

**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ**

**ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ**

**ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ**

**ΜΑΙΕΥΤΙΚΗ ΚΑΙ ΓΥΝΑΙΚΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ**

**ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ**

**ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΚΥΤΤΑΡΟΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΚΑΙ ΜΟΡΙΑΚΗΣ  
ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ**

**ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ**

**«ΒΙΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗΣ»**

**ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ**

**«ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΗ ΚΑΤΑΓΡΑΦΗ ΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑΣ  
ΠΑΙΔΙΩΝ ΓΕΝΝΗΜΕΝΩΝ ΜΕ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΗ  
ΣΥΛΛΗΨΗ ΚΑΙ ΜΕ ΜΕΘΟΔΟΥΣ  
ΥΠΟΒΟΗΘΟΥΜΕΝΗΣ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗΣ»**

**ΧΡΙΣΤΟΓΛΟΥ ΝΙΚΟΛΕΤΑ**

**ΒΙΟΛΟΓΟΣ**

**ΛΑΡΙΣΑ**

**Σεπτέμβριος 2010**

ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΟΣ ΥΠΕΥΘΥΝΟΣ ΤΟΥ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑΤΟΣ:  
ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΙΩΑΝΝΗΣ Ε. ΜΕΣΣΗΝΗΣ

**ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ**

Επιβλέπων: Βαμβακόπουλος Ν.

Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή:

Νταφόπουλος Κ.

Ανυφαντής Γ.

## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

<b>ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....</b>	<b>2</b>
<b>1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....</b>	<b>3</b>
1.1 ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΥΠΟΒΟΗΘΟΥΜΕΝΗΣ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗΣ (ART).....	3
Εξωσωματική γονιμοποίηση.....	3
Άλλες τεχνικές υποβοηθούμενης αναπαραγωγής.....	4
Κρυοσυντήρηση (Cryopreservation) – Υαλοποίηση (Vitrification).....	5
Προ-εμφυτευτική Γενετική Διάγνωση (PGD ή PID).....	6
1.2 ΥΠΟΓΟΝΙΜΟΤΗΤΑ.....	8
1.3 ΚΙΝΔΥΝΟΙ ΤΗΣ ΥΠΟΒΟΗΘΟΥΜΕΝΗΣ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗΣ.....	11
<b>2. ΚΥΡΙΩΣ ΜΕΡΟΣ.....</b>	<b>12</b>
2.1. ΠΟΛΥΔΥΜΗ ΚΥΗΣΗ – ΠΡΟΩΡΟΤΗΤΑ - ΧΑΜΗΛΟ ΒΑΡΟΣ ΓΕΝΝΗΣΗΣ.....	12
2.2. ΣΥΓΓΕΝΕΙΣ ΔΥΣΠΛΑΣΙΕΣ.....	15
2.3. ΣΩΜΑΤΙΚΗ ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΠΑΙΔΙΩΝ ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΥΠΟΒΟΗΘΟΥΜΕΝΗ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗ.....	19
2.4. ΨΥΧΟΣΩΜΑΤΙΚΗ ΚΑΙ ΝΕΥΡΟΛΟΓΙΚΗ ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΠΑΙΔΙΩΝ ΜΕΤΑ ΑΠΟ IVF ΚΑΙ ICSI.....	20
2.5. ΔΙΑΤΑΡΑΧΕΣ ΑΠΟΤΥΠΩΣΗΣ & ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΥΠΟΒΟΗΘΗΜΕΝΗΣ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΙΚΗΣ.....	21
Επιγενετικές τροποποιήσεις του γενώματος.....	21
Γονιδιακή αποτύπωση (Genomic imprinting or Chromosomal imprinting).....	21
Μονογονεϊκή δισωμία.....	23
2.6. ΑΝΩΜΑΛΙΕΣ ΑΠΟΤΥΠΩΣΗΣ - ΕΠΙΠΤΩΣΕΙΣ.....	24
I. Σύνδρομο Beckwith-Wiedemann (BWS).....	24
II. Σύνδρομο Angelman (AS).....	29
III. Σύνδρομο Prader Willi (PWS).....	32
IV. Ρετινοβλάστωμα.....	37
V. Άλλα γενετικά σύνδρομα.....	37
<b>3. ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....</b>	<b>39</b>
<b>4. ΗΘΙΚΑ ΔΙΛΗΜΜΑΤΑ.....</b>	<b>45</b>
<b>5. ΕΠΙΛΟΓΟΣ.....</b>	<b>46</b>
<b>6. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....</b>	<b>47</b>

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Περίπου 1-3% των γεννήσεων παγκοσμίως οφείλεται σε τεχνικές υποβοηθούμενης αναπαραγωγής (ART). Αν και η κλασική εξωσωματική γονιμοποίηση (in vitro fertilization, IVF) και γενικότερα η ART χρησιμοποιούνται ευρέως και θεωρούνται ασφαλείς, τελευταίες μελέτες καταγράφουν αύξηση δυσμορφιών και άλλων επιπλοκών, όπως ανωμαλίες γονεϊκής αποτύπωσης (σύνδρομα Beckwith-Wiedemann και Angelman/Prader-Willi), σε παιδιά που γεννήθηκαν με ART. Αν και η ευθεία επιβεβαίωση των παραπάνω είναι δυσχερής λόγω αφ' ενός της σπανιότητας των διαταραχών και αφ' ετέρου των διαφορών των εκάστοτε πρωτοκόλλων εξωσωματικής που δυσχεραίνουν την αντικειμενική μεταξύ τους σύγκριση, καταγραφή και αξιολόγηση, αξιόπιστες βιολογικές τεχνικές συγκλίνουν στην άποψη ότι η ART μπορεί να προκαλέσει αλλαγές στην μη γονιδιωματική (nongenomic) κληρονομικότητα του εμβρύου (σύνδρομα γονιδιακής αποτύπωσης, genomic imprinting). Μελέτες σε ζωϊκά μοντέλα απέδειξαν ότι η ART μπορεί να μεταβάλλει το πρότυπο αποτύπωσης και συγκεκριμένα το πρότυπο μεθυλίωσης του DNA και να προκαλέσει απώλεια μητρικής μεθυλίωσης ή υπομεθυλίωση του DNA. Επιπλέον ενοχοποιούνται τρεις ακόμα διαταραχές αποτύπωσης που σχετίζονται με μητρική υπομεθυλίωση, ρετινοβλάστωμα και το σύνδρομο Silver-Russell, για τα οποία υπάρχουν ανεπαρκή στοιχεία σύνδεσής τους με ART. Τα υπογόνιμα ζευγάρια και το ευρύ κοινό πρέπει να ενημερώνονται για τους πιθανούς κινδύνους της ART, ενώ απαιτείται περαιτέρω έρευνα για ακριβέστερη καταγραφή και πιθανό περιορισμό των συγγενών ανωμαλιών, της ανώμαλης αποτύπωσης και των άλλων προβλημάτων υγείας που απειλούν τα νεογέννητα.

Στην παρούσα εργασία παρουσιάζεται η τρέχουσα γνώση σχετικά με την υγεία των παιδιών που γεννήθηκαν με ART (IVF/ICSI). Γίνεται αναφορά στην περιγεννητική τους έκβαση, την εμφάνιση συγγενών δυσμορφιών, την ανάπτυξη, την εμφάνιση κακοηθειών και την παθολογική γονιδιακή αποτύπωση. Συγκριτική καταγραφή παθογένειας παιδιών που συλλαμβάνονται με AR και φυσιολογική σύλληψη από πολυκεντρικές μελέτες διεθνούς εμβέλειας, αποτελεί παγκόσμια προτεραιότητα.

# 1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

## 1.1 Τεχνικές υποβοηθούμενης αναπαραγωγής (Assisted Reproductive Techniques)

### Ιστορική αναδρομή

Το 1978, η χρονιά που γεννήθηκε στην Αγγλία το πρώτο παιδί με εξωσωματική γονιμοποίηση, «το παιδί του σωλήνα», η Louise Brown, από την ομάδα των Steptoe και Edwards, αποτέλεσε ορόσημο για χιλιάδες ζευγάρια που δεν μπορούσαν να πραγματοποιήσουν το όνειρο της ολοκλήρωσης της οικογένειάς τους. Έκτοτε, η επιστημονική εξέλιξη στον τομέα της υποβοηθούμενης αναπαραγωγής υπήρξε αλματώδης, ενώ το ίδιο συναρπαστική προμηνύεται και η συνέχεια, με την έρευνα να φωτίζει όλο και περισσότερες άγνωστες πτυχές της ανθρώπινης αναπαραγωγής και να υπόσχεται διαρκώς αποτελεσματικότερη αντιμετώπιση της υπογονιμότητας.

#### ➤ Εξωσωματική γονιμοποίηση

Η κλασική εξωσωματική γονιμοποίηση (**in vitro fertilization, IVF**) αποτελεί εξελιγμένη μέθοδο υποβοηθούμενης αναπαραγωγής, κατά την οποία η γονιμοποίηση και τα πρώτα βήματα ανάπτυξης του γονιμοποιημένου ωαρίου πραγματοποιούνται έξω από το γεννητικό σύστημα της γυναίκας, στο εμβρυολογικό εργαστήριο. Ζευγάρια υποψήφια για εξωσωματική γονιμοποίηση είναι αυτά όπου: οι σάλπιγγες της γυναίκας είναι φραγμένες ή καταστραμμένες, το σπέρμα του άνδρα παρουσιάζει σοβαρές διαταραχές, η εφαρμογή απλούστερων μεθόδων AR απέτυχε επανειλημμένα, η προχωρημένη ηλικία της γυναίκας απαιτεί υποβοήθηση με μεθόδους που αυξάνουν τα ποσοστά επιτυχίας, ή τέλος επιθυμείται η πραγματοποίηση προεμφυτευτικής γενετικής διάγνωσης ή η επίτευξη κύησης με παρένθετη μήτρα.

Η προσπάθεια εξωσωματικής γονιμοποίησης ξεκινά με έλεγχο της υγείας και τη γονιμότητας των συντρόφων, την ελεγχόμενη διέγερση των ωοθηκών με φάρμακα που προκαλούν την ανάπτυξη πολλών ωαρίων στον ίδιο κύκλο και την αναρρόφηση τους υπερηχογραφικά με βελόνη που εισέρχεται από τον κόλπο. Τα ωάρια, ύστερα από ειδική επεξεργασία καλλιεργούνται σε θρεπτικό υλικό μέσα στο οποίο προσθέτονται μερικές χιλιάδες σπερματοζωαρίων, που έχουν απομονωθεί από το σπέρμα του άνδρα. Τα σπερματοζωάρια στην IVF κινούνται μόνα τους προς τα ωάρια, τα αναγνωρίζουν και τα γονιμοποιούν. Ύστερα από 24 ώρες περίπου, γίνεται

η διαπίστωση της γονιμοποίησης και συνεχίζεται η καλλιέργεια των γονιμοποιημένων ωαρίων για ακόμη μία με πέντε ημέρες, ανάλογα με τα χαρακτηριστικά τους. Η αξιολόγηση της ποιότητας γίνεται από εμβρυολόγους και επιλέγεται η καταλληλότερη στιγμή για την μεταφορά των εμβρύων στη μήτρα. Η εμβρυομεταφορά γίνεται με λεπτό καθετήρα που εισέρχεται διακολπικά, υπό υπερηχογραφική παρακολούθηση. Τα έμβρυα τοποθετούνται στην μήτρα, όπου φυσιολογικά γίνεται η εμφύτευση. Η εγκυμοσύνη ελέγχεται δώδεκα, περίπου, ημέρες αργότερα (Cowan and Seifer, 1997).

Στο σημείο αυτό πρέπει να αναφερθεί και η ενδοκυτταροπλασματική έγχυση σπερματοζωαρίου ή αλλιώς μικρογονιμοποίηση (**intracytoplasmic sperm injection, ICSI**). Η τεχνική αυτή αποτελεί εξέλιξη της κλασικής εξωσωματικής γονιμοποίησης. Κατά την μικρογονιμοποίηση, η γυναίκα υποβάλλεται σε διαδικασία διέγερσης ωοθηκών και ωοληψίας. Η μέθοδος αυτή χρησιμοποιείται κυρίως για να ξεπεραστούν σοβαρά προβλήματα του άντρα (Williams and Sutcliffe, 2009). Κατά τη μικρογονιμοποίηση, γίνεται ενδοωαριακή έγχυση του σπερματοζωαρίου σε κάθε ώριμο ωάριο. Δηλαδή, το σπερματοζωάριο, μετά από ειδική προετοιμασία και με την βοήθεια ειδικών μικροχειριστηρίων εισάγεται στο ωάριο, υπερνικώντας, έτσι, τα φυσικά εμπόδια για την είσοδό του. Τα υπόλοιπα στάδια είναι όμοια με αυτά της κλασικής εξωσωματικής. Η ICSI, χαρακτηρίζεται από μεγάλη παρεμβατικότητα και επιστρατεύεται προκειμένου να ενισχυθούν οι πιθανότητες γονιμοποίησης. Πρέπει, όμως, να εφαρμόζεται μόνο όπου κρίνεται αναγκαία (Flemming and King, 2003).

#### ➤ Άλλες τεχνικές υποβοηθούμενης αναπαραγωγής

Οι τεχνικές αυτές αποτελούν παραλλαγές της κλασικής εξωσωματικής γονιμοποίησης, που με τα χρόνια εφαρμόζονται ολοένα και λιγότερο διότι τα αποτελέσματα από την εφαρμογή τους δεν υπερτερούν της κλασικής μεθόδου. Αρχικά αναφέρεται η ενδομήτρια σπερματέγχυση (**intrauterine insemination, IUI**). Στην ενδομήτρια σπερματέγχυση η γυναίκα παρακολουθείται υπερηχογραφικά από την έναρξη του κύκλου της μέχρι το ωοθυλάκιο, που φυσιολογικά παράγεται κάθε μήνα, να φτάσει στο στάδιο της ωορρηξίας. Τότε γίνεται λήψη και προετοιμασία του σπέρματος, διαλογή των πιο ποιοτικών και κινητικών σπερματοζωαρίων του συζύγου και τοποθέτησή τους με ειδικό καθετήρα στο εσωτερικό της μήτρας. Με την IUI παρακάμπτονται τα εμπόδια από την είσοδο του σπέρματος στην ενδομήτρια

κοιλότητα και διασφαλίζεται η ύπαρξη μεγάλου αριθμού σπερματοζωαρίων κοντά στη σάλπιγγα, όπου γίνεται η σύλληψη. Η εφαρμογή της σπερματέγχυσης προϋποθέτει διαβατότητα σαλπίγγων, απουσία εκτεταμένης βλάβης λόγω ενδομητρίωσης ή άλλων πυελικών φλεγμονών, φυσιολογικό σπερμοδιάγραμμα και φυσιολογική ωθηκική λειτουργία (Cowan and Seifer, 1997).

Στη συνέχεια αναφέρονται η σαλπγγική μεταφορά γαμετών (**gamete intra-fallopian transfer, GIFT**) και η σαλπγγική μεταφορά ζυγωτών (**zygote intra-fallopian transfer, ZIFT**). Σ' αυτές τις δύο τεχνικές, η γυναίκα ακολουθεί το τυπικό πρόγραμμα της ελεγχόμενης ωθηκικής διέγερσης, πραγματοποιείται η ωοληψία, και λίγες ώρες αργότερα στην μεν τεχνική GIFT τοποθετούνται λαπαροσκοπικά με ειδικούς μικροκαθετήρες υποβάλλεται ωάρια και σπερματοζωάρια στον αυλό της σάλπιγγας όπου γονιμοποιούνται, στην δε τεχνική ZIFT, η εξωσωματική γονιμοποίηση γίνεται στο εργαστήριο και την επόμενη ημέρα τα έμβρυα πρώτης ημέρας τοποθετούνται λαπαροσκόπηση στη σάλπιγγα (Flemming and King, 2003).

Επιπλέον, κρίνεται απαραίτητο να αναφερθεί ότι η **δωρεά κυτταροπλάσματος ωαρίου**, η **μεταμόσχευση μήτρας και ωθηκών**, η **τεχνητή μήτρα** και η **κλωνοποίηση**, είναι μέθοδοι ART, που δεν χρησιμοποιούνται ακόμη στην καθημερινή πράξη (Cowan and Seifer, 1997).

Από τα παραπάνω, γίνεται κατανοητό ότι AR δεν σημαίνει κατ' ανάγκη και εξωσωματική γονιμοποίηση. Θα μπορούσαμε σχηματικά να περιγράψουμε τρία επίπεδα υποβοήθησης, προοδευτικά αυξανόμενης παρεμβατικότητας: απλή πρόκληση ωοθυλακιορρηξίας και προγραμματισμός σεξουαλικής επαφής, πρόκληση ωοθυλακιορρηξίας και συνδυασμός της με σπερματέγχυση, και τέλος εφαρμογή μεθόδων εξωσωματικής γονιμοποίησης.

### ➤ **Κρυοσυντήρηση (Cryopreservation) – Υαλοποίηση (Vitrification)**

Η μέθοδος της κρυοσυντήρησης εφαρμόζεται σε ωάρια, σπερματοζωάρια, έμβρυα και τελευταία και σε ιστό, προκειμένου να γίνει μελλοντική χρήση. Πιο συγκεκριμένα, η κρυοσυντήρηση των ωαρίων είναι χρήσιμη σε γυναίκες που δεν θέλουν να τεκνοποιήσουν τη συγκεκριμένη χρονική περίοδο είτε για ιατρικούς λόγους όπως καρκίνος, πρόωρη ωθηκική ανεπάρκεια, πρόωρη εμμηνόπαυση, είτε για επαγγελματικούς λόγους, είτε γιατί δεν έχει βρεθεί κατάλληλος σύζυγος. Η

κρυοσυντήρηση σπερματοζωαρίων αφορά άνδρες που πρόκειται να υποβληθούν σε χημειοθεραπεία (π.χ. καρκίνο όρχεων), ενώ η κρυοσυντήρηση εμβρύων, μετά από εξωσωματική, αυξάνει τις πιθανότητες κύησης χωρίς η γυναίκα να υποβληθεί στη διαδικασία της διέγερσης και της ωοληψίας.

Σχετικά με τη μέθοδο της υαλοποίησης, αναφέρεται ότι και αυτή αφορά στην κατάψυξη τόσο των γαμετικών κυττάρων (ωαρίων και σπερματοζωαρίων) όσο και των εμβρύων. Η διαφορά της από την κρυοσυντήρηση έγκειται στην ταχύτητα κατάψυξης και στα συστατικά των υλικών. Τονίζεται ότι η υαλοποίηση επιτρέπει την κατάψυξη περισσίων εμβρύων με μεγαλύτερα ποσοστά επιβίωσης μετά την απόψυξη και μεγαλύτερα ποσοστά κλινικής κύησης και γεννήσεων σε σχέση με τα αντίστοιχα εκείνων που έχουν υποστεί κρυοσυντήρηση. Σε γενικές γραμμές, όμως, αναφέρεται ότι τα έμβρυα που έχουν υποστεί κατάψυξη και απόψυξη είναι σχεδόν ισοδύναμα με τα «φρέσκα», ως προς την ικανότητά τους για εμφύτευση, όπως και αυτά μετά από υαλοποίηση αν και πιο ταλαιπωρημένα και καταπονημένα λόγω του απότομου σοκ κατάψυξης που υφίστανται (Καζλάρης, 1996). Κύριο πλεονέκτημα και των δύο τεχνικών αποτελεί η διατήρηση γαμετικών κυττάρων, εμβρύων και ιστών, αναλλοίωτων για μεγάλο χρονικό διάστημα.

#### ➤ Προ-εμφυτευτική Γενετική Διάγνωση (PGD ή PID)

Η πρόωρη προεμφυτευτική διάγνωση περιλαμβάνεται στις εφαρμογές της ART και αποτελεί κλινική διαγνωστική μέθοδο η οποία ελέγχει την ύπαρξη πιθανών γενετικών ανωμαλιών, κύριος στόχος της είναι η εμφύτευση μόνο των υγιών εμβρύων και η βελτίωση των αποτελεσμάτων της IVF. Για τη διάγνωση της χρωμοσωμικής ανωμαλίας αρκεί ένα αντίτυπο του μεταλλαγμένου γονιδίου και χρειάζεται να είναι γνωστή η ακριβής ακολουθία της. Η PGD εφαρμόζεται σε γόνιμα ζευγάρια με αυξημένο αναπαραγωγικό κίνδυνο και σε υπογόνιμα όταν υπάρχει υποψία ανευπλοειδίας (Alukal et al., 2008).

Προεμφυτευτικά ανιχνεύονται μονογονιδιακά & φυλοσύνδετα νοσήματα καθώς και χρωμοσωμικές ανωμαλίες. Συχνότερες ενδείξεις για PGD αποτελούν ζευγάρια όπου:

- Οι σύζυγοι αμφότεροι φέρουν την ίδια αυτοσωμική υπολειπόμενη γενετική διαταραχή.
- Η σύζυγος φέρει μια φυλοσύνδετη υπολειπόμενη διαταραχή.



