

Hematohydrohysterocolpos with vaginal atresia

Case report

Gherai Rareș^{1*}, Chitulea Petru²

¹Department of Obstetrics and Gynaecology, Faculty of Medicine and Pharmacy, University of Oradea, Oradea, Romania; rares.gherai@gmail.com

²Department of Obstetrics and Gynaecology, Faculty of Medicine and Pharmacy, University of Oradea, Oradea, Romania; pchitulea@yahoo.com



Hydrocolpos is a rare condition, clinically obvious at birth, or within the first few weeks of life and it appears as an abdominal mass associated with the absence or abnormality of the vaginal opening. A premature 25 days old female new-born was diagnosed with hematohydrohysterocolpos, imperforate hymen. After the surgery, the evolution is positive and the patient is released from the hospital in a good general state.

Keywords: hymen, vagina, atresia, hematohydrohysterocolpos

Introduction

Hymenal anomalies result from incomplete degeneration of the central portion of the hymen. Variations include imperforate, micro-perforate, septate, and cribriform hymens. Although most of these variants are not clinically significant, hymenal anomalies require surgical correction if they block vaginal secretions or menstrual fluid, interfere with intercourse, or prevent treatment of a vaginal disorder.

Imperforate hymen represents a persistent portion of the urogenital membrane. It occurs when the mesoderm of the primitive streak abnormally invades the urogenital portion of the cloacal membrane. It is one of the most common obstructive lesions of the female genital tract. When mucocolpos develops from accumulation of vaginal secretions behind the hymen, the membrane is seen as a shiny, thin bulge. The distended vagina forms a large mass that may interfere with urination and at times may be mistaken for an abdominal tumour. Topical anaesthetic is used to prevent discomfort to the new-born, and the central portion of the obstructing membrane is excised. When imperforate hymen is corrected in infants, the central portion of the membrane is excised; sutures usually are not necessary.

If missed during the newborn period, imperforate hymen often is not diagnosed until an adolescent presents with complaints of primary amenorrhea and cyclic pelvic pain. It may present as back pain or difficulty with defecation or urination secondary to mass effect from vaginal distention. Inspection of the vulva may reveal a purplish-red hymenal membrane bulging outward as a result of accumulation of blood above it (hematocolpos). Blood may fill the uterus (hematometra) and spill through the fallopian tubes into the peritoneal cavity. Endometriosis and vaginal adenosis are known but not inevitable complications.

Repair of imperforate hymen is facilitated if the tissue has undergone estrogen stimulation and the membrane is distended. When the procedure is performed in an adolescent, a large central portion of the membrane should be removed because the edges of a small incision may coalesce, allowing the obstructing membrane to reform.

Hydrocolpos is an anomaly and a rare condition which occurs in new-born female infants as the result of the stimulation of maternal oestrogens; it consists of atresia of the vaginal outlet and excessive secretion of the cervical glands and produces a midline mass and building at the introitus.

Regarding the aetiology, we find two theories in the academic literature, both of which may be regarded as correct:

Érkezett: 2020. június 10. Közlésre elfogadva: 2020. június 10. Received: 10 June 2019 Accepted: 10 June 2020

*Correspondence: rares.gherai@gmail.com; Tel. +40767110667

- an imperforate hymen, which is the true cause;
- a thick membrane is responsible for it (considered to represent an atresia, similar to that of imperforate anus).

Hydrocolpos is clinically evident at birth, or within the first few weeks of life, and it appears as an abdominal mass associated with absence or abnormality of the vaginal opening. The diagnosis is confirmed by abdominal ultrasound and CT scan.

Case Report

A premature new-born female, 25 days old, is admitted in the paediatric unit for the bio-clinical re-evaluation and a specialised treatment, having previously been diagnosed with congenital pelvic tumour.

The medical history of the illness reveals that starting from the intrauterine life, affirmative, a tumour mass is being observed via ultrasound – approximately 5 cm in diameter, situated in the abdominal cavity, right next to the uterus, interpreted as a cystic ovarian tumor by the obstetrician. Postnatally, the new-born presents a good general state, with a balanced respiratory and cardiovascular function, present bowel transit and present diuresis. At the ultrasound check-up, the presence of a tumour mass in the intra-abdominal cavity is confirmed, having a mixed parenchymatous-fluid aspect, hard to appreciate as being part of the organ.

In order to identify the nature and the origin of this mass, a CT scan is being performed that shows images suggesting a cystic pelvic-subperitoneal mass. It is important to mention that the examinations conducted in the laboratory have not highlighted any alterations of the renal function.

The general clinical examination reveals a voluminous distended abdomen which highlights a tumour mass in the hypogastrium with the palpation of a firm mass, adherent to the subjacent plans, painless, unique, of 6/7 cm dimension (*Photo 1*).

The abdominal ultrasound highlights a space occupying abdominal-pelvic process, with fluid content, a possibility of an increased volume of the uterus, with difficult limits to set, with hematocolpos and bilateral hydro nephrosis with secondary compression. A specialised team, comprised of a surgeon and an oncologist, decide the timing of the procedure in order to precisely establish the affected organ through MRI studies. The images provided by the MRI advocate for a giant fluid abdominal-pelvic mass with (most probably) uterine connections and secondarily bilateral hydro nephrosis (*Figure 1-3*).

The laboratory examination revealed the changes: increased levels of Lactate dehydrogenase (LDH) – 267 u/L, AFP alpha-fetoprotein 486.64 ng/mL, total serum proteins 5.35 g/dl, serum creatinine 0.20 mg/dl and a decrease in urea nitrogen 9.27 mg/dL.

