



Σχολή Επιστημών Υγείας και Πρόνοιας
Τμήμα Βιοϊατρικών Επιστημών



Εργαστήριο Χημείας, Βιοχημείας, Κοσμητολογίας

ΠΡΟΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

Η υπογονιμότητα στη γυναίκα και η υαλοποίηση των ωαρίων για τη διατήρηση της γονιμότητας

GRADUATE THESIS

Infertility in women and oocyte vitrification for fertility preservation

ΟΝΟΜΑ ΦΟΙΤΗΤΗ/NAME OF STUDENT

Ευαγγελία Τζουβελέκη

Evangelia Tzouveleki

ΟΝΟΜΑ ΕΙΣΗΓΗΤΗ/ NAME OF THE SUPERVISOR

Πέτρος Καρκαλούσος

Petros Karkalousos

ΑΙΓΑΛΕΩ/ΑΙΓΑΛΕΟ 2023



Faculty of Health and Caring Professions
Department of Biomedical Sciences



Laboratory of Chemistry, Biochemistry, Cosmetology

GRADUATE THESIS

Infertility in women and oocyte vitrification for fertility preservation

EVANGELIA TZOUVELEKI

18678079

tzouvelekieva@hotmail.com

FIRST SUPERVISOR

PETROS KARKALOUSOS

SECOND SUPERVISOR

MARIA TRAPALI

THIRD SUPERVISOR

CHRISTINA FOUNTZOULA

AIGALEO 2023

Επιτροπή εξέτασης

Ημερομηνία εξέτασης: 02/10/2023

	Ονόματα εξεταστών	Υπογραφή
1 ^{ος} Εξεταστής	Πέτρος Καρκαλούσος	
2 ^{ος} Εξεταστής	Μαρία Τράπαλη	
3 ^{ος} Εξεταστής	Χριστίνα Φούντζουλα	

Δήλωση συγγραφέα προπτυχιακής διπλωματικής εργασίας

Η κάτωθι υπογεγραμμένη Τζουβελέκη Ευαγγελία του Ιωάννη, με αριθμό μητρώου 18678079 φοιτήτρια του Τμήματος Βιοϊατρικών Επιστημών της Σχολής Επιστημών Υγείας και Πρόνοιας του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής, δηλώνω ότι:

«Είμαι συγγραφέας αυτής της πτυχιακής/διπλωματικής εργασίας και ότι κάθε βοήθεια την οποία είχα για την προετοιμασία της είναι πλήρως αναγνωρισμένη και αναφέρεται στην εργασία. Επίσης, οι όποιες πηγές από τις οποίες έκανα χρήση δεδομένων, ιδεών ή λέξεων, είτε ακριβώς είτε παραφρασμένες, αναφέρονται στο σύνολό τους, με πλήρη αναφορά στους συγγραφείς, τον εκδοτικό οίκο ή το περιοδικό, συμπεριλαμβανομένων και των πηγών που ενδεχομένως χρησιμοποιήθηκαν από το διαδίκτυο. Επίσης, βεβαιώνω ότι αυτή η εργασία έχει συγγραφεί από μένα αποκλειστικά και αποτελεί προϊόν πνευματικής ιδιοκτησίας τόσο δικής μου, όσο και του Ιδρύματος. Παράβαση της ανωτέρω ακαδημαϊκής μου ευθύνης αποτελεί ουσιώδη λόγο για την ανάκληση του πτυχίου μου».

Όνομα φοιτητή

Ευαγγελία Τζουβελέκη

Υπογραφή φοιτητή/των

Ευχαριστίες

Θα ήθελα να ευχαριστήσω τους επιβλέποντες καθηγητές μου, κύριο Πέτρο Καρκαλούσο, κυρία Μαρία Τράπαλη και κυρία Χριστίνα Φούντζουλα, για την πολύτιμη βοήθεια που μου προσέφεραν και τις συμβουλές τους για την ολοκλήρωση της πτυχιακής μου εργασίας.

Τις θερμές μου ευχαριστίες οφείλω και στην οικογένεια και τους φίλους μου που με στήριξαν σε όλη τη διάρκεια των σπουδών μου είτε οικονομικά είτε ψυχολογικά.

Αφιερώσεις

Αφιερώνω την εργασία μου, στον μικρό μου αδερφό, Τζουβελέκη Μιχάλη, φοιτητή της ιατρικής σχολής Ε.Κ.Π.Α, που με στηρίζει και πιστεύει σε μένα.

Περίληψη

Η υπογονιμότητα είναι μια ασθένεια που χαρακτηρίζεται από την αποτυχία να επιτευχθεί κλινική εγκυμοσύνη μετά από 12 μήνες τακτικής και απροστάτευτης σεξουαλικής επαφής. Υπολογίζεται ότι επηρεάζει περίπου το 8% με 12% των ζευγαριών αναπαραγωγικής ηλικίας παγκοσμίως και 1 στις 6 γυναίκες θα διαγνωσθεί με υπογονιμότητα κάποια στιγμή στη ζωή της. Οι ψυχολογικές, κοινωνικές και οικονομικές διαστάσεις που μπορεί να λάβει, καθιστούν αναγκαία την διερεύνηση της φυσιολογικής της βάσης και την κατανόηση των αιτιών της, οι οποίες δεν περιορίζονται μόνο στο ανθρώπινο γυναικείο σώμα, όπως η δυσλειτουργία των ωθηκών, η ενδομητρίωση, οι αλλοιώσεις της μήτρας ή των σαλπίνγων αλλά επεκτείνονται και σε άλλα συστηματικά νοσήματα, στον τρόπο ζωής, τις συνήθειες και το περιβάλλον. Τις τελευταίες δεκαετίες, αξιόσημαντες είναι οι εξελίξεις στις τεχνολογίες υποβοηθούμενης αναπαραγωγής που λειτουργούν ελπιδοφόρα για όσους αγωνίζονται να συλλάβουν. Μεταξύ αυτών των καινοτομιών, η υαλοποίηση των ωαρίων έχει αναδειχθεί μια πολλά υποσχόμενη τεχνική και ένα ασφαλές εργαλείο για τη διατήρηση της γονιμότητας τόσο για ιατρικούς όσο και για μη ιατρικούς λόγους. Οι προσπάθειες που γίνονται για τη βελτίωση των μεθόδων είναι αξιόλογη, όμως δεν πρέπει οι επιστήμονες να εθελουφλούν απέναντι στα μη επαρκή δεδομένα για την ανεξήγητη υπογονιμότητα αλλά και τα παιδιά που γεννήθηκαν από υαλοποιημένα ωάρια. Τα πρακτικά προβλήματα που ανέκυψαν σχετικά με τη τεχνική της υαλοποίησης των ωαρίων, έφεραν στο προσκήνιο την ανάγκη για αυτοματοποίηση, και τα πρώτα βήματα αυτής, ήρθαν στον κόσμο της Εμβρυολογίας το 2019, με τον πρώτο επιτυχή ζωντανό τοκετό με θερμαινόμενα υαλοποιημένα ωάρια, από το σύστημα GAVI™.

Λέξεις Κλειδιά:

- Υπογονιμότητα
- Στείρωση
- Γυναίκα
- Αναπαραγωγή
- Ορμόνες
- Ωάρια
- Υαλοποίηση

- Κρυοσυντήρηση

Abstract

Infertility is a disease characterized by the failure to achieve clinical pregnancy after 12 months of regular and unprotected sexual intercourse. It is estimated to affect approximately 8% to 12% of couples of reproductive ages worldwide and 1 in 6 women will be diagnosed with infertility in her lifetime. The psychological, social, and economic dimensions it can take on make it necessary to investigate its physiological basis and understand its causes, which are not limited to the human female body, such as ovarian dysfunction, endometriosis, uterine or tubal lesions, but extend to other systemic diseases, lifestyle, habits, and environment. In recent decades, there have been notable developments in assisted reproductive technologies that work promisingly for those struggling to conceive. Among these innovations, oocyte vitrification has emerged as a promising technique and a safe tool for fertility preservation for both medical and non-medical reasons. The efforts made to improve the methods are remarkable, but scientists should not ignore the insufficient data on unexplained infertility and children born from vitrified oocytes. The practical problems that arose regarding the technique of oocyte vitrification brought to the fore the need for automation, and the first steps of this came to the world of Embryology in 2019, with the first successful live birth using heated vitrified oocytes from the GAVI™ system.

Key Words:

- Infertility
- Sterility
- Female
- Reproduction
- Hormones
- Oocytes
- Fertilization
- Cryopreservation

Περιεχόμενα

.....	i
Δήλωση συγγραφέα προπτυχιακής διπλωματικής εργασίας.....	iv
Ευχαριστίες.....	v
Αφιερώσεις.....	vi
Περίληψη.....	vii
Abstract	viii
Πίνακας Εικόνων.....	xii
Συντομογραφίες.....	xiii
Πρόλογος.....	1
Κεφάλαιο 1	4
Εισαγωγή.....	4
Κεφάλαιο 2	7
Ορισμός και επιδημιολογία της υπογονιμότητας σε όλο τον κόσμο.....	7
Κεφάλαιο 3	10
Η προσέγγιση του ασθενούς με υπογονιμότητα.....	10
Κεφάλαιο 4	12
Ορμόνες και γυναικεία υπογονιμότητα.....	12
4.1 Ορμόνη απελευθέρωσης γοναδοτροπινών (GnRH)	12
4.2 FSH (Follicle Stimulating Hormone) & LH (Luteinizing Hormone).....	13
4.3 Οιστραδιόλη (E2).....	14
4.4 Ο ρόλος της αντι-Müllerian ορμόνης (AMH).....	15
4.5 Ινχιμπίνη Β.....	16
4.6 Προγεστερόνη	17
Κεφάλαιο 5	18
Το χρονοδιάγραμμα της αναπαραγωγής.....	18
Κεφάλαιο 6	22
Υπογονιμότητα που σχετίζεται με ασθένειες.....	22
6.1 Δυσλειτουργία ωορρηξίας και ανωορρηξία	22
6.2 Σύνδρομο Πολυκυστικών Ωοθηκών.....	23
6.3 Σαλπινγκική Υπογονιμότητα	25
6.4 Ενδομητρίωση	26
6.5 Αλλοιώσεις της μήτρας	27
6.6 Υπογοναδοτροφικός Υπογοναδισμός	27
6.7 Υπερπρολακτιναιμία.....	28

6.8 Συστηματικά Νοσήματα	29
Κεφάλαιο 7	30
Υπογονιμότητα που σχετίζεται με τον τρόπο ζωής	30
7.1 Διατροφικοί παράγοντες	30
7.2 Παχυσαρκία	32
7.3 Άγχος και ψυχολογικό στρες	33
7.4 Κάπνισμα	35
7.5 Άλλες ουσίες και φάρμακα	37
7.6 Αλκοόλ	39
7.7 Περιβαλλοντικοί Ρύποι.....	39
7.8 Ακτινοβολία	40
Κεφάλαιο 8	42
Ο αντίκτυπος του μικροβιώματος του γυναικείου γεννητικού συστήματος στην αναπαραγωγή των γυναικών	42
Κεφάλαιο 9	44
Κυτταροτοξικές χημειοθεραπείες – κίνδυνος υπογονιμότητας	44
Κεφάλαιο 10	47
Διατήρηση της γυναικείας γονιμότητας – Η τρέχουσα θεραπευτική στρατηγική	47
10.1 Ιστορία της τεχνολογίας κρυοσυντήρησης	47
10.2 Τι είναι η κρυοσυντήρηση ωαρίων;	48
10.3 Σε ποιες περιπτώσεις ενδείκνυται η κρυοσυντήρηση ωαρίων και ποια είναι η καταλληλότερη στιγμή;	48
10.4 Η τεχνολογία της κρυοσυντήρησης ώριμων ωαρίων	49
10.5 Μέθοδος υαλοποίησης ελάχιστου όγκου – Μέθοδος Cryotop.....	52
Κεφάλαιο 11	54
Υποψήφιος για κρυοσυντήρηση ωαρίων	54
11.1 Υαλοποίηση ωαρίων σε ογκολογικούς ασθενείς.....	54
11.2 Υαλοποίηση ωαρίων σε ασθενείς με ενδομητρίωση	54
11.3 Επιλογή για καθυστέρηση της μητρότητας	55
11.4 Κρυοσυντήρηση ωαρίων για τράπεζα ωαρίων δοτριών	56
11.5 Άλλες ενδείξεις	57
Κεφάλαιο 12	59
Υαλοποίηση έναντι αργής κατάψυξης	59
Κεφάλαιο 13	62
Επιπτώσεις υαλοποίησης ανθρώπινων ωαρίων.....	62
13.1 Αρνητικές επιπτώσεις υαλοποίησης στη φυσιολογία των ωαρίων	62

13.2 Επίδραση της υαλοποίησης των ωαρίων στην ποιότητα του εμβρύου	62
Κεφάλαιο 14	66
Τα πρώτα βήματα προς την πλήρη αυτοματοποίηση της υαλοποίησης των ωαρίων ..	66
14.1 GAVI – Automated Vitrification Instrument	67
14.2 Εξοπλισμός και αναλώσιμα που απαιτούνται για την υαλοποίηση με το σύστημα GAVI.....	67
14.3 Εξοπλισμός και αναλώσιμα που απαιτούνται για τη θέρμανση	68
14.4 Μέθοδος Υαλοποίησης με το σύστημα GAVI	68
Συζήτηση.....	70
Συμπέρασμα	71
Αναφορές.....	73

Πίνακας Εικόνων

Εικόνα 1: Εκτιμήσεις γονιμότητας (1950–2010) και προβλέψεις (2010–2050) ανά περιοχή. Source: Population Division of the Department of Economic and Social Affairs of the United Nations Secretariat (2013). World Population Prospects: The 2012 Revision, New York; United Nations. ...	8
Εικόνα2: Η πιθανότητα σύλληψης κάθε μήνα σε φυσιολογικά ζευγάρια ανάλογα με την ηλικία της γυναίκας. https://www.virtusfertilitycentre.com.sg/en/about-fertility/female-fertility/age-fertility	18
Εικόνα 3: Epidemiology of Infertility. https://library.med.utah.edu/kw/human_reprod/seminars/seminar2A.html	21
Εικόνα 4: PCOS μακροχρόνια κατάσταση. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6687436/	24
Εικόνα 5: Μικροβιακή σύνθεση τόσο στο ανώτερο όσο και στο κατώτερο γεννητικό σύστημα με βάση τις τρέχουσες γνώσεις. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8581090/	42
Εικόνα 6: Γενική διαδικασία κρυοσυντήρησης ωαρίων. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10218997/	50
Εικόνα 7: Το σύστημα GAVI https://hcp.merckgroup.com/in-en/fertility/technologies/Gavi/how-it-works.html	69

Συντομογραφίες

	Αγγλική ορολογία	Ελληνική ορολογία
ACTH	Adrenocorticotropic Hormone	Αδρενοκορτικοτρόπος Ορμόνη
AMH	Anti- Mullerian Hormone	Αντιμυλέριος Ορμόνη
ART	Assisted Reproductive Technology	Τεχνολογία Υποβοηθούμενης Αναπα- ραγωγής
ASRM	American Society of Reproductive Medi- cine	Αμερικανική Εταιρεία για Αναπαρα- γωγική Ιατρική
ATP	Adenosine 5'- triphosphate	Τριφωσφορική Αδενοσίνη
BBT	Basal Body Temperature	Βασική Θερμοκρασία Σώματος
BV	Bacterial Vaginosis	Βακτηριακή Κολπίτιδα
COH	Controlled Ovarian Hyperstimulation	Περιβάλλον Ελεγχόμενης Ωθηκικής Υπερδιέγερσης
COS	Controlled Ovarian Stimulation	Ελεγχόμενη διέγερση ωοθηκών
CPA	Cryoprotective Agents	Κρυοπροστατευτικοί Παράγοντες
CRF	Corticotropin Releasing Factor	Εκλυτικός παράγοντας κορτικοτροπί- νης
CRGH	Centre for Reproductive and Genetic Health	Κέντρο Αναπαραγωγικής κα Γενετικής Υγείας
CRH	Corticotropin Releasing Hormone	Κορτικοεκλυτίνη
DMSO	Dimethyl Sulfoxide	Διμεθυλοσουλφοξείδιο
E2	Estradiol	Οιστραδιόλη
EG	Ethylene Glycol	Αιθυλενογλυκόλη
EM	Electron Microscope	Ηλεκτρονικό Μικροσκόπιο
FGT	Female Genital Tract	Γυναικεία Γεννητική Οδός
FHA	Functional Hypothalamic Amenorrhea	Υποθαλαμική Αμηνόρροια
FP	Fertility Preservation	Διατήρηση Γονιμότητας
FSH	Follicle Stimulating Hormone	Θυλακιοτρόπος Ορμόνη
GnIH	Gonadotropin Inhibitory Hormone	Ανασταλτική Γοναδοτροπίνη
GnRH	Gonadotropin Releasing Hormone	Εκκριτική των γοναδοτροπινών Ορ- μόνη

HPA	Hypothalamic Pituitary Adrenal Axis	Άξονας Υποθαλάμου – υπόφυσης - επινεφριδίων
HPG	Hypothalamic pituitary gonadal axis	Άξονας υποθαλάμου – υπόφυσης – γονάδων.
HPV	Human Papilloma Virus	Ιός των Ανθρωπίνων Θηλωμάτων
HSG	Hysterosalpingography	Υστεροσαλπιγγογραφία
ICSI	Intracytoplasmic sperm injection	Ενδοκυτταροπλασματική έγχυση σπέρματος
IVF	In Vitro Fertilization	Εξωσωματική Γονιμοποίηση
LGT	Lower Genital Tract	Κατώτερη Γεννητική Οδός
LH	Luteinizing Hormone	Ωχρινοτρόπος Ορμόνη
LN	Liquid Nitrogen	Υγρό Άζωτο
MRI	Magnetic Resonance Imaging	Μαγνητική Τομογραφία
OC	Oocyte Cryopreservation	Κρυοσυντήρηση Ωαρίων
OHSS	Ovarian Hyperstimulation Syndrome	Σύνδρομο Υπερδιέγερσης Ωοθηκών
OSCM	Oil Soluble Contrast Medium	Ελαιοδιαλυτό Σκιαγραφικό
PCOS	Polycystic Ovary Syndrome	Σύνδρομο Πολυκυστικών Ωοθηκών
POI	Premature Ovarian Insufficiency	Πρόωρη Ωοθηκική Ανεπάρκεια
PPE	Personal Protective Equipment	Εξοπλισμός ατομικής προστασίας
PUFA	Polyunsaturated fatty acid	Πολυακόρεστα λιπαρά οξέα
SART	Society of Assisted Reproductive Technology	Εθνική Συνοπτική Έκθεση Εταιρείας Υποβοηθούμενης Αναπαραγωγικής Τεχνολογίας
SHBG	Sex Hormone Binding Globulin	Σφαιρίνη δεσμεύουσα των φυλετικών ορμονών
SHG	Sono hysteroigraphy	Ηχοϋστερογραφία
UGT	Upper Genital Tract	Ανώτερη Γεννητική Οδός
WHO/Π.Ο.Υ	World Health Organization	Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας
WSCM	Water Soluble Contrast Medium	Υδατοδιαλυτό Σκιαγραφικό
ΔΔ	Eating Disorders	Διατροφικές Διαταραχές
ΔΜΣ	Body Mass Index	Δείκτης Μάζας Σώματος

Πρόλογος

Η δημιουργία οικογένειας ανέκαθεν αποτελούσε ένα από τα πιο σημαντικά γεγονότα στη ζωή του ανθρώπου, και συνδέεται αναπόσπαστα με την ευτυχία και την ολοκλήρωσή του. Η ανθρώπινη γονιμότητα, σε σύγκριση με άλλα είδη του ζωικού βασιλείου, είναι δυστυχώς χαμηλή. Σύμφωνα με πρόσφατες μελέτες του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας (ΠΟΥ), περίπου το 8-10% των ζευγαριών, αντιμετωπίζουν κάποιο πρόβλημα υπογονιμότητας. Σε παγκόσμιο επίπεδο αυτό σημαίνει, ότι 50-80 εκατομμύρια άνθρωποι κάθε χρόνο αδυνατούν να αποκτήσουν μια ολοκληρωμένη οικογένεια (Roura et al., 2009). Γι' αυτό και σήμερα, είναι επιτακτική η ανάγκη για ευαισθητοποίηση ανδρών και γυναικών για το θέμα της υπογονιμότητας, και εφαρμογή των καινοτόμων μεθόδων της υποβοηθούμενης αναπαραγωγής, με σκοπό την άμεση αντιμετώπιση του ζητήματος.

Στα πλαίσια της παρούσας πτυχιακής εργασίας, παρουσιάζεται το θέμα της γυναικείας υπογονιμότητας και της υαλοποίησης των ωαρίων. Ιδιαίτερη έμφαση δίνεται στα υποκείμενα αίτια της πρώτης και στα οφέλη της δεύτερης που αυξάνει δραματικά το ποσοστό επιβίωσης των ωαρίων, και χρησιμοποιείται τόσο για ιατρικούς όσο και για μη ιατρικούς λόγους. Παράλληλα, εξετάζεται η τρέχουσα κατάσταση της τεχνολογίας της υαλοποίησης των ωαρίων, οι περιορισμοί, οι ηθικοί φραγμοί που προκύπτουν από τη χρήση της, αλλά και οι μελλοντικές προσδοκίες των ερευνητών.

Αν και γενικά έχει σημειωθεί αξιόλογη πρόοδος στην κατανόηση των αιτιών και των θεραπειών της υπογονιμότητας, οι παράγοντες που ενοχοποιούνται γι' αυτήν, παραμένουν πολύπλοκοι και πολυπαραγοντικοί. Έτσι λοιπόν, η αναζήτησή τους έγκειται στην εν τω βάθει διερεύνηση των διάφορων βιολογικών, περιβαλλοντικών παραγόντων, του τρόπου ζωής, και οτιδήποτε μπορεί να επηρεάσει την αναπαραγωγική υγεία μιας γυναίκας.

Πολυάριθμες ιατρικές καταστάσεις μπορούν να συμβάλλουν στην υπογονιμότητα, προκαλώντας βλάβη στις σάλπιγγες, επηρεάζοντας την ωορρηξία, προκαλώντας ορμονικές επιπλοκές (Sudha and Reddy, 2013) ή ανωμαλίες στην κοιλότητα της μήτρας και του τραχήλου της (Carson and Kallen, 2021). Το σύνδρομο των πολυκυστικών ωοθηκών (PCOS), μία από τις κυριότερες ιατρικές παθήσεις σχετιζόμενη με τη υπογονιμότητα, είναι συνήθως κληρονομικό πρόβλημα που ευθύνεται έως και για το 90% των περιπτώσεων που παρουσιάζουν πρόβλημα ωορρηξίας. Οι ορμονικές ανωμαλίες που επηρεάζουν την ωορρηξία περιλαμβάνουν τον υπερθυρεοειδισμό, τον υποθυρεοειδισμό και την υπερπρολακτιναιμία (Sudha and Reddy, 2013). Μάλιστα, έρευνες έδειξαν ότι η χρήση αντιψυχωσικών φαρμάκων για την αντιμετώπιση της σχιζοφρένειας και άλλων ψυχωσικών διαταραχών, σχετίζεται με υπερπρολακτιναιμία και υπογονιμότητα που προκαλείται από αυτήν (Edinoff et al., 2021). Παράλληλα, η ενδομητρίωση εμφανίζεται ως μια εξουθενωτική νόσος που πλήττει το 6-10% του γυναικείου πληθυσμού προκαλώντας πόνο ή υπογονιμότητα ή και τα δύο

(Sudha and Reddy, 2013). Αξιοσημείωτο όμως, είναι ότι η επίπτωσή της σχετίζεται και με άλλους παράγοντες όπως η λοίμωξη από τον ιό των ανθρώπινων θηλωμάτων (HPV), η πιο συχνή σεξουαλική μεταδιδόμενη λοίμωξη (Jeršovienė et al., 2019), το μικροβίωμα του γυναικείου γεννητικού συστήματος (Punzón-Jiménez and Labarta, 2021a), οι γεωγραφικές διαφορές, οι περιβαλλοντικές τοξίνες (Roura et al., 2009), η ηλικία, το βάρος καθώς και οι συνήθειες (Sudha & Reddy, 2013).

Τα τελευταία χρόνια, η υαλοποίηση των ωαρίων γνωστή και ως κατάψυξη των ωαρίων, αποτέλεσε μια πολλά υποσχόμενη επαναστατική μέθοδο στον τομέα της αναπαραγωγικής ιατρικής, προσφέροντας τη λύση για τη διατήρηση της γυναικείας γονιμότητας (FP). Ο πληθυσμός που μπορεί να ωφεληθεί από την FP, αποτελείται από γυναίκες που κινδυνεύουν να χάσουν την ωοθηκική τους λειτουργία, είτε για ιατρικούς λόγους είτε λόγω της φυσικής εξάντλησης της ωοθηκικής τους εφεδρείας. Ως εκ τούτου, οι ογκολογικές ασθενείς, ασθενείς με ενδομητρίωση, αλλά και οι υγιείς γυναίκες που επιθυμούν να καθυστερήσουν τη μητρότητα για διάφορους λόγους -επιλεκτική FP- εκμεταλλεύονται τη δυνατότητα της υαλοποίησης. Επιπλέον, η μέθοδος αυτή είναι χρήσιμη όταν έχει συστηθεί καθυστέρηση στη μεταφορά νωπών εμβρύων λόγω υψηλού κινδύνου συνδρόμου υπερδιέγερσης ή για να συμβάλλει στην αύξηση του αριθμού των ευπλοειδών βλαστοκύστεων σε κύκλους προεμφυτευτικού γενετικού ελέγχου για ανευπλοειδία. Η τράπεζα ωαρίων που αναπτύχθηκε από την επιτυχή χρήση των υαλοποιημένων ωαρίων στη δωρεά ωαρίων, είναι αναγκαία όταν ο αριθμός τους προς σπερματέγχυση περιορίζεται για νομικούς λόγους, ή και για περιπτώσεις όπου το δείγμα σπέρματος του συντρόφου δεν είναι διαθέσιμο (Cobo et al., 2021).

Σε αντίθεση με την παραδοσιακή κατάψυξη αργού ρυθμού, όπου διατηρείται μια λεπτή ισορροπία μέσω της επαγωγής εξωκυτταρικών παγοκρυστάλλων, η υαλοποίηση επικεντρώνεται στην πλήρη εξάλειψη του σχηματισμού παγοκρυστάλλων τόσο στα εξωκυτταρικά όσο και στα ενδοκυτταρικά διαλύματα (De Munck and Vajta, 2017). Η υγεία των βρεφών και η μαιευτική εξέλιξη των κυήσεων που συνελήφθησαν με υαλοποιημένα ωάρια είναι παρόμοιες με εκείνες που εντοπίστηκαν στον πληθυσμό μας σε παιδιά που συνελήφθησαν με νωπά ωάρια, γεγονός που επιβεβαιώνει την ασφάλεια της τεχνικής. Τα αυξανόμενα στοιχεία για την αποτελεσματικότητα και την ασφάλεια της υαλοποίησης των γυναικείων γαμετών οδήγησαν τόσο την Αμερικανική Εταιρεία Αναπαραγωγικής Ιατρικής όσο και την Ευρωπαϊκή Εταιρεία Ανθρώπινης Αναπαραγωγής και Εμβρυολογίας να μην θεωρούν την τεχνική αυτή πειραματική (Cobo et al., 2016).

Σήμερα, η νέα τεχνολογία της υαλοποίησης των ανθρώπινων ωαρίων και η χρήση της από γυναίκες που επιθυμούν να αναβάλλουν τη μητρότητα για λόγους όπως η εκπαίδευση, η επαγγελματική ανέλιξη, ή οι προσωπικές επιλογές, διχάζει ηθικά την κοινωνία, για την οποία αυτή η πρακτική πλέον καλείται «κοινωνικό πάγωμα» (Patrizio, Molinari and Carlan, 2016).

Συνολικά, η παρούσα πτυχιακή εργασία ρίχνει φως στην πολυπλοκότητα της γυναικείας υπογονιμότητας, αναδεικνύει τη σημασία της ενδελεχούς έρευνας και των κλινικών παρεμβάσεων και προκαλεί τον αναγνώστη να ευαισθητοποιηθεί και να εκπαιδευτεί σχετικά με την αναπαραγωγική υγεία, την υαλοποίηση των ωαρίων, τις ελπιδοφόρες εξελίξεις που προσφέρει, κατανοώντας βέβαια ότι η μέθοδος δεν αποτελεί εγγύηση για μελλοντική εγκυμοσύνη. Οι ερευνητές, επιστήμονες και ιατροί έχουν χρέος να συνεχίσουν το έργο τους, βελτιώνοντας τα αναπαραγωγικά αποτελέσματα των γυναικών παγκοσμίως και να ελαχιστοποιήσουν κάθε πιθανότητα σφάλματος στη μέθοδο της υαλοποίησης των ανθρώπινων ωαρίων. Στόχος μας, η εξάλειψη της υπογονιμότητας, το συντομότερο δυνατόν...

Κεφάλαιο 1

Εισαγωγή

Σε όλη την ιστορία και τους διάφορους πολιτισμούς της, η γυναίκα ήταν πάντα το σύμβολο της γονιμότητας. Ήδη από την προϊστορική εποχή σε σπηλαιογραφίες και γλυπτά απεικονίζονται πολλές «Αφροδίτες», στρογγυλεμένες γυναικείες μορφές που αντιπροσωπεύουν τη γονιμότητα και την ευημερία, ενώ αρχαίοι τύμβοι ή τάφοι φέρουν επίσης γυναικείες μορφές που περιορίζονται στην πιο απλή έκφραση καμπυλών με στήθη (Morice, 1995). Οι επιβεβαιώσεις από τη σημερινή σύγχρονη επιστήμη που διαχειρίζεται τα κύτταρα, τα μόρια, τα γονίδια, το DNA και η αξιολόγηση της αρχαίας ινδικής βεδικής βιβλιογραφίας, δείχνουν ότι η γονεϊκότητα είναι μια ενστικτώδης φυσιολογική εμπειρία. Είναι επίσης προφανές ότι υπάρχει εγγενής και βαθιά ριζωμένη επιθυμία σε όλες τις ενήλικες γυναίκες να αποκτήσουν παιδί, καθώς το ένστικτο της γονεϊκότητας είναι η πιο ισχυρή επιθυμία που υπάρχει σε όλα τα έμβια όντα που περιλαμβάνουν όλα τα πλάσματα και τους ανθρώπους (Sharma, Saxena and Singh, 2018).

Η υπογονιμότητα θεωρούνταν ανέκαθεν κοινωνικό στίγμα και συχνά αντιμετωπιζόταν ως κοινωνικά, ψυχικά και σωματικά επιζήμια εμπειρία για τις άτεκνες γυναίκες παρά για τον άνδρα. Η πατρότητα ήταν περισσότερο μια κοινωνική παρά μια βιολογική έννοια, καθιστώντας έτσι την ατεκνία νόμιμο λόγο διαζυγίου και θέμα ντροπής για τις γυναίκες (Sharma, Saxena and Singh, 2018). Ιστορικά, η προσέγγιση των κοινωνιών απέναντι στην υπογονιμότητα αντικατοπτρίζει στενά την αντίστοιχη προσέγγιση των κοινωνιών απέναντι στις γυναίκες (Spey, Kaina and By A Whitelaw, 2004a).

Η γυναίκα κατείχε θεμελιώδη θέση στην αιγυπτιακή κοινωνία και το νομικό της καθεστώς ήταν ίσο με αυτό του άνδρα, μια προνομιακή θέση μοναδική στις αρχαίες κοινωνίες. Τα ζευγάρια ήταν γόνιμα και η υπογονιμότητα αποτελούσε τόσο ανδρικό όσο και γυναικείο ζήτημα. Σε αντίθεση με άλλους πολιτισμούς, η υπογονιμότητα δεν θεωρούνταν θεική τιμωρία αλλά μια ασθένεια που άξιζε μια προσπάθεια διάγνωσης και θεραπείας (Morice, 1995). Η αντίληψη των Αιγυπτίων ιατρών για τη γυναικεία υγεία τεκμηριώνεται στον παλαιότερο γνωστό πάπυρο, τον πάπυρο Kahun. Αυτό το «εγχειρίδιο» περιγράφει λεπτομερώς όχι μόνο τον τρόπο με τον οποίο αντιμετωπιζαν την υπογονιμότητα αλλά και άλλα γυναικεία γυναικολογικά ζητήματα, όπως η αντισύλληψη. Ενώ οι Αιγύπτιοι γιατροί αναγνώριζαν τη σχέση μεταξύ της συνουσίας, του σπέρματος και της εγκυμοσύνης, συλλογίζονταν ότι το σπέρμα περιείχε τον σπόρο τον οποίο η μήτρα έπρεπε να θρέψει μέχρι τη γέννηση. Δεν αναγνώριζαν έναν γυναικείο γαμέτη. Όλα τα όργανα, συμπεριλαμβανομένων των αναπαραγωγικών οργάνων, περιγράφονταν ως διασυνδεδεμένα κανάλια τα οποία κατέληγαν σε μια κεντρική κοιλότητα. Η υπογονιμότητα θεωρήθηκε έτσι ως απόφραξη του αναπαραγωγικού καναλιού και ως εκ τούτου ο πρωταρχικός τρόπος για τη διάγνωση της υπογονιμότητας

ήταν η τοποθέτηση ενός βολβού κρεμμυδιού στον κόλπο της γυναίκας. Εάν, η οσμή του κρεμμυδιού ανιχνευόταν στη μύτη της την επόμενη μέρα, θεωρούνταν ότι ήταν γόνιμη, αφού η οσμή δεν μπορούσε να ταξιδέψει μέσω ενός φραγμένου καναλιού. Με βάση αυτή την κατανόηση της γυναικείας γονιμότητας, η πρωταρχική θεραπεία περιλάμβανε την απεμπλοκή του σχετικού καναλιού. Πίστευαν ότι ο διάυλος μπορούσε να ανοίξει με ένα μείγμα καυτού λαδιού, λιβανιού, χουρμάδων και μπύρας πάνω από το σώμα, έτσι ώστε οι αναθυμιάσεις να μπορούν να εισέλθουν στο σώμα. Σε περίπτωση που αυτό δεν λειτουργούσε, οι γυναίκες προσεύχονταν και άφηναν προσφορές στη θεά Χάθορ, ελπίζοντας ότι θα τους χάριζε ένα παιδί, ενώ αν όλα αυτά δεν απέφεραν παιδί, η υιοθεσία ήταν συνηθισμένη.

Στη Μεσαιωνική Ευρώπη, η υπογονιμότητα αποδιδόταν εξ ολοκλήρου στη γυναίκα, εκτός αν ο σύζυγος μπορούσε να αποδειχθεί δημόσια ανίκανος. Αν μια γυναίκα δεν ήταν σε θέση να γεννήσει παιδιά μετά από μερικά χρόνια γάμου, μπορούσαν να την «στείλουν πίσω». Σε ορισμένες περιπτώσεις, αν ένας σύζυγος δεν ήταν πρόθυμος να επιστρέψει τη νύφη του λόγω στειρότητας, η οικογένειά του επενέβαινε και το έκανε γι' αυτόν. Δεδομένων των τόσο σοβαρών συνεπειών της υπογονιμότητας, δεν αποτελεί έκπληξη το γεγονός ότι οι γυναίκες, ιδίως εκείνες που ανήκαν στις ανώτερες τάξεις, όπου ο γάμος αποτελούσε μέσο για τη διατήρηση της θέσης τους, αναζητούσαν θεραπείες για τη στειρότητά τους. Η εκκλησία ασκούσε υπέρμετρη επιρροή εκείνη την εποχή και η υπογονιμότητα θεωρούνταν αποτέλεσμα της κρίσης από τον Θεό. Κατά συνέπεια, οι γυναίκες ήταν απίθανο να αναζητήσουν ανοιχτά θεραπείες, καθώς αυτό θα σήμαινε ότι προσπαθούσαν να αλλάξουν το θέλημα του Θεού. Αντ' αυτού, η θεραπεία περιλάμβανε σπιτικές θεραπείες από αφεψήματα βοτάνων και ειδικές δίαιτες. Είναι ενδιαφέρον ότι μια γυναίκα θα μπορούσε να κατηγορηθεί για μαγεία και να καεί στην πυρά, αν το παραπάνω είχε επιτυχία.

Το 1677, ο Anton von Leeuwenhoek «ανακάλυψε» το σπέρμα και υπέθεσε ότι αυτό περιείχε ολόκληρη την ανθρώπινη μορφή, την οποία το θηλυκό περιέθαλπε μέχρι τη γέννηση. Τα ωάρια δεν ανακαλύφθηκαν για άλλα 150 χρόνια, οπότε όσοι πρότειναν μεγάλο ρόλο της γυναίκας στην αναπαραγωγή δεν είχαν αποδείξεις για να στηρίξουν τους ισχυρισμούς τους. Ο ρόλος της γυναίκας περιοριζόταν στη θρέψη και την υποστήριξη του αναπτυσσόμενου σπέρματος και αυτή η πεποίθηση γέννησε την ιδέα ότι η γυναικεία καλή διάθεση που αποδεικνύεται από έναν οργανισμό ήταν απαραίτητη για μια εγκυμοσύνη.

Μέχρι το τέλος της δεκαετίας του 18ου αιώνα είχαν λάβει χώρα δύο σημαντικά γεγονότα. Τα αντισυλληπτικά όπως και οι αμβλώσεις ήταν διαθέσιμες, δημιουργώντας έτσι επιλογές για τις γυναίκες. Αυτό οδήγησε στην ανάπτυξη του τομέα που σήμερα είναι γνωστός ως γυναικολογική ιατρική. Με την εισαγωγή της γυναικείας αναπαραγωγικής ιατρικής ως ειδικότητας, οι γιατροί μπορούσαν πλέον να γίνουν ειδικοί στον τομέα αυτό. Αυτό οδήγησε σε βελτιώσεις στην κατανόηση της φυσιολογίας της γυναικείας γονιμότητας και αύξησε τον θετικό ρόλο που έπαιζαν οι

άνδρες στη θεραπεία της υπογονιμότητας. Επιπλέον, άρχισαν να ακούγονται για πρώτη φορά γυναικείες φωνές για το θέμα, αρχικά από γυναίκες σε υπογόνιμους γάμους και στη συνέχεια από τις πρώτες γυναίκες γιατρούς που άρχισαν να αποκτούν πτυχία και να δημιουργούν ιατρεία και γίνονταν συνήγοροι των γυναικών στο χώρο της υγείας. Μέχρι το 1890, το 20-30% της υπογονιμότητας μπορούσε να αποδοθεί στο σπέρμα.

