

**ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ**

**ΕΙΣΑΓΩΓΗ**

**ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1**

**1. ΑΝΔΡΙΚΟ ΚΑΙ ΓΥΝΑΙΚΕΙΟ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ**

* 1. **Ιστορική αναδρομή**
  2. **Ανάπτυξη του υποθάλαμου και της υπόφυσης**
  3. **Σεξουαλική διαφοροποίηση του αναπαραγωγικού συστήματος**
  4. **Ανάπτυξη των όρχεων**
  5. **Το αναπαραγωγικό σύστημα του άνδρα**
  6. **Ρύθμιση λειτουργίας των όρχεων**
  7. **Ανάπτυξη των ωοθηκών**
  8. **Το αναπαραγωγικό σύστημα της γυναίκας**
  9. **Ρύθμιση λειτουργίας των ωοθηκών**

**ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2**

**2. ΑΝΔΡΙΚΗ ΚΑΙ ΓΥΝΑΙΚΕΙΑ ΥΠΟΓΟΝΙΜΟΤΗΤΑ**

**2.1 Εισαγωγή  
2.2 Ανδρική υπογονιμότητα  
 2.2.1 Χρωμοσωμικές διαταραχές ανδρικής υπογονιμότητας  
 2.2.2 Μη χρωμοσωμικές αιτίες ανδρικής υπογονιμότητας  
2.3 Γυναικεία υπογονιμότητα  
2.4 Σχέση της υπογονιμότητας με το στρες  
2.5 Αξιολόγηση της υπογονιμότητας  
 2.5.1 Διάγνωση ανδρικής υπογονιμότητας  
 2.5.2 Διάγνωση γυναικείας υπογονιμότητας**

**ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3**

**3. ΣΤΑΔΙΑ ΚΑΙ ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΕΞΩΣΩΜΑΤΙΚΗΣ ΓΟΝΙΜΟΠΟΙΗΣΗΣ**

**3.1 Ιστορική αναδρομή  
3.2 Προκαταρκτικές Εξετάσεις  
3.3 Πρόκληση Ωοθηκικής Διέγερσης, (COS)  
 3.3.1 Ορμονικοί βιοδείκτες : ΑΜΗ  
 3.3.2 Λειτουργικοί Βιοδείκτες: Δείκτης Μέτρησης Ώριμων Ωοθυλακίων, (AFC)  
 3.3.3 Γενετικοί βιοδείκτες  
 3.3.4 Φάρμακα για την επαγωγή των γοναδοτροπινών  
 3.3.5 Πρωτόκολλα διέγερσης  
 3.3.5.α Φυσικός Κύκλος IVF  
 3.3.5.β Μακρύ Πρωτόκολλο αγωνιστή GnRH   
 3.3.5.γ Η χρήση από του στόματος αντισυλληπτικών (OC) πριν από την   
 χορήγηση GnRH-a.  
 3.3.5.δ Σύντομο (βραχύ) πρωτόκολλο  
 3.3.5.ε Διέγερση των ωοθηκών χρησιμοποιώντας ανταγωνιστές GnRH  
 3.3.5.ζ Ελάχιστο πρωτόκολλο διέγερσης με χρήση κιτρικού κλομιφαίνιου   
 CC και συνδυασμό γοναδοτροπίνης  
 3.3.5.η Κριτήρια για την επιλογή πρωτοκόλλου  
3.4 Παρακολούθηση ωοθυλακιορρηξίας  
3.5 Ωοληψία  
3.6 Ενδομήτρια σπερματέγχυση  
3.7 Εξωσωματική ωρίμανση ωαρίων, IVM  
3.8 Σπερμοληψία  
3.9 Γονιμοποίηση και Προεμφυτευτική Ανάπτυξη Εμβρύων  
3.10 Ενδοκυτταροπλασματική Έγχυση Σπέρματος (ICSI)  
3.11 Εμβρυομεταφορά (ΕΤ)  
3.12 Εμφύτευση βλαστοκύστης στη μήτρα   
3.13 Εγκυμοσύνη μετά από εξωσωματική γονιμοποίηση  
3.14 Kλινικοί παράγοντες που επηρεάζουν το επιτυχημένο ποσοστό εγκυμοσύνης**

**ΕΙΣΑΓΩΓΗ**

Υπογονιμότητα ορίζεται ως η αδυναμία σύλληψης μετά από μια περίοδο 12 μηνών ελεύθερης επαφής με τον ίδιο σύντροφο. Η πιθανότητα επίτευξης μιας εγκυμοσύνης εντός ενός εμμηνορροϊκού κύκλου είναι 20% ([Evers 2002](#_ENREF_65)). Η υπογονιμότητα επηρεάζει το 15-20 % των ζευγαρίων που προσπαθούν να συλλάβουν ([Allersma, Farquhar et al. 2013](#_ENREF_13)).

Οι αιτίες της υπογονιμότητας μπορούν να χωριστούν γενικά σε υπογονιμότητα των γυναικών και των ανδρών. Οι θηλυκοί παράγοντες περιλαμβάνουν αποκλεισμένους ή κατεστραμμένους φαλλοπιανούς σωλήνες, ενδομητρίωση, αποτυχία ωορρηξίας, ινομυώματα και εχθρική βλέννα του τραχήλου της μήτρας. Η υπογονιμότητα του ανδρικού παράγοντα μπορεί να οφείλεται στην αποτυχία της παραγωγής σπέρματος, στη χαμηλή κινητικότητα του σπέρματος και / ή στην παραγωγή αντισωμάτων στα σπερματοζωάρια. Η επιλογή για την θεραπεία της υπογονιμότητας καθορίζεται από την αιτία αυτής και των χαρακτηριστικών του ασθενούς. Μπορεί να είναι μια σχετικά απλή θεραπεία, όπως η φαρμακολογική διέγερση των ωοθηκών με τη χρήση διαφόρων φαρμάκων, ή μπορεί να απαιτεί προηγμένες τεχνικές υποβοηθούμενης αναπαραγωγής ([Hull, Glazener et al. 1985](#_ENREF_92)).

Η εξωσωματική γονιμοποίηση πήρε το όνομά της από το γεγονός ότι η γονιμοποίηση λαμβάνει χώρα έξω από το σώμα της γυναίκας σε ένα "γυάλινο σωλήνα". Η αρχή της εξωσωματικής γονιμοποίησης (IVF) ήταν ένα εμπνευσμένο γεγονός.  Η διαδικασία εισήχθη για πρώτη φορά για τη θεραπεία της διμερούς απόφραξης σαλπίγγων όταν άλλες θεραπευτικές αγωγές απέτυχαν. Η Lesley Brown και ο σύζυγός της John, από την πόλη του Μπρίστολ στο Ηνωμένο Βασίλειο, δεν κατάφεραν να συλλάβουν φυσικά καθ 'όλη τη διάρκεια των εννέα ετών του συνεχιζόμενου γάμου τους .Ο Δρ Patrick Christopher Steptoe, γυναικολόγος στο γενικό νοσοκομείο του Όλντχαμ, στο Μάντσεστερ, την συμβούλευσε να δοκιμάσει μια νέα πειραματική τεχνική για να παρακάμψει το σαλπιγγική απόφραξη από την οποία έπασχε. Κατά συνέπεια, η Lesley υποβλήθηκε σε λαπαροσκοπική ανάκτηση ωαρίων κατά τη διάρκεια ενός φυσικού μη διεγερμένου κύκλου ωορρηξίας. Ο κ. Robert Geoffrey Edwards, ένας βρετανός βιολόγος, χρησιμοποίησε το σπέρμα του συζύγου της για να γονιμοποιήσει το ανακτώμενο ωάριο στο εργαστήριο. Λίγες μέρες αργότερα, ένα έμβρυο σταδίου 8 κυττάρων τοποθετήθηκε εντός της μήτρας της Lesley . Στις 25 Ιουλίου 1978, η Λουίζ Μπράουν, το πρώτο μωρό στον κόσμο που σχεδιάστηκε εκτός του ανθρώπινου σώματος, γεννήθηκε σε ηλικία κύησης 38 εβδομάδων και 5 ημερών λόγω της σύμπτωσης μητρικής προεκλαμψίας. Η Louise ήταν υγιής κατά τη γέννηση και το βάρος της ήταν 2700 γραμμάρια ([Kamel 2013](#_ENREF_103)).

Με τη γέννηση της Louise Brown, ο κόσμος γιόρτασε την έναρξη μιας νέας εποχής υποβοηθούμενης ανθρώπινης αναπαραγωγικής τεχνολογίας. Από τότε, η εξωσωματική γονιμοποίηση έχει γίνει μια κοινή διαδικασία με ιστορικό περισσότερων από 5 εκατομμυρίων γεννήσεων παγκοσμίως. Τα επόμενα χρόνια έχουν επιφέρει ταχεία πρόοδο που επιτρέπει σε περισσότερα στείρα ζευγάρια να έχουν τα δικά τους μωρά. Επί του παρόντος, η εξωσωματική γονιμοποίηση εκτελείται όχι μόνο για την υπογονιμότητα των σαλπίγγων, αλλά και για την ανεξήγητη υπογονιμότητα του ανδρικού παράγοντα, την ενδομητρίωση και τις διαταραχές ωορρηξίας ([Gunby, Bissonnette et al. 2010](#_ENREF_76), [Kamel 2013](#_ENREF_103)).

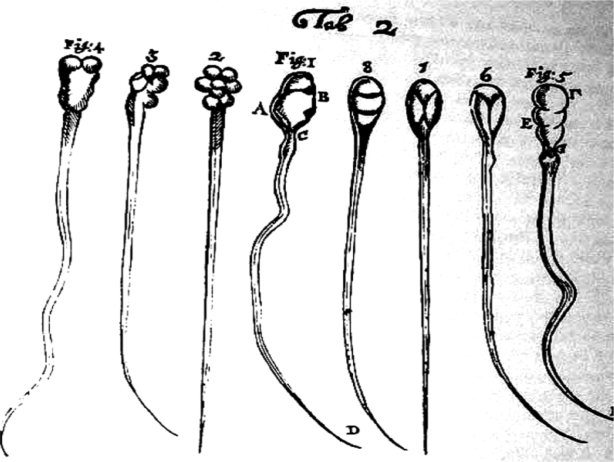
**ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1**

**ΑΝΔΡΙΚΟ ΚΑΙ ΓΥΝΑΙΚΕΙΟ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ**

**1.1 Ιστορική αναδρομή**

Η διαδικασία της αναπαραγωγής έχει συναρπάσει την ανθρωπότητα από τα αρχαία ακόμη χρόνια, είτε από φιλοσοφικές, είτε από επιστημονικές αναζητήσεις. Ο Αριστοτέλης αφιέρωσε πολύ χρόνο ώστε να μελετήσει την διαδικασία της αναπαραγωγής και ο William Harvey (1578-1657) διενήργησε απαιτητικές δοκιμές στο κοπάδι των ελαφιών του βασιλία, γράφοντας και μια σημαντική διατριβή για το θέμα («De generatione animalium»,1651). Το έργο του William Harvey θεωρείται από τους ιστορικούς της επιστήμης ως το όριο μεταξύ της πρώιμης εποχής που στηριζόταν σε μεγάλο βαθμό στη λαογραφία, τη δεισιδαιμονία και την περιστασιακή παρατήρηση και της μετέπειτα εποχής όπου οι πιο απαιτητικές παρατηρήσεις της φύσης και ο πειραματισμός έγιναν ο τρόπος λειτουργίας πολλών φιλοσόφων και επιστημών ([Clarke 2006](#_ENREF_43)).

Ένας από τους πρώτους μικροσκόπους ήταν ο Antonj van Leeuwenhoek (1632-1723), ο οποίος και πραγματοποίησε αυστηρές μελέτες για τα ανθρώπινα σπερματοζωάρια. Το 1677 παρέδωσε τις παρατηρήσεις του σε επιστολή προς την Βασιλική Εταιρεία, η οποία τελικά δημοσιεύθηκε στις Φιλοσοφικές Συναλλαγές το 1679 ([Clarke 2006](#_ENREF_43)).



***Εικόνα. Σχέδια σπερματοζωαρίων του Van Leeuwenhoek (***[***Clarke 2006***](#_ENREF_43)***)***

Εξετάζοντας αναδρομικά τα επιχειρήματα σχετικά με τον ρόλο των σπερματοζωαρίων, είναι εκπληκτικά τα συμπεράσματα που βγαίνουν, όμως είναι σημαντικό να θυμόμαστε ότι η ανακάλυψη του θηλαστικού ωοκυττάρου δεν είχε αναφερθεί μέχρι το 1827 από τον Carl Ernst von Baer, ενώ ο Edouard van Beneden παρατήρησε για πρώτη φορά γονιμοποίηση στα θηλαστικά το 1875 . Συνεπώς, πολλοί επιστήμονες μέχρι το 1850 συνέχισαν να θεωρούν τα σπερματοζωάρια ως παράσιτα (το όνομα σπερματοζωάρια χρησιμοποιήθηκε για πρώτη φορά από τον von Baer το 1827 και προφανώς αντικατοπτρίζει αυτή την άποψη) ([Clarke 2006](#_ENREF_43)).

Οι έρευνες του Ελβετού επιστήμονα Albert von Kolliker (1841) ήταν ζωτικής σημασίας για την απόδειξη ότι τα σπερματοζωάρια δεν ήταν παράσιτα αλλά κινητικά αυτόλογα κύτταρα τα οποία αναπτύχθηκαν από τα ορχικά κύτταρα με τη διαδικασία της ιστογένεσης. Με βάση αυτό, το σπέρμα ήταν οργανωμένο μέρος του σπερματικού υγρού. Ακόμα και τότε ο ακριβής ρόλος των σπερματοζωαρίων στη δημιουργία ήταν αμφιλεγόμενος και για πολλά χρόνια παρέμεινε έτσι, μαζί με το ερώτημα κατά πόσον το έμβρυο είναι προδημιουργούμενο μέσα στον οργανισμό του άρρενος ή του θήλεος. Εκείνοι οι οποίοι ήταν υπέρμαχοι των ωαρίων υποστήριζαν ότι το προδημιουργούμενο γεννητικό υλικό ή έμβρυο, προέρχοταν από το θήλυ, ενώ άλλοι έλεγαν ότι προέρχοταν από την σπερματική συνεισφορά ([Clarke 2006](#_ENREF_43)).

Στις αρχές του 19ου αιώνα, ο ελβετός ιατρός Jean-Louis Prevost και ο γάλλος επιστήμονας Jean-Baptiste Dumas πραγματοποίησαν εξαντλητικές συγκριτικές έρευνες που έδειξαν ότι τα σπερματοζωάρια ήταν παρόντα στους όρχεις πολλών διαφορετικών ζώων και κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι τα σπερματοζωάρια πρέπει να παράγονται στους όρχεις. Τα περισσότερα από τα ερευνητικά τους έργα δημοσιεύθηκαν στην Annales des Sciences Naturelles κατά την περίοδο 1821-30. Σε αντίθεση με τη γενικώς αποδεκτή άποψη, ισχυρίστηκαν ότι τα σπερματοζωάρια δεν ήταν παράσιτα αλλά αντ 'αυτού ήταν το αποτέλεσμα μιας πραγματικής εκκριτικής δράσης και της ενεργού αρχής της γονιμοποίησης ([Clarke 2006](#_ENREF_43)).

Η τελική επιβεβαίωση της ανάγκης για σύντηξη σπερματοζωαρίων-ωοκυττάρων κατά τη σεξουαλική αναπαραγωγή ήταν το αποτέλεσμα βασικών παρατηρήσεων σε πολλά είδη για αρκετές δεκαετίες. Ο George Newport (1853) και στη συνέχεια οι Edouard van Beneden (1875) και Oscar Hertwig (1876) ανέφεραν τις αντίστοιχες παρατηρήσεις τους για τη γονιμοποίηση των θηλαστικών. Επιπλέον, ο Edouard van Beneden (1879) περιέγραψε τη μείωση του αριθμού των χρωμοσωμάτων στους γαμετοί του παράσιτου Ascaris και στη συνέχεια πρότεινε ότι το χρωμόσωμα πρέπει να είναι το φυσικό όχημα της κληρονομικότητας (1883) ([Clarke 2006](#_ENREF_43)).

Όσον αφορά την ανακάλυψη των ωοκυττάρων, σύμφωνα με τον Short (1977) , ο Σοράνος ο Εφέσσιος (περίπου 50 μ.Χ.) ήταν ο πρώτος ανατόμος που δημοσίευσε μια λεπτομερή περιγραφή των ωοθηκών. Η πρώτη έγκυρη περιγραφή των θυλακίων των ωοθηκών και του ωχρού σωματίου έγινε από τον Vesalius το 1555, ενώ ο μαθητής του Fallopius περιέγραψε τις σάλπιγγες (φαλοπιανοί σωλήνες) το 1562 και έκανε περαιτέρω παρατηρήσεις σχετικά με τις ωοθήκες. Ο Fabricius μελέτησε μαζί με τον Fallopius και στη συνέχεια έγινε σπουδαίος ανατόμος ενώ δημοσίευσε μία θαυμάσια γραφή (‘De Formatio Foetus’, 1604) για τη συγκριτική ανατομία της γυναικείας αναπαραγωγικής οδού. Ο Fabricius με τη σειρά του ήταν καθηγητής του William Harvey, ο οποίος δημοσίευσε τα αποτελέσματα των μελετών του στην αναπαραγωγή το 1651 σ’ ένα σύγγραμμα ‘De Generatione Animalium’, πιστεύοντας όμως λανθασμένα ότι το ωοκύτταρο ήταν το προϊόν της σύλληψης, γιατί δεν μπόρεσε να βρει καμία απόδειξη ότι οι ωοθήκες έπαιζαν σημαντικό ρόλο στην αναπαραγωγή. Το 1667, ο Niels Stensen πρότεινε ότι οι «θηλυκοί όρχεις» περιείχαν ωοκύτταρα και ήταν ανάλογοι με τις ωοθήκες ζώων. Ένας ακόμη σημαντικός μελετητής ήταν ο Ολλανδός, Regnier de Graaf,που έδωσε την πρώτη λεπτομερή περιγραφή για το ωχρό σωμάτιο και μετά τον οποίο κατονομάζονται τα ωοθυλάκια Graafian (γρααφιανά) ([Clarke 2006](#_ENREF_43)).