As a result of these investigations, clinical and paraclinical, after the gynaecological examination which highlights the imperforate hymen, we set the diagnosis of hematohydrohysterocolpos, imperforate hymen and after a thorough preoperative preparation, we performed the surgery. A No 18 needle was inserted into the membrane at the introitus, and 20 ml of haematic, brownish liquid was removed, when we observed a vaginal atresia. Then, on needle path, we performed a straight and deepness incision of approximately 1 cm at the introitus membrane, at a distance from the urethra, bladder and the rectum in order to not sever them. On



Photo 1: Abdominal pelvic tumour size

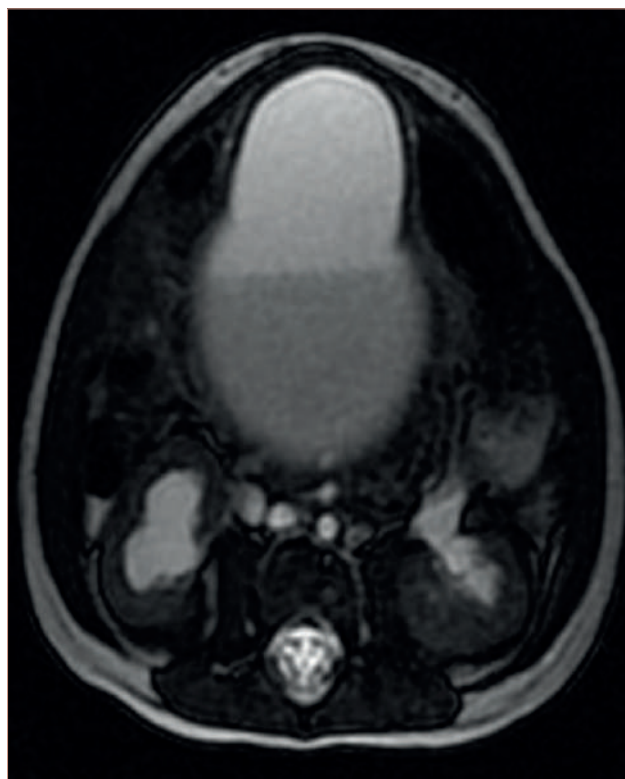


Figure 1: MRI Section

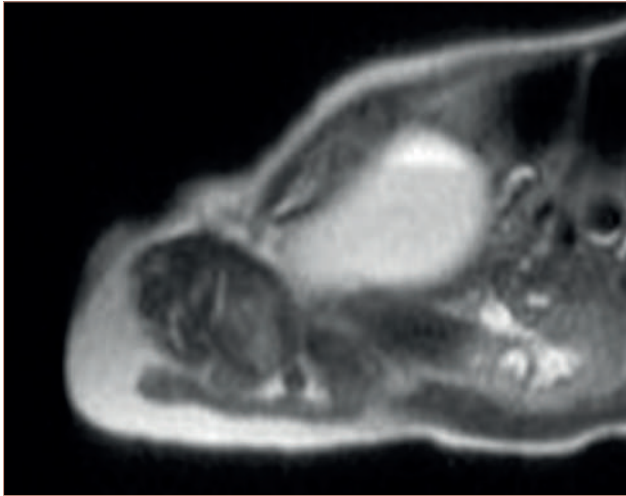


Figure 2: MRI Section



Photo 2: Intraoperative view

the colpos incision, we evacuated about 200 ml of haematic, brownish liquid. At the end, a drainage tube was fixed through the incision in order to ensure the complete evacuation of the intraperitoneal content, which was removed after 7 days (*Photo 2–4*).

The follow-up abdominal ultrasound performed (*Figure 4*) in the first day after the surgery highlights an decreased of the bilateral hydro nephrosis from stage II, prior to the surgery, to stage I – a uterus significantly reduced in size, without any fluid in it. Under antibiotic cover the evolution is positive and the patient is released from the hospital in a good general state 10 days after surgery. After this, the child is being periodically followed up to monitor normal subsequent development of the genitalia (*Figure 5*).



Photo 3: Intraoperative view



Figure 3: MRI Section

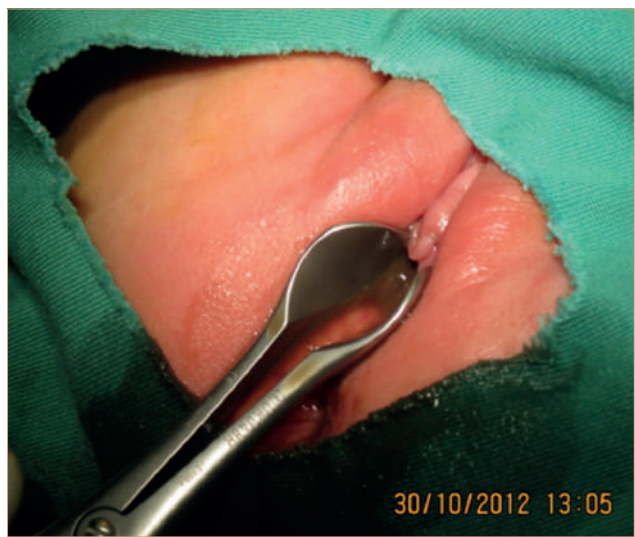


Photo 4: Intraoperative view

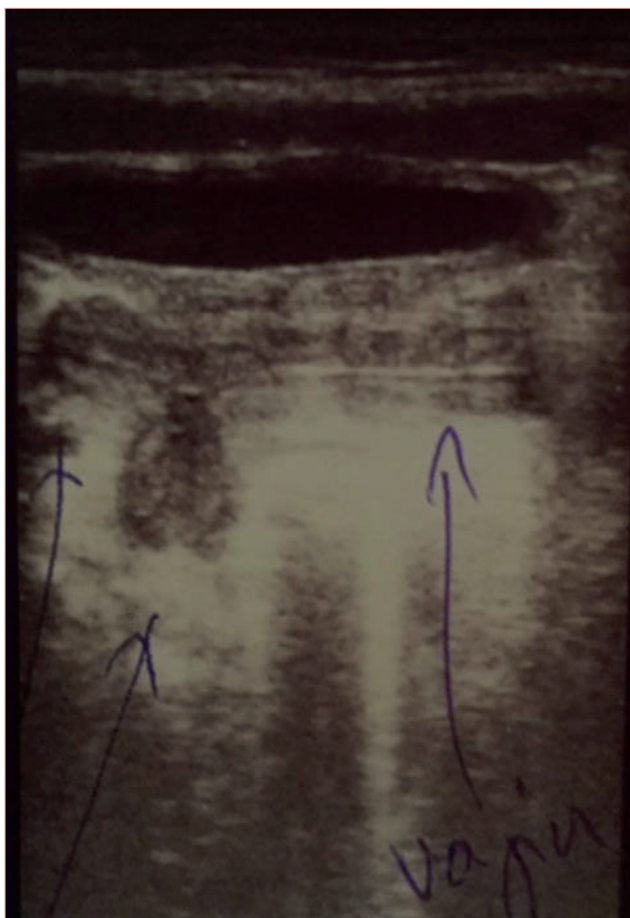


Figure 4: Ultrasound after surgery



Figure 5: The ultrasound performed 2,5 years after surgery

Conclusions

Females with vaginal atresia lack the lower portion of the vagina, but otherwise have normal external genitalia. The embryonic origin of this condition is presumed to involve failure of the urogenital sinus to contribute its expected caudal portion of the vagina (Simpson, 1999). As a result, the lower portion of the vagina, usually one fifth to one third of the total length, is replaced by 2 to 3 cm of fibrous tissue. In some individuals, however, vaginal atresia may extend to near the cervix.