Λίγο πριν από το ξέσπασμα του Β' Παγκοσμίου Πολέμου μια ιδέα που είχε δοκιμαστεί ήδη από το 1780 με περιορισμένη επιτυχία άρχισε να υπόσχεται πολλά. Ο λόγος για το θαύμα της τεχνητής γονιμοποίησης. Η πρώτη επιτυχής εμβρυομεταφορά με ένα εξωσωματικά γονιμοποιημένο ωάριο πραγματοποιήθηκε σε ερευνητικό εργαστήριο το 1943. Την επόμενη χρονιά το πρώτο ανθρώπινο ωάριο γονιμοποιήθηκε *in vitro*. Η εξέλιξη αυτή εγκαινίασε μια εντελώς νέα εποχή στην αναπαραγωγική ιατρική και η συζήτηση που ξεκίνησε με τους πρώτους γύρους επιτυχημένης τεχνητής γονιμοποίησης συνεχίστηκε. Παρά τις πρώτες αυτές επιτυχίες θα χρειαστούν αρκετά ακόμη χρόνια πριν οι δύο τεχνολογίες συναντηθούν με αποκορύφωμα την πρώτη εγκυμοσύνη από εξωσωματική γονιμοποίηση το 1978 (Spey, Kaina and By A Whitelaw, 2004b).

Σήμερα, διανύοντας τον 21^ο αιώνα, παρά τις προόδους που έγιναν στην αναπαραγωγική ιατρική, η υπογονιμότητα εξακολουθεί να επηρεάζει εκατομμύρια ζευγάρια παγκοσμίως. Αδιαφιλονίκητα, τόσο ο άνδρας όσο και η γυναίκα μπορούν να θεωρηθούν υπαίτιοι της αδυναμίας τεκνοποίησης. Παρόλα αυτά, το θέμα της πτυχιακής, όπως προκύπτει και από τα επόμενα κεφάλαια, στοχεύει στην κατανόηση των αιτιών της γυναικείας υπογονιμότητας και των θεραπευτικών επιλογών με ιδιαίτερη μνεία να γίνεται στην υαλοποίηση των ωαρίων.

Κεφάλαιο 2

Ορισμός και επιδημιολογία της υπογονιμότητας σε όλο τον κόσμο

Σύμφωνα με τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας (ΠΟΥ), η υπογονιμότητα ορίζεται ως η αδυναμία σύλληψης μετά από περισσότερο από ένα χρόνο σεξουαλικής επαφής χωρίς αντισύλληψη. Επηρεάζει εκατομμύρια ανθρώπους, άνδρες και γυναίκες, με σοβαρό αντίκτυπο στις οικογένειες και τις κοινωνίες τους. Εκτιμήσεις δείχνουν ότι περίπου 1 στους 6 ανθρώπους αναπαραγωγικής ηλικίας παγκοσμίως βιώνει υπογονιμότητα κατά τη διάρκεια της ζωής του (Zegers-Hochschild et al., 2017). Ενώ ο ορισμός της υπογονιμότητας βασίζεται σε μια περιορισμένη χρονική περίοδο, η στειρότητα είναι μια μόνιμη κατάσταση υπογονιμότητας.

Η υπογονιμότητα κατηγοριοποιείται περαιτέρω ως πρωτοπαθής ή δευτεροπαθής. Η πρωτοπαθής υπογόνιμη γυναίκα δεν έχει διαγνωστεί ποτέ με κλινική εγκυμοσύνη και πληροί τα κριτήρια για να χαρακτηριστεί ως υπογόνιμη. Η δευτεροπαθής γυναικεία υπογονιμότητα αφορά μια γυναίκα που δεν μπορεί κλινικά να μείνει έγκυος, αλλά έχει διαγνωστεί στο παρελθόν με κλινική εγκυμοσύνη. Η ίδια κατηγοριοποίηση θα μπορούσε να ισχύει και για τον άνδρα όσον αφορά τη συμμετοχή του στην έναρξη μιας εγκυμοσύνης (Vander Borgh and Wyns, 2018).

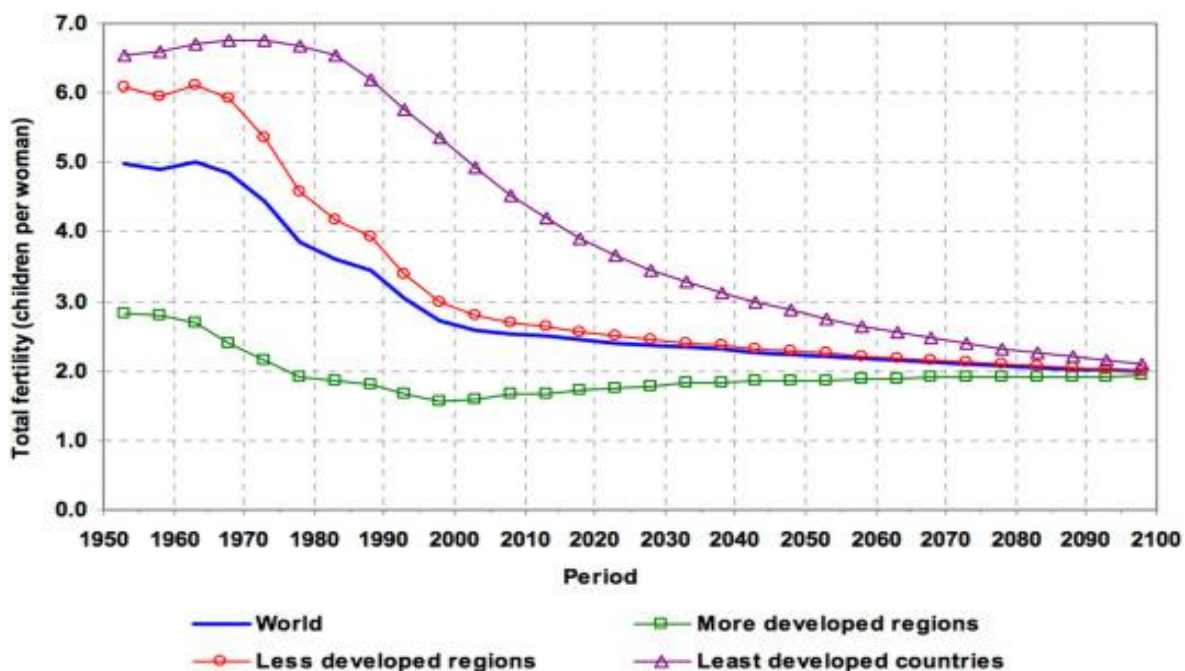
Ο επιπολασμός της υπογονιμότητας στις γυναίκες αναπαραγωγικής ηλικίας, εκτιμάται ότι είναι ένα στα επτά ζευγάρια στον Δυτικό κόσμο και ένα στα τέσσερα ζευγάρια στις αναπτυσσόμενες χώρες. Σε ορισμένες περιοχές του κόσμου, συμπεριλαμβανομένης της Νότιας Ασίας, ορισμένων χωρών της υποσαχάριας Αφρικής, της Μέσης Ανατολής και της Βόρειας Αφρικής, της Κεντρικής και Ανατολικής Ευρώπης και της Κεντρικής Ασίας, τα ποσοστά υπογονιμότητας μπορεί να φθάσουν το 30%. Έχει διαπιστωθεί ότι οι άνδρες ευθύνονται αποκλειστικά για το 20-30% των περιπτώσεων υπογονιμότητας, αλλά συμβάλλουν στο 50% των περιπτώσεων συνολικά. Ωστόσο, τα στοιχεία αυτά δεν αντιπροσωπεύουν με ακρίβεια όλες τις περιοχές του κόσμου. Μελέτες έδειξαν ότι τα ποσοστά ανδρικής υπογονιμότητας ήταν υψηλότερα στην Αφρική και την Κεντρική/Ανατολική Ευρώπη, ενώ τα αντίστοιχα ποσοστά για τη Βόρεια Αμερική, την Αυστραλία και την Κεντρική και Ανατολική Ευρώπη κυμαίνονταν από 4,5-6%, 9% και 8-12%, αντίστοιχα (Vander Borgh and Wyns, 2018).

Σε μια μελέτη που διεξήχθη από την National Survey of Family Growth, η οποία πήρε συνέντευξη από 12.000 γυναίκες στις Ηνωμένες Πολιτείες, τα αποτελέσματα έδειξαν πως καθώς μια γυναίκα μεγαλώνει, οι πιθανότητές της για υπογονιμότητα αυξάνονται. Στις γυναίκες ηλικίας 15 έως 34 ετών, τα ποσοστά υπογονιμότητας κυμαίνονταν από 7,3 έως 9,1%. Σε γυναίκες ηλικίας 35 έως 39 ετών, τα ποσοστά υπογονιμότητας αυξήθηκαν στο 25%. Τέλος, οι γυναίκες από 40 έως 44 ετών είχαν 30% πιθανότητα υπογονιμότητας. Παγκοσμίως, τα ποσοστά υπογονιμότητας είναι υψηλότερα στην Ανατολική Ευρώπη, τη Βόρεια Αφρική και τη Μέση Ανατολή. Παγκοσμίως, το 2%

των γυναικών ηλικίας 20 έως 44 ετών δεν μπόρεσαν ποτέ να γεννήσουν ζωντανό τοκετό και το 11% με προηγούμενη ζωντανή γέννα δεν μπόρεσαν να κάνουν επιπλέον τοκετό. Παρόλα αυτά, για να γίνει κατανοητή η υπογονιμότητα στο σύνολό της, θα πρέπει να συζητηθεί η πλήρης παθοφυσιολογία (Edinoff et al., 2021).

Η υπογονιμότητα, και συγκεκριμένα τα ποσοστά γονιμότητας, δηλαδή ο μέσος αριθμός γεννήσεων ανά γυναίκα, επηρεάζουν την αύξηση ή τη μείωση του πληθυσμού.

Οι περιοχές του κόσμου διαφέρουν σημαντικά ως προς τις δημογραφικές τους τάσεις, με ταχεία αύξηση του πληθυσμού και υψηλά ποσοστά γονιμότητας στις φτωχότερες χώρες, ιδίως σε ορισμένες χώρες της υποσαχάριας Αφρικής, ενώ η μείωση του πληθυσμού, η γήρανση και τα πολύ χαμηλά ποσοστά γονιμότητας αποτελούν θέμα ανησυχίας σε πολλές ανεπτυγμένες χώρες.



Εικόνα 1: Εκτιμήσεις γονιμότητας (1950–2010) και προβλέψεις (2010–2050) ανά περιοχή. Source: Population Division of the Department of Economic and Social Affairs of the United Nations Secretariat (2013). World Population Prospects: The 2012 Revision, New York; United Nations.

Στην Εικόνα 1 παρουσιάζονται οι παγκόσμιες προοπτικές των ποσοστών γονιμότητας. Παρουσιάζονται εκτιμήσεις από το 1950 έως το 2010 και προβλέψεις έως το 2050, όπως υπολογίζεται με βάση τον μέσο αριθμό γεννήσεων κατά τη διάρκεια της ζωής μιας γυναίκας. Στη δεκαετία του 1950, ενώ τα συνολικά ποσοστά γονιμότητας στις λιγότερο ανεπτυγμένες περιοχές και στις λιγότερο ανεπτυγμένες χώρες (Ασία, Λατινική Αμερική και Αφρική) ήταν υψηλά και σχεδόν σταθερά, με περίπου έξι γεννήσεις ανά γυναίκα κατά μέσο όρο, τα ποσοστά γονιμότητας στις πιο ανεπτυγμένες περιοχές (Βόρεια Αμερική και Ευρώπη) έφτασαν σε σχετικά χαμηλά επίπεδα. Στα τέλη της δεκαετίας του 1960, μια ταχεία μείωση της γονιμότητας ξεκίνησε σχεδόν ταυτόχρονα στις λιγότερο

ανεπτυγμένες περιοχές (Ασία και Λατινική Αμερική). Αντίθετα, η Αφρική γνώρισε μόνο περιορισμένες αναπαραγωγικές αλλαγές κατά την ίδια περίοδο (Vander Borgh and Wyns, 2018).

Κεφάλαιο 3

Η προσέγγιση της ασθενούς με υπογονιμότητα

Οι γυναίκες που επιθυμούν εγκυμοσύνη και δεν έχουν καταφέρει να συλλάβουν μετά από 12 μήνες επαφών χωρίς προφύλαξη, ή σπερματέγχυση από δότη, είναι απαραίτητο να υποβάλλονται σε αξιολόγηση της γονιμότητας. Συνιστάται νωρίτερη αξιολόγηση για γυναίκες ηλικίας άνω των 35 ετών που δεν έχουν συλλάβει για 6 μήνες, ενώ μία πιο άμεση αξιολόγηση είναι επιβεβλημένη για γυναίκες ηλικίας άνω των 40 ετών. Η αξιολόγηση της γονιμότητας πρέπει να γίνεται επίσης σε γυναίκες με oligομηνόρροια ή αμηνόρροια, γνωστή ως ύποπτη νόσος της μήτρας, των σαλπίνγων ή του περιτοναίου (συμπεριλαμβανομένης της ενδομητρίωσης σταδίου III ή IV). Η υπογονιμότητα προκαλείται από αναγνωρίσιμες ανωμαλίες στη φυσιολογία ή από υποκείμενη νόσο στο 85% των υπογόνιμων ζευγαριών. Το υπόλοιπο 15% των υπογόνιμων ζευγαριών έχει ανεξήγητη υπογονιμότητα (Carson and Kallen, 2021).

Η αξιολόγηση ξεκινάει με τη λήψη ενός ολοκληρωμένου ιστορικού και τη διενέργεια κατάλληλης φυσικής εξέτασης. Το κατάλληλο ιστορικό περιλαμβάνει διάφορα σημεία, ξεκινώντας από τη διάρκεια της υπογονιμότητας, η οποία ορίζεται ως το χρονικό διάστημα κατά το οποίο πραγματοποιήθηκε επαφή χωρίς προφυλάξεις, καθώς και τα αποτελέσματα οποιασδήποτε προηγούμενης αξιολόγησης και θεραπείας. Θα πρέπει να ερωτάται το ιστορικό της εμμήνου ρύσεως, συμπεριλαμβανομένης της ηλικίας της εμμηναρχής, της διάρκειας και των χαρακτηριστικών του κύκλου, της παρουσίας μολυβδαμίας και της παρουσίας/σοβαρότητας της δυσμηνόρροιας. Ζητείται πλήρες μαιευτικό ιστορικό που να περιγράφει την έκβαση της εγκυμοσύνης και τις σχετικές επιπλοκές μαζί με το ιατρικό και χειρουργικό ιστορικό. Επιπλέον, καταγράφεται το γυναικολογικό ιστορικό, συμπεριλαμβανομένων των φλεγμονωδών νόσων της πυέλου, των σεξουαλικά μεταδιδόμενων λοιμώξεων και της θεραπείας τυχόν προηγούμενων μη φυσιολογικών τεστ Παπανικολάου, καθώς και σεξουαλικό ιστορικό που αφορά τη συχνότητα συνουσίας και τη σεξουαλική δυσλειτουργία. Πρέπει να προσδιορίζεται η παρουσία θυρεοειδοπάθειας, γαλακτόρροιας, πυελικού ή κοιλιακού άλγους και δυσπαρευνίας. Τέλος θα πρέπει να γνωστοποιείται η παρελθούσα χρήση αντισυλληπτικών μεθόδων μαζί με τα τρέχοντα φάρμακα και τις αλλεργίες, καθώς και οποιαδήποτε έκθεση σε γνωστή περιβαλλοντική/επαγγελματική τοξίνη, καπνό, αλκοόλ, παράνομο/ψυχαγωγικό ναρκωτικό ή χημειοθεραπευτικούς παράγοντες. Ο προσδιορισμός τυχόν οικογενειακού ιστορικού γενετικών ανωμαλιών, διανοητικής καθυστέρησης, πρόωρης εμμηνόπαυσης και αναπαραγωγικής ανεπάρκειας/διαταραχής είναι εξίσου σημαντικός.

Η φυσική εξέταση πρέπει να αξιολογεί σημεία ενδεικτικά πιθανών αιτιών υπογονιμότητας. Επειδή έχει τεκμηριωθεί συσχέτιση μεταξύ ακραίων τιμών του δείκτη μάζας σώματος (ΔΜΣ) και ωοθυλακιορρηκτικής υπογονιμότητας, θα πρέπει να σημειώνονται το βάρος και ο ΔΜΣ της

ασθενούς, καθώς και η αρτηριακή πίεση και ο σφυγμός. Μια ενδεδειγμένη φυσική εξέταση θα πρέπει να εντοπίζει την πιθανή διόγκωση του θυρεοειδούς, όζους ή ευαισθησία που υποδηλώνουν δυσλειτουργία του θυρεοειδούς, εκκρίσεις του μαστού λόγω υπερπρολακτιναιμίας και επιδράσεις της περίσσειας ανδρογόνων (υπερτρίχωση, ακμή, αραίωση μαλλιών, ανδρική φαλάκρα), που οφείλονται σε διαταραχή των επινεφριδίων ή σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών. Η πυελική εξέταση για την εκτίμηση ανατομικών ανωμαλιών του κόλπου/τραχήλου της μήτρας ή εκκρίσεων, καθώς και μαζών είναι σημαντική καθώς μπορεί να αξιολογεί την παρουσία λοίμωξης και φλεγμονώδους νόσου της πυέλου ή ενδομητρίωσης. Το μέγεθος, το σχήμα, η θέση και η κινητικότητα της μήτρας πρέπει να ελέγχονται για να αποκλείονται λειομύματα, ενδομητρίωση ή το σύνδρομο Asherman (Choussein and Vlahos, 2012).

Κεφάλαιο 4

Ορμόνες και γυναικεία υπογονιμότητα

Οι ορμόνες παίζουν καθοριστικό ρόλο στη γυναικεία υπογονιμότητα, καθώς ρυθμίζουν τις περίπλοκες διαδικασίες του αναπαραγωγικού συστήματος. Ο εμμηνορρυσιακός κύκλος, ένας «χορός» ορμονικών διακυμάνσεων, είναι απαραίτητος για τη γονιμότητα. Στις βασικές ορμόνες που εμπλέκονται περιλαμβάνονται η ωοθυλακιοτρόπος ορμόνη (FSH) και η ωχρινοτρόπος ορμόνη (LH), οι οποίες παράγονται από την υπόφυση και διεγείρουν την ανάπτυξη και την ωρίμανση των ωοθυλακίων των ωοθηκών. Επιπλέον, τα οιστρογόνα, που παράγονται από τις ωοθήκες, βοηθούν στη ρύθμιση του εμμηνορρυσιακού κύκλου και προετοιμάζουν την επένδυση της μήτρας για πιθανή εμφύτευση. Η προγεστερόνη, μια άλλη ορμόνη, υποστηρίζει την εμφύτευση του εμβρύου και τη διατήρηση της πρώιμης εγκυμοσύνης. Οι ανισορροπίες ή οι ανωμαλίες σε αυτές τις ορμόνες μπορεί να διαταράξουν την ωορρηξία, να επηρεάσουν την ωρίμανση των ωαρίων ή να εμποδίσουν την εμφύτευση του εμβρύου, οδηγώντας σε γυναικεία υπογονιμότητα. Τέλος, ιδιαίτερη μνεία πρέπει να γίνει για την αντιμυλέριο ορμόνη, AMH, η οποία βρέθηκε να έχει υψηλή προγνωστική αξία στην αξιολόγηση του αποθέματος των ωοθηκών, γεγονός που μπορεί να οδηγήσει σε καλύτερη αποτελεσματικότητα των διαδικασιών εξωσωματικής γονιμοποίησης (IVF) (Bedenk, Vrtačnik-Bokal and Virant-Klun, 2020). Η έγκαιρη διάγνωση και η κατάλληλη διαχείριση των ορμονικών ανισορροπιών είναι απαραίτητες για την αντιμετώπιση της γυναικείας υπογονιμότητας και την υποστήριξη των γυναικών στο ταξίδι τους προς τη σύλληψη.

4.1 Ορμόνη απελευθέρωσης γοναδοτροπινών (GnRH)

Η ορμόνη απελευθέρωσης γοναδοτροπινών (GnRH) είναι μια πεπτιδική ορμόνη που παράγεται και εκκρίνεται από τον υποθάλαμο. Πρόκειται για μια απελευθερωτική ορμόνη που διεγείρει την απελευθέρωση της FSH και της LH από την πρόσθια υπόφυση μέσω μεταβολών στη συχνότητα των παλμών της (Holesh, Bass and Lord, 2023). Συνδέεται μέσω πρωτεϊνών G με τον υποδοχέα της (GnRHR), στην κυτταρική επιφάνεια ενός συγκεκριμένου τύπου κυττάρων της υπόφυσης, των γοναδοτρόπων κυττάρων, ξεκινώντας τη σηματοδότηση που επάγει την παραγωγή αυτών των γοναδοτροπινών. Η LH και η FSH, με τη σειρά τους, εισέρχονται στην περιφερική κυκλοφορία, δρώντας στις ωοθήκες και τους όρχεις για να ρυθμίσουν την ωοθυλακιογένεση, την ωορρηξία, τη σπερματογένεση και τη στεροειδογένεση. Η GnRH απελευθερώνεται με παλμικό τρόπο και οι μεταβολές στη συχνότητα και το πλάτος των παλμών της, έχουν διαφορετικές επιδράσεις στη σύνθεση και την απελευθέρωση της FSH και της LH. Η FSH διεγείρεται κατά προτίμηση σε χαμηλές συχνότητες παλμών GnRH, ενώ η LH διεγείρεται κατά προτίμηση σε υψηλές συχνότητες παλμών GnRH (Stamatiades and Kaiser, 2018). Κατά τη διάρκεια της ωοθυλακικής φάσης του κύκλου της μήτρας,

η έκκριση οιστρογόνων προκαλεί την αυτόνομη αύξηση της παραγωγής οιστρογόνων από τα κύτταρα Granulosa, συμβάλλοντας στην αύξηση των επιπέδων οιστρογόνων στον ορό. Η αύξηση αυτή κοινοποιείται στον υποθάλαμο και συμβάλλει στην αύξηση της συχνότητας των παλμών της GnRH διεγείροντας τελικά την έκκριση της LH που τελικά προκαλεί τη ρήξη και απελευθέρωση του ωχρού σωματίου και την ωχρινοποίηση των κυττάρων Granulosa, που επιτρέπει τη σύνθεση προγεστερόνης στη θέση των οιστρογόνων. Τέλος, τα χαμηλά επίπεδα της LH, επανεκκινούν την παραγωγή FSH από τη συχνότητα αργής παλμοδότησης της απελευθέρωσης της GnRH (Holesh et al. 2023).

Πολλές αναπαραγωγικές διαταραχές σχετίζονται με διαταραχή των επιπέδων GnRH, FSH και/ή LH. Για παράδειγμα, επίμονα γρήγοροι παλμοί GnRH, οι οποίοι οδηγούν σε αυξημένη αναλογία LH:FSH, που συμβάλλει στην υπερβολική παραγωγή ωθηκικών ανδρογόνων και στη δυσλειτουργία της ωορρηξίας, έχουν παρατηρηθεί στο σύνδρομο πολυκυστικών ωθηκών (PCOS), μια συχνή διαταραχή που επηρεάζει το 6%-10% του γυναικείου πληθυσμού αναπαραγωγικής ηλικίας. Αντίθετα, οι χαμηλές συχνότητες παλμών GnRH και τα μη φυσιολογικά επίπεδα γοναδοτροπινών στον ορό σχετίζονται με υποθαλαμική αμηνόρροια. Τα παραδείγματα αυτά αναδεικνύουν τη σημασία της σωστής λειτουργίας του άξονα HPG και του ελέγχου της έκκρισης της FSH και της LH για τη φυσιολογική αναπαραγωγική λειτουργία.

4.2 FSH (Follicle Stimulating Hormone) & LH (Luteinizing Hormone)

Η FSH και η LH, είναι διμερή γλυκοπρωτεϊνών που αποτελούνται από δύο υπομονάδες, μια κοινή α-υπομονάδα (αGSU) και μια ξεχωριστή β-υπομονάδα (FSHβ ή LHβ, αντίστοιχα), η οποία καθορίζει τη βιολογική εξειδίκευση των γοναδοτροπινών (Stamatiades and Kaiser, 2018). Η ορμόνη διέγερσης των ωοθυλακίων (FSH) διαδραματίζει θεμελιώδη ρόλο στη γυναικεία γονιμότητα.

Η FSH διεγείρει την ανάπτυξη και ωρίμανση των ωοθυλακίων στις ωθήκες πριν από την ωορρηξία. Οι υποδοχείς της FSH είναι συζευγμένοι με G-πρωτεΐνες και βρίσκονται στα κύτταρα Granulosa που περιβάλλουν τα αναπτυσσόμενα ωοθυλάκια των ωθηκών. Τα κύτταρα Granulosa παράγουν αρχικά τα οιστρογόνα που απαιτούνται για την ωρίμανση του αναπτυσσόμενου κυρίαρχου ωοθυλακίου. Μετά από 2 ημέρες συνεχούς αύξησης των επιπέδων των οιστρογόνων, η έκκριση της LH προκαλεί ωχρινοποίηση των κυττάρων granulosa σε κύτταρα δεκτικά της LH. Αυτή η μετάβαση επιτρέπει στα κύτταρα granulosa να ανταποκριθούν στα επίπεδα της LH και να παράγουν προγεστερόνη (Holesh, Bass and Lord, 2023).

Οι φυσιολογικές τιμές της FSH, είναι 3 mIU/mL – 10 mIU/mL την 3^η-4^η μέρα της περιόδου. Τιμές >12 mIU/mL, υποδηλώνουν μειωμένο αποθεματικό των ωθηκών, ενώ επίπεδα πάνω από 25 mIU/mL, επιβεβαιώνουν την ανεπάρκεια των ωθηκών.

Η ωχρινοτρόπος ορμόνη (LH) είναι μια γοναδοτροπίνη που συντίθεται και εκκρίνεται από την πρόσθια υπόφυση σε απόκριση της υψηλής συχνότητας απελευθέρωσης της GnRH. Η LH είναι υπεύθυνη για την πρόκληση της ωορρηξίας, την προετοιμασία για την εμφύτευση των γονιμοποιημένων ωαρίων στη μήτρα και την ωοθηκική παραγωγή προγεστερόνης μέσω της διέγερσης των κυττάρων Theca και των ωχρινοποιημένων κοκκιοκυττάρων. Πριν από την αύξησή της, η LH αλληλοεπιδρά με τα κύτταρα Theca που βρίσκονται δίπλα στα κύτταρα granulosa στην ωοθήκη. Τα κύτταρα αυτά παράγουν ανδρογόνα τα οποία διαχέονται στα κύτταρα granulosa και μετατρέπονται σε οιστρογόνα για την ανάπτυξη των ωοθυλακίων. Η έκκριση της LH δημιουργεί το περιβάλλον για την έκρηξη των ωοθυλακίων αυξάνοντας τη δραστηριότητα των πρωτεολυτικών ενζύμων που αποδυναμώνουν το ωοθηκικό τοίχωμα επιτρέποντας τη διέλευση του ωαρίου. Μετά την απελευθέρωση του ωοκυττάρου, τα ωοθυλακικά υπολείμματα είναι τα κύτταρα Theca και τα ωχρινοποιημένα κύτταρα granulosa. Η λειτουργία τους είναι πλέον να παράγουν προγεστερόνη, η οποία είναι η ορμόνη που είναι υπεύθυνη για τη διατήρηση του περιβάλλοντος της μήτρας που μπορεί να δεχθεί ένα έμβρυο (Holesh, Bass and Lord, 2023).

4.3 Οιστραδιόλη (E2)

Η οιστραδιόλη (E2) είναι μια στεροειδής ορμόνη που εκκρίνεται στην κυκλοφορία από τα κύτταρα granulosa των αναπτυσσόμενων ωοθυλακίων των ωοθηκών. Οι κλινικοί γιατροί συνήθως μετρούν τα επίπεδα E2 στις γυναίκες στο πλαίσιο της εξέτασης της ωοθηκικής εφεδρείας. Τα επίπεδα αυτής της ορμόνης σε γυναίκες αναπαραγωγικής ηλικίας κυμαίνονται από 10-300 pg/mL, ανάλογα με τη χρονική στιγμή του εμμηνορρυσιακού κύκλου. Για τον έλεγχο της ωοθηκικής εφεδρείας, οι κλινικοί ιατροί συνήθως αξιολογούν τα επίπεδα της E2 στο ναδίρ τους νωρίς στον εμμηνορροϊκό κύκλο, τις ημέρες 2 ή 3.

Η αξιολόγηση των επιπέδων αυτών των ορμονών σε ένα σταθερό χρονικό σημείο του εμμηνορρυσιακού κύκλου επιτρέπει στους κλινικούς γιατρούς να κάνουν ουσιαστικές ερμηνείες των τιμών. Για παράδειγμα, ένα υψηλό βασικό επίπεδο FSH ή E2 υποδηλώνει μειωμένη ανάπτυξη ωαρίων νωρίς στον κύκλο, ένα ανησυχητικό σημάδι αναπαραγωγικής γήρανσης ή/και φτωχής ωοθηκικής εφεδρείας. Επιπλέον, επειδή η οιστραδιόλη ασκεί αρνητική ανατροφοδότηση στην έκκριση FSH από την υπόφυση, η υψηλή E2 (>100 pg/mL) μπορεί να αναστείλει την έκκριση FSH, με αποτέλεσμα μια τεχνητά χαμηλή τιμή FSH.

Εκτός από τη βασική ωοθηκική λειτουργία, οι κλινικοί ιατροί συχνά αξιολογούν τα επίπεδα E2 των γυναικών σε περιβάλλον ελεγχόμενης ωοθηκικής υπερδιέγερσης (COH) για την παρακολούθηση της ανάπτυξης των ωοθυλακίων. Καθώς αναπτύσσονται τα ωοθυλάκια, τα επίπεδα E2 αυξάνονται σταθερά. Κατά τη διάρκεια ενός κύκλου, τα επίπεδα E2 συνήθως κορυφώνονται

μεταξύ 250-300 pg/mL καθώς πλησιάζει η ωορρηξία. Αντίθετα, όταν η υπερωοθυλακιορρηξία - απελευθέρωση περισσότερων από ένα ώριμων ωαρίων- είναι ο στόχος, οι γυναίκες σε κύκλο COH έχουν σημαντικά υψηλότερες τιμές E2 (Abigail Delaney, 2012).

4.4 Ο ρόλος της αντι-Müllerian ορμόνης (AMH)

Η AMH είναι μια σημαντική ορμόνη ειδικά στα αναπαραγωγικά όργανα των γυναικών και θεωρείται σήμερα ο καλύτερος βιοδείκτης για μια πληθώρα χρήσεων στην αναπαραγωγική ιατρική.

Η αντι-μυλλέριος ορμόνη (AMH) είναι μια διμερής γλυκοπρωτεΐνη που ανήκει στην υπερικογένεια του αυξητικού παράγοντα β (TGF-β). Μεταξύ των πολλών άλλων πρωτεϊνών της οικογένειας TGF-β είναι οι ακτιβίνες, οι ινχιμπίνες, οι οστικές μορφογενετικές πρωτεΐνες (BMPs) και οι παράγοντες ανάπτυξης και διαφοροποίησης (GDFs). Η AMH ανακαλύφθηκε τη δεκαετία του 1940 από τον Alfred Jost, ο οποίος περιέγραψε τον ρόλο της ορμόνης στη διαφοροποίηση του φύλου στο έμβρυο. Έχει επίσης αποδειχθεί ότι έχει ισχυρή επίδραση στη λειτουργία των ωοθηκών, ιδίως στην ανάπτυξη των ωοθυλακίων. Η ανακάλυψη αυτή άνοιξε ένα εντελώς νέο φάσμα χρήσης της AMH στη γυναικολογία, από την εξωσωματική γονιμοποίηση (IVF) έως τη διάγνωση διαφόρων παθήσεων και καρκίνων των ωοθηκών, καθώς και τη μελλοντική της χρήση (Bedenk, Vrtačnik-Bokal and Virant-Klun, 2020).

Μέχρι σήμερα, η AMH είναι περισσότερο γνωστή ως δείκτης ορού για τη λειτουργία των ωοθηκών. Στην ωοθήκη, η AMH εκφράζεται από κοκκιώδη κύτταρα αναπτυσσόμενων ωοθυλακίων από το πρωτογενές έως το μικρό στάδιο του άντρου. Μετά την εξαρτώμενη από την ωοθυλακιοτρόπο ορμόνη (FSH) επιλογή, η έκφραση της AMH εξαφανίζεται. Επίσης, στα ωχρά σωματίδια, η έκφραση της AMH χάνεται. Τα αυξανόμενα επίπεδα έκφρασης της AMH ανιχνεύονται σε ωοθυλάκια έως 8 mm και η έκφραση απουσιάζει σε ωοθυλάκια >8 mm. Αυτό το πρότυπο έκφρασης ταυριάζει θετικά με τις συγκεντρώσεις AMH στο ωοθυλακικό υγρό, παρουσιάζοντας υψηλότερα επίπεδα σε ωοθυλάκια έως 8 mm και απότομη πτώση στη συνέχεια. Δεδομένου ότι εκφράζεται από αναπτυσσόμενα ωοθυλάκια πριν από την εξαρτώμενη από FSH επιλογή και έχει αποδειχθεί ότι είναι ανιχνεύσιμη στην κυκλοφορία, η AMH ορού θεωρείται δείκτης για τη λειτουργία των ωοθηκών, ιδιαίτερα στην αξιολόγηση της ποσοτικής πτυχής του ωοθηκικού αποθέματος.

Από τη γέννηση και μετά, τα επίπεδα AMH αυξάνονται κατακόρυφα μέχρι την ηλικία περίπου των 25 ετών. Από την ηλικία των 25 ετών και μετά, τα επίπεδα AMH αρχίζουν να μειώνονται σε μη ανιχνεύσιμα επίπεδα στην εμμηνόπαυση (Moolhuijsen and Visser, 2020).

Η AMH είναι καλύτερος δείκτης της ωοθηκικής εφεδρείας, σε σύγκριση με την FSH και την E2, λόγω της σχετικής σταθερότητάς της κατά τη διάρκεια του εμμηνορρυσιακού κύκλου και μεταξύ των εμμηνορρυσιακών κύκλων και καθώς αρχικά θεωρήθηκε ότι δεν επηρεάζεται από την

αντισύλληψη ή την ανωορρηξία. Ωστόσο, πιο πρόσφατα, η σταθερότητα αυτή αμφισβητήθηκε και οι παράγοντες αυτοί θα πρέπει να λαμβάνονται υπόψη κατά την ερμηνεία των αποτελεσμάτων. Επιπλέον, πρώιμες μελέτες υπέδειξαν συσχέτιση με τη φυσική γονιμότητα- ωστόσο πρόσφατες μελέτες δεν έδειξαν συσχέτιση μεταξύ της AMH και της γονιμότητας. Συνεπώς, είναι σαφές ότι η AMH δεν αποτελεί «δείκτη γονιμότητας» και η ερμηνεία της πρέπει να γίνεται στο πλαίσιο του εκάστοτε ασθενούς. Τούτου λεχθέντος, η χρησιμότητα της μέτρησης της AMH σε γυναίκες χωρίς υπογονιμότητα ή/και χωρίς ενεργή επιδίωξη εγκυμοσύνης θα πρέπει να αμφισβητηθεί. Ενώ η αξιολόγηση της ωθηκικής εφεδρείας για άτομα με οικογενειακό ιστορικό πρώιμης εμμηνόπαυσης ή/και με παράγοντες κινδύνου για πρώιμη εμμηνόπαυση (π.χ. ενδομητρίωση, χειρουργική επέμβαση στις ωθήκες) μπορεί να είναι χρήσιμη στη συμβουλευτική των γυναικών σχετικά με το αναπαραγωγικό παράθυρο, η AMH δεν θα πρέπει να χρησιμοποιείται ως εξέταση ρουτίνας στον μη υπογόνιμο πληθυσμό (Cedars, 2022).

4.5 Ινχιμπίνη Β

Η ινχιμπίνη Β είναι μια πεπτιδική ορμόνη που παράγεται κυρίως από τα αναπτυσσόμενα ωοθυλάκια που ανταποκρίνονται στην FSH. Καθώς το ωοθυλάκιο συνεχίζει να αναπτύσσεται και να γίνεται κυρίαρχο, η έκκριση της ινχιμπίνης Β μειώνεται. Καθώς η αυξανόμενη δεξαμενή των αντρικών ωοθυλακίων μειώνεται κατά τη διάρκεια της γήρανσης, τα επίπεδα της ινχιμπίνης Β μειώνονται. Μελέτες σε γυναίκες έχουν καταδείξει ότι η μειωμένη έκκριση ινχιμπίνης Β σχετίζεται με αυξημένα επίπεδα FSH και μειωμένη ποιότητα ωαρίων και δυναμικό γονιμότητας. Έτσι, η ορμόνη αυτή έχει χρησιμοποιηθεί ως προγνωστικός δείκτης της ωθηκικής εφεδρείας. Ωστόσο, η καθυστερημένη εμφάνισή της κατά τη μετάβαση στην εμμηνόπαυση έχει οδηγήσει στην πρόταση ότι μπορεί να αποτελεί καλύτερο δείκτη της ωθηκικής δραστηριότητας παρά του ωθηκικού αποθέματος, λόγω της άμεσης σύνδεσής της με τα αναπτυσσόμενα ωοθυλάκια (Rosewell and Curry, 2018).

Οι τιμές της ινχιμπίνης Β ποικίλλουν κατά τη διάρκεια της αναπαραγωγικής ζωής και του εμμηνορρυσιακού κύκλου μιας γυναίκας. Επιπλέον, οι μεταβολές στα επίπεδά της που συμβαίνουν με την αναπαραγωγική γήρανση είναι παρόμοιες με εκείνες της FSH και της AMH. Καθώς οι γυναίκες γερνούν, τα επίπεδα της FSH αυξάνονται και τόσο η ινχιμπίνη Β όσο και η AMH μειώνονται. Η μείωση του επιπέδου της ορμόνης είναι ένας δείκτης μειωμένης ωθηκικής εφεδρείας- επομένως, οι τιμές της δεν μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την πρόβλεψη της ωθηκικής ανεπάρκειας ή της εμμηνόπαυσης. Επί του παρόντος, τα επίπεδα της ινχιμπίνης Β δεν θεωρούνται ως πρότυπο και/ή αξιόπιστη εκτίμηση της ωθηκικής εφεδρείας (Abigail Delaney, 2012).