Ο Carl Ernst von Baer, ​​ένας από τους καλύτερους εμβρυολόγους, το 1826 ταυτοποίησε το ωοκύτταρο των θηλαστικών κατά τη διάρκεια των μελετών του για τις ωοθήκες μιας σκύλας και η ανακάλυψή του αυτή αναφέρθηκε στην κλασική μονογραφία του 1827, «De ovi mammalium et homonis genesi» που δημοσιεύτηκε στη Λειψία. Μέσα από εξαντλητικές συγκριτικές μελέτες, ταξινόμησε τα αρχικά στάδια της εμβρυϊκής ανάπτυξης και με αυτόν τον τρόπο έθεσε σταθερές βάσεις για τους επόμενους ερευνητές ώστε να τα ενσωματώσουν στην κυτταρική θεωρία των Mathias Schleiden και Theodor Schwann το 1838 ([Clarke 2006](#_ENREF_43)).

**1.2 Ανάπτυξη του υποθάλαμου και της υπόφυσης**

Η ανάπτυξη των ανατομικών και φυσιολογικών χαρακτηριστικών του αρσενικού και θηλυκού αναπαραγωγικού συστήματος μπορεί να διαιρεθεί σε διάφορα τμήματα ανάλογα με το στάδιο ανάπτυξης. Η κατάληλη προγεννητική διαφοροποίηση του ωοθηκικού και του ορχικού ιστού είναι κρίσιμης σημασίας για τις μεταγεννητικές και προεφηβικές αλλαγές που οδηγούν τελικά στην αναπαραγωγική λειτουργία και γονιμότητα των ενηλίκων μετά την εφηβεία. Στην ενήλικη ζώη, η γαμετογένεση και η στεροειδογένεση στα δυο φύλα ελέγχονται από τον άξονα υποθάλαμος – υπόφυση – γονάδα (ΥΥΓ), ο οποίος υφίσταται ωρίμανση. Στον άνθρωπο, η υπόφυση αποτελείται από δυο λοβούς. Η πρότερη υπόφυση σχηματίζεται εμβρυικά ως μια αποκοπή του στοματικού εξωδέρματος που ονομάζεται θύλακας Rathke και ο πρόσθιος λοβός σχηματίζεται από μία κοιλιακή προβολή ενός εσωτερικού κεντρικού τμήματος του εγκεφάλου (diencephalon). Και οι δυο αυτές υποτυπώδης δομές είναι εμφανείς από την 4η ή 5η εβδομάδα της ανθρώπινης εμβρυικής ζωής. Οι αυτοκρινείς και οι παρακρινείς δραστηριότητες που περιλαμβάνουν το παρακείμενο εξώδερμα και τον νευρικό ιστό, αποτελούν την πρώτη διαφοροποίηση αυτών των περιοχών ([Cummings and Kavlock 2004](#_ENREF_48)).

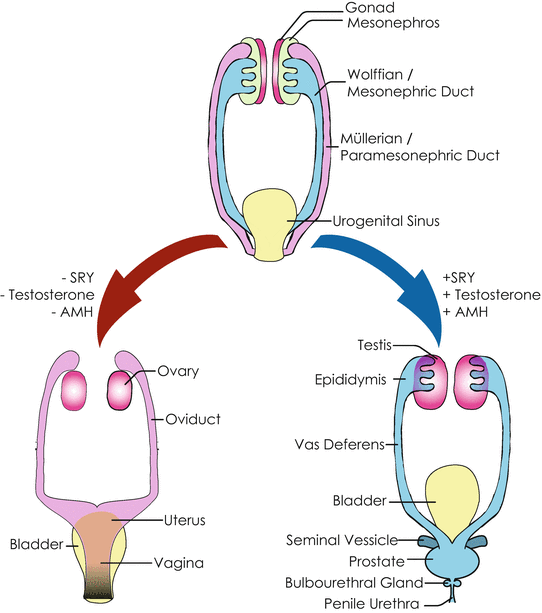
Επίσης στην πρώιμη εμβρυική ζωή, το σύστημα υποθάλαμος-υπόφυση υπόκειται διαφοροποίηση μέσω μιας δυνατότητας για ενδοκρινή λειτουργία. Οι γοναδοτροπικές ορμόνες, ωχρινοτρόπος ορμόνη (LH) και η θυλακιοτρόπος ορμόνη (FSH), παράγονται στην ανθρώπινη πρότερη υπόφυση αρκετά νωρίς, στην 5η εβδομάδα της κυοφορίας. Η εκλυτική γοναδοτροπίνη (GnRH), είναι παρούσα στον αναπτυσσόμενο υποθάλαμο περίπου το ίδιο διάστημα. Η δράση αυτών των ορμονών στην προγεννητική υπόφυση, συμβαίνει μόνο μετά τον σχηματισμό των πυλαίων φλεβών, μέσα από τις οποίες μεταφέρονται ([Cummings and Kavlock 2004](#_ENREF_48)). Καθώς η δυνητική γονάδα αρχίζει να παράγει ορμόνες, παράλληλα με την ανάπτυξη του εμβρύου, αλληλεπιδράσεις και αμοιβαία ανάπτυξη πραγματοποιούνται μεταξύ των γονάδων του κάθε φύλου και του υποθαλαμο-υποφυσιακού άξονα. Παρόλο που τα κύτταρα Leydig διαφοροποιούνται στο άρρεν έμβρυο κατά την 7η με 8η εβδομάδα κυοφορίας και αρχίζουν να παράγουν ανδρογόνα υπό τον έλεγχο της χοριακής γοναδοτροπίνης (hCG), η νωρίτερη κορύφωση της τεστοστερόνης πραγματοποιείται μετά από 12 εβδομάδες ([Marty, Chapin et al. 2003](#_ENREF_131)). Στο θηλυκό έμβρυο, τα οιστρογόνα εμφανίζονται από τη 10η έως τη 14η εβδομάδα, όμως δεν φτάνουν στα ανώτατα επίπεδα πριν τις 20 εβδομάδες. Η κορύφωση της παραγωγής οιστρογόνων, ακολουθεί τα ανώτατα επίπεδα συγκέντρωσης της υποθαλαμικής GnRH και των υποφυσιακών γοναδοτροπινών FSH και LH. Στη συνέχεια, μια αρνητική ανατροφοδότηση των οιστρογόνων, οδηγεί σε καταστολή του υποθάλαμου και της υπόφυσης και έτσι παρατηρούμε έως το τέλος της κύησης μια ελάττωση των επιπέδων σύνθεσης των υποφυσιακών γοναδοτροπινών ([Cummings and Kavlock 2004](#_ENREF_48)). Υπάρχει ένας προγεννητικός «προγραμματισμός» του θηλυκού υποθάλαμου που προωθεί την ικανότητα ενός οργάνου να απαντά στην σταδιακή αύξηση των επιπέδων των οιστρογόνων. Η ικανότητα αυτή επιτρέπει την ενεργοποίηση της αύξησης της LH, η οποία είναι απαραίτητη για την ανάπτυξη των ωοθηκών, όμως όλα αυτά δεν θα συμβούν μέχρι πρίν την εφηβεία και τη πλήρη ωρίμανση του συστήματος. Στους άρρενες, είναι απαραίτητη η νεογνική έκθεση του υποθάλαμου στα ανδρογόνα, ώστε να επιτευχθεί η σεξουαλική διαφοροποίηση του εκλυτικού μηχανισμού της LH, επιτρέποντας την έκκριση της LH να τροποποιηθεί είτε από τα ανδρογόνα είτε από τα οιστρογόνα ([Cummings and Kavlock 2004](#_ENREF_48)).

An external file that holds a picture, illustration, etc.
Object name is nihms508207f3.jpg

***Εικόνα. Νευροενδοκρινικός έλεγχος της λειτουργίας της υπόφυσης και των γονάδων (***[***Matzuk and Lamb 2008***](#_ENREF_133)***)***(https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3786590/bin/nihms508207f3.jpg)

**1.3 Σεξουαλική διαφοροποίηση του αναπαραγωγικού συστήματος**

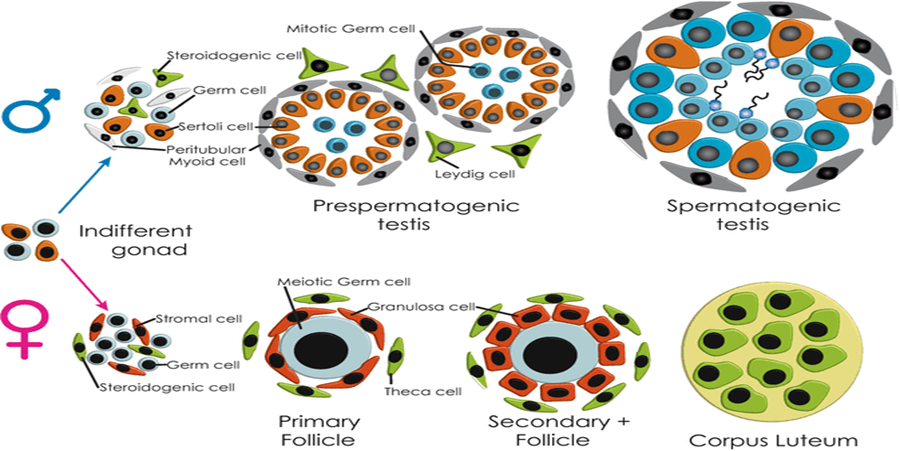
Η σεξουαλική διαφοροποίηση αποτελείται από τη ρύθμιση της ανάπτυξης του φύλου της γονάδας και περιλαμβάνει τα γεγονότα που επακολουθούν της γοναδικής οργανογένεσης. Οι διαδικασίες αυτές ελέγχονται από τουλάχιστον 70 διαφορετικά γονίδια, τα οποία βρίσκονται πάνω στα φυλετικά και αυτοσωμικά χρωμοσώματα. Αυτά τα γονίδια δρούν μέσω μιας ποικιλίας μηχανισμών που συμπεριλαμβάνουν γοναδικά στεροειδή, πεπτιδικές ορμόνες και ιστικούς υποδοχείς ([Cummings and Kavlock 2004](#_ENREF_48)).



***Εικόνα. Ανάπτυξη της αδιαφοροποίητης γονάδας.*** ***Το πρώιμο έμβρυο έχει ένα δυνητικό ουρογεννητικό σύστημα ( κορυφαίο διάγραμμα ) που μπορεί να προχωρήσει προς μια θηλυκή ( αριστερά ) ή αρσενική ( δεξιά ) μοίρα. (***[***Pask 2016***](#_ENREF_166)***)***

Τα αρχέγονα γεννητικά κύτταρα (PGC), οι εμβρυϊκοί πρόδρομοι των ενήλικων γαμετών, προέρχονται από μια πάχυνση του κοιλωματικού επιθηλίου που υπέρκειται ενός μεσοδερματικού βλαστήματος που ονομάζεται γεννητική ταινία (genital ridge) στην έσω κοιλιακή όψη του μεσονέφρου, την 34η μέρα του εμβρύου,η οποία αναπτύσσεται μέσω διαφόρων σημάτων που δίνονται τόσο από τις εμβρυονικές μορφογενετικές πρωτείνες ΒΜΡ4 και 8b, προερχόμενες από το εξω-εμβρυονικό εξώδερμα, όσο και από την ενδο-εμβρυική πρωτείνη ΒΜΡ2 ([Oktem and Oktay 2008](#_ENREF_154)). Σε αυτό το στάδιο, η γονάδα είναι πανομοιότυπη στη δομή μεταξύ αρσενικών και θηλυκών και αποτελείται κυρίως από σωματικά κύτταρα μαζί με τα γεννητικά κύτταρα που μεταναστεύουν από τους περιβάλλοντες ιστούς. Τα σωματικά κύτταρα θα συνεισφέρουν στις παραγόμενες κυτταρικές σειρές, ενώ τα γεννητικά κύτταρα θα σχηματίσουν τους γαμέτες ([Hubertus, Lacher et al. 2011](#_ENREF_91)).

Το γονίδιο SRY, το οποίο συνδέεται με το Υ χρωμόσωμα, παίζει κυρίαρχο ρόλο για τη διαφοροποίηση των όρχεων, ξεκινώντας από τη διαφοροποίηση των κυττάρων Sertoli ([Koopman, Munsterberg et al. 1990](#_ENREF_108), [Rossi, Dolci et al. 1993](#_ENREF_183)). Οι μοριακοί μηχανισμοί με τους οποίους το SRY πυροδοτεί την ανάπτυξη των όρχεων είναι άγνωστοι. Επιπλέον του γονιδίου SRY, έχει αναγνωριστεί ένας μεγάλος αριθμός γονιδίων τα οποία παίζουν κυρίαρχο ρόλο στον προσδιορισμό του αρσενικού ή του γυναικείου φύλου ([Roberts, Shen et al. 1999](#_ENREF_180)). Ένας μεταγραφικός ρυθμιστής, το ογκογονίδιο Wilms (WΤ1), φαίνεται να δρά πρώιμα κατά την ουρογεννητική ανάπτυξη, στον εμβρυικό ιστό του μετανεφρικού βλαστήματος. Μεταλλάξεις στο ογκογονίδιο Wilms ( WΤ1) προκαλούν την αποτυχία των γονάδων να προχωρήσουν πέρα ​​από το αδιαφοροποίητο στάδιο, ελαττώματα στη μεσονοφρική ανάπτυξη καθώς και νεφρικά νεοπλάσματα ([Kreidberg, Sariola et al. 1993](#_ENREF_110)). Είναι ενδιαφέρον, ότι η απώλεια του WΤ1έχει δείξει ότι μεταβάλλει την έκφραση αρκετών κωδικονίων RNA και των γονιδιακών τους στόχων κατά τη διάρκεια της ογκογένεσης ([Hubertus, Lacher et al. 2011](#_ENREF_91)). Ο SF-1 (στεροειδογόνος παράγοντας 1), είναι ένας πυρηνικός υποδοχέας που εμπλέκεται στην μεταγραφική ρύθμιση και εκφράζεται τόσο στους αρσενικούς όσο και στους θηλυκούς ιστούς, όπου και απαιτείται η παρουσία του για τη σύνθεση της τεστοστερόνης και των οιστρογόνων. Στα κύτταρα Sertoli, το SF-1 ρυθμίζει το γονίδιο της Αντιμυλλέριου ορμόνης ΑΜΗ ([Keith L. Parker, Andreas Schedl et al. 1999](#_ENREF_106)). Τα γονίδια WΤ1 και SF-1, φαίνεται να διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στη διαφοροποίηση της γεννητικής κορυφογραμμής από το ενδιάμεσο μεσόδερμα. Το γονίδιο DAX-1 κωδικοποιεί έναν παράγοντα που καταστέλλει την ανάπτυξη του όρχι και βρίσκεται στην αρχέγονη γοναδική κορυφογραμμή αρκετές μέρες πριν τη κορύφωση της έκφαρσης του SRY. Τα SRY και DAX-1, φαίνεται πως δρούν ανταγωνιστικά λοιπόν στην ανάπτυξη της δυνητικής γονάδας ([Keith L. Parker, Andreas Schedl et al. 1999](#_ENREF_106)). Η εκφρασή του SRY ενεργοποιεί την άμεση λειτουργία του γονιδίου SΟΧ9, το οποίο είναι ένας παράγοντας που καθορίζει το φύλο,προκαλώντας διαφοροποίηση των κυττάρων Sertoli και επακόλουθο σχηματισμό των όρχεων ([Sekido and Lovell-Badge 2008](#_ENREF_196)). Είναι ενδιαφέρον ότι το γονίδιο SOX9 είναι αρχικά παρόν στην αδιαφοροποίητη γονάδα των εμβρύων XX και XY, στο κυτταροπλασματικό διαμέρισμα των κυττάρων προ-Sertoli. Στα αρσενικά όμως αυξάνεται ταχέως και μετατοπίζεται προς τον πυρήνα των κυττάρων προ-Sertoli, ενώ στα θηλυκά, απουσία του χρωμοσώματος Υ και SRY, παραμένει στο κυτταρόπλασμα και στη συνέχεια η έκφρασή του μειώνεται ([Malki, Berta et al. 2005](#_ENREF_126))*.* Δυο ακόμη γονίδια, τα DMRT-1 και DMRT-2, τα οποία εντοπίζονται στο αυτοσωμικό χρωμόσωμα 9, φαίνεται να παίζουν σημαντικό ρόλο στον προσδιορισμό του ανθρώπινου φύλου. Το γονίδιο WNT-1 συνεισφέρει στη ρύθμιση της στεροειδογένεσης στην εμβρυική γονάδα ([Uusitalo, Heikkilä et al. 1999](#_ENREF_220)).