- Ο ένας εκ των δύο συζύγων φέρει μία ισοζυγισμένη χρωμοσωμική μετάθεση.
- Η μητέρα είναι άνω των 38 ετών.
- Ζευγάρια με προβλήματα γονιμότητας.
- Ζευγάρια με επαναλαμβανόμενες αποβολές / διακοπές κύησης λόγω ασθένειας του εμβρύου.
- Ζευγάρια με ηθικούς / θρησκευτικούς ενδοιασμούς ως προς το ενδεχόμενο διακοπής κύησης λόγω ασθένειας του εμβρύου.
- Περιπτώσεις ανδρικής στειρότητας λόγω έλλειψης σπερματικού πόρου, κατάσταση σχετιζόμενη με την ινοκυστική νόσο.

Δυνατοί τρόποι προεμφυτευτικής διάγνωσης αποτελούν η βιοψία του πολικού σωματίου, η αναρρόφηση 1-2 κυττάρων από ένα έμβρυο 6-8 κυττάρων (2-3 ημερών) και η βιοψία τροφοεξωδέρματος από μία βλαστοκύστη 5-6 ημερών. Στη συνέχεια χρησιμοποιείται κάποια από τις τεχνικές: FISH (Fluorescent in situ Hybridisation - Φθορίζων in situ Υβριδισμός), PCR (Polymerase Chain Reaction - Τεχνική της αλυσιδωτής αντίδρασης της πολυμεράσης), CGH (Comparative Genomic Hybridisation - Συγκριτικός Γονιδιωματικός Υβριδισμός), Microarrays (Μικροσυστοιχίες) - DNA chips, για έλεγχο του γενετικού υλικού και έτσι, σε σύντομο χρονικό διάστημα, 1-2 ημέρες, γνωρίζουμε ποιά από τα έμβρυα είναι υγιή και προχωρούμε στην εμβρυομεταφορά αυτών και μόνο (Basille et al., 2009).

Την εφαρμογή των παραπάνω τεχνικών συνοδεύουν όμως και αρκετά προβλήματα, όπως αυτό του πιθανού ανασυνδυασμού εξαιτίας επιχιασμού μεταξύ ομολόγων χρωμοσωμάτων που δίνει διαφορετικό γονότυπο στο πολικό σωματίο.

Τα τελευταία χρόνια, γίνεται μεγάλη συζήτηση διεθνώς, για το αν η PGD θα πρέπει να προτείνεται και σε ζευγάρια με ιστορικό πολλαπλών αποτυχημένων προσπαθειών εξωσωματικής γονιμοποίησης ή πολλαπλών αποβολών ανεξήγητης αιτιολογίας, με το σκεπτικό ότι το αίτιο μπορεί να εντοπίζεται στην δημιουργία (από τα συγκεκριμένα ζευγάρια) εμβρύων με χρωμοσωμικές ανωμαλίες που δεν μπορούν να εμφυτευθούν ή αποβάλλονται. Από μελέτες που έχουν δημοσιευτεί φαίνεται ότι οι μέθοδοι προεμφυτευτικής διαγνωστικής είναι ασφαλείς για γέννηση παιδιών με φυσιολογική διάπλαση. Η γνώση αυτή μπορεί να είναι πολύτιμη για τα συγκεκριμένα ζευγάρια (Basille et al., 2009).

## 1.2. ΥΠΟΓΟΝΙΜΟΤΗΤΑ

Με τον όρο υπογονιμότητα χαρακτηρίζεται η αδυναμία επίτευξης κύησης μετά από διάστημα ενός τουλάχιστον έτους ελεύθερων επαφών. Η υπογονιμότητα μπορεί να διακριθεί σε πρωτοπαθή, όταν δεν υπάρχει προηγούμενη εγκυμοσύνη (~40%) και σε δευτεροπαθή όταν υπάρχει προηγούμενη εγκυμοσύνη, οποιοδήποτε και αν ήταν το αποτέλεσμα αυτής (~60%).

Η υπογονιμότητα αποτελεί διαφορετική κατάσταση από τη μόνιμη στειρότητα στην οποία λόγω κάποιου φυσικού προβλήματος ή χειρουργικής επέμβασης είναι αδύνατον σε έναν από τους δυο συντρόφους να τεκνοποιήσει. Η υπογονιμότητα απασχολεί 1 στα 5 ζευγάρια και επηρεάζει εξ' ίσου άνδρες και γυναίκες. Για το λόγο αυτό, και οι δύο σύντροφοι πρέπει να συμμετέχουν στην διαδικασία της διάγνωσης και της θεραπείας. Πιο συγκεκριμένα, ένα ποσοστό 40% των περιπτώσεων υπογονιμότητας αποδίδονται στη γυναίκα, ένα άλλο 40% στον άνδρα, 10% αφορά και τους δύο, ενώ το υπόλοιπο 10% οφείλεται σε ανεξήγητες αιτίες (Αγγελοπούλου, 1992).

Αίτια υπογονιμότητας αποτελούν οι φλεγμονές, οι σεξουαλικά μεταδιδόμενες ασθένειες, καθώς και γενετικοί και περιβαλλοντικοί παράγοντες. Η αύξηση, όμως, της υπογονιμότητας τα τελευταία χρόνια αποδίδεται κυρίως στον τρόπο ζωής, το άγχος, τις κακές διατροφικές συνήθειες, την κατανάλωση αλκοόλ και καπνού. Επίσης, στα αίτια συγκαταλέγονται και η προχωρημένη ηλικία εκδήλωσης ενδιαφέροντος για τεκνοποίηση από τις γυναίκες, αλλά και από τους άνδρες, όπως και η συνεχής μείωση των παραμέτρων του σπέρματος στους άνδρες. Βέβαια παράγοντες όπως ανώμαλος κύκλος, ιστορικό κολπικών μολύνσεων ή παλαιότερα χειρουργεία, αποτελούν ενδείξεις για εξέταση νωρίτερα, ενώ αυτή που αυξάνεται συνεχώς είναι η ανδρική υπογονιμότητα.

Παρακάτω αναφέρονται οι κυριότεροι λόγοι υπογονιμότητας ανδρών και γυναικών (Πίνακες 1 & 2).

## ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΑΝΔΡΙΚΗΣ ΥΠΟΓΟΝΙΜΟΤΗΤΑΣ

### Τρόπος Ζωής

- Αύξηση της θερμοκρασία των όρχεων.
- Κατανάλωση φαρμάκων, αλκοόλ, παραισθησιογόνων ουσιών.
- Κάπνισμα.
- Έκθεση σε χημικά.
- Ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία.

### Ορμονικές διαταραχές

- Θυρεοειδής.
- FSH.
- Τεστοστερόνης.
- Προλακτίνης.
- Άξονα υποθαλάμου-υπόφυσης.

### Ανοσολογικά προβλήματα

- Αυτοάνοσα νοσήματα.
- Αντισπερματικά αντισώματα.

### Μολυσματικές ασθένειες

- Παρωτίτιδα.
- Κάποια αφροδίσια νοσήματα (βλεννόρροια, γλαμύδια).
- Μολύνσεις του προστάτη.

### Απόφραξη του σπερματικού πόρου.

### Τραυματισμός όρχεων.

### Κιρσοκήλη (συνηθέστερη αιτία υπογονιμότητας).

### Παλίνδρομη εκσπερμάτωση.

### Προηγούμενες θεραπείες για καρκίνο (χημειοθεραπεία / ακτινοβολία).

### Γενετικές ανωμαλίες:

- Φυλετικές ανωμαλίες (συχνότερα σύνδρομο Klinefelter)

(Αγγελοπούλου, 1992)

Πίνακας 1. Οι κυριότερες αιτίες της ανδρικής υπογονιμότητας.

Ως ανεξήγητη υπογονιμότητα χαρακτηρίζονται οι περιπτώσεις στις οποίες η έρευνα του υπογόνιμου ζευγαριού με όλες τις διαθέσιμες σήμερα διαγνωστικές μεθόδους αδυνατεί να αποκαλύψει κάποιο αιτιολογικό παράγοντα υπογονιμότητας.

Μία γυναίκα θεωρείται ότι πάσχει από ανεξήγητη υπογονιμότητα όταν έχει κανονική ωοθυλακιορρηξία, διαβατές σάλπιγγες χωρίς συμφύσεις ή ενδομητρίωση, συχνές επαφές, ιδιαίτερα τις ημέρες της ωοθυλακιορρηξίας (10<sup>η</sup>-14<sup>η</sup> του κύκλου) χωρίς αποτέλεσμα όμως για ένα τουλάχιστον χρόνο, και ο άνδρας έχει φυσιολογική παραγωγή σπέρματος. Σε περιπτώσεις ανεξήγητης υπογονιμότητας η υποβοηθούμενη αναπαραγωγή έχει τόσο διαγνωστικό όσο και θεραπευτικό χαρακτήρα.

## ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΓΥΝΑΙΚΕΙΑΣ ΥΠΟΓΟΝΙΜΟΤΗΤΑΣ

### Ενδομητρίωση.

#### Προβλήματα στην ωορρηξία (συνηθέστερο αίτιο)

- ❖ *Ανωοθυλακιορρηξία* (έλλειψη ωορρηξίας).
- ❖ *Ολιγοωορρηξία* (αραιές ωορρηξίες, διαταραχές ωχρού σωματίου).
  - Στρες.
  - Επίπονη άσκηση.
  - Συναισθηματικές διαταραχές.
  - Σύνδρομο των πολυκυστικών ωοθηκών.
  - Θερμική υστέρηση.
  - Σωματικό βάρος.
  - Υπερπαραγωγή προλακτίνης.

#### Πολυκυστικές ωοθήκες

- Υπερπαραγωγή προλακτίνης.
- Συγκεκριμένα φάρμακα.
- Διαταραχές θυρεοειδή /επινεφριδίων.
- Σωματικό βάρος.
- Έντονο στρες.

#### Προβλήματα στις σάλπιγγες

- Λοίμωξη.
- Εγχείρηση.
- Προηγούμενες έκτοπες εγκυμοσύνες.
- Συγγενείς ανωμαλίες.
- Υδροσάλπιγγες.
- Ενδομητρίωση.

#### Χρωμοσωμικές Ανωμαλίες (αυτοσωμικές και φυλετικές).

#### Τραχηλικός παράγοντας (τραχηλική βλέννα)

- Ανεπαρκής ποσότητα βλέννας και όχι καλής ποιότητας.
- Ύπαρξη αντισπερμικών αντισωμάτων.

#### Η σχέση μεταξύ ηλικίας και γονιμότητας

- Γυναικολογικά προβλήματα.
- Ορμονικά επίπεδα FSH, LH και οιστραδιόλης.

(Αγγελοπούλου, 1992, Τριανταφυλλίδης Κ., Κουβάτση Α., 2006, Καζάρης, 1996)

Πίνακας 2. Οι κυριότερες αιτίες της γυναικείας υπογονιμότητας.

### 1.3. ΚΙΝΔΥΝΟΙ ΥΠΟΒΟΗΘΟΥΜΕΝΗΣ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗΣ

Είναι απαραίτητο τα ζευγάρια που καταφεύγουν σε ART να υποβάλλονται σε διαδικασία συμβουλευτικής και ενημέρωσης (Owen et al., 2009), όχι μόνο για την πιθανότητα απόκτησης απογόνου που φέρει κάποια ανωμαλία, αλλά και για τα ακόλουθα:

- ✓ Αποκλεισμό κληρονομήσιμων προβλημάτων, όπως κάποια ισορροπημένη μετάθεση, που απαντά συχνά σε υπογόνιμους άνδρες και γυναίκες.
- ✓ Ο πληθυσμός ART δεν είναι συγκρίσιμος με τον γενικό πληθυσμό, λόγω διαφορών που κλονίζουν την πιθανότητα απόκτησης ενός υγιούς παιδιού.
- ✓ Ο αυξημένος κίνδυνος απόκτησης μη υγιούς παιδιού, πηγάζει όχι τόσο από αυτές καθ' αυτές τις τεχνικές και τη διαδικασία της AR, αλλά κυρίως από την υποκείμενη στειρότητα, η οποία και ώθησε στην AR.
- ✓ Η συχνότητα και ο βαθμός αύξησης της πιθανότητας εμφάνισης δομικών ανωμαλιών είναι αμφισβητήσιμη.
- ✓ Η εμφάνιση δομικών ανωμαλιών φαίνεται να αυξάνει με ICSI, αν και το ποσοστό κινδύνου είναι μικρό.
- ✓ Οι απόγονοι από ICSI εμφανίζουν συχνότερα de novo χρωμοσωμικές ανωμαλίες.

Συνήθως, αναφέρεται ότι, τα ζεύγη που καταφεύγουν σε ART προκειμένου να αποκτήσουν παιδιά, είναι απίθανο να αποτραπούν από αυτές τις πληροφορίες. Στην πλειονότητά τους, τα ζευγάρια εμμένουν στην αρχική τους απόφαση, συζητούν τα ζητήματα αυτά και καταλήγουν, όπως είναι αναμενόμενο (Simpson, 2005).

## 2. ΚΥΡΙΩΣ ΜΕΡΟΣ

Το 75% των περιπτώσεων στειρότητας ή υπογονιμότητας έχει γενετική βάση, πολλές φορές όμως δεν είναι δυνατός ο εντοπισμός του είδους της γενετικής διαταραχής. Τα ζευγάρια αυτά δεν μπορούν να τεκνοποιήσουν χωρίς θεραπεία και επομένως δεν είναι δυνατή η μεταβίβαση των γενετικών τους διαταραχών στους απογόνους. Με την ART πολλά από τα ζευγάρια αυτά αποκτούν σήμερα παιδιά χωρίς να γνωρίζουμε τη γενετική βάση της υπογονιμότητας που έχουν. Έτσι δεν μπορούμε να γνωρίζουμε τις πιθανές μακροπρόθεσμες επιπλοκές που μπορεί να εμφανιστούν στα παιδιά αυτά (Alukal and Lamb, 2008).

Οι τεχνικές που χρησιμοποιούνται είναι όλο και πιο επεμβατικές οπότε και υπάρχει ακόμη μεγαλύτερη ανάγκη να τεκμηριωθεί κατά πόσο είναι υγιή τα παιδιά που γεννώνται με AR. Μελέτες συγκριτικής καταγραφής τέτοιων παιδιών με αυτά που γεννώνται με φυσιολογική σύλληψη είναι απαραίτητες, ώστε να επιβεβαιωθεί η ασφάλεια των τεχνικών αυτών. Όμως, ενώ η πρόοδος των τεχνικών έχει προχωρήσει με αλματώδεις ρυθμούς, δεν ισχύει το ίδιο και για την μελέτη της ασφάλειάς τους. Οι λόγοι για τους οποίους συμβαίνει αυτό ποικίλουν και μεταξύ αυτών είναι τα νοσοκομεία που παρέχουν αυτές τις τεχνικές, τα οποία τις περισσότερες φορές δεν επιδιώκουν περαιτέρω ενημέρωση για τα αποτελέσματα. Επιπλέον, απαιτείται ένας πολύ μεγάλος αριθμός παιδιών, διότι οι πιθανές σοβαρές συνέπειες είναι πολύ σπάνιες, παράλληλα με ένα αξιόπιστο και καλά οργανωμένο σύστημα επιτήρησης για την εφαρμογή των τεχνικών αυτών, ώστε τα αποτελέσματα που συγκεντρώνονται να οδηγούν σε ορθά συμπεράσματα (Williams et al., 2009).

### 2.1. ΠΟΛΥΔΥΜΗ ΚΥΗΣΗ –ΠΡΟΩΡΟΤΗΤΑ- ΧΑΜΗΛΟ ΒΑΡΟΣ ΓΕΝΝΗΣΗΣ

Η φύση έχει προβλέψει τη δημιουργία ενός μόνο εμβρύου στην ανθρώπινη εγκυμοσύνη. Απόκλιση από αυτόν τον κανόνα αποτελεί η πολύδυμη κύηση που μπορεί να προκύψει είτε από τη γονιμοποίηση ενός ωαρίου και τη διαίρεσή του σε δύο ή περισσότερα έμβρυα, είτε από τη γονιμοποίηση περισσότερων του ενός ωαρίων. Η πολύδυμη κύηση αποτελεί τεκμηριωμένο παράγοντα κινδύνου για πολλές αρνητικές συνέπειες για τα νεογνά, όπως ο πρόωρος τοκετός, το χαμηλό βάρος γέννησης, η αυξημένη νεογνική θνησιμότητα, οι συγγενείς ανωμαλίες και οι

αναπηρίες στα νεογνά που επιβιώνουν, γεγονός που την κατατάσσει στις παθολογικές καταστάσεις της εγκυμοσύνης. Στο γενικό πληθυσμό ο κίνδυνος πρόωρου τοκετού στις δίδυμες κύσεις σε σχέση με τις μονήρεις είναι πενταπλάσιος. Το 50% των δίδυμων έχει βάρος γέννησης <2500gr σε σύγκριση με το 6% των νεογνών από μονήρη κύηση (Andersen et al., 2008).

Για την ταυτόχρονη ωρίμανση και γονιμοποίηση περισσότερων του ενός ωαρίων φαίνεται ότι ευθύνονται αρκετοί παράγοντες και αρχικά αναφέρονται η ηλικία της μητέρας και η φυλή στην οποία ανήκει. Οι πιθανότητες εμφάνισης πολύδυμης κύησης ενισχύονται με την αύξηση της ηλικίας της μητέρας μέχρι την ηλικία των 40 ετών και από εκεί και έπειτα η πιθανότητα αυτή ελαττώνεται. Η μεγαλύτερη συχνότητα εμφάνισης πολύδυμων κύσεων συναντάται στις ηλικίες 30–40, διότι τα επίπεδα των γοναδοτροφινών στο αίμα της γυναίκας αυξάνονται αρκετά με αποτέλεσμα να προκαλούνται πολλαπλές ωορρηξίες. Επίσης, ένα μερίδιο ευθύνης φέρει και η κληρονομικότητα, καθώς η ιδιότητα της πολυωορρηξίας μεταβιβάζεται από τη μητέρα στην κόρη και γι' αυτό ευθύνεται η κληρονομική προδιάθεση που υπάρχει για αυξημένη έκκριση γοναδοτροφινών. Τα φάρμακα που χορηγούνται για πρόκληση ωορρηξίας δύνανται να προκαλέσουν πολύδυμη κύηση, όπως η κιτρική κλομιφένη (7-10%) και οι ανθρώπινες γοναδοτροφίνες (18-25%). Ακόμη και η καθυστερημένη ωορρηξία οδηγεί συχνά σε διωογενή πολύδυμη κύηση. Το ίδιο παρατηρείται και μετά από διακοπή μακροχρόνιας χρήσης αντισυλληπτικών, όπου συμβαίνει μεγάλη «αναπήδηση» στα επίπεδα των γοναδοτροφινών (Μαλακά, 1999).

Φαίνεται ότι η αυξημένη συχνότητα πρόωρων τοκετών και χαμηλού βάρους γέννησης νεογνών [ $< 5\%$  για το φύλο και την ηλικία κύησης (Zhu et al., 2007)] μετά από IVF σχετίζεται περισσότερο με χαρακτηριστικά που έχουν οι γυναίκες με υπογονιμότητα, όπως η νόσος των σαλπίγγων, η ενδομητρίωση ή οι ορμονολογικές διαταραχές. Μια πιθανή εξήγηση είναι ότι η παθοφυσιολογία της καθυστερημένης ανάπτυξης του εμβρύου έχει να κάνει με ελαττωματική μητροπλακουντιακή σχέση, μητρικής αιτιολογίας π.χ. μειωμένη αγγειακή αιμάτωση της μήτρας. Οι εγκυμοσύνες κατόπιν IVF είναι πιθανότερο να εμφανίσουν υπέρταση και αιμορραγία, που οδηγούν σε καθυστερημένη ανάπτυξη του εμβρύου ή πρόωρο τοκετό (Zhu et al., 2007).

Η υπογονιμότητα της γυναίκας αυξάνει την πιθανότητα για πρόωρο τοκετό και χαμηλό βάρος γέννησης σε μονήρης κύσεις. Οι γυναίκες αυτές συνήθως

τεκνοποιούν με τη βοήθεια IVF και όχι ICSI. Οπότε και η IVF έχει μεγαλύτερη συχνότητα πρόωρων τοκετών από την ICSI και αυτό φαίνεται να οφείλεται στην υπογονιμότητα της γυναίκας και όχι στη τεχνική (Wang et al., 2005).

Από την άλλη, γυναίκες με φυσιολογική γονιμότητα και υγιές γεννητικό σύστημα, ξεπερνώντας το πρόβλημα της υπογονιμότητας του άντρα, έχουν καλύτερη ανάπτυξη του εμβρύου και λιγότερους πρόωρους τοκετούς (Wang et al., 2005).

Ο κίνδυνος γέννησης λιποβαρούς νεογνού από μονήρη κύηση με ART, αυξάνει κατά 40% και παραμένει αυξημένος και σε υπογόνιμα ζευγάρια που τελικά τεκνοποίησαν χωρίς θεραπεία. Αυτό οδηγεί στο συμπέρασμα ότι ο αυξημένος κίνδυνος γέννησης νεογνού χαμηλού βάρους οφείλεται εν μέρει στην υπογονιμότητα του ζευγαριού, ενώ η θεραπεία που ακολουθείται για την αντιμετώπιση της υπογονιμότητας φαίνεται να επιδεινώνει ελάχιστα αυτό το ποσοστό (Zhu et al., 2007).