4.6 Προγεστερόνη

Τα επίπεδα προγεστερόνης είναι μια απλή μέτρηση της λειτουργίας των ωοθηκών. Τα επίπεδα της προγεστερόνης παραμένουν χαμηλά κατά τη διάρκεια της ωοθυλακικής φάσης (<1 ng/mL), αυξάνονται την ημέρα της αύξησης της ωχρινοτρόπου ορμόνης (LH) (1-2 ng/mL) και αυξάνονται σταθερά έως ότου κορυφωθούν περίπου 1 εβδομάδα μετά την ωορρηξία. Τα επίπεδα προγεστερόνης <3 ng/mL υποδηλώνουν ανωορρηξία, εκτός εάν εκτιμηθούν αμέσως μετά την ωορρηξία της γυναίκας ή πριν από την εμμηνόρροια, όταν τα επίπεδα προγεστερόνης βρίσκονται σε φυσιολογικά χαμηλά επίπεδα. Για την αξιολόγηση της παρουσίας ή της απουσίας ωορρηξίας, οι κλινικοί ιατροί συνήθως αξιολογούν τα επίπεδα προγεστερόνης μιας γυναίκας περίπου 1 εβδομάδα πριν από την αναμενόμενη έναρξη της εμμήνου ρύσεως.

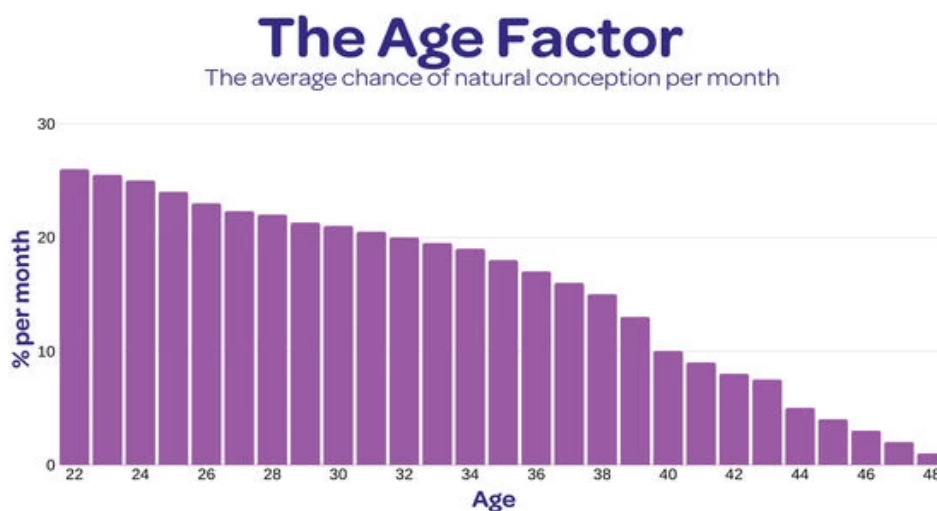
Οι κλινικοί ιατροί χρησιμοποιούν συχνά την προγεστερόνη ανάλογα της ορμόνης απελευθέρωσης γοναδοτροπινών (GnRH) για την πρόκληση ωορρηξίας και την καταστολή της υπόφυσης, αποτρέποντας έτσι την πρόωρη αύξηση της LH και την επακόλουθη ωορρηξία. Ωστόσο, πολλές μελέτες περιγράφουν ένα εύρημα που ονομάζεται πρόωρη ωχρινοποίηση και εμφανίζεται στο 5-30% των περιπτώσεων. Αυτό συμβαίνει όταν τα επίπεδα προγεστερόνης στον ορό των ασθενών αυξάνονται υψηλότερα από μια καθορισμένη οριακή τιμή 0,9-1,2 ng/mL, παρά το γεγονός ότι έχουν λάβει GnRH. Ορισμένοι κλινικοί γιατροί υποψιάζονται ότι εάν η προγεστερόνη ορού μιας γυναίκας είναι αυξημένη την ημέρα που προκαλείται η ωορρηξία, επηρεάζεται αρνητικά η επιτυχία του κύκλου εξωσωματικής γονιμοποίησης, αν και αυτό αποτελεί αντικείμενο συζήτησης εδώ και πολλά χρόνια. Μια πρόσφατη μετα-ανάλυση 12 μελετών κατέληξε στο συμπέρασμα ότι η πιθανότητα κλινικής εγκυμοσύνης σε κύκλους εξωσωματικής γονιμοποίησης δεν διέφερε σημαντικά μεταξύ των ασθενών με αυξημένη προγεστερόνη και εκείνων με φυσιολογικά επίπεδα την ημέρα χορήγησης της ανθρώπινης χοριακής γοναδοτροπίνης ενεργοποίησης (Abigail Delaney, 2012).

Κεφάλαιο 5

Το χρονοδιάγραμμα της αναπαραγωγής

Η ηλικία ενός άνδρα ή μιας γυναίκας είναι ένας καθοριστικός παράγοντας που μπορεί να επηρεάσει τη γονιμότητα. Λόγω της επιδίωξης της εκπαίδευσης και άλλων παραμέτρων, πολλά ζευγάρια επιλέγουν να καθυστερήσουν την τεκνοποίηση. Η γονιμότητα κορυφώνεται και στη συνέχεια μειώνεται με την πάροδο του χρόνου τόσο στους άνδρες όσο και στις γυναίκες, επομένως το χρονοδιάγραμμα αναπαραγωγής μπορεί να είναι μια πτυχή που πρέπει να ληφθεί υπόψη κατά τον καθορισμό της ιδανικής στιγμής για τη δημιουργία οικογένειας (Sharma et al., 2013).

Το χρονοδιάγραμμα αναπαραγωγής για τις γυναίκες είναι πολύπλοκο. Μια γυναίκα γεννιέται με όλα τα ωοκύτταρα που θα έχει ποτέ, και μόνο 400-500 οδηγούνται στην πραγματικότητα για ωορρηξία. Καθώς ο αριθμός των ωοκυττάρων μειώνεται, ο εμμηνορρυσιακός κύκλος μιας γυναίκας συντομεύεται, η υπογονιμότητα αυξάνεται και η εμμηνορρυσιακή διαταραχή αρχίζει 6-7 χρόνια πριν την εμμηνόπαυση (Sharma et al., 2013). Σε μια γυναίκα νέα, η πιθανότητα σύλληψης ανά κύκλο, δηλαδή κάθε μήνα είναι περίπου 25%. Το ποσοστό αυτό παραμένει σταθερό μέχρι την ηλικία των 28, και μετά ξεκινά μια βαθμιαία ελάττωση. Όπως άλλωστε βλέπουμε και στην Εικόνα 2, μια γυναίκα στην ηλικία των 35 ετών, έχει πιθανότητα λίγο παραπάνω από 16% να μείνει έγκυος στο μήνα. Από τα 40 έτη και μετά, η γονιμότητα ελαττώνεται σημαντικά, και οι πιθανότητες η γυναίκα να μείνει έγκυος κάθε μήνα δεν ξεπερνούν το 10%.



Εικόνα2: Η πιθανότητα σύλληψης κάθε μήνα σε φυσιολογικά ζευγάρια ανάλογα με την ηλικία της γυναίκας. <https://www.virtusfertilitycentre.com.sg/en/about-fertility/female-fertility/age-fertility>

Οι κοινωνικές τάσεις σε όλο τον κόσμο, έχουν οδηγήσει τις γυναίκες να καθυστερούν την τεκνοποίηση μέχρι τα 30 τους και, σε ορισμένες περιπτώσεις, τα 40 τους. Η μέση ηλικία των γυναικών

που γεννούν έχει αυξηθεί από τα 27 στα 29 έτη τα τελευταία 20 χρόνια. Το 2006, το ποσοστό γονιμότητας των γυναικών ηλικίας 30 έως 34 ετών ήταν το υψηλότερο από κάθε άλλη ηλικιακή ομάδα, ξεπερνώντας αυτό της προηγούμενης υψηλότερης ομάδας, των γυναικών ηλικίας 25 έως 29 ετών. Το ποσοστό των πρωτοτόκων μητέρων ηλικίας > 30 ετών αυξήθηκε σταθερά από 11% το 1987 σε 26% το 2005. Κατά την ίδια περίοδο, σημειώθηκε σημαντική αύξηση στις μητέρες που κάνουν πρώτη φορά παιδί και είναι > 35 ετών, από 4% το 1987 σε 11% το 2005 (Liu et al., 2012). Μάλιστα αυτή η καθυστέρηση στην τεκνοποίηση παρείχε ένα παράθυρο ευκαιρίας για διάφορες διαταραχές του τρόπου ζωής, παθολογικές και γενετικές διαταραχές να ασκήσουν περαιτέρω την επιρροή τους και να μειώσουν την πιθανότητα σύλληψης ενός ζευγαριού. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την αυξανόμενη προσφυγή σε θεραπείες γονιμότητας - πράγματι, 1 στα 25 παιδιά στην Αυστραλία γεννιέται ως αποτέλεσμα θεραπείας εξωσωματικής γονιμοποίησης (IVF)(Hart, 2016).

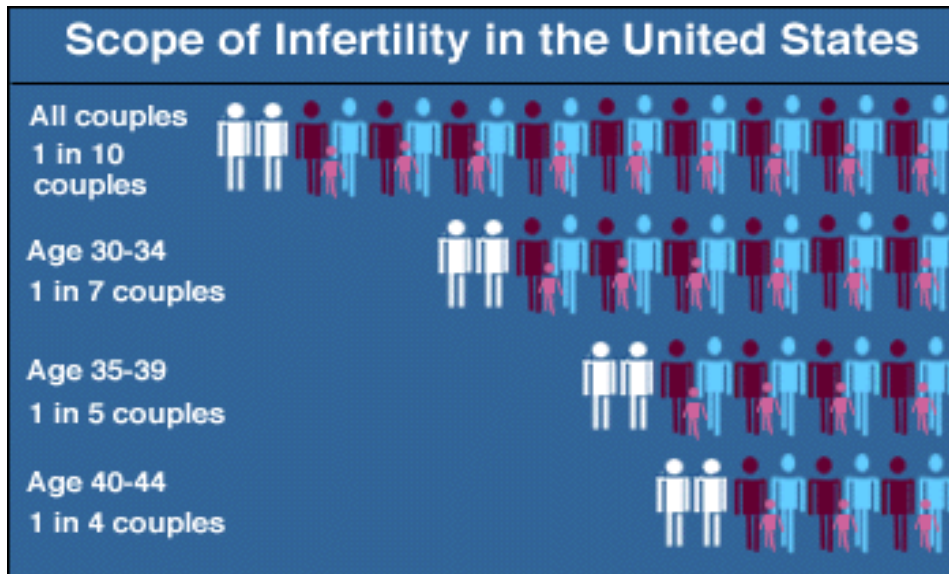
Η ηλικία της γυναίκας έχει φυσιολογικές και γενετικές επιδράσεις στη σύλληψη, οι οποίες σχετίζονται με τη μειωμένη δεξαμενή ωοθυλακίων, τις διαταραχές της ωορρηξίας και την αύξηση των μειωτικών σφαλμάτων στο ωάριο (Hart, 2016). Η απώλεια ωαρίων από τις ωοθήκες είναι μια συνεχής διαδικασία που ξεκινά από τη μήτρα. Οι ωοθήκες του θηλυκού εμβρύου περιέχουν 6 έως 7 εκατομμύρια ωοκύτταρα στις περίπου 20 εβδομάδες κύησης. Κατά τη γέννηση, παραμένουν 1 έως 2 εκατομμύρια ωοκύτταρα και μόνο 300 000 έως 500 000 είναι παρόντα κατά την έναρξη της εφηβείας. Η διαδικασία αυτή συνεχίζεται μέχρι την εμμηνόπαυση, όπου παραμένουν μόνο μερικές εκατοντάδες ωοκύτταρα. Κατά τη διάρκεια των αναπαραγωγικών ετών, 400 έως 500 ωάρια θα ωοθυλακιωορρηχθούν ενώ η πλειονότητα των ωαρίων χάνεται μέσω της απόπτωσης ή του προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου. Παλαιότερες έρευνες υπέδειξαν ότι μια πιο επιταχυνόμενη διαδικασία μείωσης λαμβάνει χώρα κατά τα τελευταία 10 έως 15 χρόνια πριν από την εμμηνόπαυση, ξεκινώντας περίπου στην ηλικία των 38 ετών. Ωστόσο, πιο πρόσφατα δεδομένα υποδηλώνουν ότι η απώλεια ωαρίων συμβαίνει με τον ίδιο ρυθμό καθ' όλη τη διάρκεια της αναπαραγωγικής ζωής, με την κλίση της μείωσης να παραμένει αρκετά σταθερή μέχρι την εμμηνόπαυση. Καθώς μειώνεται η δεξαμενή ωοθυλακίων των ωοθηκών, οι γυναίκες εμφανίζουν υπογονιμότητα, στειρότητα, μείωση του κύκλου, ανωμαλία της εμμήνου ρύσεως και τελικά εμμηνόπαυση. Στις δυτικές χώρες, η μέση ηλικία εμμηνόπαυσης είναι τα 51 έτη και το 1% θα εμφανίσει πρόωρη ωοθηκική ανεπάρκεια πριν από την ηλικία των 40 ετών. Φαίνεται ότι υπάρχει ένα σταθερό χρονικό διάστημα μεταξύ αυτών των σταδίων της ωοθηκικής λειτουργίας. Οι γυναίκες που βιώνουν νωρίτερα την εμμηνόπαυση θα έχουν νωρίτερα απώλεια γονιμότητας, επομένως περίπου το 10% των γυναικών θα έχουν μειωμένη ωοθηκική λειτουργία στις αρχές έως τα μέσα της δεκαετίας των 30.

Καθώς ο συνολικός αριθμός των εναπομεινάντων ωοθυλακίων μειώνεται, υπάρχει αντίστοιχη μείωση της διαθέσιμης ωοθυλακικής ομάδας. Ως επακόλουθο μιας μικρότερης

ωοθυλακικής συνοχής, παρατηρείται μείωση της ινχιμπίνης Β, η οποία παράγεται από τα κύτταρα *granulosa* στην πρώιμη ωοθυλακική φάση. Υπάρχει μια αντίστροφη συσχέτιση μεταξύ της FSH και της ινχιμπίνης Β, η οποία πιθανότατα οφείλεται σε απώλεια της αρνητικής ανατροφοδότησης- η αύξηση της FSH κατά την πρώιμη ωοθυλακική φάση είναι ένα από τα πρώτα σημάδια της ωοθηκικής γήρανσης. Αυτό το αρχικό στάδιο μπορεί να μην είναι κλινικά εμφανές ή να παρουσιάζεται μόνο ως υπογονιμότητα, επειδή η παραγωγή ωοθηκικών ορμονών παραμένει σταθερή και οι γυναίκες συνεχίζουν να έχουν ωορρηξία και τακτικούς κύκλους. Τα πρώτα κλινικά σημάδια της ωοθηκικής γήρανσης μπορεί να είναι η συντόμευση των εμμηνορρυσιακών κύκλων, η οποία οφείλεται στη μικρότερη ωοθυλακική φάση. Η ταχύτερη ωοθυλακική ανάπτυξη οδηγεί σε προγενέστερη πρόσληψη ενός κυρίαρχου ωοθυλακίου. Καθώς αυτή η μετάβαση συνεχίζεται, οι γυναίκες θα παρατηρήσουν ότι οι κύκλοι τους επιμηκύνονται και γίνονται πιο ακανόνιστοι καθώς εισέρχονται στη μετάβαση της εμμηνόπαυσης και η ωορρηξία είναι λιγότερο συνεπής. Μόλις οι γυναίκες αρχίσουν να παρατηρούν κλινικά σημάδια ωοθηκικής γήρανσης, όπως σύντμηση του κύκλου ή ακανόνιστη συμπεριφορά, η γονιμότητά τους μπορεί να έχει ήδη μειωθεί σημαντικά. Ένα άρθρο ανασκόπησης διαπίστωσε ότι οι γυναίκες που ήταν στείρες μετά την ηλικία των 35 ετών είχαν ήδη επιδείξει χαμηλότερη γονιμότητα πριν από την ηλικία των 30 ετών. Οι δείκτες της ωοθηκικής εφεδρείας μπορεί να είναι χρήσιμοι για την πρόβλεψη μιας πρόωρης εμμηνόπαυσης ή μετάβασης στην εμμηνόπαυση για γυναίκες που δεν έχουν ακόμη κλινικά σημεία ή συμπτώματα ωοθηκικής γήρανσης, αλλά που μπορεί να έχουν ήδη μειωμένη γονιμότητα (Liu et al., 2012).

Το γεγονός ότι η αύξηση της ηλικίας της μητέρας σχετίζεται άμεσα με χρωμοσωμικές ανωμαλίες στο έμβρυο επιβεβαιώνει ότι τα πρωτογενή ωοκύτταρα είναι επιρρεπή σε βλάβη καθώς γερνούν. Δεύτερον, η ανάπτυξη ενός ώριμου ωοκυττάρου εξαρτάται από τη λεπτή διασταυρούμενη σηματοδότηση μεταξύ όλων των ωοθηκικών διαμερισμάτων. Η σχετιζόμενη με την ηλικία υπογονιμότητα είναι μια πολυπαραγοντική διαδικασία και η κατανόηση των παραγόντων που επηρεάζουν τη γήρανση των ωοθυλακίων/ωαρίων απαιτεί τη σύγκριση των θεωριών για τους μηχανισμούς γήρανσης που βασίζονται σε μελέτες σε ιστούς και όργανα εκτός της ωοθήκης. Οι υπερδομικές αλλαγές στα ωοκύτταρα, όπως η διάσπαση της μειωτικής ατράκτου και η σκλήρυνση της διαφανούς ζώνης είναι μερικοί από τους παράγοντες της μειωμένης γονιμότητας που σχετίζεται με την ηλικία. Επιπλέον, υψηλότερη τάση για επίκτητες καταστάσεις όπως προβλήματα της μήτρας, ορμονικές αλλαγές, ενδομητρίωση, ινομύματα και πυελικές λοιμώξεις εμφανίζονται σε ηλικιωμένες γυναίκες. Η απώλεια της ενεργού συσκευής επιδιόρθωσης του DNA και η μιτοχονδριακή βλάβη των ωαρίων είναι πιθανές για το φαινόμενο της γήρανσης των ωοθυλακίων/ωαρίων (Moghadam et al., 2021).

Στην Εικόνα 3 παρουσιάζεται ο επιπολασμός της υπογονιμότητας στις Ηνωμένες Πολιτείες της Αμερικής, με κριτήριο την ηλικία.



Εικόνα 3: Epidemiology of Infertility. https://library.med.utah.edu/kw/human_reprod/seminars/seminar2A.html

Κεφάλαιο 6

Υπογονιμότητα που σχετίζεται με ασθένειες

Η ομάδα εργασίας του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας (ΠΟΥ) για τη διάγνωση και τη θεραπεία της υπογονιμότητας, διεξήγαγε μια μελέτη 8500 υπογόνιμων ζευγαριών χρησιμοποιώντας ένα τυποποιημένο διαγνωστικό πρωτόκολλο. Στις ανεπτυγμένες χώρες, οι ασθένειες που αναγνωρίστηκαν ότι συμβάλλουν στην υπογονιμότητα αποδόθηκαν στη γυναίκα σύντροφο στο 37% των ζευγαριών, στον άνδρα σύντροφο στο 8% των ζευγαριών, και στους δύο συντρόφους στο 35% των ζευγαριών. Το 5% των ζευγαριών δεν είχε καμία αναγνωρίσιμη αιτία υπογονιμότητας (ανεξήγητη υπογονιμότητα) και το 15% των ζευγαριών κατάφερε εγκυμοσύνη κατά τη διάρκεια της έρευνας. Οι ασθένειες σε γυναίκες που εντοπίστηκαν συχνότερα ήταν διαταραχές της ωορρηξίας (25%), η ανεξήγητη υπογονιμότητα (20%), η ενδομητρίωση (15%), πυελικές συμφύσεις (12%), απόφραξη σαλπίνγων (11%), άλλες σαλπινγικές ανωμαλίες (11%) και υπερπρολακτιναιμία (7%) (Barbieri, 2019).

6.1 Δυσλειτουργία ωορρηξίας και ανωορρηξία

Οι διαταραχές της παραγωγής ωαρίων αποτελούν συχνή αιτία γυναικείας υπογονιμότητας. Οι πιο συχνές από αυτές, είναι η ανωορρηξία, η ολιγοωοθυλακιωορρηξία, η εξάντληση της δεξαμενής ωοθυλακίων και η γήρανση του ωοθυλακίου με αποτέλεσμα την κακή ποιότητα των ωαρίων. Η εξάντληση της δεξαμενής ωοθυλακίων και η γήρανση των ωοθυλακίων των ωοθηκών σχετίζονται με κακή λειτουργία των ωοκυττάρων και ο όρος μειωμένη ωοθηκική εφεδρεία χρησιμοποιείται συχνά για να περιγράψει αυτή την κατάσταση. Η ανωορρηξία συνδέεται συνήθως με αμηνόρροια ή σοβαρή ολιγομηνόρροια, ενώ η ολιγοωοθυλακιωορρηξία συνδέεται συνήθως με ολιγομηνόρροια (μήκη κύκλου >35 ημέρες). Μια εξαντλημένη δεξαμενή ωοθυλακίων ανιχνεύεται συνήθως με τη μέτρηση της AMH, της FSH και της οιστραδιόλης την 3η ημέρα του εμμηνορυσιακού κύκλου. Η ποιότητα των ωαρίων είναι γενικά δύσκολο να εκτιμηθεί και η κακή ποιότητα ωαρίων θα πρέπει να τίθεται ως υποψία όταν η ηλικία της γυναίκας είναι μεγαλύτερη των 40 ετών, ακόμη και αν οι εξετάσεις της δεξαμενής ωοθυλακίων υποδεικνύουν καλή ωοθηκική εφεδρεία. Οι γυναίκες που έχουν μηνιαία έμμηνο ρύση και αναφέρουν συμπτώματα -όπως ευαισθησία στο στήθος και δυσμηνόρροια- είναι συνήθως ωοθυλακιωορρηκτικές. Σε περιβάλλοντα χαμηλών πόρων, η μέτρηση της βασικής θερμοκρασίας του σώματος (BBT) μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τον εντοπισμό της ωορρηξίας. Για τις περισσότερες γυναίκες, η πρωινή βασική θερμοκρασία που λαμβάνεται πριν από την έγερση από το κρεβάτι είναι μικρότερη από 98°F πριν από την ωορρηξία και μεγαλύτερη από 98°F μετά την ωορρηξία. Στις περισσότερες ανεπτυγμένες χώρες, η διαδοχική καθημερινή μέτρηση της LH στα ούρα στο σπίτι κατά το περιωορρηκτικό διάστημα είναι η πιο κοινή προσέγγιση

για την ανίχνευση της επικείμενης ωορρηξίας. Η αύξηση της LH στα ούρα ανιχνεύεται 1 ή 2 ημέρες πριν από την ωορρηξία. Ένα επίπεδο προγεστερόνης στον ορό μεγαλύτερο από 3 ng/mL είναι διαγνωστικό της ωορρηξίας. Στη μέση και όψιμη ωχρινική φάση, η έκκριση προγεστερόνης είναι παλλόμενη λόγω της παλλόμενης φύσης της έκκρισης της ωχρινοτρόπου (LH). Σε εννοιολογικό επίπεδο, η παλλόμενη φύση της έκκρισης προγεστερόνης μπορεί να καθιστά δύσκολη την αξιόπιστη χρήση μιας μεμονωμένης μέτρησης προγεστερόνης ως δείκτη για την επάρκεια της ωορρηξίας. Ωστόσο, στις περισσότερες κλινικές καταστάσεις, μια μεμονωμένη μέτρηση προγεστερόνης στο μέσο του ωχρού κύκλου φαίνεται να αποτελεί χρήσιμο δείκτη της επάρκειας της ωορρηξίας. Η βιοψία ενδομητρίου με ιστολογικές αλλαγές αποτελεί οριστική εξέταση που αποδεικνύει την ωορρηξία. Αν και επί του παρόντος δεν χρησιμοποιείται στην αξιολόγηση της υπογονιμότητας, είναι πιθανό ότι στο μέλλον η βιοψία ενδομητρίου θα χρησιμοποιείται για την ανίχνευση ενδομητρικών πρωτεϊνών που χρησιμεύουν ως χρήσιμοι δείκτες της δεκτικότητας του ενδομητρίου για εμφύτευση (Barbieri, 2019).

Η ακανόνιστη ή απύσασα έμμηνος ρύση και η μόλυνση είναι συνήθως, αλλά όχι πάντα, αποκαλυπτικά της δυσλειτουργίας. Τα πιθανά αίτια της δυσλειτουργίας της ωοθυλακιορρηξίας περιλαμβάνουν συνηθέστερα το σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών και τις διαταραχές του θυρεοειδούς ή συνοδεύουν πρωτοπαθή υποθαλαμο-υποφυσιακή δυσλειτουργία (έντονη άσκηση, διατροφικές διαταραχές, υπερπρολακτιναιμία, αδένωμα της υπόφυσης, σύνδρομο Kallmann) (Choussein and Vlahos, 2012).

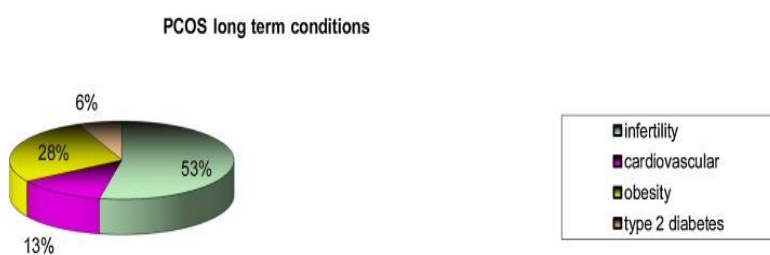
6.2 Σύνδρομο Πολυκυστικών Ωοθηκών

Το Σύνδρομο Πολυκυστικών Ωοθηκών (PCOS), είναι μια κυρίαρχη αιτία υπογονιμότητας και μια κοινή ενδοκρινική και αναπαραγωγική διαταραχή που επηρεάζει το 7 με 15% των γυναικών σε αναπαραγωγική ηλικία 18-44 ετών. Περιγράφηκε για πρώτη φορά από τους Stein και Leventhal το 1935. Η αιτιολογία του PCOS είναι πολύπλοκη, και παρόλο που συμπεριλαμβάνει γενετικούς, περιβαλλοντικούς παράγοντες και τον τρόπο ζωής, παραμένει αμφιλεγόμενη. Το PCOS ορίζεται από την παρουσία τουλάχιστον δύο από τα κριτήρια του Ρότερνταμ: oligo-ανωορρηξία, κλινικός ή βιολογικός υπερανδρογονισμός και μικροπολυκυστικό σύνδρομο (όγκος ωοθηκών > 10 mL ή/και περισσότερα από 12 ωοθυλάκια από την ωοθήκη) (Collée et al., 2021).

Μία στις έξι γυναίκες αντιμετωπίζει σοβαρές επιπλοκές σχετικά με τη στειρότητα και την παρατυπία στον εμμηνορρυσιακό της κύκλο. Το άγχος, η παχυσαρκία, οι διακυμάνσεις των ορμονικών επιπέδων είναι η κύρια αιτία παγκοσμίως. Η φυσιολογική λειτουργία των ορμονών παίζει σημαντικό ρόλο στη λειτουργία των ωοθηκών και στη ρύθμιση του κύκλου που διατηρεί τη γονιμότητα. Εάν υπάρχει συνεχής διαταραχή του ορμονικού επιπέδου στις γυναίκες, τότε θα διαταραχθεί η λειτουργία των ωοθηκών που οδηγεί στο σχηματισμό κύστης μέσα στον σάκο της

ωοθήκης. Από την άλλη, το ανδρογόνο, το οποίο είναι μια ανδρική ορμόνη, είναι αυξημένο πέρα από το φυσιολογικό του εύρος στις γυναίκες που πάσχουν από PCOS.

Οι ασθενείς με PCOS έχουν πολυάριθμες κύστες, περισσότερες από 12, μεγέθους 8 mm στον σάκο της ωοθήκης τους. Περίπου το 70% των γυναικών είναι υπογόνιμες εξαιτίας αυτής της πάθησης. Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, το επίπεδο των ανδρικών ορμονών-ανδρογόνο είναι αυξημένο και προκαλεί υπερτρίχωση και ακμή. Ακόμα, υπάρχει αντίσταση στην ινσουλίνη που οδηγεί σε παχυσαρκία και διαβήτη τύπου 2. Το 20% των γυναικών παρουσίασαν συχνά υπνική άπνοια, ενώ η κατάθλιψη και το άγχος είναι επίσης κοινά κλινικά χαρακτηριστικά (Ajmal, Khan and Shaikh, 2019).



Εικόνα 4: PCOS μακροχρόνια κατάσταση. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6687436/>

Γενετικοί και περιβαλλοντικοί παράγοντες είναι υπεύθυνοι για την αιτιολογία αυτής της πάθησης. Ο ανθυγιεινός τρόπος ζωής, η διατροφή ή οποιοσδήποτε λοιμώδης μεσολαβητής αυξάνει τον κίνδυνο εμφάνισης του PCOS. Λόγω της αντίστασης στην ινσουλίνη και του αυξημένου επιπέδου της, η λειτουργία των ωοθηκών διαταράσσει την αύξηση του επιπέδου των ανδρογόνων και οδηγεί σε ανωορρηξία. Το επίπεδο της ορμόνης απελευθέρωσης γοναδοτροπινών, της ωοθυλακιοτρόπου ορμόνης (FSH), της ωχρινοτρόπου ορμόνης (LH) και της προλακτίνης διαταράσσεται. Αναφορικά με τους γενετικούς παράγοντες που ευθύνονται για το PCOS, τα υποψήφια γονίδια, είναι τα SNP. Σύμφωνα με βάσεις δεδομένων, η αιτιολογία του PCOS περιλαμβάνει 241 παραλλαγές γονιδίων. Ο πολυμορφισμός ή οποιαδήποτε αλλαγή νουκλεοτιδίου προκαλεί ελάττωμα στη μεταγραφική δραστηριότητα ενός γονιδίου που οδηγεί σε PCOS. Κυρίως γονίδια που κωδικοποιούν τον υποδοχέα ανδρογόνων, τους υποδοχείς της ωχρινοτρόπου ορμόνης, υποδοχείς της ωοθυλακικής ορμόνης διέγερσης και τους υποδοχείς λεπτίνης είναι υπεύθυνα, καθώς το γονιδιακό ελάττωμα διαταράσσει τη βιοχημική οδό και οδηγεί σε δυσλειτουργία μιας ωοθήκης (Ajmal, Khan and Shaikh, 2019).

Οι γυναίκες με PCOS παρουσιάζουν αξιοσημείωτα αυξημένα επίπεδα FSH, LH, προλακτίνης και AMH λόγω τόσο του αυξημένου αριθμού μικρών ωοθυλακίων του άντρου όσο και των εγγενών χαρακτηριστικών των κοκκιωδών κυττάρων τους, τα οποία μπορεί να συμβάλλουν στην ανωορρηξία (Vander Borgh and Wyns, 2018).

6.3 Σαλπινγκική Υπογονιμότητα

Η σαλπινγκική υπογονιμότητα, η οποία ορίζεται είτε ως απόφραξη των σαλπίγγων είτε ως αδυναμία των σαλπίγγων να παραλάβουν ένα ωάριο από την ωοθήκη λόγω πυελικών συμφύσεων, αντιπροσωπεύει μεταξύ 11% και 67% των διαγνώσεων υπογονιμότητας, ανάλογα με τον πληθυσμό που μελετάται. Η υπογονιμότητα των σαλπίγγων θα πρέπει να τίθεται ως υποψία σε γυναίκες με ιστορικό σεξουαλικά μεταδιδόμενη λοίμωξης (η συχνότερη αιτία νόσου των σαλπίγγων), δυσπλασία του τραχήλου της μήτρας, χειρουργική επέμβαση στην κοιλιά ή προηγούμενη ενδοκοιλιακή λοίμωξη (π.χ. ρήξη σκωληκοειδούς απόφυσης).

Η υστεροσαλπιγγογραφία (HSG), μια διαδικασία κατά την οποία εγχέεται σκιαγραφικό υλικό (είτε ελαιοδιαλυτό είτε υδατοδιαλυτό) μέσω του τραχήλου της μήτρας στην κοιλότητα της μήτρας και ακολουθείται μέσω των σαλπίγγων με ακτινοσκόπηση, έχει ευαισθησία και ειδικότητα 65% και 83% αντίστοιχα, και αποτελεί διαγνωστικό εργαλείο πρώτης γραμμής για τη σαλπινγκική υπογονιμότητα. Μια πρόσφατη συστηματική ανασκόπηση καθόρισε ότι η χρήση ελαιοδιαλυτού σκιαγραφικού (OSCM) σχετίζεται με σημαντικά υψηλότερα ποσοστά εγκυμοσύνης (που ορίζεται ως θετικός καρδιακός παλμός του εμβρύου κατά την υπερηχογραφική εξέταση μετά από 12 εβδομάδες κύησης) μετά από HSG σε σύγκριση με το υδατοδιαλυτό σκιαγραφικό (WSCM) (τα ποσοστά ήταν 32,1% για το ελαιοδιαλυτό σκιαγραφικό έναντι 23,6% για το υδατοδιαλυτό σκιαγραφικό). Η ηχοϋστερογραφία (SHG), κατά την οποία η διαρροή σκιαγραφικού από τις σάλπιγγες εισάγεται στην κοιλότητα της μήτρας και αξιολογείται με υπερηχογράφημα, μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την αξιολόγηση της βατότητας των σαλπίγγων με ευαισθησία και ειδικότητα 76% και 67%, αντίστοιχα. Η λαπαροσκόπηση με χρωμοσωληνογραφία, κατά την οποία η ινδιγγοκαρμίνη εισάγεται διαδερμικά στη μήτρα και αξιολογείται απευθείας για διαρροή σαλπίγγων με λαπαροσκοπική απεικόνιση, θεωρείται ο χρυσός κανόνας για την αξιολόγηση της νόσου των σαλπίγγων.

Σε σύγκριση με τις υπογόνιμες γυναίκες με αμφοτερόπλευρη βατότητα των σαλπίγγων, οι γυναίκες με μονόπλευρη εγγύς απόφραξη των σαλπίγγων έχουν παρόμοια ποσοστά εγκυμοσύνης μετά από διέγερση των ωοθηκών με ενδομήτρια σπερματέγχυση. Ωστόσο, όταν υπάρχει αμφοτερόπλευρη απόφραξη των σαλπίγγων, μπορεί να εξεταστεί το ενδεχόμενο χειρουργικής επέμβασης για την αποκατάσταση της βατότητας των σαλπίγγων ή διέγερσης των ωοθηκών με εξωσωματική γονιμοποίηση (IVF). Η επιλογή αυτή θα πρέπει να βασίζεται στην ηλικία της γυναίκας συντρόφου, τη διάρκεια της υπογονιμότητας και την παρουσία άλλων διαγνώσεων (όπως η υπογονιμότητα ανδρικού παράγοντα), την προηγούμενη επιτυχία εγκυμοσύνης και τον αριθμό των επιθυμητών κύσεων, την έκταση της νόσου των σαλπίγγων και τους οικονομικούς πόρους (Carson and Kallen, 2021).

6.4 Ενδομητρίωση

Η ενδομητρίωση είναι η παρουσία ενδομήτριου ιστού έξω από την κοιλότητα της μήτρας και επηρεάζει το 25% έως 40% των γυναικών με υπογονιμότητα (Carson and Kallen, 2021). Κατηγοριοποιείται σε τέσσερα στάδια, σύμφωνα με την Αμερικανική Εταιρεία Αναπαραγωγικής Ιατρικής, με το στάδιο I να είναι ελάχιστο και το στάδιο IV το πιο σοβαρό. Η ενδομητρίωση είναι γνωστό ότι προκαλεί υπογονιμότητα, αλλά η παθοφυσιολογία πιστεύεται ότι αλλάζει ανάλογα με το στάδιο (Edinoff et al., 2021). Είναι κάπως εύκολο να κατανοήσουμε πώς η μέτρια-σοβαρή ενδομητρίωση σχετίζεται με την υπογονιμότητα, καθώς πρόκειται για μια καταστροφική διαταραχή που έχει ως αποτέλεσμα σημαντικό πόνο και ανατομική παραμόρφωση των πυελικών οργάνων. Είναι όμως λιγότερο σαφές πώς η ήπια- μικρή ενδομητρίωση μπορεί να μειώσει τη γονιμότητα χωρίς πυελική παραμόρφωση, αν και υπάρχουν διάφορες θεωρίες. Σε ποιό βαθμό η θεραπεία των κλινικών εκδηλώσεων της ενδομητρίωσης μπορεί να βελτιώσει τη γονιμότητα;

Αν και η ενδομητρίωση είναι γενικά αποδεκτό ότι σχετίζεται με την υπογονιμότητα, η πραγματική της επίδραση στη γονιμότητα και οι μηχανισμοί που διέπουν την επίδραση αυτή είναι λιγότερο σαφείς. Δυστυχώς, δεν υπάρχουν καλά σχεδιασμένες επιστημονικές μελέτες για το θέμα αυτό. Η γονιμότητα, που ορίζεται ως η πιθανότητα μια γυναίκα να επιτύχει ζωντανό τοκετό σε ένα μήνα, κυμαίνεται από 0,15 έως 0,20 σε φυσιολογικά ζευγάρια και από 0,02 έως 0,10 σε μη θεραπευμένες γυναίκες με ενδομητρίωση. Σημαντικά χαμηλότερα αθροιστικά ποσοστά σύλληψης 3 ετών σε γυναίκες με ενδομητρίωση σε σύγκριση με τις γυναίκες ελέγχου (36% έναντι 54%) και μειωμένα ποσοστά σύλληψης σε γυναίκες με ενδομητρίωση που είχαν γονιμοποιηθεί με δότη για τον έλεγχο των ανδρικών παραγόντων έχουν δείξει σταθερά μια σχέση μεταξύ μειωμένης γονιμότητας και ενδομητρίωσης. Πολλές μελέτες σε ζώα και ανθρώπους, έχουν επίσης υποδείξει χαμηλότερα ποσοστά εγκυμοσύνης σε περιπτώσεις ενδομητρίωσης (Ozkan, Murk and Arici, 2008).