***Εικόνα. Κυτταρικές σειρές των αναπτυσσόμενων γονάδων (***[***Pask 2016***](#_ENREF_166)***)***

**1.4 Ανάπτυξη των όρχεων**

Μετά την έκφραση των γονιδίων SRY και SΟΧ-9 στην δυνητική γονάδα, τα πρώτα μορφολογικά σημάδια της ανάπτυξης των όρχεων είναι η εμφάνιση αγγειακού συστήματος και ο σχηματισμός των ορχικών δοκίδων (ή χορδών). Το γονίδιο SRY δίνει το έναυσμα για την μετακίνηση των εμβρυικών μεσονεφρικών κυττάρων, τα οποία εισβάλλουν στον αναπτυσσόμενο όρχι και πιστεύεται ότι συμβάλλουν στις κυτταρικές σειρές των κυττάρων Leydig καθώς και των μεσεγχυματικών αλλά και των ενδοθηλιακών κυττάρων. Όλα αυτά τα χαρακτηριστικά συμβάλλουν στον αυξανόμενο κυτταρικό πολλαπλασιασμό εντός της XY γονάδας, ένα βασικό χαρακτηριστικό της ανάπτυξης του ανδρικού φύλου ([Schmahl, Eicher et al. 2000](#_ENREF_192)). Η ταχεία ανάπτυξη των όρχεων διευκολύνεται περαιτέρω από την κυτταρική μετανάστευση ([Capel, Albrecht et al. 1999](#_ENREF_34)). Τα σπερματικά σωληνάρια, αρχικά αποτελούνται από τρεις τύπους κυττάρων: τα γεννητικά κύτταρα που θα σχηματίσουν τη σπερμογονία, τα κύτταρα Sertoli τα οποία περικλείουν τα γεννητικά κύτταρα και τα περισωληναριακά κύτταρα τα οποία περιβάλλουν και συμβάλλουν στη δομική ακεραιότητα των σπερματικών σωληναρίων. Μία βασική μεμβράνη εναποτίθεται γύρω από κάθε σπερματικό σωληνάριο σχηματίζοντας ένα ξεχωριστό φράγμα. Ανάμεσα στα σπερματικά σωληνάρια βρίσκεται ο ενδιάμεσος ιστός, ο οποίος περιλαμβάνει τα κύτταρα Leydig και ενδοθηλιακά κύτταρα ([Pask 2016](#_ENREF_166)).

Τα κύτταρα Sertoli, που έχουν υποστηρικτικό ρόλο, αποτελούν το κυρίως σώμα του σπερματικού σωληναρίου, στηρίζονται στη βασική μεμβράνη και εκτείνονται μέχρι τον αυλό του σωληναρίου, περικλείοντας τα κύτταρα της σπερματογένεσης. Διαφοροποιούνται νωρίς στην εξέλιξη των όρχεων και είναι κρίσιμοι μεσολαβητές της μορφοποίησης αυτών. Μέσω της προσταγλανδίνης D2 (PGD2) που εκκρίνουν, δίνεται ένα παρακρινικό σήμα έτσι ώστε γειτονικοί υποστηρικτικοί κυτταρικοί προάγγελοι να «στρατολογηθούν» και να σχηματίζουν μια πυκνή συνένωση μεταξύ τους χτίζοντας ένα συνεχές φράγμα γύρω από κάθε σωληνάριο. Μια βασική μεμβράνη, η οποία σχηματίζει τον αιματο-ορχικό φραγμό, εναποτίθεται στην βάση των κυττάρων Sertoli. Η βασική μεμβράνη (βασικό έλασμα) είναι ένα βασικό συστατικό για την αρσενική γονιμότητα και τη δομική ακεραιότητα των όρχεων. Δομικά, αποτελείται από λαμινίνη, κολλαγόνο και πρωτεογλυκάνες θειικής ηπαρίνης. Παρόμοια δομικά συστατικά βρίσκονται επίσης στην ωοθήκη, αλλά είναι κατακερματισμένα και δεν τοποθετούνται σε συνεχείς βασικές μεμβράνες ([Pask 2016](#_ENREF_166)).

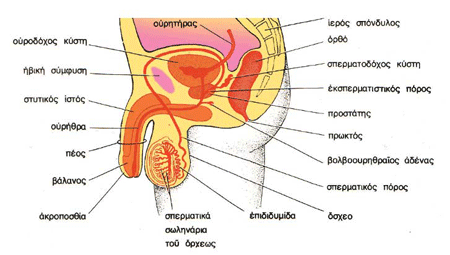
Τα γεννητικά κύτταρα, τα οποία αργότερα θα σχηματίσουν το σπέρμα, ενώ είναι κύριαρχης σημασίας για την ανδρική γονιμότητα, δεν διατείθενται για τη διαφοροποίηση των όρχεων. Ωστόσο, η ανάπτυξη των κυττάρων Sertoli και ο σχηματισμός των σπερματικών σωληναρίων είναι απαραίτητα για την ενεργοποίηση της ανάπτυξης των ανδρικών γεννητικών κυττάρων και της σπερματογένεσης. Η απόφαση για ένα γεννητικό κύτταρο που ακολουθεί ανδρική ή θηλυκή τύχη δεν προσδιορίζεται ενδογενώς από το χρωμοσωματικό του ζεύγος XX ή XY, αλλά αντίθετα καθορίζεται εξωγενώς από την ταυτότητα των υποστηρικτικών κυττάρων που την περιβάλλουν. Και στα αρσενικά και στα θηλυκά, η γονάδα είναι γεμάτη με ρετινοϊκό οξύ (RA), το οποίο προκαλεί την είσοδο των γεννητικών κυττάρων στο στάδιο της μείωσης. Εντούτοις, στα αρσενικά, το σήμα επαγωγής της μείωσης προερχόμενο από το ρετινοϊκό οξύ (RA) καταστέλλεται ταχέως για να μην φθάσει στα γεννητικά κύτταρα. Αυτό προκαλείται από το ένζυμο CYP26B1, το οποίο παράγεται σε μεγάλες ποσότητες από τα κύτταρα Sertoli ([Pask 2016](#_ENREF_166)).

Τα κύτταρα Leydig είναι η κύρια στεροειδογόνος κυτταρική σειρά των όρχεων που βρίσκονται ανάμεσα στα σπερματικά σωληνάρια και σχετίζονται κυρίως με τα αιμοφόρα αγγεία. Αναπτύσσονται λίγο μετά την γοναδική διαφοροποίηση του φύλου, όταν ο όρχις είναι αναγνωρίσιμος και είναι ακριβώς η στιγμή αυτή που αρχίζει η παραγωγή των στεροειδών ορμονών. Έχουν ταυτοποιηθεί δύο διαφορετικοί τύποι κυττάρων Leydig. Τα εμβρυϊκά κύτταρα Leydig, τα οποία προέρχονται από ένα μέρος των μεσονεφρικών κυττάρων, ενώ τα ενήλικα κύτταρα Leydig σχηματίζονται πολύ αργότερα και έχουν διαφορετική εμβρυολογική προέλευση. Και οι δύο τύποι χρησιμεύουν στην παραγωγή τεστοστερόνης, που είναι υπεύθυνη για τη συντονισμένη αρρενοποίηση του αναπαραγωγικού συστήματος ([Pask 2016](#_ENREF_166)).

**1.5 Το αναπαραγωγικό σύστημα του άνδρα**

Οι όρχεις λοιπόν, είναι οι γεννητικοί αδένες του άνδρα, οι οποίοι έχουν διπλή λειτουργία:

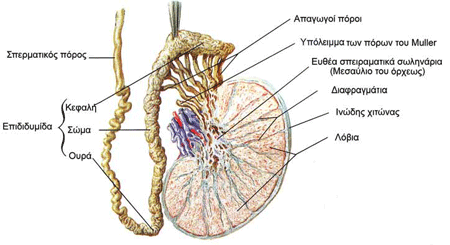
* η εξωκρινής λειτουργία, είναι η παραγωγή σπερματοζωαρίων και
* η ενδοκρινής λειτουργία, είναι η παραγωγή ανδρογόνων ορμονών και κυρίως τεστοστερόνης.



***Εικόνα. Το αναπαραγωγικό σύστημα του άνδρα***(http://www.eugonia.com.gr/wp-content/themes/eugonia2/photos/450px/20.gif)

Οι όρχεις είναι τυπικά δύο, το σχήμα τους είναι ωοειδές, έχουν διαστάσεις 4×2,5×2,5 cm φυσιολογικά, zυγίζουν περίπου 20g και εντοπίζονται στο όσχεο. Φυσιολογικά οι όρχεις αρχίζουν την ανάπτυξή τους στο εσωτερικό της κοιλιακής κοιλότητας και κατεβαίνουν στο όσχεο κατά τη διάρκεια των δύο τελευταίων μηνών της εμβρυικής ανάπτυξης (Mader 2013). Η ανατομική θέση του οσχέου (το οποίο αποτελείται από δέρμα και από τους χιτώνες του όρχεως) επιτρέπει τη διατήρηση χαμηλότερων θερμοκρασιών για τους όρχεις από τις αντίστοιχες του σώματος, ένας ρόλος πολύ σημαντικός που σχετίζεται με τη σπερματογένεση και τη γονιμότητα. Το όσχεο περιλαμβάνει επίσης τις επιδιδυμίδες και τους σπερματικούς πόρους, ενώ οι όρχεις συγκρατούνται στο όσχεο από τους σπερματικούς τόνους, οι οποίοι περιέχουν τους σπερματικούς πόρους, αγγεία, νεύρα και τους κρεμαστηρίους μυς (Schunke et al 2007).

Ο ινώδης χιτώνας περιβάλλει τους όρχεις και εκτείνεται μέσα σε αυτούς, σχηματίζοντας διαφράγματα που διαιρούν τους όρχεις σε διαμερίσματα ή αλλιώς σε 350 περίπου λόβια, μέσα στα οποία βρίσκονται τα σπερματικά σωληνάρια (Schunke et al 2007).



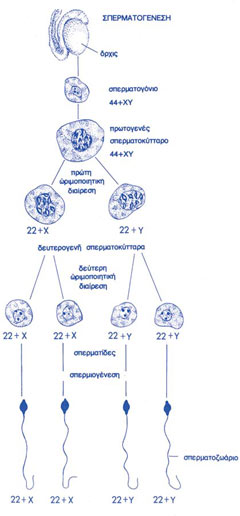
***Εικόνα. Κάθετη διατομή των όρχεων.***(http://www.eugonia.com.gr/wp-content/themes/eugonia2/photos/450px/21.gif)

Τα σπερματικά σωληνάρια εσπειραμένα έχουν διάμετρο 150-300 μm, μήκος περίπου 3 cm, όταν όμως τα ευθειάσουμε φτάνουν έως και τα 20cm και διατάσσονται ανά 2 ή 3 μέσα στα ορχικά λόβια. Στους δύο όρχεις υπάρχουν συνολικά 400-900 σπερματικά σωληνάρια. Αποτελούν την εξωκρινή μοίρα του αδένα,μέσα σε αυτά αναπτύσσεται το σπέρμα, δηλαδή τα σπερματοζωάρια. Ο ιστός μεταξύ των εσπειραμένων σπερματικών σωληναρίων περιέχει τα διάμεσα κύτταρα (κύτταρα Leydig), τα οποία παράγουν ανδρογόνα, κυρίως τεστοστερόνη. Τα εσπειραμένα σωληνάρια μετατρέπονται στη συνέχεια σε ευθεία σπερματικά σωληνάρια, τα οποία καταλήγουν στο δίκτυο του όρχεως (δίκτυο του Haller). Το δίκτυο του όρχεως συνδέεται με 12 περίπου εκφορητικά σωληνάρια, τα οποία εκβάλλουν στην επιδιδυμίδα (Schunke et al 2007).

Στην αναπαραγωγική ζωή τα κύρια στάδια της μετατροπής των κυττάρων της σπερματογένεσης είναι:

* τα σπερματογόνια κύτταρα (φάση μίτωσης),
* τα σπερματοκύτταρα Ι τάξης (φάση πρώτης μείωσης),
* τα σπερματοκύτταρα ΙΙ τάξης (φάση δεύτερης μείωσης),
* οι σπερματίδες (διαφοροποίηση μέσω σπερμιογένεσης με την επίδραση τεστοστερόνης) και τα σπερματοζωάρια.

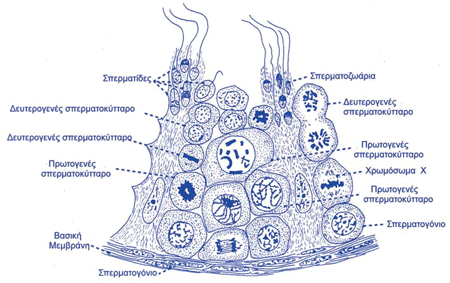
Το σπερματικό μητρικό κύτταρο (σπερμιογόνιο) χρειάζεται κατά μέσο όρο 74 ημέρες για να ωριμάσει και να εισέλθει στον αυλό των σωληναρίων για τη μεταφορά του στην επιδιδυμίδα ([Russell, Saxena et al. 1989](#_ENREF_185)).

 ***Εικόνα. Τα στάδια της σπερματογένεσης***http://www.eugonia.com.gr/wp-content/themes/eugonia2/photos/240px/25.jpg

Ένα σπερματοζωάριο με μήκος περίπου 60μm αποτελείται από: την κεφαλή με το ακροσωμάτιο και τον πυρήνα, τον αυχένα, το ενδιάμεσο τμήμα, το σώμα ή κύριο τμήμα και το τελικό τμήμα της ουράς (Schunke et al 2007). Τα μιτοχόνδρια που υπάρχουν γύρω από το μεσαίο τμήμα παράγουν ενέργεια (ΑΤΡ) που χρησιμοποιείται για να δημιουργήσει τις κινήσεις της ουράς που κινούν το σπέρμα (Pack 2001).

Η διαδικασία σχηματισμού σπέρματος μπορεί να χωριστεί σε τρία ξεχωριστά συστατικά:

1. Σπερματογένεση: ο σχηματισμός σπερματοζωαρίων που έχουν υποστεί πρώτη και δεύτερη μειοτική διαίρεση, αλλά έχουν παραμείνει στρογγυλά στο σχήμα ([Amann 2008](#_ENREF_15))
2. Σπερμιογένεση: κατά τη διάρκεια της οποίας το σπέρμα υφίσταται μορφολογική μεταβολή του σχήματος από τα στρογγυλά κύτταρα σε πιθανώς κινητικά, κυψελιδωτά κύτταρα ([Yan, Mruk et al. 2007](#_ENREF_232))
3. Σπερματέγχυση: η απελευθέρωση σπερματοζωαρίων από τη σχέση τους με τα κύτταρα Sertoli στον σωλήνα του σπερματικού σωλήνα ([Russell, Saxena et al. 1989](#_ENREF_185))



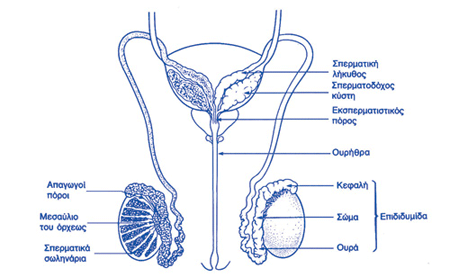
***Εικόνα. Σχηματική παράσταση των κυττάρων της σπερματικής σειράς σε διάφορα στάδια εξέλιξης***

(http://www.eugonia.com.gr/wp-content/themes/eugonia2/photos/450px/23.gif)

Τα σπερματοζωάρια που φεύγουν από τους όρχεις και εισέρχονται στην επιδιδυμίδα δεν έχουν την ικανότητα να γονιμοποιήσουν τα ωάρια, αλλά αποκτούν αυτή την ικανότητα κατά τη διάρκεια της διέλευσής τους μέσω της επιδιδυμίδας. Αυτή η διαδικασία δεν είναι ακόμη πλήρως κατανοητή, αλλά σχετίζεται με την απόκτηση της κινητικής ικανότητας και διαφόρων μεταβολών στη μεμβράνη του σπερματικού πλάσματος και στο ενδοθηλιακό γλυκοκαλλύλιο ([Saling 1982](#_ENREF_187), [Bedford 2008](#_ENREF_21)). Περίπου μόνο 1 cc του όγκου εκσπερμάτισης (φυσιολογική ποσότητα 2-6 cc) αποτελείται από το υγρό που περιέχει σπέρμα. Ο υπόλοιπος όγκος του υγρού εκσπερμάτισης αντικατοπτρίζει τη συμβολή των υπόλοιπων αρσενικών επικουρικών αδένων (του προστάτη και των σπερματικών κυστιδίων). Περιέχει προσταγλανδίνες και αυξητικό παράγοντα TGF‐β, τα οποία έχουν σημαντικό ρόλο στην ανοσοκαταστολή και στη μεταφορά του σπέρματος μέσα στην θηλυκή αναπαραγωγική οδό ([Bronson 2011](#_ENREF_30)). Ο φυσιολογικός άρρεν άνθρωπος παρασκευάζει περίπου 30 εκατομμύρια σπερματοζωάρια ημερησίως (Vander et al 2011). Τα σπερματοζωάρια συνήθως δεν ζουν περισσότερο από 48 ώρες μέσα στο γυναικείο γεννητικό σύστημα (Mader 2013).

