

(συνεργασία: Δρ Νικόλαος Βλαχάδης)

ΕΞΩΣΩΜΑΤΙΚΗ ΓΟΝΙΜΟΠΟΙΗΣΗ ΚΑΙ ΑΛΛΕΣ ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΥΠΟΒΟΗΘΟΥΜΕΝΗΣ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗΣ

Κεφάλαιο 21

ΓΕΝΙΚΑ

Στα πλαίσια της νοσηλευτικής φροντίδας, μεγάλο μέρος των βασικών ενεργειών κατά την προσέλευση ενός υπογόνιμου ζευγαριού θα μπορούσαν να γίνουν από τη μαία ή τη νοσηλεύτρια. Ωστόσο, αν η ασθενής δεν συλλάβει σε λίγους μήνες, θα πρέπει να παραπεμφθεί στον ειδικό. Επίσης, η μαία ή η νοσηλεύτρια θα πρέπει να είναι προετοιμασμένες να βοηθήσουν την υπογόνιμη γυναίκα να αντιμετωπίσει την απογοήτευση όταν αποτυγχάνει να συλλάβει ή οι κησείς καταλήγουν σε αποβολή (Devine 2003).

Στα πλαίσια της υποβοηθούμενης αναπαραγωγής, οι μαίες και οι νοσηλεύτριες με τις ειδικές γνώσεις και την αυξανόμενη εμπειρία μπορούν να αποτελέσουν αναπόσπαστο μέρος των ειδικών μονάδων (McTavish 2003).

Η εξωσωματική γονιμοποίηση (In Vitro Fertilization-IVF) έχει «αντικαταστήσει» σε μεγάλο βαθμό τις χειρουργικές επεμβάσεις (που σε επιτυχία τους όμως πλεονεκτούν διότι οι επόμενες προσπάθειες του ζευγαριού είναι χωρίς οικονομικό κόστος). Η IVF μαζί με τις άλλες μεθόδους υποβοηθούμενης αναπαραγωγής (ΜΥΑ) έχουν συντελέσει στη επίτευξη >7.000.000 κήσεων σε ολόκληρο τον κόσμο. Σήμερα, στην Ευρώπη και στις ΗΠΑ, 1-3% των γεννήσεων ζώντων νεογνών προέρχονται από ΜΥΑ (Paulson 2015).

Η εξωσωματική γονιμοποίηση είναι «μονόδρομος» όταν η χειρουργική αποκατάσταση απέτυχε (μετά από κάποιο λογικό διάστημα αναμονής ή/και μετά από διαγνωστικό έλεγχο που επιβεβαιώνει την αποτυχία) και όταν συμπεραίνεται ότι υπάρχει αντένδειξη χει-

ρουργικής αντιμετώπισης. Σε γενικές γραμμές, αν 12 μήνες μετά τη χειρουργική επέμβαση δεν επιτευχθεί κύηση, υπάρχει ένδειξη για εξωσωματική γονιμοποίηση (Darné 2004).

Η εξωσωματική γονιμοποίηση επιλέγεται επίσης όταν, πέρα από τον σαλπγγικό παράγοντα, συνυπάρχουν και άλλα αίτια υπογονιμότητας που δεν μπόρεσαν να αντιμετωπιστούν με επιτυχία ή που η αποκατάστασή τους κρίνεται δύσκολη.

Με δεδομένο ότι για να διαπιστωθεί η επιτυχία της χειρουργικής επέμβασης θα πρέπει να περάσουν τουλάχιστον κάποιοι μήνες, σε γυναίκες μεγάλης σχετικά ηλικίας (π.χ. >37 ετών) με απόφραξη των σαλπγγων προτείνεται η IVF.

Ενδείξεις: Η πρώτη ένδειξη για εξωσωματική γονιμοποίηση υπήρξε ο σαλπγγικός παράγοντας (απόφραξη των σαλπγγων κ.λπ.). Αργότερα, έγινε προοδευτική διεύρυνση των ενδείξεων της μεθόδου που εφαρμόστηκε με επιτυχία σε ανδρικής αιτιολογίας στειρότητα, σε αποτυχία μετά από ομόλογες σπερματεγχύσεις, σε ανεξήγητη στειρότητα, σε ενδομητρίωση (όπου η ενδοσαλπγγική τοποθέτηση γαμετών/ GIFT εμφανίζει υψηλά ποσοστά έκτοπων κήσεων), σε προβλήματα τραχηλικής βλέννας, σε ανωμαλίες της ενδομητρικής κοιλότητας (π.χ. σύνδρομο Asherman ή σοβαρές ανατομικές ανωμαλίες) ή σε απουσία μήτρας (με «δανεική» μήτρα) όπως και σε απουσία ωοθηκών ή σε αδυναμία παραγωγής ωοθυλακίων από τις ωοθήκες (με δωρεά ωαρίων). Η μέθοδος της «δανεικής» μήτρα θα μπορούσε να συστηθεί και σε ιατρική αντένδειξη για κύηση. Στις ενδείξεις περιλαμβάνονται η ωοθυλακική δυσλειτουργία και οι ελαττωμένες

ωθηκικές εφεδρείες και όλες οι αιτίες υπογονιμότητας μετά από τη θεραπευτική αποτυχία λιγότερο επεμβατικών μεθόδων. Στο παρελθόν, υποστηρίχτηκε ότι η αποτυχία γονιμοποίησης μετά από 6-12 κύκλους πρόκλησης επιτυχούς ωοθυλακιωρρηξίας (ΩΡ) όπως και η αποτυχία της ετερόλογης σπερματέγχυσης μετά από 12 κύκλους (με ή χωρίς πρόκληση ωοθυλακιωρρηξίας) είναι επίσης ενδείξεις IVF (Darné 2004). Σήμερα, πριν από την προσπάθεια IVF και σε απουσία παραγόντων που αποκλείουν την κύηση (π.χ. απόφραξη σαλπίνγων ή σοβαρός ανδρικός παράγοντας) συστήνεται να επιχειρηθούν 3-6 κύκλοι πολλαπλών ΩΡ με ενδομητρικές σπερματεγχύσεις. Ωστόσο, σε γυναίκες >40 ετών, θα μπορούσε να συστηθεί IVF από την αρχή (Paulson 2015). Τέλος στις ενδείξεις της IVF περιλαμβάνονται η επιλογή φύλου, η προεμφυτευτική γενετική διάγνωση και η πρόληψη μιτοχονδριακών ανωμαλιών. Η τελευταία ένδειξη αφορά γυναίκες με κληρονομούμενες μεταλλάξεις του μιτοχονδριακού DNA (mtDNA), που είναι σημαντική αιτία γενετικών

νόσων για τις οποίες δεν υπάρχει αποτελεσματική θεραπεία. Μια μέθοδος που μπορεί να χρησιμοποιηθεί είναι η αφαίρεση του πυρήνα από το ωάριο δότριας και η αντικατάστασή του από τον πυρήνα του ωαρίου της μελλοντικής μητέρας (MM). Το 2015, στο Ηνωμένο Βασίλειο, θεσπίστηκαν κανόνες για τη μεταφορά του πυρήνα από τον γενετικό γονέα (MM) στο ωάριο της μιτοχονδριακής δότριας.

Η πιθανότητα επιτυχίας μιας και μόνο προσπάθειας IVF, με την έννοια ενός ζωντανού υγιούς παιδιού ήταν περίπου 10-25% (Oats & Abraham 2005, Castelbaum 2005). Σε επανάληψη της IVF για πέντε φορές το αθροιστικό ποσοστό “take-home baby” ήταν 40% (Oats & Abraham 2005). Σήμερα, στα κέντρα υποβοηθούμενης αναπαραγωγής με καλή αποτελεσματικότητα, τα προηγούμενα ποσοστά είναι μεγαλύτερα.

1. ΠΡΟΚΛΗΣΗ ΩΟΘΗΚΙΚΗΣ ΔΙΕΓΕΡΣΗΣ

Η πρώτη κύηση με εξωσωματική γονιμοποίηση επιτεύχθηκε από τους Steptoe και Edwards το 1978 με τη λήψη ενός μόνο ωαρίου που προερχόταν από ένα ωοθυλάκιο κατά τη διάρκεια ενός φυσιολογικού κύκλου. Αργότερα, έγινε σαφές ότι για να αυξηθούν τα ποσοστά κύησεων είναι απαραίτητη η χρήση των ειδικών φαρμακευτικών σκευασμάτων για την πρόκληση ταυτόχρονης ωρίμανσης πολλών ωοθυλακίων (αφού το ποσοστό κύησεων αυξάνεται ανάλογα με τον αριθμό των διαθέσιμων εμβρύων για μεταφορά) και έτσι προέκυψαν τα διάφορα σχήματα ελεγχόμενης υπερδιέγερσης των ωοθηκών στην υποβοηθούμενη αναπαραγωγή. Στη συνέχεια, φάνηκε ότι τα ποσοστά επιτυχών κύησεων με την εξωσωματική γονιμοποίηση εμφανίζουν μικρές διαφορές ανάλογα με το αίτιο της υπογονιμότητας (Bandowski & Vlahos 2002).

