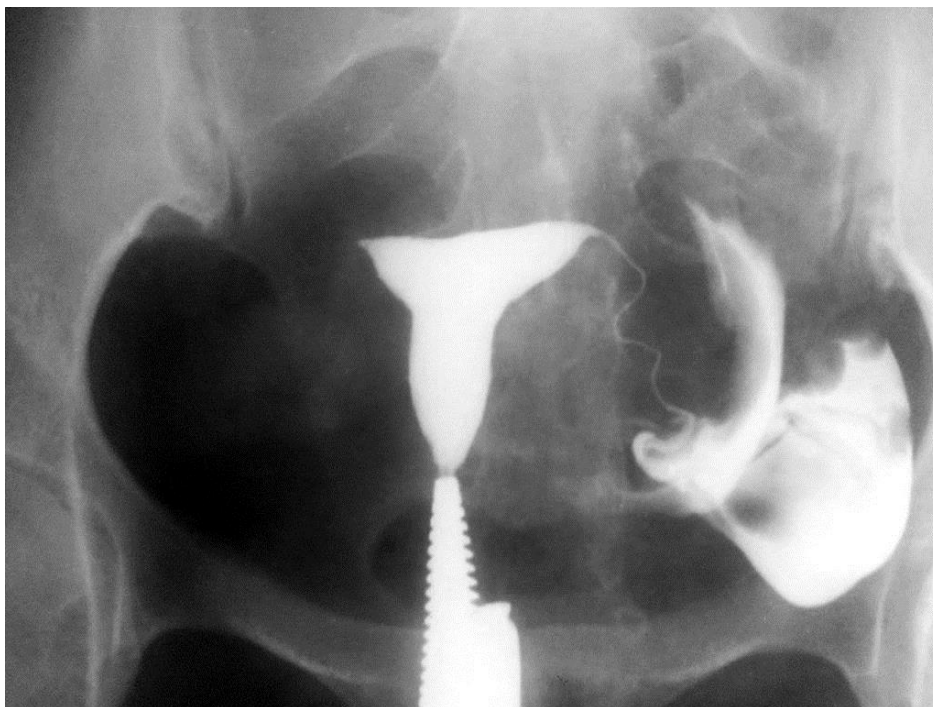
зърниста структура на лигавицата и се отбеляза в две подфази-S1 и S 2 тип 10-11 мм.

- Рентгенови

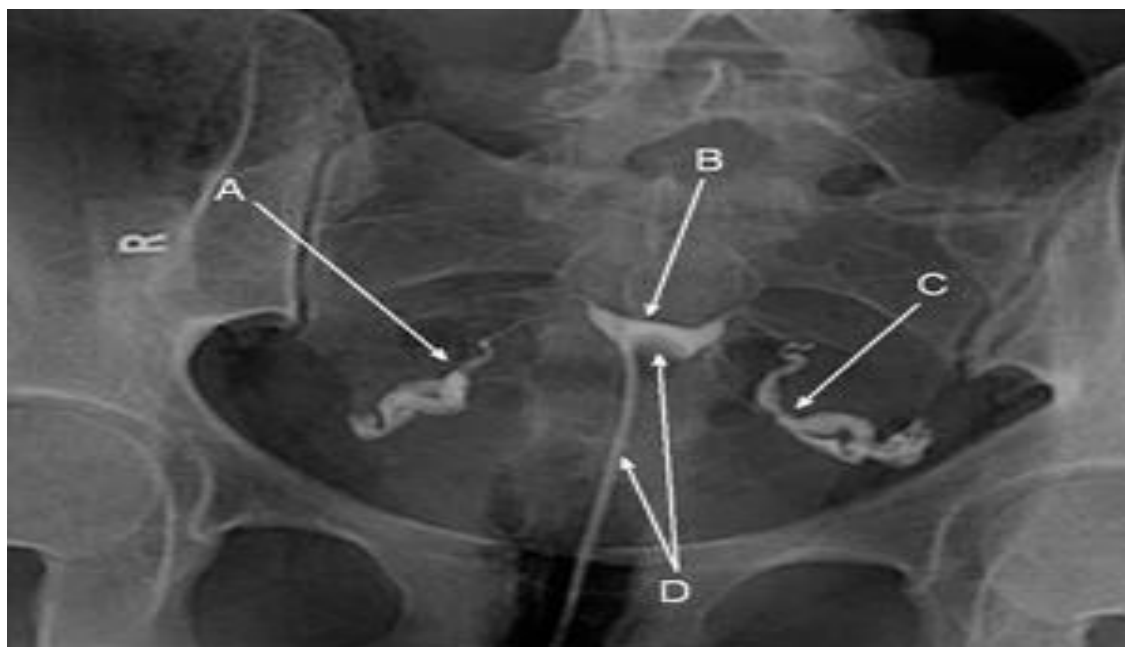
Хистеросалпингография – извършва се между 6-11 ден от менструалния цикъл за да се избегне възможното влияние на рентгеновите лъчи по време на ранна бременност. Поствя се спекулум, цервикса се защищава и се държи на място с тенакулум (*tenaculum*). Маточната шийка се почиства и специален канюла/катетър се вкарва през шийката на матката в самата матка. Контрастното вещество се инжектира през тръбичката (Фиг. 8). Ако фалопиевите тръби са нормални, контраста минава през тях и се излива в коремната кухина, където се абсорбира естествено от тялото. Ако фалопиевите тръби са запушени от сраствания, контраста не минава през тях. След вливането на контрастното вещество се прави и самата снимка. (Фиг. 9 и Фиг. 10) След теста, катетъра се отстранява.