Πρόσφατα, από μια ανασκόπηση ποικίλων μελετών καταλήγουμε στο συμπέρασμα ότι μετά από AR ο κίνδυνος προωρότητας, διάρκεια εγκυμοσύνης <37 εβδομάδες είναι 1.8, ενώ ο κίνδυνος για βάρος γέννησης νεογνού < 2500gr από μονήρη κύηση είναι 1.6 και η αυξημένη περιγεννητική θνησιμότητα που εμφανίζεται οφείλεται στην προωρότητα (Mc Donald et al., 2009, Williams and Sutcliffe, 2009).

Ο λόγος για τον οποίο δίνεται μεγάλη σημασία στην προωρότητα και το χαμηλό βάρος γέννησης για την ηλικία κύησης των παιδιών, είναι γιατί σχετίζονται με τη σωματική και τη νοητική τους ανάπτυξη και αποτελούν σημαντικούς δείκτες για την μετέπειτα υγιή ανάπτυξή τους (Gissler et al., 1996) (Πίνακας 3). Επίσης, μερικά νευρολογικά και νοητικά συμπτώματα που παρατηρούνται έχουν σχέση πλην του

<b>Οξέα προβλήματα</b>	<b>Χρόνια προβλήματα</b>
Σύνδρομο αναπνευστικής δυσχέρειας	Νεκρωτική εντεροκολίτιδα
Εγκεφαλική αιμορραγία	Λοιμώξεις
Διαταραχές ύδατος ηλεκτρολυτών	Βρογχοπνευμονική δυσπλασία
Διαταραχές θερμορύθμισης	Οστεοπενία
Διαφυγή αίματος μέσω βοταλλείου	Αμφιβληστροειδοπάθεια
Υπερχολερυθριναμία	Διαταραχές σχέσεων γονέα-παιδιού
Υπογλυκαιμία	Ψυχοκινητική καθυστέρηση
Υπασβεσταμία	
Απνοϊκά επεισόδια	

**Πίνακας 3.** Τα προβλήματα του πρόωρου νεογνού (Μαλακά, 1999).



βάρους γέννησης και της ηλικία κύησης, με το περιβάλλον του ενδομητρίου και με περιγεννητικά ή νεογνικά προβλήματα.

Οι πολύδυμες κύσεις, η γέννηση πρόωρων νεογνών, νεογνών με χαμηλό βάρος γέννησης, με συγγενείς ανωμαλίες και αναπηρίες αποτελούν ειδικές περιπτώσεις που η συχνότητα εμφάνισής τους αυξάνεται μετά από IVF (Gissler, 1996).

## 2.1. ΣΥΓΓΕΝΕΙΣ ΔΥΣΠΛΑΣΙΕΣ

Οι δυσπλασίες είναι ανωμαλίες διάπλασης και οφείλονται σε βλάβη κατά την εμβρυογένεση. Όλες οι δυσπλασίες είναι συγγενείς, εμφανείς κατά τον τοκετό, αν και μπορεί να διαγνωστούν και αργότερα. Μπορεί να είναι απλές ή πολλαπλές, πολύ μικρής ή πολύ μεγάλης κλινικής σημασίας. Περίπου το 14% των νεογνών έχουν μια ελάσσονα δυσπλασία, 3% των νεογνών μπορεί να έχουν μια μείζονα δυσπλασία και 0.7% των νεογνών μπορεί να έχουν πολλαπλές μείζονες δυσπλασίες. Η συχνότητα των μεγάλων δυσπλασιών είναι ακόμη μεγαλύτερη κατά τη σύλληψη, 10–15%, όμως κατά πλειονότητα αυτά τα έμβρυα αποβάλλονται αυτόματα. Έτσι για 7-10% των αποβαλλομένων εμβρύων ευθύνονται μείζονες δυσπλασίες (Μαλακά, 1999). Περίπου 60% όλων των μειζόνων συγγενών δυσπλασιών έχουν άγνωστη αιτιολογία. Γενετικές καταστάσεις ευθύνονται για το 1/3 όλων των συγγενών δυσπλασιών, ή αλλιώς το 30% των συγγενών δυσπλασιών είναι γνωστής αιτιολογίας. Στον πίνακα 4 αναγράφονται οι πιθανές αιτίες συγγενών δυσπλασιών.

Αιτιολογία μαιζόνων Σ.Δ.	Συχνότητα
Ιδιοπαθής	60%
Πολυγονιδιακή	20%
Μονογονιδιακή	7.5%
Χρωμοσωμική	6%
Νόσος μητέρας	3%
Συγγενής λοίμωξη	2%
Φάρμακα, α/α Χ, αλκοόλη	1.5%

**Πίνακας 4.** Αιτιολογία των μαιζόνων συγγενών δυσπλασιών (Μαλακά, 1999).

Ήδη από τη δεκαετία του 1980 είχαν αρχίσει να εκφράζονται κάποιες ανησυχίες σχετικά με τον κίνδυνο εμφάνισης συγγενών δυσπλασιών μετά από IVF που εντάθηκαν μετά την εισαγωγή της τεχνικής ICSI. Μια σειρά μετα-αναλύσεων έδειξαν ότι ο κίνδυνος εμφάνισης σοβαρών δυσπλασιών είναι αρκετά αυξημένος και κυμαίνεται από 29% έως 41% σε παιδιά που γεννήθηκαν με ART σε σύγκριση με παιδιά που προήλθαν από φυσιολογική σύλληψη (Sutcliffe and Ludwig, 2007).

Πρόσφατες μελέτες χρησιμοποιούν ως μάρτυρες παιδιά από το γενικό πληθυσμό αλλά πολλές έχουν σημαντικά μεθοδολογικά προβλήματα, γι' αυτό και ακόμη τα αποτελέσματα είναι λίγο ρευστά, όπως:

- Ασαφή ορισμό και ταξινόμηση των συγγενών ανωμαλιών.
- Διαφορές στη μέθοδο αξιολόγησης των ανωμαλιών.
- Διαφορές στη διάρκεια παρακολούθησης των δύο ομάδων.

Σύμφωνα με τον *Hansen et al.* το 2005 σε μια μετα-ανάλυση 25 μελετών για τον κίνδυνο συγγενών ανωμαλιών μετά από εφαρμογή ART, βρέθηκε ότι υπάρχει στατιστικά σημαντικός κίνδυνος και ότι το ποσοστό εμφάνισης συγγενών ανωμαλιών μετά από AR παρουσιάζει αύξηση κατά 30-40% (Hansen et al., 2005). Αυτή η μικρή αύξηση του αριθμού των συγγενών ανωμαλιών φαίνεται να οφείλεται σε παράγοντες που σχετίζονται με τη μητέρα –μεγαλύτερη ηλικία και μικρότερο αριθμό κυήσεων– και όχι από το αν η σύλληψη έγινε με IVF (Anthony et al., 2002).

Υπολογίζοντας το λόγο πιθανοτήτων (odds ratio, OR) συγγενών ανωμαλιών που πιθανόν εμφανιστούν σε διάφορα συστήματα μετά από AR, βρέθηκε ότι εκτός από το δέρμα, το κοιλιακό τοίχωμα, τις χρωμοσωμικές και συνδρομικές ανωμαλίες, το odds ratio εμφανίζεται ελαφρά αυξημένο στα υπόλοιπα συστήματα όπως κεντρικό νευρικό, καρδιαγγειακό, γαστρεντερικό, αναπνευστικό, ουροποιητικό, σκελετικό και μυϊκό σύστημα, καθώς και οι άλλες συγγενείς ανωμαλίες. Περαιτέρω έρευνα των ανωμαλιών του καρδιαγγειακού συστήματος έδειξε αύξηση περιστατικών σε παιδιά μετά από IVF με εύρος του OR από 1.32-4.38. Πιο συγκεκριμένα, παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στη συχνότητα εμφάνισης ανωμαλιών της μοναδικής ομφαλικής αρτηρίας (OR= 1.93, 95% CI: 1.11-3.35) (Anthony et al., 2002).

Από την άλλη πλευρά, ανωμαλίες του νευρικού σωλήνα δεν παρουσιάζουν κάποια στατιστικά σημαντική αύξηση στα παιδιά από IVF. Επίσης, αύξηση του ποσοστού εμφάνισης ανωμαλιών μετά από IVF, πηγάζει από τη διαφορετικότητα των μητρικών χαρακτηριστικών και όχι από την διαδικασία της IVF (Anthony et al., 2002).

Σύμφωνα με τον *Dhont et al.* το 1999, με τη βελτίωση της ηλικίας των γυναικών (νεαρότερες) που υποβάλλεται σε AR δεν παρατηρείται αύξηση των ποσοστών κινδύνου εμφάνισης συγγενών ανωμαλιών στα παιδιά από IVF συγκριτικά με τα φυσιολογικής σύλληψης, ενώ ο *Westergaard et al.* το 1999 προσθέτει ότι η αύξηση του κινδύνου για εμφάνιση ανωμαλιών στις εγκυμοσύνες μετά από IVF οφείλεται κυρίως στα χαρακτηριστικά των ασθενών και λιγότερο στην ART.

Σε μια μελέτη του 2002 που έγινε από τον *Hansen* και τους συνεργάτες του για τον κίνδυνο εμφάνισης σοβαρών ανωμαλιών από τη γέννηση μετά από ICSI και IVF, αναφέρει πως τα 2/3 των περιπτώσεων διαγνώστηκαν μέσα στην 1<sup>η</sup> εβδομάδα ζωής και >90% μέσα στους 6 πρώτους μήνες. Υπογραμμίζεται ακόμη ότι η πιθανότητα διάγνωσης σοβαρών συγγενών ανωμαλιών μέσα στον 1<sup>ο</sup> χρόνο της ζωής σε βρέφη που γεννήθηκαν μετά από ICSI ή IVF είναι διπλάσια σε σχέση με τα παιδιά από φυσιολογική σύλληψη. Ο κίνδυνος αυτός έμεινε στατιστικά σημαντικός ακόμη και στις μονήρεις κυήσεις και στα τελειόμηνα, ακόμη και όταν έγινε διόρθωση για την ηλικία της μητέρας, εάν ήταν πρωτοτόκος (Hansen et al., 2002).

Συνοψίζοντας κάπως τα παραπάνω καταλήγουμε πως μεταξύ των παραγόντων που αυξάνουν τον κίνδυνο για σοβαρές συγγενείς ανωμαλίες περιλαμβάνονται:

- Η σχετικά μεγάλη ηλικία των γονέων.
- Το υποκείμενο αίτιο της υπογονιμότητας.
- Τα φάρμακα που χορηγούνται για την ωορρηξία ή για τη διατήρηση της εγκυμοσύνης στα πρώιμα στάδια.
- Παράγοντες που αφορούν τις τεχνικές που χρησιμοποιούνται, όπως η κατάψυξη και η απόψυξη των εμβρύων, η καθυστερημένη γονιμοποίηση των ωοκυττάρων.

Το 2006 σε μια άλλη μελέτη, ερευνήθηκε εάν τα ζευγάρια με υπογονιμότητα (χρειάστηκαν >12 μήνες για να συλλάβουν) και τα οποία δεν έλαβαν θεραπεία ή τεκνοποίησαν με AR, είχαν αυξημένη συχνότητα για συγγενείς ανωμαλίες μέσα στα 4

πρώτα χρόνια ζωής των παιδιών (Zhu et al., 2006). Τα συμπεράσματα που προέκυψαν αναφέρουν πως όσο περισσότερο χρόνο χρειάζεται ένα ζευγάρι για να τεκνοποιήσει, τόσο αυξάνει η συχνότητα εμφάνισης συγγενών ανωμαλιών στο νεογνό. Ειδικότερα, σε παιδιά που γεννήθηκαν με AR παρουσιάζεται αύξηση συγγενών ανωμαλιών της τάξεως του 30-40% σε σχέση με τα παιδιά που γεννήθηκαν με φυσιολογική σύλληψη.

Όταν, όμως, έγινε σύγκριση με παιδιά από υπογόνιμα ζευγάρια (χρειάστηκαν >12 μήνες για τεκνοποίηση) τότε η θεραπεία που έλαβαν τα ζευγάρια που κατέφυγαν σε ART φάνηκε να αυξάνει τον κίνδυνο μόνο για ανωμαλίες του γεννητικού συστήματος. Αυτό ίσως να σχετίζεται με τα φάρμακα που λαμβάνουν οι μητέρες για την πρόκληση της ωοθυλακιορρηξίας (Zhu et al., 2006). Για τη διεξαγωγή όμως τέτοιων συμπερασμάτων απαιτείται σύγκριση μεταξύ παιδιών από ART και παιδιών από υπογόνιμα ζευγάρια που δεν έλαβαν κάποια θεραπεία.

Τα υπογόνιμα ζευγάρια θα πρέπει να κάνουν προγεννητικό έλεγχο και η έρευνα θα πρέπει να εστιαστεί στην εύρεση των μηχανισμών που φαίνεται να διέπουν την συσχέτιση μεταξύ συγγενών ανωμαλιών και υπογονιμότητας ή στειρότητας.

Η μέθοδος της μικρογονιμοποίησης (ICSI) χρησιμοποιείται επιτυχώς στη θεραπεία της ανδρικής στειρότητας, στην οποία ένα μοναδικό σπερματοζώαριο εισάγεται κατευθείαν μέσα στο ωάριο, εν αντιθέσει με την κλασική μέθοδο της IVF όπου 50.000-100.000 σπερματοζώαρια επωάζονται μαζί με ένα ωοκύτταρο σε ένα τριβλύο Petri. Η διαδικασία αυτή της ICSI παρακάμπτει, όμως, όλα τα εμπόδια της φυσικής επιλογής του σπέρματος (Sutcliffe et al., 2001). Έχουν εκφραστεί αρκετές ανησυχίες για τη χρήση της μικρογονιμοποίησης και κυρίως για τη χρήση σπέρματος με πιο άωρη μορφή, για παράδειγμα από την επιδιδυμίδα ή τον όρχη. Θεωρητικά το σπέρμα μπορεί να φέρει γενετικές ή ανατομικές ανωμαλίες. Υπάρχει, ακόμη, το ενδεχόμενο να προκαλούνται χημικές ή μηχανικές βλάβες στο ωοκύτταρο λόγω της εισαγωγής ξένου υλικού (σπέρματος). Η πιθανότητα εμφάνισης κάποιας συγγενούς ανωμαλίας σε παιδιά με ICSI είναι 1.7 φορές μεγαλύτερη απ' ότι σε παιδιά με φυσιολογική σύλληψη (Sutcliffe et al., 2001).

Όσον αφορά την έκβαση της εγκυμοσύνης και την υγεία των παιδιών μετά από ICSI, φαίνεται ότι υπάρχει εξάρτηση σε μεγάλο βαθμό από τη σοβαρότητα της υπογονιμότητας του άνδρα, ενώ ο τρόπος λήψης του σπέρματος και η συγκέντρωση των σπερματοζωαρίων δεν φαίνεται να επηρεάζουν σημαντικά την έκβαση της

εγκυμοσύνης, ούτε και να συσχετίζονται με σοβαρές συγγενείς ανωμαλίες. Όμως, σε αρκετές μελέτες γίνεται λόγος για αύξηση του ποσοστού εμφάνισης υποσπαδίασης στα αγόρια που γεννιούνται μετά από IVF και κυρίως μετά από ICSI, σχετίζοντας το γεγονός αυτό με την πατρική υπογονιμότητα. Πιο συγκεκριμένα, αναφέρεται ότι μετά από ICSI η πιθανότητα εμφάνισης υποσπαδίασης σε άρρενα παιδιά είναι σχεδόν πενταπλάσια απ' ότι μετά την εφαρμογή της IVF (Ludwig and Katalinic, 2003).

### **2.3. ΣΩΜΑΤΙΚΗ ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΠΑΙΔΙΩΝ ΠΟΥ ΓΕΝΝΗΘΗΚΑΝ ΜΕ ΥΠΟΒΟΗΘΟΥΜΕΝΗ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗ**

Μια φιλανδική μελέτη ανάπτυξης παιδιών που γεννήθηκαν με ART αναφέρει ότι ο κίνδυνος γέννησης νεογνού με IVF με βάρος και ύψος κάτω από την 25<sup>η</sup> εκατοστιαία θέση, είναι στατιστικά σημαντικά μεγαλύτερος στην ηλικία 1 και 2 ετών συγκριτικά με το γενικό πληθυσμό. Επιπλέον, τα παιδιά αυτά εμφανίζονται πιο επιρρεπή στη νοσηρότητα μέχρι την ηλικία 3<sup>ων</sup> ετών (Κοϊνιγονα, 2003). Τα πρόωρα χαμηλού βάρους γέννησης νεογνά (<1500gr) με IVF, δεν εμφανίζουν μεγαλύτερη νοσηρότητα και θνητότητα συγκριτικά με τα αντίστοιχα νεογνά φυσιολογικής σύλληψης, ενώ η αυξημένη περιγεννητική θνητότητα που πιθανόν εμφανίζουν οφείλεται σε προωρότητα (Schimmel et al., 2006).

Όσον αφορά στην όραση ή την ακοή των παιδιών που γεννώνται μετά από γονιμοποίηση με ICSI, αναφέρεται ότι δεν παρουσιάζουν κάποια διαφορά από τα παιδιά από φυσιολογική σύλληψη (Ludwig, 2010). Τέλος, στα παιδιά που γεννώνται μετά από IVF η πιθανότητα εμφάνισης αναπτυξιακής καθυστέρησης είναι σχεδόν διπλάσια στις μονήρεις κυήσεις, αλλά όχι στατιστικά σημαντική.

### **2.4. ΨΥΧΟΣΩΜΑΤΙΚΗ ΚΑΙ ΝΕΥΡΟΛΟΓΙΚΗ ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΠΑΙΔΙΩΝ ΜΕΤΑ ΑΠΟ IVF ΚΑΙ ICSI**

Στην παιδιατρική η αξιολόγηση της ψυχοσωματικής ανάπτυξης των παιδιών γίνεται με τη χρήση της μεθόδου του Griffithh βάση της οποίας η αξιολόγηση υποδιαιρείται σε 5 κατηγορίες: αδρή κινητικότητα, κοινωνικότητα-προσωπικότητα, ακοή και ομιλία, συνεργασία ματιού-χεριού και εκτέλεση εντολών (Sutcliffe and Ludwig, 2007).

Οι έξι πιο συχνές διαγνώσεις σε παιδιά που γεννήθηκαν μετά από IVF είναι η εγκεφαλική παράλυση, η ύποπτη αναπτυξιακή καθυστέρηση, η συγγενής δυσπλασία, η ψυχική στέρηση, η χρωμοσωμική ανωμαλία και οι διαταραχές συμπεριφοράς. Υπάρχει σχεδόν τετραπλάσια αύξηση του κινδύνου εγκεφαλικής παράλυσης παιδιών που γεννήθηκαν με εξωσωματική γονιμοποίηση σε σχέση με τα παιδιά από φυσιολογική σύλληψη. Σε μονήρη κύηση με IVF ο κίνδυνος τριπλασιάζεται (Stromberg et al., 2002). Όταν αργότερα τα παιδιά ταξινομήθηκαν βάση ηλικίας κύησης και βάρους γέννησης, ο κίνδυνος εγκεφαλικής παράλυσης ακόμη και σε τελειόμηνα ήταν σχεδόν 2.5 φορές μεγαλύτερος. Κατόπιν διόρθωσης της ηλικία της μητέρας, του επιπέδου μόρφωσης και εάν ήταν πρωτοτόκος βρέθηκε ότι ο κίνδυνος για εγκεφαλική παράλυση ελαττώθηκε σε 1.61 και είναι στατιστικά μη σημαντικός (95% CI: 1.13-2.30) (Hvidtjørn et al., 2006).

Η σπαστική εγκεφαλική παράλυση αποτελεί την πιο συχνή νευρολογική επιπλοκή και ο κίνδυνος εμφάνισής της παραμένει αυξημένος ακόμη και σε τελειόμηνα παιδιά με φυσιολογικό βάρος. Ο κίνδυνος αυτός οφείλεται σε μεγάλο βαθμό στην αυξημένη συχνότητα διδύμων κήσεων, σε χαμηλό βάρος γέννησης και σε προωρότητα παιδιών με IVF. Για περιορισμό αυτών των κινδύνων συστήνεται εμβρυομεταφορά ενός και μόνο εμβρύου.

Μετά από τη σύγκλιση διαφόρων παραγόντων, όπως το χαμηλό βάρος γέννησης, η ηλικία της μητέρας, η IVF παραμένει ανεξάρτητος παράγον κινδύνου ακόμα και σε μονήρεις κύσεις (Hvidtjørn et al., 2006).