Αρχικά, η διέγερση των ωοθηκών γινόταν μόνο με τη χρήση κυτρικής κλομφαίνης και στη συνέχεια με τον συνδυασμό κυτρικής-κλομφαίνης και ανθράπων εμμηνοπαυσιακών γοναδοτροπινών (human Menopausal Gonadotropins/ hMG, δηλαδή FSH με πρόσμιξη LH) ή μόνο γοναδοτροπινών. Οι γοναδοτροπίνες χρησιμοποιήθηκαν με τη σκέψη ότι αποτελούν μια πιο φυσιολογική προσέγγιση για την ωοθηκική διέγερση. Οι hMG προέρχονται από μεγάλες ποσότητες ούρων μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών. Στο εμπόριο κυκλοφόρησαν σκευάσματα με 75 I.U. FSH και LH ανά αμπούλα (Humegon, Pergonal). Οι δυσκολίες της συλλογής των ούρων, οι διαφορές ανάμεσα στις παρτίδες και η χαμηλή καθαρότητα αυτών των σκευασμάτων οδήγησε στην παρασκευή σκευασμάτων μεγαλύτερης καθαρότητας σε FSH αρχικά και, με τη βοήθεια της βιοτεχνολογίας, στην παρασκευή ανασυνδυασμένης FSH στη συνέχεια. Το τελευταίο επιτεύχθηκε με τον εμβολιασμό κυτ-

ταρικών σειρών ωθηκών Hamster με πλασμίδια που περιέχουν γονίδια με τον κώδικα των δύο υπομονάδων της FSH.

Ένα σχήμα ωθηκικής διέγερσης υπήρξε η χορήγηση κιτρικής κλομφαίνης σε δόση 100 mg ημερησίως για πέντε ημέρες από τη 2η έως την 6η ημέρα του εμμηνορρυσιακού κύκλου (ΕΚ), με χορήγηση της hMG (2-4 αμπούλες ημερησίως) την 6η ημέρα του ΕΚ (μέχρι και την ημέρα της χορήγησης hCG). Ωστόσο, από τη χρήση της κιτρικής κλομφαίνης διαπιστώθηκε ότι ενώ προκαλούσε την ταυτόχρονη ωρίμανση πολλών ωοθυλακίων δεν ήταν το κατάλληλο σκεύασμα για τη διατήρηση των κυήσεων, από τις οποίες το 25% κατέληγαν σε αποβολές, πιθανότατα λόγω ανεπάρκειας της ωχρινικής φάσης και πτωχής ανάπτυξης του ενδομητρίου.

Όταν επιχειρήθηκε η αποκλειστική χρησιμοποίηση hMG (και αργότερα καθαρής FSH ή ανασυνδυασμένης ωοθυλακιοτρόπου ορμόνης-rFSH) τα αποτελέσματα ήταν καλύτερα.

Η έναρξη της ωθηκικής διέγερσης συνήθως ξεκινούσε την 2η ή 3η ημέρα του ΕΚ με 2-4 αμπούλες γοναδοτροπίνης ημερησίως.

Η παρακολούθηση (monitoring) της ωθηκικής διέγερσης γινόταν με μέτρηση της οιστραδιόλης και υπερηχογραφικό έλεγχο από την πέμπτη ή έκτη ημέρα της χορήγησης των γοναδοτροπινών και συνεχιζόταν μέχρι και την ημέρα της χορήγησης της ανθρώπινης χοριακής γοναδοτροπίνης (human Chorionic Gonadotropin-hCG) για την τελική ωρίμανση των ωαρίων. Περίπου στη 10η ημέρα του ΕΚ, δηλαδή σε προχωρημένη παραγωγική φάση γινόταν και καθημερινός έλεγχος της έκκρισης της ενδογενούς LH και της προγεστερόνης. Αυτή η μέτρηση ήταν απαραίτητη για να διαπιστωθεί ενδεχόμενη πρόωμη ενδογενής αιχμή της LH (ανεξάρτητα από το μέγεθος ή τον αριθμό των ωοθυλακίων και ανεξάρτητα από την τιμή της οιστραδιόλης) που θα οδηγούσε σε πρόωμη ωχρινοποίηση και συλλογή ανώριμων ωαρίων.

Υπολογίστηκε ότι πρόωμη εκκριτική αιχμή της LH μπορούσε να συμβεί μέχρι και στο 30% των κύκλων χορήγησης hMG, που οδη-

γούσε στην ακύρωσή τους (αφού θα κατέληγε σε συλλογή ανώριμων ωαρίων). Χορήγηση της hCG (10.000 IU) γινόταν όταν υπήρχε τουλάχιστον ένα ωοθυλάκιο με διάμετρο >16 mm και επίπεδα οιστραδιόλης >600 pg/mL.

Αν η hCG χορηγηθεί νωρίτερα τότε θα ληφθούν ανώριμα ωάρια ενώ εάν γίνει αργά θα είναι υπερώριμα (με συνέπεια την αποτυχία της γονιμοποίησης ή τη δημιουργία εμβρύων πτωχής ποιότητας) ή δεν θα ληφθούν καθόλου ωάρια αφού θα έχει προηγηθεί ωοθυλακιορρηξία.

Θεωρητικά, η χρήση «καθαρής» FSH (π.χ. Metrodin με 75 I.U. FSH και πολύ μικρή πρόσμιξη LH ανά αμπούλα) ή ανασυνδυασμένης FSH, θα μπορούσε να προσφέρει καλύτερα αποτελέσματα αφού θα εξασφάλιζε χαμηλότερο επίπεδο ανδρογόνων στο ωοθυλακικό μικροπεριβάλλον. Στην πράξη, όμως δεν φάνηκε να υπάρχει διαφορά στα ποσοστά επιτυχίας συγκριτικά με εκείνα της hMG.

Σε γενικές γραμμές, γίνεται διέγερση των ωθηκών με συνδυασμό φαρμάκων και στη συνέχεια ένα ή περισσότερα ωοκύτταρα ανασύρονται από τα ωοθυλάκια. Τα τελευταία γονιμοποιούνται στο εργαστήριο και μετά τη γονιμοποίηση, ένα ή περισσότερα έμβρυα μεταφέρονται μέσα στην ενδομητρική κοιλότητα. Τα προηγούμενα βήματα συμβαίνουν σε ένα διάστημα δύο εβδομάδων περίπου που ονομάζεται κύκλος IVF.

1.1. Πρωτόκολλα διέγερσης των ωθηκών με τη χρήση GnRH αναλόγων

Στην πράξη, διαπιστώθηκε ότι με τη χορήγηση γοναδοτροπινών, γινόταν σύγχρονη ανάπτυξη πολλών ωοθυλακίων που ήταν σε διαφορετικό στάδιο ανάπτυξης και επομένως κατά την αναρρόφηση των ωαρίων, άλλα ωάρια ήταν έτοιμα για γονιμοποίηση και άλλα όχι.

Σημαντικότερα προβλήματα υπήρξαν επίσης η μη ανταπόκριση ορισμένων γυναικών στη χορήγηση των γοναδοτροπινών (poor responders) και κυρίως το μεγάλο ποσοστό ακυρούμενων κύκλων λόγω πρόωμης αιχμής της LH (premature LH surge). Το τελευταίο

πρόβλημα αντιμετωπίστηκε με τη χρήση αναλόγων της GnRH (GnRHa), που εμποδίζουν την αυτόματη πρόωμη αιχμή της LH.

Το ποσοστό επιτυχών εμφυτεύσεων (που είχε αυξηθεί μετά την αντικατάσταση της κτριικής κλομφαίνης με γοναδοτροπίνες), βελτιώθηκε ακόμα περισσότερο με την προσθήκη των GnRHa (αγωνιστών και ανταγωνιστών) και παρατηρήθηκε σημαντική αύξηση του ποσοστού των κύψεων ανά κύκλο ωοθηκικής διέγερσης. Κατά τα άλλα, συνεχίστηκε η φαρμακευτική υπερεδιέγερση των ωοθηκών με γοναδοτροπίνες και η λήψη των ωοκυττάρων 36 περίπου ώρες μετά τη χορήγηση της hCG, για τη μίμηση της φυσιολογικής εκκριτικής αιχμής της LH (Symonds & Symonds 2004).

