



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ



ΜΑΙΕΥΤΙΚΗ ΚΑΙ ΓΥΝΑΙΚΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ
ΜΟΝΑΔΑ ΥΠΟΒΟΗΘΟΥΜΕΝΗΣ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗΣ

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ

«ΒΙΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗΣ»

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

«Η μελέτη των επιπέδων της αντιμυλλέριας ορμόνης σε γυναίκες με β-θαλασσαιμία»

ΕΥΘΑΛΙΑ ΜΑΡΚΟΠΟΥΛΟΥ

ΙΑΤΡΟΣ

ΛΑΡΙΣΑ

Σεπτέμβριος 2013

[1]

ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ ΤΟΥ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑΤΟΣ

ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΙΩΑΝΝΗΣ Ε. ΜΕΣΣΗΝΗΣ

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Επιβλέπων:

Κωνσταντίνος Νταφόπουλος, Αναπληρωτής Καθηγητής Μαιευτικής Γυναικολογίας

Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή :

Ιωάννης Μεσσήνης, Καθηγητής Μαιευτικής Γυναικολογίας

Κωνσταντίνος Νταφόπουλος, Αναπληρωτής Καθηγητής Μαιευτικής Γυναικολογίας

Γεώργιος Ανυφαντής, Εμβρυολόγος- Υπεύθυνος Εργαστηρίου Μονάδας

Υποβοηθούμενης Αναπαραγωγής

ΘΑ ΗΘΕΛΑ ΝΑ ΕΥΧΑΡΙΣΤΗΣΩ
ΤΟΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗ Κ. ΜΕΣΣΗΝΗ ΚΑΙ
ΤΟΝ ΑΝΑΠΛΗΡΩΤΗ ΚΑΘΗΓΗΤΗ Κ. ΝΤΑΦΟΠΛΟΥΛΟ
ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΜΕΡΙΣΤΗ ΣΥΜΠΑΡΑΣΤΑΣΗ
ΚΑΘΩΣ ΚΑΙ ΤΗΝ ΥΠΕΥΘΥΝΗ ΜΑΙΑ ΤΗΣ ΜΥΑ
Κ. ΑΝΑΣΤΑΣΙΑ ΤΖΑΒΕΛΛΑ
ΓΙΑ ΤΗΝ ΠΟΛΥΤΙΜΗ ΒΟΗΘΕΙΑ ΤΗΣ.

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

Περίληψη	5
B- θαλασσαιμία	6
Μοριακή βιολογία και παθοφυσιολογία	6
Κλινική εικόνα και αντιμετώπιση.....	8
Μεταβολισμός του σιδήρου και υπερφόρτωση με σίδηρο	9
Φυσιολογικός μεταβολισμός σιδήρου	9
Υπερφόρτωση με σίδηρο.....	11
Ενδοκρινοπάθειες στη β- Θαλασσαιμία	13
Κύηση και β-θαλασσαιμία	16
Δοκιμασίες ωοθηκικών εφεδρειών	17
Ωοθυλακιοτρόπος ορμόνη (FSH)	18
Αντιμυλλέρια ορμόνη (AMH).....	19
Ο ρόλος της AMH στην ωοθυλακιογένεση	20
Η AMH ως δείκτης ωοθηκικών εφεδρειών	22
Αριθμός κοιλοτικών ωοθυλακίων (AFC).....	23
Κλινική αξία των τεστ ωοθηκικών εφεδρειών	25
Πρωτόκολλο	26
Αποτελέσματα	29
Συζήτηση	32
Συμπέρασμα	35
Βιβλιογραφία	36
Παράρτημα	42

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Εισαγωγή: Η β-θαλασσαιμία είναι μια γενετικά κληρονομούμενη πάθηση που χαρακτηρίζεται από την ελαττωματική παραγωγή της β-σφαιρίνης της αιμοσφαιρίνης. Τα κύρια κλινικά χαρακτηριστικά της είναι η χρόνια αναιμία, η εξωμυελική ερυθροποίηση και η υπερφόρτωση με σίδηρο. Οι γυναίκες με β-θαλασσαιμία πολύ συχνά εμφανίζουν πρωτοπαθή ή δευτεροπαθή αμηνόρροια λόγω υπογοναδοτροφικού υπογοναδισμού και υπογονιμότητα. Οι δοκιμασίες ωθητικών εφεδρειών είναι τεστ τα οποία αξιολογούν την αποθήκη των αρχέγονων ωθυλακίων και την απάντηση στη διέγερση με γοναδοτροφίνες.

Σκοπός: Η αξιολόγηση της AMH και των άλλων τεστ ωθητικών εφεδρειών σε γυναίκες με β-θαλασσαιμία και η σύγκριση των αποτελεσμάτων με αυτά υγιών εθελοντών

Αποτελέσματα: Φάνηκε ότι οι γυναίκες με β-θαλασσαιμία έχουν σημαντικά χαμηλότερη AMH ($p=0.001$) και AFC ($p=0.039$). Δεν υπήρχε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ της τιμής της FSH στις δύο ομάδες. ($p=0.258$) Δεν καταφέραμε να δείξουμε συσχέτιση μεταξύ της τιμής της φερριτίνης και της AMH.

Συμπεράσματα: Η τιμή της AMH και του AFC σχετίζεται άμεσα με την αποθήκη των αρχέγονων ωθυλακίων στην ωθήκη. Στις γυναίκες με β-θαλασσαιμία, αυτοί οι δείκτες είναι χαμηλότεροι σε σχέση με τον γενικό πληθυσμό. Συνεπώς, οι ωθητικές εφεδρείες τους να εξαντλούνται ταχύτερα πιθανόν λόγω βλάβης των ωθηκών από την υπερφόρτωση με σίδηρο.

B- ΘΑΛΑΣΣΑΙΜΙΑ

Ως β- θαλασσαιμία ορίζουμε ένα σύνολο συνδρόμων με κύριο σύμπτωμα την αναιμία η οποία είναι κληρονομήσιμη και οφείλεται σε μεταλλάξεις οι οποίες οδηγούν είτε σε μειωμένη παραγωγή είτε σε πλήρη έλλειψη της β- σφαιρίνης της αιμοσφαιρίνης και συνεπώς σε μειωμένη παραγωγή αιμοσφαιρίνης και ερυθρών αιμοσφαιρίων (Galanello and Origa, 2010)

Η νόσος είναι μια από τις πιο συχνά κληρονομήσιμες γενετικές παθήσεις ανά τον κόσμο. Σύμφωνα με την Παγκόσμια Ομοσπονδία για την θαλασσαιμία κάθε χρόνο γεννιούνται 2158 παιδιά με β- θαλασσαιμία ενώ οι καταγεγραμμένοι πάσχοντες ανέρχονται στους 290,000 περίπου (Thalassemia International federation). Είναι γεγονός ότι το 4,83% του πληθυσμού φέρει κάποια μετάλλαξη (Rund and Rachmilewitz, 2005) Η νόσος όμως απαντάται συχνότερα σε χώρες γύρω από τη Μεσόγειο Θάλασσα, τη Μέση Ανατολή και την Ινδία. Η επίπτωση της κυμαίνεται από 1 προς 100,000 συνολικά στον κόσμο μέχρι 1 προς 10,000 κυρίως στις χώρες του Ευρωπαϊκού Νότου. Αυτό συμβαίνει γιατί στους ετεροζυγώτες η μετάλλαξη προσφέρει πλεονέκτημα επιβίωσης έναντι του *Plasmodium falciparum* που προκαλεί την ελονοσία, η οποία μαστίζει τις περιοχές αυτές (Galanello and Origa, 2010).

ΜΟΡΙΑΚΗ ΒΙΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ ΠΑΘΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ

Για τη β- θαλασσαιμία έχουν αναγνωρισθεί περισσότερες από 200 σημειακές μεταλλάξεις και πολύ σπάνια ελλείψεις. Η θαλασσαιμία είναι κλινικά ετερογενής γιατί πολλές διαφορετικές μεταλλάξεις επηρεάζουν με διαφορετικό τρόπο τη σύνθεση της β- αλυσίδας της αιμοσφαιρίνης. Παρ' όλα αυτά, παραμένει ακόμα

δυσνόητο το πώς, ενώ γνωρίζουμε τον τύπο της μετάλλαξης, δεν μπορούμε να προβλέψουμε με ακρίβεια το φαινότυπο, γεγονός που μπορεί να οφείλεται στην επίδραση περιβαλλοντικών παραγόντων στη νόσο. (Rund and Rachmilewitz, 2005)

Η μη αποδοτική ερυθροποίηση είναι ένα σημαντικό πρόβλημα στη νόσο. Η μειωμένη παραγωγή β- αλυσίδων της αιμοσφαιρίνης δημιουργεί συγκριτικό πλεόνασμα στις α-αλυσίδες μέσα στους ερυθροβλάστες (Galanello and Origa, 2010). Αν και ο μηχανισμός δεν είναι απόλυτα γνωστός, φαίνεται ότι ενεργοποιείται κάποιο αποπτωτικό μονοπάτι μέσω του υποδοχέα του Fas- Fas ligand και οδηγεί σε αυξημένη απόπτωση των ερυθροβλαστών (Rund and Rachmilewitz, 2005).

ΚΛΙΝΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΚΑΙ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ

Τα κλινικά χαρακτηριστικά της νόσου αποδίδονται στην προεξάρχουσα αναιμία, στην εξωμυελική ερυθροποίηση και την υπερφόρτωση με σίδηρο

- ➔ **Αναιμία:** Η αναιμία είναι το προεξάρχον σύμπτωμα της νόσου. Ο βαθμός της ποικίλει ανάλογα με το είδος της μετάλλαξης και τη συνύπαρξη άλλων μεταλλάξεων ή επιβοηθητικών παραγόντων. Έτσι φαίνεται ότι συνυπάρχουσα έλλειψη κάποιων γονιδίων της α- σφαιρίνης κάνει ηπιότερη την αναιμία γιατί εξισορροπεί μερικώς την περίσσεια α- αλυσίδων (Rund and Rachmilewitz, 2005, Olivieri, 1999)
- ➔ **Εξωμυελική ερυθροποίηση:** Η μη αποδοτική ερυθροποίηση και η αναιμία οδηγούν σε αντισταθμιστική αύξηση της ερυθροποίησης και την επέκταση της εκτός του μυελού. Η αυξημένη παραγωγή ερυθροποιητίνης οδηγεί σε αύξηση του ερυθροποιητικού ιστού αρχικά στο θώρακα και στη συνέχεια παρασπονδυλικά. Αυτό οδηγεί σε χαρακτηριστικές ανωμαλίες στα οστά του κρανίου και σε οστεοπενία. Η αύξηση αυτή της ερυθροποίησης οδηγεί σε

αυξημένη απορρόφηση σιδήρου και εναπόθεση του στους ιστούς (Olivieri, 1999)

- ➔ **Υπερφόρτωση με σίδηρο:** Οι πολλαπλές μεταγγίσεις, οι οποίες αναπόφευκτα χρειάζονται για να διατηρηθεί αιμοσφαιρίνη σε επίπεδα 9-10g/dl, οδηγούν σε υπερφόρτωση του οργανισμού με σίδηρο και στις επιπλοκές που αυτή έχει. Η υπερφόρτωση με σίδηρο αποτελεί την πιο συχνή αιτία νοσηρότητας και θνητότητας. Η συχνή θεραπεία αποσιδήρωσης είναι απαραίτητα στους ασθενείς αυτούς. (Rund and Rachmilewitz, 2005)

ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΣ ΤΟΥ ΣΙΔΗΡΟΥ ΚΑΙ Η ΥΠΕΡΦΟΡΤΩΣΗ ΜΕ ΣΙΔΗΡΟ

Ο σίδηρος αποτελεί ανόργανο στοιχείο απαραίτητο τόσο για την φυσιολογική αιμοποίηση, την λειτουργία διάφορων ενζύμων, την παραγωγή μυοσφαιρίνης και τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό. Από την άλλη, η υπερβολική συσσώρευση σιδήρου στον οργανισμό προκαλεί βλάβες σε διάφορα συστήματα όπως το ήπαρ, η καρδιά, το πάγκρεας, το θυρεοειδή αδένος και το κεντρικό νευρικό σύστημα. Αυτή η ισορροπία είναι δύσκολο να διατηρηθεί σε ασθενείς με ανάγκη για συχνές μεταγγίσεις, γιατί ο οργανισμός δεν διαθέτει κανένα αποτελεσματικό μηχανισμό αποβολής της περίσσειας του σιδήρου, με αποτέλεσμα να τον συσσωρεύει. (Kohgo et al, 2008)

ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΟΣ ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΣ ΤΟΥ ΣΙΔΗΡΟΥ

Η απορρόφηση του σιδήρου γίνεται στον δωδεκαδάκτυλο και στο πρώτο τμήμα της νήστιδας. Στις τροφές, ο σίδηρος υπάρχει είτε στην τρισθενή του μορφή ως Fe (III) ή ως αιματίνη. Για να απορροφηθεί, όμως, από το εντερικό επιθήλιο μετατρέπεται με τη βοήθεια μιας αναγωγάσης Dcytb στην ψυκτροειδή παρυφή του εντερικού επιθηλίου στη δισθενή του μορφή ως Fe (II) και στη συνέχεια εισέρχεται στο εντερικό κύτταρο με τη βοήθεια μιας διαμεμβρανικής περμεάσης (Divalent Metal Transporter 1) DMT1. Στη συνέχεια, είτε αποθηκεύεται στο εντεροκύτταρο με τη μορφή της φερριτίνης, είτε μεταφέρεται στη βασική επιφάνεια του εντεροκυττάρου όπου με τη βοήθεια της φερροπορτίνης (ferroportin), μιας άλλης διαμεμβρανικής πρωτεΐνης μεταφορέα απελευθερώνεται στο πλάσμα, όπου και τελικά συνδέεται με την τρανσφερρίνη αφού έχει πρώτα οξειδωθεί σε Fe (III) με τη βοήθεια της haerphaestin.

Ο ρόλος της τρανσφερρίνη είναι ουσιαστικός για την κυκλοφορία του σιδήρου στο αίμα. Αρχικά, η τρανσφερρίνη λειτουργεί ως μεταφορέας του οξειδωμένου σιδήρου στο πλάσμα μην επιτρέποντας της παραγωγή ελεύθερων ριζών O₂, που θα προκαλούσαν βλάβες στους ιστούς. Επιπλέον, προσφέρει το σίδηρο στους ιστούς στόχους, που είναι οι ερυθροβλάστες και τα πολλαπλασιαζόμενα κύτταρα, μέσω της σύνδεσής της με ειδικούς υποδοχείς τρανσφερρίνης (transferring receptors- TfR) οι οποίοι εκφράζονται αποκλειστικά σε ιστούς που έχουν ανάγκη από σίδηρο. (De Domenico et al, 2008)

Όταν τα ερυθρά αιμοσφαίρια ολοκληρώσουν τον κύκλο της ζωής καταστρέφονται, όπως είναι γνωστό, στο δικτυοενδοθηλιακό σύστημα (ΔΕΣ). Εκεί, με τη βοήθεια της οξειγενάσης της αίμης, ο σίδηρος αποδίδεται στην κυκλοφορία για να επαναχρησιμοποιηθεί, είτε αποθηκεύεται στο πλάσμα των μακροφάγων τα οποία αποτελούν μία από τις αποθήκες του οργανισμού σε σίδηρο. Την κύρια, όμως, αποθήκη του οργανισμού σε σίδηρο, αποτελεί το ήπαρ. Προσλαμβάνεται από τα ηπατοκύτταρα από την πυλαία κυκλοφορία και αποθηκεύεται με τη μορφή φερριτίνης. Από εκεί, με τη βοήθεια της φερροπορτίνης επανακινητοποιείται στην κυκλοφορία, όταν αυτό είναι απαραίτητο. (Fleming and Bacon, 2005)

Μεγάλο ρόλο στην κινητοποίηση του σιδήρου έχει η εψιδίνη (hepsidin), ένα πολυπεπίδιο 25 αμινοξέων, που παράγεται από το ήπαρ. Ρόλος της είναι η ρύθμιση της έκφρασης της φερροπορτίνης στην επιφάνεια των κυττάρων, που αποθηκεύουν τον σίδηρο. Η εψιδίνη συνδέεται με την φερροπορτίνη και προκαλεί τη φωσφορυλίωση, την εσωτερίκευση και τελικά την ουβικουιτίνωση και πρωτεόλυση της. Με αυτό τον τρόπο ρυθμίζει αρνητικά την έξοδο του σιδήρου στο πλάσμα (De Domenico et al, 2008)

Φυσιολογικά σίδηρος αποβάλλεται με την απόπτωση του εντερικού επιθηλίου, με την έμμηνο ρύση και τον τοκετό στις γυναίκες . Παρόλο που η απορρόφηση του σιδήρου και η κινητοποίηση του στην κυκλοφορία ελέγχονται από πολλά μόρια και κυτοκίνες, ο οργανισμός δεν διαθέτει κανέναν μηχανισμό με τον οποίο μπορεί να

αυξήσει την αποβολή του σιδήρου. Η υπερβολική όμως συσσώρευση είναι τοξική για τα κύτταρα οδηγώντας σε μια πλειάδα διαταραχών από διάφορα συστήματα. (Kohgo et al, 2008)

ΥΠΕΡΦΟΡΤΩΣΗ ΜΕ ΣΙΔΗΡΟ

Η κατάσταση αυτή μπορεί είτε να οφείλεται σε αυξημένη απορρόφηση σιδήρου από το έντερο ως αποτέλεσμα κάποιας γενετικής ασθένειας είτε δευτεροπαθώς λόγω υπερβολικής χορήγησης ή ηπατικής βλάβης. Στον πίνακα 1 συνοψίζονται τα κυριότερα αίτια υπερφόρτωσης με σίδηρο.

Η κύρια αιτία υπερφόρτωσης με σίδηρο σε ασθενείς με β-θαλασσαιμία είναι οι συνεχείς μεταγγίσεις που απαιτούνται. Η εναπόθεση του στα διάφορα όργανα προκαλεί δυσλειτουργία, κυτταρικό θάνατο, ίνωση και καρκινογένεση. Ο κύριος μηχανισμός της βλάβης είναι η παραγωγή ελεύθερων ριζών οξυγόνου. Αυτές δρουν τοξικά για τα δομικά στοιχεία του κυττάρου (νουκλεϊκά οξέα- πρωτεΐνες- υδατάνθρακες) ενώ έχει αποδειχθεί ότι σχετίζονται με καρκινογένεση και τερατογένεσεις (Kohgo et al, 2008).

Χωρίς τη χορήγηση θεραπείας αποσιδήρωσης η συσσώρευση σιδήρου οδηγεί σε μη αναστρέψιμες βλάβες από την καρδιά, το ήπαρ και τους ενδοκρινείς αδένες. Η καρδιά είναι ήδη επιβαρυσμένη από τη χρόνια αναιμία αλλά επιδεινώνεται από την εναπόθεση σιδήρου. Έχει συσχετιστεί με υπερτροφία των καρδιακών μυϊκών ινών, διαστολική δυσλειτουργία και πιο σπάνια ίνωση. Η επιβίωση των ασθενών με β-θαλασσαιμία καθορίζεται από την έκταση της καρδιακής βλάβης.

Οι επιπτώσεις στο ήπαρ, την κύρια αποθήκη σιδήρου είναι εξίσου σοβαρές. Η περίσσεια σιδήρου προκαλεί κίρρωση και πυλαία υπέρταση. Χωρίς θεραπεία αποσιδήρωσης η κίρρωση μπορεί να αναπτυχθεί την πρώτη δεκαετία της ζωής. Εξίσου σημαντικές επιπτώσεις έχει η άθροιση σιδήρου στους ενδοκρινείς αδένες

που προκαλεί μεγάλη δυσλειτουργία πολλές φορές μη αναστρέψιμη με θεραπεία αποσιδήρωσης (Olivieri, 1999).

ΕΝΔΟΚΡΙΝΟΠΑΘΕΙΕΣ ΣΤΗ Β-ΘΑΛΑΣΣΑΙΜΙΑ

Η υπερφόρτωση με σίδηρο εξαιτίας των συχνών μεταγγίσεων αποτελεί την κύρια αιτία για τη διαταραχή της λειτουργίας των ενδοκρινών αδένων. Οι αδένες που πιο συχνά υπολειπονται είναι η υπόφυση, ο θυρεοειδής, το πάγκρεας και οι παραθυρεοειδείς. Η συχνότητα αυτών των διαταραχών ποικίλει από χώρα σε χώρα. Κάποια ενδεικτικά στοιχεία παρατίθενται στον πίνακα:

Ενδοκρινολογικές επιπλοκές (και στα δύο φύλα)	Χώρα					
	Ελλάδα	Κύπρος	Ιταλία	Β. Αμερική	Τουρκία	Ιράν
Υπογοναδισμός	42%	32,5%	49%	42%	50%	35,1%
Σακχαρώδης διαβήτης	5%	9,4%	4,9%	5%	9,3%	8,7%
Κοντό ανάστημα	32%	35%	12,4% (ανεπάρκεια αυξητικής ορμόνης)	32%	10% (ανεπάρκεια αυξητικής ορμόνης)	39,3%
Πρωτοπαθής υποθυρεοειδισμός	4%	5,9%	6,2%	4%	29%	7,7%
Υποπαραθυρεοειδισμός	4%	1,2%	3,6	4%	4%	7,6%

(Τροποποίηση από Skordis, 2011)

➤ Αναστολή της ανάπτυξης- ανεπάρκεια αυξητικής ορμόνης (GH)

Τα παιδιά με ομόζυγη β-θαλασσαιμία ακολουθούν ένα ιδιαίτερο πρότυπο ανάπτυξης. Μέχρι την ηλικία των 9-10 χρονών εμφανίζουν κανονικό ρυθμό ανάπτυξης και μετά ακολουθεί επιβράδυνση της ανάπτυξής τους. Η αναστολή αυτή είναι πολυπαραγοντική και σχετίζεται με τη χρόνια αναιμία, την υπερφόρτωση με σίδηρο και τις θεραπείες αποσιδήρωσης αλλά και με την συνύπαρξη άλλων ενδοκρινολογικών παθήσεων όπως η καθυστέρηση της ήβης και ο υποθυρεοειδισμός. Πολύ συχνή είναι και η διαταραχή του άξονα GH- IGF-1 είτε λόγω ανεπάρκειας της υπόφυσης, είτε λόγω αυξημένης δραστηριότητας της σωματοστατίνης και ανοχή στη GH (Skordis, 2011).