Σε ότι αφορά το δείκτη νοημοσύνης (IQ) τα παιδιά από ICSI αποδείχθηκε ενδεχομένως να έχουν λίγο χαμηλότερη τιμή IQ από τα παιδιά της IVF, χωρίς όμως αυτή η διαφορά να είναι στατιστικά σημαντική. Αντίθετα, τα παιδιά της ICSI έχουν χαμηλότερο δείκτη IQ από τα παιδιά από φυσιολογική σύλληψη και η μέση τιμή διαφοράς είναι 5-7 βαθμοί IQ. Η σύγκλιση ως προς την προωρότητα δεν άλλαξε τα αποτελέσματα (Knoester et al., 2008).

Μελέτες συσχετισμού αυτιστικών διαταραχών και αναπτυξιακής καθυστέρησης παιδιών με AR καταγράφουν αντιφατικά μέχρι στιγμής αποτελέσματα, ενώ φαίνεται να αποκλίνουν μάλλον παρά να συσχετίζονται (Knoester et al., 2008).

## **2.5. ΔΙΑΤΑΡΑΧΕΣ ΑΠΟΤΥΠΩΣΗΣ & ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΥΠΟΒΟΗΘΗΜΕΝΗΣ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗΣ**

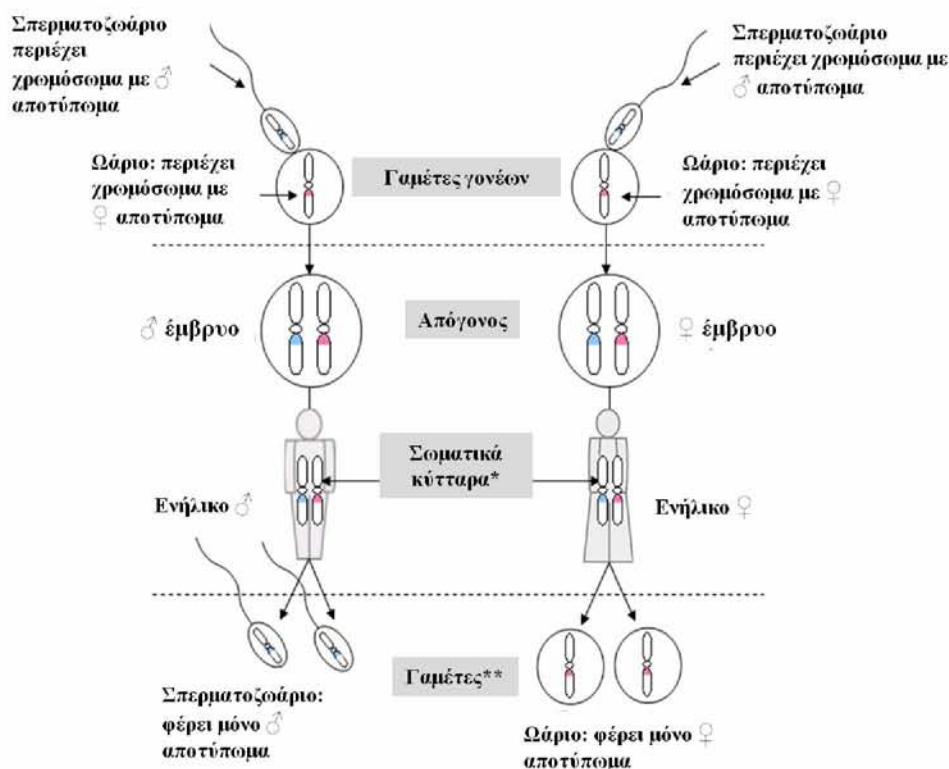
### **Επιγενετικές τροποποιήσεις του γενώματος**

Η επιγενετική κληρονομικότητα αναφέρεται στην κληρονομήση διακριτών φαινοτύπων, οι οποίοι δεν προκύπτουν από αλλαγές στο γενετικό υλικό των ατόμων που τις εμφανίζουν. Αυτό μπορεί να συμβεί με δύο μηχανισμούς. Ο πρώτος περιλαμβάνει την ομοιοπολική σύνδεση μιας χημικής ομάδας στο DNA προκαλώντας τροποποίηση, που μπορεί να διαιωνίζεται. Έτσι δύο αλληλόμορφα με την ίδια αλληλουχία μπορεί να εμφανίσουν διαφορετικά πρότυπα μεθυλίωσης, που τους προσδίδουν διαφορετικές ιδιότητες. Ο δεύτερος μηχανισμός περιλαμβάνει την παγίωση μιας πρωτεΐνης σε μια αυτοδιαιωνιζόμενη κατάσταση. Αυτό μπορεί να περιλαμβάνει τη συναρμολόγηση ενός πρωτεϊνικού συμπλόκου, την τροποποίηση μιας ή περισσότερων ειδικών πρωτεϊνών (π.χ. ιστονών) ή την καθιέρωση μιας διαφοροποιημένης πρωτεϊνικής στερεοδιαμόρφωσης (Jacob and Moley, 2005). Έτσι, λοιπόν, οι επιγενετικές αλλαγές επηρεάζουν το φαινότυπο ενός ατόμου χωρίς να μεταβάλλουν το γονότυπό του και επιφέρουν μεταβολές στις ιδιότητες ενός κυττάρου, οι οποίες μπορεί να κληρονομηθούν από τα θυγατρικά κύτταρα χωρίς όμως να υπάρχει αλλαγή της γενετικής πληροφορίας. Η επιγενετική, δηλαδή, είναι η διαδικασία της επίδρασης στη δράση ενός γονιδίου χωρίς να αλλάζει το ίδιο το DNA του γονιδίου. Το επιγένωμα είναι η γενική επιγενετική κατάσταση ενός κυττάρου. Θα μπορούσε να ειπωθεί ότι ένα γονιδίωμα δίνει γένεση σε πολλά επιγενώματα, δεδομένου ότι ένα έμβρυο μπορεί να παράγει πλήθος κυττάρων με διαφορετικές τύχες κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης (Lewin, 2004).

### **Γονιδιακή αποτύπωση (Genomic imprinting or Chromosomal imprinting)**

Με τον όρο αυτό καλείται το φαινόμενο της διαφορετικής φαινοτυπικής έκφρασης του ίδιου γενετικού υλικού που εξαρτάται από το φύλο του γονέα που το μεταβιβάζει. Γονιδιακή αποτύπωση είναι μια επιγενετική μορφή (μη μεντελικός τρόπος κληρονομικότητας) της γονιδιακής ρύθμισης που συνεπάγεται διαφορετική φυλοειδική μεθυλίωση του αλληλομόρφου ενός γονιδίου. Οι μηχανισμοί της αποτύπωσης δεν είναι τελείως κατανοητοί σε μοριακό επίπεδο, αλλά θεωρείται ότι

εμπλέκουν τροποποίηση της δομής της χρωματίνης ή της δυνατότητας του DNA να επηρεάζει τη γονιδιακή έκφραση. Οι μηχανισμοί αυτοί πρέπει να κληρονομούνται μη αντιστρεπτά σε σωματικούς ιστούς, αλλά να είναι αντιστρέψιμοι στα γεννητικά κύτταρα (Lewin, 2004), (Εικόνα 1).

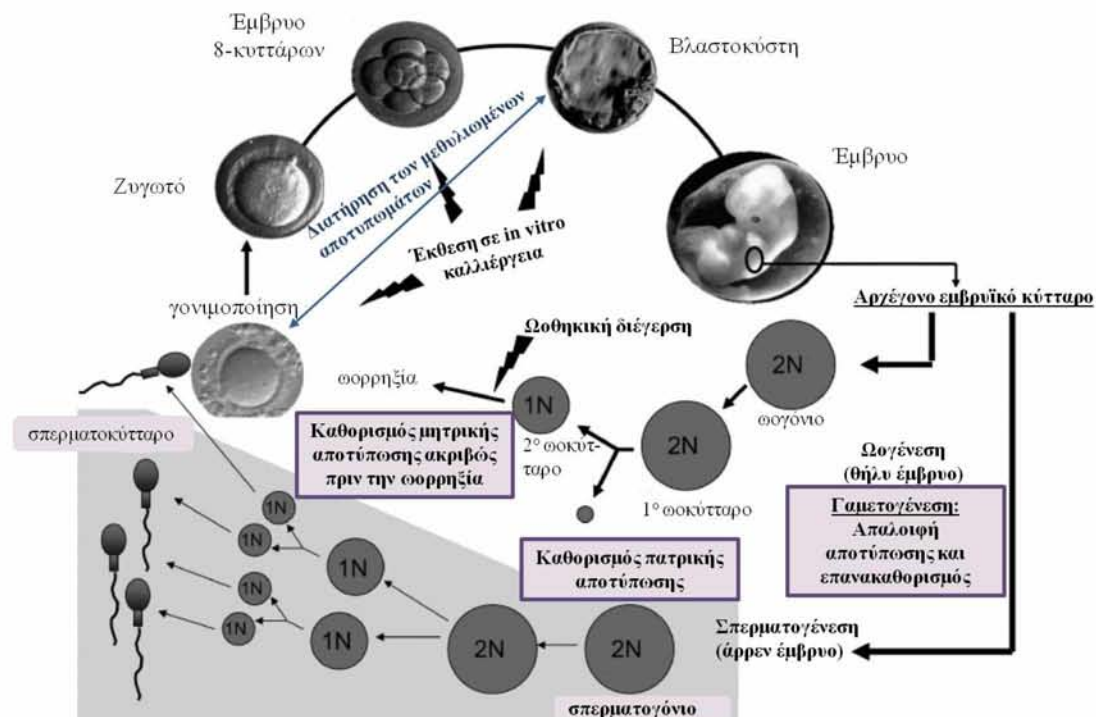


**Εικόνα 1.** \* Φυσιολογικά, τα σωματικά κύτταρα τόσο των αρσενικών όσο και των θηλυκών ατόμων, περιέχουν και τα μητρικά και τα πατρικά αποτυπωμένα χρωμοσώματα. \*\* Στους γαμέτες η αποτύπωση των γονιδίων από το γονίο του αντίθετου από του παιδιού φύλου, κατά την διάρκεια της σύλληψης μετατρέπεται σε αποτύπωμα που αντιστοιχεί στο φύλο του απογόνου. Αυτή η διαδικασία μετατροπής ελέγχεται από το κέντρο αποτύπωσης, που βρίσκεται μέσα στην περιοχή αποτύπωσης.

Τέλος, αξίζει να αναφερθεί ότι τα αποτυπωμένα γονίδια διακρίνονται σε πρωτογενή και δευτερογενή. Στα πρώτα, τα πρότυπα μεθυλίωσης προέρχονται από γαμέτες και μετά τη γονιμοποίηση μεταβιβάζονται ώστε να σχηματίσουν τα αποτυπώματα των σωματικών κυττάρων των απογόνων. Τα δευτερογενή αποτυπωμένα γονίδια αποκτούν το μοτίβο μεθυλίωσής τους μετά τη γονιμοποίηση (Εικόνα 2). Η πλειονότητα των αποτυπωμένων γονιδίων προέρχεται συνήθως από το ωοκύτταρο και ο σημαντικός ρόλος τους έγκειται στη συσχέτισή τους με την ανάπτυξη του εμβρύου, τη λειτουργία του πλακούντα, τη συμπεριφορά και τις νευρολογικές διαδικασίες. Σφάλματα κατά την αποτύπωση είναι γνωστό ότι προκαλούν στον άνθρωπο συγγενείς διαταραχές, σύνδρομο Beckwith-Wiedemann, σύνδρομο Prader-Willi και σύνδρομο



Angelman. Ακόμη και ορισμένες περιπτώσεις καρκίνου οφείλονται σε σφάλματα γονιδιακής αποτύπωσης (Geuns, 2003).



**Εικόνα 2.** Η ART λαμβάνει χώρα κατά την αναπτυξιακή περίοδο, που η αποτύπωση είναι αρκετά ευπαθής. Η γαμετογένεση αποτελεί κρίσιμο στάδιο και στα δύο φύλα, επειδή τα αποτυπωμένα γονίδια σβήνονται (απομεθυλιώνονται) και επανεγκαθίστανται φυλοειδικά, στους αναπτυσσόμενους γαμέτες. Τα αποτυπωμένα γονίδια στο πατρικό αλληλόμορφο (αρσενικός γαμέτης) προγραμματίζονται πολύ νωρίτερα από τα μητρικά (θηλυκός γαμέτης), γεγονός που αυξάνει τις πιθανότητες σφάλματος αποτύπωσης των μητρικών αλληλομόρφων κυρίως κατά τη διέγερση των ωοθηκών σε ART. Μετά τη γονιμοποίηση, υπάρχει δεύτερο κρίσιμο στάδιο ολικής απομεθυλίωσης των μη αποτυπωμένων περιοχών, ενώ διατηρούνται οι αποτυπωμένες ακολουθίες. Η ART εκθέτει το αναπτυσσόμενο έμβρυο τη περίοδο συντήρησης της μεθυλίωσης σε in vitro καλλιέργεια και σε διάφορους παρεμβατικούς χειρισμούς (Owen et al., 2009).

### Μονογονεϊκή δισωμία (UPD)

Ως μονογονεϊκή δισωμία (uniparental disomy) ορίζεται η παρουσία στον καρυότυπο του απογόνου και των δύο ομόλογων χρωμοσωμάτων ενός χρωμοσωμικού ζεύγους που προέρχεται από τον ίδιο γονέα. Αποτελεί συνέπεια του χρωμοσωμικού μη αποχωρισμού. Η UPD μπορεί να προκύψει ως ένα τυχαίο γεγονός κατά το σχηματισμό του ωαρίου ή σπέρματος ή μπορεί να συμβεί στις αρχές της ανάπτυξης του εμβρύου. Καταλήγει στον άνθρωπο σε γενετικές διαταραχές σαν αποτέλεσμα ομοζυγωτίας υπολειπόμενων φαινοτύπων, ισοδισωμία, ή σαν αποτέλεσμα γονιδιακής αποτύπωσης (genomic imprinting). Στις αυτοσωμικές υπολειπόμενες διαταραχές που

συνδέονται με μητρική ή πατρική δισωμία το παιδί που πάσχει είναι ομοζυγώτης, λόγω μονογονεϊκής δισωμίας, μιας μεταλλαγής που βρέθηκε σε ένα γονέα φορέα, και είναι προφανές ότι περιπτώσεις μητρικής ή πατρικής δισωμίας αποτελούν παραδείγματα κληρονομικότητας μη-μεντελικού χαρακτήρα (Kotzot, 2001). Επειδή τα περισσότερα γονίδια δεν είναι αποτυπωμένα, δεν έχει σημασία αν ένα άτομο κληρονομεί δύο αντίγραφα από τον ένα γονέα αντί για ένα αντίγραφο από κάθε γονέα. Πολλές συνεπώς περιπτώσεις UPD δεν επηρεάζουν την υγεία ή την ανάπτυξη. Σε ορισμένες περιπτώσεις, ωστόσο, ένα άτομο με UPD μπορεί να στερείται κάθε ενεργό αντίγραφο των βασικών γονιδίων που υφίστανται γονιδιακή αποτύπωση και η απώλεια της λειτουργίας των γονιδίων αυτών μπορεί να οδηγήσει σε καθυστερημένη ανάπτυξη, διανοητική καθυστέρηση, ή άλλα ιατρικά προβλήματα. Αρκετές γενετικές διαταραχές μπορούν να προκύψουν από UPD ή διακοπής της κανονικής γονιδιακής αποτύπωσης, όπως το σύνδρομο Beckwith-Wiedemann, το οποίο αποτελεί μια διαταραχή που συνδέεται με ανωμαλίες αποτύπωσης γονιδίων στο βραχύ βραχίονα του χρωμοσώματος 11. Επίσης τα σύνδρομα Prader-Willi και Angelman δύναται να προκληθούν από UPD ή άλλου είδους λάθη στην αποτύπωση που αφορούν γονίδια στο μακρύ σκέλος του χρωμοσώματος 15 ([ghr.nlm.nih.gov](http://ghr.nlm.nih.gov)).

## **2.6. ΑΝΩΜΑΛΙΕΣ ΑΠΟΤΥΠΩΣΗΣ - ΕΠΙΠΤΩΣΕΙΣ**

### ***I. Σύνδρομο Beckwith-Wiedemann (BWS)***

Το σύνδρομο Beckwith-Wiedemann είναι σύνδρομο συγγενούς υπερανάπτυξης, η οποία μπορεί να επηρεάσει όλα τα συστήματα του σώματος και η συχνότητα εμφάνισής του κυμαίνεται σε 1:13.700 γεννήσεις ζώντων νεογνών (Amor and Halliday, 2008, Owen and Segars, 2009). Το BWS προκύπτει από τις μεταλλάξεις ή τους επιγενετικούς μηχανισμούς που έχουν επιπτώσεις στα αποτυπωμένα γονίδια στην περιοχή 11p15.5. Οι περισσότερες περιπτώσεις του συνδρόμου είναι σποραδικές και αποτέλεσμα λανθασμένης αποτύπωσης, επιμεταλλάξεων (epimutations) που περιλαμβάνουν μία από τις δύο περιοχές 11p15.5 ελέγχου αποτύπωσης (IC1 και IC2). Επιπλέον, η μονογονεϊκή δισωμία ή τα λάθη κατά την αποτύπωση αποτελούν κυρίαρχες αιτίες εκδήλωσης του συνδρόμου (Lim et al., 2009).

Βασικά γνωρίσματα του συνδρόμου αποτελούν η μακροσωμία, η μακρογλωσσία, η ομφαλοκήλη (Εικόνα 3), τα προεξέχοντα μάτια, τα τριχοειδή αιμαγγειώματα στο

μέτωπο, τα ελλείμματα πρόσθιου κοιλιακού τοιχώματος- εξόμφαλος, η διάσταση των ορθών κοιλιακών μυών, κάποιες νεοπλασίες (καρκίνωμα επινεφριδίων, γοναδοβλάστωμα) (Shiota and Yamada, 2009), η υπερπλασία β-κυττάρων παγκρέατος- υπερινσουλιναμία και η υπογλυκαιμία. Επιπλέον, τα παιδιά με BWS έχουν αυξημένη προδιάθεση για εμφάνιση εμβρυικών όγκων (όγκος Wilms), ραβδομυοσαρκωμάτων και αιματοβλαστωμάτων (Owen and Segars, 2009, [www.beckwith-wiedemannsyndrome.org](http://www.beckwith-wiedemannsyndrome.org)).

### Σύνδρομο Beckwith-Wiedemann



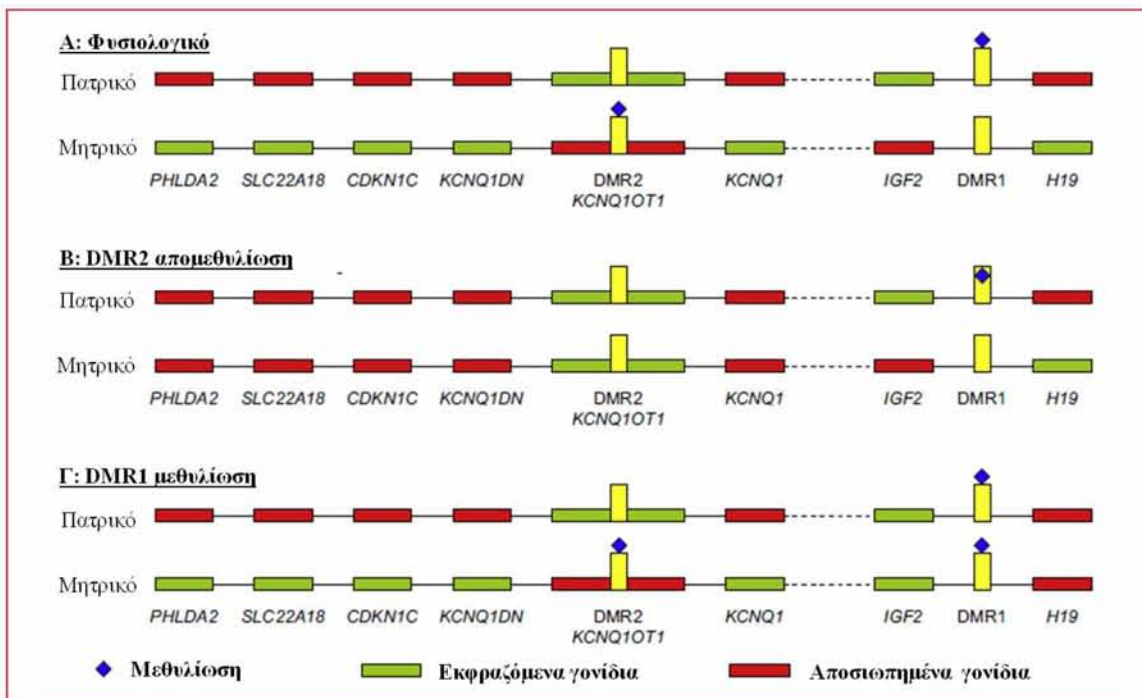
Μικροκεφαλία      Μακρογλωσσία      Ομφαλοκήλη

**Εικόνα 3.** Ορισμένα από τα βασικά φαινοτυπικά χαρακτηριστικά του BWS ([health.allrefer.com](http://health.allrefer.com)).