Δύο υπήρξαν τα βασικά πρωτόκολλα πρόκλησης ωοθυλακιορρηξίας με GnRHa, το βραχύ και το μακρύ (με διάφορες ποικιλίες, όπως το υπερβραχύ πρωτόκολλο).

1.1.1. Βραχύ πρωτόκολλο

Στο βραχύ πρωτόκολλο, το GnRHa χορηγείται από την 1η ή 2η ημέρα του κύκλου σε συνδυασμό με hMG και για 12 περίπου ημέρες (ανάλογα με την απάντηση των ωοθηκών).

Στο πρωτόκολλο αυτό γίνεται χρήση της αρχικής διεγερτικής επίδρασης των GnRHa στην υπόφυση που μαζί με τη γοναδοτροπίνη δρουν συνεργικά στη στρατολόγηση και την ανάπτυξη των ωοθυλακίων.

Παρά τη θεωρητική πρακτική «υπεροχή» αυτού του πρωτοκόλλου, λόγω της μικρής του διάρκειας, διαπιστώθηκε ότι συνδέεται με μεγαλύτερο ποσοστό ακυρούμενων κύκλων, μικρότερο αριθμό κατάλληλων ωαρίων για γονιμοποίηση και χαμηλότερο ποσοστό κύψεων σε σύγκριση με το μακρύ.

1.1.2. Μακρύ πρωτόκολλο

Το μακρύ πρωτόκολλο, σε αντίθεση με το βραχύ που εκμεταλλεύεται την αρχική διεγερτική δράση των GnRHa στην υπόφυση, εκμεταλλεύεται τη μετέπειτα κατασταλτική τους δράση.

Η χορήγηση του GnRHa ξεκινά στο τέλος του προηγούμενου κύκλου (ή στην αρχή του

νέου κύκλου). Η καταστολή της υπόφυσης γίνεται μετά από 15 ημέρες περίπου και πιστοποιείται από τα χαμηλά επίπεδα οιστραδιόλης (<40 pg/mL). Τότε αρχίζει η χορήγηση γοναδοτροπίνης, παράλληλα με τη χορήγηση του GnRHa.

Το μακρύ πρωτόκολλο, σε γενικές γραμμές, έχει καλύτερη αποτελεσματικότητα από το βραχύ (που όμως ενδείκνυται σε ορισμένες περιπτώσεις) και επιτρέπει καλύτερο προγραμματισμό της λήψης των ωαρίων.

Όταν τα ωοθυλάκια είναι ώριμα, γίνεται χορήγηση hCG που αντικαθιστά την εκκριτική αιχμή της LH του φυσιολογικού κύκλου.

2. ΑΛΛΗ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗ ΑΓΩΓΗ

Με επιτυχία χρησιμοποιείται η υποφυσιακή καταστολή με αντισυλληπτικά δισκία πριν από την ωοθηκική υπερεδιέγερση και φάνηκε ότι τα τριφασικά σκευάσματα υπερτερούν των μονοφασικών όσον αφορά την ποιότητα των εμβρύων (Chung et al 2006).

3. ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗ ΩΟΘΗΚΙΚΗΣ ΔΙΕΓΕΡΣΗΣ - ΕΞΩΣΩΜΑΤΙΚΗ ΣΥΝΑΝΤΗΣΗ ΤΩΝ ΩΑΡΙΩΝ ΜΕ ΤΑ ΣΠΕΡΜΑΤΟΖΩΑΡΙΑ

Η ασφαλής παρακολούθηση της φαρμακευτικά προκαλούμενης πολλαπλής ωοθυλακικής ωρίμανσης γίνεται με διαδοχικά υπερηχογραφήματα, διαδοχικούς προσδιορισμούς της οιστραδιόλης (E2) του ορού αίματος (και μέτρηση της συγκέντρωσης της προγεστερόνης), που είναι σημαντικά για την επιτυχή διέγερση στην εξωσωματική γονιμοποίηση (Castelbaum 2005).

Σε αποτελεσματική ανταπόκριση των ωοθηκών, αναμένεται καθημερινή αύξηση των ωοθυλακίων κατά 2 mm και καθημερινή αύξηση της E2 τουλάχιστον κατά 25%. Η hCG χορηγείται όταν το μεγαλύτερο ωοθυλάκιο φτάσει τα 18 mm και η τιμή της E2 φτάσει τα 600-800 pg/mL.

Μετά τη φαρμακευτική ταυτόχρονη ωρίμανση πολλών ωοθυλακίων, γίνεται η λήψη των ωαρίων από αυτά, γονιμοποίηση των ωαρίων στο εργαστήριο και από τα έμβρυα που προκύπτουν και αναπτύσσονται με επιτυχία, γίνεται μεταφορά ενός ή περισσότερων εμβρύων στα αρχικά στάδια ανάπτυξής τους στην ενδομητρική κοιλότητα.

Για πρώτη φορά, λήψη ωαρίων έγινε >40 χρόνια πριν με λαπαροτομία. Η τεχνική που ακολουθήθηκε στη συνέχεια για αρκετά χρόνια ήταν η λήψη των ωαρίων διά του λαπαροσκοπίου, μέθοδος που αντικαταστάθηκε 20 χρόνια πριν με την ωοληψία υπό υπερηχογραφικό έλεγχο, διακοιλιακά αρχικά και διακολπικά στη συνέχεια.

Εδώ και αρκετά χρόνια, η συλλογή των ωοκυττάρων (ΣΩ) από τα ώριμα ωοθυλάκια γίνεται χωρίς γενική αναισθησία με τη βοήθεια της διακολπικής κεφαλής υπερήχων, υπό άμεση όραση. Η ΣΩ γίνεται 34 έως 36 ώρες μετά τη χορήγηση της hCG και εκτελείται με τη βοήθεια βελόνας που εισάγεται διαδοχικά σε κάθε ωοθυλάκιο και αναρρόφηση του ωοθυλακικού περιεχομένου. Η ΣΩ γίνεται με τη βοήθεια κάποιου είδους αναλγησίας/αναισθησίας που συχνότερα περιλαμβάνει την ενδοφλέβια χορήγηση προποφόλης (Paulson 2021). Σημειώνεται ότι, γενικότερα, η εφαρμογή προηγμένης τεχνολογίας στην εξωσωματική γονιμοποίηση για να αποδεικνύει τη χρησιμότητά της πρέπει να καταλήγει (και) σε καλύτερες εκβάσεις της γονιμότητας. Έτσι, με το προηγούμενο κριτήριο, από σχετικά παλαιότερα στοιχεία, διαπιστώθηκε ότι η υπερηχογραφική παρακολούθηση του όγκου των ωοθυλακίων με τριδιάστατη (3D) υπερηχογραφία δεν φάνηκε να επιτυγχάνει καλύτερες εκβάσεις σε σχέση με εκείνες που επιτυγχάνονται με τη διδιάστατη (2D) υπερηχογραφία (Wertheimer et al 2018). Ωστόσο, από μεταγενέστερα στοιχεία, φάνηκε ότι η (αυτοματοποιημένη) 3D υπερηχογραφία, ενδεχομένως με τη χρήση τεχνητής νοημοσύνης, έχει το πλεονέκτημα της συντόμευσης του χρόνου της όλης διαδικασίας σε σχέση με την κλασική 2D υπερηχογραφία (Noor et al 2020).

Σε συλλογή ώριμων ωαρίων, η πιθανότητα επιτυχούς γονιμοποίησής τους είναι >80%. Η γονιμοποίηση γίνεται σε ειδικούς δίσκους με το κατάλληλο καλλιεργητικό μέσο (Earle's, Ham's F10 κ.λπ.), σε κατάλληλη οσμωτική πίεση και pH επωαστή 7,4 περίπου.

Αν κριθεί ότι το ωάριο δεν είναι ακόμα ώριμο, γίνεται περαιτέρω επώασή του για την (in vitro) ωρίμανσή του.

Η προετοιμασία του σπέρματος περιλαμβάνει τη ρευστοποίηση του δείγματος για 30 λεπτά περίπου σε θερμοκρασία δωματίου. Μετά από μια σειρά ενδιάμεσων σταδίων επεξεργασίας του σπέρματος γίνεται εκτίμηση του αριθμού και της κινητικότητας των σπερματοζωαρίων και η γονιμοποίηση επιτυγχάνεται με δείγμα που περιέχει 50.000-100.000 σπερματοζωάρια/mL.

Τόσο η γονιμοποίηση όσο και οι κυτταρικές διαιρέσεις γίνονται στο κεντρικό τμήμα του καλλιεργητικού δίσκου.