➤ Καθυστέρηση- αναστολή της ήβης και υπογονιμότητα

Η εναπόθεση σιδήρου στον υποθάλαμο και την υπόφυση είναι η κύρια αιτία δυσλειτουργίας του άξονα στους ασθενείς αυτούς. Αυτός ο υπογοναδισμός παρουσιάζεται με καθυστέρηση της ήβης και πρωτοπαθή αμηνόρροια είτε με δευτεροπαθή αμηνόρροια. (Al- Rimawi et al, 2005) Ως καθυστέρηση της ήβης ονομάζουμε την μη εμφάνιση των δευτερογενών χαρακτηριστικών μέχρι την ηλικία των 13 χρονών στα κορίτσια και των 14 χρονών στα αγόρια, ενώ ως αναστολή της ήβης ορίζουμε την μη πλήρη ανάπτυξη των δευτερογενών χαρακτηριστικών μέχρι την ηλικία των 16 ετών.

Η κάποιας μορφής ανεπάρκεια του άξονα είναι το πιο συχνό ενδοκρινολογικό πρόβλημα με ποσοστό που αγγίζει έως το 73,6% Το ποσοστό καθυστερημένης ήβης επηρεάζει το 38,4- 74% ανάλογα με τη μελέτη, και η διαφορά αυτή αποδίδεται στο διαφορετικό ορισμό που χρησιμοποιείται κάθε φορά. Πρωτοπαθής αμηνόρροια εμφανίζεται στο 42,1-81% των ασθενών ενώ δευτεροπαθής αμηνόρροια εμφανίζεται σε όλες σχεδόν τις ασθενείς σε διάστημα από 1 μήνα έως 15 χρόνια από την έναρξη της εμμηνου ρύσεως με μέσο χρονικό διάστημα τα 3,8 έτη (Safarinejad MR,2010). Επιπλέον, έχουν φτωχή απάντηση στο τεστ διέγερσης με

GnRH αγωνιστή σε σχέση με υγιή άτομα. Αυτό πιθανά να υποδηλώνει βλάβη στον υποθάλαμο. (Safarinejad MR,2010; Al- Rimawi et al, 2005). Βέβαια, στην ανωθηλακιορρηξία συμμετέχουν η κίρρωση, η χρόνια υποξία και ο σακχαρώδης διαβήτης (De Santis, 2002)

➔ Υποθυρεοειδισμός

Πρωτοπαθής υποθυρεοειδισμός ανευρίσκεται σε ποσοστό από 0- 18% ανάλογα με τον πληθυσμό που περιλαμβάνεται στη μελέτη. Συνήθως εμφανίζεται τη δεύτερη δεκαετία της ζωής και είναι πιο συχνός στα κορίτσια. Συνήθως δεν υπάρχει βλάβη του άξονα αλλά βλάβη του αδένου και ανεπάρκεια έκκρισης θυρεοειδοτρόπου ορμόνης παρατηρείται σπάνια (Skordis,2011).

➔ Υποπαραθυρεοειδισμός

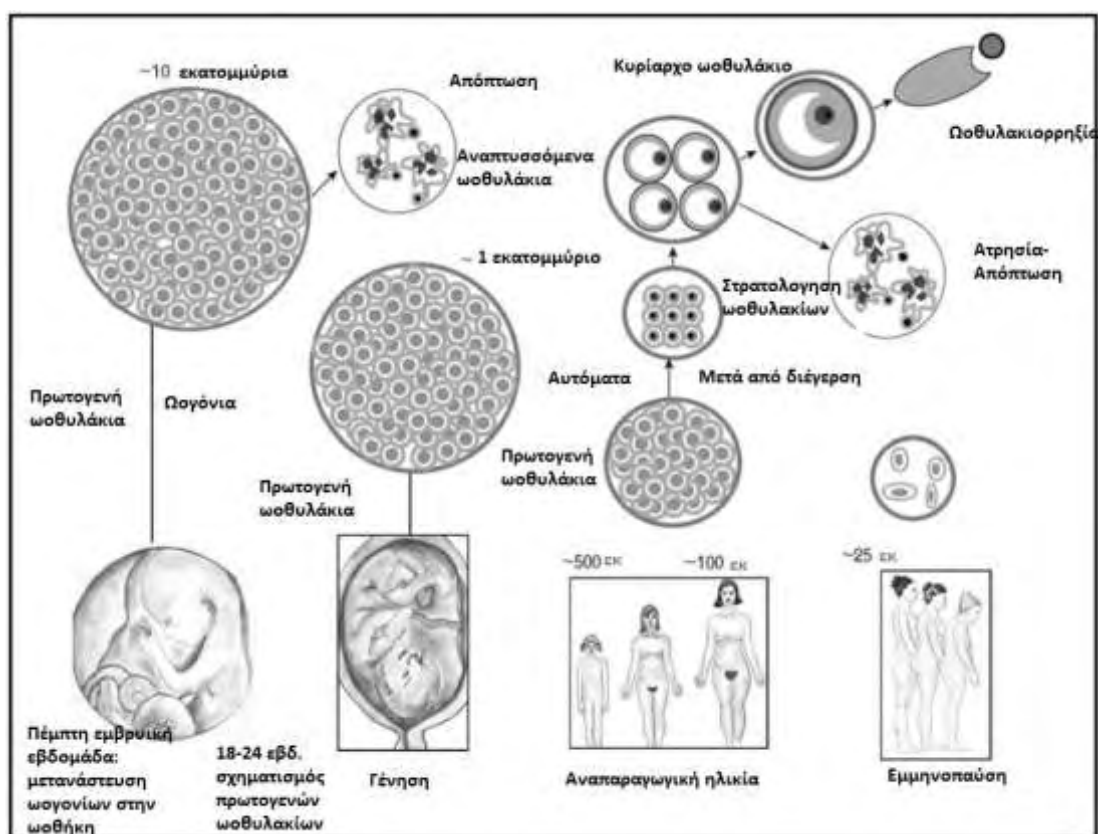
Ο Υποπαραθυρεοειδισμός είναι μια σπάνια επιπλοκή της υπερφόρτωσης με σίδηρο. Η επίπτωση της είναι περίπου στο 13,5% και εμφανίζεται μετά την εφηβεία ανεξάρτητα από το φύλο. Η εναπόθεση του σιδήρου στους παραθυρεοειδείς προκαλεί ίνωση και δυσλειτουργία με κύρια ευρήματα την χαμηλή τιμή του ασβεστίου και την εικόνα οστεοπόρωσης (Skordis, 2011)

ΚΥΗΣΗ ΚΑΙ Β- ΘΑΛΑΣΣΑΙΜΙΑ

Μετά τις πρώτες παρατηρήσεις για επίτευξη κύησης σε γυναίκες με β-θαλασσαιμία από τη δεκαετία του '60, έχουν αναφερθεί περισσότερες από 400 περιπτώσεις επιτυχούς έκβασης στις γυναίκες αυτές. Στις περιπτώσεις αυτές, η σύλληψη ήταν δυνατή είτε αυτόματα είτε μετά από διέγερση με γοναδοτροφίνες (Origa et al, 2009; Skordis et al, 2004). Φυσικά, όμως παραμένει μια κύηση υψηλού κινδύνου. Έχουν αναφερθεί αυξημένα ποσοστά συνδρόμου υπερδιέγερσης των ωοθηκών, κρίσεις υπερσπληνισμού και επιδείνωση της καρδιακής λειτουργίας. Σήμερα πια, εξαιτίας της καλύτερης κατανόησης του συνδρόμου υπερδιέγερσης και της καλύτερης παρακολούθησης των ασθενών, ο κίνδυνος αυτός έχει μειωθεί σημαντικά. Όσον αφορά το έμβρυο έχουν αναφερθεί ενδομήτρια καθυστέρηση της ανάπτυξης (IUGR) και πρόωρος τοκετός. Στη μελέτη των Origa et al, δεν αναφέρονται αυξημένα ποσοστά αυτόματων εκτρώσεων στις γυναίκες με β-θαλασσαιμία σε σχέση με τον γενικό πληθυσμό. Στην ίδια μελέτη δεν αναφέρεται ούτε επιδείνωση της καρδιακής λειτουργίας στις γυναίκες αυτές. Ακόμα, το ποσοστό IUGR ανήρθε στο 17,2% ενώ το ποσοστό πρόωρου τοκετού στο 32,8%. Αυτό το ποσοστό αποδίδεται στις πολύδυμες κυήσεις και στη λήψη προφυλάξεων παρά σε ενδείξεις επείγουσας καισαρικής τομής. Η διατήρηση των επιπέδων της αιμοσφαιρίνης >10mg/ dl είναι ένα αποτελεσματικό μέτρο για την πρόληψη του IUGR. (Origa et al, 2009) Από τη μέχρι τώρα εμπειρία, η κύηση στις γυναίκες αυτές μπορεί να είναι ασφαλής και δεν ενέχει κίνδυνο επιδείνωσης της νόσου για τη μητέρα. (Skordis et al, 2004)

ΔΟΚΙΜΑΣΙΕΣ ΩΟΘΗΚΙΚΩΝ ΕΦΕΔΡΕΙΩΝ

Τα αρχέγονα ωοθυλάκια παράγονται κατά την ενδομήτρια ζωή της γυναίκας, φθάνουν στον μέγιστο αριθμό τους την 20^η εβδομάδα της εμβρυϊκής ζωής και στη συνέχεια σταδιακά μειώνονται αφού υφίστανται ατρησία ή ωριμάζουν, χωρίς να έχουν τη δυνατότητα αναγέννησης. Έτσι, αν και οι ωοθήκες γερνούν σταδιακά, είναι δύσκολο κανείς να προσδιορίσει τον ρυθμό αυτό για κάθε γυναίκα ξεχωριστά. Επιπλέον αυτή η σταδιακή διαδικασία έχει επιπτώσεις στην απόφαση για παρέμβαση αλλά και στα αποτελέσματα της (Riggs et al, 2008).



Τροποποίηση από Domingues et al, 2010

Παρ' όλο που σήμερα δεν υπάρχει τρόπος να μετρηθούν τα εναπομείναντα ωοθυλάκια *in vivo*, ούτε να προσδιοριστεί ο ρυθμός της μείωσης τους έχουν δοκιμαστεί διάφορες δοκιμασίες μέτρησης ενδοκρινολογικών παραμέτρων, οι λεγόμενες δοκιμασίες ωοθηκικών εφεδρειών. Αυτές περιλαμβάνουν τόσο απλά βιοχημικά τεστ και δυναμικές δοκιμασίες όσο και υπερηχογραφικές μετρήσεις . Τα κυριότερα τεστ είναι η μέτρηση της αντιμυλλέριας ορμόνης (AMH), της ωοθυλακιοτρόπου ορμόνης (FSH), της ινχιμπίνης-B (Inhibin- B) και ο αριθμός των κοιλοτικών ωοθυλακίων όπως προσδιορίζεται από το διακολλικό υπερηχογράφημα (Domingues et al, 2010).