Το σύνδρομο Beckwith-Wiedemann αποτελεί μια πολυγονιδιακή πάθηση που οφείλεται σε διαταραχή στην οργάνωση των γονιδίων στη χρωμοσωμική περιοχή 11p15.5, η οποία είναι υπεύθυνη για την φυσιολογική ανάπτυξη και τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό. Τα αποτυπωμένα γονίδια στην περιοχή 11p15.5 που εμπλέκονται στην αιτιολογία του BWS περιλαμβάνουν τα πατρικά εκφρασμένα γονίδια IGF2 και KCNQ1OT1 και τα μητρικά εκφρασμένα γονίδια H19, CDKN1C, και KCNQ1 (Εικόνα 4) (Manipalviratn et al., 2009).

Κανονικά, τα γονίδια H19 και IGF2 ρυθμίζονται και τα δύο από το DMR1 έτσι ώστε το H19 να εκφράζεται μόνο από το μητρικό αλληλόμορφο γονίδιο, ενώ το IGF2 να εκφράζεται μόνο από το πατρικό αλληλόμορφο γονίδιο. Πιο συγκεκριμένα, υπάρχουν πέντε πιθανές αιτίες γέννησης παιδιών με BWS που δεν έχουν συγγενείς με BWS ([www.bws-support.org.uk](http://www.bws-support.org.uk), Manipalviratn, 2009):

1. επιγενετικά λάθη στην χρωμοσωμική περιοχή 11p15:
  - α) υπομεθυλιωμένο DMR2, συνεπάγεται μείωση των επιπέδων του CDKN1C (40-50%), ή
  - β) υπερμεθυλίωση H19 DMR1, συνεπάγεται αυξημένα επίπεδα IGF2 (5-7%).



**Εικόνα 4.** Διαγραμματική απεικόνιση των επιγενετικών τροποποιήσεων του συμπλέγματος των αποτυπωμένων γονιδίων της περιοχής 11p15.5 στο BWS. Α: Φυσιολογικό. Β: BWS λόγω χασίματος μεθυλίωσης του μητρικού DMR2 (κυριότερη αιτιολογία BWS στα παιδιά μετά από υποβοηθούμενη αναπαραγωγή). Γ: BWS λόγω μεθυλίωσης του μητρικού DMR1 (Manipalviratn et al., 2009).

2. πατρική μονογονεϊκή δισωμία (20%), δηλαδή και τα δύο χρωμοσώματα 11 έχουν κληρονομηθεί από τον πατέρα, με αποτέλεσμα να είναι αυξημένη η εκφραστικότητα του γονιδίου IGF2 και μειωμένη του CDKN1C.
3. σπάνιες χρωμοσωμικές ανωμαλίες (~2%) που πιθανόν κληρονομήθηκαν από τους γονείς ή προκλήθηκαν de novo στο έμβρυο,
4. μεταλλάξεις στο αντίγραφο του γονιδίου CDKN1C που κληρονομήθηκε από τη μητέρα (5-10%),
5. άγνωστη αιτιολογία (10%), δείχνει ότι υπάρχουν και πρόσθετες αιτίες του συνδρόμου BWS που δεν έχουν ακόμη καθορισθεί.

Η συντριπτική πλειονότητα των μελετών έχουν καταδείξει ότι 90-100% των περιπτώσεων του συνδρόμου BWS αποκλίνουν από το μοτίβο της φυσιολογικής αποτύπωσης και παρουσιάζουν κυρίως υπομεθυλίωση του μητρικού αλληλόμορφου γονιδίου του DMR2, ως τη μοριακή αιτία εμφάνισης του συνδρόμου στις γεννήσεις παιδιών με BWS μετά από σύλληψη με τη χρήση των μεθόδων της υποβοηθούμενης αναπαραγωγής έναντι του 50-60% των BWS του γενικού πληθυσμού (Manipalviratn et al., 2009). Ασθενείς με BWS έχουν περιγραφεί πλην των περιπτώσεων όπου ακολουθήθηκαν μέθοδοι υποβοηθούμενης αναπαραγωγής και σε φυσιολογικές

συλλήψεις που επιτεύχθηκαν μετά την πάροδο 12 μηνών υπογονιμότητας, γι' αυτό η οριστικοποίηση αυτών των παρατηρήσεων παραμένει αβέβαιη (Amor et al., 2008).

Σύμφωνα με τον *Halliday et al.* το 2004 εκτιμήθηκε ότι η πιθανότητα να προκύψει παιδί με BWS σε σχέση με φυσιολογικό παιδί, μετά από σύλληψη με AR ήταν 9 φορές μεγαλύτερη (Lim et al., 2009). Αν υποθέσουμε ότι οι επιγενετικοί μηχανισμοί αποτελούν περίπου το 65% των περιπτώσεων BWS και ότι ο αυξανόμενος κίνδυνος από ART αφορά μόνο τις επιμεταλλάξεις και όχι τις γενετικές μεταλλάξεις, τότε μπορεί να υπολογιστεί ότι οι ασθενείς με το σύνδρομο Beckwith-Wiedemann με επιμετάλλαξη είναι περίπου 14 φορές πιο πιθανό να έχουν συλληφθεί με ART έναντι των ασθενών χωρίς επιμετάλλαξη BWS (Amor and Halliday, 2008).

Επιπρόσθετα, το 2005 ο *Chang et al.* αναφέρει ότι δεν υπάρχουν φαινοτυπικές διαφορές μεταξύ των παιδιών με BWS που προέκυψαν με AR και φυσιολογική σύλληψη. Προσθέτει, ακόμη, ότι στις συλλήψεις με AR παρατηρείται μικρότερη πιθανότητα εμφάνισης εξόμφαλου, ενώ πιθανολογείται ότι υπάρχει μεγαλύτερη τάση για εμφάνιση νεοπλασιών και όχι όγκων Wilms (Lim et al., 2009). Ειδικότερα, μετά από έρευνα για τους συσχετισμούς γονοτύπου/επι-γονοτύπου-φαινοτύπου σε αρκετές περιπτώσεις με επιβεβαιωμένη μοριακή γενετική διάγνωση BWS, συνδέθηκε έντονα η ημι-υπερτροφία με τη μονογονεϊκή δισωμία ( $P < 0.0001$ ) και η παρουσία εξόμφαλου με μια IC2 ανωμαλία ή μια μεταλλαγή στο CDKN1C, αλλά όχι μονογονεϊκή δισωμία ή IC1 ανωμαλία ( $P < 0.0001$ ) (Cooper, 2005).

Εν τούτοις, το αυξανόμενο ποσοστό της ανωμαλίας μεταξύ των περιπτώσεων BWS γεννημένων με AR θα μπορούσε να είναι τυχαίο, δεδομένου ότι δεν αξιολογήθηκαν μοριακά όλες οι περιπτώσεις BWS, αν και τα στοιχεία που υπάρχουν προτείνουν μια συσχέτιση μεταξύ BWS και AR (Manipalviratn et al., 2009). Η πρόταση αυτή τεκμηριώνεται από την άποψη ότι μια ανωμαλία κατά την αποτύπωση μπορεί να οφείλεται και στην ιδιαίτερη ευπάθεια του σταδίου πριν την εμφύτευση κατά το οποίο το έμβryo υφίσταται, στην AR, χειρισμούς και επιρροές από εξωγενείς παράγοντες.

Στον πίνακα 5 παρατίθενται συνοπτικά οι μοριακές και γενετικές μέθοδοι βάση των οποίων μπορεί να γίνει έλεγχος ή επιβεβαίωση της παρουσίας του συνδρόμου.

Μέθοδος	Ανιχνεύσιμες μεταβολές	Ποσοστά ανίχνευσης
Καρύοτυπος, FISH	Κυτταρογενετικός διπλασιασμός, μετάθεση ή αναστροφή <sup>1</sup>	1%-2%
Μικροδορυφορική ανάλυση ή ανάλυση διπλής μεθυλίωσης στα γονίδια DMR1 και DMR2	11p15.5 πατρική μονογονεϊκή δισωμία <sup>2</sup>	10%-20%
Ανίχνευση μεθυλίωσης	Ανωμαλίες μεθυλίωσης στο <i>KCNQ1OT1</i> (DMR2)	50%-60%
	Ανωμαλίες μεθυλίωσης στο <i>H19</i>	2%-7%
Ανάλυση αλληλουχιών/ scanning για μεταλλάξεις	Μεταλλάξεις στο <i>CDKN1C</i>	5%-10%
		~40% σε οικογένειες με αυτοσωμική επικρατήση

**Πίνακας 5.** Σύνοψη των δοκιμών μοριακής γενετικής που χρησιμοποιούνται για τη διάγνωση-επιβεβαίωση του BWS ([www.ncbi.nlm.nih.gov](http://www.ncbi.nlm.nih.gov)).<sup>1</sup> Στα άτομα που εκπληρώνουν τα κλινικά διαγνωστικά κριτήρια για BWS. <sup>2</sup> Τα ψευδώς αρνητικά μπορούν να εμφανιστούν ως συνέπεια σωματικού μωσαϊκισμού για UPD. Η δοκιμή εξέτασης ιστού από μια δεύτερη πηγή (π.χ., κύτταρα ινοβλάστων, από μια βιοψία δέρματος) μπορεί να είναι χρήσιμη.

Επομένως, κρίνεται αναγκαία η εφαρμογή μιας μεγάλης πολυκεντρικής μελέτης διεθνούς εμβέλειας στην οποία θα γίνεται σύγκριση της επικράτησης του BWS μεταξύ των φυσικά συλληφθέντων παιδιών και των παιδιών που συλλαμβάνονται μετά από υποβοηθούμενη αναπαραγωγή, διότι μέχρι σήμερα τα αποτελέσματα που προκύπτουν από διάφορες μελέτες είναι ασυμβίβαστα μεταξύ τους και επομένως δεν μπορούν να εξαχθούν σαφή συμπεράσματα (Manipalviratn et al., 2009).

## II. Σύνδρομο Angelman (AS)

Το σύνδρομο Angelman, είναι μια σπάνια νευρο-γενετική διαταραχή με συχνότητα εμφάνισης στο γενικό πληθυσμό 1:12.000, αν και οι ανωμαλίες αποτύπωσης αποτελούν αιτιολογικό παράγοντα σε λιγότερα από 5% όλων των περιπτώσεων, με αποτέλεσμα η συχνότητα των περιπτώσεων παθολογικής αποτύπωσης να αντιστοιχεί σε 1:300.000 νεογνά περίπου (Maniralviratn et al., 2009). Βασικά χαρακτηριστικά του συνδρόμου αποτελούν η πνευματική και αναπτυξιακή καθυστέρηση, οι διαταραχές ύπνου, οι επιληπτικές κρίσεις, οι σπασμωδικές κινήσεις, συχνά το χαμόγελο και το γέλιο και ο ανώμαλος βηματισμός ([www.angelman.org](http://www.angelman.org)) (Εικόνα 5).



Εικόνα 5. Παιδί με AS ([medgen.genetics.utah.edu](http://medgen.genetics.utah.edu)).

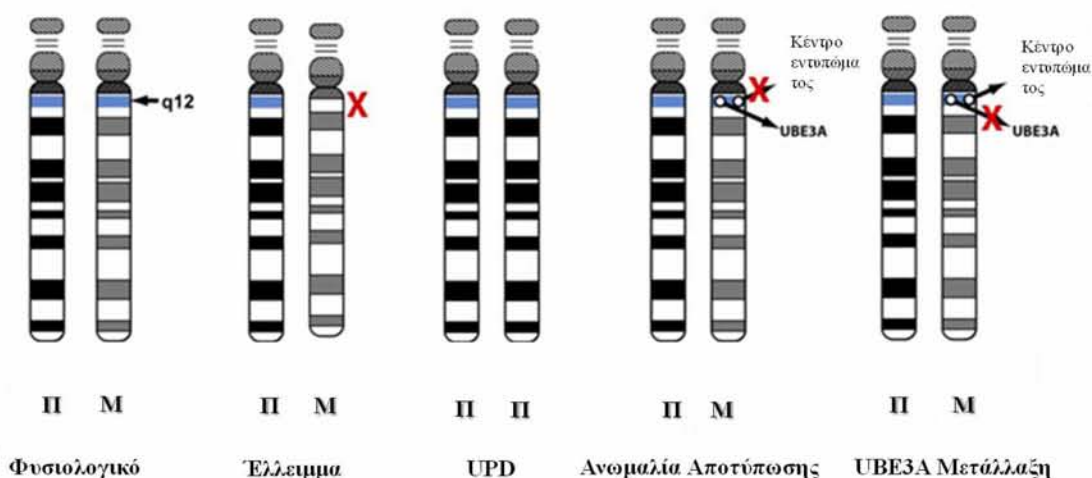
Ένα υγιές άτομο λαμβάνει δύο αντίγραφα του χρωμοσώματος 15 το ένα από τη μητέρα, το άλλο από τον πατέρα. Ωστόσο, στην κρίσιμη περιοχή του χρωμοσώματος για το σύνδρομο Angelman, τα μητρικής και τα πατρικής προέλευσης γονίδια παρουσιάζουν πολύ διαφορετικό τρόπο έκφρασης, που οφείλεται σε διαφορές μεθυλίωσης του DNA μεταξύ των φύλων. Σε ένα φυσιολογικό άτομο, το μητρικό αλληλόμορφο εκφράζεται και το πατρικό αποσιωπείται. Αν η μητρική συνεισφορά χαθεί ή μεταλλαχθεί, το αποτέλεσμα είναι σύνδρομο Angelman. Όταν η πατρική συνεισφορά χαθεί, με παρόμοιους μηχανισμούς, το αποτέλεσμα είναι σύνδρομο Prader-Willi.

Μοριακά, το σύνδρομο Angelman οφείλεται στην ανεπάρκεια της μητρικής έκφρασης του γονιδίου *UBE3A*, που βρίσκεται μέσα στην αποτυπωμένη περιοχή του χρωμοσώματος 15, στις ζώνες από 15q11 έως 15q13, στον εγκέφαλο (Maniralviratn et al., 2009). Πιο συγκεκριμένα, η πατρική αποσιώπηση του γονιδίου *UBE3A* συμβαίνει στον εγκέφαλο σε συγκεκριμένες περιφέρειες όπως στην παρεγκεφαλίδα, ενώ το μητρικό αλληλόμορφο είναι το αποκλειστικά ενεργό.

Πολλοί διαφορετικοί γενετικοί μηχανισμοί μπορούν να αδρανοποιήσουν ή να διαγράψουν το μητρικό αντίγραφο του γονιδίου *UBE3A*. Οι πιο γνωστοί από αυτούς που προκαλούν AS περιλαμβάνουν την απώλεια της έκφρασης του γονιδίου *UBE3A* που κληρονομείται από τη μητέρα και μπορεί να προκύψει είτε από μια παρουσία

μητρικού ελλείμματος 4-6MB από τη χρωμοσωμική περιοχή 15q11-13 προκαλώντας απουσία έκφρασης *UBE3A* στις πατρικά αποτυπωμένες περιοχές του εγκεφάλου ~70%, είτε από κάποια ενδογονιδιακή *UBE3A* μετάλλαξη στο μητρικό αλληλόμορφο 11%, είτε από πατρική μονογονεϊκή δισωμία 7%, ή μια ανωμαλία στο πρότυπο μεθυλίωσης (αποτύπωση) των γονιδίων των μητρικών αλληλομόρφων 3% (Owen and Segars, 2009), (Εικόνα 6). Για ένα ποσοστό 10-15% των ατόμων με AS τα αίτια εμφάνισής του παραμένουν άγνωστα. Επισημαίνεται, ότι αυτές οι γενετικές αλλαγές μπορούν να απενεργοποιήσουν το γονίδιο *UBE3A* ή άλλα γονίδια από το μητρικό αντίγραφο του χρωμοσώματος 15 (Amor and Halliday, 2008).

Αλλαγές που αφορούν διαταραχές άλλων γονιδίων ή χρωμοσωμάτων μπορεί επίσης να ευθύνονται για την παθογένεια των ατόμων αυτών. Συχνά σε ορισμένα άτομα με σύνδρομο Angelman παρατηρείται διαγραφή του γονιδίου *OCA2* που εδράζεται στο χρωμόσωμα 15, με αποτέλεσμα τα άτομα αυτά να εμφανίζουν ανοιχτόχρωμα μαλλιά και δέρμα. Η πρωτεΐνη που παράγεται από το γονίδιο αυτό βοηθά στον καθορισμό του χρώματος στο δέρμα, τα μαλλιά και τους οφθαλμούς ([www.angelman.org](http://www.angelman.org)).



**Εικόνα 6.** Απεικονίζεται ένα ζευγάρι χρωμοσωμάτων 15 για κάθε μηχανισμό και ο τρόπος λειτουργίας του κάθε μηχανισμού. Π=πατρικό κληρονομούμενο χρωμόσωμα, Μ=μητρικό κληρονομούμενο χρωμόσωμα. AS μπορεί να προκληθεί: 1) από μεγάλη διαγραφή μητρικής χρωμοσωμικής περιοχής 15q12 (όπου βρίσκεται και το ενεργό γονίδιο *UBE3A*), 2) από πατρική δισωμία, 3) ανωμαλία αποτύπωσης, που εμφανίζεται όταν υπάρχει το χρωμόσωμα 15 της μητέρας που όμως έχει το πατρικό σχέδιο λειτουργίας έτσι ώστε πάει η έκφραση *UBE3A*. Το κέντρο που είναι υπεύθυνο για την αποτυπωμένη περιοχή βρίσκεται κάποια απόσταση από το γονίδιο *UBE3A* αλλά είναι ακόμα ικανό να ρυθμίσει την έκφραση του γονιδίου *UBE3A* με σύνθετο μηχανισμό που αποτελεί αντικείμενο έρευνας. 4) Τέλος, μπορεί να προκληθεί από μια μετάλλαξη στο γονίδιο *UBE3A* στο μητρικά κληρονομούμενο χρωμόσωμα 15 ([www.angelman.org](http://www.angelman.org)).



Σε μια πρόσφατη μελέτη, το 2005, οι *Ludwing et al* κατέδειξαν ότι 20% των ασθενών με σύνδρομο Angelman γεννήθηκε από υπογόνιμα ζευγάρια. Υποθέτοντας ότι μια ανωμαλία αποτύπωσης αντιπροσωπεύει το 4% των ασθενών με AS, ο σχετικός κίνδυνος ανωμαλίας αποτύπωσης παιδιών AS γεννημένων από υπογόνιμα ζευγάρια ήταν 6.25 (95% CI, 1.68-16.00) και ο σχετικός κίνδυνος για ανίχνευση ανωμαλίας αποτύπωσης σε παιδιά γεννημένα από υπογόνιμα ζευγάρια που δεν ακολούθησαν κάποια θεραπευτική αγωγή ήταν ίδια με εκείνων που απόκτησαν παιδιά μετά από ICSI ή μετά από ορμονική διέγερση RR  $\frac{1}{4}$  6.25 (95% CI: 0.70-22.57). Ο σχετικός κίνδυνος ήταν δύο φορές πιο υψηλός στα υπογόνιμα ζευγάρια που είχαν λάβει θεραπεία (RR  $\frac{1}{4}$  2.5 95% CI, 1.40-45.13). Τα στοιχεία από αυτήν την μελέτη πρότειναν ότι τα υπογόνιμα ζευγάρια είχαν έναν αυξανόμενο κίνδυνο σύλληψης παιδιού με ανωμαλία αποτύπωσης που προκαλεί AS. Οι συγγραφείς πρότειναν επίσης ότι η αποτύπωση των ατελειών και η υπογονιμότητα μπορεί να έχουν κοινή αιτία και ότι πιθανώς η υπερπαραγωγή ωαρίων παρά η ICSI να αυξάνει περαιτέρω τον κίνδυνο απόκτησης παιδιού με ανωμαλία αποτύπωσης (Ludwing et al., 2005).

Κάτι αντίστοιχο υποστηρίζεται και από μια μελέτη που διεξήχθη στην Ολλανδία. Τα στοιχεία από αυτήν την μελέτη πρότειναν ότι γεννήθηκε υψηλότερο ποσοστό παιδιών AS που από γονείς με προβλήματα γονιμότητας που ακολούθησαν θεραπευτική διέγερση ωοθηκών (Manipalviratn et al., 2009).

Σύμφωνα με τα στοιχεία που υπάρχουν μέχρι σήμερα, έχουν αναφερθεί επτά περιπτώσεις παιδιών AS γεννημένα μετά από IVF ή ICSI, που εμφάνισαν ανωμαλία αποτύπωσης ως αιτιολογικό παράγοντα. Αν και ο αριθμός των περιπτώσεων είναι μικρός, εξαιτίας της σπανιότητας της ασθένειας, το ποσοστό των παιδιών με ανωμαλία αποτύπωσης ως αιτία AS (71%), είναι υψηλότερο απ' ό,τι στο γενικό πληθυσμό, γεγονός που προτείνει την ύπαρξη κάποιας συσχέτισης μεταξύ εμφάνισης του συνδρόμου Angelman και ART. Η διαγνωστική προσέγγιση του συνδρόμου με μοριακή γενετική απεικονίζεται στον πίνακα 6. Ασαφής, όμως, παραμένει, το αν η αιτία στην οποία οφείλεται η ανωμαλία αποτύπωσης είναι η IVF, η ICSI ή η επαγωγή της ωοθυλακιορρηξίας, και γι' αυτό απαιτείται περαιτέρω μελέτη (Manipalviratn et al., 2009).