Since most women with vaginal atresia have normal external genitalia and upper reproductive tract organs, this condition does not often become apparent until the time of expected menarche. Adolescents generally present shortly after physiologic menarche with cyclic pelvic pain due to hematocolpos or hematometra. On physical examination, normal breast and pubic hair development is present. The perineum is usually normal, with normal secondary sex characteristics with a hymeneal ring and beyond the ring, a vaginal dimple or small pouch. A recto-abdominal examination confirms the presence of midline structures. Additionally, sonographic or MR imaging will display upper reproductive tract organs. Of these, MR imaging is a more accurate diagnostic tool, as the length of the atresia, the amount of upper vaginal dilatation, and the presence or absence of a cervix can be identified. Laparoscopy, however, is necessary for diagnosis when the anatomy cannot be fully evaluated with radiographic studies. For example, Economy and associates (1998) reported that MR imaging has only 31-percent sensitivity for the detection of uterine structures in patients with vaginal agenesis. About one third of women with vaginal atresia have associated urologic abnormalities.

Vaginal atresia is distinct in clinical and embryonic characteristics from transverse vaginal septum. In patients with transverse vaginal septum there is a well-developed vagina in which a thick intervening septum separates the lower from the upper vagina. Conversely, in those with vaginal atresia, fibrous tissue develops in place of the vagina. In some, nearly the entire span beginning at the perineum and extending cephalad to the cervix may be fibrotic. Identification of the cervix in such cases distinguishes vaginal atresia from mullerian agenesis.

The imperforate hymen and/or atresia of the distal vagina can be caused by fluid and blood successive to the genital crisis of the new born baby so that the hematohydrohystero-colpos to produce pseudo cystic pelvic tumours susceptible to compress both ureters leading to hydronephrosis.

The advisable/opportune surgical treatment that involves the evacuation has, including, the foetal vital indication.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

REFERENCES

1. Adaletli I, Ozer H, Kurugoglu S, et al. Congenital imperforate hymen with hydrocolpos diagnosed using prenatal MRI. *AJR Am J Roentgenol* 2007; 189(1): W23.
2. Decherney AH, et al. *CURRENT Diagnosis & Treatment Obstetrics & Gynecology*, Tenth Edition; 2012 Sept., Cp.34.
3. Lim YH, Ng SP, Jamil MA. Imperforate hymen: report of an unusual familial occurrence. *J Obstet Gynaecol Res* 2003; 29: 399. [PMID: 14641689]
4. Pitkin J, et al. *Obstetrics and Gynaecology. Developmental and paediatric gynaecology* 2003; p. 89.
5. Plumb RT, Kelly JR, Dillon JR. Hydrocolpos in a Newborn Child. *Western Journal of Medicine* 1963 Oct; 99(4): 263–265.
6. Schorge, et al. Section 2 Reproductive Endocrinology, Infertility, and the Menopause > Chapter 18. *Anatomic Disorders – Vaginal agenesis*, Williams Gynecology 1 edition, April 2008.
7. Sidatt M1, Ould Sidi Mohamed Wedih A, Ould Boubaccar A, Ould Ely Litime A, Feil A, Ould Moussa A. Hydrocolpos and hydrometrocolpos in newborns. *PubMed* 2013 Feb; 20(2): 176–80.

Embriómélyhűtés: a tárolási idő hosszával kapcsolatos szakmai és etikai kérdések



Konc János dr.^{1,2}, Kanyó Katalin dr.^{1,2}, Cseh Sándor dr.^{2,3}

¹Észak-Közép-budai Centrum, Új Szent János Kórház és Szakrendelő, Budai Meddőségi Centrum, Budapest (Centrumvezető: Prof. Dr. Konk János)

²Nemzeti Humán Reprodukciós Intézet, Budapest (intézetvezető: Prof. Dr. Konk János)

³Állatorvostudományi Egyetem, Szülészeti Tanszék, Budapest (intézetvezető: Prof. Dr. Cseh Sándor)

Az embrió és petesejt fagyasztási ciklusok számának gyors felfutása azt eredményezte, hogy egyre nagyobb számú embrió és petesejt tartós és biztonságos mélyhűtve tárolásáról kell gondoskodniuk a klinikáknak/centrumoknak. A hosszú ideig tartó tárolás óhatatlanul magában hordoz bizonyos rizikótényezőket is, mint például fertőző betegségnek a folyékony nitrogénben tárolt minták közötti terjedése/átterjedése (a folyékony nitrogén közvetítése révén), a tárolási idő növekedésével az embrió/petesejt életképességének csökkenése, és a tárolási idő növekedésével a technikai vagy emberi hiba előfordulása veszélye is megnő. Ezekkel a kérdésekkel foglalkozik a cikk.

Kulcsszavak:???????

English Title

The increasing number of frozen embryo + ET and oocyte ICSI+ET cycles result in the storage of increasing number of frozen embryos and oocytes in safe circumstances by the IVF clinics. The long term storage – of course – carries some risk factors, for example contamination of the stored material/cells through the transmission of liquid nitrogen, viability decrease of the embryos/oocytes during long term storage, and the possibility of technical or human error increases with the length of storage time. These issues are addressed in the article.

Keywords:??????

Az elmúlt 30–35 évben az embrió mélyhűtési eljárás nagyon fontos részévé vált a humán IVF/ICSI-ET-technológiának. Az embriók fagyasztása számos előnnyel jár a páciens és a kezelést végző személyzet (nőgyógyász, biológus, nővérek) számára egyaránt, amelynek köszönhetően – nem meglepő, hogy – az embriómélyhűtés napjainkban már napi rutinfeladattá vált az IVF-centrumok életében. Ezzel párhuzamosan az eljárás nagy átalakuláson ment keresztül az elmúlt két évtizedben, amelynek köszönhetően hatékonysága nagymértékben javult.