ΩΟΘΥΛΑΚΙΟΤΡΟΠΟΣ ΟΡΜΟΝΗ (FSH)

Η FSH αποτελεί έναν βασικό δείκτη για την λειτουργία του αναπαραγωγικού άξονα. Η μειωμένη τιμή της αντανakλά την υπολειτουργία της υπόφυσης και χαρακτηρίζεται ως υπογοναδοτροφικός υπογοναδισμός, ενώ αύξηση της τιμής της χαρακτηρίζει την υπολειτουργία των ωοθηκών και την αδυναμία παλίνδρομης ρύθμισης της υπόφυσης. Η τελευταία χαρακτηρίζεται ως υπεργοναδοτροφικός υπογοναδισμός και είναι ιδιαίτερα εμφανής στην εμμηνόπαυση.

Παρ' όλο που η FSH είναι μια εργαστηριακή παράμετρος εύκολα μετρούμενη, έχει μεγάλη διακύμανση μέσα στον κύκλο και μεταξύ των κύκλων που περιορίζει την αξιοπιστία της. Ψηλές τιμές έχουν συσχετιστεί, χωρίς απαραίτητα να προβλέπουν, με πτωχή ωοθηκική απάντηση αλλά και υπογονιμότητα. Η μέτρηση της FSH έχει υψηλή ειδικότητα (83- 100%) στην πρόβλεψη της φτωχής ωοθηκικής απάντησης (<2-3 ωοθυλάκια ή < 4 ωοκύτταρα ανά ωοληψία) όταν χρησιμοποιούνται ως όριο τιμές >10IU/L (συνήθως 10-20IU/L). Η ευαισθησία της, όμως, ώστε να εντοπίζει

γυναίκες που δεν θα ανταποκριθούν είναι χαμηλή και ποικίλλει από 10-80% Τιμές της FSH που χαρακτηρίζονται από μεγάλη ειδικότητα, έχουν πολύ χαμηλή ευαισθησία (10-30%) (Esposito et al, 2002). Επίσης, υψηλή τιμή της FSH δεν φαίνεται να συσχετίζεται με αυξημένη πιθανότητα για ανευπλοΐδια σε κύκλους εξωσωματικής. (Massie et al, 2008; Thum M et al, 2008) Τέλος, υψηλή τιμή της FSH φαίνεται να σχετίζεται αρνητικά με την επίτευξη κύησης (OR 0.94; 95% CI: 0.88–1.00) (van Loendesloot et al, 2010)

ΑΝΤΙΜΥΛΛΕΡΙΑ ΟΡΜΟΝΗ (AMH)

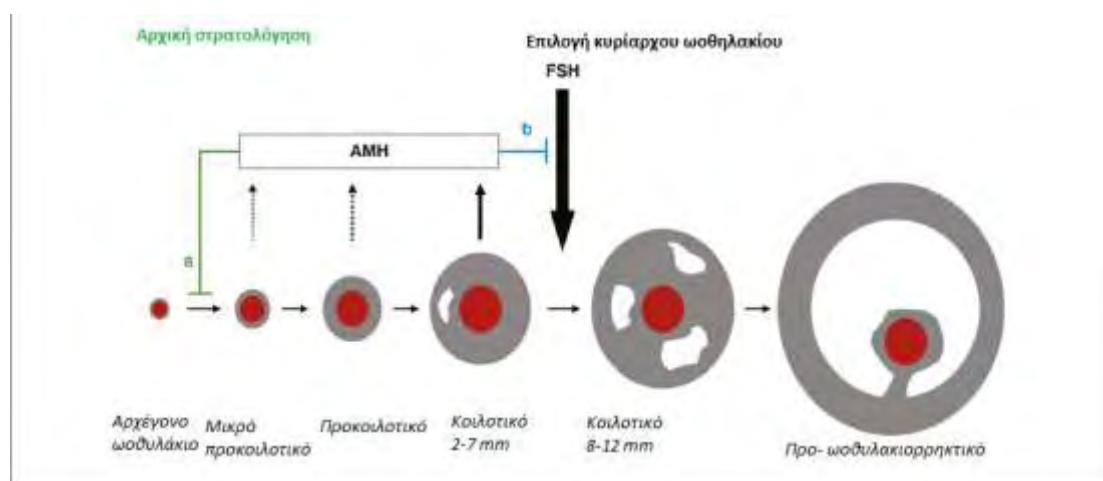
Η αντιμυλλέρια ορμόνη είναι μια διμερική γλυκοπρωτεΐνη της υπεροικογένειας του transforming growth factor- beta (te Velde and Pearson , 2002). Η ορμόνη αυτή περιγράφηκε για πρώτη φορά ως παράγων διαφοροποίησης του ανδρικού γενετικού συστήματος κατά την εμβρυογένεση. Στα αγόρια, παράγεται από τα κύτταρα sertolli και προκαλεί υποστροφή των πόρων του Μύλλερ που οδηγούν στη δημιουργία του γυναικείου αναπαραγωγικού συστήματος. Στους άνδρες εκφράζεται από την όγδοη εβδομάδα της κύησης έως την εφηβεία ενώ στις γυναίκες εκφράζεται, από τα κοκκώδη κύτταρα, από την 32 εβδομάδα της ενδομήτριας ζωής έως την εμμηνόπαυση (Rajpert- De Mayts et al, 1999).

Η ορμόνη αυτή φαίνεται ότι παράγεται από προκοιλιακά και κοιλιακά ωοθυλάκια όχι μεγαλύτερα από 4 mm, αλλά παύει να εκφράζεται όταν τα ωοθυλάκια αυτά φτάσουν σε μεγαλύτερο στάδιο ανάπτυξης (Weenan et al, 2004) Η AMH συνεχίζει να εκφράζεται από τα δευτερογενή ωοθυλάκια που έχουν φτάσει σε τέτοιο στάδιο ανάπτυξης, ώστε να είναι σε θέση να επιλεγούν. (Durlinger et al, 2002) Συνεπώς, εκφράζεται από ωοθυλάκια τα οποία έχουν ξεκινήσει να αναπτύσσονται από τη δεξαμενή των αρχέγονων ωοθυλακίων της ωοθήκης αλλά δεν έχουν επιλεχθεί ως επικρατή. Επίσης, δεν εκφράζεται από ατρητικά ωοθυλάκια ή κύτταρα της θήκης. (Durlinger et al, 2002; Hirobe et al., 1994; Munsterberg and Lovell-Badge, 1991; Ueno et al., 1989)

Ασκεί τις δράσεις της μέσω του υποδοχέα της (AMH-R II), ο οποίος είναι μέλος της οικογένειας των υποδοχέων σερίνης/ θρεονίνης. Ο AMH-R II έχει απομονωθεί από τα κοκκώδη κύτταρα (Josso et al, 2001) Είναι πιθανόν ο υποδοχέας της AMH να εκφράζεται από τα κυβοειδή προκοκκώδη κύτταρα των αρχέγονων ωοθυλακίων γιατί έχει βρεθεί η έκφραση του από την ενδομήτρια ζωή ακόμη ενώ συνεχίζει να εκφράζεται και μετά τη γέννηση. (Durlinger et al, 2002) , έχει βρεθεί ότι εκφράζεται και στα κύτταρα της θήκης κοιλιοτικών και προκοιλιοτικών ωοθυλακίων ποντικών (Ingraham et al, 2000) Τέλος, εκτός της ωοθήκης ο υποδοχέας έχει απομονωθεί στο ενδομήτριο αλλά και από παρασκευάσματα καρκίνου του τραχήλου της μήτρας, του ενδομητρίου, ωοθηκών και του μαστού. (La Marca et al, 2009)

Ο ρόλος της AMH στην ωοθυλακιογένεση

Η ωοθυλακιογένεση είναι μια δυναμική διαδικασία. Στηρίζεται στην ισορροπία μεταξύ σημάτων που δέχεται το ωοθυλάκιο για απόπτωση και ανάπτυξη. Αν και κατά τη γέννηση υπάρχει ένας τεράστιος αριθμός ωοθυλακίων για κάθε γυναίκα, μόνο ένα μικρό ποσοστό από αυτά θα ωριμάσουν και θα φτάσουν στο στάδιο της ωορρηξίας. Το μεγαλύτερο ποσοστό θα σταματήσει σε κάποιο σημείο την ανάπτυξη του και θα καταστεί ατρητικό. Σε ένα φυσικό κύκλο, μόνο ένα ωοθυλάκιο επιλέγεται



Τροποποίηση από Broekmans et al, *Anti-Mullerian Hormone and ovarian dysfunction*, *Trends Endocrinol Metab* 2008; 19(9): 340-7

κάθε φορά κάτω υπό την ορμονολογική καθοδήγηση της υπόφυσης και της παρακρινικής ρύθμισης μέσω αυξητικών παραγόντων, κυτοκινών και στεροειδών ορμονών. (Yang et al, 2013) Έτσι, διακρίνουμε δύο φάσεις ανάπτυξης, την αρχική (ή ανεξάρτητη από την FSH) και την προ- ωοθυλακιορρηκτική φάση (ή εξαρτώμενη από την FSH). Στην πρώτη φάση, τα ωοθυλάκια στρατολογούνται από τη δεξαμενή των αρχέγονων ωοθυλακίων. Στη συνέχεια επιλέγονται τα αυτά που είναι αρκετά ευαίσθητα στην επίδραση της FSH. (Grujters M et al, 2003)

Από μελέτες σε πειραματόζωα φαίνεται ότι η AMH έχει την ικανότητα να περιορίζει την αρχική στρατολόγηση των ωοθυλακίων. (Durlinder et al, 1999) Αυτό το επιτυγχάνει μειώνοντας την ευαισθησία των ωοθυλακίων στην FSH. (Durlinger et al, 2001) Επίσης, φαίνεται ότι η AMH έχει επίδραση στην παραγωγή ορμονών. Έχει αποδειχθεί ότι η χορήγηση της AMH εξωγενώς σε καλλιέργειες κοκκωδών κυττάρων μειώνει τη σύνθεση της αρωματάσης αλλά και την έκφραση των υποδοχέων της LH. (di Clemente et al, 1994) Σύγχρονες θεωρίες υποδηλώνουν ότι συνεισφέρει στη στεροειδογένεση στα κοκκώδη κύτταρα, καθώς τα επίπεδα της φαίνεται να σχετίζονται με τα επίπεδα της οιστραδιόλης στο ωοθυλακικό υγρό των μικρών κοιλοτικών ωοθυλακίων. Αυτό επιβεβαιώθηκε από μια ακόμα μελέτη στην οποία δείχθηκε ότι οι πολυμορφισμοί της AMH και του υποδοχέα της AMH- RII σχετίζονται με τα επίπεδα της οιστραδιόλης στο ωοθυλακικό υγρό, υποδηλώνοντας κάποιο ρόλο στη εξαρτώμενη από την FSH παραγωγή στεροειδών. (La Marca et al, 2009) Επίσης, το πρότυπο έκφρασης του γονιδίου της AMH φαίνεται ότι εξαρτάται από το στάδιο ανάπτυξης του ωοθυλακίου και μπορεί να διαδραματίζει κάποιο ρόλο στην παρακρινική ρύθμιση της ωρίμανσής του. (Salmon et al, 2004)