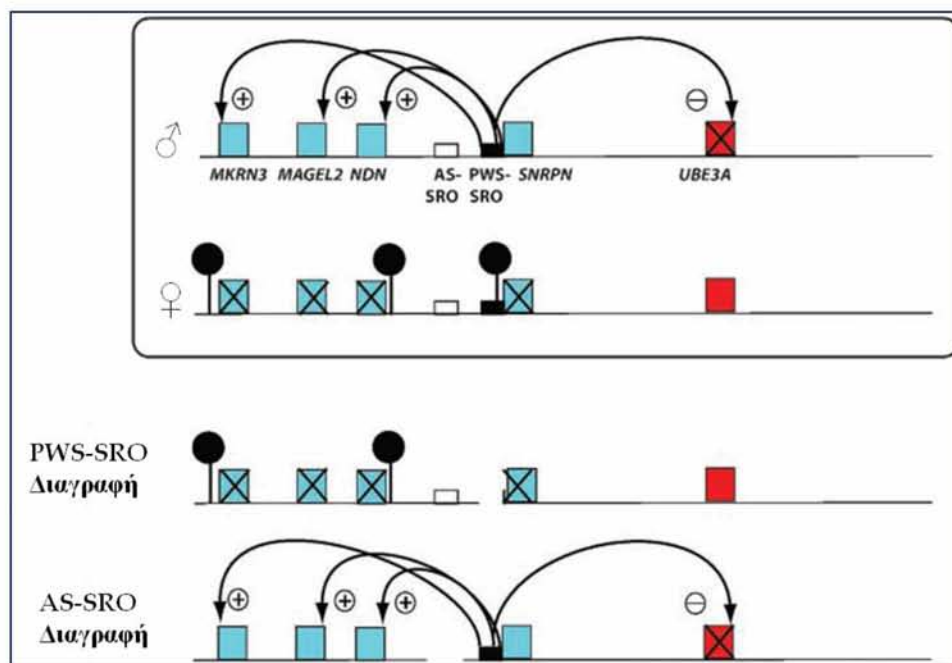
Γονεϊκό εντύπωμα-ειδική μεθυλίωση DNA	Γονιδιακή ή χρωμοσωμική θέση	Μέθοδος διάγνωσης	Ανιχνεύσιμες μεταλλάξεις	Συχνότητα ανίχνευσης μεταλλάξεων της μεθόδου <sup>1</sup>
Παθολογικός <sup>1</sup>	AS/PWS περιοχή	FISH ή aGH	5-7Mb έλλειμμα στην 15q11.2-q13	~68%
	Χρωμόσωμα 15	Έλεγχος UPD	UPD	~7%
	AS IC	Ανάλυση ελλειμμάτων <sup>2,3</sup>	Ελλείμματα 6-200kb	~3%
Φυσιολογικός	<i>UBE3A</i>	Ανάλυση αλληλουχιών (Sequencing)	Ποικιλομορφία-μεταβολές στην αλληλουχία	~11%
		Ανάλυση διαγραφής/διπλασιασμού <sup>2,4</sup>	Μερική ή ολική διαγραφή γονιδίου	Σπάνια

**Πίνακας 6.** Συνοπτική παρουσίαση των δοκιμών της μοριακής γενετικής που χρησιμοποιούνται στο σύνδρομο Angelman μετά από την ανάλυση μεθυλίωσης του DNA ([www.ncbi.nlm.nih.gov](http://www.ncbi.nlm.nih.gov)). <sup>1</sup>11% των ατόμων με πιθανή κλινική διάγνωση AS έχει τα κανονικά αποτελέσματα για όλες τις μεθόδους που ανφέρονται σε αυτόν τον πίνακα. <sup>2</sup>Εξετάσεις που ανιχνεύουν τις διαγραφές που δεν είναι εύκολα ανιχνεύσιμες από την ανάλυση ακολουθίας του γονιμικού DNA, χρησιμοποιούν μεθόδους όπως η Q-PCR, η RT-PCR και η MLPA. Η έκταση της διαγραφής που ανιχνεύεται μπορεί να ποικίλει ανάλογα με τη μέθοδο και το εργαστήριο. <sup>3</sup>Η ανάλυση διαγραφής του AS IC ανιχνεύει μικρά ελλείμματα, τα οποία υπολογίζονται στο 10%-20% των IDs. <sup>4</sup>Αν και η ανάλυση aGH ανιχνεύει συνήθως τις μεγάλες διαγραφές 15q11.2-13, σε σπάνιες περιπτώσεις έχει ανιχνεύσει *UBE3A* διαγραφές πολλών εξονίων ή διαγραφές ολόκληρων γονιδίων.

### III. Σύνδρομο Prader - Willi (PWS)

Το σύνδρομο Prader Willi είναι σύνθετο γενετικό σύνδρομο που χαρακτηρίζεται κυτταρογενετικά από έλλειψη κάποιων γονιδίων του 15<sup>ου</sup> χρωμοσώματος, που κληρονομήθηκαν από τον πατέρα. Η συχνότητα εμφάνισης του συνδρόμου κυμαίνεται περίπου στο 1:10-15.000 νεογέννητα και είναι ίδια σε όλες τις φυλές και για όλα τα φύλα. Στην πλειοψηφία των περιπτώσεων, υπάρχει ένα κυτταρογενετικά ορατό διάμεσο έλλειμμα 15q11-13q, στο 15<sup>ο</sup> πατρικό χρωμόσωμα που κληρονομήθηκε, με αποτέλεσμα να χάνονται κρίσιμα για τη φυσιολογική ανάπτυξη γονίδια (Horsthemke and Wagstaff, 2008). Οι υπόλοιπες περιπτώσεις, οφείλονται είτε σε υπομικροσκοπικά ελλείμματα, είτε στην ύπαρξη δύο χρωμοσωμάτων 15 μητρικής προέλευσης (μητρική δισωμία). Στην περιοχή 15q11-q13 χαρτογραφούνται δώδεκα

σχεδόν γονίδια που είναι γνωστά αποτυπωμένα πατρικά (ενεργά) ενώ τα αντίστοιχα μητρικά μένουν μεθυλιωμένα και σιωπηλά. Αρκετά από αυτά τα γονίδια είναι υποψήφια για την πρόκληση των χαρακτηριστικών γνωρισμάτων του PWS, συμπεριλαμβανομένων των γονιδίων *SNURF/SNRPN*, *NDN*, *snoRNAs*, *MKRN3* και *MAGEL2*. Πολλά από τα γονίδια πατρικής έκφρασης στην περιοχή αυτή συμμετέχουν στην ανάπτυξη εγκεφάλου και τη δημιουργία κλινικού φαινοτύπου PWS (Εικόνα 7).



**Εικόνα 7.** Πρότυπο για τον έλεγχο της έκφρασης γονιδίων στο 15q11-q13 από το PWS/AS-IC. Στο πατρικό αντίγραφο του χρωμοσώματος 15, το PWS-SRO είναι μη μεθυλιωμένο και ενεργό. Αυτό το μη μεθυλιωμένο αλληλόμορφο PWS-SRO λειτουργεί με άγνωστους μηχανισμούς για να ενεργοποιήσει τη μεταγραφή των γονιδίων *MKRN3*, *MAGEL2* και *NDN* και προκαλεί αποσιώπηση του γονιδίου *UBE3A* στον εγκέφαλο με μηχανισμούς που ίσως του προσδίδουν μια δυνατότητα λειτουργίας αντίστοιχη με προαγωγέα, για ένα αντιαγγελιαφόρο αντίγραφο. Στο μητρικό αντίγραφο του χρωμοσώματος 15, το PWS-SRO είναι μεθυλιωμένο και ανενεργό. Στην απουσία ενεργού PWS-SRO, τα γονίδια *MKRN*, *MAGEL2*, *NDN* και *SNRPN* αποσιωπώνται και το *UBE3A* είναι μεταγραφικά ενεργό στον εγκέφαλο (Horsthemke B. 2008).

Πιο συγκεκριμένα, ένα άτομο χωρίς σύνδρομο Prader-Willi λαμβάνει ένα χρωμόσωμα 15 από τη μητέρα και άλλο από τον πατέρα. Στο σύνδρομο Prader-Willi υπάρχουν τρεις γενετικές υποκατηγορίες: η διαγραφή, η μητρική δισωμία και η κληρονόμηση ανώμαλης αποτύπωσης από τον πατέρα.

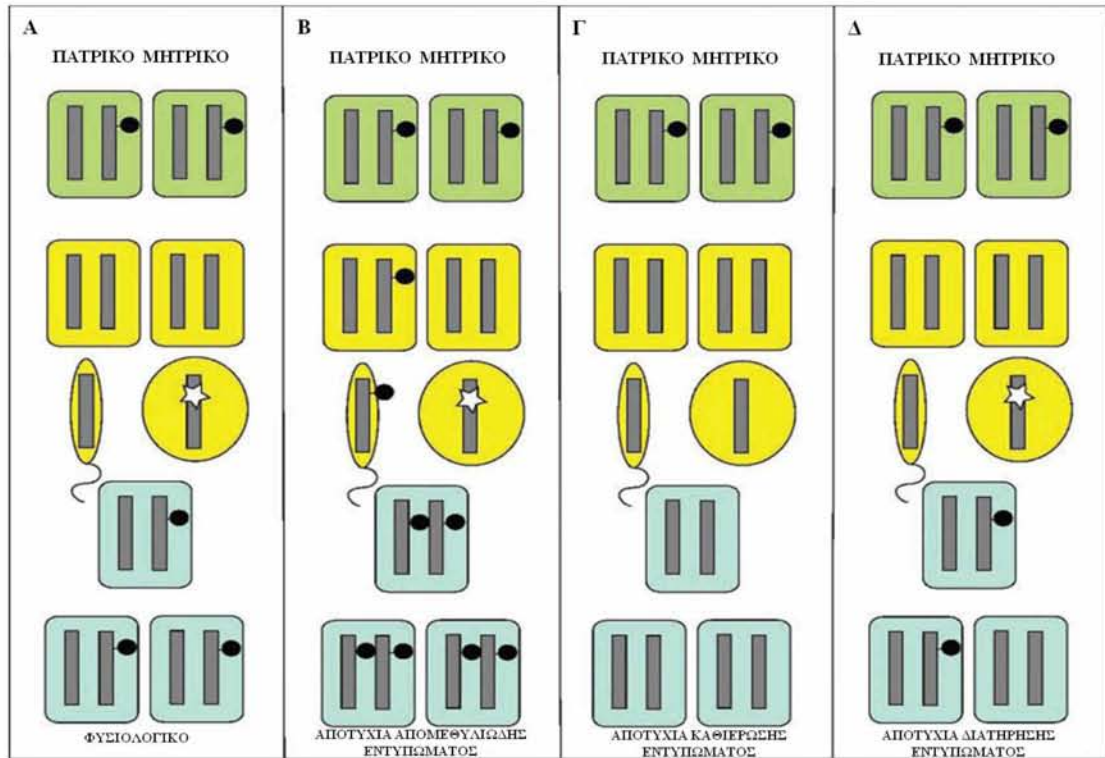
1. **Διαγραφή – 70%:** Διαγραφή-έλλειψη της q12 ζώνης του χρωμοσώματος 15 που προέρχεται από τον πατέρα ο οποίος συμβάλει σε περίπου 70% των περιστατικών όπου τα παιδιά εμφανίζουν το σύνδρομο Prader-Willi. Η

αποτυπωμένη περιοχή χρωμοσωμάτων 15q11-q13 περιλαμβάνει το γενετικό υλικό που είναι κανονικά ενεργό (πατρικά εκφραζόμενο) στο χρωμόσωμα 15 του πατέρα και ανενεργό στο χρωμόσωμα 15 που κληρονομείται από τη μητέρα. Επομένως, στο PWS τα πατρικά εκφρασμένα γονίδια στην 15q11-q13 περιοχή λείπουν.

2. **Μητρική Δισωμία ή UPD - 25%:** Στο 25% των περιστατικών με το σύνδρομο Prader-Willi, και τα δύο χρωμοσώματα 15 κληρονομούνται από τη μητέρα και κανένα πατρικό χρωμόσωμα 15 δεν είναι παρόν. Το απών πατρικό χρωμόσωμα 15 που περιέχει τα ενεργά και τα πατρικά εκφρασμένα γονίδια που απαιτούνται για κανονική ανάπτυξη προκαλεί PWS, εφόσον και τα δύο χρωμοσώματα 15 είναι μητρικά.
3. **Βλάβες κεντρικής αποτύπωσης - 5%:** Μερικά από τα άτομα με το σύνδρομο Prader-Willi (~5%) μπορεί να έχουν κάποια ανωμαλία αποτύπωσης του χρωμοσώματος 15 που κληρονομείται από τον πατέρα, η οποία περιλαμβάνει την περιοχή q11-q13 (Εικόνα 8) ([www.pwsausa.org](http://www.pwsausa.org)). Αυτή η βλάβη αποτύπωσης δεν θα επιτρέψει κανονική έκφραση των γονιδίων που είναι ενεργά στο πατρικό χρωμόσωμα 15 και απαραίτητα για κανονική ανάπτυξη. Αυτές οι ανωμαλίες αποτύπωσης του πατρικού χρωμοσώματος 15 σπάνια κληρονομούνται με ενδεχόμενο κίνδυνο 50% και για άλλα παιδιά με PWS.

Όσον αφορά τα κλινικά χαρακτηριστικά, κατά τη γέννηση το νεογνό χαρακτηρίζεται από χαμηλό βάρος γέννησης και βαθμό ανάπτυξης για την ηλικία κύησης και υποτονία (αδύνατοι μύες). Άλλα χαρακτηριστικά του συνδρόμου είναι η ελλιπής σεξουαλική ανάπτυξη και το χρόνιο αίσθημα πείνας που συνδέεται με μεταβολισμό που χρησιμοποιεί δραστικά λιγότερες θερμίδες από τις κανονικές με αποτέλεσμα να οδηγούνται στην υπερβολική κατανάλωση τροφών και την απειλητική για τη ζωή παχυσαρκία. Η υπερφαγία διαρκεί σε όλη τη ζωή και αυτό διότι οι άνθρωποι με PWS έχουν περιορισμένης έκτασης περιοχή καταχώρησης αισθημάτων πείνας και κορεσμού στον υποθάλαμο.

Ο μέσος δείκτης νοημοσύνης (IQ) είναι 70, αλλά ακόμη και εκείνοι με κανονικό IQ εμφανίζουν προβλήματα μάθησης, χαμηλό ανάστημα, μικρά άκρα, υπογοναδισμό, υποτονία και καθυστέρηση κινητικής ανάπτυξης ([www.medcastle.com](http://www.medcastle.com)). Συχνά δεν αναφέρεται κάποια συσχέτιση με αυτισμό ([www.pwsausa.org](http://www.pwsausa.org)).



**Εικόνα 8.** Απεικόνιση λαθών αποτύπωσης στην περιοχή 15q11-q13, υπεύθυνα για την εμφάνιση PWS/AS. Στα σωματικά κύτταρα (πράσινα) των αρσενικών και των θηλυκών, το μητρικό αλληλόμορφο PWS-SRO είναι μεθυλωμένο (μαύρο). Στην φυσιολογική κατάσταση (Α), η μεθυλίωση χάνεται στα αρχέγονα γεννητικά κύτταρα (κίτρινα). Ένα πρωτεϊνικό σύμπλεγμα περιέχει τουλάχιστον μια πρωτεΐνη ειδική στη σειρά των ωοκυττάρων (αστέρι) συνδεδεμένο με το PWS-SRO κατά τη διάρκεια της ωογένεσης. Σύντομα μετά από τη γονιμοποίηση (μπλε), αυτό το σύμπλεγμα προκαλεί μεθυλίωση των CpG νησίδων του μητρικού PWS-SRO. Λάθη στην αποτύπωση μπορεί να προκύψουν λόγω αποτυχίας υπομεθυλίωσης στην πατρική βλαστική σειρά (Β), αποτυχίας καθιέρωσης της μεθυλίωσης μετά την ωογένεση και τη γονιμοποίηση (Γ), ή λόγω αποτυχίας διατήρησης της μεθυλίωσης μετά τη γονιμοποίηση (Δ). Αποτυχία διατήρησης της μεθυλίωσης οδηγεί σε σωματικό μωσαϊκισμό (Horsthemke and Wagstaff, 2008).

Επιπλέον, οι άνθρωποι με PWS τείνουν να έχουν βασανιστικές/καταναγκαστικές συμπεριφορές που δεν σχετίζονται με τροφή, όπως επαναλαμβανόμενες σκέψεις και διατυπώσεις, συλλογή και απόκρυψη ιδιωτικών αντικειμένων, αυτοτραυματισμός και ισχυρή ανάγκη για ρουτίνα και προβλεψιμότητα. Χαρακτηρίζονται ακόμη από συναισθηματικές διακυμάνσεις και προβλήματα κοινωνικής συμπεριφορά, τα οποία μετριάζονται με χορήγηση ψυχοτροπικών φαρμάκων και συνθετικής αυξητικής ορμόνης που βελτιώνουν τη ποιότητα ζωής των ανθρώπων με PWS, ενώ ουσιαστικό ρόλο διαδραματίζουν τα άτομα του οικογενειακού τους περιβάλλοντος καθώς χρειάζονται ισόβια επίβλεψη και προστασία ([www.pwsausa.org](http://www.pwsausa.org)).

Η πιθανότητα οικογενειακής επανάληψης είναι μικρότερη από 1%. Ωστόσο, σε μερικές οικογένειες όπου μια ατέλεια αποτύπωσης προκαλεί ελαττωματικό έλεγχο

των διαφορεικά εκφρασμένων γονιδίων και στο παιδί PWS και στον απρόσβλητο πατέρα, ο κίνδυνος αυτός μπορεί να ανέλθει σε 50% (Horsthemke and Wagstaff, 2008).

Μερικές μελέτες, όπως αυτή του *Sutcliffe et al.* το 2006 και του *Doornbos et al.* το 2007, κάνουν λόγο για συσχέτιση μεταξύ AR και συνδρόμου Prader-Willi, ενώ αντίθετα ο *Lidegaard et al.* σε μελέτη του το 2005 αναφέρει ότι δεν υπάρχει συσχέτιση (Shiota and Yamada, 2009). Από εδώ γίνεται κατανοητή η επιδημιολογική δυσκολία που χαρακτηρίζει την ανίχνευση πιθανοτήτων για συσχέτιση των συνδρόμων που προκύπτουν από ανωμαλίες αποτύπωσης (πολύ σπάνια σύνδρομα) με ART (Amor and Halliday, 2008).

Για επιβεβαίωση της ύπαρξης του PWS, και εφόσον έχει επέλθει η κλινική διάγνωση, ακολουθούν συστήνονται εξειδικευμένες γενετικές εξετάσεις (Πίνακας 7) σε δείγμα αίματος. Αρχικά γίνεται κυτταρογενετική ανάλυση με τεχνική FISH ελέγχοντας τα SNRPN για να προσδιορίσουν τη χαρακτηριστική διαγραφή 15q11-q13. Εάν το αποτέλεσμα είναι αρνητικό, ακολουθεί δοκιμή μεθυλίωσης του DNA. Αν από το τελευταίο το αποτέλεσμα είναι θετικό για PWS, έπονται δοκιμές για άλλες αιτιατές υποκατηγορίες του συνδρόμου (μητρική δισωμία ή ανωμαλία αποτύπωσης).

Μέθοδος διάγνωσης	Ανιχνεύσιμες μεταλλάξεις	Ποσοστό ανίχνευσης μεταλλάξεων των μεθόδων
Ανάλυση μεθυλίωσης	Ανωμαλίες μεθυλίωσης	99%
<b>FISH/Q-PCR</b>	Διαγραφή PWCR <sup>1</sup>	70-75%
Μελέτη μονογονεϊκής δισωμίας (UPD)	UPD του PWCR	25-29%
Ανάλυση ακολουθιών (Sequencing) <sup>2</sup>	Ανωμαλία κέντρου εντυπώματος	<1%

**Πίνακας 7.** Συνοπτική απεικόνιση των γενετικών και μοριακών δοκιμών που χρησιμοποιούνται για την ανίχνευση του συνδρόμου Prader-Willi ([www.ncbi.nlm.nih.gov](http://www.ncbi.nlm.nih.gov)). <sup>1</sup>PWCR=Prader-Willi. Η διαγραφή ποικίλλει στο μέγεθος, αλλά πάντα περιλαμβάνει το PWCR. <sup>2</sup>Η ανάλυση ακολουθίας ανιχνεύει τις μικρές διαγραφές που αποτελούν περίπου 15% της αποτύπωσης των κεντρικών μεταλλαγών. Οι περισσότερες ανωμαλίες αποτύπωσης είναι επιμεταλλάξεις και όχι αλλαγές στο DNA.