Αμέσως μετά τη διαφοροποίησή τους, τα σπερματοζωάρια βρίσκονται καθηλωμένα στα κύτταρα Sertoli. Υπό την επίδραση της τεστοστερόνης, τα σπερματοζωάρια απελευθερώνονται στο αυλό των σπερματικών σωληναρίων. Οι αυλοί των διαφόρων σπερματικών σωληναρίων συμβάλλουν στο ορχικό δίκτυο (ή δίκτυο του Haller), το οποίο παροχετεύεται σε έναν ενιαίο περιελιγμένο σωλήνα, την επιδιδυμίδα, όπου αποθηκεύονται τα σπερματοζωάρια. Από το άκρο της επιδιδυμίδας αρχίζει η αποχετευτική οδός των σπερματοζωαρίων, η οποία καταλήγει στο έξω στόμιο της ουρήθρας.

Η επιδιδυμίδα, ένας μακρύς πολυέλικτος σωλήνας συνολικού μήκους 5-7 m, βρίσκεται στην οπίσθια επιφάνεια του όρχεως προσκολλημένη και είναι το όργανo αποθήκευσης και ωρίμανσης των σπερματοζωαρίων. Η κεφαλή της επιδιδυμίδας αποτελείται κυρίως από τα εκφορητικά σωληνάρια, ενώ το σώμα και η ουρά της αποτελούνται από τον ιδιαίτερα εσπειραμένο πόρο της επιδιδυμίδας (Schunke et al 2007). Η επιδιδυμίδα αποχετεύοντας καθένα όρχι δημιουργεί το σπερματικό πόρο, ένας σωλινίσκος μήκους 45 cm με παχύ τοίχωμα, που περιέχει τρία στρώματα μυϊκών ινών, οι περισταλτικές συσπάσεις των οποίων υποβοηθούν την προώθηση των σπερματοζωαρίων. Ο σπερματικός πόρος πορεύεται αρχικά προς τα άνω κατευθυνόμενος προς την ουροδόχο κύστη και ακριβώς πριν φθάσει στον προστάτη διευρύνεται και σχηματίζει τη σπερματική λήκυθο. Ο σπερματικός πόρος, τα αιμοφόρα αγγεία και τα νεύρα τα οποία τροφοδοτούν τους όρχεις προσδένονται μαζί σε μία δέσμη, το σπερματικό τόνο, ο οποίος διασχίζει τους όρχεις και διαπερνά μία μικροσκοπική σχισμή, τον βουβωνικό πόρο του κοιλιακού τοιχώματος (Vander et al 2011).

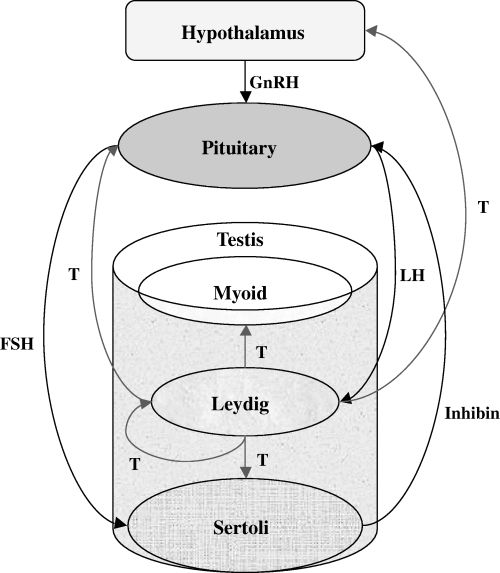


***Εικόνα. Σχηματική παράσταση της αποχετευτικής διαδρομής του σπέρματος***(http://www.eugonia.com.gr/wp-content/themes/eugonia2/photos/450px/24.gif)

Αφού εισέλθουν στη κοιλιακή χώρα οι δύο σπερματικοί πόροι, ένας από κάθε μεριά, πορεύονται στη βάση της ουροδόχου κύστεως και δημιουργούν τους εκσπερματικούς πόρους. Ακριβώς σε αυτό το σημείο, δύο μεγάλοι αδένες, οι σπερματοδόχες κύστεις, συγκλείνουν και αποχετεύουν το περιεχόμενό τους μέσα στους δύο εκσπερματικούς πόρους. Ο εκσπερματικός πόρος εισέρχεται ακολούθως στο πυρήνα του αδενοειδούς προστάτη. Η συνέχεια της προστατικής μοίρας είναι η υμενώδης και εν συνεχεία η σηραγγώδης μοίρα της ουρήθρας, η οποία τελικώς εκβάλλει δια του έξω στομίου της ουρήθρας στη βάλανο του πέους. Το ζεύγος των βολβοουρηθραίων αδένων, οι οποίοι βρίσκονται κάτω από τον προστάτη, εκρέουν μέσα στην ουρήθρα καθώς αυτή εκβάλλει από τον προστάτη (Vander et al 2011).

**1.6 Ρύθμιση λειτουργίας όρχεων**

Η σπερματογένεση θεωρείται ότι καθιερώνεται μεταξύ του 12ου και του 16ου έτους της ανθρώπινης ζωής. Η εκκίνηση και η διατήρηση της σπερματογένεσης απαιτεί την ορμονική δράση της FSH και της τεστοστερόνης και εξαρτάται από τις υποστηρικτικές και παρακρινικές ενέργειες των κυττάρων Sertoli και στην παραγωγή ανδρογόνων από τα κύτταρα Leydig. Στους ώριμους όρχεις, η σπερματογένεση πραγματοποιείται σε κύκλους με καλά καθορισμένα τα στάδια της κατά μήκος των σπερματοδόχων σωληναρίων. ([Cummings and Kavlock 2004](#_ENREF_48))



***Εικόνα. Ορμονική ρύθμιση της σπερματογένεσης***

Η ορμόνη διέγερσης των ωοθυλακίων (FSH) και η ωχρινοτρόπος ορμόνη (LH) είναι ορμόνες γλυκοπρωτεΐνης που εκκρίνονται από την πρόσθια υπόφυση και δρουν απευθείας στους όρχεις για να διεγείρουν τη λειτουργία των σωματικών κυττάρων για την υποστήριξη της σπερματογένεσης. Αυτές οι ορμόνες, οι οποίες είναι μέρος της υπεροικογένειας των αυξητικών παραγόντων (TGF) β , μοιράζονται μια κοινή α- υπομονάδα και διακρίνονται από την β- υπομονάδα της ορμόνης ([Cummings and Kavlock 2004](#_ENREF_48)). Θεωρείται ότι η FSH διεγείρει τη σπερματογένεση μέσω ειδικών υποδοχέων της, όχι όμως πέραν του σταδίου των σπερματοκυττάρων πρώτης τάξης. Στους άρρενες, η έκφραση του υποδοχέα FSH (FSH-R) περιορίζεται στους όρχεις, στα κύτταρα Sertoli, ενώ οι υποδοχείς LH (LH-R) βρίσκονται κυρίως στα κύτταρα Leydig ([Holdcraft and Braun 2004](#_ENREF_85)). Η ολοκλήρωση της σπερματογένεσης απαιτεί την τεστοστερόνη, η οποία εκκρίνεται από τα κύτταρα Leydig. Η LH επιδρά στα διάμεσα κύτταρα Leydig και προκαλεί την έκκριση ανδρογόνων, ιδίως τεστοστερόνης.

Η έκκριση FSH και LH από την υπόφυση ρυθμίζεται από την υποθαλαμική ορμόνη GnRH. Υπάρχει δηλαδή και στον άνδρα ένας ορμονικός άξονας υποθάλαμος – υπόφυση – όρχεις, ο οποίος ρυθμίζεται με μηχανισμό παλίνδρομης αλληλορύθμισης (αναδραστικός): τα υψηλά επίπεδα τεστοστερόνης έχουν ανασταλτική επίδραση στον υποθάλαμο και τελικά στην έκκριση FSH και LH από την υπόφυση. Ο φυσιολογικός ενήλικας άνδρας απελευθερώνει GnRH περίπου κάθε δύο ώρες (Vander et al 2011).

Το τελικό στοιχείο του υποθαλαμοϋποφυσιακού ελέγχου της αναπαραγωγής του άρρενος, είναι οι αρνητικές ανατροφοδοτήσεις, με βασικούς ρόλους να έχουν οι LH και GnRH. Η GnRH εκκρίνεται με επεισοδιακό και παλμικό τρόπο στον υποθάλαμο και διεγείρει την έκκριση της LH στο αίμα από την υπόφυση. Η LH διεγείρει με τη σειρά της την έκκριση της τεστοστερόνης στους όρχεις. Η ενδοκρινολογική (αρνητική) ανατροφοδότηση κλείνει έπειτα με την τεστοστερόνη αναστέλλοντας την έκκριση τόσο της GnRH όσο και της LH ([Mattsson and Medvedev 2015](#_ENREF_132)).

Η τεστοστερόνη, αφού εισέλθει στο στοχοθετημένο κυτταρόπλασμα, με τη συμβολή ενός ενζύμου υπόκεινται μία μετατροπή σε ένα άλλο στεροειδές, τη δεϋδροτεστοστερόνη, η οποία αυτή βασικά επιφέρει επιδράσεις. Ωστόσο, σε άλλα στοχοθετημένα κύτταρα, συμπεριλαμβανομένου και εκείνων του εγκεφάλου, η τεστοστερόνη δεν μετατρέπεται σε δεϋδροτεστοστερόνη αλλά σε οιστραδιόλη, η οποία είναι η ενεργός ορμόνη σε αυτά τα κύτταρα (Mader 2013).

Επιπλέον η Ινχιμπίνη Β που παράγεται από τα κύτταρα Sertoli, παρέχει αρνητική ανάδραση στην έκκριση της FSH και μπορεί να αποδειχθεί σημαντικός δείκτης για τη λειτουργία των σπερματοδόχων σωληναρίων ([Pierik, Vreeburg et al. 1998](#_ENREF_169)).

**1.7 Ανάπτυξη των ωοθηκών**

Σε αντίθεση με την ταχεία ανάπτυξη και την ογκώδη μορφολογική αναδιαμόρφωση που συμβαίνει σε ένα πολύ μικρό χρονικό διάστημα στους πρώιμα αναπτυσσόμενους όρχεις, η ανάπτυξη των ωοθηκών αρχίζει με πιο μέτριο ρυθμό. Η αδιαφοροποίητη γονάδα θα προχωρήσει προς την ανάπτυξη της ωοθηκικής μοίρας απουσία του Υ-χρωμοσώματος και/ ή της υπερέκραφρασης του γονιδίου Sry ([Wilhelm, Palmer et al. 2007](#_ENREF_228)). Για την πλήρη ανάπτυξη της ωοθήκης απαιτείται η έναρξη της μείωσης, ο εγκλεισμός των βλαστικών κυττάρων στα ωοθυλάκια, και η διαφοροποίηση των παραγόμενων στεροειδών και των διάμεσων κυττάρων. Υπάρχουν αποδείξεις ότι τα αρχέγονα γεννητικά κύτταρα (PGCs) βρίσκονται στην επιβλάστη της εσωτερικής κυτταρικής μάζας της γοναδικής βλαστοκύστης ([Cummings and Kavlock 2004](#_ENREF_48)). Τα PGCs μεταναστεύουν από την εξω-εμβρυονική περιοχή στο εμβρυονικό μεσόδερμα, και μέσω του ραχιαίου μεσεντερίου καταλήγουν στη γονάδα ([Mc, Hertig et al. 1953](#_ENREF_135)). Μετά την μορφολογική διαφοροποίηση του φύλου, η γονάδα καλύπτεται από κυτταρικές σειρές των σωματικών κυττάρων. Την ίδια στιγμή, 7η -8η εβδομάδα, τα γεννητικά κύτταρα των ωοθηκών εισάγονται στη πρώτη μειοτική φάση ([Cummings and Kavlock 2004](#_ENREF_48)).

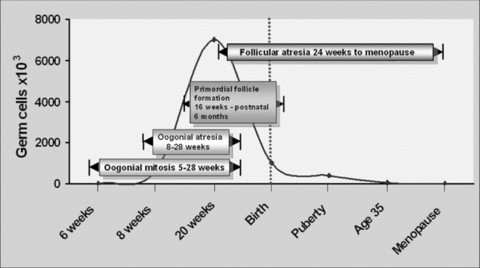
Το πρώτο ακαθάριστο μορφολογικό σημάδι της ωοθηκικής ανάπτυξης είναι η διάκριση μεταξύ του φλοιού και του μυελού και ο σχηματισμός των φωλεών των γεννητικών κυττάρων στον εξωτερικό φλοιό, που θα είναι η θέση της ωογένεσης. Οι αδιαφοροποίητες γεννητικές χορδές μετατοπίζονται προς την περιφέρεια, καθώς αναπτύσσεται ο μυελός, και διαφοροποιούνται προς τις ωοθυλακιογόνους χορδές (Satoh) που παράγουν τα ωοθυλακικά κύτταρα. Στην ωοθήκη, ο φλοιός (cortex) αναπτύσσεται προς το τέλος της πρώιμης εμβρυϊκής περιόδου και περιλαμβάνει μια αναδιάταξη μέσα στο αρχέγονο γοναδικό βλάστημα. Ο φλοιός περιέχει πολλά γεννητικά κύτταρα. Αυξάνεται με την προσθήκη σκοτεινών (μεσονεφρικών) κυττάρων που μεταναστεύουν προς την περιφέρεια και διαυγών (ίσως κοιλωματικών) κυττάρων που κατευθύνονται προς το κέντρο. Πιστεύεται ότι ο μυελός (medulla) σχηματίζεται από έναν πυκνό κεντρικό πυρήνα κυττάρων και από το βλάστημα του ωοθηκικού δικτύου. Οι μυελικές χορδές (medullary cords) είναι δυνατόν να διακριθούν στην ωοθήκη περί το τέλος της πρώιμης εμβρυϊκής περιόδου. Κανονικά, δεν αναπτύσσουν αυλό και εξαφανίζονται κατά το 3ο τρίμηνο. Πιστεύεται επίσης ότι, όπως και στον όρχι, το κεντρικό γοναδικό βλάστημα είναι δεξαμενή παροχής σωματικών κυττάρων στον γεννητικό αδένα ([Wilhelm, Palmer et al. 2007](#_ENREF_228)).

Οι ωοθήκες αποτελούνται από τις ίδιες κυτταρικές σείρες με τους όρχεις, μόνο που αυτές είναι διατεταγμένες διαφορετικά έτσι ώστε να υποστηρίξουν τον μετέπειτα σχηματισμό των ωοθυλακίων. Τα γεννητικά κύτταρα περιβάλλονται από τα ωοθυλακικά κύτταρα ή κύτταρα του κοκκώδους υμένα (follicular ή granulosa cells),που είναι τα θηλυκά ισοδύναμα των κυττάρων Sertoli, τα οποία θα συμβάλλουν στην ανάπτυξη των γεννητικών κυττάρων. Καθώς η ανάπτυξη εξελίσσεται, κάθε μεμονωμένο γεννητικό κύτταρο περιβάλλεται από αυτά τα κοκκιώδη κύτταρα, σχηματίζοντας έτσι το αρχέγονο θυλάκιο ([Brennan and Capel 2004](#_ENREF_28)).

Το «θηλυκό ισοδύναμο» των κυττάρων Leydig, είναι τα στεροειδογόνα κύτταρα Theca, τα οποία σχηματίζονται γύρω από τα αρχέγονα θυλάκια και παρέχουν τις ορμόνες που είναι απαραίτητες για την ανάπτυξη των θυλακίων και την ωρίμανση των ωοκυττάρων. Παίζουν σημαντικό ρόλο στη γονιμότητα, με την συμβολή τους στην παραγωγή του υποστρώματος ανδρογόνου που απαιτείται για τη βιοσύνθεση των ωοθηκικών οιστρογόνων. Πρωτεϊνες που εκκρίνονται από τα αναπτυσσόμενα θυλάκια διαφοροποιούν τα κύτταρα Theca από το στρώμα των ωοθηκών. Η πιο συνηθισμένη ενδοκρινική αιτία της υπογονιμότητας σχετίζεται με τον υπερβολικό πολλαπλασιασμό των κυττάρων Τheca και τον υπερανδρογονισμό των ωοθηκών. Η δραστικότητα των κυττάρων Τheca προκαλεί υπογονιμότητα λόγω έλλειψης οιστρογόνου ([Magoffin 2005](#_ENREF_125)).

Επίσης, η πρώιμη αγγειοποίηση των ωοθηκών είναι πολύ διαφορετική από αυτή που παρατηρείται στους όρχεις. Οι ωοθήκες σχηματίζουν ένα εκτεταμένο δίκτυο μικρών τριχοειδών αγγείων που περιβάλλουν αρχικά κάθε μία από τις φωλιές των γεννητικών κυττάρων και αργότερα τα ξεχωριστά αρχέγονα θυλάκια ([Bullejos, Bowles et al. 2002](#_ENREF_31)). Αυτά τα αγγεία πιστεύεται ότι εξασφαλίζουν την μετακίνηση και παράδοση των αυξητικών παραγόντων που είναι απαραίτητοι για την ανάπτυξη των ωοθυλακίων και, μετά την ωορρηξία, εξάγουν ορμόνες έξω από το ωχρό σωμάτιο ([Pask 2016](#_ENREF_166)).