Η AMH ως δείκτης ωθητικών εφεδρειών

Καθώς είναι δύσκολο να μετρήσουμε τον αριθμό των αρχέγονων ωθυλακίων, θέτουμε ως στόχο την πρόβλεψη τριών διαφορετικών παραμέτρων της ωθητικής λειτουργίας: τον αριθμό των ωθυλακίων, την ποιότητα των ωαρίων και τη δυνατότητα γονιμοποίησης (Practise Committee, 2012). Έτσι, οι πληθυσμοί που μελετήθηκαν είναι γυναίκες που υποβάλλονται σε διαδικασίες εξωσωματικής (IVF), γυναίκες με υψηλό κίνδυνο για μειωμένες ωθητικές εφεδρείες και γυναίκες με χαμηλό κίνδυνο για μειωμένες εφεδρείες και σαν τελικό στόχο είχαν την ωθητική απάντηση στη διέγερση με γοναδοτροφίνες. Στη μετα- ανάλυση των Broer et al, έγινε προσπάθεια να αναλυθεί η προβλεπτική αξία της AMH για την πτωχή ωθητική απάντηση στις γοναδοτροφίνες και την εγκυμοσύνη μετά από IVF. Φάνηκε, λοιπόν ότι η ευαισθησία της AMH στην πρόβλεψη της πτωχής απάντησης κυμαίνεται μεταξύ 40- 91% ενώ η ειδικότητα μεταξύ 64-100%. (Broer et al, 2009) Σε μια πιο πρόσφατη μετα- ανάλυση, όταν η ανάλυση έγινε με βάση τον πληθυσμό της μελέτης, προέκυψε ότι ειδικά σε γυναίκες με μεγάλο κίνδυνο για ελαττωμένες εφεδρείες, μια τιμή AMH στο 1,25 ng/ml έχει 85% ευαισθησία, 63% ειδικότητα, 41% θετική προγνωστική αξία και 96% αρνητική προγνωστική αξία για την ακύρωση του κύκλου (≤ 3 ωθυλάκια) και 58% ευαισθησία, 75% ειδικότητα, 76% θετική προγνωστική αξία και 57% αρνητική προγνωστική αξία για φτωχή ωθητική απάντηση (≤ 4 ωθυλάκια ή ακύρωση του κύκλου) Βέβαια, ο περιορισμός που υφίσταται είναι ότι πολλές φορές γυναίκες με χαμηλές τιμές AMH καταλήγουν να έχουν καλή απάντηση στη διέγερση και επίτευξη εγκυμοσύνης. Συμπερασματικά, η AMH είναι ένα πολλά υποσχόμενο τεστ αλλά είναι πιο πιθανό να είναι χρήσιμο γενικά σε γυναίκες που υποβάλλονται σε IVF και σε γυναίκες με μεγάλο κίνδυνο για ελαττωμένες ωθητικές εφεδρείες, ενώ δεν φαίνεται να ωφελούνται γυναίκες με χαμηλό κίνδυνο. η μέτρηση της AMH δεν προτείνεται σαν προληπτικό τεστ (screening test) (Practise Committee, 2012).

Ο αριθμός των κοιλοτικών ωοθυλακίων ορίζεται ως το σύνολο των κοιλοτικών ωοθυλακίων και στις δύο ωοθήκες μετά από μέτρηση με διακολπικό υπερηχογράφημα κατά την πρώτη ωοθυλακική φάση του κύκλου. Οι περισσότερες μελέτες τα ορίζουν ως ωοθυλάκια με μέση διάμετρο 2-10mm, ενώ σε κάποιες άλλες με μέση διάμετρο 3-8mm. Ως μέτρηση φαίνεται ότι έχει καλή επαναληψιμότητα στον ίδιο κύκλο αλλά και όταν εφαρμόζεται από δύο διαφορετικούς παρατηρητές (Practise Committee, 2012).

Στην πραγματικότητα, η μέτρηση του AFC είναι η πιο συχνά χρησιμοποιούμενη μέθοδος αξιολόγησης των ωοθηκικών εφεδρειών εξαιτίας του χαμηλού κόστους της και της ευκολίας στη μέτρηση (La Marca et al, 2011). Αρκετές μελέτες που περιελάμβαναν ιστολογική έκθεση σε παρασκευάσματα ωοθηκών έδειξαν ότι ο αριθμός των κοιλοτικών ωοθυλακίων είναι ανάλογος με τον αριθμό των αρχέγονων ωοθυλακίων και ότι ο αριθμός τους μειώνεται με τον ίδιο τρόπο που μειώνεται και ο αριθμός των αρχέγονων ωοθυλακίων (Hansen K et al, 2011; Faddy et al, 1992; Block, 1952) Με αυτή τη λογική, η μέτρηση του AFC προσφέρει σημαντικές πληροφορίες σχετικά με τη «γήρανση» των ωοθηκών αλλά και μπορεί να μας βοηθήσει να προβλέψουμε την ηλικία της εμμηνόπαυσης- το τέλος της αναπαραγωγικής ζωής της γυναίκας. Στην κλινική πράξη, το AFC αποτελεί έναν δείκτη απάντησης της ωοθήκης στην διέγερση με γοναδοτροφίνες (La Marca et al, 2011)

Η αξία του στην εξωσωματική θεραπεία έχει αποδειχθεί επανειλημμένα. Το AFC αποτελεί πολύ καλό δείκτη πρόβλεψής της πτωχής ωοθηκικής απάντησης με ευαισθησία που κυμαίνεται από 9- 95% και ειδικότητα από μεταξύ 40-97%. Για την πρόβλεψη της μη επίτευξης εγκυμοσύνης, η ευαισθησία του AFC είναι μεταξύ 7- 60% και η ειδικότητα μεταξύ 33- 98% (Hendriks et al, 2005). Σε γυναίκες με υψηλό

κίνδυνο για μειωμένες ωοθηκικές εφεδρείες ένα χαμηλό όριο AFC (3-4 ωοθυλάκια) είναι αρκετά ειδικό (73-100%), αλλά όχι τόσο ευαίσθητο (9-73%) για πτωχή ωοθηκική απάντηση. Το ίδιο όριο είναι μετρίως ειδικό για την αδυναμία επίτευξης εγκυμοσύνης (64-100%) αλλά η ειδικότητα του είναι χαμηλή (8-33%) (Practise Committee, 2012). Όταν συγκρίθηκε με την FSH ως δείκτης, φάνηκε η ανωτερότητα του για την πρόβλεψη της πτωχής απάντησης (Hendriks et al, 2005). Αντίθετα, όταν το AFC συγκρίθηκε με την AMH ως προς της ικανότητα πρόβλεψης της πτωχής απάντησης δεν φάνηκε στατιστικά σημαντική διαφορά (Broer et al, 2011)

Επιπρόσθετα, έως πρόσφατα δεν υπήρχε σημείο αναφοράς για το ποιες τιμές του AFC θεωρούνται φυσιολογικές. Έχουν όμως δημοσιευτεί δύο μεγάλες μελέτες στις οποίες έγινε προσπάθεια να οριστούν φυσιολογικές τιμές του AFC. Στη μελέτη των La Marca et al, τα αποτελέσματα από 362 προ-εμμηνοπαυσιακές ασθενείς (χωρίς αποδεδειγμένη γονιμότητα) επεξεργάστηκαν στατιστικά. Προέκυψε γραμμική μείωση των ωοθυλακίων με την ηλικία κατά 0,4 και καταρτίστηκε πίνακας φυσιολογικών τιμών. (La Marca et al, 2011) Από την άλλη, οι Almong et al, σε μία αναδρομική μελέτη περιέλαβαν 1866 γυναίκες (από την οποία εξαιρέθηκαν γυναίκες με πολυκυστικές ωοθήκες) ώστε να δημιουργήσουν ένα νορμόγραμμα φυσιολογικών τιμών. Αναφέρουν λοιπόν, ότι η μείωση των κοιλωτικών ωοθυλακίων ακολουθεί διφασικό πρότυπο με μια φάση ταχείας μείωσης και μία φάση πιο αργής μείωσης. (Almog et al, 2011) Οι δύο πίνακες παρατίθενται αυτούσιοι στο παράρτημα (πίνακας 2 και 3).

Έχει αποδειχθεί ότι η σχέση της AMH και του AFC με τον αριθμό ωοθυλακίων που συλλέγονται μετά από διέγερση είναι ισχυρή αλλά και ότι αναμένεται να μπορούν να προβλέψουν την πτωχή ωοθηκική απάντηση αλλά και το σύνδρομο υπερδιέγερσης ωοθηκών (OHSS). Εξαιτίας των περιορισμών που φέρουν και οι δύο μέθοδοι θα περίμενε κανείς να επικρατήσει τελικά η μια. (Nelson, 2013) Σε μια μετα-ανάλυση η οποία περιέλαβε 5,705 ασθενείς δείχθηκε ότι τόσο το AFC όσο και η AMH έχουν υψηλή προβλεπτική αξία για την πτωχή ωοθηκική απάντηση (<4

ωοθυλάκια <12mm) ενώ η FSH έχει μέτρια προβλεπτική αξία. Παρ' όλα αυτά, την καλύτερη προβλεπτική αξία έχει ο συνδυασμός της ηλικίας με το AFC και την AMH, ενώ η προσθήκη της FSH στο μοντέλο δεν πρόσθεσε κάτι επιπλέον. Όσον αφορά την προβλεπτική αξία για την επίτευξη κύησης, ούτε η AMH ούτε το AFC φάνηκε να είναι χρήσιμα ως εργαλεία (Broer S et al, 2013).

ΚΛΙΝΙΚΗ ΑΞΙΑ ΤΩΝ ΤΕΣΤ ΩΟΘΗΚΙΚΩΝ ΕΦΕΔΡΕΙΩΝ

Η κλινική αξία αυτών των τεστ περιλαμβάνει δύο σκέλη. Στο ένα άκρο τοποθετείται η ικανότητα πρόγνωσης. Όπως εκτεταμένα συζητήθηκε πιο πάνω, χαμηλές τιμές AMH και το AFC έχουν ισχυρή προβλεπτική αξία για την πτωχή απάντηση στη διέγερση. Επιπλέον, όμως, υψηλές τιμές έχουν προβλεπτική αξία για αυξημένο κίνδυνο για το σύνδρομο υπερδιέγερσης των ωοθηκών. Σε μια πρόσφατη μετα-ανάλυση 11 μελετών δείχθηκε ότι η AMH έχει 40-95% ευαισθησία και 31-96% ειδικότητα για την πρόβλεψη της υπερβολικής απάντησης των ωοθηκών στις γοναδοτροφίνες- συνολικά η ευαισθησία του τεστ ήταν 82% και η ειδικότητα 76%. Παρόμοια, για το AFC η ευαισθησία κυμαίνεται μεταξύ 20-94% και η ειδικότητα μεταξύ 33-98%. Συνολικά, η ευαισθησία υπολογίστηκε στο 82% και η ειδικότητα 80%. Στατιστικά, δεν φάνηκε σημαντική διαφορά ανάμεσα στην απόδοση των δύο τεστ, αν και από την καμπύλη ROC φάνηκε ότι το AFC έχει ελαφρώς καλύτερη απόδοση (Broer et al, 2011b).