Az embriómélyhűtés alkalmazásával a következő előnyökkel lehet számolni:

1. Csökkenthető az IVF-kezelés összköltsége, hiszen a nem beültetett embriók (az ún. plusz/számfeletti embriók) mélyhűtésével és későbbi felhasználásával/beültetésével növelhető az azonos ciklusból transzferált embriók

száma. Ráadásul mára kialakult az ún. „freeze all” szakmai álláspont, ami azt jelenti, hogy az összes megfelelő minőségű embriót mélyhűtik és egyesével/kettesével felolvasztva őket természetes ciklus(ok)ban (esetenként ún. felépített ciklusban) ültetik be őket, melynek több szakmai előnye is van;

- Csökkenthető a petefészek hiperstimulációs szindróma negatív hatásának esélye;
- Csökkenthető a beültetett embriók száma, aminek köszönhetően csökken a nem kívánt többes ikerterhességek száma;
- A természetes ciklusban történő visszaültetésnél az embriók megtapadása szempontjából az endometrium kedvezőbb stádiumban van, jobb a fogadókészsége, ezért nagyobb az esélye az embrió implantációjának/beágyazódásának (a terhességi arány javul).

Érkezett: 2019. xxxxxx xx. Közlésre elfogadva: 2020. xxxxxx xx. Received: xx xxxxxx 2019 Accepted: xx xxxxxx 2020

Levelezési cím:

- Emelkedett progeszteronszint a follikuláris fázis végén „freeze all” indikációját képezheti;
- Blasztociszta biopsziát igénylő preimplantációs genetikai vizsgálat is elektív krioprezervációt igényel;
- Fertilitás megőrzését is szolgálhatja az embriók/petesejtek fagyasztása (pl. onkológiai esetek, stb.).

2. Ma már a legtöbb országban szabályozzák az egyszerre beültethető embriók számát, hogy csökkentsék a nem kívánt többes ikerterhességek számát. Ez a tendencia tovább növelte az embriófagyasztás jelentőségét.

A fagyasztási ciklusok számának gyors felfutása azt eredményezte, hogy évről-évre egyre nagyobb számú embrió tárolásáról kell gondoskodniuk a klinikáknak/centrumoknak. Tovább nehezíti a tartós tárolással kapcsolatos helyzetet, hogy a petesejtfagyasztást igénylő ciklusok száma is folyamatosan emelkedik. Az USA-ban a petesejtfagyasztást már kivették a „kutatási eljárás” kategóriából és egyértelműen klinikai alkalmazásra alkalmasnak ítélte az illetékes szakmai bizottság (The Practice Committees of the ASRM, 2013). Ez a lépés érthető és szakmailag teljesen megalapozott, hiszen becslések szerint több mint 2000 gyermek született már fagyasztott petesejtből (<https://gizmodo.com/only-about-2000-babies-have-been-born-using-cryogenic-e-1692707823>; 2015). A tárolással kapcsolatos kérdést tovább bonyolítja, hogy a fagyasztott embriók és petesejtek esetében több éves biztonságos elhelyezésről kell a klinikáknak gondoskodniuk. A hosszú ideig tartó tárolás óhatatlanul magában hordoz bizonyos rizikótényezőket is, mint például fertőző betegségnek a folyékony nitrogénben tárolt minták közötti terjedése/átterjedése (a folyékony nitrogén közvetítése révén), bakteriális kontamináció veszélye, vagy a tárolási idő növekedésével az embrió/petesejt életképességének csökkenése. A tárolási idő növekedésével a technikai vagy emberi hiba előfordulása veszélyének a valószínűsége is óhatatlanul megnő, ami az idő előtti/korai viszszelegezés miatt okozhat mintavesztést.

Bakteriális kontaminációnak, illetve a fertőző betegségnek egyik mintáról a másikra való átterjedésének a veszélye a mélyhűtve tárolás alatt

Ismert, hogy bizonyos vírusok és baktériumok képesek túlélni a folyékony nitrogén hőmérsékletére való lehűtést. Így a fertőző betegség egyik mintáról a másikra való átterjedése, vagy a kontamináció kérdése valós veszélyt jelenthet és figyelmet érdemel. Meg kell azonban jegyezni, hogy a vitrifikáció esetében van/lehet ennek a kérdésnek igazán jelentősége, és ott is csak akkor, ha ún. nyitott rendszerrel vitrifikálnak/fagyasztanak. A nyitott rendszerű vitrifikációs technikánál ugyanis a fagyasztott minta (petesejt, embrió) és a folyékony nitrogén között közvetlen kapcsolat jöhet létre, ami elősegítheti – a folyékony nitrogén közvetítése révén – a mélyhűtött ivarsejt/embrió kontaminálódását a fertőző ágenssel. Az asszisztált reprodukciós szakemberek véleménye szerint az ART-ban azonban nagyon kicsi az esélye egy ilyen fertőződés bekövetkezésének (Pomeroy és mtsai 2010, Cobo és mtsai 2012).

Az életképesség csökkenésének veszélye a tartós tárolás során

Már az 1980-as évek közepéről származó kísérleti adatok jeleztek, hogy egyedül a háttérsugárzás idézhet elő károsodást a fagyasztva tárolt embrió genetikai anyagában és ezen keresztül csökkentheti a sejt életképességét (Cohen és mtsai 1988; Glenister és mtsai 1984). Ezzel a veszéllyel azonban csak igen hosszú ideig, több ezer évig tartó tárolás esetén kell számolni. Egérembriókkal végzett modellkísérletek szerint 2000 év még nem okoz végzetes károsodást (Glenister és Lyon, 1986). Mindebből következik, hogy gyakorlati jelentősége – különösen, ha egy emberöltővel számolunk – a háttérsugárzás által okozott károsodásnak, életképesség csökkenésnek nincs, hiszen ilyen hosszú ideig nem tárolják az ivarsejteket/embriókat, sem a humán reprodukciós medicinában, sem az állatokkal kapcsolatos ART-ban. Így a klinikai gyakorlatban várhatóan előforduló tárolási időtartamok esetén, nem kell életképesség-csökkenéssel számolni a lassan, hagyományos technikával fagyasztott petesejtek és embriók esetében (Parmegiani és mtsai 2009; Goldman és mtsai 2015).