Фигура 8: Схема на методиката на HSG



Фигура 9: Резултат от HSG – дясна запушена тръба и лява с нормална проходимост



Фигура 10: Резултат от HSG – А дясна тръба; В маточна кухина; С лява тръба; D катетър

- Методи на обработка на еякулата за интраутеринна инсеминация

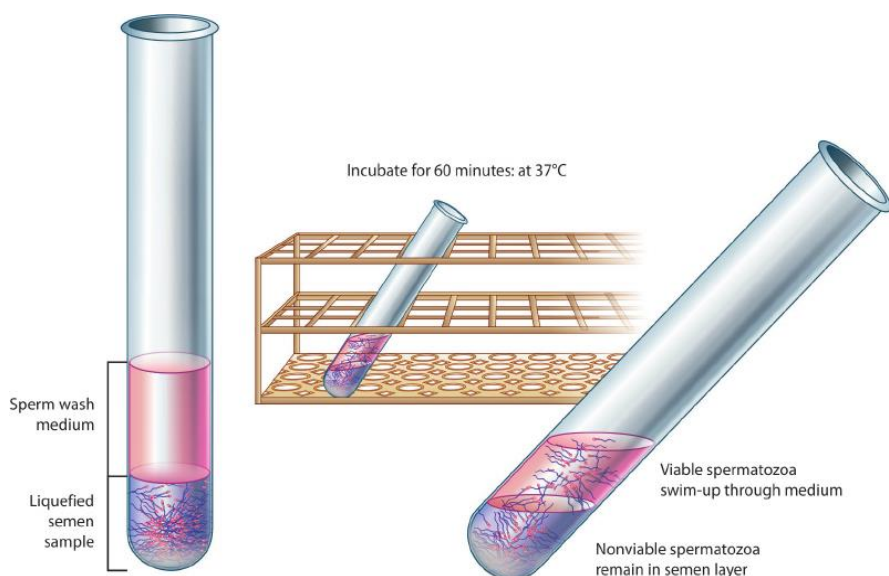
Към интраутеринна инсеминация се пристъпва след направени поне две спермограми на мъжа през определен интервал от време, от които е установено, че той е подходящ за тази процедура. В деня на самата инсеминация се прави също експертиза на отделения еякулат и след това се избира подходящ метод за обработка. Целта на обработката е да се отстрани семенната плазма, различните от сперматозоиди клетки, аглутинатите и неподвижните сперматозоиди и да се концентрират най-добрите подвижни сперматозоиди, защото те имат най-добра оплодителна способност и могат да достигнат яйцеклетката и да я оплодят след инсеминацията.

Важно е да се избере подходящ метод за обработка според спермограмата на всеки отделен пациент, защото резултатът от обработката има пряко отношение към успеха на инсеминацията. Най-често използваните методи са, при обработка за интраутеринна инсеминация са: Simple washing, Swim up, Gradient separation, като по прецента на биолога могат да се прилагат и в различна комбинация помежду им според изходните стойности на спермограмата.

Simple washing (Центрофугиране и промиване с хранителна среда) – обработените по този метод сперматозоиди могат да се използват само за партньорска инсеминация или след това обработката им да продължи с друг метод. Методът е подходящ за обработка на проби с по-ниска концентрация на сперматозоиди, но не е подходящ при такива, които съдържат агрегати, аглутинати и голямо количество кръгли клетки. При този метод в центрофужна епруветка се смесват семенна течност и хранителна среда в

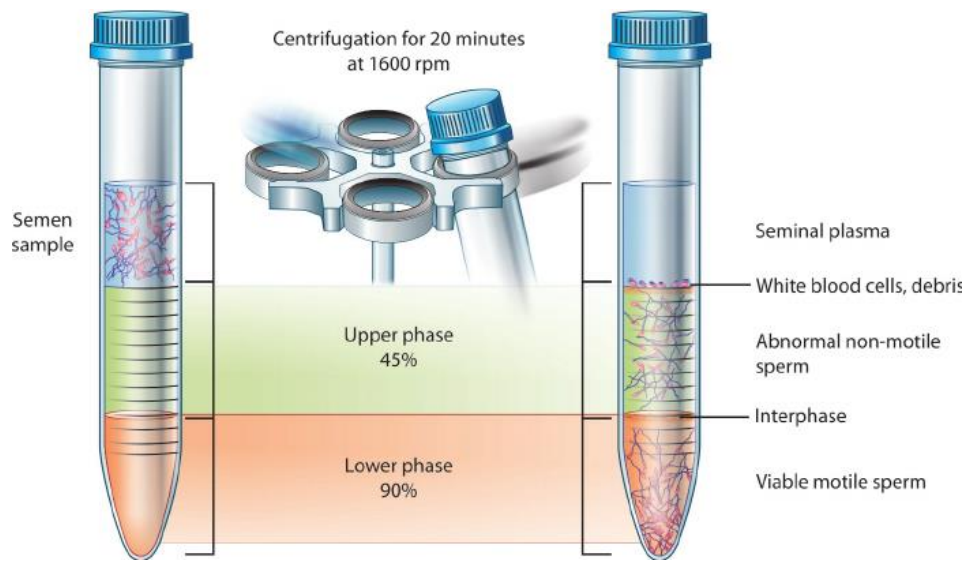
съотношение 1:1, центуфогират се за 5-10 мин на 300-400 x g, след което супернатантата се отстранява, а утайката се ресуспендира с 0,5-1,0 мл хранителна среда. Прави се експертиза на обработения материал.

Swim up (Изплуване в хранителна среда) – този метод е подходящ в случаите на нормозооспермия, тъй като добивът при него е по-малък, но пък за сметка на това се изолират най-висок процент бързоподвижни сперматозоиди. Селекцията чрез изплуване в хранителна среда може да се прилага при необработен материал (рядко) и при предварително обработен чрез Simple washing материал. Самата обработка се извършва като на дъното на облодънна епруветка се поставя около 1 мл от пробата със сперматозоиди, върху нея внимателно се надсложва 1-2 мл хранителна среда (например FertiCult IVF Medium или др.). Епруветката се поставя на статив под ъгъл 45° с цел да се даде възможност на подвижните сперматозоиди да изплуват в надслоената среда. В това положение и с не напълно завита капачка еякулата се инкубира за 60 минути в инкубатор на температура 37°C и 5% CO₂. След като се извадят епруветките от инкубатора се оставят във вертикално положение за 10 минути, след което внимателно се отпипетира най-горния слой (около 1 мл), който съдържа нормокинетичните гамети и се извършва експертиза на получената проба (Фиг. 11). Ако е необходимо може да се добави още 1-2 мл среда и да се центрофугира, след което да се отстрани супернатантата и да се добави среда до краен обем на 0,5 мл (Gardner *et al.*, 2002).