Από τη άλλη, αυτά τα τεστ θα μπορούσαν να είναι χρήσιμα ως βιοδείκτες για την εξατομίκευση της δόσης των γοναδοτροφινών σε γυναίκες που υποβάλλονται σε διέγερση. Καθώς χορηγούμε εξωγενώς FSH, ο αριθμός των ωοθυλακίων που θα διεγερθούν είναι ανάλογος με τον αριθμό των ωοθυλακίων που είναι διαθέσιμα και ευαίσθητα στην FSH εκείνη τη χρονική στιγμή. Συνεπώς, γυναίκες με αυξημένες

ωθητικές εφεδρείες θα υπεραπαντήσουν, ενώ γυναίκες με χαμηλές εφεδρείες δεν θα ανταποκριθούν τόσο καλά ή θα απαιτήσουν μεγαλύτερες δόσεις. Βήματα έχουν γίνει προς την κατεύθυνση της εξατομίκευσης της δόσης των γοναδοτροφινών αλλά ακόμα φαίνεται ότι η έρευνα είναι σε πρώιμα στάδια. Τέλος ο Nelson προτείνει μια στρατηγική θεραπευτικής προσέγγισης ανάλογα με τα αποτελέσματα των τεστ αυτών. (Nelson S, 2013)



Τροποποίηση από Nelson S, 2013

ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟ

Σκοπός της μελέτης

Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι η σύγκριση των επιπέδων της ΑΜΗ ανάμεσα σε γυναίκες με β-Θαλασσαιμία και υγιείς γυναίκες

Συγκεκριμένα σκοπός της μελέτης είναι να συγκρίνει την ΑΜΗ μαζί με τα υπόλοιπα τεστ ωθητικών εφεδρειών σε γυναίκες με υπογοναδοτροφικό υπογοναδισμό και μεσογειακή αναιμία και σε γυναίκες με φυσιολογική ωθητική λειτουργία.

Επιλογή ασθενών

Στη μελέτη εισάγονται γυναίκες ασθενείς με β-θαλασσαιμία οι οποίες προσέρχονται στη Μονάδα Υποβοηθούμενης Αναπαραγωγής (ΜΥΑ) του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Λάρισας και κατηγοριοποιούνται στην «ομάδα 1». Από την «ομάδα 1» αποκλείονται γυναίκες που φέρουν γνωστές γενετικές ανωμαλίες πέραν της β-θαλασσαιμίας. Επίσης, στη μελέτη εισάγονται γυναίκες οι οποίες προσέρχονται στη ΜΥΑ λόγω ανδρικής υπογονιμότητας ή σαλπινγικού παράγοντα για τις οποίες έχουν αποκλειστεί άλλα αίτια υπογονιμότητας και κατηγοριοποιούνται ως «ομάδα 2». Από τη μελέτη αποκλείονται γυναίκες οι οποίες πάσχουν από άλλο νόσημα που επηρεάζει τη γονιμότητα. Συνοπτική παρουσίαση των παραπάνω γίνεται στον **πίνακα 2**.

Σχεδιασμός της μελέτης

Η μελέτη αυτή είναι μελέτη προοπτική μελέτη σύγκρισης των δύο ομάδων.

Μεθοδολογία

- [1] Όλοι οι ασθενείς που προσέρχονται στη ΜΥΑ ελέγχονται για την ύπαρξη κριτηρίων αποκλεισμού.
- [2] Οι εναπομείναντες ασθενείς κρίνονται ως εν δυνάμει συμμετέχοντες στη μελέτη και ζητείται συγκατάθεση
- [3] Από τους τελικά συμμετέχοντες στη μελέτη ζητείται λεπτομερές ιατρικό ιστορικό
- [4] Τη δεύτερη μέρα του κύκλου οι ασθενείς προσέρχονται στη ΜΥΑ όπου πραγματοποιείται διακολπικός υπέρηχος των έσω γεννητικών οργάνων για να ελεγχθεί ο αριθμός των κοιλοτικών ωοθυλακίων και λαμβάνεται δείγμα αίματος το οποίο τοποθετείται σε φιαλίδιο συλλογής ορού το οποίο περιέχει επιταχυντή πήξεως.
- [5] Το δείγμα αίματος φυγοκεντρείται άμεσα στις 3,000 στροφές για 15' λεπτά. Απομακρύνεται ο ορός, τοποθετείται σε ειδικά φιαλίδια τύπου erpendorf και στη συνέχεια καταψύχεται στους -20°C.

Επεξεργασία δειγμάτων

Η επεξεργασία των δειγμάτων θα γίνει με τη βοήθεια της μεθόδου Elisa

Στατιστική επεξεργασία αποτελεσμάτων

Η στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων θα γίνει με τη βοήθεια του στατιστικού πακέτου SPS S V.20

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Στη μελέτη συμμετείχαν συνολικά 46 ασθενείς. Οι 12 κατατάχθηκαν στη «ομάδα 1» ως πάσχοντες από β- Θαλασσαιμία και 36 κατατάχθηκαν στην «ομάδα 2» ως υγιείς μάρτυρες. Στα δείγματα ορού που συλλέχθηκαν εφαρμόστηκε η τεχνική Elisa για τη μέτρηση των τιμών της AMH, FSH, φερριτίνης, CRP. Τα βασικά δημογραφικά χαρακτηριστικά και τα αποτελέσματα των μετρήσεων στον ορό των ασθενών αυτών φαίνονται στον παρακάτω πίνακα:

	Controls (36)	Cases(12)
Age	35,58±4,49	37,66± 2,01
BMI	24,07± 4,35	21,59± 2,71
AMH	23,26± 18,75	7,04± 2,95
AFC	12± 6	7± 3
FSH	6,55± 2,4	5,92± 3
Φερριτίνη	69,91±37,26	1787±546

Ακολούθησε στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων με τη βοήθεια του στατιστικού πακέτου SPSS V.20. Αρχικά, για τα δεδομένα εφαρμόστηκαν οι αρχές

[29]

της περιγραφικής στατιστικής και αυτά εκφράζονται ως μέση τιμή \pm τυπική απόκλιση όπως φαίνεται στον παραπάνω πίνακα. Στη συνέχεια ελέγχθηκε η κανονικότητα των δεδομένων με το Shapiro- Wilk W test. Φάνηκε ότι οι τιμές της AMH, της FSH, του AFC και της φερριτίνης δεν ακολουθούν κανονική κατανομή. Έγινε μετατροπή των δεδομένων ώστε να ακολουθούν κανονική κατανομή και ελέγχθηκε η ύπαρξη στατιστικά σημαντικής διαφοράς ανάμεσα στις τιμές των δύο ομάδων. Από την ανάλυση προέκυψε ότι στατιστικά σημαντική διαφορά προκύπτει ανάμεσα στις τιμές της AMH και του AFC στις δύο ομάδες. ($p= 0.01$ και $p=0,039$) Δεν προκύπτει στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα στην τιμή της FSH ανάμεσα στις δύο ομάδες ($p=0.258$).

Επίσης, έγινε προσπάθεια να βρεθεί ο συντελεστής συσχέτισης μεταξύ διαφόρων ομάδων δεδομένων ώστε να προκύψει κάποιο συμπέρασμα σχετικά με τη σχέση τους. Για το σκοπό αυτό χρησιμοποιήθηκε το Pearson's test και το Spearman's test όπου αυτό κρίθηκε απαραίτητο. Τα αποτελέσματα που προέκυψαν συνοψίζονται στον παρακάτω πίνακα.

	Ομάδα 1		Ομάδα 2	
	r	P value	r	P value
AMH- Age	-0.576	0.05	-0.337	0.038
AFC- Age	-0.281	0.377	-0.112	0.514

FSH- Age	-0.784	0.03	0.343	0.040
AMH- Ferritin	0.238	0.456	0.543	0.001
AFC- Ferritin	0.186	0.562	0.153	0.374
FSH- Ferritin	-0.245	0.442	-0.081	0.640
AFC- AMH	0.651	0.22	0.532	0.01

Από την επεξεργασία αυτή των δεδομένων προκύπτει στατιστικά σημαντική σχέση μεταξύ της τιμής της AMH και της ηλικίας της ασθενούς αλλά και της FSH και της ηλικίας της ασθενούς. Τέλος, φαίνεται ότι υπάρχει γραμμική σχέση μεταξύ της τιμής της AMH και του AFC.

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Καθώς η επιβίωση των γυναικών με β-θαλασσαιμία τα τελευταία χρόνια έχει αυξηθεί σημαντικά λόγω της βελτίωσης των συνθηκών μετάγγισης αλλά και της θεραπείας αποσιδήρωσης, η αναπαραγωγική υγεία αρχίζει και αποτελεί μείζον πρόβλημα. Φαίνεται ότι ο υπογοναδοτροφικός υπογοναδισμός λόγω υπερφόρτωσης με σίδηρο αποτελεί την πιο συχνή ενδοκρινοπάθεια (Safarinejad MR, 2010) Έχουν αναφερθεί περισσότερες από 350 περιπτώσεις γυναικών οι οποίες κατάφεραν να συλλάβουν είτε αυτόματα είτε με πρόκληση ωοθυλακιορρηξίας με τη χορήγηση γοναδοτροφινών (Skordis et al, 2004) Παρ' όλα αυτά, δεν έχει ακόμα διαπιστωθεί αν η υπογονιμότητα στις γυναίκες αυτές οφείλεται στη μη λειτουργικότητα του υποθαλάμου ή και στην ίδια τη βλάβη των ωοθηκών. (Safarinejad MR, 2010; Bajoria and Chetterjee, 2009; De Scantis et al, 1998)

Αρχικά, από τα δεδομένα μας προκύπτει ότι υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των τιμών της AMH ανάμεσα στις γυναίκες με β-θαλασσαιμία και στις γυναίκες μάρτυρες ($p=0.01$) Ακόμη και το AFC φαίνεται να είναι μειωμένο σε ασθενείς με β-θαλασσαιμία ($p=0.039$). Φυσικά γνωρίζουμε ότι η AMH αποτελεί πολύ καλό δείκτη πρόβλεψης των ωοθηκικών εφεδρειών και της μετάβασης στην εμμηνόπαυση (van Rooji et al, 2005; Pavlik et al, 2000). Επίσης υπάρχει συσχέτιση μεταξύ της τιμής της AMH και του AFC (Knauff et al, 2009). Αυτό επιβεβαιώνεται και από τα δικά μας αποτελέσματα. Ο μικρότερος αριθμός κολοτικών ωοθυλακίων αλλά και η χαμηλότερη τιμή της AMH μας οδηγούν στο συμπέρασμα ότι στις γυναίκες αυτές εξαντλούνται ταχύτερα οι ωοθηκικές εφεδρείες.