Ανατομικές παραμορφώσεις, όπως η παρουσία συμφύσεων, ή ωοθηκικές μάζες (π.χ. ενδομητρίωμα) που εμφανίζονται μεταξύ της σάλπιγγας και της θέσης της ωορρηξίας μπορούν να επηρεάσουν τη βατότητα των σαλπίγγων, την ποιότητα των ωαρίων και την ανάκτηση των ωαρίων από τους σαλπιγγικούς κροσσούς. Τα δεδομένα είναι αντικρουόμενα σχετικά με το κατά πόσον η ενδομητρίωση μπορεί να επηρεάσει τη δεκτικότητα του ενδομητρίου. Παρόλο που η λαπαροσκοπική χειρουργική επέμβαση για την ενδομητρίωση βελτιώνει τα ποσοστά αυτόματης εγκυμοσύνης, δεν συνιστάται ως μέρος της αξιολόγησης γονιμότητας ρουτίνας σε γυναίκες χωρίς συμπτώματα ενδομητρίωσης (Carson and Kallen, 2021).

6.5 Αλλοιώσεις της μήτρας

Ένα ευρύ φάσμα ανωμαλιών της μήτρας, είτε συγγενών είτε επίκτητων, έχει συσχετιστεί με την παρουσία υπογονιμότητας ή επαναλαμβανόμενων αποβολών. Παραδείγματα περιλαμβάνουν συγγενείς ανωμαλίες, ενδομήτρια έκθεση σε φάρμακα, υποβλεννογόνια μυώματα και πολύποδες. Ενώ μια τέτοια συσχέτιση είναι ασφαλώς αληθής, οι καταστάσεις αυτές μπορεί επίσης να εμφανιστούν ταυτόχρονα με την εξέλιξη της εγκυμοσύνης, οδηγώντας έτσι σε δυσκολία στην καθιέρωση σχέσης αιτίου και αποτελέσματος. Αυτό ενδεχομένως οφείλεται στην έλλειψη δεδομένων σχετικά με τη συχνότητα εμφάνισης αυτών των ευρημάτων σε υπογόνιμες ασθενείς (Brugo-Olmedo, Chillik and Korelman, 2001).

Τα λειομύματα είναι οι συνηθέστεροι καλοήθεις όγκοι στη γυναικεία αναπαραγωγική οδό. Αν και ο ρόλος τους στην υπογονιμότητα εξακολουθεί να είναι αμφισβητήσιμος, τα μέχρι σήμερα στοιχεία δείχνουν ότι η ανατομική θέση μπορεί να σχετίζεται με τα αποτελέσματα της αναπαραγωγής. Έχουν αναφερθεί διάφοροι πιθανοί μηχανισμοί σχετικά με τον τρόπο με τον οποίο τα λειομύματα μπορεί να επηρεάσουν τη γονιμότητα, όπως η ανατομική αλλοίωση της ενδομητρικής κοιλότητας, η μη φυσιολογική συσταλτικότητα της μήτρας, η μειωμένη παροχή αίματος στο ενδομήτριο και η τροποποιημένη δεκτικότητα του ενδομητρίου. Μειωμένο δυναμικό εμβρυϊκής εμφύτευσης και πρόωμη απώλεια εγκυμοσύνης αναφέρθηκαν επίσης και παρουσία ενδομητριακών πολυπόδων (Vander Borcht and Wyns, 2018).

Η μέθοδος αξιολόγησης πρώτης γραμμής είναι η υστεροσαλπιγγογραφία. Η λαπαροσκόπηση συνήθως συμπληρώνει τις πληροφορίες σε περίπτωση συγγενών αλλοιώσεων. Η υστεροσκόπηση επιτρέπει την αξιολόγηση και τη διόρθωση των ανωμαλιών της κοιλότητας της μήτρας με την ίδια χειρουργική διαδικασία. Η ηχογραφία, η υστεροσαλπιγγογραφία και η μαγνητική τομογραφία (MRI) συμβάλλουν στη διάγνωση των αλλοιώσεων της μήτρας και παρέχουν πληροφορίες για το ουροποιητικό σύστημα, το οποίο αποτελεί σημαντικό στόχο διερεύνησης σε περιπτώσεις συγγενών ανωμαλιών στην ανάπτυξη του γεννητικού συστήματος (Brugo-Olmedo, Chillik and Korelman, 2001).

6.6 Υπογοναδοτροφικός Υπογοναδισμός

Η ανεπαρκής διέγερση των ωοθηκών με τις γοναδοτροπίνες LH και FSH οδηγεί στην κατάσταση του υπογοναδοτροφικού υπογοναδισμού, είτε λόγω ανεπαρκούς υποθαλαμικής διέγερσης της GnRH από την υπόφυση, είτε λόγω ανεπαρκούς έκκρισης λόγω βλάβης της υπόφυσης. Μετά τον αποκλεισμό της υπερβολικής άσκησης, του ακραίου στρες ή μιας διατροφικής διαταραχής και αφού διασφαλιστεί ότι η λειτουργία της υπόφυσης, εκτός από την έκκριση της LH και της FSH, είναι φυσιολογική και η απεικόνισή της είναι φυσιολογική, η κατάσταση θεωρείται ιδιοπαθής. Η πιο

συχνή αιτία της ανεπάρκειας της GnRH είναι η αποτυχία της μετανάστευσης των εκκριτικών νευρώνων της GnRH προς τον πρόσθιο εγκέφαλο, η οποία μπορεί επίσης να οδηγήσει σε διαταραχή της όσφρησης (σύνδρομο Kallmann) και η κατάσταση περιγράφεται ως νορμοσωματική. Η κληρονομικότητα είναι είτε X-συνδεόμενη (γονίδια KAL), αυτοσωμική επικρατής ή αυτοσωμική υπολειπόμενη και συνήθως ανιχνεύεται στην εφηβεία με καθυστέρηση ή απουσία εφηβικής ανάπτυξης, με περισσότερα από 20 γονίδια να εμπλέκονται στην κατάσταση αυτή μέχρι σήμερα.

Το σύνδρομο Kallmann χαρακτηρίζεται από υπογοναδοτροφικό υπογοναδισμό και ανοσμία και προκαλείται συνηθέστερα από μεταλλάξεις των KAL-1, KAL-2 και KAL-6 γονιδίων. Οι μεταλλάξεις του γονιδίου GnRH1 που κωδικοποιεί την GnRH είναι πολύ σπάνιες- ωστόσο, οι μεταλλάξεις του γονιδίου GnRHR (4q13.2-3) που κωδικοποιεί τον υποδοχέα της GnRH είναι πιο συχνές και οδηγούν σε ποικίλη έκφραση του φαινοτύπου. Το γονίδιο KISS1 κωδικοποιεί τις κισπεπτίνες που διεγείρουν την απελευθέρωση της GnRH, ο υποδοχέας της κωδικοποιείται από το γονίδιο GPR54, και ως εκ τούτου οι μεταλλάξεις οποιουδήποτε γονιδίου θα οδηγήσουν σε ποικίλη έκφραση ιδιοπαθούς υπογοναδοτροφικού υπογοναδισμού είτε στην παιδική είτε στην ενήλικη ζωή. Επιπλέον, το γονίδιο TAC3 κωδικοποιεί τον NK3R ο οποίος επίσης διεγείρει τους νευρώνες της GnRH, μεταλλάξεις του οποίου οδηγούν σε διαταραγμένη έκκριση GnRH και συνεπώς σε ανεπαρκή έκκριση LH και FSH. Επιπλέον, οι μεταλλάξεις στο γονίδιο της λεπτίνης, Ob, των υπομονάδων LH και FSH β, LHB και FSHB, είναι σπάνιες, αλλά σχετίζονται με υπογοναδισμό (Hart, 2016).

6.7 Υπερπρολακτιναίμια

Η προλακτίνη είναι μια πολυπεπτιδική ορμόνη που αποτελείται από 199 αμινοξέα που εκκρίνεται από τα γαλακτοτροφικά κύτταρα από την πρόσθια υπόφυση. Παράγεται επίσης σε λιπώδη κύτταρα του υποδόριου, του μαστού και των σπλαχνικών ιστών ενώ παράλληλα λειτουργεί ως αυξητική ορμόνη, ενεργοποιώντας διάφορες οδούς σηματοδότησης κατά τη σύνδεση των υποδοχέων τους.

Η υπερπρολακτιναίμια προκαλεί υπογονιμότητα μέσω της καταστολής του άξονα υποθαλάμου-υπόφυσης-γοναδικής μοίρας. Όταν τα επίπεδα προλακτίνης είναι υπερβολικά υψηλά, η πρόσθια υπόφυση θα σταματήσει να εκκρίνει ωχρινότροπο ορμόνη (LH) και ωθυλακιοτρόπο ορμόνη (FSH). Αυτή η μείωση των γοναδοτροπινών οδηγεί σε απορρύθμιση του εμμηνορροϊκού κύκλου και προκαλεί μείωση της απελευθέρωσης οιστρογόνων στις ωοθήκες, προκαλώντας στη συνέχεια ανωορρηξία και στειρότητα.

Το αποδεκτό φυσιολογικό εύρος επιπέδων προλακτίνης τόσο στους άνδρες όσο και στις γυναίκες είναι 15–25 ng/L. Οι τιμές της προλακτίνης στον ορό των 25-50 ng/mL προκαλούν ανεπαρκή απελευθέρωση προγεστερόνης από το ωχρό σωματίο, μειώνοντας την ωχρινική φάση, η

οποία μπορεί να οδηγήσει σε στειρότητα και εκδηλώνεται ως υπογοναδοτροπικός υπογοναδισμός. Τα επίπεδα πάνω από 25 ng/mL θεωρούνται αυξημένα στις γυναίκες. Τιμές προλακτίνης 50–100 ng/mL προκαλούν μη φυσιολογική ανάδραση στον άξονα υποθαλάμου-υπόφυσης-ωοθηκών, που οδηγεί σε ανωορρηξία, αντίστοιχη ολιγομηνόρροια ή αμηνόρροια. Η συγκέντρωση προλακτίνης μεγαλύτερη από 100 ng/mL σχετίζεται συχνότερα με αδενώματα της υπόφυσης. Η παρατεταμένη υπερπρολακτιναιμία μπορεί να προκαλέσει υποοιστρογονισμό λόγω της χρόνιας καταστολής της GnRH, η οποία μπορεί να θέσει τις γυναίκες σε κίνδυνο για οστεοπόρωση. Φυσιολογικά, η προλακτίνη λειτουργεί για να διευκολύνει τη μεγέθυνση του μαστού κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης και την παραγωγή γάλακτος κατά τη διάρκεια της γαλουχίας (Edinoff et al., 2021).

6.8 Συστηματικά Νοσήματα

Πιστεύεται γενικά ότι η σοβαρή συστηματική ασθένεια, όπως η σήψη ή η σοβαρή νεφρική νόσος, θα εμποδίσει την εμβρυϊκή εμφύτευση. Ορισμένες ασθένειες, όπως η χρόνια νεφρική ανεπάρκεια, ο ασταθής διαβήτης, η ανεξέλεγκτη κοιλιοκάκη, η οποία είναι πέντε φορές πιο διαδεδομένη σε γυναίκες που εμφανίζουν ανεξήγητη υπογονιμότητα ή επαναλαμβανόμενες αποβολές από ό,τι στον γενικό πληθυσμό, η ανεπάρκεια βιταμίνης D, οι ενεργές αυτοάνοσες καταστάσεις και ο υποκλινικός υποθυρεοειδισμός, φαίνεται επίσης να συνδέονται με μειωμένη πιθανότητα σύλληψης.

Η παρουσία θυρεοειδικών αντισωμάτων σε μια γυναίκα με φυσιολογική λειτουργία του θυρεοειδούς πιστεύεται ότι σχετίζεται με δυσκολία σύλληψης, επαναλαμβανόμενη αποτυχία εμφύτευσης εμβρύων και πρώιμη απώλεια εγκυμοσύνης, ενδεχομένως λόγω μη αναγνωρισμένης ανεπάρκειας θυρεοειδικών ορμονών ή αυτοάνοσης αιτίας. Τα αυτοάνοσα νοσήματα επίσης, μπορεί να επηρεάσουν την αναπαραγωγική ζωή και τη γονιμότητα και των δύο φύλων (Hart, 2016).

Κεφάλαιο 7

Υπογονιμότητα που σχετίζεται με τον τρόπο ζωής

Πρόσφατα, οι παράγοντες του τρόπου ζωής έλαβαν μεγάλη προσοχή, καθώς φαίνεται από διάφορες μελέτες ότι οι κακές συνήθειες, οι διατροφικές επιλογές, το άγχος, η κατανάλωση αλκοόλ, το κάπνισμα και η παχυσαρκία, έχουν την ικανότητα να επηρεάζουν μακροπρόθεσμα τη γυναικεία φυσιολογία. Αυτές οι επιλογές τρόπου ζωής μπορούν να επηρεάσουν τη γενική υγεία και την αναπαραγωγική ικανότητα ενός ατόμου και έχει αναφερθεί ότι μειώνουν σημαντικά τις πιθανότητες σύλληψης στις γυναίκες. Ενώ κλινικές μελέτες έχουν ενισχύσει την άμεση συσχέτιση μεταξύ του τρόπου ζωής, του περιβάλλοντος και της γυναικείας αναπαραγωγικής υγείας, πειραματικές μελέτες σε ζωικά μοντέλα έχουν διερευνήσει τον μηχανισμό δράσης τους. Στις περισσότερες περιπτώσεις, οι παράγοντες αυτοί στοχεύουν στις νευροενδοκρινικές οδούς, με αποτέλεσμα μεταβολικές διαταραχές (Bala et al., 2021).

7.1 Διατροφικοί παράγοντες

Ο μεταβολισμός της ενέργειας συνδέεται στενά με την ανθρώπινη αναπαραγωγή. Η ισορροπημένη διατροφή είναι επιβεβλημένη κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης, αλλά και κατά την εφηβική ηλικία και την περίοδο πριν από τη σύλληψη. Οι ακατάλληλες διατροφικές συνήθειες συνδέονται συχνά με φτωχή/υπερβολική πρόσληψη θερμίδων, μαζί με ανεπαρκή κατανάλωση των απαραίτητων θρεπτικών συστατικών. Στις χώρες χαμηλού εισοδήματος, η υποθρεψία στις γυναίκες είναι πολύ συχνή λόγω των περιορισμένων πόρων και της έλλειψης γενικής ευαισθητοποίησης όσον αφορά τις διατροφικές συνήθειες. Στις ανεπτυγμένες χώρες, ωστόσο, οι ακατάλληλες διατροφικές συνήθειες και οι επιλογές του τρόπου ζωής γίνονται ο κύριος λόγος για τον υποσιτισμό στις γυναίκες, ο οποίος μπορεί να οδηγήσει σε αναπαραγωγική δυσλειτουργία. Μελέτες έχουν δείξει ότι η μειωμένη πρόσληψη τροφής, η παρατεταμένη υποθρεψία και το αρνητικό ενεργειακό ισοζύγιο μπορούν να καθυστερήσουν τον χρόνο της εφηβείας, να αυξήσουν τις διαταραχές της ωορρηξίας και να συσχετιστούν με μειωμένη γονιμότητα στις γυναίκες.

Οι διατροφικές διαταραχές (ΔΔ) είναι ψυχολογικές και ιατρικές παθήσεις της σύγχρονης εποχής που οφείλονται σε μη φυσιολογικά διατροφικά πρότυπα για τη ρύθμιση του βάρους. Είναι συχνές στις ανεπτυγμένες χώρες σε σύγκριση με τις χώρες χαμηλού εισοδήματος. Στις περισσότερες περιπτώσεις οφείλονται σε ψυχολογικές, σωματικές και κοινωνικές επιρροές. Καθώς το αναπαραγωγικό σύστημα είναι πολύ ευαίσθητο στις φυσιολογικές και ψυχολογικές πιέσεις, οι διατροφικές διαταραχές μπορεί να οδηγήσουν σε υποθαλαμική αμηνόρροια, ολιγομηνόρροια, ανωορρηξία, μη κανονική έμμηνο ρύση και ανεπάρκεια της ωχρινικής φάσης. Μελέτες έχουν επίσης διαπιστώσει ότι οι γυναίκες με υποκλινική ΔΔ αντιμετωπίζουν περισσότερες εμμηνορρυσιακές

ανωμαλίες σε σύγκριση με τις γυναίκες που δεν έχουν ΔΔ. Ακόμη και μετά την αποκατάσταση από την ΔΔ και την απόκτηση φυσιολογικού βάρους, το 5-44% των γυναικών εξακολουθούν να παλεύουν με την αμηνόρροια λόγω παρατεταμένου ιστορικού φυσιολογικού στρες και υποσιτισμού. Οι περισσότεροι άνθρωποι είναι είτε απρόθυμοι είτε νιώθουν άβολα για την αποκάλυψη του ιστορικού τους όσον αφορά τις διατροφικές διαταραχές στο γιατρό τους. Οι διατροφικές διαταραχές επηρεάζουν άμεσα τη φυσιολογική ομοιόσταση. Ο αντίκτυπός τους στο δυναμικό γονιμότητας των γυναικών μπορεί να παρατηρηθεί σε σχέση με το ψυχολογικό στρες, τον χαμηλότερο δείκτη μάζας σώματος, τη μειωμένη αναλογία σωματικού λίπους και τον υποσιτισμό (Bala et al., 2021).

Στοιχεία δείχνουν ότι μια δίαιτα υψηλή σε τρανς λίπη, επεξεργασμένους υδατάνθρακες και πρόσθετα σάκχαρα μπορούν να επηρεάσουν αρνητικά τη γονιμότητα. Αντίθετα, μια δίαιτα που βασίζεται στα μεσογειακά διατροφικά πρότυπα, δηλαδή πλούσια σε διαιτητικές ίνες, ωμέγα-3 (ω -3) λιπαρά οξέα, φυτικές πρωτεΐνες, βιταμίνες και μέταλλα, έχει θετικό αντίκτυπο στη γυναικεία γονιμότητα. Έχει διαπιστωθεί ότι οι γυναίκες σε αναπαραγωγική ηλικία πρέπει να παίρνουν συμπλήρωμα φολικού οξέος. Επιπλέον, οι περισσότεροι άνθρωποι εμφανίζουν ανεπάρκεια βιταμίνης D και ιωδίου. Επομένως, είναι ζωτικής σημασίας να ελέγχονται οι συγκεντρώσεις τους στο αίμα και να εξετάζεται το ενδεχόμενο λήψης συμπληρωμάτων εάν είναι απαραίτητο. Δεδομένου ότι η διατροφή και ο τρόπος ζωής φαίνεται να είναι σημαντικοί παράγοντες που επηρεάζουν τη γονιμότητα, καθίσταται αναγκαία η διεύρυνση των γνώσεων σε αυτόν τον τομέα (Skoracka et al., 2021).

Το έλλειμμα τροφής φαίνεται να αναστέλλει τον άξονα υποθαλάμου-υπόφυσης-γονάδων (HPG) στο επίπεδο του κεντρικού νευρικού συστήματος, ο οποίος επηρεάζει τη γεννήτρια παλμών GnRH. Όταν αναστέλλεται η έκκριση της GnRH, αυτό οδηγεί σε έναν καταρράκτη ανασταλτικών επιδράσεων, ο οποίος περιλαμβάνει τη μείωση της έκκρισης γοναδοτροπινών, τη μειωμένη ανάπτυξη ωοθυλακίων και τη μειωμένη σύνθεση γοναδικών στεροειδών. Ο άξονας HPG μπορεί να αντιληφθεί την κατάσταση των θρεπτικών συστατικών (υδατάνθρακες, λιπαρά οξέα, αμινοξέα) και να επηρεάσει τη γονιμότητα μέσω διαφόρων μηχανισμών. Η στέρηση γλυκόζης μπορεί να γίνει αντιληπτή από τους υποθαλαμικούς νευρώνες. Στις γονάδες, το κατάλληλο επίπεδο γλυκόζης είναι σημαντικό για την ωογένεση και την εμβρυϊκή ανάπτυξη. Το σηματοδοτικό μονοπάτι ινσουλίνης-ελέγχει την ανάπτυξη των ωοθυλακίων και την ωορρηξία μέσω των υποδοχέων ινσουλίνης/IGF, των IRs, των PI3K, PTEN, AKT, Tsc, Rheb και των μεσολαβητών mTORC. Η υψηλή ή χαμηλή ινσουλίνη μπορεί να προκαλέσει ατελή ωρίμανση των ωοθυλακίων, οδηγώντας σε ανωορρηξία και σχηματισμό ωοθηκικών κύστεων.

Τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα (PUFA) διαδραματίζουν κρίσιμο ρόλο στη δόμηση και τη διατήρηση των κυτταρικών μεμβρανών των ωοκυττάρων. Η β-οξειδωση των λιπαρών οξέων είναι απαραίτητη για την ωρίμανση των ωοκυττάρων. Τα λιπαρά οξέα εμπλέκονται στη σύνθεση

προσταγλανδινών και στεροειδών, τα οποία με τη σειρά τους ρυθμίζουν διάφορες αναπαραγωγικές λειτουργίες. Η απενεργοποίηση γονιδίων του μεταβολισμού των λιπιδίων (π.χ. LXR, PPAR, FXR), που οδηγεί σε υπογονιμότητα ή στειρότητα, υποδηλώνει τη σημασία των λιπαρών οξέων στην ανδρική και τη γυναικεία αναπαραγωγή (Bala et al., 2021).

7.2 Παχυσαρκία

Η παχυσαρκία, είναι ένα σημαντικό ζήτημα υγείας και κοινό πρόβλημα μεταξύ των γυναικών αναπαραγωγικής ηλικίας παγκοσμίως, με επιζήμιες επιδράσεις σε όλα τα συστήματα, συμπεριλαμβανομένου του αναπαραγωγικού. Η παχυσαρκία και το υπερβολικό βάρος συνεπάγονται μη φυσιολογική και υπερβολική συσσώρευση λίπους που επηρεάζει αρνητικά την υγεία του σώματος. Σύμφωνα με τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας (ΠΟΥ), εάν ο δείκτης μάζας σώματος (ΔΜΣ) είναι ίσος ή μεγαλύτερος από 25 kg/m², ο ασθενής θεωρείται υπέρβαρος, ενώ εάν ο ΔΜΣ είναι ίσος ή μεγαλύτερος από 30 kg/m², θεωρείται παχύσαρκος.

Ο επιπολασμός της παχυσαρκίας στις υπογόνιμες γυναίκες είναι υψηλός και είναι γνωστό ότι υπάρχει συσχέτιση μεταξύ παχυσαρκίας και υπογονιμότητας (Ozcan Dag and Dilbaz, 2015). Η πρόωμη έναρξη της παχυσαρκίας κατά την εφηβική ηλικία συνδέεται συχνά με διαταραχές της εμμήνου ρύσεως (30-47% των περιπτώσεων), ανωορρηξία, αντίσταση στην ινσουλίνη, σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών (PCOS) και υπογονιμότητα. Σε παχύσαρκες γυναίκες, μελέτες έχουν διαπιστώσει μείωση του ποσοστού γονιμότητας και ανωοθυλακιορρηξία και τριπλάσιο κίνδυνο υπογονιμότητας σε σχέση με τις μη παχύσαρκες γυναίκες. Δεν είναι μόνο η αναλογία σωματικού λίπους αλλά και η κατανομή του σωματικού λίπους που έχει σημαντικό αντίκτυπο στη γονιμότητα. Η ηλικία εμμηνόπαυσης είναι επίσης μικρότερη στις παχύσαρκες γυναίκες σε σύγκριση με τις γυναίκες με φυσιολογικό βάρος, με αποτέλεσμα να μειώνεται η διάρκεια της αναπαραγωγικής περιόδου. Ο χρόνος μέχρι τη σύλληψη αυξάνεται επίσης στις γυναίκες με σπλαχνική παχυσαρκία και έχουν επίσης αυξημένο κίνδυνο αντίστασης στην ινσουλίνη. Σε παχύσαρκες γυναίκες με PCOS, η αντίσταση στην ινσουλίνη και η υπερινσουλιναμία μπορεί να διεγείρουν την ωοθηκική στεροειδογένεση και την υπερβολική παραγωγή ανδρογόνων, με αποτέλεσμα τον υπερανδρογονισμό και την πρόωρη ωοθυλακιορρηξία. Οι παχύσαρκες γυναίκες έχουν επίσης υψηλό κίνδυνο αποβολών, μητρικού θανάτου, υπέρτασης, διαβήτη κύησης, λοιμώξεων του ουροποιητικού συστήματος, πρόωρου τοκετού, ενδομήτριου θανάτου, αιμορραγίας μετά τον τοκετό και πολλών άλλων επιπλοκών πριν και μετά την εγκυμοσύνη. Γυναίκες με ΔΜΣ μεγαλύτερο από 30 kg/m² διατρέχουν ειδικά υψηλό κίνδυνο εμφάνισης εμβρυϊκών ανωμαλιών όπως η ανεγκεφαλία, η δισχιδής ράχη, η στοματοπροσωπική σχισμή και οι ανωμαλίες του νευρικού σωλήνα κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης. Είναι ενδιαφέρον ότι η απώλεια βάρους σε υπέρβαρες και παχύσαρκες γυναίκες βελτιώνει την

πιθανότητα ωορρηξίας, την ευαισθησία στην ινσουλίνη, την κάθαρση και τον μεταβολισμό της γλυκόζης.

Ο άξονας υποθαλάμου-υπόφυσης-γονάδων (HPG) είναι αρκετά ευαίσθητος στις μεταβολές της ομοιόστασης του σώματος και επηρεάζεται από την αναλογία σωματικού λίπους. Η υπερβολική αύξηση βάρους αντιστοιχεί σε υπερβολική εναπόθεση λίπους. Αξίζει να σημειωθεί ότι ο λιπώδης ιστός λειτουργεί επίσης ως ενδοκρινικό όργανο και εκκρίνει βιοδραστικές αδιποκίνες, οι οποίες διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση του ανοσοποιητικού συστήματος, των οδών μεταβολισμού της γλυκόζης και των λιπιδίων και των αναπαραγωγικών λειτουργιών. Το υπερβολικό σωματικό βάρος επηρεάζει τη συγκέντρωση της ωχρινοτρόπου ορμόνης (LH) και η υψηλή συγκέντρωση της LH σχετίζεται με μειωμένες πιθανότητες σύλληψης. Με τον υποθαλαμικό παλμό της GnRH, η υπόφυση απελευθερώνει την FSH για την ανάπτυξη του ωοθυλακίου, το οποίο είχε προσληφθεί κατά την ωχρινική φάση του προηγούμενου κύκλου. Η αντίσταση στην ινσουλίνη και η υπερινσουλιναίμια, κοινή συνέπεια της παχυσαρκίας, μειώνουν τη συγκέντρωση της σφαιρίνης που δεσμεύει τις ορμόνες του φύλου (SHBG) και ως εκ τούτου αυξάνουν τα επίπεδα των ελεύθερων ανδρογόνων (υπερανδρογοναιμία). Οι παχύσαρκες γυναίκες έχουν περισσότερο λιπώδη ιστό και η αρωματάση στον λιπώδη ιστό μπορεί να μετατρέψει τα περιφερικά ανδρογόνα σε οιστρογόνα. Ως εκ τούτου, τα αυξημένα επίπεδα οιστρογόνων στις παχύσαρκες γυναίκες παρεμβαίνουν στην ανάπτυξη των ωοθυλακίων μέσω της αναστολής της έκκρισης της FSH και συνεπώς της ωορρηξίας. Επίσης, η μεταβολή της παραγωγής παλμών GnRH στον υποθάλαμο στις παχύσαρκες γυναίκες μπορεί να επηρεάσει την έκκριση FSH και LH (Bala et al., 2021).

7.3 Άγχος και ψυχολογικό στρες

Το άγχος αποτελεί μια δύσκολη κατάσταση για τον ανθρώπινο οργανισμό, καθώς χρειάζεται μεγάλες προσπάθειες για να διατηρήσει την ομοιόσταση κατά τη διάρκεια στρεσογόνων συνθηκών. Το σώμα ανταποκρίνεται στα στρεσογόνα ερεθίσματα με τη διέγερση του ενδοκρινικού, του νευρικού και του ανοσοποιητικού συστήματος και η ένταση της διέγερσης εξαρτάται από την ένταση των σημάτων του στρες. Οι σωματικές και ψυχολογικές πιέσεις επηρεάζουν όχι μόνο την ατομική συμπεριφορά αλλά και τη φυσιολογία. Ειδικότερα, οι εργαζόμενες γυναίκες αντιμετωπίζουν τακτικά μεγάλο σωματικό στρες στην καθημερινή και επαγγελματική τους ζωή. Επιπλέον, το ψυχολογικό στρες της εξισορρόπησης της επαγγελματικής και προσωπικής ζωής μαζί με την κοινωνική πίεση της τεκνοποίησης αυξάνει τα επίπεδα στρες στις γυναίκες. Μελέτες έχουν δείξει ότι το σωματικό και ψυχολογικό στρες που αντιμετωπίζουν οι εργαζόμενες γυναίκες μειώνει τις πιθανότητες σύλληψης και επηρεάζει σχεδόν το 30% των γυναικών που προσέρχονται σε κλινικές υπογονιμότητας. Οι ορμονικές αλλαγές που προκαλούνται από το στρες μπορεί να προκαλέσουν

εναλλαγές στη διάθεση και ακατάλληλα διατροφικά πρότυπα, οδηγώντας σε υποσιτισμό ή παχυσαρκία. Το χρόνιο στρες μπορεί να προκαλέσει δυσλειτουργία της εμμήνου ρύσεως, ανωορρηξία, λειτουργική υποθαλαμική αμηνόρροια, μείωση της εκλυτικής ορμόνης των γοναδοτροπινών (GnRH), της ωχρινότροπου ορμόνης (LH) και της ωοθυλακιοτρόπου ορμόνης (FSH). Το στρες διεγείρει την αύξηση της ορμόνης απελευθέρωσης κορτικοτροπίνης (CRH), η οποία προκινεί τις συσπάσεις του μυομητρίου μέσω του πόνου του τοκετού που προκαλείται από κυτταροκίνες. Συνολικά, οι αντιδράσεις του οργανισμού στα διάφορα σήματα στρες οδηγούν σε νευροενδοκρινικές αλλαγές, οι οποίες μπορεί να οδηγήσουν σε υπογονιμότητα ή στειρότητα (Bala et al., 2021).

Ως συστημική απάντηση στην κατάσταση στρες, ο άξονας υποθαλάμου-υπόφυσης-επινεφριδίων (HPA) μπαίνει στο παιχνίδι και ο υποθάλαμος απελευθερώνει ορμόνη απελευθέρωσης κορτικοτροπίνης (CRH), η οποία δίνει σήμα στην υπόφυση να εκκρίνει ορμόνη αρενοκορτικοτροπίνης (ACTH). Η ACTH διεγείρει την απελευθέρωση κορτικοστεροειδών, κατά προτίμηση κορτιζόλη στον άνθρωπο, και με τη σειρά της, η έκκριση της ACTH ελέγχεται από τα επινεφρικά γλυκοκορτικοειδή. Τα επινεφρίδια διαδραματίζουν πολύ κρίσιμο ρόλο, καθώς απελευθερώνουν πολλές ορμόνες που προκαλούνται από το στρες, οι οποίες είναι υπεύθυνες για διάφορες φυσιολογικές αντιδράσεις του οργανισμού σε συνθήκες στρες. Έχει αποδειχθεί σε μια μελέτη ότι η επινεφριδεκτομή οδηγεί σε αυξημένη δραστηριότητα του άξονα HPA με αποτέλεσμα την αυξημένη έκκριση CRH και αγγείο-πρεσίνης (VP) και την αύξηση των επιπέδων της ACTH. Η κορτιζόλη είναι μία από τις σημαντικότερες ορμόνες που προκαλούνται από το στρες στο σώμα, η οποία μπορεί να επηρεάσει πολλά όργανα και τη λειτουργία του εγκεφάλου μέσω πολυποίκιλων οδών. Η αυξημένη κυκλοφορούσα κορτιζόλη και άλλα συναφή γλυκοκορτικοειδή μπορούν να επηρεάσουν τόσο σε επίπεδο εγκεφάλου μεταβάλλοντας την έκκριση του CRF (corticotrophin-releasing factor) όσο και σε επίπεδο υπόφυσης τροποποιώντας την επαγόμενη από την GnRH απελευθέρωση της LH, επηρεάζοντας στη συνέχεια την επαγόμενη από την LH ωορρηξία. Καθώς η απελευθέρωση της GnRH είναι ιδιαίτερα ευαίσθητη στα υψηλά επίπεδα γλυκοκορτικοειδών, πρόσφατα ευρήματα έδειξαν ότι το νευροπεπτίδιο κισπεπτίνη (KISS1) (διεγερτικό) και η ανασταλτική γοναδοτροπίνη (GnIH) έχουν την αντίθετη επίδραση στην απελευθέρωση της GnRH. Ως εκ τούτου, τα αυξημένα επίπεδα γλυκοκορτικοειδών έχουν βαθιές επιπτώσεις στον άξονα HPA και μπορούν να επηρεάσουν την ανάπτυξη των ωοθυλακίων, την ωορρηξία, την εγκυμοσύνη και την ανάπτυξη του εμβρύου. Ο CRF δρα ως νευροδιαβιβαστής στο ΚΝΣ και συντονίζει τις αντιδράσεις που σχετίζονται με το στρες. Η απελευθέρωση του CRF κατά τη διάρκεια του στρες και η στενή ανατομική σύνδεση μεταξύ του CRF και των νευρώνων που απελευθερώνουν GnRH υποδηλώνουν τον ρόλο του ως λειτουργικού μεσολαβητή της αναστολής των αναπαραγωγικών λειτουργιών που προκαλείται από το στρες (Bala et al., 2021).

7.4 Κάπνισμα

Ενώ είναι καλά τεκμηριωμένο ότι ο καπνός του τσιγάρου περιέχει πάνω από 4.000 χημικές ουσίες και σχετίζεται με μια σειρά από πιθανές επιπλοκές στην υγεία όπως οι καρδιαγγειακές παθήσεις, χρειάζεται περισσότερη έρευνα για να διαπιστωθεί η σύνδεση με τη στειρότητα.

Μεταξύ των γυναικών που είναι σε αναπαραγωγική ηλικία, το 30% είναι καπνίστριες. Οι γυναίκες που κάπνιζαν φαίνεται να είχαν σημαντικά υψηλότερη αναλογία πιθανοτήτων υπογονιμότητας, σε σύγκριση με τις μη καπνίστριες. Οι μειώσεις στη γονιμότητα στις γυναίκες καπνίστριες μπορεί να οφείλονται σε ελάττωση της λειτουργίας των ωοθηκών και σε μειωμένο απόθεμα αυτών. Η επίπτωση της μειωμένης ωοθηκικής εφεδρείας ήταν σημαντικά υψηλότερη σε γυναίκες που κάπνιζαν από ό,τι σε μη καπνίστριες αντίστοιχης ηλικίας (12,31% και 4,83%, αντίστοιχα) και αυτές οι γυναίκες είχαν παρόμοια ποσοστά γονιμοποίησης και εγκυμοσύνης. Αυτό υποδηλώνει ότι το απόθεμα των ωοθηκών μπορεί να είναι ο πρωταρχικός μηχανισμός με τον οποίο το κάπνισμα επηρεάζει τη γονιμότητα στις γυναίκες. Η διαταραχή των επιπέδων ορμονών μπορεί επίσης να είναι ένας πιθανός μηχανισμός. Οι γυναίκες που κάπνιζαν 10 ή περισσότερα τσιγάρα την ημέρα, βρέθηκε ότι είχαν 30-35% αύξηση στα επίπεδα της FSH στα ούρα κατά τη στιγμή της μετάβασης του κύκλου, και οι γυναίκες που κάπνιζαν 20 ή περισσότερα τσιγάρα την ημέρα είχαν χαμηλότερα επίπεδα προγεστερόνης στην ωχρινική φάση. Αυτές οι διαταραχές στην ενδοκρινική λειτουργία θα μπορούσαν να συμβάλουν στη δυσλειτουργία της εμμήνου ρύσεως και στη στειρότητα που παρατηρείται σε γυναίκες καπνίστριες. Ο μητρικός σωλήνας και η μήτρα μπορεί επίσης να είναι στόχοι του καπνού του τσιγάρου. Οι χημικές ουσίες στον καπνό του τσιγάρου μπορεί να επηρεάσουν τη συλλογή των ωαρίων και τη μεταφορά γονιμοποιημένων εμβρύων μέσα στον ωαγωγό, οδηγώντας σε αυξημένη συχνότητα εξωμήτριων κυήσεων, μεγαλύτερους χρόνους έως τη σύλληψη και στειρότητα μεταξύ των γυναικών που καπνίζουν. Κατά τη χρήση ωοκυττάρων δότη, διαπιστώθηκε ότι οι γυναίκες που κάπνιζαν 0-10 τσιγάρα την ημέρα είχαν σημαντικά υψηλότερο ποσοστό εγκυμοσύνης (52,2%) από τις γυναίκες που κάπνιζαν 10 ή περισσότερα τσιγάρα κάθε μέρα (34,1%), υποδηλώνοντας ότι ένα διαταραγμένο περιβάλλον της μήτρας λόγω του καπνού του τσιγάρου ευθύνεται για το χαμηλότερο ποσοστό εγκυμοσύνης που παρατηρήθηκε σε καπνίστριες. Οι αλλαγές στη λειτουργία των ωοθηκών, του μητρικού σωλήνα και της μήτρας, καθώς και διαταραχές στα επίπεδα ορμονών πιθανότατα συμβάλλουν στη στειρότητα που παρατηρείται σε γυναίκες που καπνίζουν (Sharma et al., 2013).