Фигура 11: Схема на метода Swim up

Gradient separation (Градиентно сепариране чрез молекулярно сито и промиване с хранителна среда) – в конична епруветка се надслояват различните концентрации на плътностният градиент (45% и 90%) Sil-Select Plus (FertiPro N.V., Belgium) или Sperm Grad (Vitrolife, Sweden). Според изходните стойности на спермограмата могат да се подберат градиенти с различна плътност (40% и 80%, 45% и 90%). Върху така приготвения градиент се надслоява втечената семенна течност. Пробата се центрофугира 20 минут при 2000 об/мин (300-400 x g). След това се аспирира супернатантата, като добре подвижните сперматозоиди се утаяват в слоя на 90%-ят градиент. В нова епруветка се поставят утаените сперматозоиди и към тях се прибавя инкубирана за целта хранителна среда IVF (FertiPro N.V., Belgium). Ресуспендира се добре. Следва центрофугиране за 10 минути при 2000об/мин (300-350g). Отстранява се супернатантата и утайката се ресуспендира отново в хранителна среда. Центрофугира се за 10 минути при 2000об/мин (300-350g). Отстранява се супернатантата и към утайката се прибавя инкубирана хранителна среда в количество до 0,5-1 мл (Фиг. 12).



Фигура 12: Схема на метода градиентно сепариране

3.3. Лабораторни методи

- Изследване на Фоликулостимулиращият хормон (ФСХ)

От 2-ти до 5-ти ден от началото на менструалния цикъл се изследват стойностите на фоликулостимулиращия хормон (ФСХ). Той е важен за развитието на яйчниковите фоликули. Нивото му е най-високо в началото на менструалния цикъл и се използва за определяне на яйчниковия резерв. Той е и маркер за отговора на яйчника по време на хормонална стимулация.

Нива на ФСХ 2-4 ден:

Под 10 IU/l : нормални ФСХ нива. Очаква се добър отговор на хормонално лечение.

От 10 до 15 IU/l: намален овариален резерв. Отговорът на яйчника на хормоналната стимулация може да бъде слаб. Процентът на успеваемост намалява.

15 до 20 IU/l: много намален овариален резерв. Очаква се още по-слаб отговор на хормонално лечение. Силно намален процент на постигнати бременности.

Над 20 IU/l: изчерпан овариален резерв. Много слаб или липсващ отговор към стимулация. Не се препоръчва провеждането ѝ.

При установена веднъж висока стойност на ФСХ, нивото му в следващите цикли може да варира.

- Изследване на естрадиол

Нивото му кореспондира директно с качеството на яйцеклетката и дебелина на лигавицата на матката. Изследва се между 10 и 12 ден от цикъла.

- Изследване на лутеинизиращият хормон (ЛХ)

Показва евентуална предстояща овулация, ако пък се вдигне преждевременно може да очакваме преждевременна лутеинизация на фоликула.

3.4. Информационни и анкетни методи

Снемане на минала и фамилна анамнеза на двойката по отношение на репродукцията, разясняване на предстоящата процедура. Попълване на анкетна карта и от двамата партньори с въпроси, имащи отношение към репродуктивните функции. Тази анкетна карта дава възможност на специалиста по репродуктивна медицина да се запознае по-подробно с начина на живот и историята на репродуктивния проблем на всяка двойка. По този начин и чрез беседи с двамата партньори, лекарят анализира факторите на

околната среда и психологичното състояние, за които клиничните и диагностични методи са неефективни.

3.5. Статистически методи

Данните са въведени и обработени със статистическия пакет IBM SPSS Statistics 23.0. За ниво на значимост, при което се отхвърля нулевата хипотеза бе прието $p < 0.05$. Бяха приложени следните методи:

- Дескриптивен анализ – в табличен вид е представено честотното разпределение на разглежданите признаци, разбити по групи на изследване.
- Вариационен анализ – за оценка на характеристиките на централната тенденция и статистическо разсейване.
- Графичен анализ – за визуализация на получените резултати.
- Алтернативен анализ – за сравняване на относителни дялове.
- Точен тест на Фишер и тест χ^2 - за проверка на хипотези за наличие на връзка между категорийни променливи.
- Непараметричен тест на Колмогоров-Смирнов и Шапиро-Уилк – за проверка на разпределението за нормалност.
- Непараметричен тест на Ман-Уитни – за проверка на хипотези за различие между две независими извадки.
- ROC curve – за определяне на прагови стойности.

Резултати, собствени проучвания и обсъждане

След направените проучвания за факторите, които влияят върху успеваемостта на процедурите по интраутеринна инсеминация, и чрез използваните в този ход различни методи, са получени следните резултати:

1. Влияние на възрастта върху успеваемостта на процедурата

На *Табл. 1* се вижда, че:

- Съществува статистически значима тенденция на намаляване на относителния дял на забременелите жени с увеличаване на възрастта;
- Има сигнификантна разлика в процента на забременелите в различните възрастови групи;
- Забременелите жени имат най-висок относителен дял (33,33% или 1/3) в най-младата възрастова група (до 30 години), който е сигнификантно по-голям от този на възрастови групи 36-40 и 40+ години;
- В следващата възрастова група (31-35 години) процентът на забременелите е статистически достоверно по-висок от този на възрастова група 40+ години, но трябва да се отбележи, че групата на жените над 40 е представена от значително по-малък брой пациентки.
- Относителните дялове на забременелите от съседните възрастови групи не се различават статистически.