Ο πολλαπλασιασμός των θηλυκών γεννητικών κυττάρων λαμβάνει χώρα μόνο κατά τη διάρκεια της πρώιμης ανάπτυξης, σε αντίθεση με τον συνεχή πολλαπλασιασμό που παρατηρείται στην αρσενική γεννητική σειρά. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα να υπάρχει ένας πεπερασμένος αριθμός ωοθυλακίων στις ώριμες ωοθήκες. Είναι ενδιαφέρον επίσης, ότι μεγάλες ποσότητες θηλυκών βλαστικών κυττάρων υποβάλλονται στη διαδικασία της απόπτωσης κατά την πρώιμη ανάπτυξη, με αποτέλεσμα να υπάρχει ένας ακόμη παράγοντας που συνηγορεί στον περιορισμένο αριθμό αρχέγονων ωοθυλακίων ([Borum 1961](#_ENREF_25)). Αυτό θεωρείται ότι είναι μια διαδικασία επιλογής που οδηγεί στη συγκράτηση μόνο των κατάλληλων γεννητικών κυττάρων ([Morita, Manganaro et al. 1999](#_ENREF_139)). Είναι ακόμα άγνωστο αν η απόπτωση αντιπροσωπεύει εκείνα τα γεννητικά κύτταρα που είναι εγγενώς περισσότερο προσαρμοσμένα ή ακόμη και ότι βρίσκονται φυσιολογικά σε καλύτερη θέση εντός της αναπτυσσόμενης ωοθήκης ([Pask 2016](#_ENREF_166)).



***Εικόνα. Η οδύσσεια των γεννητικών κυττάρων (***[***Oktem and Oktay 2008***](#_ENREF_154)***)***

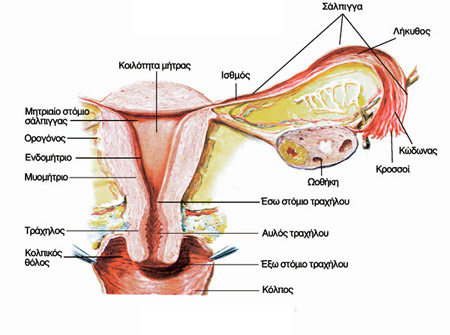
Όπως φαίνεται στο παραπάνω σχήμα , ο αριθμός των γεννητικών κυττάρων αυξάνεται ταχέως από 600.000 σε 8 εβδομάδες, σε 6-7 × 10 6 εκατομμύρια στις 20 εβδομάδες κύησης.  Ένα νεογέννητο κορίτσι που γεννήθηκε με 1 εκατομμύριο γεννητικά κύτταρα κατά τη γέννηση θα έχει μόνο 300.000-400.000 βλαστικά κύτταρα όταν φτάσει στην εφηβεία. Από αυτά τα θυλάκια, μόνο 300-400 θα ωοτοκούν έως και τη μόνιμη διακοπή της εμμήνου ρύσεως κατά την εμμηνόπαυση, μετά την οποία θα παραμείνουν μόνο τα 1000 στην ωοθήκη. Συνοπτικά, από αρκετά εκατομμύρια γεννητικών κυττάρων, η μεγάλη πλειοψηφία θα εκφυλιστεί ([Oktem and Oktay 2008](#_ENREF_154)).

Ο αριθμός των γεννητικών κυττάρων των ωοθηκών καθίσταται τετελεσμένος όταν τα κύτταρα έχουν εισέλθει στο στάδιο της μίτωσης. Η είσοδος στη μιτωτική φάση ενεργοποιείται από το ρετινοϊκό οξύ (RA) που προέρχεται από την αναπτυσσόμενη γονάδα (αρσενική ή θηλυκή). Το ρετινοϊκό οξύ (RA) ενεργοποιεί την έκφραση του γονιδίου Stra8 , το οποίο με τη σειρά του κατευθύνει την είσοδο των γεννητικών κυττάρων στο στάδιο της μίτωσης ([Bowles, Knight et al. 2006](#_ENREF_27), [Koubova, Menke et al. 2006](#_ENREF_109)).

Είναι ενδιαφέρον, ότι ο σχηματισμός και η διατήρηση της ωοθήκης εξαρτάται, τουλάχιστον εν μέρει, από την παρουσία μιτωτικών βλαστικών κυττάρων. Αυτό έρχεται σε αντίθεση με τον όρχι, όπου τα κύτταρα Sertoli και οι ορχικές δοκίδες σχηματίζονται με την πλήρη απουσία βλαστικών κυττάρων ([Hashimoto, Kubokawa et al. 1990](#_ENREF_83), [Couse, Hewitt et al. 1999](#_ENREF_45)). Στις ωοθήκες, η απουσία γεννητικών κυττάρων προκαλεί την εσφαλμένη διαφοροποίηση των κυττάρων του κοκκώδους υμένα (granulosa cells) σε κύτταρα που μοιάζουν με τα κύτταρα Sertoli και την διάρθωση σε δοκίδες που θυμίζουν μορφολογικά τους ορχικούς τύπους ([Couse, Hewitt et al. 1999](#_ENREF_45)). Αυτά τα κύτταρα που μοιάζουν με Sertoli προκαλούν την έκφραση των «βασικών αρσενικών» γονιδίων όπως το Sox9 σαν να βρίσκονταν σε όρχεις ([Britt, Saunders et al. 2004](#_ENREF_29)). Έτσι, φαίνεται να υπάρχουν ζωτικής σημασίας επικοινωνίες μεταξύ των γεννητικών και σωματικών κυτταρικών σειρών στις αναπτυσσόμενες ωοθήκες που είναι κρίσιμες για τη σωστή διαμόρφωση και συντήρηση τους.

Το οιστρογόνο είναι επίσης ένας κρίσιμος παράγοντας για τη διατήρηση της τύχης των ωοθηκών. Έπειτα από αρκετές έρευνες υπάρχουν ευρήματα που υποδηλώνουν ότι μια δυνητική ωοθηκική μοίρα είναι εύπλαστη ως προς τα σωματικά της κύτταρα και μπορεί να μεταδιεγερθεί προς μια μοίρα κυττάρων Sertoli απουσία οιστρογόνων ή μιτωτικών γεννητικών κυττάρων ([Britt, Saunders et al. 2004](#_ENREF_29), [Pask, Calatayud et al. 2010](#_ENREF_167))

**1.8 Το αναπαραγωγικό σύστημα της γυναίκας**



***Εικόνα. Τα εσωτερικά γεννητικά όργανα της γυναίκας (τροποποιημένη από R. Netter)***(http://www.eugonia.com.gr/wp-content/themes/eugonia2/photos/450px/2B.jpg)

Οι ωοθήκες αποτελούν τους γεννητικούς αδένες της γυναίκας και ανευρίσκονται στην πυελική κοιλότητα η μία δεξιά και η άλλη αριστερά της μήτρας. Είναι όργανα με διπλή λειτουργία. Παράγουν ωάρια (το γεννητικό υλικό της γυναίκας) και ορμόνες (κυρίως οιστρογόνα και προγεστερόνη). Η κύρια λειτουργία των ωοθηκών είναι η αναπαραγωγική. Από ανατομικής πλευράς, οι ωοθήκες αποτελούν δύο ωοειδή αποπεπλατυσμένα μορφώματα με μήκος 3-5 cm, πλάτος 1,5-3 cm και πάχος 1,5-2,5 cm. Έχουν χρώμα ροδίζον λευκό προς γκρι.Στις ωοθήκες διακρίνουμε δύο πόλους, δύο χείλη και δύο επιφάνειες, όπως επίσης και δύο ζώνες, τον φλοιό και τον μυελό (Pack 2001).

Ανάλογα με τη φάση του εμμηνορρυσιακού κύκλου της γυναίκας και σε ποια από τις δύο ωοθήκες θα συμβεί η ωοθυλακιορρηξία, το μέγεθος της ωοθήκης μεταβάλλεται. Οι δύο ωοθήκες, οι οποίες είναι παρούσες σε κάθε θηλυκό, συγκρατούνται στη θέση τους από τον ευρύ σύνδεσμο, ο οποίος είναι ένα τμήμα του περιτοναίου και απλώνεται σαν κουρτίνες πάνω από τις ωοθήκες και τη μήτρα. Περιλαμβάνει τόσο τον μεσωοθήκιο όσο και τον ανασταλτικό σύνδεσμο. Το μεσοωοθήκιο είναι μία πτυχή του πίσω πετάλου του πλατύ συνδέσμου, το οποίο διατηρεί την ωοθήκη στη θέση της και ο ανασταλτικός σύνδεσμος στερεώνει την ανώτερη περιοχή της ωοθήκης στο πυελικό τοίχωμα. Ο ίδιος σύνδεσμος της ωοθήκης ή μητροωοθηκικός στερεώνει το κάτω άκρο της ωοθήκης στα πλάγια των κεράτων της μήτρας και ο κρεμαστήρας σύνδεσμος, ο οποίος αποτελείται από συνδετικό ιστό, αγγεία και νεύρα και καταφύεται στο άνω άκρο της ωοθήκης (Ιατράκης 2006).

Το βλαστικό επιθήλιο και ο ινώδης χιτώνας, είναι ιστοί που καλύπτουν το εξωτερικό της ωοθήκης. Σε ένα θηλυκό έμβρυο, κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης των ωοθηκών, το βλαστικό επιθήλιο εμβυθίζεται στο σώμα της ωοθήκης σε διάφορα μέρη (Rae-Dupree and Dupree 2007). Προς το εσωτερικό των ωοθηκών ανευρίσκονται η φλοιώδη μοίρα και η μυελώδη μοίρα. Η φλοιώδης μοίρα αποτελείται από εξειδικευμένο στρώμα και ωοθυλάκια σε διάφορα στάδια ανάπτυξης ή ατρησίας (Ιατράκης 2006).

Η ωοθηκική αρτηρία, η οποία είναι κλάδος της κοιλιακής αορτής, καθώς επίσης και κλάδοι της μητριαίας αρτηρίας είναι υπεύθυνοι για την αιμάτωση της ωοθήκης. Η νεύρωση της ωοθήκης γίνεται με το ωοθηκικό πλέγμα και το μητροκολπικό πλέγμα (Ιατράκης 2006).

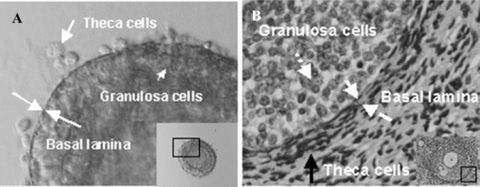
**1.9 Ρύθμιση λειτουργίας των ωοθηκών**

Η ωοθήκη λοιπόν, είναι ένα πολυδιαμερισματικό, συνεχώς μεταβαλλόμενο όργανο με δύο βασικές λειτουργίες:

* Την παραγωγή ενός γόνιμου ωοκυττάρου με πλήρη ικανότητα για ανάπτυξη και
* την έκκριση στεροειδών ορμονών, οι οποίες απαιτούνται για την προετοιμασία του αναπαραγωγικού συστήματος για μια ενδεχόμενη γονιμοποίηση και την επακόλουθη εγκυμοσύνη.

Για να πραγματοποιηθούν οι στεροειδικές και ωοθηκικές λειτουργίες των ωοθηκών, πρέπει να γίνει μια πολύ συντονισμένη και πολύπλοκη σειρά εκδηλώσεων: ανάπτυξη των ωοθυλακίων.

Τα ωοθυλάκια είναι οι λειτουργικές μονάδες της ωοθήκης. Κάθε ωοθυλάκιο αποτελείται από ένα ωοκύτταρο που περιβάλλεται από ένα ή περισσότερα στρώματα σωματικών κυττάρων που αναφέρονται ως κοκκώδη κύτταρα. Τα ωάρια βρίσκονται μέσα στα ωοθυλάκια, σε όλη τη διάρκεια της ζωής τους μέσα στις ωοθήκες. Τα ωοκύτταρα και τα περιβάλλοντα κοκκώδη κύτταρα διαχωρίζονται από τον διάμεσο (στρωματικό) ιστό με μια μεμβράνη που ονομάζεται βασικό έλασμα. Επομένως, τα κοκκώδη κύτταρα δεν έχουν καμία αγγειακή παροχή, πράγμα που απαιτεί τη διακυτταρική επαφή με γειτονικά κύτταρα μέσω διακλαδώσεων. Αυτό το εκτεταμένο κομμάτι των διακλαδώσεων, όχι μόνο επιτρέπει τη σύσταση ενός ολοκληρωμένου λειτουργικού συγκύτιου κυττάρων, αλλά είναι επίσης σημαντικό στην μεταβολική ανταλλαγή και μεταφορά μορίων μεταξύ των γειτονικών κυττάρων. Στο τμήμα αυτό περιέχονται αρκετές διαφορετικές συνδεξίνες όπως οι συνδεξίνες 32, 43 και 45. Στα ποντίκια που στερούνται συνδεξίνης 43, δεν παρατηρείται ανάπτυξη πολυστρωματικών ωοθυλακίων, υποδεικνύοντας έτσι έναν κρίσιμο ρόλο αυτής της πρωτεΐνης στην ανάπτυξη των θυλακίων ([Ackert, Gittens et al. 2001](#_ENREF_4)).



***Εικόνα. Το ωοθυλάκιο (Α) Ένα απομονωμένο θυλάκιο που εμφανίζει πολλαπλά στρώματα κυττάρων κοκκώδους σώματος και ένα βασικό στρώμα που τα διαχωρίζει από τα στρωματικά κύτταρα. (Β) Ένα τμήμα πρώιμου ωοθυλάκιου που δείχνει το στρώμα κοκκώδους σειράς (λευκό διάστικτο βέλος) με παρεμβαλλόμενο βασικό έλασμα (λευκό βέλος) και το στρώμα (μαύρο βέλος). (Στήλη κλίμακας αιματοξυλίνης, 100 μm.)(***[***Oktem and Oktay 2008***](#_ENREF_154)***)***

Η ανάπτυξη των ωοθυλακίων μέχρι το στάδιο της ωορρηξίας είναι μια πολύ περίπλοκη σειρά συμβάντων και έχει πολλαπλά χαρακτηριστικά, όπως η πρόσληψη αρχέγονων ωοθυλακίων, ο πολλαπλασιασμός και η ατρησία των κοκκιώδων κυττάρων, η στεροειδογένεση, η έκφραση του υποδοχέα γοναδοτροπίνης, η ωρίμανση των ωοκυττάρων, η ωοθυλακιορρηξία και ο σχηματισμός του ωχρού σωμάτιου ([Oktem and Oktay 2008](#_ENREF_154)). Χαρακτηρίζεται από αύξηση του μεγέθους των ωοκυττάρων, πολλαπλασιασμό των κοκκιωδών κυττάρων σε πολλαπλές στιβάδες και των διαχωρισμό των ωοκυττάρων από τα έσω κοκκιώδη κύτταρα με τη διαφανή ζώνη (Vander et al 2011). Η διαφανής ζώνη είναι ένα σαφές στρώμα γλυκοπρωτεΐνης που περιβάλλει το ωοκύτταρο. Το ακτινωτό στέφανο (κύτταρα corona) είναι ένα δαχτυλίδι από κοκκιώδη κύτταρα που περικυκλώνει τη διαφανή ζώνη (Pack 2001). Τα κοκκιώδη κύτταρα εκκρίνουν οιστρογόνα, μικρή ποσότητα προγεστερόνης μόλις πριν την ωοθυλακιορρηξία και την πεπτιδική ορμόνη ανασταλτίνη (Vander et al 2011).

Η ύπαρξη των αρχέγονων ωοθυλακίων είναι πλήρως καθιερωμένη κατά τη γέννηση στα περισσότερα θηλαστικά. Ομοίως, η στρατολόγηση αδρανών αρχέγονων ωοθυλακίων (ωοθηκικό απόθεμα) σε μια ομάδα πρωτογενών ωοθυλακίων έτοιμη να αναπτυχθεί, αρχίζει στην εμβρυϊκή ζωή και συνεχίζεται μέχρις ότου εξαντληθεί το αποθεματικό των ωοθηκών, αφήνοντας πίσω μόνο περίπου 1000 αρχέγονα ωοθυλάκια στις ωοθήκες, και αυτό ονομάζεται εμμηνόπαυση ([Oktem and Oktay 2008](#_ENREF_154)).

Σε ότι αφορά τα ωάρια κατά τη γέννηση, είναι πρωτογενή ωοκύτταρα που περιέχουν 46 χρωματοσώματα, καθένα από τα οποία φέρει δύο αδελφές χρωματίδες. Τα πρωτογενή ωοκύτταρα (εντός των θυλάκων τους) αρχίζουν μείωση, αλλά η διαίρεση εξελίσσεται μόνο μέχρι την πρόφαση Ι (Pack 2001). Σε αυτή την περίπτωση λέγεται ότι τα κύτταρα αυτά βρίσκονται σε μειωτική παύση (Vander et al 2011). Η ανενεργός αυτή κατάσταση συνεχίζεται μέχρι την εφηβεία οπότε και παρατηρείται έναρξη και ανανέωση δραστηριότητας στις ωοθήκες. Μόνο εκείνα τα πρωτογενή ωοκύτταρα τα οποία προορίζονται για ωοθυλακιορρηξία θα ολοκληρώσουν την πρώτη μειωτική διαίρεση. Κατά τη διαίρεση αυτή κάθε θυγατρικό κύτταρο λαμβάνει 23 χρωματοσώματα, με 2 χρωματίδες το καθένα (Rae-Dupree and Dupree 2007). Η δεύτερη μειωτική διαίρεση λαμβάνει χώρα στη μήτρα ύστερα από την ωοθυλακιορρηξία, αλλά μόνο εάν το ωοκύτταρο γονιμοποιηθεί. Αποτέλεσμα της δεύτερης μειωτικής διαίρεσης είναι καθένα θυγατρικό κύτταρο να λάβει 23 χρωματοσώματα με μία χρωματίδη έκαστο. Το τελικό αποτέλεσμα της ωογένεσης είναι ότι καθένα πρωτογενές ωοκύτταρο μπορεί να παράγει μόνο ένα ωάριο (Vander et al 2011). Συνήθως, ένα μόνο ωοθυλάκιο ωριμάζει για να γίνει ένα Γραφιανό ωοθυλάκιο (Rae-Dupree and Dupree 2007).