Έχουν παρατηρηθεί αλληλεπιδράσεις μεταξύ του καπνίσματος και των ορμονών του άξονα HPA, όπως η ACTH και η κορτιζόλη. Η νικοτίνη στον καπνό έχει αποδειχθεί ότι είτε μειώνει τη βιοδιαθεσιμότητα των οιστρογόνων είτε αναστέλλει τη δραστηριότητα της αρωματάσης στα κύτταρα granulosa που είναι υπεύθυνα για την παραγωγή οιστρογόνων. Το κάπνισμα αυξάνει επίσης την FSH, με αποτέλεσμα χαμηλά επίπεδα οιστρογόνων. Οι ερευνητές έχουν διαπιστώσει μεταβολή

των επιπέδων της FSH και της ορμόνης προγεστερόνης σε γυναίκες που κάπνιζαν 10-20 τσιγάρα την ημέρα. Οι μεταβολές στις ενδοκρινικές ορμόνες, μαζί με το υποβαθμισμένο περιβάλλον της μήτρας πιθανώς, αποτελούν μια σημαντική αιτία που συμβάλλει στις ανωμαλίες της εμμήνου ρύσεως, στις διαταραχές της ωορρηξίας και στα χαμηλότερα ποσοστά εγκυμοσύνης που παρατηρούνται στις συχνές καπνίστριες σε σχέση με τις μη καπνίστριες. Πρέπει να γίνουν περισσότερες έρευνες για να διευκρινιστούν οι ακριβείς μηχανισμοί δράσης και ο τρόπος με τον οποίο οι μεταβολίτες του καπνού αλληλοεπιδρούν και επηρεάζουν διάφορες φυσιολογικές οδούς (Bala et al., 2021).

7.5 Άλλες ουσίες και φάρμακα

Η χρήση ψυχαγωγικών ναρκωτικών πριν από τη σύλληψη έχει συσχετιστεί με μειωμένη γονιμότητα τόσο στους άνδρες όσο και στις γυναίκες και αυξημένο κίνδυνο ανεπιθύμητων αποτελεσμάτων εγκυμοσύνης. Για λόγους δεοντολογικούς και για λόγους που αφορούν τη χρήση των ναρκωτικών αναψυχής, οι άνθρωποι αποδείξεις σχετικά με την επίδρασή τους στην αναπαραγωγική λειτουργία είναι ελάχιστες. Οι διαθέσιμες μελέτες σε ανθρώπους έχουν την πιθανότητα μεροληψίας, καθώς ο εν λόγω πληθυσμός έχει συχνά ανεπαρκή προγεννητική φροντίδα, είναι χαμηλού κοινωνικοοικονομικού επιπέδου, έχει αυξημένη κατανάλωση αλκοόλ και χρησιμοποιεί περισσότερα από ένα ναρκωτικά: όλοι αυτοί οι παράγοντες από μόνοι τους μπορούν να επηρεάσουν σημαντικά ένα κακό αναπαραγωγικό αποτέλεσμα (Anderson, Nisenblat and Norman, 2010).

Η μαριχουάνα είναι το πιο διαδεδομένο ναρκωτικό αναψυχής παγκοσμίως. Περιέχει διάφορα ενεργά συστατικά, τα κανναβινοειδή που δρουν τόσο στο κεντρικό όσο και στο περιφερικό νευρικό σύστημα και που παρεμβαίνουν στην αναπαραγωγική λειτουργία σε πολλαπλά επίπεδα. Οι υποδοχείς κανναβινοειδών (CB1) βρίσκονται σε πολλαπλά σημεία, συμπεριλαμβανομένων των αναπαραγωγικών οργάνων, όπως η ωοθήκη, η μήτρα, ο σπερματικός πόρος και ο όρχις. Η οξεία χορήγηση μαριχουάνας στις γυναίκες μειώνει τα επίπεδα ωχρινοτρόπου ορμόνης, ενώ η χρόνια χρήση οδηγεί σε ανοχή και αμετάβλητες ορμόνες. Τα κανναβινοειδή, μπορούν να επηρεάσουν τη γονιμοποίηση, την ωοθηκική μεταφορά, την ανάπτυξη του εμβρύου και του πλακούντα, κατά κύριο λόγο μέσω της απορρύθμισης των σηματοδοτικών οδών που εμπλέκονται στην αναπαραγωγή και προκαλώντας ορμονική απορρύθμιση. Πράγματι, έχει αναφερθεί αυξημένος κίνδυνος πρωτογενούς υπογονιμότητας σε γυναίκες που κάνουν συστηματική χρήση μαριχουάνας σε σύγκριση με μη χρήστες. Πρέπει όμως να τονιστεί ότι σε αντίθεση με τους άντρες, στους οποίους τα κανναβινοειδή επηρεάζουν αρνητικά τη σπερματογένεση ρυθμίζοντας την απόπτωση των κυττάρων Sertoli, μειώνοντας την παραγωγή τεστοστερόνης από τα κύτταρα Leydig και αναστέλλοντας την κινητικότητα του σπέρματος, τη χωρητικότητα και την αντίδραση του ακροσώματος, στις γυναίκες δεν επηρεάζουν τη γονιμότητα των ωαρίων. Αν και η κοκαΐνη έχει αποδειχθεί ότι μειώνει την ανταπόκριση των ωοθηκών στις εξωγενείς γοναδοτροφίνες, τα υπάρχοντα ανθρώπινα δεδομένα σχετικά με τα παράνομα οπιούχα και την αναπαραγωγική λειτουργία στις γυναίκες είναι ακόμα διφορούμενα και μη πειστικά (Anderson, Nisenblat and Norman, 2010).

Όσον αφορά τα συνταγογραφούμενα φάρμακα, υπάρχουν περισσότερες μελέτες που εξετάζουν τις επιδράσεις της φαρμακευτικής αγωγής στη γονιμότητα των ανδρών παρά των γυναικών (Sharma et al., 2013). Οι χημειοθεραπευτικοί παράγοντες, που χρησιμοποιούνται για την αντιμετώπιση κακοήθων νόσων, είναι γνωστό ότι μειώνουν τη γονιμότητα μέσω των γοναδοτοξικών τους αποτελεσμάτων. Ωστόσο, πολλά ευρέως χρησιμοποιούμενα φάρμακα έχουν επίσης ενοχοποιηθεί για την πρόκληση αναπαραγωγικών διαταραχών σε άνδρες και γυναίκες. Τα περισσότερα

φάρμακα προκαλούν αναστρέψιμη μείωση της αναπαραγωγικής λειτουργίας με επιδράσεις που εξαρτώνται από τη δόση και τη διάρκεια της θεραπείας. Ο κατάλογος των πιο συχνά χρησιμοποιούμενων φαρμάκων και των ανεπιθύμητων ενεργειών τους στην αναπαραγωγή παρουσιάζεται στον Πίνακα 1. Σε άτομα που επιδιώκουν εγκυμοσύνη, ιδίως σε εκείνα που δυσκολεύονται να συλλάβουν, κάθε χορηγούμενο φάρμακο πρέπει να καταγράφεται, να διερευνάται ως προς την ασφάλεια και να τίθεται υποψία μέχρι αποδείξεως του αντιθέτου (Anderson, Nisenblat and Norman, 2010).

Τέλος, τα αντιψυχωτικά είναι εγκεκριμένες θεραπείες για τη διαχείριση χρόνιων ψυχωτικών διαταραχών, όπως η σχιζοφρένεια, η διπολική μανία, καθώς και η οξεία διέγερση. Τυπικά αντιψυχωτικά έχει αποδειχθεί ότι επηρεάζουν την ενδοκρινική λειτουργία. Η υπερπρολακτιναιμία που προκαλείται από αντιψυχωτικά εμφανίζεται μέσω αποκλεισμού των υποδοχέων D2 στα γαλακτοτροφικά κύτταρα της πρόσθιας υπόφυσης. Τα αυξημένα επίπεδα προλακτίνης μπορεί να προκαλέσουν μειωμένη παραγωγή και έκκριση ορμόνης απελευθέρωσης γοναδοτροπίνης (GnRH) από τον υποθάλαμο, με αποτέλεσμα μειωμένη απελευθέρωση της ωχρινοτρόπου ορμόνης (LH) και της ωοθυλακιοτρόπου ορμόνης (FSH) από την πρόσθια υπόφυση. Με τη χρήση αντιψυχωτικών, η υπερπρολακτιναιμία μπορεί να οδηγήσει σε μειωμένα επίπεδα οιστρογόνων στις γυναίκες και δυσλειτουργία των γονάδων. Ο προκύπτων υπογοναδοτροπικός υπογοναδισμός σε γυναίκες που λαμβάνουν αντιψυχωτικά μπορεί να προκαλέσει αμηνόρροια, διαταραχές της εμμήνου ρύσεως και στειρότητα. Η διακοπή της αντιψυχωτικής φαρμακευτικής αγωγής που προκαλεί υπερπρολακτιναιμία μπορεί να είναι μια επιλογή, αν και υπάρχει κίνδυνος υποτροπιάζουσας ψύχωσης. Εάν υπάρχει ανησυχία για επιδείνωση της ψύχωσης, μπορεί να επιχειρηθεί μείωση της δόσης των αντιψυχωτικών ή μπορεί επίσης να μετατραπεί σε ένα αντιψυχωτικό που συντηρεί την προλακτίνη (Edinoff et al., 2021).

ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗ ΑΓΩΓΗ	ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΣΤΗΝ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΙΚΗ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ
Αναβολικά στεροειδή	Διαταραχή της σπερματογένεσης. Μπορεί να προκαλέσει υπογοναδισμό (άξονας υπόφυση- γοναδική μοίρα) / Αναστρέψιμη
Αντιανδρογόνα (οξική κυπροτερόνη, φιναστερίδη, δαναζόλη, κετοκοναζόλη, σπιρονολακτόνη)	Βλάβη στη σπερματογένεση & στη στυτική δυσλειτουργία / Αναστρέψιμη
Αντιβιοτικά (Αμπικιλίνη, κεφαλοτίνη, πενικιλίνη G, νεομυκίνη, σπιραμυκίνη)	Διαταραχή στη σπερματογένεση
Αντιεπιληπτικά (Φαινυτοΐνη)	Διαταραχή κινητικότητας σπέρματος
Αντιυπερτασικά: Άλφα αγωνιστές (κλονιδίνη), άλφα αποκλειστές (πραζοκίνη), β-αναστολείς, υδραλαζίνη, μεθυλντόπα, θειαζιδικά διουρητικά	Στυτική δυσλειτουργία
Ανθελονοσιακά (κινίνη και τα παράγωγά τα)	Διαταραχή της κινητικότητας του σπέρματος
Αντι-οιστρογόνα: Κιτρική κλομιφαίνη	Διαταραχή της ανάπτυξης του ενδομητρίου
Αντιπρογεστίνες: Χάπια επείγουσας αντισύλληψης, χάπια μόνο με προγεστερόνη	Βλάβη τόσο της εμφύτευσης όσο και της λειτουργίας των σαλπίγγων

Αντιψυχωτικά : Άλφα αποκλειστές, φαινοθειαζίνη, αντικαταθλιπτικά (ιδιαίτερα SSRIs).	Υπερπρολακτιναιμία – Υπογοναδοτροπικός Υπογοναδισμός
Μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη φάρμακα, αναστολείς Cox-2	Βλάβη της ρήξης του ωοθυλακίου, της ωορρηξίας και της λειτουργίας των σαλίγγων

Πίνακας 1: Φάρμακα και οι αντίστοιχες επιδράσεις τους στην αναπαραγωγική λειτουργία τόσο των ανδρών όσο και των γυναικών <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3717046/#B61>.

7.6 Αλκοόλ

Πολλές μελέτες έχουν διεξαχθεί σχετικά με τις επιπτώσεις του αλκοόλ και πτυχές της υγείας, συμπεριλαμβανομένης της γονιμότητας. Ενώ υπάρχουν μελέτες που καταδεικνύουν τη σχέση μεταξύ αλκοόλ και στειρότητας, δεν είναι απολύτως σαφές ποια ποσότητα σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο (Sharma et al., 2013).

Στις γυναίκες, το αλκοόλ μπορεί να μεταβάλει τα επίπεδα οιστρογόνων και προγεστερόνης και έχει συσχετιστεί με ανωορρηξία, δυσλειτουργία της ωχρινικής φάσης και μειωμένη εμφύτευση και ανάπτυξη βλαστοκύστεων. Ωστόσο, δεν είναι σαφές από τα στοιχεία ποιο ακριβώς επίπεδο κατανάλωσης αλκοόλ έχει επίδραση στη γονιμότητα, λόγω της απουσίας μιας καθολικής εκτίμησης ενός «τυπικού ποτού» και του γεγονότος ότι τα αυτοαναφερόμενα, συχνά αναδρομικά δεδομένα σχετικά με την κατανάλωση αλκοόλ αποτελούν πιθανή πηγή μεροληψίας στις μελέτες που βρίσκονται σε εξέλιξη. Μια μεγάλη ευρωπαϊκή πολυκεντρική μελέτη σε περισσότερα από 10000 ζευγάρια συνέδεσε την υψηλή (περισσότερα από οκτώ ποτά την εβδομάδα) αλλά όχι τη μέτρια κατανάλωση αλκοόλ με μειωμένη γονιμότητα. Ενώ αρκετές πρόσθετες μελέτες δεν κατέδειξαν επιβλαβή επίδραση της μέτριας κατανάλωσης αλκοόλ, από άλλους έχει αποδειχθεί μια θετική συσχέτιση δόσης-απόκρισης μεταξύ ακόμη και μέτριας κατανάλωσης αλκοόλ και υπογονιμότητας (Anderson, Nisenblat and Norman, 2010). Οι ερευνητές πιστεύουν ότι αυτές οι επιδράσεις μπορεί να οφείλονται σε ορμονικές διακυμάνσεις, συμπεριλαμβανομένων των αυξήσεων στα επίπεδα των οιστρογόνων, που μειώνουν την FSH και καταστέλλουν τόσο τη ωοθυλακιογένεση όσο και την ωορρηξία, αλλά πολλοί μηχανισμοί είναι ακόμα άγνωστοι (Sharma et al., 2013).

7.7 Περιβαλλοντικοί Ρύποι

Πρόσφατα, πραγματοποιήθηκαν ολοκληρωμένες βιβλιογραφικές ανασκοπήσεις των επιπτώσεων των ρύπων στη γενική αναπαραγωγική υγεία και τη γονιμότητα. Περιβαλλοντικοί ρύποι όπως ο μεθυλικός υδράργυρος, τα φυτοφάρμακα, ο μόλυβδος, η συγκόλληση, οι οργανικοί διαλύτες, η ακτινοβολία και οι οικιακές κόλλες έχουν αποδειχθεί ότι έχουν αρνητική επίδραση στη γονιμότητα και την ανάπτυξη του εμβρύου (Anderson, Nisenblat and Norman, 2010).

Πιο συγκεκριμένα, η ατμοσφαιρική ρύπανση είναι η απελευθέρωση ρύπων όπως διοξείδια του θείου, μονοξείδιο του άνθρακα, διοξείδιο του αζώτου, σωματίδια και όζον στην

ατμόσφαιρα από τα καυσαέρια των οχημάτων, τις βιομηχανικές εκπομπές, την καύση άνθρακα και ξύλου και άλλες πηγές. Ενώ η ατμοσφαιρική ρύπανση έχει λάβει τεράστια προσοχή τις τελευταίες δεκαετίες για πολλούς λόγους υγείας, οι επιπτώσεις της στη γονιμότητα είναι λιγότερο γνωστές. Οι αρνητικές αναπαραγωγικές παρενέργειες της ατμοσφαιρικής ρύπανσης στις γυναίκες μπορεί να περιλαμβάνουν πρόωρο τοκετό, αποβολή, θνησιγένεια, αυθόρμητη άμβλωση και απώλεια εμβρύου. Πολλές φορές, όταν συνέβαινε εμβρυϊκή απώλεια, υπήρχαν δυσπλασίες εντός της εμβρυϊκής αναπαραγωγικής οδού.

Στα βαρέα μέταλλα περιλαμβάνονται μέταλλα όπως ο μόλυβδος, ο υδράργυρος, το βόριο, το αλουμίνιο, το κάδμιο, το αρσενικό, το αντιμόνιο, το κοβάλτιο και το λίθιο. Μόνο λίγα τέτοια βαρέα μέταλλα έχουν ερευνηθεί σε σχέση με την αναπαραγωγική λειτουργία. Ο μόλυβδος, ο οποίος βρίσκεται συνήθως σε μπαταρίες, μεταλλικά προϊόντα, χρώματα, κεραμικά και σωλήνες, είναι ένα από τα πιο σημαντικά βαρέα μέταλλα. Διακόπτει τον άξονα υποθαλάμου-υπόφυσης και έχει αναφερθεί ότι μεταβάλλει τα επίπεδα ορμονών, αλλάζει την έναρξη της εφηβείας και μειώνει τη συνολική γονιμότητα, προκαλώντας πρόωρο τοκετό, αποβολή, θνησιγένεια και αυθόρμητη άμβλωση στις γυναίκες. Ο υδράργυρος βρίσκεται συνήθως σε θερμομέτρα, μπαταρίες και βιομηχανικές εκπομπές. Οι συγκεντρώσεις υδραργύρου αυξάνονται στην τροφική αλυσίδα, με αποτέλεσμα τη βιοσυσσώρευση, που μπορεί να επηρεάσει αρνητικά την αναπαραγωγή σε ανθρώπους που καταναλώνουν τρόφιμα, συνήθως μολυσμένα θαλασσινά. Το βόριο είναι ένα άλλο βαρύ μέταλλο που χρησιμοποιείται στην κατασκευή γυαλιού, τσιμέντου, σαπουνιού, χαλιού και δέρματος. Οι επιδράσεις του στον άξονα υποθαλάμου-υπόφυσης είναι συγκρίσιμες με τον μόλυβδο (Sharma et al., 2013).

7.8 Ακτινοβολία

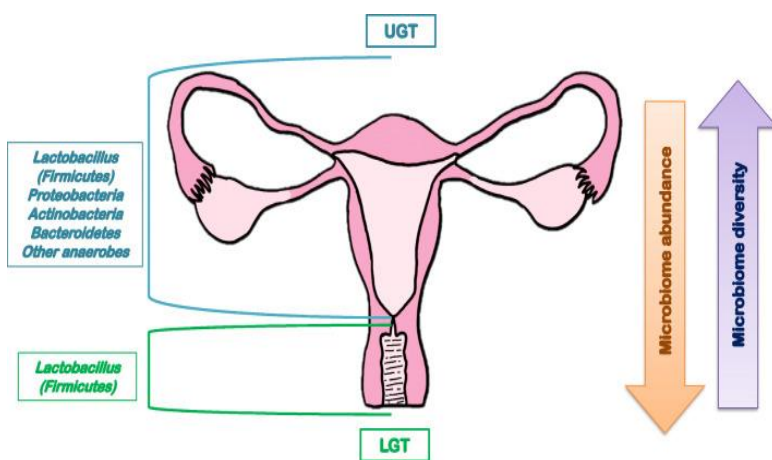
Η έκθεση τόσο σε ιοντίζουσες (ακτίνες Χ, ακτίνες γάμμα) όσο και σε μη ιοντίζουσες ακτινοβολίες (ηλεκτρομαγνητικές, υπερήχους και ραδιοκύματα) που οφείλονται σε φυσικές ακτινοβολίες, ιατρικές πηγές, επαγγελματικές και βιομηχανικές ακτινοβολίες μπορεί να επηρεάσει σε επίπεδο ιστού με τη δημιουργία θερμότητας (ηλεκτρομαγνητικά κύματα) ή την αλλοίωση των βιοχημικών δομών όπως το DNA, οι πρωτεΐνες και τη δημιουργία ελεύθερων ριζών (ακτίνες Χ και γ). Οι γονάδες είναι ιδιαίτερα ευαίσθητες στην έκθεση σε ακτινοβολία. Η έκθεση σε ακτινοβολία μπορεί να βλάψει τα γεννητικά κύτταρα και να επηρεάσει την παραγωγή στεροειδών του φύλου, ενώ η περιστασιακή έκθεση κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης μπορεί να έχει μακροχρόνιες επιπτώσεις. Οι μη ιοντίζουσες ακτινοβολίες, όπως η ακτινοβολία κινητής τηλεφωνίας, δεν είναι πολύ επιβλαβείς και μελέτες δεν έχουν βρει σημαντικές αρνητικές επιπτώσεις της μη ιοντίζουσας ακτινοβολίας όσον αφορά τις δυσμενείς περιπτώσεις εγκυμοσύνης. Από την άλλη, οι ιοντίζουσες ακτινοβολίες είναι

οι πιο επιβλαβείς από όλες και μπορούν δυνητικά να βλάψουν τα κύτταρα καθώς και το DNA και τις πρωτεΐνες ανάλογα με την ένταση, τη δόση και τη διάρκεια της έκθεσης. Μελέτες έχουν επίσης διαπιστώσει πρόωρη ωοθυλακιορρηξία και εξάντληση των ωοθυλακίων των ωοθηκών ως αποτέλεσμα της θεραπείας με γ-ακτινοβολία σε καρκινοπαθείς. Μια πρόσφατη μελέτη έδειξε την επίδραση οξέων φορτισμένων σωματιδίων οξυγόνου που προκάλεσε βλάβη στο DNA, οξειδωτική βλάβη των λιπιδίων, εξαντλημένα ωοθηκικά ωοθυλάκια, ακανόνιστο κύκλο και αυξημένα επίπεδα LH και FSH στον ορό σε ποντίκια (Bala et al., 2021).

Κεφάλαιο 8

Ο αντίκτυπος του μικροβιώματος του γυναικείου γεννητικού συστήματος στην αναπαραγωγή των γυναικών

Συnergικές σχέσεις μεταξύ μικροοργανισμών και ξενιστών βρίσκονται σχεδόν σε κάθε θέση του ανθρώπινου σώματος, ρυθμίζοντας τη φυσιολογία και τη φυσιοπαθολογία του. Ομοίως, η γυναικεία γεννητική οδός (FGT) - κόλπος, τράχηλος, ενδομήτριο, σάλπιγγες και ωθήκες - φιλοξενεί το δικό της μικροβίωμα, το οποίο αντιπροσωπεύει το 9% της συνολικής ποσότητας βακτηρίων στο γυναικείο σώμα. Ο υγιής κόλπος κυριαρχείται από τα είδη *Lactobacillus*, ενώ η ανώτερη γεννητική οδός (UGT) φιλοξενεί μια λιγότερο πυκνή αλλά μεγάλη ποικιλία βακτηριακών στελεχών [Εικόνα 4]. Από κλινική άποψη, το μικροβίωμα της γυναικείας γεννητικής οδού (FGT) σχετίζεται με τα αποτελέσματα αναπαραγωγής, τα γυναικολογικά προβλήματα ή την υπογονιμότητα. Η κατανόηση του μικροβιώματος (FGT) και της διαμόρφωσής του θα μπορούσε να είναι χρήσιμη ως κλινικό εργαλείο για την αποκατάσταση της φυσιολογικής κατάστασης (Punzón-Jiménez and Labarta, 2021b).



Εικόνα 5: Μικροβιακή σύνθεση τόσο στο ανώτερο όσο και στο κατώτερο γεννητικό σύστημα με βάση τις τρέχουσες γνώσεις. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8581090/>

Το μικροβίωμα του ανθρώπινου κόλπου είναι μια σημαντική τοποθεσία συμβίωσης όπου οι γαλακτοβάκιλλοι κυριαρχούν στη μικροβιακή κοινότητα και βοηθούν στην υπεράσπιση των γυναικών έναντι μολυσματικών ασθενειών, διαδραματίζοντας έτσι έναν πιθανό κεντρικό ρόλο στα αναπαραγωγικά αποτελέσματα, όπως η γονιμότητα και η διάρκεια της κύησης. Από μελέτες που έγιναν, με αερόβια, αναερόβια και μυκητιακή καλλιέργεια ρουτίνας, επικράτησε ένα 28% της ασυμπτωματικής βακτηριακής κολπίτιδας (που ανιχνεύεται από σχετιζόμενα παθογόνα όπως *Candida*, *Enterococcus* και *Escherichia coli*) σε υπογόνιμες ασθενείς και, σε σύγκριση με υγιείς

γυναίκες, ένα έντονο χαμηλότερο ποσοστό αποικιών *Lactobacillus*. Μάλιστα έγινε σύγκριση του κοιλιακού μικροβιώματος ιδιοπαθών και υπογόνιμων γυναικών, υγιών γυναικών και γυναικών που έχουν προσβληθεί από βακτηριακή κολπίτιδα (BV) με στόχο τον εντοπισμό κατάλληλων βιοδεικτών για τη στειρότητα. Το κοιλιακό μικροβίωμα των ιδιοπαθών υπογόνιμων γυναικών ήταν παρόμοιο με το μικροβίωμα που σχετίζεται με τη BV. Επιπλέον, το *Lactobacillus iners* ήταν δείκτης υγιούς κοιλιακού μικροβιώματος, ενώ τα επίπεδα του *Lactobacillus crispatus* ήταν χαμηλότερα σε ιδιοπαθείς υπογόνιμες γυναίκες σε σύγκριση με υγιείς γυναίκες.

Αναφορικά με τα τραχηλικά ευρήματα, σε υπογόνιμες γυναίκες, αναφέρθηκε η χαμηλότερη αναλογία αερόβιων και αναερόβιων βακτηρίων και επιπλέον, αποκλειστική αναερόβια χλωρίδα βρέθηκε σε περισσότερες από τις μισές ομάδες των υπογόνιμων γυναικών, γεγονός που δείχνει ότι η ανθρώπινη χλωρίδα του τραχήλου της μήτρας πρέπει να θεωρείται ως σύμπλεγμα αλληλοεπιδρώντων και ανταγωνιστικών βακτηρίων. Μάλιστα επιβεβαιώθηκε πως το *Mycobacterium tuberculosis* ήταν το μόνο με υψηλότερη εμφάνιση σε υπογόνιμες ασθενείς ενώ ακόμα, μεγάλη πλειονότητα των υπογόνιμων γυναικών είχε μολυνθεί από *Chlamydia trachomatis*, σε αντίθεση με χαμηλότερο επιπολασμό της λοίμωξης στη γόνιμη ομάδα γυναικών (88 % έναντι 28%), οδηγώντας στην εδραίωση τη θέσης ότι το *Chlamydia trachomatis* συνδέεται με τη στειρότητα.

Μια διερευνητική μελέτη σε 19 μη έγκυες γυναίκες, συμπεριλαμβανομένων εκείνων που επηρεάζονται από την κατάσταση της υπογονιμότητας, υιοθέτησε ανάλυση PCR και αλληλουχία RNA, για να διερευνήσει την πιθανή παρουσία μικροβιώματος της μήτρας και διαπίστωσε ότι το 90% των ασθενών είχε κυρίαρχη παρουσία των *Bacteroides* & *Pelomonastaxa*, και σε λίγες περιπτώσεις, παρατήρησαν την παρουσία *Lactobacillus crispatus* & *Iners* που σχετίζονται συχνότερα με τα είδη *Bacteroides*. Έτσι λοιπόν αναφέρθηκε πως η έλλειψη χλωρίδας που κυριαρχείται από *Lactobacillus* μπορεί να θεωρηθεί ως αναδυόμενη αιτία απώλειας εγκυμοσύνης.

Συμπερασματικά, τα διαθέσιμα δεδομένα υποδηλώνουν έναν όχι αμελητέο ρόλο του μικροβιώματος των γεννητικών οργάνων σε υπογόνιμες γυναίκες. Μια πολύπλοκη αλληλεπίδραση του είδους *Lactobacillus* παίζει καθοριστικό ρόλο για την ισορροπία της φυσιολογικής κοιλιακής χλωρίδας και συγκεκριμένα τα κατάλληλα επίπεδα *Lactobacillus crispatus* εμπλέκονται ως προστατευτικός παράγοντας για την ασυμπτωματική BV (που υποστηρίζεται κυρίως από *Ureaplasma* και *Gardnerella vaginalis*) που αναγνωρίζεται ως δυναμικός παράγοντας μείωσης της γονιμότητας. Ομοίως, η παρουσία στην χλωρίδα του τραχήλου της μήτρας αρνητικών κατά Gram βακτηρίων, *Chlamydia trachomatis* και *Gardnerella vaginalis*, και η ενδεχόμενη συνυπάρχουσα έλλειψη *Lactobacillus* συνδέεται με την κατάσταση της υπογονιμότητας. Αξίζει να σημειωθεί, πως το παθογόνο *Gardnerella vaginalis* απομονώθηκε επίσης από το ενδομήτριο υπογόνιμων γυναικών (Vitale et al., 2021).

Κεφάλαιο 9

Κυτταροτοξικές χημειοθεραπείες – κίνδυνος υπογονιμότητας

Τα ποσοστά μόνιμης υπογονιμότητας και μειωμένης γονιμότητας μετά τη θεραπεία του καρκίνου ποικίλλουν και εξαρτώνται από πολλούς παράγοντες. Τα αποτελέσματα της χημειοθεραπείας και της ακτινοθεραπείας εξαρτώνται από το φάρμακο ή το μέγεθος/τοποθεσία του πεδίου ακτινοβολίας, τη δόση, την ένταση δόσης, τον τρόπο χορήγησης (από το στόματος έναντι ενδοφλέβιας), τη νόσο, την ηλικία, το φύλο και τη γονιμότητα του ασθενούς πριν από τη θεραπεία (Lee et al., 2006).

Δεδομένου ότι περίπου το 5% των γυναικών που διαγιγνώσκονται με καρκίνο παγκοσμίως είναι σε αναπαραγωγική ηλικία και τα ποσοστά θνησιμότητας από καρκίνο μειώνονται σταθερά, η αντιμετώπιση των επιπτώσεων εκτός στόχου της θεραπείας του καρκίνου στη λειτουργία των ωοθηκών, τη γονιμότητα και την ενδοκρινική υγεία έχει γίνει εξέχον θέμα. Στην πραγματικότητα, μεταξύ 40% και 80% των γυναικών που επιβίωσαν από καρκίνο βιώνουν υπογονιμότητα μετά τη θεραπεία (Spears et al., 2019). Στις γυναίκες, η γονιμότητα μπορεί να διακυβευτεί από οποιαδήποτε θεραπεία που μειώνει τον αριθμό των αρχέγονων ωοθυλακίων, επηρεάζει την ορμονική ισορροπία ή παρεμβαίνει στη λειτουργία των ωοθηκών, των σαλπίγγων, της μήτρας ή του τραχήλου της μήτρας, παρά τη διατήρηση ή την επανέναρξη της κυκλικής εμμήνου ρύσεως. Ανατομικές ή αγγειακές αλλαγές στη μήτρα, τον τράχηλο ή τον κόλπο από χειρουργική επέμβαση ή ακτινοβολία μπορεί επίσης να αποτρέψουν τη φυσική σύλληψη και την επιτυχή εγκυμοσύνη, που απαιτεί τεχνολογία υποβοηθούμενης αναπαραγωγής ή χρήση φορέα κύησης (Lee et al., 2006).

Η γυναικεία γονιμότητα διέπεται από την ποσότητα και την ποιότητα των ωαρίων, τα οποία αποθηκεύονται στην ωοθήκη εντός των αρχέγονων ωοθυλακίων. Η κυτταροτοξική χημειοθεραπεία, εκτός από την ακτινοθεραπεία και τη χειρουργική θεραπεία, είναι εδώ και καιρό ο βασικός άξονας πολλών θεραπευτικών σχημάτων θεραπείας του καρκίνου και είναι καλά τεκμηριωμένο ότι έχει επιζήμιες παρενέργειες εκτός στόχου, στις ωοθήκες, τη γονιμότητα και την ενδοκρινική υγεία. Τα αρχέγονα ωοκύτταρα των ωοθυλακίων είναι εξαιρετικά ευαίσθητα στο γονοτοξικό στρες (δηλαδή βλάβη του DNA) και η εξάντλησή τους επιταχύνεται ως απόκριση σε πολλές εξωγενείς προσβολές, συμπεριλαμβανομένης της χημειοθεραπείας (Alesi et al., 2023). Συνολικά, σε σύγκριση με τον γενικό πληθυσμό, οι γυναίκες έχουν 38% λιγότερες πιθανότητες να έχουν εγκυμοσύνη μετά τη διάγνωση και θεραπεία του καρκίνου, με όλες τις διαγνωστικές ομάδες καρκίνου να σχετίζονται με μείωση της πιθανότητας επακόλουθων κυήσεων.

Τις τελευταίες δεκαετίες, ο καρκίνος του τραχήλου της μήτρας και ο καρκίνος του μαστού είχαν τον μεγαλύτερο αντίκτυπο στη μείωση του αριθμού των κυήσεων που επιτυγχάνονται, λόγω του συνδυασμού του υψηλού επιπολασμού τους, της σημαντικής επίδρασης των σχετικών

θεραπειών και της ηλικίας των ασθενών. Τα τελευταία χρόνια παρατηρήθηκαν βελτιώσεις για αυτές τις δύο συγκεκριμένες κακοήθειες και για άλλους καρκίνους, όπως το λέμφωμα Hodgkin, αν και ορισμένες διαγνώσεις έχουν δει ελάχιστη, έως καθόλου, αλλαγή στον αντίκτυπό τους στις επόμενες πιθανότητες εγκυμοσύνης.

Οι ανεπιθύμητες ενέργειες της χημειοθεραπείας στη λειτουργία των ωοθηκών έχουν αναγνωριστεί από καιρό και υπάρχουν όλο και πιο λεπτομερή δεδομένα που τεκμηριώνουν τις επιδράσεις διαφορετικών σχημάτων στους βραχυπρόθεσμους δείκτες της ωοθηκικής λειτουργίας, της μακροπρόθεσμης γονιμότητας και του κινδύνου πρώιμης εμμηνόπαυσης. Ο αντίκτυπος της ανεπάρκειας οιστρογόνων ως αποτέλεσμα της απώλειας της λειτουργίας των ωοθηκών στην ποιότητα ζωής, τη λειτουργία των οστών και την καρδιαγγειακή και νευρολογική υγεία είναι επίσης κρίσιμες πτυχές των μακροπρόθεσμων επιπτώσεων της χημειοθεραπευτικής βλάβης στις ωοθήκες (Spears et al., 2019).

Η έκθεση σε ορισμένα χημειοθεραπευτικά φάρμακα μπορεί να προκαλέσει προσωρινή αμηνόρροια (διακοπή της εμμήνου ρύσεως) και υπογονιμότητα βραχυπρόθεσμα ή να προκαλέσει πρόωρη ωοθηκική ανεπάρκεια (POI) μακροπρόθεσμα. Πράγματι, η έκθεση σε θεραπεία γοναδοτοξικού καρκίνου είναι η κύρια αιτία POI σε νεαρά κορίτσια και γυναίκες. Η POI χαρακτηρίζεται από μειωμένη ενδοκρινική λειτουργία των ωοθηκών, πλήρη αμηνόρροια και πρώιμη εμμηνόπαυση σε γυναίκες ηλικίας μικρότερης των 40 ετών, η οποία οδηγεί σε μη αναστρέψιμη υπογονιμότητα. Αυτό όχι μόνο έχει τη δυνατότητα να επηρεάσει σημαντικά την ψυχική υγεία του ασθενούς, αλλά σχετίζεται επίσης με πολυσυστηματικές μακροχρόνιες σωματικές και ψυχολογικές συνέπειες λόγω της σχετιζόμενης ενδοκρινικής ανεπάρκειας των ωοθηκών. Αυτά τα επακόλουθα μπορούν να επηρεάσουν σημαντικά την ποιότητα ζωής και μπορεί να περιλαμβάνουν μειωμένη σεξουαλική υγεία, αυξημένο κίνδυνο κατάθλιψης και άγχους και αυξημένο κίνδυνο καρδιαγγειακής νόσου και οστεοπόρωσης, μεταξύ άλλων.

Υπάρχουν πολυάριθμες κατηγορίες χημειοθεραπείας, συμπεριλαμβανομένων αλκυλιωτικών παραγόντων, παραγόντων με βάση την πλατίνα, αντικαρκινικών αντιβιοτικών, αντιμεταβολιτών, αλκαλοειδών νίνσα, αναστολέων τοποϊσομεράσης και άλλων διάφορων παραγόντων. Αυτές οι διαφορετικές κατηγορίες χημειοθεραπευτικών παραγόντων έχουν διάφορους μηχανισμούς δράσης και, ως εκ τούτου, ποικίλους βαθμούς τοξικότητας των ωοθηκών (ωοτοξικότητα). Η πιο ωοτοξική κατηγορία είναι οι αλκυλιωτικοί παράγοντες, όπως το κυκλοφωσφαμίδιο, ακολουθούμενες από ενώσεις με βάση την πλατίνα, όπως το *cis*-διαμινοδιχλωρολευκόχρυσο(II) (σισπλατίνη) και, τέλος, το αντιβιοτικό ανθρακυκλίνης δοξορουβικίνη. Ωστόσο, άλλοι παράγοντες, όπως ο αντιμεταβολίτης 5-φθοροουρακίλη, έχει αποδειχθεί ότι έχουν μέτρια, βραχυπρόθεσμα ωοτοξικότητα. Επιπλέον, είναι σημαντικό να ληφθεί υπόψη ότι η ωοτοξικότητα των χημειοθεραπειών εξαρτάται

από τη δόση και τη συχνότητα της θεραπείας και πιθανώς να επιδεινώνεται σε σχήματα πολλαπλών δόσεων και συνδυασμού.

Οι ανεπιθύμητες παρενέργειες της χημειοθεραπείας στις ωοθήκες έχουν αποτελέσει το κύριο επίκεντρο της έρευνας μέχρι στιγμής. Είναι σαφές ότι η χημειοθεραπεία –ιδιαίτερα οι αλκυλιωτικοί παράγοντες– μπορεί να επηρεάσει σημαντικά το απόθεμα των ωοθηκών μιας γυναίκας και, κατ' επέκταση, τη γόνιμη διάρκεια ζωής της γυναίκας. Ωστόσο, η πιθανότητα βλάβης που προκαλείται από τη χημειοθεραπεία στο υπόλοιπο τμήμα της αναπαραγωγικής οδού, συμπεριλαμβανομένης της μήτρας, έχει λάβει πολύ λιγότερη προσοχή. Η ακεραιότητα της μήτρας και, ειδικότερα, του ενδομητρίου είναι θεμελιώδης για τη δημιουργία και τη διατήρηση μιας επιτυχημένης εγκυμοσύνης. Ο αντίκτυπος και οι μηχανισμοί πίσω από τη βλάβη της μήτρας που προκαλείται από την ακτινοθεραπεία στην επιτυχία της εγκυμοσύνης σε γυναίκες που επιβίωσαν από καρκίνο δεν έχουν πλήρως χαρακτηριστεί και έχουν αναθεωρηθεί πρόσφατα. Επιπλέον, υπάρχουν αναδυόμενες ενδείξεις που υποδηλώνουν ότι η μήτρα μπορεί να είναι ένα επιπλέον σημείο βλάβης που προκαλείται από τη χημειοθεραπεία στις γυναίκες. Ωστόσο, η φύση και ο αντίκτυπος του τραυματισμού της μήτρας που προκαλείται από τη χημειοθεραπεία είναι ελάχιστα κατανοητές. Οι πληροφορίες στη βιβλιογραφία είναι αραιές και περιορίζονται κυρίως σε αναδρομικές ανθρώπινες μελέτες, οι οποίες συγχέονται από πολλούς εγγενείς περιορισμούς και ασυνέπειες. Αυτά οφείλονται ως επί το πλείστον στην έλλειψη διαθέσιμων πληροφοριών σχετικά με τα θεραπευτικά σχήματα που χρησιμοποιήθηκαν, συμπεριλαμβανομένου του (των) παράγοντα(ων) που χρησιμοποιήθηκαν και εάν χορηγήθηκαν συνδυαστικές θεραπείες. Επιπλέον, η εξακρίβωση του εάν τα αποτελέσματα της εγκυμοσύνης στις γυναίκες έχουν επηρεαστεί από ειδική βλάβη της μήτρας που προκαλείται από χημειοθεραπεία συχνά συγχέεται με τη βλάβη των ωοθηκών και του ενδοκρινικού συστήματος που συμβαίνει ταυτόχρονα (Alesi et al., 2023).