При сравняване на резултатите на различните възрастови групи можем да кажем, че споед нашето проучване най-голям шанс за забременяване чрез ИИ имат жените на възраст до 30 години (33,33% успеваемост), следвани от групана на пациентките между 31 и 35 години, при които също се наблюдава много добра успеваемост (21,74%). Над 35 години процентът на забременели

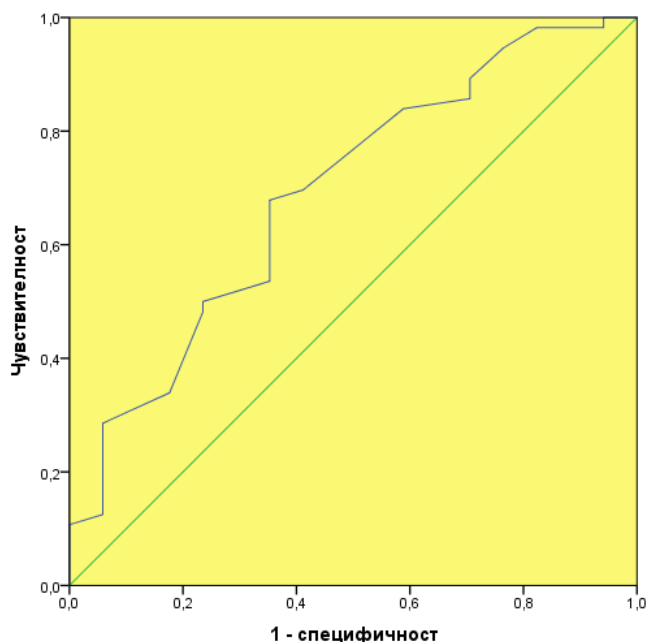
намалява и в групата от 36 до 40 годишни жени е едва 7,69%, а в групата над 40 години не е регистрирана бременност след извършване на инсеминация в нашето проучване.

Таблица 1: Сравнителен анализ на процента забременели в изследваните възрастови групи

Възрастова група (години)	Брой жени в групата	Брой забременели	% забременели
До 30	33	11	33,33 ^a
31 – 35	23	5	21,74 ^{ac}
36 – 40	13	1	7,69 ^{bc}
Над 40	4	0	0 ^b
Общо	73	17	23,29

* еднаквите букви по вертикалата означават липса на сигнификантна разлика, а различните – наличие на такава ($p < 0,05$)

За да се определи оптималната стойност на възрастта за забременяване бе приложен ROC curve анализ. На *фиг. 13* се вижда, че площта под кривата е 0,690, а $p = 0,018$, което означава, че съществува прагова стойност. Като оптимална прагова стойност бе избрана възрастта 28 години. От *Табл. 2* става ясно, че жените с възраст под 28 години имат около 3,7 по-голям шанс за забременяване от по-възрастните, докато жените на възраст 28 и повече години имат с около 73% по-ниска вероятност за забременяване от по-младите.



Фигура 13: ROC крива на възрастта на жените (площ под кривата 0,690, $p=0,018$)

Таблица 2: Отношение на рисковете и 95% ДИ на възрастта като фактор за успешно забременяване

Показател	Сравнение	OR	95% CI		P
			Долна граница	Горна граница	
Възраст (години)	< 28 / \geq 28	3,656	1,100	12,144	0,034
	\geq 28 / < 28	0,274	0,082	0,909	0,034

2. Влияние на изходните стойности на спермограмата на мъжа (вида мъжки фактор) и начина на обработка върху резултата от инсеминацията

При анализ на данните от *таблица 3* за успеваемостта на инсеминациите, в зависимост от изходните стойности на спермограмата на

мъжа се наблюдават разлики в процента забременели, които са различни от очакваните и трудно могат да бъдат интерпретирани. В зависимост от изходните стойности на спермограмите на мъжете са обособени 3 групи мъжки фактор: мъже с олигоастенотератозооспермия (намалена концентрация, подвижност и абнормална морфология на сперматозоидите), мъже с астенотератозооспермия (нормална концентрация на сперматозоидите, но намалена подвижност и абнормална морфология) и мъже с нормозооспермия (и трите основни параметъра на спермограмата са в норма). Важно е да отбележим, че в случаите на мъжете с олигозооспермия, концентрацията на сперматозоиди е не по-ниска $10 \times 10^6/\text{мл}$, т.е. не става въпрос за тежка форма на олигозооспермия, а при мъжете с астенозооспермия концентрацията на подвижни сперматозоиди е над $5 \times 10^6/\text{мл}$, т.е. отново не става въпрос за тежки форми на мъжкия фактор. Това е т.нар. предварителен подбор на пациентите за прилагане на метода на IUI и на пациенти с по-ниски от тези стойности са прилагани други методи за лечение на инфертилитета (IVF и ICSI).

Таблица 3: Сравнителен анализ на процента забременели жени спрямо изходните стойности на спермограмата на мъжа

Вид мъжки фактор	Брой мъже в групата	Брой забременели жени	% забременели жени
Олигоастенотератозооспермия	14	4	28,57
Астенотератозооспермия	47	11	23,40
Нормозооспермия	12	2	16,67
Общо	73	17	

От получените резултати се вижда най-малък процент бременности при мъжете с нормозооспермия – 16,67% забременели жени, и най-висок процент

бременности при мъжете с мъжки фактор олигоастенотератозооспермия – 28,57% забременели жени след инсеминация. На пръв поглед резултатите изглеждат нелогични, но причината за това е, че мъжкият фактор се разглежда изолирано от женският. Малкият брой бременности при двойките, в които мъжете са с нормозооспермия, т.е. няма мъжки фактор, се обяснява с наличието друга причина за безплодието – женски фактор или неизяснен стерилитет. От друга страна при мъжете с олигоастенотератозооспермия или астенотератозооспермия след подходяща обработка се достига до проба с нормозооспермия или стойности близки до нормозооспермията, с което се “премахва” мъжкият фактор и след извършване на инсеминация по-често се постига бременност.