Τελικά, η ωοθήκη δεν παραμένει ανέπαφη από την υπερφόρτωση με σίδηρο. Σε προηγούμενη μελέτη έχει δειχθεί ότι μετά από ιστολογική εξέταση παρασκευασμάτων ωοθήκης νεαρών εφήβων διαπιστώθηκε εναπόθεση σιδήρου. (Costin et al, 1979) Επίσης, έχει αναφερθεί ότι στο ωοθυλακικό υγρό πολυμεταγγιζόμενης ασθενούς με β-θαλασσαιμία που υποβλήθηκε σε

εξωσωματική γονιμοποίηση βρέθηκαν αυξημένες τιμές σιδήρου και φερριτίνης σε σύγκριση με το ωοθυλακικό υγρό φυσιολογικών γυναικών. Επιπλέον, το υγρό αυτό αποδείχθηκε ότι είχε μεγάλο οξειδωτικό δυναμικό (Reubinoff et al, 1995). Επιπλέον, έχει δειχθεί ότι η αύξηση των ελευθέρων ριζών και η μείωση των αντιοξειδωτικών ουσιών επιταχύνουν την «γήρανση» της ωοθήκης. (Tatone et al, 2008; Tarrin, 1996)

Ο Chang και συνεργάτες, συγκρίνοντας τα αποτελέσματα της τιμής της AMH σε γυναίκες με β-θαλασσαιμία και της τιμής της φερριτίνης στο αίμα έδειξαν ότι υπάρχει αντιστρόφως ανάλογη σχέση ($r=-0.929$ $p=0.036$). Επιπλέον, όταν έλαβαν και ως παράμετρο στη σχέση αυτή και την ηλικία της γυναίκας, η σχέση αυτή παρέμεινε στατιστικά σημαντική ($r=-0.393$, $p= 0.039$). Δυστυχώς στα δικά μας αποτελέσματα δεν φάνηκε κάποια τέτοια σχέση. (Chang et al, 2011)

Σε μια ακόμα μελέτη στην οποία συγκρίθηκαν οι ωοθηκικές εφεδρείες γυναικών με β-θαλασσαιμία, που είτε είχαν υπογοναδοτροφικό υπογοναδισμό και αμηνόρροια είτε είχαν κανονικό κύκλο, φάνηκε ότι τα επίπεδα της AMH και του AFC δεν διέφεραν σημαντικά. Όμως, φάνηκε σαφής συσχέτιση της AMH και του ελεύθερου στο πλάσμα σιδήρου. Η παρουσία αμηνόρροιας στις γυναίκες αυτές δεν φάνηκε να σχετίζεται με τον ελεύθερο σίδηρο αλλά με τον σίδηρο στο μυοκάρδιο, τις συνοδές ενδοκρινοπάθειες και το χρονικό διάστημα που μεταγγίζονταν. Φαίνεται, λοιπόν ότι ο ελεύθερος σίδηρος είναι αυτός που προκαλεί τη βλάβη στις ωοθήκες (Singer et al, 2011)

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Εν κατακλείδι, φαίνεται ότι οι γυναίκες με ομόζυγη β-θαλασσαιμία εμφανίζουν κάποια στιγμή στη ζωή τους παθολογικά αμηνόρροια. Μέχρι πρόσφατα πιστεύαμε ότι η μόνη αιτία υπογονιμότητας στις γυναίκες αυτές είναι η υπερφόρτωση της υπόφυσης με σίδηρο. Όλες οι πρόσφατες μελέτες, όμως, συνηγορούν υπέρ βλάβης των ωοθηκών από τις ελεύθερες ρίζες οξυγόνου, που δημιουργεί ο ελεύθερος σίδηρος, όταν εναποτίθεται σε αυτές. Συνεπώς, φαίνεται ότι εξαντλούνται ταχύτερα οι ωοθηκικές τους εφεδρείες. Φυσικά δεν πρέπει να ξεχνάμε ότι οι γυναίκες αυτές μπορούν να επιτύχουν κύηση είτε αυτόματα είτε μετά από διέγερση με γοναδοτροφίνες- μια κύηση υψηλού κινδύνου λόγω της συνοσηρότητας που προκαλεί η χρόνια αναιμία. Αυτό που πρέπει να θέσουμε ως στόχο, λοιπόν, είναι η βελτίωση της θεραπείας αποσιδήρωσης αλλά και η σωστότερη συμβουλευτική και οικογενειακός προγραμματισμός.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Al Rimawi H.S, Jallad M.F, Amarin Z.O, Obeidat B.R. Hypothalamic-pituitary- gonadal function in adolescent females with beta- thalassemia major. *Int J Obstet Gynaecol.* 2005; 90: 44- 47
2. Almog B, Shehata F, Shalom- Paz E, Lin Tan S, Tulandi T, Age- related normogram for antral follicle count: Mc Gill reference guide. 2011; 95(2) 663 -666
3. Bajoria R, Chatterjee R. Current perspectives of fertility and pregnancy in thalassemia. *Hemoglobin* 2009; 33(S1): 131–5
4. Block E. Quantitative morphological investigations of the follicular system in women; variations at different ages. *Acta Anat* 1952;14 :108–23.
5. Broekmans FJ, Visser JA, Laven JS, Broer SL, Themmen AP, Frauser BC. Anti-Mullerian hormone and ovarian dysfunction. *Trends Endocrinol Metab.* 2008; 19(9): 340- 7
6. Broer S, van Disseldorp J, Broeze K, Dolleman M, Opmeer B, Bossuyt P, Eijkemans M, Mol BW, Broekmans F. Added value of ovarian reserve testing in the prediction of ovarian response and ongoing pregnancy an individual patient data approach. *Hum Reprod Update.* 2013; 19 (1): 26-36
7. Broer SL, Ben Willem JM, Hendriks D, Broekmans FJ. The role of antimullerian hormone in prediction of outcome after IVF: comparison with the antral follicle count. *Fertil Steril* 2009; 91(3): 705-714
8. Chang HH, Chen MJ, Lu MY, Chern JPS, Lu CY, Yang YL, et al. Iron overload is associated with low anti- Mullerian hormone in transfusion dependent β -thalassemia. *BJOG.* 2011; 118:825–831

9. Costin G, Kogut MD, Hyman CB, Ortega JA. Endocrine abnormalities in thalassemia major. *Am J Dis Child.* 1979; 133:497–502.
10. De Domenico I, McVey D, Kaplan W, Kaplan J. Regulation of iron acquisition and storage: consequences of iron-linked disorders. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 2008; 9: 72-8
11. De Sanctis V, Vullo C, Katz M, Wonke B, Tanas R, Bagni B. Gonadal function in patients with beta thalassaemia major. *J Clin Pathol.* 1998; 41:133–7
12. De Sanctis V. Growth and puberty and its management in thalassemia. *Horm Res.* 2002; 58 (S1):72-9
13. Domingues T, Rocha A, Serafani P. Tests for ovarian reserve: reliability and utility. *Curr Opin Obstet Gynaecol.* 2010; 22: 271-276
14. Durlinger AL, Gruijters MJ, Kramer P, Karels B, Ingraham HA, Nachtigal MW, et al. Anti-Mullerian hormone inhibits initiation of primordial follicle growth in the mouse ovary. *Endocrinology.* 2001; 143:1076–1084.
15. Durlinger AL, Gruijters MJ, Kramer P, Karels B, Kumar TR, Matzuk MM, et al. Anti-Mullerian hormone attenuates the effects of FSH on follicle development in the mouse ovary. *Endocrinology.* 2002; 142:4891–9
16. Durlinger AL, Kramer P, Karels B, de Jong FH, Uilenbroek JT, Grootegoed JA, et al. Control of primordial follicle recruitment by anti-Mullerian hormone in the mouse ovary. *Endocrinology.* 1999; 140:5789–96.
17. Esposito MA, Coutifaris C, Barnhart KT. A moderately elevated day 3 FSH concentration has limited predictive value, especially in younger women *Hum Reprod* 2002; 17: 118–23.

18. Faddy MJ, Gosden RG, Gougeon A, Richardson SJ, Nelson JF. Accelerated disappearance of ovarian follicles in mid-life: implications for forecasting menopause. *Hum Reprod* 1992; 7:1342–6.
19. Fleming R and Bacon B. Orchestration of iron homeostasis. *N Engl J Med*. 2005; 352 (17): 1741- 1744
20. Gruijters M, Visser A, Durlinger A, Themmen A. Anti- Mullerian hormone and its role in ovarian function. *Mol Cell Endocrinol* 2011; 211: 85-90
21. Hendriks D, Ben-Willem M, Laszlo B, te Velde E, Broekmans F. Antral follicle count in the prediction of poor response and pregnancy after in vitro fertilization: meta- analysis and comparison with basal follicle- stimulating hormone level. *Fertil Steril* 2005; 83(2): 291-301
22. Hirobe S, He WW, Gustafson ML, MacLaughlin DT, Donahoe PK. Mullerian inhibiting substance gene expression in the cycling rat ovary correlates with recruited or graafian follicle selection. *Biol Reprod* 1994; 50:1238–1243
23. Ingraham H, Hirokawa Y, Roberts L.M, Mellon S.H, McGee E, Nachtigal M et al,. Autocrine and paracrine Müllerian inhibiting substance hormone signaling in reproduction. *Recent Prog Horm. Res.* 2000; 55, 53–67
24. Josso N, di Clemente N, Gouédard L. Anti- Mullerian hormone and its receptors. *Mol Cell Endocrinol* 2001; 179 (1-2):25-32
25. Knauff, E.A. Knauff EA, Eijkemans MJ, Lambalk CB, ten Kate-Booij MJ, Hoek A, Beerendonk CC, et al. Anti-Mullerian hormone, inhibin B, and antral follicle count in young women with ovarian failure. *J Clin Endocrinol Metab.* 2009; 94: 786–792.
26. Kohgo Y, Ikuta K, Ohtake T, Torimoto Y, Kato J. Body iron metabolism and pathophysiology of iron overload. *Int J Hematol* 2008; 88: 7-15

[37]

27. La Marca A, Broekmans FJ, Volpe A, Frauser BC, Macklon NS. Anti-Mullerian hormone (AMH): what do we still need to know? *Hum Reprod* 2009; 24 (9): 2264- 2275
28. La Marca A, Spada E, Sighinofi G, Argento C, Tirelli A, Giulini S, et al. Age-specific normogram for the decline in antral follicle count throughout the reproductive period. *Fertil Steril* 2011; 95 (2): 684- 88
29. Massie J, Burney R, Milki A, Westphal L, Lathi R. Basal follicle- stimulating hormone as a predictor of fetal aneuploidy. *Fertil Steril* 2008; 90(6): 2351-5
30. Munsterberg A, Lovell-Badge R. Expression of the mouse anti-Mullerian hormone gene suggests a role in both male and female sexual differentiation. *Development* 1991; 113: 613–624.
31. Nelson S. Biomarkers of ovarian response: current and future applications. *Fertil Steril* 2013; 99 (4): 963- 969
32. Olivieri N. The beta thalassemyas *N Engl J Med*. 1999; 341 (2): 99- 109
33. Origa R, Piga A, Quarta G, Forni GL, Longo F, Melpignano A et al, Pregnancy and b- thalassemya: an Italian multicenter experience. *Hematologica*. 2009; 95(3): 376- 381
34. Pavlik, E.J, DePriest PD, Gallion HH, Ueland FR, Reedy MB, Kryscio RJ. et al. Ovarian volume related to age. *Gynecol Oncol*. 2000; 77: 410–412.
35. Practice committee of the American Society of Reproductive medicine. Testing and interpreting measures of ovarian reserve: a committee opinion. *Fertil Steril* 2012; 98(6) 1407- 1415
36. Rajpert- De Mayts E, Jorgensen N, Graem N, Muller J, Gate RL, Skakkebaek NE. Expression of anti- mullerian hormone during normal and pathological

[38]

gonadal development: association with differentiation of Sertoli and granulosa cells. *J Endocrinol Metab.* 1999; 84: 3836-44