Συμπερασματικά, τις τελευταίες δεκαετίες, η πρόοδος στην ανίχνευση και τη θεραπεία του καρκίνου έχει βελτιώσει δραματικά τα ποσοστά επιβίωσης στις νεαρές γυναίκες. Αυτό σημαίνει ότι η διασφάλιση υψηλής ποιότητας ζωής των ασθενών μετά τη θεραπεία του καρκίνου έχει γίνει νέα προτεραιότητα. Ως εκ τούτου, είναι σημαντικό να κατανοήσουμε και να αποτρέψουμε τυχόν μακροχρόνιες αρνητικές παρενέργειες των θεραπειών για τον καρκίνο, με τη στειρότητα και την πρόωμη εμμηνόπαυση να αποτελούν κύρια ανησυχία για τις γυναίκες που λαμβάνουν χημειοθεραπεία. Γι' αυτό, ο εντοπισμός νέων προσεγγίσεων για την προστασία της γονιμότητας είναι ένα έντονο θέμα έρευνας τα τελευταία χρόνια.

Κεφάλαιο 10

Διατήρηση της γυναικείας γονιμότητας – Η τρέχουσα θεραπευτική στρατηγική

Έχουν περάσει πάνω από 40 χρόνια από τότε που γεννήθηκε το πρώτο μωρό με εξωσωματική γονιμοποίηση (IVF). Έκτοτε, ο τομέας της τεχνολογίας υποβοηθούμενης αναπαραγωγής (ART) έχει επεκταθεί σημαντικά, με πάνω από 8 εκατομμύρια μωρά να γεννιούνται παγκοσμίως μέσω της χρήσης της εξωσωματικής γονιμοποίησης. Σύμφωνα με τα πιο πρόσφατα πλήρη δεδομένα από την Εθνική Συνοπτική Έκθεση της Εταιρείας Υποβοηθούμενης Αναπαραγωγικής Τεχνολογίας (SART) των Ηνωμένων Πολιτειών Αμερικής, υπήρχαν σχεδόν 300.000 κύκλοι ART στις Ηνωμένες Πολιτείες το 2019, εκ των οποίων σχεδόν οι 16.000 αφορούσαν την κρυσυντήρηση ωαρίων (OC). Δεδομένου ότι η πρώτη επιτυχημένη εγκυμοσύνη με χρήση κρυσυντηρημένων ωαρίων συνέβη το 1986, έχει σημειωθεί σημαντική πρόοδος στις εργαστηριακές τεχνικές που επιτρέπουν στα κρυσυντηρημένα ωάρια να αποτελούν βιώσιμη επιλογή για μελλοντική γονιμότητα τόσο σε ιατρικές όσο και σε προγραμματισμένες (δηλαδή εκούσια καθυστερημένη τεκνοποίηση) ενδείξεις (Han and Seifer, 2023).

10.1 Ιστορία της τεχνολογίας κρυσυντήρησης

Η κρυσυντήρηση αναφέρεται στην ψύξη κυττάρων και ιστών σε θερμοκρασίες κάτω του μηδενός, προκειμένου να σταματήσει κάθε βιολογική δραστηριότητα και να διατηρηθούν για μελλοντική χρήση. Η επιστήμη της κρυσβιολογίας εντοπίζεται ήδη από το 2500 π.Χ., όταν οι πρώτοι πολιτισμοί χρησιμοποιούσαν το κρύο για ιατρικούς σκοπούς. Ωστόσο, η κρυσυντήρηση κυττάρων και ιστών δεν έγινε πραγματικότητα μέχρι τα μέσα του 20ου αιώνα. Οι αρχικές προσπάθειες κρυσυντήρησης ήταν αναποτελεσματικές επειδή οι απλές τεχνικές ψύξης οδηγούσαν σε κυτταρική βλάβη από την αλλαγή της συγκέντρωσης των διαλυτών ουσιών εντός των κυττάρων, τον ενδο- ή εξωκυτταρικό σχηματισμό πάγου και την υπερβολική αφυδάτωση. Στη δεκαετία του 1940 ανακαλύφθηκε ότι η γλυκερίνη μπορούσε να προστατεύσει το σπέρμα από βλάβες κατά την κρυσυντήρηση και την απόψυξη.

Η πρώτη ανθρώπινη γέννηση από κατεψυγμένο σπέρμα αναφέρθηκε το 1953. Στη δεκαετία του 1970 εντοπίστηκαν και άλλα κρυσπροστατευτικά μέσα όπως η προπανοδιόλη, η αιθυλενογλυκόλη (EG) και το διμεθυλοσουλφοξείδιο (DMSO) και διαπιστώθηκε ότι ελαχιστοποιούσαν τις κυτταρικές βλάβες. Επιπλέον, αναπτύχθηκαν τεχνικές αργής κατάψυξης με τη χρήση προγραμματιζόμενων καταψυκτών που επέτρεπαν την κατάψυξη με αρκετά αργό ρυθμό ώστε να επιτρέπεται επαρκής κυτταρική αφυδάτωση για την ελαχιστοποίηση του ενδοκυτταρικού σχηματισμού πάγου.

Οι βελτιώσεις αυτές οδήγησαν στην πρώτη ανθρώπινη γέννηση από κατεψυγμένο έμβρυο, η οποία αναφέρθηκε το 1984. Το 1986 αναφέρθηκε η πρώτη ανθρώπινη γέννηση από κατεψυγμένο ωάριο.

Την τελευταία εικοσαετία αναπτύχθηκε μια εναλλακτική λύση στην αργή κατάψυξη, η υαλοποίηση. Η υαλοποίηση είναι η διαδικασία της κρυσταλλοποίησης που χρησιμοποιεί υψηλές αρχικές συγκεντρώσεις κρυσταλλοπροστατευτικού μέσου και εξαιρετικά γρήγορη ψύξη για τη στερεοποίηση του κυττάρου σε μια κατάσταση που μοιάζει με γυαλί χωρίς το σχηματισμό πάγου. Η υαλοποίηση εφαρμόζεται επί του παρόντος στην κρυσταλλοποίηση εμβρύων, ωαρίων και ωοθηκικού ιστού (Ανοη., 2013).

10.2 Τι είναι η κρυσταλλοποίηση ωαρίων;

Είναι η δυνατότητα των γυναικών να διατηρήσουν τη γονιμότητά τους και να επιλέξουν τη χρονική περίοδο που επιθυμούν να γίνουν μητέρες. Η διαδικασία ξεκινάει με μια διέγερση των ωοθηκών, με καθημερινή φαρμακευτική αγωγή, σε συνδυασμό με υπερηχογραφική και αιματολογική παρακολούθηση. Η όλη διαδικασία δεν ξεπερνά τις 10-14 ημέρες και στόχος είναι η συλλογή των ωαρίων, η οποία γίνεται με την ωοληψία, διαρκεί 10-20 λεπτά και πραγματοποιείται ανώδυνα, με μέθη. Εν συνεχεία, τα ωάρια επιλέγονται, και καταψύχονται στους -196°C , όπου με τη σύγχρονη μέθοδο υαλοποίησης μπορούν να διατηρηθούν για πολλά χρόνια, έως ότου οι μελλοντικές μητέρες θελήσουν να τα χρησιμοποιήσουν (Σύριος Π., 2023).

Παραδοσιακά, η OC προορίζεται για ασθενείς που αντιμετωπίζουν γοναδοτοξική θεραπεία για τη θεραπεία του καρκίνου, όπως χημειοθεραπεία ή πυελική ακτινοβολία και, το 2013, η Αμερικανική Εταιρεία για την Αναπαραγωγική Ιατρική (ASRM) αφαίρεσε την πειραματική ετικέτα στην OC για αυτούς τους ασθενείς. Σχεδόν 200.000 άτομα σε αναπαραγωγική ηλικία διαγιγνώσκονται με καρκίνο κάθε χρόνο στις Ηνωμένες Πολιτείες. Υποθέτοντας ίση αναλογία ανδρών προς θηλυκά, υπάρχει σαφώς μεγάλη ανάγκη για πρόσβαση στην OC. Ενώ η χρήση της OC σε ασθενείς που αντιμετωπίζουν γοναδοτοξικές θεραπείες είναι σε μεγάλο βαθμό αποδεκτή, μόλις το 2018 η ASRM κατέληξε στο συμπέρασμα ότι η προγραμματισμένη OC, πιο κοινώς γνωστή ως εκλεκτική ή κοινωνική κατάψυξη ωαρίων, ήταν ηθικά επιτρεπτή (Han and Seifer, 2023).

10.3 Σε ποιες περιπτώσεις ενδείκνυται η κρυσταλλοποίηση ωαρίων και ποια είναι η καταλληλότερη στιγμή;

Η κρυσταλλοποίηση ανθρώπινων ωαρίων αναζητήθηκε από νεαρές γυναίκες που υποβάλλονται σε ογκολογική θεραπεία ως μέθοδος διατήρησης της γονιμότητας. Καθώς τα ποσοστά επιβίωσης σε ογκολογικές ασθενείς αναπαραγωγικής ηλικίας βελτιώνονται, το θέμα της διατήρησης της

γονιμότητας γίνεται πιο σημαντικό. Η κρυοσυντήρηση ωαρίων μπορεί επίσης να χρησιμοποιηθεί σε γυναίκες που αισθάνονται φιλοσοφικά άβολα με την κατάψυξη εμβρύων, καθώς και σε γυναίκες που έχουν συνείδηση της μείωσης του αποθέματος των ωοθηκών με την προχωρημένη ηλικία της μητέρας αλλά δεν είναι έτοιμες να επιχειρήσουν εγκυμοσύνη. Υπάρχουν και άλλες κλινικές καταστάσεις που μπορεί να ωφεληθούν από την κρυοσυντήρηση ωαρίων, συμπεριλαμβανομένης της χρήσης της τράπεζας ωαρίων δότη, η οποία έχει αποδειχθεί ότι είναι εξίσου αποτελεσματική με τη χρήση φρέσκων δωρεών ωαρίων. Μπορεί επίσης να είναι χρήσιμο σε εκείνες τις σπάνιες περιπτώσεις όπου τα πρόσφατα αναρροφημένα ωάρια δεν μπορούν να γονιμοποιηθούν λόγω της αδυναμίας του αρσενικού συντρόφου να δημιουργήσει δείγμα σπέρματος και δεν έχει άμεσα διαθέσιμες τεχνικές αναρρόφησης σπέρματος ως πιθανή θεραπευτική επιλογή. Υπάρχουν πολλά υποσχόμενα αποτελέσματα σε γυναίκες με κίνδυνο συνδρόμου υπερδιέγερσης ωοθηκών (OHSS) που δεν θέλουν να παγώσουν έμβρυα, να αναβάλουν τη μεταφορά εμβρύου χρησιμοποιώντας κρυοσυντήρηση ωαρίων και έτσι να βελτιώσουν τα ποσοστά επιτυχίας σε αυτόν τον κύκλο (Giuonisky et al., 2014). Όσον αφορά την ιδανικότερη στιγμή, θα πρέπει να αναφερθεί πως όσο νεότερη είναι η γυναίκα, τόσο καλύτερη θα είναι η ποιότητα των ωαρίων της, μεγαλύτερος ο αριθμός αυτών που θα συλληχθούν, και κατά προέκταση, μεγαλύτερες θα είναι και οι πιθανότητες μιας μελλοντικής τεκνοποίησης χάρη σε αυτή τη μέθοδο, αφού η ποιότητα και ο αριθμός των ωαρίων φθίνει με το πέρασμα του χρόνου. Ενδεικτικά, μια ιδανική ηλικία για την κρυοσυντήρηση των ωαρίων θα ήταν οι ηλικίες μεταξύ των 30 και 36 ετών, έπειτα πάντα από μια ορμονολογική και υπερηχογραφική αξιολόγηση (Σύριος Π., 2023).

10.4 Η τεχνολογία της κρυοσυντήρησης ώριμων ωαρίων

Η διαδικασία της ωοθυλακιογένεσης είναι μια συνεχής, τυχαία διαδικασία και εξελίσσεται μέσω του αρχέγονου, πρωτογενούς, δευτερογενούς, προαντρικού και αντρικού σταδίου. Σε έναν κανονικό εμμηνορρυσιακό κύκλο, περίπου 10 ωοθυλάκια ξεκινούν με ανάπτυξη εξαρτώμενη από τη γοναδοτροπίνη, αλλά η σταδιακή μείωση των επιπέδων της FSH κατά τη διάρκεια της ωοθυλακικής φάσης περιορίζει το χρόνο που βρίσκεται πάνω από ένα κρίσιμο όριο, ευνοώντας τελικά τη μονοθυλακική ανάπτυξη. Τυπικά, μόνο το ένα ωοθυλάκιο με την υψηλότερη ευαισθησία στην FSH θα συνεχίσει να διεγείρεται και να έχει ωορρηξία. Τα αρχέγονα ωοθυλάκια αναστέλλονται στην πρόφαση I (που ονομάζεται ωοκύτταρο βλαστικής κύστης (GV)) και η μειωτική ικανότητα αποκτάται μόλις πριν από την ωορρηξία. Μετά την απότομη αύξηση της LH, το ωοκύτταρο προχωρά στη μετάφαση της μείωσης II και σταματά σε αυτό το στάδιο. Η ολοκλήρωση της μείωσης δεν συμβαίνει μέχρι τη γονιμοποίηση (Han and Seifer, 2023).

Η γενική διαδικασία της κρυοσυντήρησης ωαρίων είναι σχετικά απλή και περιλαμβάνει μερικά βασικά βήματα (όπως περιγράφεται στην εικόνα 6): ελεγχόμενη διέγερση ωοθηκών (COS) → ανάκτηση ωαρίων → κρυοσυντήρηση ώριμων ωαρίων (καθώς μόνο τα ώριμα ωάρια μπορούν να υποστούν γονιμοποίηση). Η χορήγηση εξωγενών γοναδοτροπινών κατά τη διάρκεια του COS με καθημερινές ενέσεις επεκτείνει αποτελεσματικά το χρονικό πλαίσιο του ορίου FSH, επιτρέποντας την πολυθυλακική ανάπτυξη. Συνήθως, οι ασθενείς θα χρειαστούν 7-12 ημέρες διέγερσης των ωοθηκών, κατά τη διάρκεια των οποίων η πρόοδός τους θα παρακολουθείται σε συστηματική βάση χρησιμοποιώντας διακολπικό υπερηχογράφημα και τα επίπεδα ορμονών στον ορό. Τυπικά, μόλις μετρηθούν 1-2 ωοθυλάκια >18 mm, η ωρίμανση των ωοθυλακίων «πυροδοτείται» με τη χρήση φαρμάκων που μιμούνται τη φυσική απότομη αύξηση της LH. Η ωοληψία είναι μια εξωνοσοκομειακή διαδικασία διάρκειας μικρότερης των 30 λεπτών κατά την οποία πραγματοποιείται αναρρόφηση με βελόνα του περιεχομένου των ωοθυλακίων υπό την καθοδήγηση διακολπικού υπερηχογραφήματος. Μέσα σε αυτό το υγρό απομονώνονται τα ωάρια και επιλέγονται για κρυοσυντήρηση από τον εμβρυολόγο. Η όλη διαδικασία μπορεί γενικά να ολοκληρωθεί σε δύο εβδομάδες (Han and Seifer, 2023).



Εικόνα 6: Γενική διαδικασία κρυοσυντήρησης ωαρίων. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10218997/>

Η ανάκτηση ωαρίων είναι μια εξαιρετικά ασφαλής διαδικασία, με επιπλοκές όπως αιμορραγία, μόλυνση ή απόστημα και τραυματισμό των γύρω δομών που εκτιμάται ότι συμβαίνουν σε λιγότερο από 1% των περιπτώσεων. Δεδομένα από σχεδόν 24.000 διαδοχικές ανακτήσεις ωαρίων που πραγματοποιήθηκαν σε ένα μόνο κέντρο σε μια περίοδο 10 ετών, κατέγραψαν συνολικό ποσοστό επιπλοκών μόλις 0,76%, με το αιμοπεριτόναιο ως το πιο κοινό (0,23%), ακολουθούμενο από τον πυελικό πόνο και τις επιπλοκές της αναισθησίας (και οι δύο 0,06%), λοιμώξεις (0,04%) και αιμορραγία του κοιλιακού τοιχώματος (0,01%) (Han and Seifer, 2023).

Ιστορικά, η συνολική επιτυχία όσον αφορά την επιβίωση των ωαρίων, τα ποσοστά γονιμοποίησης και τα ποσοστά εγκυμοσύνης ήταν χαμηλή και μόλις πρόσφατα βελτιώθηκε. Η αρχική επιτυχία περιοριζόταν από την ευθραυστότητα του ωοκυττάρου της μετάφασης-II (M-II) που σχετιζόταν με το μεγάλο του μέγεθος, την περιεκτικότητα σε νερό και τη χρωμοσωμική του διάταξη. Στα ώριμα ωάρια (M-II), τα οποία συνήθως ανακτώνται μετά από υπερωοθυλακιορρηξία, τα χρωμοσώματα της μετάφασης παρατάσσονται από τη μειωτική άτρακτο κατά μήκος της ισημερινής

πλάκας. Μελέτες έχουν τεκμηριώσει ότι η συσκευή της ατράκτου μπορεί να υποστεί βλάβη από τον ενδοκυτταρικό σχηματισμό πάγου κατά τη διαδικασία κατάψυξης ή απόψυξης, και αυτές οι ανωμαλίες μπορεί να εξαρτώνται από την ηλικία της ασθενούς και την τεχνική κρυοσυντήρησης και μπορεί να ποικίλουν ανάλογα με το χρόνο μετά την απόψυξη (Anon., 2013). Λόγω της υψηλής περιεκτικότητάς τους σε νερό, τα ανθρώπινα ωάρια είναι ιδιαίτερα ευαίσθητα σε ζημιές από τη διαδικασία κατάψυξης και απόψυξης. Αρχικά, χρησιμοποιήθηκε η αργή κατάψυξη, αλλά μαστιζόταν από τα χαμηλά ποσοστά επιβίωσης και εγκυμοσύνης. Ωστόσο, η εισαγωγή και η συνεχής βελτίωση της υαλοποίησης (ταχεία ψύξη στους $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$) που αποφεύγει το σχηματισμό επιβλαβών κρυστάλλων πάγου βελτίωσε σημαντικά την επιβίωση των ωαρίων και επέτρεψε αποτελέσματα εγκυμοσύνης και ζώντων γεννήσεων παρόμοια με εκείνα που επιτυγχάνονται από πρόσφατα ανακτημένα ωάρια. Πράγματι, η διαδικασία υαλοποίησης είναι αυτή που επέτρεψε την κρυοσυντήρηση ωαρίων να είναι μια βιώσιμη επιλογή για τη διατήρηση της γονιμότητας (Han and Seifer, 2023).

Ο ορισμός της υαλοποίησης είναι μια γυάλινη στερεοποίηση ενός διαλύματος σε χαμηλή θερμοκρασία. Με άλλα λόγια, η υαλοποίηση είναι η στερεοποίηση χωρίς πάγο ενός υδατικού διαλύματος. Είναι η ιδέα ότι τα ζωντανά κύτταρα μπορούν να καταψυχθούν επιτυχώς εάν ψυχθούν τόσο γρήγορα ώστε να μην συμβεί κρυστάλλωση πάγου. Ο προτεινόμενος μηχανισμός υαλοποίησης είναι η χρήση υψηλής συγκέντρωσης κρυοπροστατευτικού και εξαιρετικά ταχέων ρυθμών ψύξης/θέρμανσης για να περάσει μέσα από τη θερμοκρασία μετάβασης γυαλιού και να αποφευχθεί ο ενδοκυττάριος και εξωκυττάριος σχηματισμός πάγου.

Η πλειοψηφία στο πεδίο πιστεύει ότι ο ρυθμός ψύξης είναι ο πιο κρίσιμος παράγοντας για την υαλοποίηση των ωαρίων. Για να επιτευχθεί αυτό, έχουν χρησιμοποιηθεί μια ποικιλία συσκευών για την επίτευξη σχετικά υψηλών ρυθμών ψύξης. Αρχικά, έχουν χρησιμοποιηθεί συσκευές αντικατάστασης, όπως πλέγμα ηλεκτρονικού μικροσκοπίου (EM), ανοιχτό καλαμάκι έλξης (OPS), νάιλον πλέγμα, cryoloop ή πλαστικό αυτοκόλλητο που χρησιμοποιείται για να βυθίσει τις συσκευές απευθείας στο υγρό άζωτο. Στη συνέχεια, εμπορικές συσκευές, όπως το Cryotop και το Cryoleaf έχουν αναπτυχθεί και θεωρηθεί ως τα υαλοποιημένα δείγματα καθώς μπόρεσαν να λάβουν $>20.000\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$ ρυθμό ψύξης μέσω άμεσης επαφής με το LN_2 . Ωστόσο, πολλές ανησυχίες σχετικά με την άμεση επαφή με το υγρό άζωτο έχουν δημιουργηθεί με αυτά τα υαλοποιημένα δείγματα (Chian, Wang and Li, 2014).

Τα περισσότερα πρωτόκολλα υαλοποίησης χρησιμοποιούν ένα «ανοικτό» σύστημα, στο οποίο τα ωάρια εκτίθενται απευθείας σε υγρό άζωτο για τη μεγιστοποίηση της εξαιρετικά ταχείας ψύξης και την ελαχιστοποίηση του σχηματισμού παγοκρυστάλλων. Μια θεωρητική ανησυχία σχετικά με αυτά τα «ανοικτά» συστήματα είναι η πιθανότητα να εκθέσουν τα ωάρια σε μολυσματικούς οργανισμούς που υπάρχουν στο μολυσμένο υγρό άζωτο. Ενώ δεν έχει παρατηρηθεί ποτέ

μετάδοση μολυσματικών οργανισμών σε αναπαραγωγικούς ιστούς, αναπτύσσονται μέθοδοι αποστείρωσης του υγρού αζώτου, όπως η μικροδιήθηση ή η υπεριώδης (UV) ακτινοβολία (Αnon., 2013). Αντίθετα, τα κλειστά συστήματα απαιτούν τη φόρτωση δειγμάτων σε συσκευές που σφραγίζονται πριν από τη διαδικασία υαλοποίησης με μοναδικό σκοπό την αποφυγή άμεσης επαφής με το υγρό άζωτο. Η θερμική απομόνωση των δειγμάτων με αυτόν τον τρόπο επιβραδύνει πολύ τον ρυθμό ψύξης, ένα μεγάλο μειονέκτημα σε σύγκριση με την ταχεία κατάψυξη που μπορεί να επιτευχθεί με ανοιχτά συστήματα. Από την άλλη πλευρά, αυτή η παρέμβαση αποφεύγει τον υποθετικό κίνδυνο διασταυρούμενης μόλυνσης με παθογόνα που μπορεί να υπάρχουν στο LN (Cobo and Diaz, 2011).

Η επιτυχία της τεχνολογίας της υαλοποίησης ωαρίων κατέστησε δυνατή τη δημιουργία τραπεζών ωαρίων και διευκόλυνε επίσης την υλικοτεχνική υποστήριξη του συντονισμού των δοτριών ωαρίων με τις λήπτριες. Η τεχνολογία, επιτρέπει την προσωρινή «καραντίνα» των ωαρίων των δοτριών για τον έλεγχο τους για μεταδοτικές ασθένειες. Κατά συνέπεια, με την πρόοδο της τεχνολογίας υαλοποίησης ωαρίων, θα πρέπει να αναμένεται στο εγγύς μέλλον ότι θα δημιουργηθούν πολλά αποτελεσματικά προγράμματα τραπεζών ωαρίων παγκοσμίως για τη διατήρηση της γυναικείας γονιμότητας (Chian, Wang and Li, 2014).

10.5 Μέθοδος υαλοποίησης ελάχιστου όγκου – Μέθοδος Cryotop

Η ελαχιστοποίηση του όγκου του διαλύματος υαλοποίησης που περιέχει ωάρια δεν προσφέρει μόνο το προφανές πλεονέκτημα της αύξησης των ρυθμών ψύξης και θέρμανσης, αλλά μειώνει επίσης την πιθανότητα σχηματισμού παγοκρυστάλλων στο μικρό δείγμα. Περιέργως, αυτή η προσέγγιση αγνοήθηκε και εξακολουθεί να αγνοείται από πολλούς επιστήμονες, οι οποίοι χρησιμοποιούν απλώς τα παραδοσιακά εργαλεία, συμπεριλαμβανομένων των κρουοφιαλιδίων και των τυποποιημένων καλαμιών σπερματέγχυσης των 0,25 mL. Ακόμα και αυτές οι προσεγγίσεις μπορεί να οδηγήσουν σε ποσοστά επιβίωσης και ανάπτυξης συγκρίσιμα με εκείνα της παραδοσιακής κατάψυξης, αλλά χάνουν τα πιθανά οφέλη της ψύξης υψηλού ρυθμού, συμπεριλαμβανομένης όχι μόνο της μειωμένης συγκέντρωσης κρουοπροστατευτικών ουσιών αλλά και του μειωμένου τραυματισμού από ψύξη (Kuwayama, 2007).

Δεν υπάρχει σαφής ορισμός για το ποιος όγκος μπορεί να οριστεί ως «ελάχιστος» για την υαλοποίηση, αλλά σύμφωνα με την κοινή χρήση του όρου αυτού θα πρέπει να είναι σημαντικά μικρότερος από 1 μL.

Η μέθοδος Cryotop είναι πιθανώς η πιο πρόσφατη προσέγγιση υαλοποίησης ελάχιστου όγκου. Έχει αναπτυχθεί ένα ειδικό εργαλείο που αποτελείται από μια στενή, λεπτή ταινία φιλμ (πλάτος 0,4 mm, μήκος 20 mm, πάχος 0,1 mm) προσαρτημένη σε μια σκληρή πλαστική βάση. Για την προστασία του εργαλείου από μηχανικές βλάβες κατά την αποθήκευση, μπορεί να

προσαρτηθεί ένα πλαστικό καπάκι σωλήνα μήκους 3 cm για να καλύψει το τμήμα της μεμβράνης. Το εργαλείο και τα διαλύματα για την υαλοποίηση και τη θέρμανση παράγονται τώρα στο εμπόριο.

Μετά από εξισορρόπηση σε διάλυμα υαλοποίησης που περιέχει αιθυλενογλυκόλη, διμεθυλοσουλφοξείδιο και σακχαρόζη, φορτώνονται με στενό γυάλινο τριχοειδές στην κορυφή της ταινίας φιλμ σε όγκο <math><0,1\text{ mL}</math>. Μετά τη φόρτωση, αφαιρείται σχεδόν όλο το διάλυμα ώστε να παραμείνει μόνο ένα λεπτό στρώμα που καλύπτει τα ωάρια και το δείγμα βυθίζεται γρήγορα σε υγρό άζωτο. Στη συνέχεια, το πλαστικό καπάκι τραβιέται πάνω από το τμήμα της μεμβράνης του Cryotop και το δείγμα αποθηκεύεται σε υγρό άζωτο. Κατά την προθέρμανση, το προστατευτικό κάλυμμα αφαιρείται από το Cryotop ενώ αυτό είναι ακόμη βυθισμένο σε υγρό άζωτο και η λωρίδα πολυπροπυλενίου βυθίζεται απευθείας σε μέσο με θερμοκρασία $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, που περιέχει σακχαρόζη για την εξισορρόπηση του οσμωτικού σοκ που προκαλείται από τις διαπερατές κρυοπροστατευτικές ουσίες που συσσωρεύονται ενδοκυτταρικά. Στη συνέχεια, τα ωάρια επωάζονται διαδοχικά σε διαλύματα αραιωτικού πριν από την περαιτέρω *in vitro* καλλιέργεια ή μεταφορά (Kuwayama, 2007).

Με τη μέθοδο υαλοποίησης Cryotop μπορούν να χρησιμοποιηθούν διάφορα κρυοπροστατευτικά διαλύματα και οι παράμετροι εξισορρόπησης και αραιώσης μπορούν να μεταβληθούν ανάλογα με τις ειδικές απαιτήσεις του είδους ή του αναπτυξιακού σταδίου. Σύμφωνα με την εμπειρία μας, μια ίση αναλογία διμεθυλοσουλφοξειδίου και αιθυλενογλυκόλης ήταν ο πιο αποτελεσματικός συνδυασμός, με τη χρήση εξισορρόπησης δύο σταδίων και συμπλήρωση με σακχαρόζη στην τελική συγκέντρωση. Η αιθυλενογλυκόλη, ως εξαιρετικά διαπερατό κρυοπροστατευτικό μέσο με μέτρια τοξικότητα, θεωρείται τυπικό συστατικό των περισσότερων επιτυχημένων διαλυμάτων υαλοποίησης.

Η μέθοδος υαλοποίησης Cryotop είναι εύκολη στην εκμάθηση. Οποιοσδήποτε με βασική εμπειρία στην εμβρυολογία μπορεί να την εκτελέσει κατάλληλα μετά από μια περίοδο εκπαίδευσης λίγων ωρών. Η μέθοδος είναι απλή και αξιόπιστη, παρέχει συνεπή αποτελέσματα και οι διακυμάνσεις μεταξύ των χειριστών είναι ελάχιστες. Επιπλέον, τα ίδια ακριβώς διαλύματα και οι παράμετροι εξισορρόπησης/αραιώσης μπορούν να εφαρμοστούν σε ανθρώπινα ωάρια φάσης MII, ζυγωτά και έμβρυα όλων των φάσεων της προεμφυτευτικής ανάπτυξης, καθιστώντας την εφαρμογή ευέλικτη και εύκολη με τη χρήση εμπορικά διαθέσιμων, έτοιμων μέσων. Η προσέγγιση του ελάχιστου όγκου της μεθόδου Cryotop αυξάνει τους ρυθμούς ψύξης και ιδίως τους ρυθμούς θέρμανσης (έως $40.000\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$), γεγονός που μπορεί να συμβάλει στη βελτιωμένη και σταθερή επιβίωση, καθώς και στους ρυθμούς ανάπτυξης τόσο *in vitro* όσο και *in vivo* (Kuwayama, 2007).

Κεφάλαιο 11

Υποψήφιος για κρυσυντήρηση ωαρίων

11.1 Υαλοποίηση ωαρίων σε ογκολογικούς ασθενείς

Τα ποσοστά επιβίωσης των ογκολογικών ασθενών αυξάνονται σταθερά τα τελευταία χρόνια λόγω της μεγαλύτερης αποτελεσματικότητας των νέων ογκολογικών θεραπειών, όπως η ραδιοθεραπεία και η χημειοθεραπεία. Ωστόσο, οι θεραπείες αυτές επηρεάζουν την αναπαραγωγική ικανότητα των ασθενών και μπορεί να προκαλέσουν πρόωρη ωοθηκική ανεπάρκεια στις γυναίκες. Η διατήρηση της γονιμότητας τόσο σε γυναίκες όσο και σε άνδρες ογκολογικούς ασθενείς είναι σήμερα δυνατή και θα πρέπει να ενσωματωθεί ως μέρος της ογκολογικής υγειονομικής περίθαλψης. Η υαλοποίηση ωαρίων για τις γυναίκες ασθενείς θεωρούνται προς το παρόν η πρώτη επιλογή διατήρησης της γονιμότητας για τους ασθενείς με καρκίνο που υποβάλλονται σε θεραπεία και είναι διαθέσιμη για πάνω από 10 χρόνια (Del-Pozo-Lerida et al., 2019).

Η πρώτη ζωντανή γέννηση επιτεύχθηκε το 2007 με τη μέθοδο της αργής κατάψυξης. Σε μια γυναίκα με λέμφωμα Hodgkin προσφέρθηκε η επιλογή να παγώσει τα ώριμα ωάρια πριν από τη χημειοθεραπεία. Ένα χρόνο αργότερα, αναφέρθηκε και η γέννηση υγιών διδύμων με τη χρήση της μεθόδου αργής κατάψυξης σε ασθενή με ωοθηκεκτομή με οριακή κακοήθεια. Μόλις η υαλοποίηση των ωαρίων καθιερώθηκε ως επιτυχημένη μέθοδος, έγινε αποδεκτή ως βιώσιμη επιλογή για FP από τις διεθνείς κοινωνίες και έγινε η μέθοδος εκλογής για τη διατήρηση του θηλυκού γαμέτη. Η πρώτη περίπτωση, που αναφέρθηκε στην Ευρώπη, εγκυμοσύνης μετά από FP με χρήση υαλοποίησης ωαρίων επιτεύχθηκε σε γυναίκα που είχε διαγνωστεί με άτυπο μυελικό καρκίνο του μαστού, η οποία αρχικά είχε κρυσυντηρημένο ιστό του φλοιού των ωοθηκών πριν από τη χημειοθεραπεία. Μετά τη μεταμόσχευση του κρυσυντηρημένου ιστού, 16 ώριμα ωάρια υαλοποιήθηκαν μετά από 4 κύκλους διέγερσης. Η ασθενής γέννησε υγιή δίδυμα. Το 2001, αναφέρθηκε η γέννηση του πρώτου μωρού που γεννήθηκε μετά από υαλοποίηση ωαρίων σε ασθενή με χρόνια μυελογενή λευχαιμία μετά από 9 χρόνια αποθήκευσης. Ωστόσο, χρησιμοποίησαν πλέγματα ηλεκτρονικού μικροσκοπίου για υαλοποίηση, τα οποία δεν χρησιμοποιούνται πλέον στην κλινική πράξη λόγω τεχνικών δυσκολιών (Cobo et al., 2021).

11.2 Υαλοποίηση ωαρίων σε ασθενείς με ενδομητρίωση

Η ενδομητρίωση έχει αποδειχθεί ότι επηρεάζει το 6-10% των γυναικών σε αναπαραγωγική ηλικία, προκαλώντας διάφορα συμπτώματα, όπως δυσμηνόρροια, χρόνιο πυελικό πόνο και στειρότητα (Kim et al., 2020). Η ενδομητρίωση αποτελεί σοβαρή απειλή για το απόθεμα των ωοθηκών, καθιστώντας αυτούς τους ασθενείς κατάλληλους υποψήφιους για διατήρηση της γονιμότητας.

Η ίδια η ενδομητρίωση των ωθηκών (ενδομητρίωμα) μειώνει το απόθεμα των ωθηκών επηρεάζοντας τη φυσιολογία τους στον υγρή ιστό που τις περιβάλλει. Τα ενδομητρίωματα περιέχουν υγρό με υπερβολικές ποσότητες ελεύθερου σιδήρου, δραστικά είδη οξυγόνου, πρωτεολυτικά ένζυμα και φλεγμονώδη μόρια, τα οποία οδηγούν στην αντικατάσταση του φυσιολογικού φλοιού των ωθηκών με ινώδη ιστό, ακολουθούμενη από απώλεια ωθυλακίων. Κλινικά, οι γυναίκες με ενδομητρίωση έχουν χαμηλότερα επίπεδα αντι-Müllerian ορμόνης (AMH) και αριθμό ωθυλακίων άντρου, και ως εκ τούτου απαιτούν υψηλότερες δόσεις γοναδοτροπίνης από τις γυναίκες χωρίς ενδομητρίωμα. Η θεραπεία για το ενδομητρίωμα είναι η κυστεκτομή των ωθηκών στις περισσότερες περιπτώσεις. Η κυστεκτομή των ωθηκών, ωστόσο, έχει συσχετιστεί με κίνδυνο πρόωρης ωθηκικής ανεπάρκειας.

Η μείωση του αποθέματος των ωθηκών μετά την επέμβαση είναι απρόβλεπτη και δεν μπορεί να αποκατασταθεί. Το πρώτο περιστατικό, περιγράφει την κρυσυντήρηση 21 ωαρίων μετά από τρεις κύκλους διέγερσης των ωθηκών σε ασθενή με ενδομητρίωση. Μετά από αυτήν την αναφορά περίπτωσης, αναφέρθηκε 5ετή εμπειρία με υαλοποίηση ωαρίων, η οποία περιελάμβανε τα αποτελέσματα της διατήρησης της γονιμότητας σε 38 ασθενείς με ενδομητρίωση. Ωστόσο, δεν περιεγράφηκε λεπτομερώς η ενδομητρίωση, π.χ. μέγεθος κύστης ή πλευρικότητα. Όμως, περιγράφηκε η επιβίωση και το ποσοστό ζώντων γεννήσεων εκλεκτικά υαλοποιημένων ωοκυττάρων μετά από αξιολόγηση 12 ασθενών με ενδομητρίωση. Κλινικά δεδομένα για την κρυσυντήρηση ωαρίων σε γυναίκες με ενδομητρίωση, ωστόσο, είναι περιορισμένα (Cobo et al., 2021).

Συμπερασματικά από μελέτες προέκυψε πως οι ασθενείς με ενδομητρίωμα που υποβλήθηκαν σε συντήρηση της γονιμότητας είχαν χαμηλότερο απόθεμα ωθηκών από τις γυναίκες της ίδιας ηλικίας χωρίς ενδομητρίωμα. Λιγότερα ωοκύτταρα ανακτήθηκαν από ασθενείς με ενδομητρίωμα που υποβλήθηκαν σε διατήρηση της γονιμότητας. Ωστόσο, η επαναλαμβανόμενη διέγερση των ωθηκών μπορεί να αυξήσει τον αριθμό των ωαρίων για κρυσυντήρηση. Η επαναλαμβανόμενη ανάκτηση ωαρίων σε γυναίκες με ενδομητρίωμα δεν επηρέασε τον αριθμό των ωαρίων που ανακτήθηκαν ανά κύκλο (Kim et al., 2020).