Важно е да се отбележи, че все пак броя на изследваните мъже и броя на циклите с инсеминации е сравнително малък, за да може да се направи някакъв коректен извод, но най-вероятно процента на забременелите се влияе и от съответните заболявания или причини за стерилитет при жените за тези парадоксално получени резултати.

Таблица 4: Сравнителен анализ на процента забременели жени спрямо начина на обработка на семенната течност

Начин на обработка	Брой обработени проби	Брой забременели жени	% забременели жени
Градиентно сепариране	57	14	24,56
Swim up	16	3	18,75
Общо	73	17	

На *таблица 4* е представен сравнителен анализ на процента постигнати бременности спрямо вида на обработка на семенната течност. От получените резултати става ясно, че по-добра успеваемост се постига след обработка по метода на градиентно сепариране и последващо промиване с хранителна среда – 24,56% забременели жени, спрямо 18,75% забременели след обработка по метода swim up. Въпреки това разликата в успеваемостта, в зависимост от метода на обработка е малка, защото той влияе по-скоро косвено върху крайния резултат, т.е. важно е да се избере подходяща обработка спрямо изходните стойности на спермограмата на мъжа и след нея да се получат добри резултати. Например по метода на swim up се обработват предимно проби с нормозооспермия или близки до стойностите на нормозооспермия, тъй като добивът на сперматозоиди при този метод е по-малък, но качеството е много високо, а чрез градиентно сепариране се обработват проби с по-ниска концентрация на сперматозоиди и намалена подвижност. Следователно важно е методът на обработка да е правилно подбран за всеки конкретен случай, така че след това да се получи проба за инсеминация с максимално добри показатели.

3. Влияние на BMI (Body Mass Index) или ИТМ (Индекс на телесната маса) на жената и на мъжа върху успеваемостта на процедурата

Индексът на телесната маса в настоящото проучване е определен съгласно стандартите на СЗО и е измерен в kg/m^2 . Според СЗО BMI <18,50 се означава като поднормено тегло, от 18,50 до 24,99 – нормално тегло, от 25 до 29,99 – наднормено тегло и >30 – затлъстяване.

Резултатите от *табл. 5 и 6* показват, че няма сигнификантна зависимост между ИТМ и процента на забременяване при двата пола. Въпреки това се

вижда, че процентът на забременели жени с ИТМ <18,50 е по-малък. Като цяло представените резултати не са достатъчно достоверни статистически поради малкия брой представители или липсващи такива с ИТМ <18,50 и с ИТМ >30 и при двата пола. От друга страна абнормалните стойности на ВМІ почти винаги са свързани с хормонален дисбаланс и при двата пола, а дисбалансът на половите хормони води до нарушения в овулацията, качеството на яйцеклетките и ендометриума при жените и отклонения в спермограмата при мъжете. Поради това приемаме, че средните стойности на ИТМ (18,50-24,99 и 25,00-29,99) са най-подходящи и водят до най-добър резултат, както при извършване на ИУ, така и за постигане на спонтанна бременност. Тези данни са подкрепени и от редица други автори.

Таблица 5: Сравнителен анализ на процента забременели в изследваните групи по индекс на телесна маса на жените

Индекс на телесна маса (кг/м ²)	Брой жени в групата	Брой забременели	% забременели
< 18,50	16	3	18,75a
18,50 – 24,99	44	10	22,73a
25,00 – 29,99	9	2	22,22a
30+	4	2	50,00
Общо	73	17	

* еднаквите букви по вертикалата означават липса на сигнификантна разлика, а различните – наличие на такава (p<0,05)

** групата с ИТМ = 30+ кг/м² не участва в анализа поради липса на статистическа представителност

Таблица 6: Сравнителен анализ на процента забременели в изследваните групи по индекс на телесна маса на мъжете

Индекс на телесна маса (кг/м ²)	Брой мъже в групата	Брой забременели жени	% забременели
< 18,50	0	0	0
18,50 – 24,99	56	13	23,21a
25,00 – 29,99	16	4	25,00a
30+	1	0	0
Общо	73	17	

* еднаквите букви по вертикалата означават липса на сигнификантна разлика, а различните – наличие на такава ($p < 0,05$)

** групата с ИТМ = 30+ кг/м² не участва в анализа поради липса на статистическа представителност

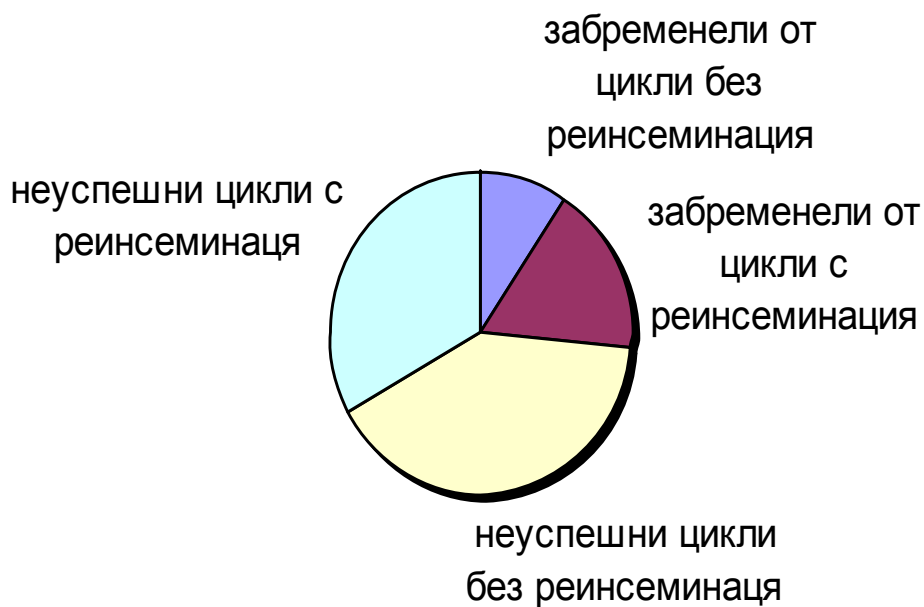
Всички тези данни водят към заключението, че абнормален ВМІ, както при мъжете, така и при жените е по-скоро прогноза за по-лоша успеваемост на ІUI.