3.1. Μικρογονιμοποίηση

Σε σοβαρού βαθμού ολιγοασθενοσπερμία, όπου η παραπάνω μέθοδος γονιμοποίησης του ωαρίου δεν έχει πιθανότητα επιτυχίας μπορεί να εφαρμοστεί η μικρογονιμοποίηση, δηλαδή η διείσδυση του σπερματοζωαρίου μέσα στο κυτταρόπλασμα του ωαρίου με τεχνητό τρόπο (με παράκαμψη της διαφανούς ζώνης και της κυτταρικής μεμβράνης του ωαρίου).

Οι παλαιότερες τεχνικές που είχαν μεγάλα ποσοστά αποτυχίας (όπως η SUZI με τοποθέτηση των σπερματοζωαρίων κάτω από τη διαφανή ζώνη) αντικαταστάθηκαν από το 1993 και μετά με την ενδοωαριακή έγχυση ενός σπερματοζωαρίου (Intracyto-plasmic Sperm Injection-ICSI) με ποσοστά επιτυχίας >60%.

Ένα ακόμα βήμα στον τομέα αυτό υπήρξε η επίτευξη κύησης ακόμα και σε αζωοσπερμία (αποφρακτικής αιτιολογίας) μετά από λήψη σπερματοζωαρίων από την επιδιδυμίδα ή από τον όρχι. Αν δεν υπάρχει δυνατότητα λήψης των σπερματοζωαρίων από την επι-

διδυμίδα, αυτά μπορούν να ληφθούν από τον όρχι: 1) με απευθείας παρακέντηση και αναρρόφηση/TESA-Testicular Sperm Aspiration ή 2) με βιοψία/TESE-Testicular Sperm Extraction (που έχει καλύτερα αποτελέσματα από την TESA).

Η τεχνολογία έχει προχωρήσει πολύ στον τομέα αυτό. Σήμερα είναι δυνατή η γονιμοποίηση μετά από απομόνωση του πυρήνα πολύ άωρων μορφών σπερματιδίων και τοποθέτησή του (με τη μέθοδο ICSI) μέσα στο κυτταρόπλασμα του ωαρίου.

Η τεχνική της υποβοηθούμενης εκκόλαψης με μηχανική ή ενζυμική διάνοιξη οπών στη διαφανή ζώνη του προεμβρύου (assisted hatching), για άρση του προστατευτικού μηχανισμού της διαφανούς ζώνης, φάνηκε ότι μπορεί να αυξήσει τα ποσοστά επιτυχούς κύησης.

4. ΠΡΟΕΜΦΥΤΕΥΤΙΚΟΣ ΓΕΝΕΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ (testing)

Παρακάτω γίνεται ενδεικτική παράθεση παλαιότερων και σύγχρονων στοιχείων. Με τις ραγδαίες εξελίξεις στην υποβοηθούμενη αναπαραγωγή και την καθιέρωση της εξωσωματικής γονιμοποίησης, αναπτύχθηκαν νέες τεχνικές προγεννητικού ελέγχου (προγενετικού/Γλεντής & Γουρουντή 2013). Η παλαιότερη ορολογία (Γλεντής & Γουρουντή 2013) «προεμφυτευτική γενετική διάγνωση» (Preimplantation Genetic Diagnosis-PGD) και «προεμφυτευτικός γενετικός έλεγχος-screening» (Preimplantation Genetic Screening-PGS), αντικαταστάθηκαν από τη γενικότερη ορολογία του «προεμφυτευτικού γενετικού ελέγχου» (preimplantation genetic testing-PGT) και του «προεμφυτευτικού ελέγχου για ανευλοειδίες» (preimplantation genetic testing for aneuploidy (PGT-A) αντίστοιχα. Η PGT-A αποτελεί μέρος του PGT, μαζί με τον προεμφυτευτικό γενετικό έλεγχο για μονογονιδιακές ανωμαλίες (preimplantation genetic testing for monogenic [single-gene] disorders/ PGT-M) και τον προεμφυτευτικό γενετικό έλεγχο για δομικές ανακατατάξεις (preimplantation genetic testing

for structural rearrangements/PGT-SR) (Schattman & Xu 2018).

Ανάμεσα σε άλλα, ο PGT επινοήθηκε για τον αποκλεισμό της μετάδοσης κληρονομικών νοσημάτων, δηλαδή για την πρόβλεψη της «υγείας» του εμβρύου με βιοψία του ωαρίου (βιοψία του πολιικού σωματίου για διάγνωση γενετικών νοσημάτων της μητέρας), κάποιου βλαστομεριδίου ή της βλαστοκύστης.

Πράγματι, εδώ και αρκετά χρόνια, υπάρχει αυξημένο ενδιαφέρον για τη χρήση του PGT με τεχνικές που συνεχώς εξελίσσονται, ως εναλλακτική λύση των συνηθισμένων μεθόδων προγεννητικού ελέγχου.

Σε γενικές γραμμές, ο PGT είναι κατορθωτός στην εξωσωματική γονιμοποίηση με την αφαίρεση ενός κυττάρου από ένα έμβρυο \geq οκτώ κυττάρων (ή από την τροφοβλάστη σε επίπεδο βλαστοκύστης). Στο στάδιο των 8-16 κυττάρων, είναι δυνατή η ασφαλής λήψη βλαστομεριδίου (χωρίς προβλήματα περαιτέρω ανάπτυξης του εμβρύου) με μικροχειρουργική τεχνική.

Χαρακτηριστικό παράδειγμα PGT είναι ο προσδιορισμός του φύλου του εμβρύου για τον αποκλεισμό μετάδοσης φυλοσύνδετου νοσήματος. Με επιτυχία έγινε ο PGT της μυϊκής δυστροφίας Duchenne (Wu et al 2007).

Το γενετικό υλικό του βλαστομεριδίου αναλύεται για την ανίχνευση γενετικών νοσημάτων με φθορίζοντα in situ υβριδισμό-FISH (παλαιότερη μέθοδος) ή τη μέθοδο της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης-PCR (μεταγενέστερη μέθοδος με διαδοχικές βελτιώσεις μέχρι σήμερα). Η PCR είναι μια μοριακή τεχνική που πολλαπλασιάζει μια συγκεκριμένη αλληλουχία του DNA, που με τον τρόπο αυτό γίνεται «ορατή» και μπορεί εύκολα να υποβληθεί σε γενετική ανάλυση. Η FISH χρησιμοποιεί ιχνηθέτες DNA, στους οποίους είναι προσδεδεμένη μια φθορίζουσα χρωστική, οι πυρήνες των κυττάρων εξετάζονται κάτω από ένα μικροσκόπιο φθορισμού και ο αριθμός των σινιάλων δηλώνει τον αριθμό των χρωμοσωμάτων.

Θεωρητικά, ασφαλέστερη από τις προηγούμενες μεθόδους είναι η λήψη κυττάρων από την τροφοβλάστη και όχι από το έμβρυο,

που μπορεί να γίνει όταν το έμβρυο βρίσκεται στο στάδιο της βλαστοκύστης. Με δεδομένο και τον χρόνο που μεσολαβεί μέχρι τη διάγνωση, η θεωρητική υπεροχή της μεθόδου συνάντησε το πρακτικό πρόβλημα της μεταφοράς του εμβρύου σε “προχωρημένο” στάδιο ανάπτυξης (όταν πια το ενδομήτριο στερείται της κατάλληλης υποδεκτικότητας). Πλεονέκτημα του PGT είναι ότι η σχετική διάγνωση γίνεται πριν από την κύηση, μειώνοντας έτσι την ανάγκη για διακοπή της κύησης.

Ο PGT θα μπορούσε μελλοντικά να προσφέρει στην ανίχνευση ενός φάσματος γονιδίων που προδιαθέτουν σε καρκίνο (Malcoo et al 2011).

Σύμφωνα με την ελληνική νομοθεσία (Ν. 3305/2005-Άρθρο 10): 1. Προεμφυτευτική γενετική διάγνωση διενεργείται με τη συναίνεση των ενδιαφερόμενων προσώπων και με άδεια της Αρχής, για να διαγνωσθεί αν τα γονιμοποιημένα ωάρια είναι φορείς γενετικών ανωμαλιών, ώστε να αποτραπεί η μεταφορά τους στη μήτρα. Η εν λόγω άδεια χορηγείται, αφού διαπιστωθεί ότι η μονάδα ιατρικώς υποβοηθούμενης αναπαραγωγής (M.I.Y.A.) διαθέτει την αναγκαία τεχνολογία και τον απαιτούμενο εξοπλισμό ή συννεργάζεται με αντίστοιχη μονάδα ή εργαστήριο, το οποίο πληροί τις προϋποθέσεις αυτές. 2. Πριν από την εφαρμογή της μεθόδου είναι υποχρεωτική η παροχή γενετικής συμβουλευτικής στα ενδιαφερόμενα πρόσωπα.