11.3 Επιλογή για καθυστέρηση της μητρότητας

Στη σύγχρονη κοινωνία, πολλές γυναίκες καθυστερούν την εγκυμοσύνη πέρα από τα νεότερα χρόνια της τεκνοποίησης λόγω όχι μόνο επαγγελματικών φιλοδοξιών αλλά και εκούσιας έλλειψης παιδιών, η οποία μπορεί να είναι μόνιμη ή, όπως παρατηρείται συχνότερα, προσωρινή. Δυστυχώς, μερικές φορές, όταν οι γυναίκες αλλάζουν γνώμη και αποφασίζουν να αρχίσουν να προσπαθούν να μείνουν έγκυες, είναι πολύ αργά γιατί το συνεχές χτύπημα του βιολογικού ρολογιού οδηγεί αναπόφευκτα σε φυσική εξάντληση του αποθέματος των ωθηκών (Cobo et al., 2021).

Η υαλοποίηση των ωαρίων μπορεί να θεωρηθεί ως επιλογή για τις γυναίκες που προσπαθούν να αναβάλουν την τεκνοποίηση ενώ επιδιώκουν την επαγγελματική τους σταδιοδρομία. Ο αντίκτυπος της γήρανσης στη γυναικεία γονιμότητα είναι καλά αναγνωρισμένος, καθώς είναι προφανές ότι οι καλύτερες πιθανότητες των γυναικών να συλλάβουν ένα υγιές παιδί είναι μέσω μιας φυσικής αναπαραγωγής σε σχετικά μικρή ηλικία. Οι πέντε συγκεκριμένοι παράγοντες που σχετίζονται με την ηλικία και μπορούν να επηρεάσουν αρνητικά μια εγκυμοσύνη είναι η μείωση της γονιμότητας, η αποβολή, οι χρωμοσωμικές ανωμαλίες, οι υπερτασικές επιπλοκές και η θνησιγένεια. Η γονιμότητα των γυναικών μειώνεται καθ' όλη τη διάρκεια της αναπαραγωγικής ζωής και τα ποσοστά αυθόρμητων αμβλώσεων αυξάνονται σημαντικά μετά τα μέσα της δεκαετίας του '30. Οι κίνδυνοι σύλληψης μωρού με σύνδρομο Down ή με χρωμοσωμικές ανωμαλίες είναι ευρέως γνωστό ότι είναι υψηλότεροι στα ωοκύτταρα που παράγονται από «μεγαλύτερες» γυναίκες. Παρά την επίγνωση αυτών των θεμάτων, πολλές γυναίκες συνεχίζουν να καθυστερούν την τεκνοποίηση προς όφελος της επαγγελματικής τους εξέλιξης. Η επιλογή της υαλοποίησης των ωαρίων για «κοινωνικούς» λόγους μπορεί να προσφέρει τη δυνατότητα μιας συναρπαστικής εναλλακτικής στρατηγικής για τις γυναίκες που επιθυμούν να διατηρήσουν το αναπαραγωγικό τους δυναμικό. Επειδή οι περισσότεροι από τους κινδύνους που σχετίζονται με την τεκνοποίηση σε προχωρημένη μητρική ηλικία οφείλονται στην ηλικία των ωαρίων, η αποτελεσματική υαλοποίηση των ωαρίων μπορεί να θεωρηθεί ως μια επιλογή για πιθανή αποφυγή κινδύνων (Chian, Wang and Li, 2014).

11.4 Κρυοσυντήρηση ωαρίων για τράπεζα ωαρίων δοτριών

Η δωρεά ωαρίων αποτελεί μια από τις τελευταίες καταφυγές στη θεραπεία εξωσωματικής γονιμοποίησης για τα ζευγάρια που αντιμετωπίζουν προβλήματα υπογονιμότητας. Ωστόσο, η παραδοσιακή (νωπή) δωρεά ωαρίων, δεν είναι πολύ αποτελεσματική, καθώς συνήθως όλα τα ωάρια από μία δότρια δίνονται σε μία μόνο λήπτρια, είναι επίπονη καθώς απαιτεί άριστο συγχρονισμό μεταξύ δότριας και λήπτριας και υπάρχουν μήνες ή χρόνια αναμονής. Λόγω της ανάπτυξης μιας αποτελεσματικής τεχνικής κρυοσυντήρησης ωαρίων, της υαλοποίησης, είναι πλέον δυνατή η κρυοσυντήρηση ωαρίων δοτριών (καθώς και μη δοτριών), διατηρώντας τη βιωσιμότητά τους και επιτρέποντας τη χρήση τους όποτε υπάρχει ζήτηση. Επομένως, η δημιουργία μιας κρυοτράπεζας ωαρίων δοτών θα είχε πολλά πλεονεκτήματα. Τα αποτελέσματα δύο πρόσφατα δημιουργημένων κρυοτραπεζών ωαρίων δοτών στο Instituto Valenciano de Infertilidad στην Ισπανία και στο Reproductive Biology Associates στις ΗΠΑ (που περιλαμβάνουν μεγάλο αριθμό περιπτώσεων) καταδεικνύουν ότι η ανάγκη για κρυοσυντήρηση των ωαρίων είναι υψηλή και ότι τα ποσοστά γονιμοποίησης, ανάπτυξης εμβρύων, εμφύτευσης και εγκυμοσύνης είναι παρόμοια με εκείνα που αναφέρονται μετά από δωρεά νωπών ωαρίων. Παρέχει επίσης πρόσθετα πλεονεκτήματα, καθώς

είναι πιο αποτελεσματική, πιο οικονομική, πιο εύκολη τόσο για τις δότριες όσο και για τις λήπτριες και δυνητικά επίσης πιο ασφαλής, επειδή τα ωάρια μπορούν πλέον να τεθούν σε καραντίνα για 6 μήνες (ή και περισσότερο) για να επανεξεταστούν για μολυσματικές ασθένειες στις δότριες. Αυτή η στρατηγική παράγει σταθερά τα υψηλότερα ποσοστά εγκυμοσύνης που αναφέρθηκαν για οποιαδήποτε μέθοδο υποβοηθούμενης αναπαραγωγής, κυρίως λόγω της μείωσης της κακής ποιότητας ωαρίων λόγω της επιλογής υγιών νεαρών δοτριών.

Η πιο ευρέως χρησιμοποιούμενη και κλινικά εφαρμοζόμενη μέθοδος κρυοσυντήρησης για τα προγράμματα δωρεάς ωαρίων είναι η υαλοποίηση. Ερευνητές, ανέφεραν έναν ζωντανό τοκετό μετά τη μεταφορά ενός χρωμοσωμικά φυσιολογικού εμβρύου, όπως εκτιμήθηκε με υβριδισμό φθορισμού *in situ*, το οποίο δημιουργήθηκε από υαλοποιημένο ανθρώπινο ωάριο με τη χρήση του ανοικτού συστήματος (Cobo et al., 2011).

11.5 Άλλες ενδείξεις

Εκτός από τη δωρεά ωαρίων, τη διατήρηση της γονιμότητας για καρκινοπαθείς και την «κοινωνική κατάψυξη ωαρίων», υπάρχει ένας αυξανόμενος αριθμός άλλων ενδείξεων για την κρυοσυντήρηση ωαρίων.

Η κρυοσυντήρηση ωαρίων μπορεί να αποτελέσει σημαντική επιλογή γονιμότητας για γυναίκες με μια σειρά ιατρικών παθήσεων εκτός του καρκίνου και της ενδομητρίωσης που μπορεί να εμφανίσουν μειωμένη ωοθηκική εφεδρεία μετά από χειρουργική επέμβαση, για γυναίκες με αυτοάνοσα νοσήματα που απαιτούν γοναδοτοξική θεραπεία και γυναίκες με γενετικές ανωμαλίες που οδηγούν σε υπογονιμότητα ή κίνδυνο πρόωρης εμμηνόπαυσης. Η κρυοσυντήρηση ωαρίων μπορεί επίσης να αποτελέσει επιλογή για τη διατήρηση της γονιμότητας σε χειρουργικές επεμβάσεις αλλαγής φύλου. Επιπλέον, τώρα που η αξιολόγηση της ωοθηκικής εφεδρείας είναι ευρέως διαθέσιμη με τη χρήση βιοχημικών (αντιμυλλεριανή ορμόνη, πρώιμη ωοθυλακική FSH) μετρήσεων, πολλές γυναίκες που είναι ασυμπτωματικές αναγνωρίζονται ως γυναίκες που διατρέχουν κίνδυνο πρόωρης εμμηνόπαυσης. Παρόλο που η μέτρηση του ωοθηκικού αποθέματος δεν έχει αποδειχθεί ότι έχει προγνωστική αξία για αυτόματη εγκυμοσύνη, είναι μια λογική στρατηγική για αυτές τις γυναίκες να εξετάσουν το ενδεχόμενο εκλεκτικής κρυοσυντήρησης ωαρίων.

Μια άλλη χρήσιμη εφαρμογή της κρυοσυντήρησης ωαρίων προκύπτει στην περίπτωση που ο άνδρας σύντροφος αποτυγχάνει να παράγει δείγμα σπέρματος την ημέρα της ανάκτησης ωαρίων για εξωσωματική γονιμοποίηση. Η αποτελεσματικότητα της «επείγουσας» κρυοσυντήρησης ωαρίων αποδείχθηκε σε περιπτώσεις κατά τις οποίες η λήψη σπέρματος από άνδρες συντρόφους με μη αποφρακτική αζωοσπερμία είχε αποτύχει. Μετά την επείγουσα υαλοποίηση, 15 ζευγάρια επέλεξαν να θερμάνουν τα ωάρια και να χρησιμοποιήσουν σπέρμα δότη για τη

σπερματέγχυση, με αποτέλεσμα το ποσοστό κλινικής εγκυμοσύνης να ανέλθει στο 53,3%. Η υαλοποίηση έχει επίσης προταθεί ως μια αποτελεσματική στρατηγική για τη διαχείριση χαμηλής ανταπόκρισης, επιτρέποντας την αποθήκευση και τη συσσώρευση ωαρίων από πολλαπλούς κύκλους διέγερσης των ωθηκών πριν από την εξωσωματική γονιμοποίηση και τη μεταφορά εμβρύων (Argyle, Harper and Davies, 2016).

Κεφάλαιο 12

Υαλοποίηση έναντι αργής κατάψυξης

Η αρχή της κρυσσοσυντήρησης ωαρίων συνεπάγεται κύτταρα που τίθενται σε κατάσταση αναστολής ζωής για αόριστες χρονικές περιόδους. Κατά τη διάρκεια της διαδικασίας θα πρέπει να αποφεύγονται ορισμένες καταστάσεις όπως το ωσμωτικό σοκ, ο σχηματισμός κρυστάλλων και η δυσμενής επίδραση της συγκέντρωσης διαλυμένων ουσιών (solution effect).

Δύο τεχνικές είναι γνωστές για την κρυσσοσυντήρηση των ωαρίων. Και οι δύο χρησιμοποιούν κρυσπροστατευτικές ουσίες για την αποφυγή βλάβης των κυττάρων. Οι ρυθμοί ψύξης πρέπει να είναι ελεγχόμενοι ώστε να επιτρέπουν την αφυδάτωση αποφεύγοντας την ενδοκυτταρική κατάψυξη και πρέπει να είναι αρκετά γρήγοροι ώστε να αποφεύγονται οι τοξικές επιδράσεις των κρυσπροστατευτικών ουσιών.

Η πρώτη τεχνική που χρησιμοποιείται είναι η αργή κατάψυξη. Απαιτεί χαμηλή συγκέντρωση κρυσπροστατευτικών ουσιών. Η μείωση της θερμοκρασίας είναι αργή (2 °C/λεπτό) έως ότου επιτευχθεί η θερμοκρασία σποράς των -6 °C. Τα ωάρια παραμένουν σε αυτή τη θερμοκρασία για 10 έως 30 λεπτά και στη συνέχεια η θερμοκρασία πέφτει στους -32 °C με βραδύτερο ρυθμό ψύξης πριν από την αποθήκευση σε υγρό άζωτο (Glujovsky et al., 2014). Με την κατάψυξη αργού ρυθμού επιχειρείται ο έλεγχος των βιοφυσικών ιδιοτήτων της κατάψυξης, όπως οι ρυθμοί ψύξης και θέρμανσης, σε συνδυασμό με κρυσπροστατευτικούς παράγοντες για την ελαχιστοποίηση των δυσμενών κυτταρικών συμβάντων. Αυτή η μέθοδος, που θεωρείται προσέγγιση ισορροπίας, επιτρέπει την ψύξη των κυττάρων σε πολύ χαμηλές θερμοκρασίες, ελαχιστοποιώντας τον ενδοκυτταρικό σχηματισμό παγοκρυστάλλων και προσπαθώντας ταυτόχρονα να ελαχιστοποιήσει τις επιζήμιες επιδράσεις των αυξημένων συγκεντρώσεων διαλυτών ουσιών και του οσμωτικού στρες. Επειδή με την κατάψυξη συμβαίνει κάποιος σχηματισμός πάγου, η αντίστροφη διαδικασία θεωρείται «απόψυξη» για την αναζωογόνηση των κυττάρων. Η κατάψυξη με αργό ρυθμό έχει μακρά ιστορία επιτυχίας για την κρυσσοσυντήρηση ανθρώπινων ζυγωτών και εμβρύων, και πιο πρόσφατα με ανθρώπινα ωάρια (Smith et al., 2010).

Σε αντίθεση με την αργή κατάψυξη, η υαλοποίηση είναι μια μέθοδος κρυσσοσυντήρησης που επιτρέπει τη στερεοποίηση του(των) κυττάρου(ων) και του εξωκυτταρικού περιβάλλοντος σε κατάσταση που μοιάζει με γυαλί χωρίς το σχηματισμό πάγου (Rienzi et al., 2016). Η τεχνική αυτή, χρησιμοποιεί υψηλότερες ποσότητες κρυσπροστατευτικών ουσιών (γενικά συνδυασμούς προπανοδιόλης (PROH), διμεθυλοσουλφοξειδίου (DMSO) και αιθυλενογλυκόλης (EG)), με αποτέλεσμα ακραία συρρίκνωση. Για να αποφευχθεί η τοξικότητα, ο χρόνος έκθεσης πρέπει να μειωθεί και οι ρυθμοί κατάψυξης να φτάνουν τους -1500 °C/λεπτό μέχρι η θερμοκρασία να φτάσει τους -20.000 °C. Η διαδικασία απόψυξης προϋποθέτει επανυδάτωση- ονομάζεται θέρμανση στην περίπτωση

της υαλοποίησης και περιλαμβάνει σειριακή μεταφορά μέσω διαλυμάτων σακχαρόζης (Glujovsky et al., 2014). Μέχρι σήμερα, το πιο συχνά χρησιμοποιούμενο πρωτόκολλο για υαλοποίηση ωαρίων περιλαμβάνει τον συνδυασμό 15% DMSO, 15% EG και 0,5 M σακχαρόζης σε ελάχιστο όγκο (≤ 1 μ l). Άλλες θεμελιώδεις πτυχές της τεχνικής σχετίζονται με τη μέθοδο ψύξης και αποθήκευσης. Επί του παρόντος, τα περισσότερα ωοκύτταρα υαλοποιούνται εκθέτοντας το δείγμα σε άμεση επαφή με υγρό άζωτο (ανοικτό σύστημα) για να αυξηθούν οι ρυθμοί ψύξης/θέρμανσης και επομένως η αποτελεσματικότητα της διαδικασίας. Η ικανότητα επιβίωσης της υαλοποίησης στην πραγματικότητα εξαρτάται αυστηρά από τον βαθμό κυτταρικής αφυδάτωσης και από το ρυθμό θέρμανσης, παρά από τον τύπο και τη συγκέντρωση των κρυοπροστατευτικών που χρησιμοποιούνται. Υψηλά ποσοστά κρυοεπιβίωσης των ωοκυττάρων έχουν ληφθεί πρόσφατα με τη χρήση μόνο μη διεισδυτικού κρυοπροστατευτικού και ενός σχετικά αργού ρυθμού ψύξης, αλλά σε συνδυασμό με μια εξαιρετικά γρήγορη θέρμανση. Αυτή η μελέτη καταδεικνύει επίσης ότι η ωσμωτική απόσυρση ενός πολύ μεγάλου ποσοστού ενδοκυτταρικού νερού πριν από την ψύξη, και όχι η διείσδυση του κρυοπροστατευτικού στο κύτταρο, είναι το κλειδί για μια επιτυχημένη υαλοποίηση.

Για την αποφυγή πιθανής μόλυνσης κατά την υαλοποίηση σε ανοικτό σύστημα, μπορεί να χρησιμοποιηθεί αποστειρωμένο υγρό άζωτο. Εναλλακτικά, έχουν σχεδιαστεί ειδικές συσκευές για την αποφυγή της άμεσης επαφής των δειγμάτων με το άζωτο είτε κατά την υαλοποίηση (κλειστό σύστημα) είτε/και κατά την αποθήκευση. Σημειωτέον, δεν είναι όλα τα κλειστά συστήματα που διατίθενται στην αγορά εντελώς απαλλαγμένα από πιθανές πηγές μόλυνσης. Από την άλλη πλευρά, ένας χαμηλότερος βαθμός ρυθμού ψύξης/θέρμανσης συνδέεται γενικά με τη χρήση αυτών των συστημάτων. Μέχρι σήμερα, ούτε τα ανοικτά ούτε τα κλειστά συστήματα έχουν οδηγήσει σε μετάδοση ασθενειών κατά την υαλοποίηση. Ωστόσο, για τη διασφάλιση της βιοασφάλειας κατά την κρυοσυντήρηση, συνιστάται η χρήση αποστειρωμένων προσεγγίσεων υπό την προϋπόθεση ότι εξακολουθούν να διασφαλίζονται επαρκείς ρυθμοί ψύξης και, ιδίως, θέρμανσης (Rienzi et al., 2016).

Η υαλοποίηση μπορεί να έχει πλεονεκτήματα σε σχέση με την αργή κατάψυξη σε συγκεκριμένες τεχνικές πτυχές, όπως η εξαιρετικά γρήγορη μετάβαση από την υγρή στη στερεή κατάσταση, αποφεύγοντας έτσι το σχηματισμό κρυστάλλων που θεωρείται ότι προκαλεί βλάβη στις κυτταρικές δομές ή ωσμωτικό σοκ. Με τη χρήση της υαλοποίησης, τα ποσοστά επιβίωσης και γονιμοποίησης των ωαρίων θα μπορούσαν να αναμένονται υψηλότερα, καθώς αποφεύγονται οι δομικές βλάβες σε κυτταρικό επίπεδο. Άλλωστε, δεν έχουν περιγραφεί ενδείξεις αλλοιώσεων στη μειωτική άτρακτο ή στις δομές των χρωμοσωμάτων σε διαδικασίες υαλοποίησης (Glujovsky et al., 2014).

Σε αντίθεση με την αργή κατάψυξη, η υαλοποίηση δεν απαιτεί ένα προγραμματιζόμενο μηχανήμα κατάψυξης για την παροχή συγκεκριμένων παραμέτρων ψύξης. Η τεχνική είναι

αποκλειστικά χειροκίνητη και συνεπώς εξαρτάται από τον χειριστή. Επιπλέον, διατίθενται διάφορα εμπορικά κιτ υαλοποίησης που διαφέρουν ως προς τα διαλύματα και τις συσκευές που χρησιμοποιούνται. Συνεπώς, η αποτελεσματικότητα της υαλοποίησης μπορεί να είναι εξαιρετικά μεταβλητή και να εξαρτάται από τα πρωτόκολλα και την εμπειρία ενός εργαστηρίου. Η ανομοιογένεια των εφαρμοζόμενων μεθόδων μπορεί να δημιουργήσει προκλήσεις κατά τη μεταφορά υαλοποιημένων δειγμάτων μεταξύ εργαστηρίων που χρησιμοποιούν διαφορετικά μείγματα κρυσταλλοστατευτικών ουσιών ή/και συσκευές υαλοποίησης. Συνεπώς, συνιστάται μια αυστηρή διαδικασία τυποποίησης. Θα πρέπει να αναληφθούν συγκριτικές μελέτες για την καθιέρωση βέλτιστων πρακτικών που θα υιοθετηθούν στη συνέχεια καθολικά (όπως συνέβη για την αργή κατάψυξη πριν από 30 χρόνια). Πράγματι, οι προσπάθειες για την προώθηση της τυποποίησης, της συνέπειας και της αποτελεσματικότητας βρίσκονται ήδη σε εξέλιξη με την εισαγωγή της αυτοματοποίησης. Ωστόσο, η προσέγγιση αυτή απαιτεί σημαντικές οικονομικές επενδύσεις και, ως εκ τούτου, η εφαρμογή της είναι ακόμη περιορισμένη (Rienzi et al., 2016).

Κεφάλαιο 13

Επιπτώσεις υαλοποίησης ανθρώπινων ωαρίων

13.1 Αρνητικές επιπτώσεις υαλοποίησης στη φυσιολογία των ωαρίων

Η υαλοποίηση επιτρέπει επιλογές, προσφέρει ευελιξία στην υποβοηθούμενη αναπαραγωγή και είναι ένα εξαιρετικό εργαλείο στο εργαστήριο εξωσωματικής γονιμοποίησης. Ωστόσο, παρ' όλα τα καθυστερημένα δεδομένα σχετικά με την ασφαλή εφαρμογή της υαλοποίησης ωαρίων σε σημείο που τα αποτελέσματα να είναι συγκρίσιμα με τη χρήση νωπών ωαρίων, υπάρχει πάντα η ανησυχία σχετικά με την ασφάλεια της διαδικασίας. Αυτό αφορά κυρίως τις χημικές και φυσικές βλάβες μαζί με την τοξικότητα των κρυοπροστατευτικών παραγόντων (CPA). Η βλάβη αυτή μπορεί να συνδεθεί με τη συσκευή της ατράκτου και τη διάταξη των χρωμοσωμάτων. Η τοξικότητα των κρυοπροστατευτικών ουσιών είναι ένα πολύπλοκο ζήτημα, δεδομένου ότι όχι μόνο η συγκέντρωση και ο όγκος, αλλά και η θερμοκρασία και ο χρόνος έκθεσης είναι καθοριστικά για την προκύπτουσα τοξικότητα στην οποία εκτίθενται τα κύτταρα. Μόλις τα ωάρια αυτά κρυοσυντηρηθούν, υποβάλλονται σε συγκεκριμένες δομικές και βιολογικές τροποποιήσεις. Το ωοκύτταρο είναι ευαίσθητο στην κρυοκαταστροφή λόγω του μεγάλου λόγου επιφάνειας/όγκου του, ενώ συμβαίνουν επίσης αλλαγές στη διαπερατότητα της πλασματικής μεμβράνης. Επιπλέον, επηρεάζονται οι ενδοκυτταρικές λειτουργίες, η μειωτική άτρακτος και οι μικροσωληνοειδείς δομές (Simopoulou et al., 2018).

13.2 Επίδραση της υαλοποίησης των ωαρίων στην ποιότητα του εμβρύου

Η καταλληλότητα της υαλοποίησης των ωαρίων έχει διαπιστωθεί χάρη στην αξιολόγηση των ποσοστών επιβίωσης, των παραμέτρων ανάπτυξης των εμβρύων και των ποσοστών εμφύτευσης, εγκυμοσύνης και γεννήσεων. Αυτά τα αποτελέσματα έχουν συνήθως συγκριθεί μεταξύ νωπών και υαλοποιημένων ωαρίων ή μεταξύ αργής κατάψυξης και υαλοποίησης. Παρόμοια ανάπτυξη εμβρύων έχει αποδειχθεί σε έμβρυα που προέρχονται από νωπά έναντι υαλοποιημένων ωαρίων, και η κλινική επικύρωση της χρήσης υαλοποιημένων ωαρίων για τη δωρεά ωαρίων έχει αποδειχθεί σε μια μεγάλη τυχαιοποιημένη ελεγχόμενη κλινική δοκιμή.

Κλασικά, οι αξιολογήσεις της ποιότητας των εμβρύων βασίζονται σε μορφολογικά κριτήρια, τα οποία περιλαμβάνουν συμβατικές στατικές παρατηρήσεις που συνδέονται με συγκεκριμένες χρονικές στιγμές και διακυμάνσεις μεταξύ των παρατηρητών. Η ανάπτυξη του εμβρύου είναι μια δυναμική διαδικασία και πολλά κρίσιμα στάδια μπορεί να περάσουν απαρατήρητα με τη χρήση των παραδοσιακών μορφολογικών αξιολογήσεων. Όπως έχει αποδειχθεί προηγουμένως, η απεικόνιση της κινητικής της κυτταρικής διαίρεσης σε χρονοδιάγραμμα προσφέρει μια πολύ πιο ακριβή ανάλυση της ανάπτυξης του εμβρύου και παρέχει λεπτομερείς πληροφορίες για τη

δυναμική μορφολογία σε κάθε στάδιο της κυτταρικής διαίρεσης. Σχετικές παράμετροι, όπως η πολυπυρήνωση και ο κατακερματισμός, τα κρίσιμα ανώμαλα μοτίβα διάσπασης και η μορφοκινητική μπορούν να παρατηρηθούν ή να αξιολογηθούν μόνο με τη χρήση της τεχνολογίας time-lapse.

Στην παρούσα μελέτη, βρέθηκαν κάποιες διαφορές στην κινητική των εμβρύων όταν προέρχονται από υαλοποιημένα ωάρια. Αυτές οι διαφορές ήταν στατιστικά σημαντικές και αποκάλυψαν μια καθυστέρηση ~ 1 ώρας σε κάθε κυτταρική διαίρεση μέχρι το πρώιμο στάδιο της βλαστοκύστης στην ομάδα της υαλοποίησης. Ένα πολύ ενδιαφέρον εύρημα ήταν ότι το cc2 (διακριτή κινητική παράμετρος) ήταν ακριβώς το ίδιο μεταξύ των ομάδων. Αυτή η παράμετρος βρέθηκε να είναι μια από τις πιο προγνωστικές παραμέτρους. Αυτό είναι ένα σχετικό γεγονός, διότι η αντιγραφή του DNA συμβαίνει κατά τη διάρκεια αυτής της περιόδου και η διάρκειά του είναι αδιατάρακτη στα έμβρυα που προέρχονται από υαλοποιημένα ωάρια. Επομένως, τα έμβρυα στην ομάδα της υαλοποίησης δεν είναι στην πραγματικότητα πιο αργά από τα φρέσκα, αλλά αρχίζουν τις κυτταρικές διαιρέσεις αργότερα και, το πιο σημαντικό, χρειάζονται τον ίδιο χρόνο για την αντιγραφή του DNA. Αυτό θα μπορούσε να εξηγήσει γιατί προηγούμενες μελέτες έδειξαν παρόμοια ποσοστά εμφύτευσης και κλινικά αποτελέσματα σε υαλοποιημένα και φρέσκα ωάρια.

Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, οι λόγοι που εξηγούν τις αλλαγές στο χρόνο για τις κυτταρικές διαιρέσεις βασίζονται κυρίως σε χρωμοσωμικές αλλοιώσεις, οι οποίες μπορεί να καθυστερήσουν την αντιγραφή του DNA. Οι αλλαγές στον μεταβολισμό του εμβρύου λόγω μη βέλτιστων συνθηκών καλλιέργειας προκαλούν επίσης σημαντικές αλλαγές στα προφίλ έκφρασης των αναπτυξιακά σημαντικών γονιδίων υποζικών αποκρίσεων. Επιπλέον, οι αλλοιωμένοι χρόνοι για την κυτταρική διαίρεση μπορεί να προκληθούν από ορισμένους εγγενείς παράγοντες εντός του ωοκυττάρου, του σπέρματος ή και των δύο. Επιπλέον, ορισμένα στοιχεία δείχνουν ότι η υαλοποίηση των ωαρίων δεν αυξάνει τα ποσοστά ανευπλοειδίας στα έμβρυα που δημιουργήθηκαν αργότερα. Περαιτέρω στοιχεία μπορεί να υποστηρίξουν την ιδέα ότι ο μεταβολισμός των εμβρύων δεν διαταράσσεται μετά την εμφάνιση υαλοποίησης ωαρίων με παρόμοια μεταβολικά προφίλ σε έμβρυα μετά τη χρήση υαλοποιημένων ή φρέσκων ωαρίων.

Θα μπορούσαμε να υποθέσουμε ότι η μειωμένη μιτοχονδριακή δραστηριότητα μετά την υαλοποίηση των ωαρίων θα μπορούσε να είναι υπεύθυνη για την καθυστέρηση στους χρόνους για την κυτταρική διαίρεση που παρατηρείται εδώ. Η αναστρεψιμότητα των αλλαγών που παρατηρήθηκε προηγουμένως υποστηρίζει τη θεωρία ότι τα υαλοποιημένα ωάρια χρειάζονται επιπλέον χρόνο για να ξεπεράσουν τις αλλαγές που λαμβάνουν χώρα. Θα μπορούσαμε επίσης να υποθέσουμε ότι μια καθυστέρηση 1 ώρας του ICSI στην ομάδα υαλοποίησης μπορεί να μετριάσει την καθυστέρηση στις διαιρέσεις των εμβρύων. Ωστόσο, η διαδικασία αναπτύσσεται κανονικά μόλις τεθεί σε κίνηση ο μηχανισμός που είναι υπεύθυνος για τη διαίρεση των κυττάρων, όπως φαίνεται από τις παρόμοιες διάρκειες του κυτταρικού κύκλου και τους ρυθμούς εμφύτευσης. Η

παρατηρούμενη κατανομή όλων των μορφοκινητικών κατηγοριών στο ιεραρχικό δέντρο ήταν παρόμοια και το δυναμικό εμφύτευσης σε κάθε κατηγορία δεν διέφερε μεταξύ των εμβρύων από υαλοποιημένα και φρέσκα ωάρια. Αυτό δείχνει ότι παρά την καθυστέρηση στην έναρξη των κυτταρικών διαιρέσεων, τα έμβρυα που αναπτύχθηκαν από υαλοποιημένα ωάρια είχαν το ίδιο δυναμικό εμφύτευσης, καθώς και παρόμοια ποσοστά εγκυμοσύνης. Αξιοσημείωτη ήταν η μικρότερη αναλογία εμβρύων στην ομάδα της υαλοποίησης που εμπίπτει στα βέλτιστα όρια κυτταρικής διαίρεσης ($t5$, $s2$, $cc2$). Ωστόσο, αυτές οι διαφορές δεν αντικατοπτρίστηκαν όταν τα έμβρυα κατηγοριοποιήθηκαν σύμφωνα με το μοντέλο ιεραρχικού δέντρου.

Συμπερασματικά, αν και η πρώιμη ανάπτυξη του εμβρύου σε υαλοποιημένα ωοκύτταρα καθυστέρησε, η διάρκεια του κυτταρικού κύκλου, ενώ λαμβάνει χώρα η αντιγραφή του DNA είναι σταθερή. Επομένως, παραμένει ασαφές εάν αυτές οι αλλαγές έχουν συνέπειες για το δυναμικό των υαλοποιημένων ωοκυττάρων, επειδή δεν παρατηρήθηκε καμία επίδραση στην εμφύτευση και στην κλινική έκβαση. (Cobo et al., 2017).

Υπάρχουν πολύ λίγες μελέτες που παρακολουθούν παιδιά που γεννήθηκαν μετά από υαλοποίηση ωαρίων. Η παλαιότερη δημοσίευση σχετικά με γενετικές ανωμαλίες μετά από κρυοσυντήρηση ωαρίων ανέφερε δυσπλασίες κατά τη γέννηση σε 2 από τα 105 μωρά που γεννήθηκαν μετά από αργή κατάψυξη ωαρίων. Μια ανασκόπηση που περιείχε δεδομένα για 936 μωρά με κρυοσυντήρηση ωαρίων, συμπεριλαμβανομένων 532 από αργή κατάψυξη, 392 από υαλοποίηση και 12 και από τα δύο, συνέκρινε τα ευρήματα κρυοσυντήρησης με δεδομένα για φυσικές συλλήψεις από την Εθνική Στατιστική Υπηρεσία των ΗΠΑ για την έκβαση των γεννήσεων. Το συνολικό ποσοστό ανωμαλιών στην ομάδα κρυοσυντήρησης ήταν 1,3% (1,1% για αργή κατάψυξη· 1,5% για υαλοποίηση), το οποίο είναι συγκρίσιμο με τη συχνότητα εμφάνισης στο εθνικό μητρώο των ΗΠΑ (3%). Η πρώτη αναφορά που παρακολουθούσε αποκλειστικά τις εγκυμοσύνες και τα μωρά που γεννήθηκαν μετά από υαλοποίηση ωαρίων ήταν μια περιγραφική μελέτη που δημοσιεύθηκε το 2009, η οποία περιελάμβανε δεδομένα από τρία διαφορετικά κέντρα και περιλάμβανε 200 ζωντανές γεννήσεις.

Μετά την ανάλυση ενός μεγάλου δείγματος που περιελάμβανε περισσότερα από 1.000 μωρά, δεν παρατηρήθηκαν ανεπιθύμητες ενέργειες όσον αφορά τα μαιευτικά και περιγεννητικά αποτελέσματα μεταξύ κυήσεων και παιδιών που συλλαμβάνονται από φρέσκα ή υαλοποιημένα ωάρια. Αξίζει να σημειωθεί, και λόγω της ετερογένειας του δείγματος που αναλύθηκε, βρέθηκαν κάποιες διαφορές στα βασικά χαρακτηριστικά μεταξύ των ομάδων. Ο σημαντικά μικρότερος αριθμός των ιδίων ωοκυττάρων μετάφασης II που χρησιμοποιούνται στην ομάδα υαλοποίησης μπορεί να οφείλεται σε υψηλό ποσοστό ασθενών με χαμηλή ανταπόκριση. Η μέση ηλικία της μητέρας κατά τη σύλληψη ήταν πιο προχωρημένη στην ομάδα ασθενών που συνέλαβαν μετά τη δωρεά υαλοποιημένων ωαρίων, γεγονός που σχετίζεται στενά με το υψηλότερο ποσοστό κύκλων δωρεάς

ωαρίων στην ίδια ομάδα. Παρά αυτούς τους γνωστούς παράγοντες κινδύνου, η επίπτωση της υπέρτασης που προκαλείται από εγκυμοσύνη και είναι μικρή για την ηλικία κύησης δεν αυξήθηκε στην ομάδα υαλοποίησης σε σύγκριση με την ομάδα φρέσκων ωαρίων, γεγονός που υποδηλώνει ότι η υαλοποίηση δεν επηρεάζει τον πλακούντα. Ο επιπολασμός της υπέρτασης που προκαλείται από εγκυμοσύνη και είναι μικρός για την ηλικία κύησης στη μελέτη μας είναι συγκρίσιμος με αυτόν που αναφέρθηκε προηγουμένως σε άλλες μελέτες IVF/ICSI που περιείχαν εγκυμοσύνες με δωρεά ωαρίων, το οποίο είναι γνωστό ότι είναι υψηλότερο σε σύγκριση με τις εγκυμοσύνες IVF/ICSI με ίδια ωάρια και εγκυμοσύνες με φυσική σύλληψη.

Η εμφάνιση άλλων διαταραχών εγκυμοσύνης ήταν παρόμοια μεταξύ των ομάδων, συμπεριλαμβανομένης της αιμορραγίας δεύτερου και τρίτου τριμήνου, και χαμηλότερης συχνότητας ουρολοιμώξεων στην ομάδα που είχε υαλοποιηθεί, καμία από τις οποίες δεν ήταν κλινικά σχετική ή δεν είχε καμία επίδραση στα αποτελέσματα του τοκετού.

Δεν βρέθηκαν διαφορές στη συχνότητα εμφάνισης συγγενών δυσπλασιών μεταξύ υαλοποιημένων και νωπών ωοκυττάρων. Αυτοί οι αριθμοί, που ελήφθησαν από τη μεγάλη μας σειρά, επιβεβαιώνουν προηγούμενες παρατηρήσεις για την περιγεννητική έκβαση μετά από κρυοσυντήρηση ωαρίων ή υαλοποίηση εμβρύου. Γενικά δεδομένα για μείζονες και μικρές δυσπλασίες δεν αποκάλυψαν στατιστικές διαφορές. Συνοπτικά, μετά την προσαρμογή για πιθανούς συγχυτικούς παράγοντες, δεν βρέθηκαν κλινικά σχετικοί μαιευτικοί ή περιγεννητικοί αυξημένοι κίνδυνοι στις εγκυμοσύνες που επιτεύχθηκαν με υαλοποιημένα ωάρια στην τρέχουσα σειρά, γεγονός που υποδηλώνει ότι η υαλοποίηση δεν φαίνεται να είναι επιβλαβής διαδικασία.

Συμπερασματικά, τα δεδομένα υποδηλώνουν ότι η υαλοποίηση δεν φαίνεται να προκαλεί προφανή ή σημαντική αύξηση στον κίνδυνο μαιευτικής και περιγεννητικής βλάβης σε παιδιά που έχουν συλληφθεί από υαλοποιημένα ωάρια. Ωστόσο, είναι αλήθεια ότι η επιτήρηση αυτών των πρωτοκόλλων πρέπει να διατηρηθεί επειδή, για να διασφαλιστεί ότι η υαλοποίηση δεν έχει αρνητικό αντίκτυπο σε αυτές τις παραμέτρους υγείας, είναι υποχρεωτικό ένα πολύ μεγαλύτερο μέγεθος δείγματος. Επιπλέον, η παιδιατρική παρακολούθηση, συμπεριλαμβανομένης της αξιολόγησης της ψυχοκινητικής ανάπτυξης και του επιπολασμού της νόσου, απαιτείται επίσης για την οριστική αξιολόγηση της έλλειψης μακροπρόθεσμων συνεπειών μετά την υαλοποίηση των ωαρίων (Cobo et al., 2014).

Κεφάλαιο 14

Τα πρώτα βήματα προς την πλήρη αυτοματοποίηση της υαλοποίησης των ωαρίων

Η κατανόηση του τρόπου λειτουργίας της, των παραγόντων που την επηρεάζουν και των προβλημάτων που μπορεί να προκύψουν κατά τη διάρκεια των διαδικασιών της υαλοποίησης και της θέρμανσης, έχει οδηγήσει σε αρκετές εξελίξεις στον τομέα.