Συμπερασματικά, οι ωοθήκες δεν παράγουν πλήρως ώριμους γαμέτες, τα ωάρια, αλλά μόνο δευτερογενή ωοκύτταρα και αυτό προκύπτει αφού ο σχηματισμός του ωαρίου συμβαίνει μόνο ύστερα από γονιμοποίηση (έξω από την ωοθήκη) (Vander et al 2011).

Το έναυσμα για να εισέλθουν τα αρχέγονα ωοθυλάκια στην κατάσταση της αφύπνισης ως πρωτογενή ωοθυλάκια παραμένει να διασαφηνιστεί. Αλλά η τρέχουσα αντίληψή μας υποδεικνύει ότι η αμφίδρομη σηματοδότηση μεταξύ του ωοκκυτάρου και των κοκκώδων κυττάρων που προέρχονται από το περιβάλλον επιθηλίου, και μεταξύ των κοκκώδων κυττάρων και των ενδιάμεσων κυττάρων σε συμφωνία με την αλληλεπίδραση τους με την μεσοκυττάρια ουσία και τους αυξητικούς παράγοντες είναι καθοριστικής σημασίας για την έναρξη της ανάπτυξης του ωοθυλακίου και την μετέπειτα εξέλιξη ([Oktay, Karlikaya et al. 2000](#_ENREF_150), [Eppig 2001](#_ENREF_64)). Αυτή η μετάβαση φαίνεται να είναι ανεξάρτητη από την γοναδοτροπίνη εξαιτίας της έλλειψης έκφρασης mRNA του υποδοχέα της FSH σε αρχέγονα ωοθυλάκια ([Oktay, Briggs et al. 1997](#_ENREF_149)).Τα πεπλατυσμένα αρχέγονα ωοθυλάκια μετασχηματίζονται σε ένα κυβοειδές σχήμα στο πρωτεύον στάδιο. Αυτό συμβαίνει μαζί με την αύξηση της διαμέτρου των ωοκυττάρων και την απόκτηση της μεμβρανικής ζώνης κατά τη διάρκεια της μετάβασης αυτής ([Lee, Otsuka et al. 2001](#_ENREF_117)).

Ένα αυξανόμενο σύνολο στοιχείων από μοντέλα τρωκτικών και in vitro πειράματα, καθώς και στοχευμένες γονιδιακές διαγραφές σε ποντίκια, μας δείχνουν ότι ορισμένα μέλη της υπεροικογένειας των αυξητικών παραγόντων (TGF-β) εκφράζονται από τα ωοκύτταρα και από τα ωοθηκικά σωματικά κύτταρα, ανάλογα με το στάδιο ανάπτυξης των ωοθυλακίων. Για παράδειγμα, οι ΒΜΡ-4 και ΒΜΡ-7 εκφράζονται τόσο από τα ωοθηκικά στρωματικά κύτταρα όσο και από τα κύτταρα Τheca και έχουν πρόσφατα εμπλακεί ως θετικοί ρυθμιστές της μετάπτωσης αρχέγονου-προς-πρωτογενούς ωοθυλακίου ([Lee, Otsuka et al. 2001](#_ENREF_117), [Nilsson and Skinner 2003](#_ENREF_146)). Αντιθέτως, ένα άλλο μέλος της οικογένειας TGF-β, γνωστό ως αντι-μουλλεριανή ορμόνη (ΑΜΗ, επίσης γνωστή ως ανασταλτική ουσία Mullerian) που είναι προέλευσης των κοκκωδών κυττάρων, έχει ανταγωνιστική δράση και αποτρέπει την μετάβαση αρχέγονου προς πρωτογενή ωοθυλακίου και την επακόλουθη εξέλιξη στο δευτερογενές στάδιο ([Durlinger, Gruijters et al. 2002](#_ENREF_59)).

Ορισμένες άλλες πεπτιδικές ορμόνες φαίνεται να εκφράζονται από τα προ-ωοθυλακικά κύτταρα των αρχέγονων θυλακίων, όπως ο KL (επίσης γνωστός ως παράγοντας βλαστοκυττάρων) και ο λευχαιμικός ανασταλτικός παράγοντας (LIF), οι οποίοι έχει αποδειχθεί in vitro, πως για να προάγουν την ανάπτυξη θυλακίων από το αρχέγονο προς το πρωτογενές στάδιο, διεγείρουν την αύξηση και την πρόσληψη ωοκυττάρων και έχει σαν αποτέλεσμα τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων Τheca από τα περιβάλλοντα στρωματικά κύτταρα. Επίσης, με την υπερέκφραση του KL, τα κύτταρα Τheca που προέρχονται από κύτταρα του αυξητικού παράγοντα των ινοβλαστών (FGF-7), αυξάνεται περαιτέρω η ανάπτυξη των ωοκυττάρων και ο πολλαπλασιασμός των κυττάρων Τheca. Με παρόμοιο τρόπο, ο FGF-2 που απελευθερώνεται από τα ωοκύτταρα των αρχέγονων ωοθυλακίων έχει αποδειχθεί ότι ρυθμίζει εκ των προτέρων την έκφραση του KL στα προ-ωοθυλακικά κύτταρα και προάγει την μετάβαση αρχέγονου-προς-πρωτογενούς ωοθυλακίου in vitro ([Nilsson and Skinner 2004](#_ENREF_147)). Ένα άλλο σημαντικό γονίδιο που εκφράζεται στα βλαστικά κύτταρα, ονομάζεται nobox, έχει αποδειχθεί ότι παίζει έναν κρίσιμο ρόλο κατά την πρώιμη ωοθυλακιογένεση. Η μετάπτωση αρχέγονου-προς-πρωτογενούς ωοθυλακίου διακόπτεται σε ποντίκια που στερούνται το γονίδιο nobox ([Rajkovic, Pangas et al. 2004](#_ENREF_178)).

Η εξέλιξη του πρωταρχικού ωοθυλακίου λειτουργεί συνεχώς μέχρι την εμμηνόπαυση. Αυτή η φάση εξέλιξης των ωοθυλακίων περιλαμβάνει τη διόγκωση των ωοκυττάρων, τον πολλαπλασιασμό των κοκκώδων κυττάρων ώστε να σχηματίσουν μια πολυστρωματική δομή και εν συνεχεία τη βασική μεμβράνη και την εσωτερική κυτταρική στοιβάδα Τheca. Κατά τη διάρκεια αυτής της φάσης, ένα ωοθυλάκιο φτάνει από 40 μm έως 120 μm σε διάμετρο ([Knight and Glister 2006](#_ENREF_107)). Καθώς το θυλάκιο αυξάνεται, κύτταρα συνδετικού ιστού σχηματίζουν τη θήκη, η οποία παίζει σημαντικό ρόλο στην έκκριση των οιστρογόνων. Σύντομα μετά από αυτό, τα πρωτογενή ωοκύτταρα παίρνουν το τελικό τους μέγεθος και αρχίζει να σχηματίζεται στο μέσο των κοκκιωδών κυττάρων το άντρο, το οποίο είναι ένα σπήλαιο γεμάτο από εκκριτικά υγρά που προέρχονται από αυτά τα κύτταρα (Vander et al 2011).

Πιστεύεται ότι η διαδικασία είναι ανεξάρτητη από την γοναδοτροπίνη, καθώς υπάρχουν αποδείξεις ότι τα ωοθυλάκια μπορούν να αναπτυχθούν απουσία της FSH ή του υποδοχέα FSH ([Dierich, Sairam et al. 1998](#_ENREF_57)). Επιπλέον, η FSH μόνη της σε απουσία ορού, δεν στηρίζει την ανάπτυξη in vitro αλλά ούτε αποτρέπει την ατρησία των πρωτογενών ωοθυλακίων. Ωστόσο, τα πρωτογενή ωοθυλάκια έχει αποδειχθεί ότι εκφράζουν υποδοχείς της FSH, και πολλά πειράματα - συμπεριλαμβανομένων των μελετών για μεταμόσχευση ωοθηκών - έχουν δείξει ότι η FSH μπορεί να προκαλέσει πρόωρη ανάπτυξη ωοθυλακίων in νίνο ([Oktay, Newton et al. 1998](#_ENREF_151)). Αυτή η παρατηρούμενη διαφορά δράσης της FSH μεταξύ in vitro και in vivo θα μπορούσε να αποδοθεί σε ορισμένους τοπικούς παράγοντες που δρουν σε συνεργασία ώστε να προάγουν την αύξηση και την επιβίωση των ωοθυλακίων in vivo ([Oktem and Oktay 2008](#_ENREF_154)).

Όπως αποδεικνύεται από τις μελέτες σε ποντίκια και in vitro , ορισμένα μέλη της οικογένειας TGF-β φαίνεται να ρυθμίζουν την ανάπτυξη των πρωτογενών ωοθυλακίων. Η in vitro έκθεση σε καλλιέργεια ,του ωοθηκικού ιστού στον παράγοντα διαφοροποίησης 9 (GDF-9), προήγαγε την πρωτογενή εξέλιξη των ωοθυλακίων τόσο σε ανθρώπους όσο και στους ποντικούς ([Hreinsson, Scott et al. 2002](#_ENREF_90)). Σε αντίθεση με τις καθιερωμένες επιδράσεις προαγωγής της ανάπτυξης του GDF-9, οι οποίες είναι σταθερές μεταξύ των ειδών, οι επιδράσεις στην ανάπτυξη ωοθυλακίων της ΒΜΡ-15, ένα άλλο μέλος προερχόμενο από ωοκύτταρα της οικογένειας TGF‐β, φαίνεται ότι ποικίλλουν μεταξύ των ειδών. Παρόλο που τα ποντίκια με μηδενικές μεταλλάξεις στο γονίδιο ΒΜΡ-15 είναι υπογόνιμα ([Yan, Wang et al. 2001](#_ENREF_231)), στα πρόβατα που είναι ομόζυγα για μεταλλάξεις που απενεργοποιύν το ΒΜΡ-15, τα ωοθυλάκια συγκρατούνται στο αρχέγονο στάδιο ([Juengel, Hudson et al. 2002](#_ENREF_99)). Πρόσφατες μελέτες, έχουν συνδέσει μια μετάλλαξη στο γονίδιο ΒΜΡ-15 με πρόωρη ωοθηκική ανεπάρκεια σε ανθρώπους ([Di Pasquale, Beck-Peccoz et al. 2004](#_ENREF_56)).

Επιπροσθέτως, οι ακτίνες ΒΜΡ-4 και ΒΜΡ-7, και ο TGF‐β από τα κύτταρα του κοκκώδους υμένα και τα κύτταρα Τheca έχουν εμπλακεί ως θετικοί ρυθμιστές της ανάπτυξης των πρωτογενών ωοθυλακίων, ενώ αυξημένη ανάπτυξη και επιβίωση έχουν αναφερθεί στην τρισδιάστατη καλλιέργεια των ανώριμων πρωτογενών ωοθυλακίων με ακτίνη-Α ([Oktem and Oktay 2007](#_ENREF_153)). Αντιθέτως, υπάρχουν στοιχεία που δείχνουν έναν αρνητικό ρόλο για την αντιμυλλέριο ορμόνη (ΑΜΗ) στην ανάπτυξη των πρωτογενών ωοθυλακίων. Η ΑΜΗ συντίθεται από τα κύτταρα του κοκκώδους υμένα των αναπτυσσόμενων ωοθυλακίων, και τα ποντίκια που δεν παράγουν την AMH δείχνουν αυξημένη την πρόσληψη των αρχέγονων ωοθυλακίων ([Durlinger, Kramer et al. 1999](#_ENREF_60)). Αυτές οι παρατηρήσεις δείχνουν μια αρνητική επίδραση της AMH στην ανάπτυξη ωοθυλακίων πέραν της μετάβασης αρχέγονο-πρωτογενές στάδιο. Τα επίπεδα της ΑΜΗ στο αίμα συσχετίζονται με τον αριθμό των δευτερογενών ωοθυλακίων που ανιχνεύονται με υπερηχογραφία και επομένως με το «αποθεματικό» των ωοθηκών. Τα επίπεδα της AMH μειώνονται στις προχωρημένες ηλικίες και καθίστανται μη ανιχνεύσιμα στις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες, υποδηλώνοντας έτσι ένα ρόλο για την AMH του κλινικού δείκτη του «αποθεματικού των ωοθηκών» ([van Rooij, Broekmans et al. 2002](#_ENREF_223)). Πρόσφατα έχει αποδειχθεί, ότι τα επίπεδα της ΑΜΗ μειώνονται σε ασθενείς με καρκίνο που υποβάλλονται σε θεραπεία με γοναδοτοξικές χημειοθεραπείες, παράλληλα με τη μείωση του αποθεματικού των ωοθηκών ([Oktay, Oktem et al. 2006](#_ENREF_152)). Εν αντιθέση, τα επίπεδα ΑΜΗ στον ορό αυξάνονται σε ασθενείς με πολυκυστικές ωοθήκες (PCOS) και αυτό είναι σύμφωνο με την σχετικά μεγάλη ομάδα των πρωτογενών ωοθυλακίων, χαρακτηριστικό που είναι και το κεντρικό στοιχείο της παθογένειας του συνδρόμου PCOS ([Pigny, Merlen et al. 2003](#_ENREF_170)).

Η προοδευτική μετάβαση κάποιων αρχέγονων θυλακίων σε προσπηλαιώδη, χωρίς άντρο, κατάσταση και σε πρώιμο σπηλαιώδες στάδιο, με άντρο, επέρχεται καθ’ όλο τον καταμήνιο κύκλο. Με την έναρξη κάθε καταμήνιου κύκλου 10-25 από αυτά τα θυλάκια διεγείρονται και αρχίζουν να αναπτύσσονται σε μεγάλα σπηλαιώδη θυλάκια. Ωστόσο, μόνο ένα από αυτά καταφέρνει να ολοκληρώσει τη διαδικασία της ωρίμανσης. Μέσα στην πρώτη εβδομάδα του κύκλου περίπου, το κυρίαρχο θυλάκιο συνεχίζει να αναπτύσσεται ενώ τα άλλα θυλάκια εκφυλλίζονται, μέσα από μία διαδικασία που ονομάζεται ατρησία. Το κυρίαρχο θυλάκιο, πριν την ωοθυλακιορρηξία ταυτοποιείται ως μία κύστη με λεπτά τοιχώματα, η οποία αγγίζει σε μέγεθος περίπου τα 15-25 mm (Hamm and Forstner 2007).

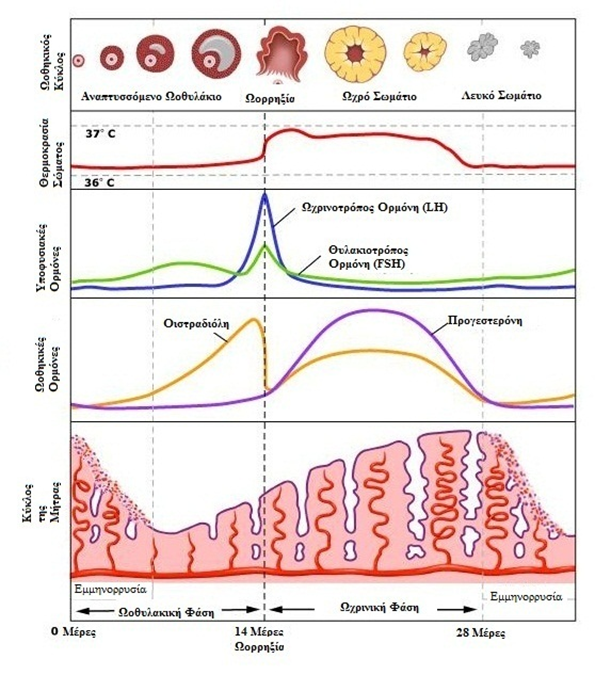
Καθώς το κυρίαρχο θυλάκιο μεγεθύνεται, τα στρώματα των κοκκιωδών κυττάρων σχηματίζουν ένα γήλοφο ο οποίος προβάλλει μέσα στο άντρο και λέγεται ωοφόρος δίσκος του θυλακίου. Λίγο πριν συμβεί η ωοθυλακιορρηξία, το ωάριο πραγματοποιεί τη πρώτη μειωτική του διαίρεση και γίνεται δευτερογενές ωοκύτταρο. Ο ωοφόρος δίσκος ελευθερώνεται από το τοίχωμα του θυλακίου έτσι ώστε το ωοκύτταρο το οποίο περιβάλλεται από αυτόν να επιπλέει ελεύθερα μέσα στο υγρό του άντρου. Το ώριμο θυλάκιο (Γραφιανό) μεγαλώνει τόσο πολύ ώστε εκπίπτει έξω από την ωοθήκη. Όλες αυτές οι διαδικασίες συμβαίνουν περίπου την 14η ημέρα του καταμήνιου κύκλου (Vander et al 2011).