5. ΕΜΒΡΥΟΜΕΤΑΦΟΡΑ

Σε κάθε κύκλο, μεταφέρονται συνήθως δύο έως τέσσερα έμβρυα μέσα στη μήτρα. Γενικά, περισσότερα έμβρυα μεταφέρονται αν αυτά είναι χειρότερης ποιότητας (Castelbaum 2005). Στις αμέσως επόμενες ημέρες μετά τη γονιμοποίηση, γίνεται εκτίμηση της ποιότητας των εμβρύων (από τα ισομερή βλαστομερίδια, την ταχύτητα των κυτταρικών διαιρέσεων κ.λπ.). Στη συνέχεια, με τη βοήθεια ειδικών καθετήρων (διαμέσου του τραχήλου) γίνεται η τοποθέτηση των εμβρύων μέσα στη μήτρα (εμβρυομεταφορά-embryo transfer/ ET).

Ενώ η πιθανότητα επιτυχούς γονιμοποι-

ησης μπορεί να είναι >80%, η πιθανότητα επιτυχούς εμφύτευσης είναι ~20%. Τα «μικρά» ποσοστά εμφύτευσης αποδόθηκαν κυρίως σε ανωμαλίες του εμβρύου (χρωμοσωμικές κ.λπ.) αλλά και σε πτωχή ποιότητα του ενδομητρίου λόγω της ωοθυλακιορρηκτικής αγωγής. Η τελευταία συνεπάγεται την επιμήκυνση της παραγωγικής φάσης λόγω της παρατεταμένης οιστρογονικής διέγερσης του ενδομητρίου (από την υπερδιέγερση των ωοθηκών) και την έλλειψη συγχρονισμού της ανάπτυξης του εμβρύου με εκείνη του ενδομητρίου (για την επιτυχία της εμφύτευσης πρέπει να υπάρχει ο προηγούμενος συγχρονισμός-«παράθυρο» εμφύτευσης).

Η επιτυχία της εμφύτευσης μπορεί να επηρεάζεται επίσης από τη φυσιολογικά «χαμηλή» ανθρώπινη γονιμότητα αφού η πιθανότητα σύλληψης κατά τη διάρκεια κάθε φυσιολογικού κύκλου υπολογίζεται σε 1:4 περίπου. Από πρόσφατα στοιχεία, προέκυψε ότι η λοίμωξη του πατέρα με τον HBV κατέληξε σε μικρότερα ποσοστά κλινικής κύησης μετά από εμβρυομεταφορά (He et al 2018).

6. ΔΩΡΕΑ ΩΑΡΙΩΝ

Σε γυναίκες με έκπτωση της λειτουργίας των ωοθηκών λόγω ηλικίας, πρόωρης εμμηνόπαυσης ή άλλων παραγόντων, με ιστορικό χειρουργικής εξαίρεσης των ωοθηκών, με γενετικά νοσήματα (με απουσία λειτουργικών ωοθηκών όπως το σύνδρομο Turner) αλλά και με πολλαπλές αποτυχίες της εξωσωματικής γονιμοποίησης, θα μπορούσε να προταθεί η δωρεά ωαρίων από άλλη γυναίκα (με όλες τις δυσκολίες που παρουσιάζει αυτή η «αναζήτηση»).

Η αδυναμία παραγωγής ώριμων ωοθυλακίων από τις ωοθήκες, λόγω έκπτωσης της λειτουργίας τους, πιστοποιείται έμμεσα από την παρουσία αμηνόρροιας, τις χαρακτηριστικά υψηλές τιμές της FSH και της LH και τις χαμηλές τιμές της οιστραδιόλης. Η στειρότητα στις περιπτώσεις αυτές κρίνεται οριστική και σήμερα δεν υπάρχει δυνατότητα αντιμετώπισης με φαρμακευτική ή άλλη αγωγή.

Δωρεά ωαρίων μπορεί να γίνει από κάποια υπογόνιμη γυναίκα που παράγει μεγάλο αριθμό ωαρίων κατά τη διάρκεια της δικής της IVF ή GIFT ή με την επιλογή κάποιας γυναίκας που θα δεχθεί να υποβληθεί σε υπερδιέγερση των ωοθηκών με αποκλειστικό σκοπό να δωρίσει τα ωάρια της (Margin et al 2003).

Απαραίτητη προϋπόθεση για την επιτυχή κατάληξη της δωρεάς ωαρίου είναι η κατάλληλη προετοιμασία του ενδομητρίου της δέκτριας με τη χορήγηση οιστραδιόλης και προγεστερόνης (σε σταθερές μάλλον δόσεις) ώστε το ενδομήτριο να έχει υψηλής ποιότητας υποδεκτικότητα τον χρόνο της εμβρυομεταφοράς. Με τη δωρεά ωαρίων, υπάρχουν μεγάλα ποσοστά επιτυχούς βιώσιμης ενδομήτριας κύησης και, επομένως, είναι λογικό να αναμένεται τελικά η επιτυχής γέννηση. Ήδη από τη δεκαετία του 1990 φάνηκε ότι >50% από τις δέκτριες πέτυχαν βιώσιμη κύηση μέχρι την τρίτη εμβρυομεταφορά άσχετα από την ηλικία ή τη διάγνωση. Σήμερα, με ποσοστά γέννησης >50% ανά εμβρυομεταφορά, είναι λογικό να συμπεράνουμε ότι η τελική επιτυχία μπορεί να ξεπεράσει το 75% (Sauer 2014).

7. ΑΝΑΜΟΝΗ ΕΚΒΑΣΗΣ

Ο σημαντικότερος παράγοντας για την έκβαση της IVF είναι η ηλικία της γυναίκας. Έτσι, με τη χρήση φρέσκων εμβρύων (όχι από δότριες), το αναμενόμενο ποσοστό ζώντων νεογνών (ανά κύκλο) κατά ομάδες ηλικιών της γυναίκας είναι περίπου το εξής (με το πραγματικό ποσοστό κοντά στον αναφερόμενο αριθμό μετά το >): Σε γυναίκες <35 ετών >40%, σε 35-37 ετών >30%, σε 38-40 ετών >20%, σε 41-42 ετών >10%, σε >42 ετών >4% και σε >45 ετών >2%. Είναι περίπου ευνόητο ότι αυτή η πώση των ποσοστών επιτυχίας με την αύξηση της ηλικίας αφορά και άλλες μεθόδους υποβοηθούμενης αναπαραγωγής.

Λόγω (και) των πολύ χαμηλών ποσοστών επιτυχίας σε μεγάλης ηλικίας γυναίκες, έχουν

καθιερωθεί ανώτερα (επιτρεπόμενα) ηλικιακά όρια εκτέλεσης IVF με τη χρήση αυτόλογων ωαρίων. Έτσι, αυτά κυμαίνονται μεταξύ 41 έως 45 ετών αλλά διαφέρουν από χώρα σε χώρα (και σε κάποιες είναι μεγαλύτερα).

Σε μεγάλη ηλικία, τα ελαττωμένα ποσοστά επιτυχίας οφείλονται στην ελαττωμένη ωοθηκική ανταπόκριση στη γοναδοτροπική διέγερση με συνέπεια ελαττωμένο αριθμό διαθέσιμων ωοκυττάρων για IVF, στα ελαττωμένα ποσοστά εμφύτευσης ανά μεταφερόμενο έμβryo (λόγω της πτωχής ποιότητας των ωαρίων) και στον αυξημένο κίνδυνο αυτόματων αποβολών. Έτσι, σε γυναίκες 45 έως 49 ετών, η πιθανότητα ακύρωσης του κύκλου πριν την αναρρόφηση ωαρίων είναι μεγάλη (30%), η πιθανότητα κύησης ανά αναρρόφηση είναι μικρή (~20%), <15% αυτών των κύησεων θα καταλήξουν σε ζων νεογνό και αυτή η έκβαση αναμένεται σχεδόν αποκλειστικά στις νεότερες γυναίκες (45 ετών).

Λόγω (και) των παραπάνω παραγόντων, φαίνεται ότι σε μεγαλύτερης ηλικίας γυναίκες, το ποσοστό επιτυχίας θα μπορούσε να αυξηθεί με τη μεταφορά μεγαλύτερου αριθμού εμβρύων (Vega et al 2016).

8. ΣΥΝΕΠΕΙΕΣ

Με τις τεχνικές υποβοηθούμενης αναπαραγωγής (πρόκληση πολλαπλής ωοθυλακιορρηξίας, εξωσωματική γονιμοποίηση, εμβρυομεταφορά), η πολύδυμη κύηση εμφανίζεται όλο και πιο συχνά.