Ο προσδιορισμός της γενετικής υποκατηγορίας είναι σημαντικός, ώστε να γίνει σωστή καθοδήγηση για την κλινική διαχείριση του ατόμου με PWS και ενημέρωση για τους κινδύνους επανεμφάνισης του συνδρόμου στην οικογένεια ([www.pwsausa.org](http://www.pwsausa.org)).

#### ***IV. Ρετινοβλάστωμα***

Το ρετινοβλάστωμα είναι ένας σπάνιος κακοήθης όγκος παιδικής ηλικίας του αμφιβληστροειδούς, με συχνότητα 1:17.000 γεννήσεις ζώντων νεογνών (Manipalviratn, 2009) και εμφανίζεται άλλοτε οικογενή (40%) και άλλοτε σποραδικό χαρακτήρα. Η ογκογένεση αυτή προκύπτει από την αδρανοποίηση του ογκοκατασταλτικού γονιδίου *RBI* (*RBI* gene) και των δύο αλληλομόρφων του χρωμοσώματος 13, που οφείλεται συνήθως σε μετάλλαξη ή διαγραφή (Owen and Segars, 2009). Το γονίδιο του ρετινοβλαστώματος εντοπίζεται στη θέση 13q14. Αξιοσημείωτο είναι ότι το 20% των ατόμων που παρουσιάζουν μερική απώλεια του μακρού σκέλους του χρωμοσώματος 13 αναπτύσσουν ρετινοβλάστωμα (Μαλακά, 1999).

Οι μελέτες πάνω στην επιγενετική αιτιολογία του ρετινοβλαστώματος δείχνουν ότι η υπερμεθυλίωση του *RBI* γονιδίου ίσως παίζει κάποιο ρόλο στην ανάπτυξη όγκων, προκαλώντας ελάττωση της λειτουργικότητας του *RBI*, ειδικά στα περιστατικά σποραδικού χαρακτήρα (Owen and Segars, 2009). Δηλαδή, η υπερμεθυλίωση του *RBI* αδρανοποιεί την ογκοκατασταλτική του λειτουργία και φαίνεται να συμβάλει στην ανάπτυξη ρετινοβλαστώματος (Manipalviratn, 2009).

Το ρετινοβλάστωμα εμφανίζεται ως λευκοκορία ή στραβισμός και εάν δεν αντιμετωπισθεί σε αρχικό στάδιο οδηγεί στο θάνατο σε 2-4 χρόνια (15-20%), γεγονός που ενισχύει το ρόλο της έγκαιρης διάγνωσης και θεραπείας του (Μαλακά, 1999).

Μια μεγάλη μελέτη από τη Δανία συμπεριέλαβε όλες τις μονήρεις κυήσεις που καταγράφηκαν στην Δανία από την 1<sup>η</sup> Ιανουαρίου 1995 έως τις 31 Δεκεμβρίου 2001, χρησιμοποίησε στοιχεία του εθνικού ληξιαρχείου IVF και του εθνικού ληξιαρχείου γέννησης, δεν ανέφερε κανένα περιστατικό εμφάνισης ρετινοβλαστώματος σε 6.052 μονήρεις γεννήσεις μετά από IVF (Manipalviratn, 2009).

#### ***V. Άλλα γενετικά σύνδρομα***

Έχουν επίσης αναφερθεί και κάποια επιπλέον σύνδρομα που η αιτιολογία τους απορρέει από την ανώμαλη αποτύπωση, για τα οποία όμως υπάρχουν λιγοστά

στοιχεία και η συσχέτισή τους με τις τεχνικές της υποβοηθούμενης αναπαραγωγής δεν είναι τεκμηριωμένη πλήρως. Μεταξύ των συνδρόμων αυτών είναι το σύνδρομο Russell-Silver, η μητρική και πατρική μονογονεϊκή δισωμία του χρωμοσώματος 14, ο ψευδοϋποπαραθυρεοειδισμός τύπου 1b και ο παροδικός νεογνικός διαβήτης.

Τα στοιχεία από τις κλινικές αναφορές προτείνουν ότι η συσχέτιση μεταξύ των συνδρόμων που αφορούν στην αποτύπωση και τις διαδικασίες της υποβοηθούμενης αναπαραγωγής, μπορεί να περιοριστεί στα σύνδρομα όπου η ανωμαλία αποτύπωσης γίνεται με υπομεθυλίωση του μητρικού αλληλόμορφου. Αντίθετα, μελέτες γαμετών και εμβρύων αρχικών σταδίων προτείνουν ότι η ART μπορεί να συσχετιστεί με υπερμεθυλίωση καθώς και με υπομεθυλίωση, με αλλαγές αποτύπωσης πατρικών και μητρικών αλληλομόρφων. Οι επιπτώσεις των αλλαγών του προτύπου μεθυλίωσης (αποτύπωση) από χρήση ART, μπορεί να αυξήσουν κατά πολύ τον αριθμό των συνδρόμων που οφείλονται σε ανώμαλη αποτύπωση (Amor and Halliday, 2008).



### 3. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Οι τεχνικές της υποβοηθούμενης αναπαραγωγής τα τελευταία χρόνια αποτελούν ένα από τα πιο σημαντικά σημεία αιχμής της ιατρικής επιστήμης, αφού εξελίσσονται καθημερινά και συμμετέχουν στη διερεύνηση και αποκατάσταση ολοένα και περισσότερων παθολογικών καταστάσεων αναπαραγωγής. Αποτελεί έναν από τους ελάχιστους επιστημονικούς τομείς, ο οποίος κεντρίζει το ενδιαφέρον μεγάλου τμήματος του κοινού.

Η in-vitro γονιμοποίηση συμπλήρωσε 30 σχεδόν χρόνια από την πρώτη εφαρμογή της στις αναπτυγμένες χώρες και τουλάχιστον 1% των γεννήσεων παγκοσμίως προέρχονται από σύλληψη με ART. Αυτά τα παιδιά αντιπροσωπεύουν τώρα ένα σημαντικό ποσοστό του πληθυσμού αλλά λίγα είναι γνωστά για την υγεία τους. Αυτή τη στιγμή υπάρχουν ουσιαστικά στοιχεία ότι τα παιδιά γεννημένα μετά από IVF διατρέχουν αυξημένο κίνδυνο για δυσμενή περιγεννητική έκβαση, συγγενείς δυσπλασίες και σπάνιες επιγενετικές τροποποιήσεις (ανώμαλη αποτύπωση). Εάν τα προβλήματα υγείας που παρατηρούνται προέρχονται από την ίδια την τεχνική της IVF ή από τα υποκείμενα προβλήματα υπογονιμότητας των γονέων παραμένει ακόμη ασαφές (Ceelen et al., 2008).

Η υποκείμενη υπογονιμότητα των γονέων φαίνεται να εμπλέκεται σημαντικά σε αυτόν τον κίνδυνο, αφού έχει αποδειχθεί η ύπαρξη στατιστικά σημαντικής σχέσης ανάμεσα στο χρόνο που μεσολάβησε για να επιτευχθεί η εγκυμοσύνη (>12 μήνες) και στα περιγεννητικά προβλήματα (Basatemur and Sutcliffe, 2008). Επιπλέον ο χρόνος επίτευξης τεκνοποίησης σχετίζεται με συγγενείς δυσπλασίες και νοσήματα γονιδιακής αποτύπωσης (Sutcliffe and Ludwig, 2007).

Ο κίνδυνος περιγεννητικών περιπλοκών ενισχύεται σημαντικά σε πολύδυμες κυήσεις. Η υποβοηθούμενη αναπαραγωγή παρουσιάζει αυξημένο κίνδυνο για πολύδυμες κυήσεις λόγω της μεταφοράς στη μήτρα της γυναίκας μεγάλου αριθμού εμβρύων, γεγονός που προσαυξάνει ότι κινδύνους αυτό συνεπάγεται, όπως πρόωρο τοκετό, χαμηλό βάρος γέννησης νεογνών, νεογνική θνητότητα και νοσηλεία σε νεογνολογικές μονάδες. Αντίθετα, η ελάττωση των πολύδυμων κυήσεων θα περιορίσει, χωρίς, φυσικά, να εξαλείψει όλους τους κινδύνους που ενισχύονται στις κυήσεις μετά από υποβοηθούμενη αναπαραγωγή (Sutcliffe and Ludwig, 2007).

Οπότε μετά από μελέτες συμπεραίνεται ότι η προωρότητα και η γέννηση νεογνών χαμηλού βάρους αποτελούν τις πιο κοινές επιπλοκές μεταξύ των μονήρων και των δίδυμων κυήσεων που συλλήφθηκαν με IVF και οι μητέρες είναι και πρωτοτόκες. Η προωρότητα και το χαμηλό βάρος γέννησης νεογνού σε υπογόνιμα ζευγάρια συνήθως αποτελεί απόρροια του θηλυκού παράγοντα στειρότητας έναντι του ανδρικού. Φαίνεται ότι η αυξημένη συχνότητα πρόωρων τοκετών και χαμηλού βάρους γέννησης νεογνών μετά από IVF σχετίζεται περισσότερο με χαρακτηριστικά που έχουν οι γυναίκες με υπογονιμότητα, όπως νόσος σαλπίγγων, ενδομητρίου ή ορμονολογικές διαταραχές και πιθανότατα η καθυστερημένη ανάπτυξη του εμβρύου να σχετίζεται με την ελαττωμένη μητροπλακουντιακή σχέση. Οι εγκυμοσύνες μετά από IVF είναι πιο επιρρεπείς στην εμφάνιση υπέρτασης και αιμορραγίας, με αποτέλεσμα την καθυστερημένη ανάπτυξη του εμβρύου ή τον πρόωρο τοκετό.

Η μεταφορά των φρέσκων εμβρύων και η ύπαρξη θηλυκού παράγοντα στειρότητας συνδέθηκε ανεξάρτητα με την προωρότητα και τη γέννηση νεογνών χαμηλού βάρους σε μονήρεις και σε δίδυμες κυήσεις μετά από AR (Wang et al., 2005). Επιπλέον, η προωρότητα και το χαμηλό βάρος γέννησης είναι αντίστοιχα, 1.3 και 1.5 φορές πιθανότερο να εμφανιστούν μεταξύ των μονήρων κυήσεων που συλλήφθηκαν από μεταφορά φρέσκων εμβρύων έναντι κρυοσυντηρημένων εμβρύων.

Όλα τα ζευγάρια που γεννούν μετά από υποβοηθούμενη αναπαραγωγή έχουν αυξημένο κίνδυνο κατά 30-40% να αποκτήσουν παιδί με συγγενή δυσπλασία, κύρια αιτία της οποίας αποτελεί είτε το εκάστοτε αίτιο της υπογονιμότητας, είτε οι τεχνικές της υποβοηθούμενης αναπαραγωγής. Υπάρχει μεγάλη διαφωνία στο κατά πόσο οι τεχνικές αυτές είναι υπεύθυνες για την πρόκληση συγγενών δυσπλασιών (Sutcliffe et al., 2007) ή στα διαφορετικά μητρικά χαρακτηριστικά μεταξύ των μητέρων που συλλαμβάνουν με IVF και αυτών που συλλαμβάνουν φυσιολογικά (Anthony et al., 2002), ενώ γίνεται συχνή αναφορά ότι στα αγόρια αυξάνει η πιθανότητα εμφάνισης ουρογεννητικών δυσμορφιών, ακόμη και στα μονήρη νεογνά (Sutcliffe and Ludwig, 2007).

Η ανάπτυξη παιδιών που γεννήθηκαν με ART φαίνεται να είναι κανονική με μια μικρή μόνο καθυστέρηση στην αύξηση του ύψους και του βάρους στη διάρκεια των τριών πρώτων ετών των παιδιών (Carson et al., 2010), η ακοή και η όρασή τους δεν παρουσιάζει διαφορές από τα φυσικά συλληφθέντα παιδιά, ενώ η κοινωνικοποίηση

και η ψυχοκινητική ανάπτυξη δεν εμφανίζουν απολύτως καμία διαφορά από τα φυσιολογικά συλληφθέντα παιδιά. Υπογραμμίζεται, όμως, ότι οι συνεχείς προοδευτικές μελέτες (follow-up) σχετικά με τα μεταγεννητικά ποσοστά ανάπτυξης και νοσηρότητας είναι λιγοστές και με συγκρουόμενα αποτελέσματα για επί της μακροπρόθεσμης υγείας των παιδιών γεννημένων μετά από IVF.

Όσον αφορά τις νευρολογικές επιπλοκές, τα παιδιά γεννημένα μετά από IVF έχουν αυξημένο κίνδυνο εγκεφαλικής (CP) παράλυσης λόγω της σχέσης μεταξύ IVF και της πρόωρης γέννησης, η οποία αποτελεί τον ισχυρότερο προάγγελο της εγκεφαλικής παράλυσης (Hvidtjorn et al., 2006). Ο κίνδυνος δεν συνδέεται τόσο με την ελλοχεύουσα αιτία της στειρότητας, αλλά συνδέεται έντονα με τον πρόωρο τοκετό, πρώτιστα για τα δίδυμα αλλά και για τα μονήρη.

Μια καταγραφή που έγινε για τη συχνότητα πολλαπλών συγγενών ανωμαλιών αναφέρει ότι 0.5% των παιδιών μετά από φυσική σύλληψη, 1.6% μετά από IVF (OR=3.1, 95% CI: 1.6-6.3) και 2% μετά από ICSI (OR=4.1, 95% CI: 1.6-10.2) είχαν δύο ή περισσότερες συγγενείς ανωμαλίες. Αυτά τα συμπεράσματα, έχουν διεξαχθεί από την πλειονότητα των μελετών που έχουν γίνει επί του θέματος, είναι μεγάλης σπουδαιότητας για τη δημόσια υγεία και απαιτείται πρόληψη του υψηλού ποσοστού πολλαπλάσιων γεννήσεων και πρόωρων τοκετών μετά από IVF.

Αν και η μεγαλύτερη ηλικία της μητέρας και ο μικρός αριθμός κυήσεων δεν φάνηκε να αλλάζουν τα αποτελέσματα της μητέρας, δεν ήταν δυνατό να διαχωριστεί ο αυξημένος κίνδυνος που σχετίζεται με την θεραπεία της υπογονιμότητας από αυτών που σχετίζεται με τα υποκείμενα αίτια της υπογονιμότητας (Hansen et al., 2002).

Διάφορες μελέτες έχουν προτείνει μια πιθανή σύνδεση μεταξύ της AR και των διάφορων ανωμαλιών αποτύπωσης συμπεριλαμβανομένων των συνδρόμων Beckwith-Wiedemann, Angelman, Prader-Willi, και ρετινοβλαστώματος. Η ανησυχία αυτή κυριαρχεί επειδή οι διαδικασίες AR, συμπεριλαμβανομένης της ωθηκικής διέγερσης και του χειρισμού των προεμφυτευτικών εμβρύων, συμβαίνουν κατά τη διάρκεια αναπτυξιακών περιόδων κρίσιμων για τη καθιέρωση της αποτύπωσης. Παρά τα αναδυόμενα στοιχεία για συσχέτιση μεταξύ ART και αρκετών συνδρόμων ανώμαλης αποτύπωσης, υπάρχει ακόμη πολλή περιορισμένη γνώση για τα αίτια που προκαλούν τις επιγενετικές αλλαγές σε εγκυμοσύνες μετά από υποβοηθούμενη αναπαραγωγή (Manipalviratn et al., 2009).

Ανεξάρτητες μελέτες παρουσιάζουν ισχυρές ενδείξεις για αυξημένο κίνδυνο γέννησης παιδιών με BWS μετά από ART. Η υπερίσχυση ποσοστού των περιπτώσεων BWS λόγω απώλειας της μητρικής μεθυλίωσης μετά από AR σχετικά με αυτό που παρατηρείται στο γενικό πληθυσμό BWS, ενισχύει την άποψη αυτή και είναι σύμφωνη με την τροποποιημένη αποτύπωση που προκαλείται από ART.

Ομοίως, προτάθηκε συσχέτιση ART και συνδρόμου Angelman (AS) λόγω ανωμαλιών αποτύπωσης (π.χ., απώλεια μεθυλίωσης στο SNRPN που αποτυπώνει την περιοχή ελέγχου) στο μητρικό αλληλόμορφο γονίδιο παιδιών με AS που γεννήθηκαν με ART. Η συχνή εύρεση υπομεθυλίωσης μητρικών αλληλόμορφων γονιδίων που οδηγούν σε ανώμαλη αποτύπωση των παιδιών που συλλαμβάνονται με AR, ενισχύει, αν όχι επιβεβαιώνει, τη σύνδεση της AR και της σποραδικής απομεθυλίωσης σε πολλαπλούς γενετικούς τόπους. Το τελευταίο ενισχύει την ανάγκη προσεκτικής παρακολούθησης μέχρι την ενηλικίωση παιδιών με ART, επειδή οι μικρές επιγενετικές τροποποιήσεις πιθανόν να συνεπάγονται ευπάθεια και αυξημένη νοσηρότητα, ή να έχουν επιπτώσεις που θα μεταδίδονται από γενιά σε γενιά.

Λόγω των παραλλαγμένων πρωτοκόλλων που χρησιμοποιούνται στον τομέα της υποβοηθούμενης αναπαραγωγής παγκοσμίως, των περιορισμών στο μέγεθος των δειγμάτων, την ανικανότητα για έλεγχο όλων των μεταβλητών και των σχετιζόμενων παραγόντων, είναι δύσκολο να τεκμηριωθεί ισχυρά μια ένωση μεταξύ της ανώμαλης αποτύπωσης και κάποιας συγκεκριμένης διαδικασίας της υποβοηθούμενης αναπαραγωγής (π.χ. IVF, ICSI, καλλιέργεια εμβρύων). Αυτό έχει οδηγήσει μερικούς ερευνητές στο συμπέρασμα ότι ο αυξανόμενος κίνδυνος για τις ανωμαλίες αποτύπωσης οφείλεται στην υποκείμενη υπογονιμότητα ή την ωθητική διέγερση χωρίς να περιλαμβάνονται οι επακόλουθες τεχνητές διαδικασίες. Η συσχέτιση όμως αυτή δεν έχει αποδειχθεί. Προοπτικές μελέτες απαιτούνται για να εξετάσουν αυτές τις συσχετίσεις και να ελέγξουν για τα πιθανά μακροπρόθεσμα αποτελέσματα της AR (Owen and Segars, 2009).

Στο μεταξύ, το screening για την εύρεση ανωμαλιών αποτύπωσης που γίνεται στους απογόνους μετά από σύλληψη με ART δεν δικαιολογεί τις ανωμαλίες αυτές, επειδή ο κίνδυνος εμφάνισής τους είναι μικρός. Παρόλα αυτά, οι γονείς που αναζητούν βοήθεια στις μεθόδους υποβοηθούμενης αναπαραγωγής, πρέπει να γνωρίζουν ότι οι

μέθοδοι αυτοί εγκυμονούν αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης ανωμαλιών αποτύπωσης (Owen and Segars, 2009).

Είναι αξιοσημείωτο ότι και για τα τρία σύνδρομα (BWS, AS και το μητρικό σύνδρομο υπομεθυλίωσης), η επιγενετική ανωμαλία που παρατηρείται οφείλεται σε υπομεθυλίωση του μητρικού αλληλομόρφου γονιδίου του σχετικού DMR. Ένα δεύτερο συμπέρασμα είναι ότι μια επίδραση της υποβοηθούμενης αναπαραγωγής είναι πιθανό να είναι ανιχνεύσιμη για τα σύνδρομα όπου οι επιγενετικές τροποποιήσεις περιλαμβάνουν ένα σημαντικό ποσοστό των περιπτώσεων. Δεν είναι καμία έκπληξη ότι τα καλύτερα στοιχεία για μια επίδραση της υποβοηθούμενης αναπαραγωγής στην αποτύπωση προέρχονται από τις μελέτες BWS, μια διαταραχή όπου 65% των ασθενών έχουν επιγενετικές τροποποιήσεις. Για τα σύνδρομα στα οποία οι επιγενετικές τροποποιήσεις είναι σπάνιες, όπως στο PWS, είναι σχεδόν αδύνατον να ανιχνευτεί εάν ο αυξημένος κίνδυνος επιγενετικών τροποποιήσεων είναι παρόμοιος με αυτόν που παρατηρείται στο BWS μετά από ART.

Λαμβάνοντας υπόψη τη σπανιότητα των συνδρόμων αποτύπωσης, κρίνεται αναγκαία η μακροχρόνια παρακολούθηση της υγείας ενηλίκων που γεννήθηκαν με τη συμβολή της υποβοηθούμενης αναπαραγωγής. Τέτοιες μελέτες μπορούν να διαφωτίσουν την εμφάνιση συνδρόμων αποτύπωσης καθώς και την επίδραση της υποβοηθούμενης αναπαραγωγής σε αυτά (Amor and Halliday, 2008).