Napjainkban az IVF/ICSI-ET klinikai gyakorlatában alapvetően két technikával mélyhűtenek: hagyományos lassú fagyasztás és vitrifikáció. Az utóbbi esetében ultrarapid hűtési sebességet alkalmaznak. Nemcsak a hűtési sebességben van azonban markáns különbség a két eljárás között, hanem a tápoldat mennyiségében és a hűtőtartályban is, amiben az embriót/petesejtet mélyhűtik. A lassú fagyasztásnál ún. műszalmában mélyhűtik a petesejtet/embriót, amelynek 50–150 µl a befogadóképessége. A vitrifikációkor 1–2 mikroliterben és speciális eszköz (carrier system) segítségével fagyasztanak. Nyilvánvaló, hogy a mélyhűtő tápoldatok termodinamikai stabilitása, fagyasztott állapotban a térfogat függvényében nagymértékben változhat/különbözhet. A gyakorlatban ennek abban van jelentősége, hogy kisebb térfogat esetén rövidebb ideig tart az oldat csepp visszamelegezése, mint nagyobb térfogatnál. Ezért a vitrifikált mintáknál nagyon vigyázni kell arra, hogy a biztonságos tárolási hőmérsékletet folyamatosan biztosítsuk (pl. fagyasztott minta azonosítása, szállításra való előkészítés, szállítás, stb.). Óvni kell a mintát attól, hogy a hőmérséklete mínusz 120 – mínusz 130 °C alá csökkenjen, mert csak így tudjuk megakadályozni, hogy az ún. újrakristályosodás meginduljon a fagyasztott sejtekben. Vitrifikált humán petesejtek és embriók tartós tárolásával kapcsolatban még viszonylag kevés adattal rendelkezünk, de azok eddig arra utalnak, hogy nem tapasztalható életképesség-csökkenés a tárolás alatt (Goldman és mtsai 2015; Ueno és mtsai 2018).

Állatembriókkal már hosszabb ideig tartó tárolással kapcsolatban is rendelkezünk tapasztalatokkal. Az egyik tanulmány során összesen 373 lassú hűtési technikával fagyasztott juhembriót transzferáltak, amelyeket a beültetést megelőzően 0,5 évig (n=259) vagy 7,5 évig (n=114) tároltak folyékony nitrogénben (–196 °C). Az eredmények azt mutatják, hogy még a 7,5 éves fagyasztva tárolás sem befolyásolta negatívan az embrió transzferből megszületett bárányok arányát, születési súlyát, fejlődését és életképességét. Egy másik kísérleti programban 13 évig tárolt fagyasztott

juhembriókat ültettek be és teljesen egészséges utódok születtek. (Yao és mtsai 2012).

Marco-Jimenez és mtsai (2018) 516 vitrifikációval fagyasztott nyúlembriókat ültettek be 54 recipiensbe. Az embriók egy részét 1 évig (301 embrió) másik részét 15 évig (259 embrió) tárolták. A program eredményeként sikeresen állítottak helyre bizonyos családvonalakat, amelyeket 15 évig génbankban tároltak. Ez is azt bizonyítja, hogy legalább másfél évtizedig lehet stabilan mélyhűtve tárolni nyúlembriókat.

Reed és mtsai (2010) újrafagyasztott (kétszer fagyasztott) humán blasztociszták sikeres beültetéséről számoltak be. Az embriókat 13,4 évig tárolták fagyasztott állapotban (4909 nap). Ez az eredmény is azt jelzi, hogy korrekt tárolási körülmények biztosításakor nem csökken az embriók (humán blasztociszták) életképessége és vitalitása még közel másfél évtizedes tárolási időtartam esetén sem.

Riggs és mtsai (2010) azt tanulmányozták, hogy a fagyasztva tárolás időtartama hogyan befolyásolja a fagyasztott humán embriótranszfer-ciklusok eredményességét. 21 év tapasztalatait összegezték egy retrospektív tanulmányban. Összesen 11 768 mélyhűtött embrió sorsát értékelték (2417 felmelegítési ciklus), amelyek között voltak olyanok, amelyeket közel 10 évig tároltak. Az eredményeik azt mutatják, hogy a tárolási idő hosszának nincs negatív hatása a humán embriók felmelegítés utáni túlélésére, implantálódására és a terhességi eredményekre. A megszületett gyermekek egészségi állapota és fejlődése – az ún. utánkövető tanulmányok adatai szerint – zavartalan és nem különbözik a természetes úton fogant társaikétól.

Összefoglalva: kontrollált laboratóriumi körülmények közötti fagyasztva tárolás még tíz év tárolás után sem okozott károsodást a mélyhűtött humán embriókban.

Donna Dowling-Lacey, MS, társszerzőkkel, 2011-ben megjelent esettanulmányban arról számolnak be, hogy egy 42 éves páciens egészséges gyermeknek adott életet és a gyermek olyan adományozott embrióból született, ami közel 20 évig volt fagyasztva, mínusz 196 °C-on tárolva. Az embriókat 1990. januárban fagyasztották. A donor anya 34 éves volt a fagyasztáskor és anonim adományozáshoz járult hozzá (Lacey és mtsai 2011).

Fagyasztva tárolt humán embriók sikeres beültetésével kapcsolatban valószínűleg rekordnak számít a két évvel ezelőtti híradás, amely szerint egy páciens egészséges gyermeknek adott életet, aki egy 24 évvel ezelőtti mélyhűtött embrióból született (A Woman Gave Birth From an Embryo Frozen for 24 Years; <https://www.theatlantic.com/science/archive/2017/12/frozen-embryo-ivf-24-years/548876/>).

Emberi hibára vagy technikai problémára visszavezethető mintavesztés és/vagy korai visszamelegedés

Gyakorlati tapasztalatok szerint fertőző betegségnek egyik mintáról másira való áterjedésének, vagy a tárolási idő miatt bekövetkező életképesség-csökkenésnek a veszélye lényegesen kisebb, mint az emberi hibára vagy technikai problémára visszavezethető mintavesztésnek (ASRM Bulletin, 2018).