Το τελευταίο είναι αναμενόμενο, με δεδομένη τη σχεδόν «καθολική» αποδοχή των μεθόδων υποβοηθούμενης αναπαραγωγής (Αντωνίου και συν. 2004) και την ευρεία εφαρμογή τους.

Οι πολλαπλές κύησεις που προέρχονται μετά από πρόκληση ωοθυλακιορρηξίας ή τεχνικές υποβοηθούμενης αναπαραγωγής είναι αυτές που ονομάζονται «ιατρογενείς» πολύδυμες κύησεις (Blickstein & Keith 2000).

Το περιγεννητικό αποτέλεσμα δεν διαφέρει στις αυτόματες δίδυμες κύησεις σε σύγκριση με εκείνες μετά από εξωσωματική γονιμο-

ποίηση (Kozinszky et al 2003).

Η κίτρινη κλομφαίνη, σε ποσοστό περίπου 5-10%, και οι γοναδοτροπίνες, σε ποσοστό περίπου 25-30%, είναι δυνατό να προκαλέσουν πολύδυμη εγκυμοσύνη (Beckmann et 2002, Bush & Pernoll 2003, Chan & Winkle 2002).

Φαίνεται ότι η λιγότερο εντατική διέγερση των ωοθηκών με γοναδοτροπίνες μπορεί να ελαττώσει, κάπως, τη συχνότητα των πολύδυμων κήσεων αλλά με κόστος την ελάττωση του συνολικού ποσοστού των κήσεων (Gleicher et al 2000).

Ένας τρόπος για να ελαττωθούν οι ιατρογενείς πολύδυμες κήσεις θα ήταν η αποφυγή της πρόκλησης ωοθυλακιορρηξιών προς όφελος των πολυπλοκότερων και μεγαλύτερου κόστους τεχνικών υποβοηθούμενης αναπαραγωγής (Bhattacharya & Templeton 2000)!

Ενώ ο αριθμός των γονιμοποιημένων ωαρίων δεν μπορεί να προβλεφθεί μετά από φαρμακευτική πρόκληση ωοθυλακιορρηξιών, στις τεχνικές υποβοηθούμενης αναπαραγωγής ο αριθμός των ζυγωτών που μεταφέρονται μπορεί πάντα να ελεγχθεί.

Η πιθανότητα επιτυχούς εμφύτευσης όλων των εμβρύων που μεταφέρονται είναι μεγαλύτερη σε νέες γυναίκες λόγω της καλής ποιότητας των εμβρύων (De Sutter et al 2003).

Με δεδομένο ότι όσο περισσότερα έμβρυα υπάρχουν στην πολύδυμη κήση, τόσο αυξάνουν οι κίνδυνοι για τη μητέρα και τα έμβρυα, επιλέγεται συχνά η εμβρυομεταφορά 2 εμβρύων (το πολύ 3-4 σε μεγαλύτερης ηλικίας γυναίκες).

Αν και υπάρχει βελτίωση της περιγεννητικής θνησιμότητας, ιδιαίτερα στα τρίδυμα, υπάρχει προβληματισμός σχετικά με την άμεση και μελλοντική νοσηρότητα (Kiely et al 2000) και ιδιαίτερα στα πολύ χαμηλού βάρους νεογνά (Blickstein et al 2000). Υπολογίστηκε ότι οι ιατρογενείς πολύδυμες κήσεις ευθύνονται για το 8% του συνόλου των περιστατικών εγκεφαλικής παράλυσης στις ΗΠΑ (Kiely et al 2000).

Να σημειωθεί ότι σε κέντρα υποβοηθούμενης αναπαραγωγής του εξωτερικού, με

πολύ καλά ποσοστά επιτυχίας ανά κύκλο, πολύ συχνά γίνεται μεταφορά 2-3 εμβρύων. Με αυτό τον τρόπο, αποφεύγεται και η εκ των υστέρων μείωση του μεγάλου αριθμού των εμβρύων (Ιατροάκης 2004). Ωστόσο, υποστηρίχθηκε ότι η εμφύτευση ενός εμβρύου διευκολύνει την εμφύτευση και των υπόλοιπων εμβρύων και προτάθηκε η εφαρμογή ενός μαθηματικού μοντέλου για την πρόβλεψη της πιθανότητας πολύδυμης κήσης (Mattoias et al 2005).

Αντίθετα, υποστηρίχθηκε ότι η εκλεκτική μεταφορά ενός μόνο εμβρύου πολύ καλής ποιότητας ελαττώνει τον αριθμό των πολύδυμων κήσεων χωρίς σημαντική ελάττωση του ποσοστού των κήσεων με καλή έκβαση (Svobodova et al 2005).

Με αυτό το σκεπτικό, τα ποσοστά των εμβρυομεταφορών ενός μόνο εμβρύου αυξήθηκαν από <2% σε 20% σε αρκετά κέντρα (De Sutter et al 2003) και σήμερα υπάρχει αυτή η τάση.

Να σημειωθεί, επίσης, ότι οι συλλήψεις μετά από υποβοηθούμενη αναπαραγωγή βρίσκονται σε αυξημένο κίνδυνο διάσπασης του ζυγώτη και επομένως ακόμα και αν γίνει εμβρυομεταφορά ενός μόνο εμβρύου, υπάρχει αυξημένος κίνδυνος μονοζυγωτικών διδύμων.

Η μεταφορά 6 (ή περισσότερων!) εμβρύων, που εφαρμόζεται σε ορισμένες περιπτώσεις, δεν φαίνεται να αυξάνει τα ποσοστά της επιτυχίας και ούτε να υποστηρίζεται βιβλιογραφικά.

Ένας αριθμός ηθικών ζητημάτων μπορεί να προκύψουν κατά την εφαρμογή των μεθόδων υποβοηθούμενης αναπαραγωγής. Για παράδειγμα, στις πολύδυμες κήσεις μετά από φαρμακευτική πρόκληση πολλαπλών ωοθυλακιορρηξιών υπάρχει η επιλογή της συνέχισης των πολύδυμης κήσης ή της εκλεκτικής μείωσης του αριθμού των εμβρύων.

Σε τρίδυμες ή ακόμα και σε τετράδυμες κήσεις υπάρχει πιθανότητα επιβίωσης όλων των νεογνών αλλά είναι αυξημένος ο κίνδυνος της νοσηρότητας. Με έξι ή περισσότερα έμβρυα η πιθανότητα επιβίωσης είναι εξαιρετικά χαμηλή (Evans et al 1999). Επομένως, η ύπαρξη πολλών εμβρύων που εξελίσσονται κανονικά

συνεπάγεται συχνά την πρόκληση ελάττωσης του αριθμού τους με ενδοκαρδιακή ένεση καλίου (Bush & Pernoll 2003) ή με ένεση στη θωρακική κοιλότητα του εμβρύου σε μικρότερες ηλικίες κύησης. Βέβαια, η μείωση του αριθμού των εμβρύων δεν είναι χωρίς κινδύνους. Στις πρώτες εβδομάδες της κύησης, μετά από μείωση, είναι σημαντικός ο κίνδυνος αυτόματης έκτρωσης των εμβρύων που παραμένουν. Μετά τις 13 εβδομάδες, η πιθανότητα αυτόματης έκτρωσης είναι μικρή.

Σε αυτές τις ηλικίες κύησης, ο κίνδυνος μολυσματικής νέκρωσης του ιστού που παραμένει και διάχυτης ενδαγγειακής πήξης είναι μάλλον θεωρητικός αλλά σε μεγαλύτερες ηλικίες κύησης μπορεί να υπάρξει πρόβλημα (Evans et al 1999, Pharoah & Adi 2000).

Γενικά, από κέντρα με τη μεγαλύτερη εμπειρία (στη μείωση του αριθμού των εμβρύων), μετά από εκλεκτική μείωση αναφέρθηκε συχνότητα γέννησης ζωντανού νεογνού στο 80% των περιπτώσεων (Gossett & Gurewitsch 2002). Με τη θέσπιση κατάλληλης νομοθεσίας και σχετικών οδηγιών από τις ειδικές ιατρικές εταιρείες επιδιώκονται οι ασφαλέστερες δυνατές μέθοδοι τόσο για τη μητέρα όσο και για το έμβryo.

Έτσι, ανάλογα με το κράτος, καθορίστηκαν ή συστήθηκαν κάποια «μέτρα ασφαλείας» στην εξωσωματική γονιμοποίηση, όπως π.χ. ο μέγιστος αριθμός εμβρύων που μπορούν να καλλιεργηθούν και ο μέγιστος αριθμός εμβρύων που μπορούν να τοποθετηθούν μέσα στη μήτρα (π.χ. 3 για γυναίκες ηλικίας έως 40 ετών και 4 για άνω των 40 ετών, αλλά η τάση μεταφοράς ενός εμβρύου έχει πολλούς «οπαδούς»).