4. Влияние на реинсеминацията (повтарянето на инсеминацията на следващия ден)

От *таблица 7* се вижда, че процентът на забременелите жени се влияе сигнификантно от повтарянето на инсеминацията на следващия ден. Процентът на успеваемост на циклите без реинсеминация в нашето проучване е 19,23% спрямо 33,33% при циклите, в които е направена реинсеминация. Подобно повишаване на успеваемостта е отчетено и от други автори.

Таблица 7: Сравнителен анализ на процента забременели според наличието или липсата на реинсеминация на следващия ден

	Брой инсеминации	Брой забременели жени	% забременели
Без реинсеминация	52	10	19,23
С реинсеминация	21	7	33,33
Общо	73	17	



Фигура 14: Успеваемост на IUI по данните от таблица 7

Реинсеминацията повлиява положително IUI и се смята за особено ефективна при двойки, в които мъжете са с ниски концентрации на

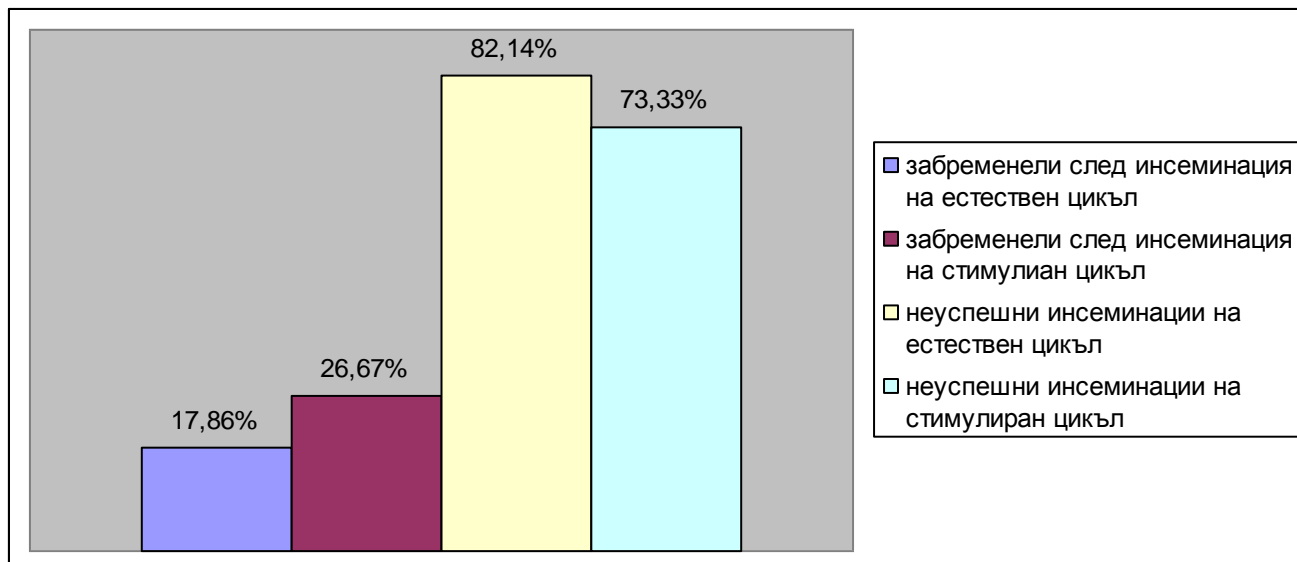
сперматозоиди, както и в случаите, когато при жената има наличие на повече от един фоликул.

5. Съпоставяне на резултатите от инсеминация на естествен цикъл и такава на стимулиран цикъл

От *таблица 8* се вижда, че процентът на забременелите жени се влияе сигнификантно от типа на цикъла. По-добра успеваемост на инсеминациите се постига при лека стимулация на жената – 26,67% забременели спрямо 17,86% забременели при инсеминация без стимулация. Това е логичен резултат, защото при лека стимулация се получават по-голям брой доминантни фоликули и съответно овулират по-голям брой зрели яйцеклетки в сравнение с тези при естествен цикъл, при който тя е най-често 1 (рядко 2 и много рядко до 3). Стимулацията на цикъла за инсеминация е от особено значение при жени с ановулаторни цикли, но винаги е важно тя да е добре обмислена и предвидена с цел избягване на многоплодни бременности.

Таблица 8: Сравнителен анализ на процента забременели спрямо типа цикъл – естествен или стимулиран

Тип цикъл	Брой инсеминации	Брой забременели жени	% забременели
Естествен цикъл	28	5	17,86
Стимулиран цикъл	45	12	26,67
Общо	73	17	



Фигура 15: Успеваемост на IUI по данните от таблица 8

6. Влияние на вида на използвания катетър и обема на аплицираната проба върху успеваемостта на инсеминациите

От *табл. 9 и 10* става ясно, че процентът на забременелите жени се влияе сигнификантно от вида на използвания катетър и обема на аплицираната проба.