Μεταξύ των πρώτων εξελίξεων ήταν η αξιολόγηση διαφορετικών κρυσπροστατευτικών παραγόντων (CPs) μετά του πρώτου που ανακαλύφθηκε, δηλαδή τη γλυκερίνη. Αυτά είναι το DMSO, η προπυλενογλυκόλη, η αιθυλενογλυκόλη, αντιψυκτικές πρωτεΐνες, πολυβινυλοπυρρολιδόνη, σάκχαρα (σακχαρόζη, γλυκόζη κ.λπ.), πρωτεΐνες (λευκωματίνη, άμυλο κ.λπ.). Η μείωση του όγκου του δείγματος οδήγησε επίσης στη μείωση των συγκεντρώσεων των CPs, τα οποία είναι γνωστό ότι προκαλούν οσμωτικό στρες και είναι τοξικά σε υψηλές συγκεντρώσεις για πολλά κύτταρα.

Η προσπάθεια αύξησης των ρυθμών ψύξης ήταν και είναι ακόμα ένας από τους πιο δύσκολους παράγοντες που πρέπει να ξεπεραστούν. Η χρήση του LN οδηγεί, φυσικά, σε υψηλούς ρυθμούς ψύξης, ωστόσο όταν εισάγεται ένα δείγμα, προκαλείται βρασμός του LN και υπάρχει μια μονωτική φάση ατμών που περιβάλλει το δείγμα μέχρι να φτάσει στη θερμοκρασία του LN. Μια συσκευή με την ονομασία Vitmaster (IMT, Nes-Ziona, Ισραήλ) αναπτύχθηκε για να ξεπεράσει αυτό το εμπόδιο εφαρμόζοντας αρνητική πίεση στο LN μειώνοντας τη θερμοκρασία του σχεδόν στους -210°C , αποφεύγοντας έτσι τον βρασμό του LN κατά την εισαγωγή του δείγματος.

Εκτός από την προσπάθεια επίλυσης των προβλημάτων που συνδέονται άμεσα με τις διαδικασίες υαλοποίησης/θέρμανσης, έχουν ανακύψει και άλλα προβλήματα που οφείλονται στην πρακτικότητα των διαδικασιών. Ένα από τα προβλήματα είναι ο κίνδυνος επιμόλυνσης και διασταυρούμενης μόλυνσης μέσω του LN, ιδίως όταν αυτό γίνεται σε ανοικτό σύστημα. Σήμερα υπάρχουν διάφορες συσκευές που προσφέρουν καθαρό LN, όπως το Elan 2 (MMR Technologies, San Jose, CA, ΗΠΑ) που παράγει καθαρό LN, το Nterilizer® (Nterilizer, Bologna, Ιταλία) που αποστειρώνει το LN με τη χρήση υπεριώδους φωτός και το Veriseq® (Linde Gas, Schiedam, Ολλανδία) που φιλτράρει το αέριο άζωτο, υγροποιώντας το για την παραγωγή αποστειρωμένου LN.

Ιδιαίτερη αναφορά πρέπει να γίνει στα προβλήματα που προέκυψαν λόγω της τοξικότητας των CPs. Έντονη είναι η ανάγκη μεταφοράς των ωοκυττάρων ή των εμβρύων μεταξύ διαφόρων διαλυμάτων με αυξανόμενες συγκεντρώσεις έως ότου φθάσουν στο τελικό διάλυμα υαλοποίησης πριν από τη βύθιση στο LN, ενώ κατά την αύξηση της θερμοκρασίας υπάρχει η ίδια ανάγκη αλλά με φθίνουσες συγκεντρώσεις. Αυτό έχει καταστήσει τη διαδικασία δυσκίνητη, πολύ πιο δαπανηρή,

με υψηλή εξειδίκευση και προκαλεί διαφορές μεταξύ των κέντρων. Ζωτικής σημασίας λοιπόν, είναι πλέον η αυτοματοποίηση της διαδικασίας της υαλοποίησης (Arav and Natan, 2019).

14.1 GAVI – Automated Vitrification Instrument

Λόγος πλέον στον κόσμο της εμβρυολογίας γίνεται για τον πρώτο επιτυχή ζωντανό τοκετό τον Οκτώβριο του 2019, χρησιμοποιώντας θερμαινόμενα wάρια, υαλοποιημένα από το σύστημα GAVI™, ένα ημιαυτόματο σύστημα υαλοποίησης που χρησιμοποιήθηκε από το Κέντρο Αναπαραγωγικής και Γενετικής Υγείας (CRGH), ως μια ισχυρή και αναπαραγωγική εναλλακτική τεχνική για την υαλοποίηση και αποθήκευση wαρίων, τόσο από ασθενείς όσο και από δότες (Brunetti et al., 2021).

Το σύστημα Gavi έχει αναπτυχθεί για την αυτοματοποίηση της εξισορρόπησης των wαρίων και των εμβρύων πριν από την υαλοποίηση με τη χρήση μιας νέας συσκευής κλειστού συστήματος. Το σύστημα έχει σχεδιαστεί για να επιτρέπει τον έλεγχο ορισμένων μεταβλητών της υαλοποίησης, συμπεριλαμβανομένης της συγκέντρωσης των κρυοπροστατευτικών ουσιών, των ρυθμών έκθεσης των wοκυττάρων και των εμβρύων στην κρυοπροστατευτική ουσία, καθώς και της θερμοκρασίας και του χρόνου της έκθεσης σε αυτά τα κρυοπροστατευτικά μέσα, μεταβλητές που είναι δύσκολο να ελεγχθούν χειροκίνητα. Το αυτοματοποιημένο σύστημα Gavi έχει αποδειχθεί ότι παράγει ισοδύναμα αποτελέσματα in vitro με εκείνα του χρυσού προτύπου Cryotop. Ακολούθως περιγράφονται λεπτομερώς τα βήματα που απαιτούνται για την υαλοποίηση και τη θέρμανση των wαρίων (Roy, Brandi and Peura, 2017).

14.2 Εξοπλισμός και αναλώσιμα που απαιτούνται για την υαλοποίηση με το σύστημα GAVI

Ακολουθεί ένας κατάλογος του γενικού εξοπλισμού που απαιτείται για την προετοιμασία των αναλώσιμων και των εξαρτημάτων Gavi.

- πιπέτες με αποστειρωμένες άκρες κατάλληλες για τη μετακίνηση wοκυττάρων,
- πιπέτα με εύκαμπτο άκρο ικανό να διανέμει 2 μL,
- ετικέτες αναγνώρισης ασθενών ή μόνιμος μαρκαδόρος χωρίς ξυλένιο,
- PPE που απαιτούνται για το χειρισμό υγρού αζώτου,
- υγρό άζωτο,
- δοχεία αποθήκευσης υγρού αζώτου Dewar,
- διάλυμα VitBase (Το VitBase είναι ένα ρυθμιστικό μέσο HEPES που χρησιμοποιείται για τη διατήρηση wοκυττάρων/εμβρύων για σύντομο χρονικό διάστημα σε περιβάλλον χωρίς αέρα.),
- δύο τρυβλία καλλιέργειας 4 κοιλοτήτων,

- μικροσκόπιο με μη θερμαινόμενη τράπεζα,
- Gavi Pods,
- κασέτες Gavi,
- κασέτες Gavi Tip and Seal,
- Gavi Medium Cartridges (περιέχει δύο διαλύματα. Το πρώτο είναι ένα διάλυμα εξισορρόπησης που περιέχει 8 % αιθυλενογλυκόλη (EG) και 8 % DMSO. Το δεύτερο είναι το διάλυμα υαλοποίησης που περιέχει 16 % EG, 16 % DMSO και 0,68 M τρεχαλόζης),
- λαβίδα Gavi,
- δίσκος χειρισμού Gavi,
- διαχωριστικά αποθήκευσης Gavi που έχουν ήδη αποθηκευτεί σε υγρό άζωτο,
- θερμοκοιτίδα 37°C,
- χρονοδιακόπτης με λειτουργία αντίστροφης μέτρησης (Roy, Brandi and Peura, 2017).

14.3 Εξοπλισμός και αναλώσιμα που απαιτούνται για τη θέρμανση

Ακολουθεί κατάλογος του γενικού εξοπλισμού που απαιτείται για τη θέρμανση των υαλοποιημένων λοβών στο Gavi.

- μικροσκόπιο με απενεργοποιημένη θερμαινόμενη βάση,
- υδατόλουτρο ρυθμισμένο στους 37°C,
- κατάλληλα τρυβλία IVF 4 πηγαδιών,
- πιπέτες P1000 και P10/20 με αποστειρωμένα ρύγχη,
- PPE που απαιτούνται για το χειρισμό υγρού αζώτου,
- υγρό άζωτο,
- σταθμός εργασίας Gavi,
- σφραγισμένα Gavi Pods από την υαλοποίηση Gavi,
- σετ θέρμανσης Gems (WarmSol1, WarmSol2 και WarmSol3),
- απιονισμένο νερό,
- βαθμονομημένο χρονόμετρο,
- λαβίδα,
- χαρτοπετσέτες (Roy, Brandi and Peura, 2017).

14.4 Μέθοδος Υαλοποίησης με το σύστημα GAVI

Όλα τα βήματα πρέπει να ολοκληρώνονται σε θερμοκρασία δωματίου, εκτός εάν ορίζεται διαφορετικά.

1. Προετοιμασία των VitBase πιάτων για την εξισορρόπηση των ωοκυττάρων

2. Εκκίνηση του συστήματος GAVI
3. Προετοιμασία του Δίσκου λειτουργίας GAVI (Εικόνα)
4. Προετοιμασία των Gavi Rods και της κασέτας
5. Προετοιμασία του Υγρού Αζώτου
6. Εξισορρόπηση των ωοκυττάρων σε VitBase
7. Φόρτωση των ωαρίων στα καψάκια
8. Τοποθέτηση της κασέτας στο σύστημα GAVI
9. Πρωτόκολλο GAVI
10. Προετοιμασία του εξοπλισμού για τη θέρμανση
11. Θέρμανση (Roy, Brandi and Peura, 2017).



Εικόνα 7: Το σύστημα GAVI <https://hcp.merckgroup.com/in-en/fertility/technologies/Gavi/how-it-works.html>

Συζήτηση

Η παρούσα βιβλιογραφική ανασκόπηση παρουσιάζει τις τρέχουσες γνώσεις σχετικά με τον ορισμό, την επιδημιολογία και τους αιτιολογικούς παράγοντες της υπογονιμότητας από την πλευρά της γυναίκας και την τεχνολογία της υαλοποίησης, η οποία έχει κάνει σημαντικές προόδους και υπόσχεται πολλά.

Η υπογονιμότητα φαίνεται να είναι ένα πολύπλοκο και συναισθηματικά δύσκολο ταξίδι που επηρεάζει εκατομμύρια γυναίκες παγκοσμίως. Η εργασία αυτή εμβαθύνει στο πολυπαραγοντικό προφίλ της και στοχεύει να ενημερώσει τον αναγνώστη ότι είναι ένα θέμα που απαιτεί συνδυασμό ιατρικής προσοχής και κοινωνικής ευαισθητοποίησης. Οι αιτίες του προβλήματος, όπως φαίνεται δεν περιορίζονται μόνο σε ασθένειες, αλλά και στον τρόπο ζωής και τις συνήθειες, για τις οποίες δεν υπάρχουν πολλά δεδομένα και απαιτούνται περαιτέρω έρευνες. Ακόμα, το φαινόμενο της ανεξήγητης υπογονιμότητας φαίνεται να απασχολεί ένα μεγάλο ποσοστό των ζευγαριών, που αναζητούν λύση στο πρόβλημά τους, κάτι που χρήζει εργαστηριακής διερεύνησης.

Ενώ το ταξίδι για την αντιμετώπιση της γυναικείας υπογονιμότητας μπορεί να είναι ψυχοφθόρο, είναι σημαντικό να θυμόμαστε ότι υπάρχει ελπίδα. Οι εξελίξεις στην αναπαραγωγική ιατρική και στις τεχνολογίες υποβοηθούμενης αναπαραγωγής προσφέρουν ένα φάσμα δυνατοτήτων για τις γυναίκες και τα ζευγάρια που δυσκολεύονται να τεκνοποιήσουν. Σε μια εποχή που η γυναίκα επιλέγει να καθυστερήσει τη δημιουργία οικογένειας και να εξελιχθεί επαγγελματικά, η καινοτομία της υαλοποίησης των ωαρίων την καθιστά ικανή να ελέγξει αυτή καθ' αυτή το χρονοδιάγραμμα της γονιμότητάς της και να διατηρήσει αβλαβή τα ωάρια της μέχρι να αποφασίσει να τα χρησιμοποιήσει.

Αν και η κατάψυξη ωαρίων με ελεγχόμενο ρυθμό ή με αργό ρυθμό μπορεί να είναι επιτυχής, η υαλοποίηση έχει αναδειχθεί ως η προφανώς προτιμώμενη προσέγγιση που αποδίδει εξαιρετικά υψηλά ποσοστά επιβίωσης και επιτυχείς γεννήσεις ζώντων παιδιών (Clark and Swain, 2013). Ενώ η τεχνολογία υαλοποίησης ωαρίων αποτελεί σημαντικό βήμα προς τα εμπρός, δεν στερείται πολυπλοκότητας και προβληματισμών. Αν και μπορεί να υπάρχει δυνατότητα βελτίωσης με την κρυοσυντήρηση ωαρίων σε προηγούμενα μειωτικά στάδια, η πιο διαδεδομένη προσέγγιση που χρησιμοποιείται σήμερα περιλαμβάνει ωάρια MII. Συνεπώς, είναι πιθανό να είναι καλύτερο να επικεντρωθούμε σε μέσα βελτίωσης της μεθοδολογίας για τη βελτιστοποίηση των αποτελεσμάτων με τη χρήση αυτού του μειωτικού σταδίου. Αυτό μπορεί να περιλαμβάνει τη χρήση νέων CPAs και μακρομορίων, και σίγουρα θα πρέπει να συνεπάγεται τη χρήση βασικών μέσων διαμορφωμένων για τις ειδικές ανάγκες του ωοκυττάρου, ίσως ακόμη και την τροποποίηση της σύνθεσης ή της δομής της μεμβράνης τους για την αύξηση της κρυοανεκτικότητας. Ακόμα, όπως παρατηρείται, υπάρχουν πολύ λίγες μελέτες παρακολούθησης παιδιών που γεννήθηκαν από υαλοποίηση

ωαρίων και προκειμένου η μέθοδος να θεωρηθεί εντελώς ακίνδυνη, απαιτούνται περισσότερα δεδομένα.

Τέλος, ιδιαίτερη αναφορά πρέπει να γίνει στη μεγάλη πρόκληση για την πλήρη αυτοματοποίηση των μεθόδων της τεχνολογίας. Αν και ήδη έχουν εντοπιστεί προσπάθειες και πρωτόκολλα αυτοματοποίησης τα τελευταία χρόνια, αυτό βρίσκεται ακόμα σε αρχικά στάδια με μικρά ποσοστά επιτυχίας. Στόχος των επιστημονικών ομάδων ανά τον κόσμο, είναι η απαλλαγή από τη χειρωνακτική αναξιοπιστία και η είσοδος στον κόσμο του αυτοματισμού και της ρομποτικής. Αυτό απαιτεί εξειδικευμένο έμπειρο προσωπικό, ειδικό εξοπλισμό, μεγάλη χρηματοδότηση, συλλογή δεδομένων και συνεργασία ερευνητών, επιστημόνων και επιχειρηματιών. Παρ' όλα αυτά, ας μην ξεχνάμε πως τα μεγαλύτερα επιτεύγματα στην ιστορία της επιστήμης ξεκίνησαν με μικρά και σταθερά βήματα.

Συμπέρασμα

Συμπερασματικά, η οικογένεια είναι το κύτταρο της κοινωνίας και σε αυτό έχει δικαίωμα κάθε άνθρωπος. Η υπογονιμότητα, δηλαδή η αδυναμία ενός ζευγαριού να αποκτήσει οικογένεια, πλήττει εκατομμύρια ανθρώπους στο κόσμο και συνδέεται στενά με μια σειρά ιατρικών, ψυχολογικών και κοινωνικών προβλημάτων. Περίπου 1 στις 8 γυναίκες ηλικίας 15 έως 49 ετών λαμβάνει υπηρεσίες υπογονιμότητας. Αν και τα ποσοστά επιτυχίας ποικίλλουν ανάλογα με την ηλικία και τη διάγνωση, η ακριβής διάγνωση και η αποτελεσματική θεραπεία μαζί με την από κοινού λήψη αποφάσεων μπορούν να διευκολύνουν την επίτευξη των στόχων γονιμότητας σε πολλά ζευγάρια που υποβάλλονται σε θεραπεία υπογονιμότητας.

Η σωστή προσέγγιση της ασθενούς και η λήψη ενός ολοκληρωμένου ιστορικού φαίνεται να βοηθάει στην εντόπιση της αιτίας της υπογονιμότητας. Οι αιτίες του προβλήματος από την πλευρά της γυναίκας σχετίζονται με διαταραχές των ορμονών, την ηλικία της, ασθένειες όπως η ενδομητρίωση, διαταραχές στην παραγωγή ωαρίων, υπογοναδοτροφικός υπογοναδισμός, αλλοιώσεις της μήτρας ή των σαλπίγγων, αυτοάνοσα νοσήματα, οι χημειοθεραπείες αλλά και ο τρόπος ζωής της και οι συνήθειές της. Βέβαια δεν είναι λίγες οι φορές που η υπογονιμότητα οφείλεται στη διαταραχή του μικροβιώματος της γυναικείας γεννητικής οδού, αλλά και στους περιβαλλοντικούς παράγοντες και την ατμοσφαιρική ρύπανση, η οποία ενώ έχει λάβει τεράστια προσοχή τις τελευταίες δεκαετίες για πολλούς λόγους υγείας, οι επιπτώσεις της στην γονιμότητα είναι λιγότερο γνωστές.

Ο εντοπισμός νέων προσεγγίσεων για την προστασία της γονιμότητας είναι ένα έντονο θέμα έρευνας και συζητήσεων τα τελευταία χρόνια. Μία από αυτές τις προσεγγίσεις αφορά την επιστήμη της κρυοβιολογίας, με την υαλοποίηση να είναι πλέον η πιο αποτελεσματική μέθοδος

για την διαφύλαξη των ωαρίων τόσο σε γυναίκες, που λόγω ιατρικών προβλημάτων πρόκειται να χάσουν την ωθητική τους εφεδρεία, όσο και για αυτές που επιλέγουν να καθυστερήσουν την τεκνοποίηση για προσωπικούς κυρίως επαγγελματικούς λόγους. Παρά τα άλματα εξέλιξης που συμβαίνουν στο χώρο της Βιοϊατρικής και τις συνεχόμενες διορθώσεις στα πρωτόκολλα της κρυο-συντήρησης των ανθρώπινων ωοκυττάρων προκειμένου να επιτευχθούν μεγάλα ποσοστά επιτυχίας, η κοινωνία του 21^{ου} αιώνα, φαίνεται να δυσκολεύεται να αποδεχθεί ηθικά την επιλεκτική κατάψυξη ωαρίων ή όπως το αποκαλεί «το κοινωνικό πάγωμα».

Αρχικά η επιτυχία της μεθόδου περιοριζόταν λόγω της μεγάλης ευαισθησίας και ευθραυστότητας των ωοκυττάρων της MII. Λόγω της υψηλής περιεκτικότητας σε νερό, τα ωάρια είναι ευαίσθητα σε βλάβες από κατάψυξη και απόψυξη. Η σύγκριση μεταξύ παραδοσιακής αργής κατάψυξης και υαλοποίησης έδειξε πως η δεύτερη είναι μια επιλογή φθηνότερη, ταχύτερη και ασφαλέστερη όσον αφορά τις επιπτώσεις στον μεταβολισμό και τις μηχανικές βλάβες, ενώ τα κλινικά αποτελέσματα είναι εντυπωσιακά. Η αργή κατάψυξη φαίνεται να έδωσε χαμηλά ποσοστά επιβίωσης και εγκυμοσύνης, κάτι που ανέδειξε την υαλοποίηση, μια βιώσιμη επιλογή για τη διατήρηση της γονιμότητας. Το δίλημμα του ανοικτού και κλειστού συστήματος αλλά και τα πρακτικά προβλήματα που συνδέονται με τις διαδικασίες υαλοποίησης και θέρμανσης, διχάζει τους επιστήμονες, οι οποίοι αναζητούν αναδυόμενες τεχνικές, που μοναδικό στόχο έχουν τη βελτίωση, την πλήρη αυτοματοποίηση της μεθόδου της υαλοποίησης και την εισαγωγή της τεχνητής νοημοσύνης σε ό,τι μέχρι τώρα γινόταν χειρωνακτικά και ανθρωποεξαρτώμενα. Ο πρώτος επιτυχής ζωντανός τοκετός με θερμαινόμενα υαλοποιημένα ωάρια από το σύστημα GAVI™, ένα ημιαυτόματο σύστημα υαλοποίησης, ικανό να ελέγχει μεταβλητές υαλοποίησης που μέχρι τώρα ελέγχονταν χειρωνακτικά, είναι γεγονός. Παρά την προφανή ισοδυναμία αποτελεσμάτων *in vitro* με την μέθοδο CryoTop, σκοπός είναι η πλήρης αυτοματοποίηση και ο εκμηδενισμός του ανθρώπινου λάθους, στο βωμό της εξάλειψης της υπογονιμότητας.

Αναφορές

Ajmal, N., Khan, S.Z. and Shaikh, R., 2019. Polycystic ovary syndrome (PCOS) and genetic predisposition: A review article. *European journal of obstetrics & gynecology and reproductive biology*: X, 3, p.100060. <https://doi.org/10.1016/j.eurox.2019.100060>.

Alesi, L.R., Nguyen, Q.-N., Stringer, J.M., Winship, A.L. and Hutt, K.J., 2023. The future of fertility preservation for women treated with chemotherapy. *Reproduction and Fertility*, 4(2). <https://doi.org/10.1530/RAF-22-0123>.

Anderson, K., Nisenblat, V. and Norman, R., 2010. Lifestyle factors in people seeking infertility treatment - A review. *Australian and New Zealand Journal of Obstetrics and Gynaecology*, 50(1), pp.8–20. <https://doi.org/10.1111/j.1479-828X.2009.01119.x>.

Anon. 2013. Mature oocyte cryopreservation: a guideline. *Fertility and Sterility*, 99(1), pp.37–43. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2012.09.028>.

Arav, A. and Natan, Y., 2019. The Near Future of Vitrification of Oocytes and Embryos: Looking into Past Experience and Planning into the Future. *Transfusion medicine and hemotherapy: offizielles Organ der Deutschen Gesellschaft fur Transfusionsmedizin und Immunhamatologie*, 46(3), pp.182–187. <https://doi.org/10.1159/000497749>.

Argyle, C.E., Harper, J.C. and Davies, M.C., 2016. Oocyte cryopreservation: where are we now? *Human Reproduction Update*, 22(4), pp.440–449. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmw007>.

Bala, R., Singh, V., Rajender, S. and Singh, K., 2021. Environment, Lifestyle, and Female Infertility. *Reproductive Sciences*, 28(3), pp.617–638. <https://doi.org/10.1007/s43032-020-00279-3>.

Barbieri, R.L., 2019. Female Infertility. In: *Yen & Jaffe's Reproductive Endocrinology: Physiology, Pathophysiology, and Clinical Management: Eighth Edition*. Elsevier Inc. pp.556-581.e7. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-47912-7.00022-6>.

Bedenk, J., Vrtačnik-Bokal, E. and Virant-Klun, I., 2020. The role of anti-Müllerian hormone (AMH) in ovarian disease and infertility. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, 37(1), pp.89–100. <https://doi.org/10.1007/s10815-019-01622-7>.

Vander Borgh, M. and Wyns, C., 2018. Fertility and infertility: Definition and epidemiology. *Clinical Biochemistry*, 62, pp.2–10. <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2018.03.012>.

Brugo-Olmedo, S., Chillik, C. and Kopelman, S., 2001. Definition and causes of infertility. *Reproductive BioMedicine Online*, 2(1), pp.173–185. [https://doi.org/10.1016/S1472-6483\(10\)62193-1](https://doi.org/10.1016/S1472-6483(10)62193-1).

Brunetti, X.O., Cawood, S., Gaunt, M., Saab, W., Serhal, P. and Seshadri, S., 2021. The First Live-birth Using Warmed Oocytes by a Semi-Automated Vitrification Procedure. *Journal of reproduction & infertility*, 22(1), pp.70–72. <https://doi.org/10.18502/jri.v22i1.4998>.

Carson, S.A. and Kallen, A.N., 2021. Diagnosis and Management of Infertility: A Review. *JAMA*, 326(1), pp.65–76. <https://doi.org/10.1001/jama.2021.4788>.

Cedars, M.I., 2022. Evaluation of Female Fertility—AMH and Ovarian Reserve Testing. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 107(6), pp.1510–1519. <https://doi.org/10.1210/clinem/dgac039>.

- Chian, R.-C., Wang, Y. and Li, Y.-R., 2014. Oocyte vitrification: advances, progress and future goals. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, 31(4), pp.411–420. <https://doi.org/10.1007/s10815-014-0180-9>.
- Choussein, S. and Vlahos, N.F., 2012. Female Fertility Assessment. *Current Obstetrics and Gynecology Reports*, 1(4), pp.174–181. <https://doi.org/10.1007/s13669-012-0022-7>.
- Clark, N.A. and Swain, J.E., 2013. Oocyte cryopreservation: searching for novel improvement strategies. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, 30(7), pp.865–875. <https://doi.org/10.1007/s10815-013-0028-8>.
- Cobo, A., Coello, A., Remohí, J., Serrano, J., de los Santos, J.M. and Meseguer, M., 2017. Effect of oocyte vitrification on embryo quality: time-lapse analysis and morphokinetic evaluation. *Fertility and Sterility*, 108(3), pp.491-497.e3. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2017.06.024>.
- Cobo, A. and Diaz, C., 2011. Clinical application of oocyte vitrification: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Fertility and Sterility*, 96(2), pp.277–285. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2011.06.030>.
- Cobo, A., García-Velasco, J.A., Coello, A., Domingo, J., Pellicer, A. and Remohí, J., 2016. Oocyte vitrification as an efficient option for elective fertility preservation. *Fertility and Sterility*, [online] 105(3), pp.755-764.e8. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2015.11.027>.
- Cobo, A., García-Velasco, J.A., Remohí, J. and Pellicer, A., 2021. Oocyte vitrification for fertility preservation for both medical and nonmedical reasons. *Fertility and Sterility*, 115(5), pp.1091–1101. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2021.02.006>.
- Cobo, A., Remohí, J., Chang, C.-C. and Nagy, Z.P., 2011. Oocyte cryopreservation for donor egg banking. *Reproductive BioMedicine Online*, 23(3), pp.341–346. <https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2011.05.014>.
- Cobo, A., Serra, V., Garrido, N., Olmo, I., Pellicer, A. and Remohí, J., 2014. Obstetric and perinatal outcome of babies born from vitrified oocytes. *Fertility and Sterility*, 102(4), pp.1006-1015.e4. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2014.06.019>.
- Collée, J., Mawet, M., Tebache, L., Nisolle, M. and Brichant, G., 2021. Polycystic ovarian syndrome and infertility: overview and insights of the putative treatments. *Gynecological Endocrinology*, 37(10), pp.869–874. <https://doi.org/10.1080/09513590.2021.1958310>.
- Del-Pozo-Lerida, S., Salvador, C., Martínez-Soler, F., Tortosa, A., Perucho, M. and Giménez-Bonafant, P., 2019. Preservation of fertility in patients with cancer (Review). *Oncology Reports*. <https://doi.org/10.3892/or.2019.7063>.
- Edinoff, A.N., Silverblatt, N.S., Vervaeke, H.E., Horton, C.C., Girma, E., Kaye, A.D., Kaye, A., Kaye, J.S., Garcia, A.J., Neuchat, E.E., Eubanks, T.N., Varrassi, G., Viswanath, O. and Urits, I., 2021. Hyperprolactinemia, Clinical Considerations, and Infertility in Women on Antipsychotic Medications. *Psychopharmacology bulletin*, 51(2), pp.131–148.
- Glujovsky, D., Riestra, B., Sueldo, C., Fiszbajn, G., Repping, S., Nodar, F., Papier, S. and Ciapponi, A., 2014. Vitrification versus slow freezing for women undergoing oocyte cryopreservation. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD010047.pub2>.

- Han, E. and Seifer, D.B., 2023. Oocyte Cryopreservation for Medical and Planned Indications: A Practical Guide and Overview. *Journal of Clinical Medicine*, 12(10), p.3542. <https://doi.org/10.3390/jcm12103542>.
- Hart, R.J., 2016. Physiological Aspects of Female Fertility: Role of the Environment, Modern Lifestyle, and Genetics. *Physiological Reviews*, 96(3), pp.873–909. <https://doi.org/10.1152/physrev.00023.2015>.
- Holesh, J.E., Bass, A.N. and Lord, M., 2023. *Physiology, Ovulation*.
- Jeršovienė, V., Gudlevičienė, Ž., Rimienė, J. and Butkauskas, D., 2019. Human Papillomavirus and Infertility. *Medicina*, 55(7), p.377. <https://doi.org/10.3390/medicina55070377>.
- Kim, S.J., Kim, S.K., Lee, J.R., Suh, C.S. and Kim, S.H., 2020. Oocyte cryopreservation for fertility preservation in women with ovarian endometriosis. *Reproductive BioMedicine Online*, 40(6), pp.827–834. <https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2020.01.028>.
- Kuwayama, M., 2007. Highly efficient vitrification for cryopreservation of human oocytes and embryos: The Cryotop method. *Theriogenology*, 67(1), pp.73–80. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2006.09.014>.
- Lee, S.J., Schover, L.R., Partridge, A.H., Patrizio, P., Wallace, W.H., Hagerty, K., Beck, L.N., Brennan, L. V. and Oktay, K., 2006. American Society of Clinical Oncology Recommendations on Fertility Preservation in Cancer Patients. *Journal of Clinical Oncology*, 24(18), pp.2917–2931. <https://doi.org/10.1200/JCO.2006.06.5888>.
- Liu, K., Case, A., Cheung, A.P., Sierra, S., AlAsiri, S., Carranza-Mamane, B., Case, A., Dwyer, C., Graham, J., Havelock, J., Hemmings, R., Lee, F., Liu, K., Murdock, W., Senikas, V., Vause, T.D.R. and Wong, B.C.-M., 2012. Advanced Reproductive Age and Fertility. *International Journal of Gynecology & Obstetrics*, 117(1), pp.95–102. <https://doi.org/10.1016/j.ijgo.2011.11.002>.
- Moghadam, A.R.E., Moghadam, M.T., Hemadi, M. and Saki, G., 2021. Oocyte quality and aging. *JBRA Assisted Reproduction*. <https://doi.org/10.5935/1518-0557.20210026>.
- Moolhuijsen, L.M.E. and Visser, J.A., 2020. Anti-Müllerian Hormone and Ovarian Reserve: Update on Assessing Ovarian Function. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 105(11), pp.3361–3373. <https://doi.org/10.1210/clinem/dgaa513>.
- Morice, P., 1995. History of infertility. *Human Reproduction Update*, 1(5), pp.497–504. <https://doi.org/10.1093/humupd/1.5.497>.
- De Munck, N. and Vajta, G., 2017. Safety and efficiency of oocyte vitrification. *Cryobiology*, [online] 78, pp.119–127. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.cryobiol.2017.07.009>.
- Ozcan Dag, Z. and Dilbaz, B., 2015. Impact of obesity on infertility in women. *Journal of the Turkish German Gynecological Association*, 16(2), pp.111–117. <https://doi.org/10.5152/jtgga.2015.15232>.
- Ozkan, S., Murk, W. and Arici, A., 2008. *Endometriosis and Infertility*. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1127(1), pp.92–100. <https://doi.org/10.1196/annals.1434.007>.
- Patrizio, P., Molinari, E. and Caplan, A., 2016. Ethics of medical and nonmedical oocyte cryopreservation. *Current Opinion in Endocrinology, Diabetes and Obesity*, [online] 23(6). Available at: <https://journals.lww.com/co-endocrinology/Fulltext/2016/12000/Ethics_of_medical_and_non-medical_oocyte.10.aspx>.

- Punzón-Jiménez, P. and Labarta, E., 2021a. The impact of the female genital tract microbiome in women health and reproduction: a review. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, 38(10), pp.2519–2541. <https://doi.org/10.1007/s10815-021-02247-5>.
- Punzón-Jiménez, P. and Labarta, E., 2021b. The impact of the female genital tract microbiome in women health and reproduction: a review. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, 38(10), pp.2519–2541. <https://doi.org/10.1007/s10815-021-02247-5>.
- Rienzi, L., Gracia, C., Maggiulli, R., LaBarbera, A.R., Kaser, D.J., Ubaldi, F.M., Vanderpoel, S. and Racowsky, C., 2016. Oocyte, embryo and blastocyst cryopreservation in ART: systematic review and meta-analysis comparing slow-freezing versus vitrification to produce evidence for the development of global guidance. *Human Reproduction Update*. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmw038>.
- Rosewell, K.L. and Curry, T.E., 2018. Reproductive Senescence in the Female. In: *Encyclopedia of Reproduction*. Elsevier. pp.250–254. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801238-3.64649-4>.
- Roupa, Z., Polikandrioti, M., Sotiropoulou, P., Faros, E., Koulouri, A., Wozniak, G. and Gourni, M., 2009. Causes of infertility in women at reproductive age. *Health Science Journal*, 3, pp.80–87.
- Roy, T.K., Brandi, S. and Peura, T.T., 2017. Chapter 20 Gavi-Automated Vitrification Instrument. pp.261–277. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-6828-2_20.
- Sharma, R., Biedenharn, K.R., Fedor, J.M. and Agarwal, A., 2013. Lifestyle factors and reproductive health: taking control of your fertility. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 11(1), p.66. <https://doi.org/10.1186/1477-7827-11-66>.
- Sharma, R.S., Saxena, R. and Singh, R., 2018. Infertility & assisted reproduction: A historical & modern scientific perspective. *The Indian journal of medical research*, 148(Suppl), pp.S10–S14. https://doi.org/10.4103/ijmr.IJMR_636_18.
- Simopoulou, M., Sfakianoudis, K., Bakas, P., Giannelou, P., Papapetrou, C., Kalampokas, T., Rapani, A., Chatzaki, E., Lambropoulou, M., Lourida, C., Deligeoroglou, E., Pantos, K. and Koutsilieris, M., 2018. Postponing Pregnancy Through Oocyte Cryopreservation for Social Reasons: Considerations Regarding Clinical Practice and the Socio-Psychological and Bioethical Issues Involved. *Medicina*, 54(5), p.76. <https://doi.org/10.3390/medicina54050076>.
- Skoracka, K., Ratajczak, A.E., Rychter, A.M., Dobrowolska, A. and Krela-Kaźmierczak, I., 2021. Female Fertility and the Nutritional Approach: The Most Essential Aspects. *Advances in Nutrition*, 12(6), pp.2372–2386. <https://doi.org/10.1093/advances/nmab068>.
- Smith, G.D., Serafini, P.C., Fioravanti, J., Yadid, I., Coslovsky, M., Hassun, P., Alegretti, J.R. and Motta, E.L., 2010. Prospective randomized comparison of human oocyte cryopreservation with slow-rate freezing or vitrification. *Fertility and Sterility*, 94(6), pp.2088–2095. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2009.12.065>.
- Spears, N., Lopes, F., Stefansdottir, A., Rossi, V., De Felici, M., Anderson, R.A. and Klinger, F.G., 2019. Ovarian damage from chemotherapy and current approaches to its protection. *Human Reproduction Update*, 25(6), pp.673–693. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmz027>.
- Spey, I., Kaina, H.T. and By A Whitelaw, E.W., 2004a. *HISTORY OF MEDICINE DAYS FACULTY OF MEDICINE THE UNIVERSITY OF CALGARY*. [online] Available at: <<https://citeseerx.ist.psu.edu/document?repid=rep1&type=pdf&doi=cfdf7967ac9d1ebd3072f8bfdb476ddc0bdefd1d#page=390>>.

Spey, I., Kaina, H.T. and By A Whitelaw, E.W., 2004b. *HISTORY OF MEDICINE DAYS FACULTY OF MEDICINE THE UNIVERSITY OF CALGARY ANIΣTATE TA APXAIA Contents*. [online] Available at: <<https://citeseerx.ist.psu.edu/document?repid=rep1&type=pdf&doi=cdf7967ac9d1ebd3072f8bfdb476ddc0bdefd1d#page=390>> [Accessed 22 April 2023].

Stamatiades, G.A. and Kaiser, U.B., 2018. Gonadotropin regulation by pulsatile GnRH: Signaling and gene expression. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 463, pp.131–141. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2017.10.015>.

Sudha, G. and Reddy, K.S.N., 2013. *CAUSES OF FEMALE INFERTILITY: A CROSS-SECTIONAL STUDY*. [online] *International Journal of Latest Research in Science and Technology*. Available at: <<http://www.mnkjournals.com/ijlrst.htm>>.

Vitale, S.G., Ferrari, F., Ciebiera, M., Zgliczyńska, M., Rapisarda, A.M.C., Vecchio, G.M., Pino, A., Angelico, G., Knafel, A., Riemma, G., De Franciscis, P. and Cianci, S., 2021. The Role of Genital Tract Microbiome in Fertility: A Systematic Review. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(1), p.180. <https://doi.org/10.3390/ijms23010180>.

Zegers-Hochschild, F., Adamson, G.D., Dyer, S., Racowsky, C., de Mouzon, J., Sokol, R., Rienzi, L., Sunde, A., Schmidt, L., Cooke, I.D., Simpson, J.L. and van der Poel, S., 2017. The International Glossary on Infertility and Fertility Care, 2017. *Fertility and Sterility*, 108(3), pp.393–406. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2017.06.005>.

Abigail Delaney, M.J.R.J.M. and D.M.P., 2012. Fertility Testing How Laboratory Tests Contribute to Successful Infertility Treatments? [online] Available at: <<https://www.aacc.org/cfn/articles/2012/november/fertility-testing#ref>> [Accessed 20 July 2023].

Σύριος Π., 2023. Σε ποιες περιπτώσεις ενδείκνυται η κρυοσυντήρηση ωαρίων και ποια είναι η καταλληλότερη στιγμή; [online] Available at: <<https://www.linkedin.com/feed/update/urn:li:activity:7074308716216356864/>> [Accessed 7 July 2023].