Σε σχέση με τον γενικό πληθυσμό, οι κύησεις μετά από εξωσωματική γονιμοποίηση σχετίζονται με σχεδόν τριπλάσιο κίνδυνο προεκλαμψίας που φάνηκε να συνδέεται με την ελαττωμένη ανταπόκριση των ωοθηκών στην FSH και επομένως με ελαττωμένες ωοθηκικές εφεδρείες (Woldringh et al 2006).

Πέρα όμως από τις καθαρά ιατρικές ή ιατρογενείς συνέπειες της υποβοηθούμενης αναπαραγωγής, γεννιούνται και ένα πλήθος νομικών (και/ή ηθικών) ζητημάτων των οποί-

ων η αντιμετώπιση μπορεί να διαφέρει από χώρα σε χώρα.

Για παράδειγμα, σε πολυπληθείς κοινωνίες, ένας μεγαλύτερος αριθμός απογόνων από τον ίδιο δότη δεν θα είχε τις ίδιες συνέπειες με εκείνες που θα υπήρχαν σε μικρότερες κοινωνίες (Soini et al 2006).

9. ΔΙΑΤΗΡΗΣΗ ΕΜΒΡΥΩΝ - ΩΑΡΙΩΝ

Στα προγράμματα εξωσωματικής γονιμοποίησης από πολύ νωρίς προέκυψε ο προβληματισμός του τι θα γίνει με τα έμβρυα που «περισσεύουν», δηλαδή εκείνα στα οποία δεν έγινε εμβρυομεταφορά. Περισσότερα από 20 χρόνια πριν καθιερώθηκε η κατάψυξη και η φύλαξη των προεμβρύων (στο στάδιο των προπυρήνων ή των 2-4 κυττάρων).

Σημαντικότερος παράγοντας της σωστής τεχνικής κατάψυξης είναι η αποφυγή ενδοκυτταρικού σχηματισμού πάγου με κατάλληλα κρυοπροστατευτικά μέσα (προπανενδιόλη, σουκρόζη, γλυκερόλη κ.λπ.). Η θερμοκρασία διατήρησης των προεμβρύων είναι οι -196 °C και αυτή επιτυγχάνεται με κατάλληλες συσκευές κατάψυξης, στις οποίες η ταχύτητα κατάψυξης (αργή, ταχεία, πολύ ταχεία) καθορίζεται με την εφαρμογή ειδικών προγραμμάτων (software).

Σε διάφορες ειδικές καταστάσεις όπου είναι σίγουρη η μελλοντική αδυναμία παραγωγής ωαρίων (όπως προγραμματισμένη ωοθηκεκτομή κ.λπ.) θα ήταν επιθυμητή η κατάψυξη και διατήρηση των ωαρίων.

Τα πρώτα αποτελέσματα ήταν απογοητευτικά αλλά έχουν γίνει μεγάλα βήματα στον τομέα αυτό με αύξηση του ποσοστού επιβίωσης φυσιολογικών ωαρίων.

Με αυτή τη μέθοδο, σε όλο τον κόσμο (περιλαμβανόμενης και της Ελλάδας) αναφέρεται ένας αυξανόμενος αριθμός επιτυχών κύησεων.

Δυνατή είναι, επίσης, η αφαίρεση της ωοθήκης (πριν από την απαραίτητη θεραπεία που θα της προκαλούσε βλάβη) και η σε αψότερο χρόνο «μεταμόσχευσή» της στην

ίδια γυναίκα.

10. ΕΞΩΣΩΜΑΤΙΚΗ ΓΟΝΙΜΟΠΟΙΗΣΗ ΣΕ ΕΚΕΙΝΕΣ ΜΕ ΙΣΤΟΡΙΚΟ ΚΑΡΚΙΝΟΥ

Κατά τη σύγκριση γυναικών με ιστορικό καρκίνου και υγιών γυναικών διαπιστώθηκαν τα εξής κατά τη φαρμακευτική ωθημική διέγερση. Στις περισσότερες μελέτες, δεν φάνηκε να υπάρχουν διαφορές στη συνολική δόση της FSH, στη διάρκεια των ημερών διέγερσης με FSH και τα μέγιστα επίπεδα της οιστραδιόλης που επετεύχθησαν (Levin & Almog 2013).

Ωστόσο, σε ασθενείς με ιστορικό καρκίνου του μαστού (ΚΜ) που ήταν θετικές για τον οιστρογονικό υποδοχέα, χρησιμοποιήθηκε λετροζόλη για να ελαττωθεί ο κίνδυνος έκθεσης στην οιστραδιόλη.

Έτσι, στις γυναίκες ιστορικό ΚΜ, το μέγιστο επίπεδο της οιστραδιόλης ήταν ελατ-

τωμένο την ημέρα χορήγησης της β-χοριακής γοναδοτροπίνης συγκριτικά με εκείνο υγιών γυναικών.

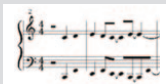
Δεν φάνηκε, όμως, να υπάρχουν διαφορές στη συνολική δόση της FSH και στη διάρκεια των ημερών διέγερσης με FSH (Robertson et al 2011). Ωστόσο, άλλοι ερευνητές βρήκαν ότι χρειάστηκαν μεγαλύτερες δόσεις και μακρύτερη διάρκεια αγωγής με FSH στις ασθενείς με ιστορικό καρκίνου. Οι ίδιοι ερευνητές έδειξαν, επίσης, ότι υπήρχε συχνότερα πωχή ωθημική απάντηση (poor response) μεταξύ των γυναικών με ιστορικό καρκίνου συγκριτικά με την ομάδα ελέγχου.

Οι προηγούμενες ομάδες είχαν αντιστοιχιστεί κατά ηλικία και παρόλο που δεν υπήρχε διαφορά στον αριθμό των ωοκυττάρων που συνελήγησαν, οι διαφορές στη δόση και στη διάρκεια χορήγησης της FSH δεν εξηγήθηκαν παρά με την υπόθεση ότι οι ασθενείς με καρκίνο μπορεί να έχουν ελαττωμένη αναπαραγωγική ικανότητα (Quintero et al 2008).

Βιβλιογραφία

- Αντωνίου Ε, Δάγλα Μ, Ψυχογιού Γ, Καραμήτρος Δ, Ιατράκης Γ, Γρηγορίου Ο. Υποβοηθούμενη αναπαραγωγή: πόσο είναι αποδεκτή από τους Έλληνες πολίτες; Εφηβ Γυν Αναπ Εμμην 2004, 16: 275-81.
- Bandowski BJ, Vlahos N. Infertility and assisted Reproductive Technologies. In: Bankowski BJ, Hearne AE, Lambrou NC, Fox HE, Wallach EE (eds). The Johns Hopkins Manual of Gynecology and Obstetrics. Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins 2002.
- Beckman CR, Ling FW, Laube DW, Smith RP, Barzansky BM, Herbert WNP. Hypertension in Pregnancy. In: Obstetrics and Gynecology. Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins 2002.
- Bhattacharya S, Templeton A. In treating infertility, are multiple pregnancies unavoidable? N Engl J Med 2000, 343:58-60.
- Blickstein I, Goldman RD, Mazkereth R. Risk for one or two very low birth weight twins: a population study. Obstet Gynecol 2000, 96:400-2.
- Blickstein I, Keith LG. The spectrum of iatrogenic multiple pregnancy. In: Blickstein I, Keith LG (eds). Iatrogenic multiple pregnancy: clinical implications. London, Parthenon Publishing 2000.
- Burney RO, Schust DJ, YYao MWM. Infertility. In: Berek JS (ed). Berek & Novak's Gynecology. Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins 2007.
- Bush M, Pernoll ML. Multiple Pregnancy. In: Current Obstetric & Gynecologic Diagnosis & Treatment. DeCherney AH, Nathan L. New York, Lange Medical Books 2003.
- Castelbaum AJ. In Vitro Fertilization. In: Bader TJ (ed). Ob/Gyn Secrets. Philadelphia, Elsevier Mosby 2005.
- Chan PD, Winkle CR (eds). Gynecology and Obstetrics. California, Current Clinical Strategies Publishing 2002.
- Chung MT, Tsai YC, Chen SH, Loo TC, Tang HH, Lin LY. Influence of pituitary suppression with triphasic or monophasic oral contraceptives on the outcome of in vitro fertilization and embryo transfer. J Assist Reprod Genet 2006, 23:343-6
- Darné FJ. Assisted reproductive techniques (ART). In: Arulkumaran S, Symonds IM, Fowle A (eds). Oxford Hand book of Obstetrics and Gynaecology. Oxford, Oxford University Press 2004.
- De Sutter P, Van der Elst J, Coetsier T, Dhont M. Single embryo transfer and multiple pregnancy rate reduction in IVF/ICSI: a 5-year appraisal. Reprod Biomed Online 2003, 6:464-9.
- Devine KS. Caring for the infertile wom-