Technikai okok miatt bekövetkező, nagyobb számú mintavesztést két meddőségi központ jelentett az USA-ban. Az esetek több ezer petesejtet és embriókat és ehhez kapcsolódóan több 100 pácienset érintettek. Hasonló okokból származó mintavesztésről számoltak már be Spanyolországban, Olaszországban, Ausztráliában, Kanadában és az Egyesült Királyságban is. Feltételezhetően más országokban is történtek esetek, csak azok kisebb publicitást kaptak. A technikai okok között említik az automata-utántöltő rendszer meghibásodását (folyékony nitrogénszint-csökkenést idéz elő), ami különösen nagy veszélyforrás abban az esetben, ha a mintákat a nitrogéngőzben tárolják. Talán nem lehet véletlen, hogy egy felmérésben 97 klinikából csak 17-ben tárolták az embriókat/petesejteket nitrogéngőzben, tehát a klinikák többsége változatlanul a folyékony fázisban történő tárolást választja. Kétségtelen, hogy ez a tárolási mód jobban biztosítja a tartós tárolás sikerességét megalapozó biztonságos és állandó alacsony hőmérsékletet, ráadásul egy rövid, átmeneti ideig képes azt még hibás működés esetén is megtartani (a minták, beállítástól függően, több centiméter magas folyékony nitrogén-fázisban vannak elhelyezve). A gőzfázisban való tárolásnál, ha a nitrogén-utánpótlás akadozik/leáll nincs annyi nitrogén a tartályban, ami akár csak átmenetileg is képes lenne megtartani az alacsony hőmérsékletet és az azonnal elkezdi emelkedni.

Különösen nagy kihívást jelent megfelelő hőmérsékletnek a folyamatos biztosítása a fagyasztott embriók számára szállítás alatt. Ilyen esetben speciális technikai eszköz használatára van szükség. Az embriókat – biztonsági okokból – általában folyékony nitrogéngőzben szállítják, és gőzfázissal igyekeznek biztosítani a megfelelő alacsony hőmérsékletet. McDonald és mtsai (2011) adományozott petesejtekkel végeztek szállítási vizsgálatokat és azt tapasztalták, hogy a vitrifikált, szállított petesejtek csoportjában alacsonyabb a túlélési arány, mint a vitrifikált nem szállított és a lassan fagyasztott szállított csoportban. Egy másik tanulmányban különböző szállítási módok (repülő csomagtere és utastér, szállítás közúton) esetében hasonlították össze vitrifikált petesejtek túlélését és szignifikáns különbségeket találtak a csoportok között (Parmegiani és mtsai 2017). A szállítás alatti hőmérsékletváltozás különösen nagy veszélyforrás lehet vitrifikált petesejtek/embriók esetében, hiszen ennél a technikánál nagyon kis mennyiségű tápoldatban fagyasztják a sejteket. A kisebb tápfolyadék-térfogat miatt nagyon könnyen változhat a fagyasztott minta hőmérséklete, azaz gyorsan visszamelegedhetnek a fagyasztott sejtek. Ráadásul a szállított mintákat többször kell ellenőrizni (pl. szállításra való előkészítés, „csomagolás”, utolsó ellenőrzés közvetlenül szállítás előtt, majd a megérkezéskor és a felhasználás előtt, stb.) és ezek az alkalmak lehetőséget teremtenek a hőmérséklet-változásra, különösen abban az esetben, ha gőzfázisban történik a tárolás/szállítás (Parmegiani és mtsai 2017).

Embriómélyhűtéssel és a fagyasztott embriók tartós tárolásával kapcsolatos etikai megfontolások

A nemzetközi és a hazai szakmai körök egyaránt egyre gyakrabban hozzák szóba, hogy évről-évre nagyobb problémát jelent az IVF-klinikák számára a mélyhűtött ivarsejtek (spermium, petesejt) és embriók tartós tárolása technikai feltételeinek biztosítása. Folyamatosan bővíteni kell a technikai tárolókapacitást, újabb és újabb konténereket/tartályokat kell vásárolni, ami előbb vagy utóbb férőhelyproblémát generál. Ma már az ivarsejtek és embriók fagyasztása szerves részét képezi az IVF-programoknak és ennek köszönhetően folyamatosan emelkedik a mélyhűtve tárolt sejteknek a száma. Természetesen ezeknek a tartós és megbízható elhelyezéséről folyamatosan gondoskodni kell. A fagyasztott ivarsejteknek és embrióknak a felhasználása sokkal lassabb ütemben történik, mint amilyen ütemben fagyasztják őket, ami azt eredményezi, hogy több sejt kerül be a folyékony nitrogén tárolókba, mint amennyi onnan kikerül. Így a helyzet folyamatosan romlik. Sajnos ezzel párhuzamosan egyre több petesejt/embrió marad „árván/gazdátlanul”, amelyeknek a tárolásáról azonban továbbra is gondoskodni kell. „Árván” maradt sejtről akkor beszélünk, amikor több év elteltével sem nyilatkoznak a tulajdonos(ok) arról, hogy mi legyen a betárolt embrióikkal/petesejtjeikkel. Előfordul, hogy esetleg a klinika nem találja a házaspárt/tulajdonost, vagy megtalálja, de azok nem tud(nak) dönteni a petesejt/embrió sorsáról, stb.

Az Amerikai Reprodukciós Gyógyászati Társaság Etikai Bizottsága kialakított egy bizottsági véleményt/állásfoglalást a gazdátlan embriókkal kapcsolatban (Disposition of abandoned embryos: a committee opinion of the Ethics Committee of the American Society for Reproductive Medicine. American Society for Reproductive Medicine, Birmingham, Alabama). A bizottság megfogalmazása szerint, ha az árván maradt (gazdátlan) petesejtek/embriók sorsával kapcsolatban nincs egy világosan kialakított állásfoglalás, illetve szabályozás/előírás, akkor etikus megoldásnak tekinthető, amikor az intézet/klinika árvának/elhagyottnak/gazdátlanoknak tekinti a petesejtet/embriót, ha:

1. több mint 5 év telt el azóta, hogy kapcsolatba lehetett lépni a tulajdonossal/tulajdonosokkal,
2. az intézet/klinika próbált kapcsolatba lépni a tulajdonossal/tulajdonosokkal, de nem sikerült, vagy nem kapott írásban választ a megkeresésre és nem áll rendelkezésre írásos instrukció avval kapcsolatban, hogy mi a teendő a petesejt/embriókkal.

Ilyen esetekben megsemmisíthetők a(z) petesejtek/embriók. Nem szabad azonban sem az embriókat, sem a petesejteket donorprogramokban felhasználni, nem szabad termékenyíteni a petesejteket, illetve beültetni az embriókat. Tiltott a kísérleti célokra történő felhasználásuk is. Ez az állásfoglalás ugyan ennek a bizottságnak egy korábbi, 2004-ben kialakított véleményét „frissíti” (ASRM Ethics Committee; Fertil Steril 2004; 82: S253 és Fertil Steril 2013; 99: 1848–9.).