37. Reubinoff B, Har- El R, Kitrossky N, Friedler S, Levi, R, Lewin A, et al. Increased levels of redox- active iron in follicular fluid: A possible cause of free radical- mediated infertility in β -thalassemia. *Am J Obstet Gynecol* 1996; 174(3): 914- 918
38. Riggs R, Duran H, Baker m, Kimble T, Hobeika E, Yin L, Matos- Boden I, Leader B, Stadtmauer L. Assessment of ovarian reserve with anti- Mullerian hormone: a comparison of the predictive value of anti- Mullerian hormone, follicle stimulating hormone, inhibin b, and age. *Am J Obstet Gynecol.* 2008; 199: 201.e1- 202.e2
39. Safarinejad MR. Reproductive hormones and hypothalamic- pituitary- ovarian axis in female patients with homozygous b-thalassemia major. *J Pediatr Hematol Oncol.* 2010; 32(4): 259- 266
40. Salmon NA, Handyside AH, Joyce IM. Oocyte regulation of anti-Mullerian hormone expression in granulosa cells during ovarian follicle development in mice. *Dev Biol* 2004; 266:201–208
41. Singer S, Vichinsky, E, Gildengorin G, van Disseldorp, Rosen M, Cedars M. Reproductive capacity in iron overloaded women with thalassemia major *Blood* 2012; 118 (10): 2878-2881
42. Skordis N, Petrikkos I, Toumba M, Hadjigavriel M, Sitaratou M, Kolnakou A, et al. 2004. Update on fertility in thalassemia major. *Pediatric Endocrinol Rev.* 2004; 2(s2):296- 302
43. Skordis N. Endocrine investigation and follow up in thalassaemia. Time for specific guidelines. *Thalassemia Reports.* 2011; 1(S2):e22

[39]

44. Tarin JJ. Potential effects of age-associated oxidative stress on mammalian oocytes/embryos. *Mol Hum Reprod*. 1996; 2(10):717-724.
45. Tarin, J. Potential effects of age-associated oxidative stress on mammalian oocytes/embryos. *Mol Hum Reprod*. 1996; 2: 717–724.
46. Tatone C, Amicarelli F, Carbone MC, Monteleone P, Caserta D, Marci R, et al. Cellular and molecular aspects of ovarian follicle ageing. *Hum Reprod Update* 2008; 14: 131–142.
47. Te Velde ER, Pearson PL. The variability of female reproductive ageing. *Hum Reprod Update*. 2002; 8: 141-54
48. Thalassaemia International Federation. Epidemiology of thalassaemia. Available at: <http://www.thalassaemia.org.cy/epidemiology/>
Accessed: 4 September 2013
49. Thum M, Abdalla H, Tavior D. Relationship between women's age and basal follicle- stimulating hormone levels with aneuploidy risk in in vitro fertilization treatment. *Fertil Steril* 2008; 90(2): 315-21
50. Ueno S, Kuroda T, Maclaughlin DT, Ragin RC, Manganaro TF, Donahoe PK. Mullerian inhibiting substance in the adult rat ovary during various stages of the estrous cycle. *Endocrinology* 1989;125: 1060–1066.
51. Van Loendersloot L, van Wely m, Limpens J, Bossuyt P, Repping S, van der Veen F. Predictive factors in in vitro fertilization (IVF): a systematic review and meta- analysis. *Hum Reprod Update* 2010; 16(6): 577- 589
52. van Rooij, I.A, van Rooij IA, Broekmans FJ, Scheffer GJ, Looman CW, Habbema JD. et al. Serum anti-Mullerian hormone levels best reflect the reproductive decline with age in normal women with proven fertility: a longitudinal study. *Fertil Steril*. 2005; 83: 979–987.

53. Weenen C, Laven JS, Von Bergh AR, Cranfiels M. Groom NP, Visser JA et al. Anti- Mullerian hormone expression pattern in the human ovary: potential implications for initial and cyclic follicle recruitment. *Mol Hum Reprod.* 2004; 10: 200-14
54. Yang DZ, Yang W, Li Y, Zuanyu H., Progress in understanding human ovarian folliculogenesis and its implications in assisted reproduction. *J Assist Reprod Genet* 2013; 30: 213- 219

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

ΠΙΝΑΚΑΣ 1

Κληρονομική αιμοχρωμάτωση και συναφείς διαταραχές	
Κληρονομική αιμοχρωμάτωση	
Μετάλλαξη στο γονίδιο για τη φερριτίνης	
Μετάλλαξη στο γονίδιο για το DMT1	
Μετάλλαξη στο γονίδιο για τη σερουλοπλασμίνη	
Ατρανσφεριναιμία	Οφείλεται σε μετάλλαξη του γονιδίου της τρανσφερρίνης
Δευτεροπαθής υπερφόρτωση με σίδηρο	
Μη αποδοτική ερυθροποίηση	Θαλασσαιμίες, σιδηροβλαστική αναιμία, μυελοδυσπλαστικά σύνδρομα

Εξωγενής χορήγηση σιδήρου	Per os ή ενδοφλέβια
Πολύ-μεταγγιζόμενοι ασθενείς	
Αυξημένη διαιτητική πρόσληψη σιδήρου	
Ηπατική βλάβη	Αλκοολική κίρρωση, χρόνια ηπατίτιδα (HCV), Μη αλκοολική στεατοηπατίτιδα
Άλλα	Πορφυρία

Τροποποίηση από Kohgo et al. 2008. Body iron metabolism and pathophysiology of iron overload. Int J Hematol 88: 7-15

ΠΙΝΑΚΑΣ 2

ΝΟΡΜΟΓΡΑΜΜΑ ΓΙΑ ΤΟ AFC (LA MARCA ET AL, 2011)

Values of 5th, 25th, 50th, 75th, and 95th centiles as a function of age.					
Age (y)	5th	25th	50th	75th	95th
16	6.2	11.6	16.6	22.6	33.2
17	6.0	11.4	16.2	22.1	32.4
18	5.9	11.1	15.8	21.5	31.6
19	5.7	10.8	15.4	21.0	30.8
20	5.6	10.5	15.0	20.5	30.0
21	5.4	10.2	14.6	19.9	29.2
22	5.3	10.0	14.2	19.4	28.4
23	5.1	9.7	13.8	18.8	27.6
24	5.0	9.4	13.4	18.3	26.8
25	4.8	9.1	13.0	17.7	26.0
26	4.7	8.8	12.6	17.2	25.2
27	4.6	8.6	12.2	16.6	24.4
28	4.4	8.3	11.8	16.1	23.6
29	4.3	8.0	11.4	15.5	22.8
30	4.1	7.7	11.0	15.0	22.0
31	4.0	7.4	10.6	14.4	21.2
32	3.8	7.1	10.2	13.9	20.4
33	3.7	6.9	9.8	13.4	19.6
34	3.5	6.6	9.4	12.8	18.8
35	3.4	6.3	9.0	12.3	18.0
36	3.2	6.0	8.6	11.7	17.2
37	3.1	5.7	8.2	11.2	16.4
38	2.9	5.5	7.7	10.6	15.6
39	2.8	5.2	7.3	10.1	14.8
40	2.6	4.9	6.9	9.5	14.0
41	2.5	4.6	6.5	9.0	13.2
42	2.3	4.3	6.1	8.4	12.4
43	2.2	4.1	5.7	7.9	11.6
44	2.0	3.8	5.3	7.3	10.8
45	1.9	3.5	4.9	6.8	10.0
46	1.7	3.2	4.5	6.3	9.2
47	1.6	2.9	4.1	5.7	8.4
48	1.4	2.7	3.7	5.2	7.6
49	1.3	2.4	3.3	4.6	6.8

Note: The value of a centile at age t can be computed as $y = M \times (1 + \text{SDS} \times L \times S)^{-1/L}$, where M is the value of the 50th centile at age t and the SD score is the value of normal deviate. $L = 0.425$; $S = 0.490$.

La Marca. Nomogram for the AFC. Fertil Steril 2011.

[44]

ΠΙΝΑΚΑΣ 3

ΝΟΡΜΟΓΡΑΜΜΑ ΓΙΑ ΤΟ AFC (ALMOG ET AL, 2011)

The correlation between antral follicle count percentiles (3rd, 10th, 25th, 50th, 75th, 90th, 97th) and age.

Age (y)	No.	Percentile						
		3rd	10th	25th	50th	75th	90th	97th
18	4	11.6	13.4	15.2	17.1	19.1	21.2	23.4
19	3	10.6	12.5	14.5	16.6	18.8	21.1	23.4
20	3	9.6	11.6	13.7	16	18.4	20.9	23.5
21	4	8.7	10.8	13.1	15.5	18	20.7	23.5
22	4	7.9	10.1	12.4	14.9	17.6	20.5	23.5
23	5	7.1	9.4	11.8	14.4	17.3	20.3	23.4
24	17	6.4	8.7	11.2	14	16.9	20.1	23.4
25	17	5.8	8.2	10.7	13.6	16.6	19.9	23.3
26	18	5.3	7.7	10.3	13.2	16.3	19.7	23.3
27	33	4.9	7.3	9.9	12.8	16	19.5	23.2
28	42	4.6	6.9	9.6	12.5	15.8	19.3	23
29	50	4.3	6.6	9.3	12.3	15.5	19.1	22.9
30	84	4	6.3	9	12	15.3	18.9	22.7
31	94	3.8	6.1	8.7	11.7	15	18.6	22.5
32	109	3.5	5.8	8.4	11.5	14.8	18.4	22.3
33	115	3.2	5.5	8.1	11.2	14.5	18.2	22.1
34	134	2.9	5.2	7.8	10.9	14.2	17.9	21.9
35	127	2.7	4.9	7.5	10.5	13.8	17.5	21.5
36	153	2.4	4.5	7.1	10	13.3	17	20.9
37	139	2.2	4.2	6.7	9.6	12.8	16.3	20.1
38	122	2	3.9	6.3	9.1	12.1	15.6	19.2
39	141	1.8	3.6	5.9	8.5	11.5	14.8	18.3
40	125	1.6	3.4	5.5	8	10.8	13.9	17.3
41	93	1.5	3.1	5.1	7.5	10.2	13.1	16.3
42	71	1.3	2.9	4.8	7	9.5	12.3	15.4
43	56	1.2	2.6	4.4	6.6	9	11.6	14.5
44	24	1.1	2.4	4.1	6.1	8.3	10.8	13.6
45	11	0.9	2.1	3.7	5.6	7.7	10	12.5
46	6	0.8	1.9	3.3	5	6.9	9	11.3
47	4	0.7	1.6	2.9	4.4	6.1	8	10
48	4	0.5	1.4	2.5	3.7	5.2	6.8	8.6
49	2	0.4	1.1	2	3.1	4.3	5.6	7.1
50	1	0.3	0.9	1.5	2.4	3.3	4.4	5.6

Almog. Age-related nomogram for antral follicle count. Fertil Steril 2011.

ΠΙΝΑΚΑΣ 4

Ομάδα 1		Ομάδα 2	
Περιλαμβάνονται:	Γυναίκες αναπαραγωγικής ηλικίας >18 ετών	Περιλαμβάνονται:	Γυναίκες αναπαραγωγικής ηλικίας >18 ετών
	Πάσχοντες από ομόζυγη β-θαλασσαιμία		Προσερχόμενες στη ΜΥΑ λόγω ανδρικής ή σαλπινγκικής αιτιολογίας υπογονιμότητα
Αποκλείονται:	Φέρουσες άλλες γενετικές ανωμαλίες	Αποκλείονται:	Πάσχουσες από άλλο νόσημα που επηρεάζει τη γονιμότητα