- an. *MCN Am J Matern Child Nurs* 2003, 28:100-5.
- Evans MI, Littmann L, Tapin C, Johnson MP. Multiple pregnancy reduction and selective termination. In: James DK, Steer PJ, Weinwr CP, Gonik B (eds). *High Risk Pregnancy. Management options*. London, WB Saunders 1999.
- Gleicher N, Oleske DM, Tur-Kaspa I, Vidali A, Karande V. Reducing the risk of high-order multiple pregnancy after ovarian stimulation with gonadotropins. *N Engl J Med* 2000, 343:3-7.
- Γλεντής Σ, Γουρουνη Κ. Προεμφυτευτικός γενετικός έλεγχος και Συμβουλευτική. Στο: Γουρουνη Κ. Συμβουλευτική στην Υπογονιμότητα. Αθήνα, Ιατρικές Εκδόσεις Λαγός 2013.
- Gossett D, Gurewitsch E. Gestational complications. In: *The Johns Hopkins Manual of Gynecology and Obstetrics*. Bankowski BJ, Hearne AE, Lambrou NC, Fox HE, Wallach EE. Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins 2002.
- He F, Wang L, Zhang C, Li S, Sun C, Hu L. Adverse effect of paternal hepatitis B virus infection on clinical pregnancy after frozen-thawed embryo transfer. *Arch Gynecol Obstet* 2018, doi: 10.1007/s00404-018-4863-9 (Epub ahead of print).
- Ιατράκης Γ (εκδ.). Πολύδμη κήση. Βιβλίο Μαιευτικής. Αθήνα, Εκδόσεις “Δεσμός” 2004.
- Kozinsky Z, Zadori J, Orvos H, Katona M, Pal A, Kovacs L. Obstetric and neonatal risk of pregnancies after assisted reproductive technology: a matched control study. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2003, 82:850-6.
- Kiely JL, Kiely M, Blickstein I. Contribution of the rise in multiple births to a potential increase in cerebral palsy. *Pediatr Res* 2000, 47:314A.
- Levin I, Almog B. Effect of cancer on ovarian function in patients undergoing in vitro fertilization for fertility preservation: a reappraisal. *Curr Oncol* 2013, 20:e1-3.
- Malcov M, Ben-Yosef D, Amit A, Yaron Y. Preimplantation genetic diagnosis (PGD) for cancer predisposition syndromes. *Harefuah* 2011, 150:496-501, 553.
- Marin CM, DeCherney AH, Penzias AS, Thorneycroft IH. In Vitro Fertilization & Related Techniques. In: DeCherney AH, Nathan L (eds). *Current Obstetric & Gynecologic Diagnosis & Treatment*. New York, Lange Medical Books 2003.
- Matorras R, Matorras F, Mendoza R, Rodriguez M, Remohi J, Rodriguez-Escudero FJ, Simon C. The implantation of every embryo facilitates the chances of the remaining embryos to implant in an IVF programme: a mathematical model to predict pregnancy and multiple pregnancy rates. *Hum Reprod* 2005, 20:2923-31.
- McTavish A. Towards a nurse-led service? *Hum Fertil (Camb)* 2003, 6 (2 Suppl): S13-6.
- Noor N, Vignarajan CP, Malhotra N, Vanamail P. Three-Dimensional Automated Volume Calculation (Sonography-Based Automated Volume Count) versus Two-Dimensional Manual Ultrasonography for Follicular Tracking and Oocyte Retrieval in Women Undergoing in vitro Fertilization-Embryo Transfer: A Randomized Controlled Trial. *J Hum Reprod Sci* 2020, 13:296-302.
- Oats J, Abraham S (eds). *Infertility*. In: *Fundamentals of Obstetrics and Gynaecology*. Edinburgh, Elsevier Mosby 2005.
- Paulson R. In vitro fertilization. *UpToDate* 2015, 2021.
- Pharoah PO, Adi Y. Consequences of in-utero death in a twin pregnancy. *Lancet* 2000, 355:1597-1602.
- Quintero RB, Helmer A, Huang JQ, Westphal LM. Ovarian stimulation for fertility preservation in patients with cancer. *Fertil Steril* 2010, 93:865-8.
- Robertson AD, Missmer SA, Ginsburg ES. Embryo yield after in vitro fertilization in women undergoing embryo banking for fertility preservation before chemotherapy. *Fertil Steril*. 2011, 95:588-91.
- Sauer MV. Oocyte donation for assisted reproduction. *UpToDate* 2014.
- Schattman GL, Xu K. Preimplantation genetic testing. *UpToDate* 2018.
- Soini S, Ibarreta D, Anastasiadou V, Aymé S, Braga S, Cornel M, Coviello DA, Evers-Kiebooms G, Geraedts J, Gianaroli L, Harper J, Kosztolanyi G, Lundin K, Rodrigues-Cerezo E, Sermon K, Sequeiros J, Tranebjærg L, Käriäinen H; ESHG; ESHRE. The interface between assisted reproductive technologies and genetics: technical, social, ethical and legal issues. *Eur J Hum Genet* 2006, 14:588-645.
- Svobodova M, Brezinova J, Obama I, Dostal J, Lubusky M. Prevention of multiple pregnancy after IVF/ICSI by elective single embryo transfer-pilot study. *Ceska Gynecol* 2005, 70:343-7.
- Symonds EM, Symonds IM (eds). *Infertility and disorders of sexual function*. In: *Essential Obstetrics and Gynaecology*. Edinburgh, Churchill Livingstone 2004.
- Vega MG, Gleicher N, Darmon SK, Weghofer A, Wu YG, Wang Q, Zhang L, Albertini DF, Barad DH, Kushnir VA. IVF outcomes in average-and poor-prognosis infertile women according to the number of embryos transferred. *Reprod Biomed Online* 2016, pii: S1472-6483(16)30380-7.
- Wertheimer A, Nagar R, Oron G, Meizner I, Fisch B, Ben-Haroush A. Fertility Treatment Outcomes After Follicle Tracking With Standard 2-Dimensional Sonography Versus 3-Dimensional Sonography-Based Automated Volume Count: Prospective Study. *J Ultrasound Med* 2018, 37:859-66.
- Woldringh GH, Frunt MH, Kremer JA, Spaanderman ME. Decreased ovarian reserve relates to pre-eclampsia in IVF/ICSI pregnancies. *Hum Reprod* 2006, 21:2948-54.
- Wu YL, Wu LQ, Li YP, Liu DE, Zeng Q, Zhu HY, Pan Q, Liang DS, Hu H, Long ZG, Li J, Dai HP, Xia K, Xia JH. Preimplantation genetic diagnosis of Duchenne muscular dystrophy by single cell triplex PCR. *Zhong Nan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban* 2007, 32:246-51.

Σύνοψη κεφαλαίου 21**ΕΞΩΣΩΜΑΤΙΚΗ ΓΟΝΙΜΟΠΟΙΗΣΗ ΚΑΙ ΑΛΛΕΣ ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΥΠΟΒΟΗΘΟΥΜΕΝΗΣ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗΣ**

- Στις ενδείξεις της εξωσωματικής γονιμοποίησης περιλαμβάνονται ο σαλπινγικός παράγοντας, η ανδρικής αιτιολογίας στειρότητα, η αποτυχία μετά από ομόλογες σπερματεγχύσεις, η ανεξήγητη στειρότητα, η ενδομητρίωση, τα προβλήματα τραχηλικής βλέννας, η απουσία μήτρας (με «δανεική» μήτρα) όπως και η απουσία λειτουργικών ωοθηκών (με δωρεά ωαρίων).
- Η ασφαλής παρακολούθηση της φαρμακευτικά προκαλούμενης πολλαπλής ωοθυλακικής ωρίμανσης γίνεται με διαδοχικά υπερηχογραφήματα και διαδοχικούς προσδιορισμούς της οιστραδιόλης.
- Με τις τεχνικές υποβοηθούμενης αναπαραγωγής αυξήθηκε το ποσοστό των πολύδυμων κήσεων.
- Απαραίτητη προϋπόθεση για την επιτυχή κατάληξη της δωρεάς ωαρίων είναι η κατάλληλη ορμονική προετοιμασία του ενδομητρίου της δέκτριας, ενώ τα ποσοστά της τελικής επιτυχίας αναμένονται >75%.