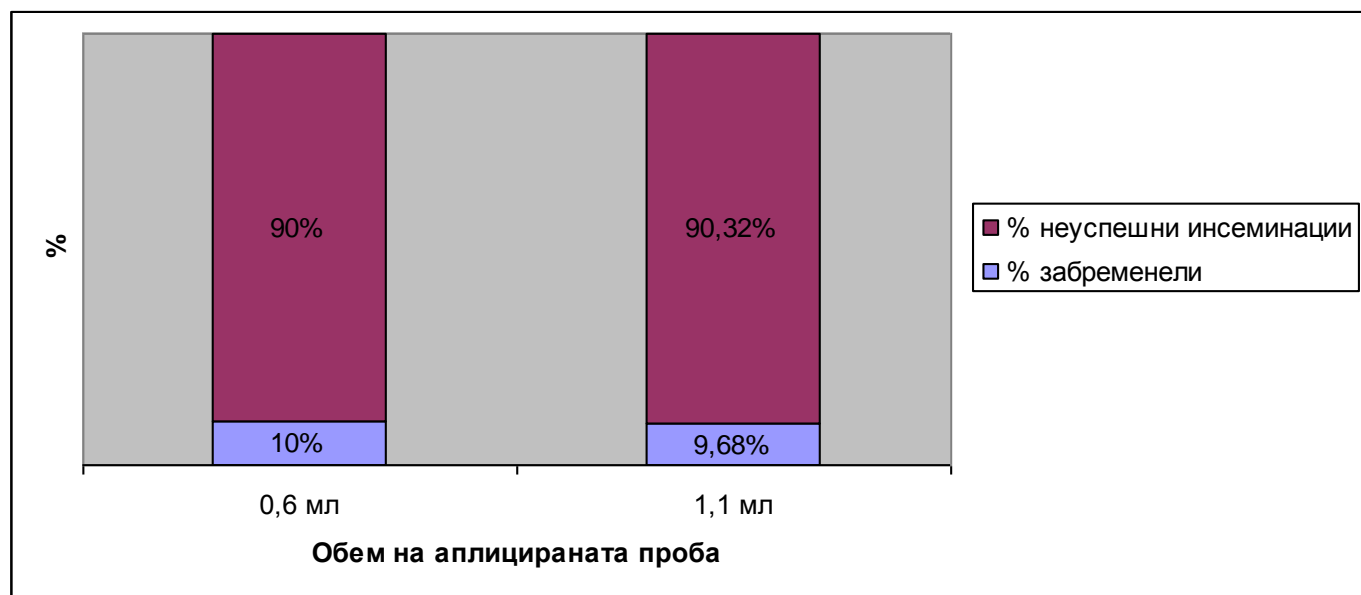
В настоящото проучване пациентите са разделени в 2 групи, в зависимост от типа катетър, който е използван за инсеминация. При първата група е извършена инсеминация с дълъг флексабилен катетър и процентът забременели е 10,79%, а при втората група е използван къс ригиден катетър и успеваемостта е съответно 6,25%. Това се дължи на факта че дължината на ригидния катетър е 50 мм, а на флексабилния е 70 мм, което означава, че при меките катетри пробата се аплицира високо горе във фундуса на матката и от там отива по-лесно в маточните тръби. При ригидните – тази височина рядко надминава ОИСС като по този начин се увеличава с приблизително 3см пътят на сперматозоидите. Типа на използвания катетър зависи и от анатомичните особености на конкретната жена, на която се извършва инсеминация.

Таблица 9: Сравнителен анализ на процента забременели според вида на използвания катетър

Вид катетър							P
Long, flex			Short, hard				
Общ брой	Брой забременели	% забременели	Общ брой	Брой забременели	% забременели		
139	15	10,79	32	2	6,25	n.s.	

Таблица 10: Сравнителен анализ на процента забременели според обема на аплицираната проба

Обем на аплицираната проба						P
0,6 ml			1,1 ml			
Общ брой	Брой забременели	% забременели	Общ брой	Брой забременели	% забременели	
140	14	10,00	31	3	9,68	n.s.



Фигура 15: Успеваемост на IUI по данните от таблица 10

Въпреки, че количеството на сперматозоидите е от физиологичен характер за евентуално оплождане и бременност, са налице противоречиви данни по отношение на общия обем на инсеминационната проба, необходим за постигане на бременност. В нашето проучване използваните обеми на инсеминационната проба са 0,6ml и 1,1 ml, успеваемостта съответно е 10% и 9,68%. На база тези данни и данните, разгледани в другите проучвания, смятаме, че успеваемостта по-скоро не се влияе от обема на аплицираната проба сперматозоиди.

7. Съпоставяне на резултатите от IUI-H и IUI-D.

На *табл. 11* се вижда, че изследваните групи IUI-H и IUI-D не се различават статистически по показателите възраст и индекс на телесна маса на жените.

Таблица 11: Сравнителен анализ на възрастта и индекса на телесна маса на жените в изследваните групи

Показател	IUI-H			IUI-D			P
	Брой	\bar{X}	SD	Брой	\bar{X}	SD	
Възраст на жените (години)	73	31,49	5,48	13	33,69	6,01	0,215
ИТМ на жените (кг/м ²)	73	21,33	3,92	13	23,69	5,84	0,249

На *таблица 12* се вижда, че процентът на забременели жени след извършване на инсеминация с донорски сперматозоиди е по-висок 30,77% спрямо забременелите след инсеминация със сперматозоиди на патньора им – 23,29%. Това е логичен резултат, тъй като инсеминация с донорски материал

обикновено се извършва при наличие на тежък мъжки фактор, а донорите на сперматозоиди са подбирани по специални критерии и използваната проба винаги е с нормозооспермия и висока оплодителна способност на сперматозоидите.

Таблица 12: Сравнителен анализ на процента забременели според групата на изследване

Група на изследване						P
IUI-N			IUI-D			
Общ брой	Брой забременели	% забременели	Общ брой	Брой забременели	% забременели	
73	17	23,29	13	4	30,77	0,726

Изводи

1. При прилагане на инсеминацията като метод за лечение при безплодие най-висока успеваемост се получава при възраст на жената под 30 години, като за оптимална възраст се приема 28 години. Шансът за успешна инсеминация е добър при жени между 31 и 34 години, но след 35 години рязко намалява и се препоръчва използването на друг метод за лечение – *in vitro* или *ICSI*.
2. Инсеминацията е подходяща при наличие на лек до умерен мъжки фактор. В случаите на астенотератозооспермия и олигоастенотератозооспермия след подходяща обработка на семенната течност жените имат голям шанс за постигане на бременност. При наличие на нормозооспермия при мъжа, трябва да се търси друга причина за безплодието на двойката и вероятно да се избере друг метод за лечение.