Με την απελευθέρωση του υγρού του άντρου και του ωαρίου, το θυλακικό υλικό που απέμεινε συρρικνώνεται γύρω από το άντρο και μετατρέπεται. Τα κοκκιώδη κύτταρα μεγεθύνονται και ολόκληρη η αδενώδης δομή, γνωστή ως ωχρό σωμάτιο, εκκρίνει οιστρογόνα, προγεστερόνη και ανασταλτίνη. Εάν, το απελευθερούμενο ωάριο στους ωαγωγούς δεν γονιμοποιηθεί, το ωχρό σωμάτιο μεγαλώνει στο μέγιστο μέσα σε 10 περίπου μέρες και στη συνέχεια εκφυλίζεται. Αυτό οδηγεί σε εμμηνορρυσία και αρχή ενός νέου καταμήνιου κύκλου (Vander et al 2011).

Ο καταμήνιος κύκλος χωρίζεται σε δύο φάσεις, περίπου ίσης διάρκειας:

1. τη ωοθυλακική (ή παραγωγική) φάση, η οποία περιλαμβάνει την ανάπτυξη ενός ώριμου ωοθυλακίου και ενός δευτερογενούς ωοκυττάρου και
2. την ωχρινική (ή εκκριτική) φάση, η οποία ξεκινά μετά την ωοθυλακιορρηξία και φτάνει μέχρι τον εκφυλισμό του ωχρού σωματίου.

Η μεταφορά του ωαρίου στον ωαγωγό της σάλπιγγας γίνεται κατά την ωοθυλακιορρηξία. Οι κροσσοί στο τέλος των ωαγωγών έχουν βλεφαροειδές επιθήλιο το οποίο με τις μαστιγιοκροσσωτές κινήσεις του αναρροφά το ωάριο εντός του ωαγωγού. Όταν το ωάριο βρεθεί στον ωαγωγό κινείται γρήγορα για μερικά λεπτά και έπειτα καθοδηγείται μόνο από τις κινήσεις των κροσσών και η διαδικασία αυτή διαρκεί περίπου 4 ημέρες ώσπου να φτάσει στη μήτρα (Vander et al 2011)



***Εικόνα. Ο καταμήνιος κύκλος της γυναίκας*** (Vander et al 2011)

Ολόκληρη η ακολουθία των βασικών ελέγχων εξαρτάται από την έκκριση της GnRH από τα υποθαλαμικά νευροενδοκρινή κύτταρα. Οι τιμές της FSH είναι υψηλές στο πρώιμο στάδιο της θυλακικής φάσης και μειώνονται σταθερά στο υπόλοιπο διάστημα του καταμήνιου κύκλου, εκτός από μία μικρή κορύφωση στο μέσο του κύκλου. Οι τιμές της LH είναι σχεδόν σταθερές κατά τη μεγαλύτερη διάρκεια της θυλακικής φάσης αλλά ξαφνικά ανυψώνονται (παλιρροϊκό κύμα LH), 18 ώρες πριν την ωοθυλακιορρηξία, και στη συνέχεια μειώνονται κατά την ωχρινική φάση. Οι τιμές των οιστρογόνων είναι σταθερά χαμηλές κατά την πρώτη εβδομάδα της θυλακικής φάσης και στη συνέχεια αυξάνονται κατά τη διάρκεια της δεύτερης εβδομάδας, διότι τα ωοθυλάκια αναπτύσσονται και εκκρίνουν αυτές τις ορμόνες. Ακολούθως οι τιμές μειώνονται ύστερα από την κορύφωση της LH. Έπειτα έχουμε μία δεύτερη αύξηση που οφείλεται στην έκκριση του ωχρού σωματίου και τελικά μία ραγδαία μείωση στις τελευταίες ημέρες του κύκλου. Οι τιμές της ανασταλτίνης είναι αυξημένες κατά την τελευταία θυλακική και ωχρινική φάση και ύστερα μειώνονται καθώς το ωχρό σωμάτιο εκφυλίζεται. Η αύξηση της FSH κυρίως, που συμβαίνει όταν τελειώνει ένας κύκλος και αρχίζει ένας άλλος, είναι αυτή που διεγείρει τα ωοθυλάκια να μεγεθύνονται (Vander et al 2011).

Κατά τη διάρκεια της επόμενης εβδομάδας, η FSH και η LH έχουν διαφορετικές επιδράσεις στα θυλάκια: η FSH δρά στα κοκκιώδη κύτταρα διεγείροντας τα να παράγουν οιστρογόνα και επίσης διεγείρει το σχηματισμό και τη μεγέθυνση του άντρου. Η LH δρα στα κύτταρα της θήκης διεγείροντας τα για να πολλαπλασιάζονται και να συνθέτουν ανδρογόνα, τα οποία μετατρέπονται σε οιστρογόνα μέσα στα κοκκιώδη κύτταρα (Vander et al 2011).

Στην αρχή της δεύτερης εβδομάδας ένα θυλάκιο έχει καταστεί κυρίαρχο. Τα κοκκιώδη κύτταρά του έχουν μεγαλύτερη ευαισθησία στις FSH και LH. Το κυρίαρχο θυλάκιο αρχίζει να εκκρίνει οιστρογόνα. Τα οιστρογόνα δρουν στην πρόσθια υπόφυση μειώνοντας την εκκρινόμενη ποσότητα των FSH και LH (αρνητική ανατροφοδότηση). Τα κοκκιώδη κύτταρα εκκρίνουν επίσης ανασταλτίνη που μειώνει και αυτή την έκκριση της FSH, με αποτέλεσμα οι τιμές της της FSH να μειώνονται. Οι υψηλές τιμές των οιστρογόνων αυξάνουν την έκκριση της GnRH από τον υποθάλαμο (θετική ανατροφοδότηση) (Vander et al 2011).

Καθώς τα επίπεδα στο αίμα των οιστρογόνων αρχίσουν να αυξάνονται, η υπόφυση σταματά την απελευθέρωση FSH και αρχίζει την απελευθέρωση της LH, η οποία ζητά από το Γραφιανό ωοθυλάκιο τώρα στην επιφάνεια της ωοθήκης να ριχθεί, προκαλώντας ωοθυλακιορρηξία, δηλαδή την απελευθέρωση του ωαρίου (Rae-Dupree and Dupree 2007). Το παλιρροϊκό κύμα της LH στο μέσο του κύκλου επιφέρει την ωοθυλακιορρηξία. Επίσης διεγείρει τη μετατροπή των κοκκιωδών κυττάρων και των κυττάρων της θήκης σε ωχρό σωμάτιο (Vander et al 2011).

Οι υψηλές τιμές οιστρογόνων, προγεστερόνης και ανασταλτίνης κατά την ωχρινική φάση του κύκλου μειώνουν τις τιμές των γοναδοτροπινών (FSH και LH). Με τον εκφυλισμό του ωχρού σωματίου τα οιστρογόνα και η προγεστερόνη μειώνονται ενώ οι FSH και LH αυξάνονται και έτσι διεγείρεται μία νέα ομάδα ωοθυλακίων για να ωριμάσει. Ο καταμήνιος κύκλος τότε ξεκινά πάλι από την αρχή (Rae-Dupree and Dupree 2007).

**ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2**

**ΑΝΔΡΙΚΗ ΚΑΙ ΓΥΝΑΙΚΕΙΑ ΥΠΟΓΟΝΙΜΟΤΗΤΑ**

**2.1 Εισαγωγή**

Υπογονιμότητα ορίζεται ως η αδυναμία σύλληψης μετά από μια περίοδο 12 μηνών τακτικής σεξουαλικής επαφής με τον ίδιο σύντροφο. Η πιθανότητα επίτευξης μιας εγκυμοσύνης εντός ενός εμμηνορροϊκού κύκλου είναι 20% ([Evers 2002](#_ENREF_65)). Η υπογονιμότητα παραμένει ένα επικρατές πρόβλημα μεταξύ των ζευγαριών παγκοσμίως. Σύμφωνα με εκτιμήσεις, 4-17% των ζευγαριών αναζητούν ιατρική περίθαλψη ώστε να διορθώσουν τη υπογονιμότητά τους και είναι λογικό να υποθέσουμε ότι υπάρχουν πολλές περισσότερες περιπτώσεις υπογονιμότητας που δεν έχουν αναφερθεί ([Hamada, Esteves et al. 2012](#_ENREF_81)). Περίπου το ένα τρίτο των περιπτώσεων υπογονιμότητας οφείλονται στον αρσενικό παράγοντα, το ένα τρίτο στον γυναικείο παράγοντα και το υπόλοιπο σε ένα συνδυασμό αυτών ή σε άγνωστες αιτίες ([Serour 2009](#_ENREF_198)).

Η υπογονιμότητα μπορεί να προκληθεί από ελαττώματα στην ανάπτυξη του ουρογεννητικού συστήματος και τη λειτουργία του, από γενετικά ελαττώματα του ενδοκρινικού συστήματος, συμπεριλαμβανομένου του άξονα υποθαλάμου-υπόφυσης-γονάδας και από ελαττώματα στη γαμετογένεση, την εκσπερμάτωση, τη λειτουργία των γαμετών, τη γονιμοποίηση ή πρώιμη εμβρυϊκή ανάπτυξη. Επίσης μπορεί να συμβεί δευτερογενής ή επίκτητη υπογονιμότητα, όπως μετά από βλάβη στη σάλπιγγα, αγγειεκτομή ή έκθεση σε γοναδοτοξίνες ([Matzuk and Lamb 2008](#_ENREF_133)).

Κατά τη γέννηση περίπου 6 / 1.000 άτομα έχουν χρωμοσωμικές ανωμαλίες, σε περίπου 60% των περιπτώσεων αυτές οι ανωμαλίες προκαλούν θάνατο ή στειρότητα. Περίπου 1,7% των ατόμων (3,4% των ζευγαριών) με υποτροπιάζουσα αυθόρμητη αποβολή, στειρότητα ή και τα δύο έχουν χρωμοσωμική ανωμαλία. Οι χρωμοσωμικές ανωμαλίες είναι πολύ πιο συχνές στους άνδρες από τις γυναίκες με υπογονιμότητα. Το 15% έως 20% των ανδρών με αζωοσπερμία έχουν το σύνδρομο Klinefelter. Τα μειοτικά ελαττώματα εξηγούν το 20% της ανδρικής υπογονιμότητας σε ασθενείς με φαινομενικά φυσιολογικά χρωμοσώματα. Οι συγγενείς παραμορφώσεις των γεννητικών οργάνων είναι πιο συχνές στους άνδρες από τις γυναίκες. Σχεδόν το ένα έκτο των γυναικών με πρωτοπαθή αμηνόρροια έχει κάποιας μορφής ατρησία του αγωγού Μüllerian, συνήθως με συναφείς νεφρικές ανωμαλίες ([Opitz, Shapiro et al. 1979](#_ENREF_159)).

Στην αξιολόγηση της ανδρικής και γυναικείας υπογονιμότητας, το ιστορικό, το οικογενειακό ιστορικό, η κλινική εξέταση και οι ενδοκρινολογικές και γοναδικές λειτουργικές αξιολογήσεις είναι οι πιο κατατοπιστικές μετρήσεις. Η αιτία της υπογονιμότητας δεν απαντάται ποτέ στο 17,5% των ζευγαριών και στο ένα τέταρτο περίπου των ανδρών. Σε πάνω από το ένα τρίτο των περιπτώσεων,η αρσενική υπογονιμότητα οφείλεται στην κιρσοκήλη. Στο 40% των γυναικών, η υπογονιμότητα μπορεί να αποδοθεί σε παράγοντες των ωοθηκών ή του τραχήλου, παθολογία των φαλλοπιανών σωλήνων, ενδομητρίωση και άλλες πυελικές ασθένειες ή συνδυασμός αυτών των παραγόντων. Για τα ζευγάρια με πρωτογενή υπογονιμότητα το ποσοστό γονιμότητας μετά από επτά χρόνια είναι μόνο 36%, όμως σε τέτοιες περιπτώσεις ο νεογνικός ρυθμός θανάτου, η συχνότητα του χαμηλού βάρους γέννησης και η συχνότητα εμφάνισης μεγάλων δυσπλασιών είναι αρκετές φορές μεγαλύτερες από ό, τι στον κανονικό πληθυσμό ([Opitz, Shapiro et al. 1979](#_ENREF_160)).

**2.2 Ανδρική υπογονιμότητα**

Η υπογονιμότητα θεωρείται είτε πρωτογενής, όταν δεν έχει υπάρξει ποτέ εγκυμοσύνη, ή δευτερογενής, όπου υπήρξε εγκυμοσύνη, ανεξάρτητα από το αποτέλεσμα. Περίπου ένα στα δέκα ζευγάρια είναι στείρα για πολλούς πιθανούς λόγους, με τον ανδρικό παράγοντα να είναι υπεύθυνος για το 50% περίπου των περιπτώσεων. Περίπου στο 30% των περιπτώσεων, τα αίτια της ανδρικής υπογονιμότητας είναι άγνωστα. Η ανδρική υπογονιμότητα είναι ένα πολυπαραγοντικό σύνδρομο που περιλαμβάνει μια μεγάλη ποικιλία διαταραχών. Σε περισσότερους από τους μισούς υπογόνιμους άνδρες, η αιτία της υπογονιμότητάς τους είναι άγνωστη (ιδιοπαθής) και θα μπορούσε να είναι συγγενής ή επίκτητη. Έως και το 10% της υπογονιμότητας δεν μπορεί να εξηγηθεί ιατρικά ([Poongothai, Gopenath et al. 2009](#_ENREF_172)).

Οι γνωστές αιτίες της ανδρικής υπογονιμότητας είναι πολυάριθμες αλλά μπορούν να ομαδοποιηθούν σε έναν αριθμό κύριων κατηγοριών. Η ανδρική υπογονιμότητα σχετίζεται με αρκετές γενετικές και μη- γενετικές συνθήκες ([Poongothai, Gopenath et al. 2009](#_ENREF_172)).

Γενετικές ανωμαλίες έχουν εντοπιστεί σε άνδρες με ανεξήγητη ολιγοζωοσπερμία και αζωοσπερμία, συμπεριλαμβανομένων αριθμητικών και δομικών χρωμοσωμικών ανωμαλιών. Οι γενετικοί παράγοντες που εμπλέκονται στην ανδρική υπογονιμότητα εκδηλώνονται ως χρωμοσωμικές διαταραχές, μεταλλάξεις μιτοχονδριακού DNA (mtDNA), μονογονιδιακές διαταραχές, πολυπαραγοντικές διαταραχές και ενδοκρινικές διαταραχές γενετικής προέλευσης ([Chandley 1998](#_ENREF_37)).

**2.2.1 Χρωμοσωμικές διαταραχές της ανδρικής υπογονιμότητας**

Η γενετική βλάβη στο σπέρμα μπορεί να εμφανιστεί σε πολλά επίπεδα, τα οποία όλα έχουν τη δυνατότητα να προκαλέσουν υπογονιμότητα στους άνδρες. Οι χρωμοσωμικές ανωμαλίες των σπερματοζωαρίων παρατηρούνται συχνότερα σε άνδρες με μειωμένο αριθμό σπερματοζωαρίων (ολιγοζωοσπερμία), μειωμένη κινητικότητα (ασθενοζωοσπερμία) ή υψηλό ποσοστό μορφολογικά ανώμαλου σπέρματος (τερατοζωοσπερμία). Αρκετές αναφορές έδειξαν ότι τα ποσοστά δυσωμίας για τα αυτοσωμικά και τα φυλετικά χρωμοσώματα είναι 0,11% και 0,44% για τους νορμοζωοσπερμικούς στείρους άντρες και ο ρυθμός διπλοειδίας είναι 0,3-1%. Η πιο συχνή χρωμοσωμική ανωμαλία του σπέρματος σε υπογόνιμους άνδρες είναι η διπλοειδία, προερχόμενη είτε από μειοτικές μεταλλάξεις είτε από έναν κρυψορχικό όρχι. Η πιθανότητα ανωμαλιών των φυλετικών χρωμοσωμάτων είναι 15 φορές μεγαλύτερη στους στείρους άντρες από ό, τι στον γενικό πληθυσμό, ενώ οι αυτοσωμικές ανωμαλίες εμφανίζονται με έξι φορές μεγαλύτερη συχνότητα ([Hamada, Esteves et al. 2012](#_ENREF_81)). Κύριες αιτίες αποτελούν το σύνδρομο Klinefelter (XXY) και χρωμοσωμικές μετατοπίσεις ([McLachlan, Mallidis et al. 1998](#_ENREF_136)). Δύο σημαντικά γονιδιακά ελαττώματα που σχετίζονται αποκλειστικά με την αποτυχία της σπερματογένεσης είναι οι σημειακές μεταλλάξεις στον ανδρογονικό υποδοχέα και στο γονίδιο του ρυθμιστή διαμεμβρανικής αγωγιμότητας της κυστικής ίνωσης (CFTR), που σχετίζεται συνήθως με συγγενείς ανωμαλίες του σπερματικού πόρου([Poongothai, Gopenath et al. 2009](#_ENREF_172)).