A klinikák számára nehezíti a helyes, mindenki számára (tulajdonos, jogalkotók, bioetikusok, stb.) elfogadható döntés meghozatalát, hogy törvényileg nincs egyértelműen szabályozva/meghatározva, hogy mennyi idő elteltével és milyen helyzetekben tekinthető egy embrió „árvának/gazdátlanoknak”. Ugyanakkor okkal feltételezhetnénk, hogy egy bizonyos idő elteltével a törvény „gazdátlanok”, „árvánok” tekinteti őket (LA-RS 9 x127. Responsibility. Available at: <http://www.legis.state.la.us/lss/lss.asp?doc%4108444>. Accessed March 6, 2012. 8. LA-RS 9 x129. Destruction. Available at: <http://www.legis.state.la.us/lss/lss.asp?doc%4108446>. Accessed March 6, 2012.). Mivel a törvényi szabályozásban bizonytalanság érzékelhető, ezért néhány klinika előnyben részesíti a határozatlan ideig való tárolást (nem kell dönteni). Mások vállalják a felelősséget és miután hosszabb idő elteltével sem tudják elérni a tulajdonost, vagy egyértelmű választ kapni tőle – hogy mi a teendő a sejteivel –, megsemmisítik azokat egy bizonyos idő elteltével (az időtartam viszont nagyon eltérő a különböző klinikák között). Ezzel a lépéssel, a felhatalmazás nélküli döntéshozattal és cselekvéssel azonban nagyon veszélyes és kritikus helyzetbe hozták/hozhatják magukat!

A különböző országok eltérő módon próbálják kezelni a kialakult helyzetet. Kanadai egyetemi oktatók/szakértők csoportja azt ajánlja, hogy Kanadának követnie kellene az Egyesült Királyságban, Dániában és Új-Zélandon alkalmazott gyakorlatot, hogy, ha 5–10 év telt el az embrió tulajdonosaival való utolsó sikeres kommunikáció (kapcsolatfelvétel) óta és ez minden igyekezet ellenére sem sikerült, illetve nem áll rendelkezésre írásos instrukció a petesejt/embriókkal kapcsolatos teendőkről, akkor az IVF klinikák megsemmisíthetik azokat.

A cikk elején már utaltunk arra, hogy évről-évre egyre nagyobb problémát jelent a klinikák számára a mélyhűtött ivarsejtek (spermium, petesejt) és embriók tárolása. A súlyosbodó helyzetet jól jelzi, hogy becslések szerint egyedül az USA-ban a „gazdátlan/árva” embriók száma kb. 400 000 és 1 400 000 közöttre tehető. Nyilván a helyzet más országokban is hasonló, csak esetleg az adatok nem ismertek, vagy nem publikusak. A legtöbb országban igyekeznek jogszabályok által meghatározni, hogy hány évig lehet mélyhűtve tárolni az embriókat és ennek segítségével még kezelhető keretek között tartani a tárolt sejtek számát. Az elérhető adatok szerint azokban az országokban, ahol a tárolási időt meghatározták, általában 5–10 éves időtartamot állapítanak meg. Ugyanakkor Ausztriában és Dániában mindösszesen 1 évet engedélyeznek. Ez azonban – ha végig gondoljuk a kérdést – meglehetősen nehéz helyzetbe kényszeríti azokat a párokat, akiknél az embriótranszfer sikeres volt. Esetükben 12 hónap alatt nehezen valósítható meg a fagyasztott embrióknak a beültetése. Ennek következtében ezeknél a pároknál gyakran megsemmisítésre kerülnek az embriók, mivel mire sor kerülhetne a korábban lefagyasztott embrióknak a beültetése, már letelt a 12 hónap. Finnországban 10 évben van megállapítva a maximális tárolási idő, Izraelben 5 év az alap, amit orvosi indoklással 10 évre lehet növelni. Spanyolországban és az Egyesült Királyságban hasonló a helyzet. Svédországban csak nem termékenyült petesejtek

tárolhatók és a tárolási idő 5 év. Az USA-ban megengedőben viszonyulnak a kérdéshez, mert nincs szabályozva a tárolási idő hossza (nincsenek korlátok).

A törvényileg meghatározott időtartamokkal kapcsolatban azonban rögtön meg kell jegyezni, hogy azok évekként elöllettek meghatározva, amikor még nem tudtuk (nem voltak adatok arra vonatkozólag), hogy biológiai szempontból mennyi ideig lehet biztonságosan tárolni az embriókat a folyékony nitrogén hőmérsékletén, -196°C -on. Ma már azonban tudjuk, hogy az embriók a fagyasztás alatt megőrzik az életképességüket és beültetésükkel jó hatékonysággal lehet terhességeket elérni, továbbá – ami még ennél is fontosabb – egészséges gyermekek születnek jóval a 10 éves tárolás után is (erre vonatkozó hivatkozásokat lásd korábban)!

Talán ennek tudható be, hogy az Egyesült Királyságban az érvényben lévő szabályozást (The Human Fertilisation and Embryology Act 1990) 2009-ben frissítették. Ennek eredményeként az olyan hölgyek számára, akik korai infertilitási problémával szembesültek vagy szembesülhetnek, pl. korai menopauza, engedélyezték a petesejték hosszabb, akár 55 évig történő tárolását. Ezzel meglehetősen ellentmondásos helyzet alakult ki, mert azoknak a hölgyeknek, akik a korral összefüggő fertilitás csökkenés miatt választanak ezt a megoldást, nem adták meg ezt a lehetőséget/kedvezményt. A kialakult kettős mércéről írt Emily Jackson professzor a Londoni Közgazdasági Egyetem Jogi Tanszékének munkatársa. Jackson professzor cikkében megállapítja, hogy a szabályozás kedvezően rendelkezik azoknak a nőknek a szempontjából, akik egészségügyi okokból (pl. daganat, petefészek eltávolítás, stb.) dönthetnek a krioprezerváció mellett. Teljesen más elbírálás alá esnek azonban azok, akik halasztani akarják a terhességet karrierépítés, vagy pénzügyi okokból, vagy esetleg azért, mert átmenetileg nincs kapcsolata, stb. A férfiak is más elbírálásban részesülnek, hiszen náluk is korlátlan ideig engedélyezett az ivarsejték fagyasztva tárolása (Jackson 2016). A petesejték tárolási ideje hosszának jogszabályban történő meghatározása érdekes helyzetet teremtett a nők számára, ugyanis a „biological time clock/biológiai óra” helyébe a „legal time clock/jogi óra” lépett. A Szerző megállapítja, hogy a jogszabályi keretek megváltoztatása miatt a nő számára két megoldás maradt:

1. vagy egy idő előtti terhességet vállal (amikor még nem áll készen rá: karrierépítés, anyagi gondok, nincs partner és kényszerűsügből donor spermára van szüksége, stb.), vagy

2. 30–35 éves korban petesejt-fagyasztásra jelentkezik, hogy még hozzá férjen 40 éves kora körül a lefagyasztott petesejtjeihez, amikor elérkezett az ideje a terhességnek és/vagy amíg az érvényes szabályozás szerint tárolni lehet a sejteket. Így viszont nem a legoptimálisabb időszakban történik a petesejték mélyhűtése, ami 30 éves kor alatt lenne optimális.

A jelenleg alkalmazott szabályozás viszonylag rövid ideig teszi lehetővé az embriók/petesejték tárolását. A sejtek tartós tárolásával kapcsolatos ismereteink jelentős mértékű bővülése, az ezzel kapcsolatos, a módszer biztonságát erősítő, kedvező és megnyugtató tapasztalatok, az elmúlt évtizedben bekövetkezett szociális és társadalmi változások, valamint a páciensek részéről megfogalmazott igények mind abba az

irányba mutatnak, hogy lehetővé kellene tenni, hogy a klinikák hosszabb ideig tárolhassák az embriókat és petesejtéket. Ezt könnyen el lehetne érni azzal, ha a kezdődő petefészek-elégtelenséggel (incipiens ovarian failure, IOF) terhelt páciensekhez hasonlóan mindenki számára kiterjesztik a tárolás idő hosszát.

Az időkorlát meghatározásának csak egyik oka az embrió életképességének kérdése. Természetesen egyéb okok is vannak: jogi (öröklés), morális, férőhelyproblémák (nincs elég hely a tárolásra a klinikán), stb. Ez utóbbiak taglalása azonban meghaladja ennek a cikknek a lehetőségeit.

IRODALOM

1. ASRM Bulletin 2018. ASRM statement on second report of storage tank failure. ASRM Office of Public Affairs 2018; 20(6).
2. Glenister PH, Lyon MF. Long-term storage of eight-cell mouse embryos at -196°C . *J In Vitro Fert Embryo Transf* 1986; 3: 20–27.
3. The Practice Committees of the ASRM, 2013. Mature oocyte cryopreservation: a guideline. *Fertil Steril* 2013; 99: 37–43.
4. Pomeroy KO, Harris S, Conaghan J, Papadakis M, Centola G, Basuray R, Battaglia D. Storage of cryopreserved reproductive tissues: evidence that cross-contamination of infectious agents is a negligible risk. *Fertil Steril* 2010; 94: 1181–1188.
5. Cobo, et al. Fertility and Sterility January 2012; 97(1): 0015-0282/\$36.00 2012 doi:10.1016/j.fertnstert.2011.10.006
6. Cohen J, Inge KL, Wiker SR, Wright G, Fehilly CB, Turner TG. Jr. Duration of storage of cryopreserved human embryos. *J In Vitro Fert Embryo Transf* 1988; 5: 301–303.
7. Glenister PH, Whittingham DG, Lyon MF. Further studies on the effect of radiation during the storage of frozen 8-cell mouse embryos at -196°C . *J Reprod Fertil* 1984; 70: 229–234.
8. Parmegiani L, Garello C, Granella F, Guidetti D, Bernardi S, Cognigni GE, Revelli A, Flicori M. Long-term cryostorage does not adversely affect the outcome of oocyte thawing cycles. *Reprod Biomed Online* 2009; 19: 374–379.
9. Goldman KN, Kramer Y, Hodes-Wertz B, Noyes N, McCaffrey C, Grifo JA. Long-term cryopreservation of human oocytes does not increase embryonic aneuploidy. *Fertil Steril* 2015; 103: 662–668.
10. Ueno S, Uchiyama K, Kuroda T, Kobayashi T, Kato K. Cryostorage duration does not affect pregnancy and neonatal outcomes: a retrospective single-centre cohort study of vitrified-warmed blastocysts. *Reprod Biomed Online* doi:10.1016/rbmo.2018.03.008. 2018.
11. Yao YC, Qi M, Lu MH, Wang SM, Li W, Han HB. Long-term cryopreservation had no adverse effect on viability of embryos and their offspring in sheep. *Anim Reprod Sci* 2012; 136: 42–46.
12. Marco-Jimenez F, Baselga M, Vicente JS. Successful re-establishment of a rabbit population from embryos vitrified 15 years ago: The importance of biobanks in livestock conservation. *PLOS ONE* 2018 June 18.
13. Reed ML, Hamic A, Caperton CL, Thompson DJ. Live birth after anonymous donation of twice cryopreserved embryos that had been stored in LN2 for a cumulative storage time of approximately 13.5 years. *Case Report Fertil Steril* 2010; 94(7).
14. Riggs R, Mayer J, Dowling-Lacey D, Chi TF, Jones E, Oehninger S. Does storage time influence postthaw survival and pregnancy outcome? An analysis of 11,768 cryopreserved human embryos. *Fertil Steril* 2010; 93(1).
15. McDonald CA, Valluzo L, Chuang L, Poleshchuk F, Copperman AB, Barritt J. Nitrogen vapor shipment of vitrified oocytes time for caution. *Fertil Steril* 2011; 95: 2628–2630.
16. Parmegiani L, Maccarini AM, Rastellini A, Bernardi S, Trollo E, Arnone A, Flicori M. Oocyte vitrification/storage/handling/transportation/warming effect of survival and clinical results in donation programmes. *Curr Trends Clin Embryol* 2017; 4: 34–40.
17. Jackson E. Social egg freezing and the UK's statutory storage time limits. *J Med Ethics* 2016; 42(11): 738–741.
18. Lacey DD, Jacob FM, Jones E, Bocca S, Stadmauer L, Oehninger S. Live birth from a frozen-thawed pronuclear stage embryo almost 20 years after its cryopreservation. *Fert Steril* 95(3):1120–3.