3. Индексът на телесната маса при мъжа и жената не оказва съществено влияние върху успеваемостта на инсеминацията според наличните данни в проучването, но поади малкия брой пациенти с много ниски и много високи стойности на ИТМ, то не е достатъчно статистически значимо. За добрата успеваемост на вътрематочните инсеминации се приема, че стойностите на ИТМ при мъжа и жената трябва да са около средните (20-28). При стойности под 18,5 и над 30 шансът за постигане на бременност намалява.
4. Повтарянето на инсеминацията на следващия ден (извършване на реинсеминация) увеличава успеваемостта значително.
5. Стимулацията на цикъла на жената повлиява положително изхода от инсеминацията и значително увеличава шанса за успех, поради овулирането на повече от една зряла яйцеклетка, но тя трябва да бъде лека и много добре подбрана за конкретната пациентка.
6. За успеваемостта на инсеминацията от голямо значение е вида на използвания катетър – дългите и меки катетри водят до по-голям процент бременности. Обемът на пробата, която се аплицира не оказва особено влияние върху резултата, поради това по-скоро не е необходимо използването на голямо количество и такова между 0,5 и 0,8 мл се приема за оптимално.
7. Извършването на инсеминации с донор води до по-добра успеваемост в сравнение с тези партньорските, тъй като донорският материал е винаги с нормозооспермия и висока оплодителна способност. Инсеминациите с материал от анонимен донор са силно препоръчително при тежки форми на мъжки фактор, криптозооспермия или азооспермия.

Приноси

1. Направена е оценка на факторите, които оказват влияние върху резултата от процедурите по интраутеринна инсеминация и е проведено е собствено проучване на тази тема.
2. Факторите са разделени на 2 групи: фактори от страна на пациентите (на мъжа и на жената) и фактори от техническо естество.
3. Изследвани са различни групи пациенти и са определени тези, които са най-подходящи за провеждане на интраутеринна инсеминация като метод за лечение на инфертилитета.
4. Изследвани са факторите от техническо естество и на база на проведеното проучване е определено тяхното влияние и оптимални стойности за положително повлияване на резултата от инсеминациите.
5. Направени са изводи на база на проведеното проучване и по този начин е оптимизиран метода на интраутеринна инсеминация като са определени оптималните: възраст и ВМІ на пациентите, изходни стойности на спермограмата на мъжа, начин на обработка на семенната течност, обем на аплицираната проба и вид на катеъра за инсеминация. Реинсеминацията, стимулирането на цикъла при жената и използването на сперматозоиди от анонимен донор са оценени като фактори, които повишават шанса за успешна инсеминация.

Заклучение

Инфертилитетът е един значим проблем на всяко общество, както в миналото, така и в наши дни. Начините за преодоляване на този проблем в годините са преминали през сериозни промени и днес те са базирани основно

на медицинските методи за асистирана репродукция. Наблюдава се тенденция на увеличаване на двойките с репродуктивни проблеми с всяка следваща година, което от своя страна води до необходимостта от непекъснато разработване и въвеждане на иновации в диагностиката и лечението в областта на репродуктивната медицина. Инсеминацията е най-простият метод от групата на АРТ и води началото си още от древността. В годините е много добре усъвършенстван и днес се прилага рутинно в репродуктивните клиники като първа стъпка за лечение на безплодието. Въпреки огромния напредък в развитието на *in vitro* и *ICSI* оплождането, инсеминацията продължава да е „златен стандарт” в лечението на репродуктивните проблеми на много двойки и при правилна преценка на факторите води до много добра успеваемост.

Публикации и научни съобщения свързани с дисертационния труд:

1. Цервикалният канал и фактори, свързани с него като причина за женския стерилитет.

А. Кунев, статия в *Healt. Vg.*-49-52 бр.1, март 2015 г.

2. Preliminary results from research on the factors affecting the success of intrauterine insemination procedures .

Kunev AK¹ , Yordanov AD² , *International Journal of Medical Science and Clinical Inventions* 4(11): 3284-3288, 2017.

3. Съвременен алтернативен метод за диагностика на тубарен фактор при женски стерилитет

А. Кунев, списание; Конференция Русенски университет и Софийски университет, октомври 2016

4. Наличие на бактерии в еякулата при пациенти, подложени на вътрематочна инсеминация. Най-често намирани видове и тяхното

значение

Кунев А, Петкова Р., Научна конференция РУ СУ 10.10.2015

5. Изследване на процента успеваемост при процедури по IUI в зависимост от кръвните групи при пациентите

Кунев А, Петкова Р., Научна конференция РУ СУ 10.10.2015 г.

6. История на асистираната репродукция и място на изкуствената инсеминация в нея

Кунев А. Петкова Р. Научна конференция РУ СУ 10.10.2015

7. Diagnosis of cervical factor as a cause of female infertility

Kunev A., Petkova R. , Bukurest kongres of ART 06.11.2015 yar.

8. Фактори, влияещи върху успеваемостта на процедурите по интраутеринна инсеминация.

съобщение на шестнадесети конгрес на БАСРЗ- Боровец 2015 г.- А. Кунев, Р. Петкова

9. Алтернативи за лечение на мъжки стерилитет.

/постер на шестнадесети конгрес на БАСРЗ- Боровец 2015 г.- А. Кунев, Р. Петкова/

10. Наш алгоритъм за диагностика и лечение на повтарящи се репродуктивни неудачи

А. Кунев – Постер на XXXVI Национална акушерска конференция

11. Как помагам за запазването на репродуктивното здраве на жените в моя кабинет .

Втора Национална Конференция за млади акушер- гинеколози- Слънчев бряг 2009 г. А.

Кунев