Η ανάλυση Kaplan-Meier αποκάλυψε ότι ο κίνδυνος εμφάνισης νεοπλασίας όλων των παιδιών από ART μέχρι την ηλικία των πέντε ετών είναι 9%, ενώ το ποσοστό αυτό αγγίζει το 24% στην υποομάδα των ατόμων με μονογονεϊκή δισωμία (UPD).

Τέλος, για τη διεξαγωγή στατιστικά σημαντικών συμπερασμάτων απαιτούνται πολλές συγκριτικές και follow-up μελέτες σε μεγάλο αριθμό ατόμων και με ποικιλία ανωμαλιών. Τα υπογόνημα ζεύγη και το ευρύ κοινό πρέπει να ενημερωθούν για τους πιθανούς κινδύνους της ART, ενώ η επικοινωνία με ειδικά εκπαιδευμένους συμβούλους κρίνεται επιτακτική ανάγκη για εξήγηση και αποσαφήνιση όλων των ερωτημάτων των ενδιαφερόμενων. Η περαιτέρω έρευνα για τις συγγενείς ανωμαλίες και όλα τα άλλα προβλήματα υγείας που επιφέρουν βαριές επιπτώσεις στα νεογέννητα απαιτείται ώστε να καθοριστούν πολλοί παράγοντες παραμένουν άγνωστοι για την υγεία των παιδιών που συλλαμβάνονται μετά από την υποβοηθούμενη αναπαραγωγή, καθώς αυξάνονται όλο και περισσότερο τα στοιχεία

προς διερεύνηση, και στη συνέχεια να ακολουθήσει προσπάθεια περιορισμού τους. Γι' αυτό και είναι επιτακτική ανάγκη η ύπαρξη ενός συνεχούς παγκοσμίου ελέγχου της υγείας των παιδιών γεννημένων μετά από IVF για να ερευνώνται οι πιθανές μακροπρόθεσμες συνέπειες, συμπεριλαμβανομένης της ανάπτυξης των καρδιαγγειακών παθήσεων (Ceelen et al., 2008). Η μακροπρόθεσμη συνεχή παρακολούθηση των παιδιών γεννημένων με AR είναι απαραίτητη μέχρι την αναπαραγωγική ηλικία και πέρα από αυτή (Sutcliff and Ludwig, 2007).

## 4. ΗΘΙΚΑ ΔΙΛΗΜΜΑΤΑ

Όταν το 1978, η Louise Brown, το πρώτο "παιδί του σωλήνα", άνοιγε τα μάτια της να αντικρίσει τον κόσμο, λίγοι φαντάζονταν πως μαζί της άνοιγε το κουτί της Πανδώρας για την ανθρώπινη αναπαραγωγή. Μικρογονιμοποίηση, κατάψυξη ωαρίων και σπέρματος, μεταθανάτια γονιμοποίηση, κρυοσυντήρηση εμβρύων, δωρεά γαμετών, βιοψία εμβρύου-προεμφυτευτική διάγνωση, "δανεική" μήτρα είναι μερικές μόνο από τις μεθόδους της υποβοηθούμενης αναπαραγωγής. Με την εισαγωγή τους στην καθημερινή κλινική πρακτική, από τη μια δίνουν λύση σε ζευγάρια με προβλήματα υπογονιμότητας που στο παρελθόν θεωρούνταν αξεπέραστα και από την άλλη δημιουργούν σοβαρά ζητήματα ηθικής και δεοντολογίας.

Η σφοδρή επιθυμία των άτεκνων ζευγαριών για τεκνογονία αυξάνει τη ζήτηση της εργαστηριακής αναπαραγωγής και τη γενετική επιστράτευση για την επίτευξή της με κάθε μέσο. Ωστόσο δε λείπουν οι απόψεις από επιστήμονες που σημειώνουν ότι η στειρότητα δεν θα πρέπει πάντα να θεραπεύεται με κάθε τρόπο, καθώς αποτελεί ένα φαινόμενο που αντανακλά πολλές φορές γενετικές αδυναμίες, τις οποίες η φύση προσπαθεί να αποβάλλει. Με την υποβοηθούμενη αναπαραγωγή μπορεί να μεταφερθούν οι αδυναμίες αυτές στις επόμενες γενιές και έτσι να αυξηθεί το λεγόμενο γενετικό φορτίο του ανθρώπου, γεγονός που μπορεί να οδηγήσει σε πληθυσμιακή αποσταθεροποίηση και ανισότητα.

Το ηθικό ερώτημα της AR είναι κατά πόσο η κοινωνία τείνει να αντιμετωπίσει την αδυναμία τεκνοποίησης σαν ασθένεια, στο βωμό της οποίας κάθε θυσία είναι θεμιτή; Μήπως χρειάζεται να μετατοπιστεί το κέντρο βάρους από την ικανοποίηση της επιθυμίας τεκνοποίησης των ζευγαριών στην αξιολόγηση του συμφέροντος του παιδιού που θα γεννηθεί, που δεν συμπίπτει αναγκαστικά με εκείνο των γονέων;

Διάφορα ηθικά διλήμματα, επίσης, προκύπτουν και από τη γονιμοποίηση με σπέρμα ή ωάρια από δότες. Είναι αλήθεια πως αρκετά ζευγάρια καταφεύγουν ως ύστατη λύση σε αυτή τη μέθοδο. Όλα τα στοιχεία είναι απόρρητα, ώστε να μην δημιουργούνται προβλήματα μεταξύ φυσικών και θετών γονιών των παιδιών.

Η ψυχολογική υποστήριξη από ειδικευμένο, σε θέματα γονιμότητας, κλινικό ψυχολόγο είναι ιδιαίτερα ωφέλιμη, για όλα τα εμπλεκόμενα μέλη και θα πρέπει να παρέχεται άμεσα από όλα τα οργανωμένα κέντρα υποβοηθούμενης αναπαραγωγής. Η

επιστήμη και η τεχνολογία εξελίσσονται ραγδαία για να μπορούν η νομοθεσία και οι κοινωνικοί μηχανισμοί να τις ακολουθήσουν (χαρακτηριστικό παράδειγμα η κλωνοποίηση). Τα αντανακλαστικά των φορέων του ήθους και του πολιτισμού μιας ελεύθερης κοινωνίας πολλές φορές είναι βραδέα. Χρειάζεται επαγρύπνηση, τόσο από τους επιστήμονες όσο και από τους κοινωνικούς φορείς και την οργανωμένη πολιτεία, ώστε οι κατακτήσεις στο πεδίο της υποβοηθούμενης αναπαραγωγής να περιφρουρούνται με σεβασμό στις αξίες της ανθρώπινης ζωής και της οικογένειας.

## 5. ΕΠΙΛΟΓΟΣ

Γενικά υπάρχουν αρκετά δεοντολογικά, ηθικά αλλά και πρακτικά προβλήματα που προκύπτουν από την εφαρμογή της ART. Στην Ελλάδα με αρκετή καθυστέρηση θεσπίστηκε το 2003 το πρώτο θεσμικό πλαίσιο που επιχείρησε να θέσει κάποιους κανόνες γύρω από τα ζητήματα αυτά, ενώ τον Ιανουάριο του 2005 κατατέθηκε από την κυβέρνηση ένα καινούριο σχέδιο νόμου, όσον αφορά την εξωσωματική γονιμοποίηση, για ανανέωση και συμπλήρωση του παλιού νόμου.

Είναι επιτακτική ανάγκη να γίνεται ενημέρωση σχετικά με το θέμα της υποβοηθούμενης αναπαραγωγής ώστε να μπορεί κάποιος να επιλέξει τι θα κάνει ισοσταθμίζοντας τα οφέλη αλλά και τις επιπτώσεις ενός τέτοιου εγχειρήματος. Ακόμη, απαιτούνται επιπλέον εκτεταμένες έρευνες κυρίως πάνω σε θέματα υγείας των απογόνων. Δεν είναι λίγοι αυτοί που πιστεύουν ότι θα πρέπει να υπάρξει περιορισμός στην εφαρμογή όλων αυτών των μεθόδων σε ειδικές, σοβαρές παθολογικές και μόνο καταστάσεις.

Στο επίκεντρο των θεραπειών υπογονιμότητας θα πρέπει να βρίσκεται, όχι η επίτευξη της τεκνοποίησης ως αυτοσκοπού, αλλά η γέννηση *υγιών παιδιών*, σε περιβάλλοντα που τους εξασφαλίζουν τουλάχιστον τις στοιχειώδεις προϋποθέσεις για ψυχική, κοινωνική ανάπτυξη και ευημερία.

*Το δικαίωμα στο να γίνεται κανείς γονιός είναι ενστικτώδες και βαθιά ριζωμένο στην ανθρώπινη φύση. Το ερώτημα που παραμένει, είναι, αν θα πρέπει να υπερισχύει κάθε άλλου δικαιώματος και έναντι ποίου τιμήματος.*





## BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

### ΞΕΝΗ

- ⊗ **Alukal PJ and Lamb JD. (2008).** Intracytoplasmic Sperm Injection (ICSI) – What are the risks? *Urol Clin North Am.* 35(2): 277–288.
- ⊗ **Amor DJ and Halliday J. (2008).** A review of known imprinting syndromes and their association with assisted reproduction technologies. *Human Reproduction* 23 (12): 2826–2834.
- ⊗ **Andersen AN, Goossens V., Ferraretti A.P., Bhattacharya S., et al. (2008).** Assisted reproductive technology in Europe, 2004: results generated from European registers by ESHRE *Human Reproduction* 23 (4): 756–771.
- ⊗ **Anthony S., Buitendijk SE, Dorrepaal CA, Linder K., Braat DD, den Ouden AL. (2002).** Congenital malformations in 4224 children conceived after IVF. *Human Reproduction* 17: 2089-95
- ⊗ **Basatemur E. and Sutcliffe A. (2008).** Follow-up of Children Born after ART. *Placenta* 29: 135-140.
- ⊗ **Basille C., Frydman R., El Aly A., Hesters L. et al. (2009).** Preimplantation genetic diagnosis: State of the art. *European Journal of Obstetrics & Gynecol and Reproductive Biol* 145: 9–13.
- ⊗ **Carson C., Kurinczuk J.J., Sacker A., et al. (2010).** Cognitive development following ART: effect of choice of comparison group, confounding and mediating factors. *Hum Rep* 25 (1): 244–52
- ⊗ **Ceelen M., Van Weissenbruch MM, Vermeiden JPW. (2008).** Growth and development of children born after in vitro fertilization. *Fertility and Sterility* 90 (5): 1662-1673.
- ⊗ **Chang AS, Moley KH, Wangler M. et al. (2005).** Association between Beckwith-Wiedemann syndrome and assisted reproductive technology a case series of 19 patients. *Fertil-Steril* 83: 349-54
- ⊗ **Cooper WN, Luharia A., Evans GA, et al. (2005).** Molecular subtypes and phenotypic expression of Beckwith–Wiedemann syndrome. *European Journal of Human Genetics* 13: 1025–32
- ⊗ **Cowan DB and Seifer BD. (1997).** *Clinical Reproductive medicine.* Lippincott-Raven.
- ⊗ **Doornbos ME, Maas SM, McDonnell J. (2007).** Infertility, assisted reproduction technologies and imprinting disturbances: a Dutch study. *Human Reproduction* 22 (9): 2476–2480.
- ⊗ **Flemming DS and King SR. (2003).** *Micromanipulation in Assisted Conception. A User’s Manual and Troubleshooting Guide.* Cambridge.
- ⊗ **Geuns E., De Rycke M., Van Steirteghem A. and Liebaers I. (2003).** Methylation imprints of the imprint control region of the SNRPN- gene in human gametes and preimplantation embryos. *Human Molecular Genetics* 12 (22): 2873-2879.
- ⊗ **Gissler M. and Hemminki E. (1996).** The danger of overmatching in studies of the perinatal mortality and birthweight of infants born after assisted conception. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology* 69: 73-75.
- ⊗ **Halliday J., Oke K., Breheny S., Algar E., Amor DJ. (2004).** Beckwith-Wiedemann Syndrome and IVF: a case control study. *American Journal of Human Genetics* 75: 526-528.
- ⊗ **Hansen M., Kurinczuk J. J., Bower C., Webb S. (2002).** The Risk of Major Birth Defects After Intracytoplasmic Sperm Injection And In Vitro Fertilization. *NEJMed* 346 (10): 725-730.
- ⊗ **Harvey A. J., Gibson T. C., Quebedeaux T. M., and Brenner C. A. (2007).** Impact of Assisted Reproductive Technologies: A Mitochondrial Perspective of Cytoplasmic Transplantation. *Current Topics in Developmental Biology* 77: 229-249.
- ⊗ **Hvidtjorn D., Grove J., Schendel ED, Vaeth M. et al. (2006).** Cerebral Palsy Among Children Born After in Vitro Fertilization: The Role of Preterm Delivery—A Population-Based, Cohort Study. *Pediatrics* 118 (2): 475-482
- ⊗ **Horsthemke B. and Wagstaff J. (2008).** Mechanisms of Imprinting of the Prader–Willi/Angelman Region. *American Journal of Medical Genetics Part A* 146A: 2041–2052.
- ⊗ **Jacob S. and Moley HK. (2005).** Gametes and embryo Epigenetic Reprogramming Affect Developmental Outcome: Implication for Assisted Reproductive Technologies. *Ped Res* 58: 437-46
- ⊗ **Klemetti R., Gissler M., Sevón T. et al. (2005).** Children born after assisted fertilization have an increased rate of major congenital anomalies. *Fertility and Sterility* 84 (5): 1300-1307.
- ⊗ **Klemetti R., Gissler M., Sevón T. et al. (2005).** Increasing evidence of major congenital anomalies in children born with assisted reproduction technology: what should be done? *Fertility and Sterility* 84 (5): 1327.
- ⊗ **Knoester M., Helmerhorst MF, Vandenbroucke PJ et al. (2008).** Cognitive development of singletons born after intracytoplasmic sperm injection compared with in vitro fertilization and natural conception. *Fertility and Sterility* 90 (2): 289-296.

- ⊗ **Koivurova S., Hartikainen A.-L., Sovio U., Gissler M., Hemminki E., Jarvelin M.-R. (2003).** Growth, psychomotor development and morbidity up to 3 years of age in children born after IVF. *Human Reproduction* 18 (11): 2328-2336.
- ⊗ **Kotzot D., (2001).** Complex and segmental uniparental disomy (UPD): review and lessons from rare chromosomal complements. *Journal of Medical Genetics* 38: 497-507.
- ⊗ **Lewin Benjamin. (2004).** GENES VIII. Pearson Prentice Hall.
- ⊗ **Lim D., Bowdin SC, Tee L. et al. (2009).** Clinical and molecular genetics features of Beckwith-Wiedemann syndrome associated with assisted reproductive technologies. *Hum Reprod* 24:741-47.
- ⊗ **Liu L., Li Y., Tollefsbol O. T. (2008).** Gene-Environment Interactions and Epigenetic Basis of Human Diseases. *Current Issues in Molecular Biology* 10 (1-2): 25-36.
- ⊗ **Ludwig AK, Hansen A., Katalinic A., Sutcliffe AG et al. (2010).** Assessment of vision and hearing in children conceived spontaneously and by ICSI: a prospective controlled, single-blinded follow-up study. *Reproductive Bio-Medicine Online* 20: 391- 397.
- ⊗ **Ludwig M., Katalinic A., Gross S. et al. (2005).** Increased prevalence of imprinting defects in patients with Angelman syndrome born to sub-fertile couples. *J Med Genet* 42 (2): 89-91.
- ⊗ **Ludwig M. and Katalinic A. (2003).** Pregnancy course and health of children born after ICSI depending on parameters of male factor infertility. *Human Reproduction* 18 (2): 351-357.
- ⊗ **Manipalviratn S., DeCherney A. and Segars J. (2009).** Imprinting disorders and assisted reproductive Technology. *Fertility and Sterility* 91 (2): 305-315.
- ⊗ **McDonald DS, Han Z., Mulla S., Murphy EK, Beyene J., Ohlsson A. (2009).** Preterm birth and low birth weight among in vitro fertilization singletons: A systematic review and meta-analyses. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology* 146: 138-148.
- ⊗ **Owen CM and Segars JrJH. (2009).** Imprinting Disorders and Assisted Reproductive Technology. *Reproduction Medicine* 27(5): 417-428.
- ⊗ **Ron-El R., Raziel A., Strassburger D. et al. (2000).** Outcome of assisted reproductive technology in women over the age of 41. *Fertility and Sterility* 74 (3): 471-475.
- ⊗ **Schimmel S. M., Hammerman C., Lusky A. and Reichman B. (2006).** Very low-birth-weight-infants conceived by in vitro fertilization are not at higher risk for mortality and morbidity: a population-based study. *Fertility and Sterility* 85 (4): 907-912.
- ⊗ **Shiota K. and Yamada S. (2009).** Intrauterine environment-genome interaction and Children's development (3): Assisted reproductive technologies and developmental disorders. *The Journal of Toxicology Sciences* 34, Special Issue II: SP287-SP291.
- ⊗ **Simpson JL. (2005).** ART and offspring anomalies: How concerned should we be? *Sexuality, Reproduction & Menopause* 3 (2): 52-58.
- ⊗ **Stromberg B., Dahlquist G., Ericson A., Finnstrom, et al., (2002).** Neurological sequelae in children born after in-vitro fertilisation: a population-based study *THE LANCET* 359: 461-465.
- ⊗ **Sutcliffe AG and Ludwig M. (2007).** Outcome of assisted reproduction. *Lancet* 370: 351-59.
- ⊗ **Sutcliffe AG, Peters C.J., Bowdin S., Temple K. et al. (2006).** Assisted reproductive therapies and imprinting disorders- a preliminary British survey. *Human Reproduction* 21 (4): 1009-1011.
- ⊗ **Sutcliffe AG, Taylor B., Saunders K., Thornton S., Lieberman BA, Grudzinskas. (2001).** Outcome in the second year of life after in-vitro fertilisation by intracytoplasmic sperm injection: a UK case-control study. *Lancet* 357: 2080-2084.
- ⊗ **Wang YA, Sullivan A. Elizabeth, Black D., Dean J. et al. (2005).** Preterm birth and low birth weight after assisted reproductive technology-related pregnancy in Australia between 1996 and 2000. *Fertility and Sterility* 83 (6): 1650-1658.
- ⊗ **Watermeyer SR and Amso NN. (2000).** Assisted reproduction: a paediatrician's guide. *Current Paediatrics* 10: 301-305.
- ⊗ **Wen Wu Shi, Leader A., Rennicks R. et al. (2010).** A comprehensive assessment of outcomes in pregnancies conceived by in vitro fertilization/ intracytoplasmic sperm injection. *EJOGRepBiol.*
- ⊗ **Williams C. and Sutcliffe A. (2009).** Infant outcomes of assisted reproduction. *Early Human Development* 85: 673-677.
- ⊗ **Zhu Liang Jin, Obel C., Bech BH, Olsen J., Olga B. (2007).** Infertility, Infertility Treatment and Fetal Growth Restriction. *Obstetrics Gynecology* 110(6): 1326-1334.

## ΕΛΛΗΝΙΚΗ

- ⊗ **Αγγελοπούλου Ρωζάνη. (1992).** «Εμβρυολογία Ι». Ιατρικές Εκδόσεις «Π.Χ. Πασχαλίδης».
- ⊗ **Καζάρης Ε. Χάρης. (1996).** «Το χρυσό μου παιδί». Εκδ Π. Τραυλός – Ε. Κωσταράκη. Αθήνα.
- ⊗ **Μαλακά-Ζαφειρίου Κ. (1999).** Παιδιατρική. University Studio Press. 29-30, 770. Θεσσαλονίκη.
- ⊗ **Τριανταφυλλίδης Κ. & Κουβάτση Α. (2006).** Γενετική Ανθρώπου. Εκδ. Κυριακίδη. Θεσ/νίκη.

## **ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΗ:**

- ⊗ [www.scielo.br](http://www.scielo.br)
- ⊗ [medgen.genetics.utah.edu](http://medgen.genetics.utah.edu)
- ⊗ [www.beckwith-wiedemannsyndrome.org](http://www.beckwith-wiedemannsyndrome.org)
- ⊗ [www.pwsausa.org](http://www.pwsausa.org)
- ⊗ [www.medcastle.com](http://www.medcastle.com)
- ⊗ [ghr.nlm.nih.gov](http://ghr.nlm.nih.gov)
- ⊗ [health.allrefer.com](http://health.allrefer.com)
- ⊗ [www.ncbi.nlm.nih.gov](http://www.ncbi.nlm.nih.gov)

*Για την εκπόνηση της παρούσης διατριβής,*

*θα ήθελα να ευχαριστήσω ιδιαίτερα τον Καθηγητή Νικόλαο Βαμβακόπουλο,  
για την ευκαιρία που μου έδωσε να ασχοληθώ με το αντικείμενο αυτό  
αλλά και για τις πολύτιμες συμβουλές του.*

*Κλείνοντας, θεωρώ υποχρέωση μου να ευχαριστήσω τους γονείς μου  
που με στήριξαν στην επιλογή μου να παρακολουθήσω  
το συγκεκριμένο μεταπτυχιακό πρόγραμμα.*