Η βλάβη του DNA του σπέρματος είναι ένας ευρύς όρος που καταδεικνύει πολλά ελαττώματα στη δομή του DNA που περιλαμβάνουν: μονά ή διπλά θραύσματα DNA κλώνων, διαγραφή ή τροποποίηση βάσης, διασύνδεση μεταξύ κλώνων ή εντός κλώνου και διασύνδεση DNA-πρωτεΐνης. Οι μειωτικά διεγερμένες αποφρακτικές απόπτωσεις, τα ανεπίλυτα θραύσματα των κλώνων κατά τη διάρκεια της σπερματογένεσης και το οξειδωτικό στρες έχουν όλες εμπλακεί ως πιθανές πηγές αυτής της βλάβης. Πρόσθετοι παράγοντες που σχετίζονται με την αλλοιωμένη ακεραιότητα του DNA είναι η προχωρημένη πατρική ηλικία, η ανεπαρκής διατροφή, η χρήση ναρκωτικών, η χρήση καπνού, οι περιβαλλοντικοί παράγοντες όπως η έκθεση σε φυτοφάρμακα ή η ατμοσφαιρική ρύπανση, η κιρσοκήλη, οι συστηματικές ασθένειες και η φλεγμονή των γεννητικών οργάνων. Μελέτες έχουν συνδέσει τη βλάβη του DNA με την υπογονιμότητα, δείχνοντας μεγαλύτερη βλάβη στο DNA του σπέρματος των στείρων ανδρών από τους γόνιμους άνδρες. Στην πραγματικότητα, έχει προταθεί ότι ο θρυμματισμός του DNA του σπέρματος είναι μία από τις κύριες αιτίες μειωμένου δυναμικού γονιμότητας. Η βλάβη του DNA αναφέρεται σε 5-8% των υπογόνιμων νορμοζωοσπερμίων ([Hamada, Esteves et al. 2012](#_ENREF_81)).

Τα υψηλά ποσοστά βλάβης του DNA στα σπερματοζωάρια έχουν αρνητικό αντίκτυπο στην ικανότητα του άνδρα να επιτύχει φυσιολογικά την εγκυμοσύνη και συσχετίζονται με την αυθόρμητη απώλεια εγκυμοσύνης. Έχει επίσης αποδειχθεί ότι υψηλά ποσοστά βλάβης του DNA στα σπερματοζωάρια συσχετίζονται με την αποτυχία της γονιμοποίησης στην ενδομήτρια σπερματέγχυση (IUI) και τη συμβατική γονιμοποίηση IVF in vitro , αλλά όχι με την ενδοκυτταροπλασματική έγχυση σπέρματος ICSI ([Hamada, Esteves et al. 2012](#_ENREF_81)).

Μικροελλείψεις του Υ χρωμοσώματος

Ένα από τα σημαντικότερα παθογενετικά ελαττώματα που συνδέονται με την ανδρική υπογονιμότητα είναι μικροδιαγραφές του μακρού βραχίονα του Υ χρωμοσώματος (Yq). 13% των αζωοσπερμικών ανδρών, 1% -7% των σοβαρών ολιγοζωοσπερμιών, 5% των ανδρών με σοβαρή αποτυχία πρωτογενούς ανάπτυξης όρχι και με σπέρμα πυκνότητας μικρότερη από 5 εκατομμύρια / ml έδειξε μικροδιαγραφή του Υ χρωμοσώματος ([McLachlan, Mallidis et al. 1998](#_ENREF_136)). De novo διαγραφές του μακρού βραχίονα του Υ χρωμοσώματος είναι από τις πιο συχνά εμφανιζόμενες χρωμοσωμικές ανωμαλίες στους άνδρες και πιστεύεται ότι προκύπτουν από ανασυνδυασμούς μεταξύ μακρυών τμημάτων μεγάλων επαναλαμβανόμενων ακολουθιών DNA κατά τη διάρκεια της μείωσης ή της πρώιμης προεμφυτευτικής ανάπτυξης του όρχι. Αυτές οι ελλείψεις, επίσης γνωστές και ως AZF (azoospermia factor), διακρίνονται σε 4 κύριους τύπους, AZFa, AZFb, AZFc, AZFd. Είναι γνωστό ότι οι περιοχές αυτές του Υ χρωμοσώματος είναι υπεύθυνες για την έκφραση σημαντικών γονιδίων στη σπερματογένεση, και οδηγούν σε σημαντική μείωση ή και ολική αναστολή της παραγωγής σπερματοζωαρίων στους όρχεις. Συνεπώς, οι μικροδιαγραφές του Υ χρωμοσώματος συμβάλλουν μόνο περιθωριακά στο σύνολο της ανδρικής υπογονιμότητας, αλλά όταν υπάρχει, η εισαγωγή της ενδοκυτταροπλασματικής έγχυσης σπέρματος (ICSI) ως μια τεχνική υποβοηθούμενης αναπαραγωγής τότε μπορεί να επιτρέψει τη μετάδοση τέτοιων μεταλλάξεων στην επόμενη γενιά ([Poongothai, Gopenath et al. 2009](#_ENREF_172)).

Λαμβανομένου υπόψη αυτού του χαμηλού επιπολασμού των μικροελλείψεων Yq, είναι προφανές ότι και άλλοι παράγοντες, συμπεριλαμβανομένων των γενετικών παραγόντων, πρέπει να προκαλούν προβλήματα γονιμότητας. Ενδεχομένως, διαγραφές gr/gr (μερικές διαγραφές της περιοχής AZFc) μπορεί να επηρεάσουν την κατάσταση γονιμότητας των ασθενών. Παραμένει, ωστόσο, ασαφές ποια από τα γονίδια που εντοπίζονται στις απαλειφθείσες περιοχές είναι σημαντικά για την εξέλιξη της σπερματογένεσης, σε περιπτώσεις μερικών ή πλήρων διαγραφών AZF ([Stouffs, Vandermaelen et al. 2009](#_ENREF_210)).

Μεταλλάξεις στα γονίδια που βρίσκονται στο χρωμόσωμα Χ.

Το χρωμόσωμα Χ είναι ενδιαφέρον ενόψει της μελέτης της ανδρικής υπογονιμότητας αφού οι άνδρες έχουν μόνο ένα αντίγραφο των χρωμοσωμάτων του φύλου. Κατά συνέπεια, οι μεταλλάξεις στα γονίδια που είναι κρίσιμα για τη σπερματογένεση θα έχουν άμεσο αντίκτυπο στην παραγωγή σπερματοζωαρίων. Τα γονίδια NXF2, USP26 και TAF7L ερευνήθηκαν για την παρουσία μεταλλάξεων. Όλες οι παρατηρούμενες μονές νουκλεοτιδικές αλλαγές ήταν επίσης παρούσες σε δείγματα ελέγχου, αμφισβητώντας τη σχέση τους με την ανδρική υπογονιμότητα ([Stouffs, Vandermaelen et al. 2009](#_ENREF_210)).

Επίσης, υπάρχουν μελέτες για πέντε αυτοσωματικά γονίδια: SYCP3, MSH4, DNMT3L, STRA8 και ETV5. Μόνο για τα γονίδια STRA8 και ETV5, ανιχνεύθηκαν μεταβολές που απουσίαζαν σε πληθυσμό ελέγχου που υπήρχε στους άνδρες με κανονικό σπέρμα. Η λειτουργική ανάλυση των αλλαγών στο ETV5 και ο εντοπισμός της αλλαγής που παρατηρήθηκε στο STRA8 έδειξε ότι και αυτές οι μεταβολές δεν ήταν πιθανώς η αιτία των προβλημάτων γονιμότητας στους άνδρες αυτούς. Μπορεί να εξαχθεί το συμπέρασμα ότι οι μεταλλάξεις σπάνια ανιχνεύονται σε άνδρες με προβλήματα γονιμότητας. Αυτή η χαμηλή συχνότητα μεταλλάξεων έχει επίσης επιβεβαιωθεί σε αρκετές δημοσιευμένες μελέτες. Ως εκ τούτου, είναι απαραίτητη περαιτέρω έρευνα για τον προσδιορισμό του αντίκτυπου των γενετικών αιτίων στην ανδρική υπογονιμότητα ([Stouffs, Vandermaelen et al. 2009](#_ENREF_210)).

Μεταλλάξεις μιτοχονδριακού DNA

Εκτός από ορισμένα γονίδια του πυρήνα, τα μιτοχόνδρια έχουν το δικό τους γονιδίωμα, το οποίο είναι ικανό να παράγει πολλά από τα απαραίτητα συστατικά της αλυσίδας που έχουν μια βαθιές επιπτώσεις στη κινητικότητα του σπέρματος. Η ποιότητα και η ποσότητα της παραγωγής σπέρματος μπορεί να επηρεαστεί πολύ τόσο από περιβαλλοντικούς όσο και από γενετικούς παράγοντες. Τα σπερματοζωάρια είναι κύτταρα με υψηλή απαίτηση (ΑΤΡ), και για το λόγο αυτό τα σπερματικά μιτοχόνδρια παίζουν σημαντικό ρόλο σε αυτά ([Kao, Chao et al. 2004](#_ENREF_104)).

Οι μονογονιδιακές γενετικές διαταραχές εμφανίζονται ως άμεση συνέπεια όταν ένα μόνο γονίδιο είναι ελαττωματικό. Τέτοιες διαταραχές κληρονομούνται με απλή διάταξη (simple pattern) σύμφωνα με τους νόμους του Mendel. Υπάρχουν πάνω από 50 μονογονιδιακές διαταραχές που σχετίζονται με την ανδρική υπογονιμότητα, σε μερικές από τις οποίες έχει περιγραφεί το πρωταρχικό γενετικό ελάττωμα ([Poongothai, Gopenath et al. 2009](#_ENREF_172)).

Πολυπαραγοντικές διαταραχές

Οι πολυπαραγοντικές διαταραχές που οφείλονται σε μεταλλάξεις σε πολλαπλά γονίδια, συχνά είναι σε συνδυασμό με περιβαλλοντικές αιτίες. Μια μετάλλαξη (C677T) στο γονίδιο, μεθυλενοτετραϋδροφυλλική ρεδουκτάση (MTHFR), είναι γνωστό ότι αυξάνει την ευαισθησία σε διάφορες πολυπαραγοντικές διαταραχές ([Singh, Singh et al. 2005](#_ENREF_204)). Μερικά σημαντικά γενετικά αίτια που σχετίζονται με την ανδρική υπογονιμότητα παρουσιάζονται στο σχήμα 2

Ορισμένες ανωμαλίες που σχετίζονται με την υπογονιμότητα κληρονομούνται, όπως οι αμοιβαίες και Ρομπερτσονιακές μετατοπίσεις και CFTR μεταλλάξεις. Από όλους τους γενετικούς παράγοντες, η μελέτη των μικροδιαγραφών του Υ χρωμοσώματος είναι ιδιαίτερα σημαντική λόγω της πιθανότητας μετάδοσης γενετικών ανωμαλιών στους απογόνους, καθώς οι τεχνικές αυτές παρακάμπτουν τους φυσιολογικούς μηχανισμούς που σχετίζονται με τη γονιμοποίηση. Πολύ πρόσφατα, οι μιτοχονδριακές μεταλλάξεις του σπέρματος έχουν κερδίσει μεγάλη προσοχή ([Poongothai, Gopenath et al. 2009](#_ENREF_172)).

Ασθενοζωοσπερμία

Η συνήθης ανάλυση σπέρματος αξιολογεί την εκσπερμάτωση για ανωμαλίες του αριθμού σπερματοζωαρίων, μορφολογία και κινητικότητα. Συνήθως παρατηρούνται τα ελαττώματα κινητικότητας του σπέρματος, που ονομάζονται ασθενοζωοσπερμία. Μοντέλα ποντικιών που παρουσιάζουν ασθενοζωοσπερμία έδωσαν ενδείξεις σχετικά με τα πιθανά γονιδιακά ελαττώματα στον άνθρωπο. Στο φλοιό, το ινώδες περίβλημα περιβάλλει την αξονέμη και τις εξωτερικές πυκνές ίνες, λειτουργώντας όχι μόνο δομικά κατά τη διάρκεια της κίνησης των μαστιγίων, αλλά και ως ικρίωμα για το γλυκολυτικό μηχανισμό που είναι αναγκαίος για τη δημιουργία της απαραίτητης ενέργειας για την κινητικότητα του σπέρματος ([Krisfalusi, Miki et al. 2006](#_ENREF_111)) . Η πρωτεϊνωματική ανάλυση του σπέρματος ποντικού και ανθρώπου από φυσιολογικά άτομα και άτομα με ασθενοζωοσπερμία ταυτοποίησε γνωστές πρωτεΐνες καθώς και απροσδόκητες πρωτεΐνες στο φλοιό ([Cao, Gerton et al. 2006](#_ENREF_33)). Μεταξύ των πρωτεϊνών που εντοπίζονται στο ινώδες περίβλημα είναι η πρωτεΐνη (AKAP4), μια κυτταρική πρωτεΐνη κινάσης εξαρτώμενη από c-ΑΜΡ, καθώς και αρκετά γλυκολυτικά ένζυμα ([Eddy, Toshimori et al. 2003](#_ENREF_61)). Σχεδόν πάνω από 30 χρόνια, οι Chemes et al . ταυτοποίησαν τη δυσπλασία του ινώδους χιτώνα ως υπερδομικό ελάττωμα που προκαλεί υπογονιμότητα λόγω ανομοιομορφίας ([Chemes, Brugo et al. 1987](#_ENREF_39)).  Έχουν ανακαλυφθεί γονιδιακές απαλοιφές του AKAP4  και μερικές διαγραφές των AKAP3 και AKAP4 σε άτομα με δυσπλασία του ινώδους περιβλήματος , αν και αυτές οι μεταλλάξεις είναι σπάνιες ([Turner, Musse et al. 2001](#_ENREF_219)).

Σύμφωνα με μια πολυπαραγοντική αιτιολογία της ανδρικής υπογονιμότητας, μπορούν να εντοπιστούν ελαττώματα στην αξονέμη και στις εξωτερικές πυκνές ίνες σε άτομα με ασθενοζωοσπερμία που προέρχεται από γενετικές διαταραχές, όπως η πρωτοπαθής δυσκινησία των μαστιγίων και το σύνδρομο Kartagener. Αν και περίπου τα μισά από τα άτομα με σύνδρομο Kartagener έχουν μεταλλάξεις στα dynein γονίδια (κυρίως DNAH11), (είναι γονίδια που σχετίζονται με μια ΑΤΡάση ειδική για μικροσωληνάρια που εμπλέκονται στην κίνηση των κυτταρικών οργανιδίων και δομών)([Schwabe, Hoffmann et al. 2008](#_ENREF_193)), ο επιπολασμός των μεταλλάξεων στα γονίδια που κωδικοποιούν τις πρωτεΐνες στο σύμπλεγμα αξονέμη- dynein δεν είναι γνωστός στους άνδρες με ασθενοζωοσπερμία. Μεταλλάξεις στα γονίδια που κωδικοποιούν τις DNAI1, DNAH5 και DNAH11 , και στο γονίδιο που κωδικοποιεί την τεκτίνη-1 ( TEKT1, μια πρωτεΐνη Αλφα έλικας που απαιτείται για τη συναρμολόγηση των μαστιγίων), που όλα εντοπίζονται στους βραχίονες της εξωτερικής αρτηρίας, βρέθηκαν σε μια μικρή ομάδα ανδρών με ασθενοζωοσπερμία ([Zuccarello, Ferlin et al. 2008](#_ENREF_238)).

Αζωοσπερμία

Η αζωοσπερμία μπορεί να οριστεί με ιστολογική εξέταση των όρχεων, η οποία μπορεί να παρουσιάσει αποκλειστικά φαινότυπο κυττάρων Sertoli, ωρίμανση ή μειοτική ανακοπή, υποσπερματογένεση (χαμηλή ποσότητα κυττάρων με όλους τους κυτταρικούς τύπους) ή φυσιολογική αλλά αποφράζουσα σπερματογένεση ([Matzuk and Lamb 2008](#_ENREF_133)).

Εκτός από τα ελαττώματα στα σύνθετα ρυθμιστικά γεγονότα που συμβαίνουν κατά τη διάρκεια της παραγωγής σπέρματος, προβλήματα με τη μεταφορά μέσω του αρσενικού και θηλυκού γεννητικού συστήματος, της στύσης, της εκσπερμάτωσης, της χωρητικότητας, της συσσώρευσης, της ζώνης pellucida ή της διείσδυσης των ωαρίων και η γονιμοποίηση μπορεί να προκαλέσουν υπογονιμότητα. Οι μοριακές βάσεις αυτών των παθολογιών περιλαμβάνουν ελαττώματα στα γονίδια που απαιτούνται για την ορμονική δράση, τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, τη απόπτωση, την επιδιόρθωση DNA, τον ανασυνδυασμό, την αναδιαμόρφωση χρωματίνης, την κυτταρική διαφοροποίηση, τους διάυλους ιόντων, τη κινητικότητα, τις αλληλεπιδράσεις και την λειτουργία μεταξύ των κυττάρων. Είναι προφανές ότι η ανδρική υπογονιμότητα μπορεί να προκύψει όχι μόνο από τη σπερματογένεση και γενετικά ελαττώματα που σχετίζονται με τη λειτουργία του σπέρματος, αλλά και από ελαττώματα που επηρεάζουν περισσότερες βασικές κυτταρικές λειτουργίες που απαιτούνται για τη διαδικασία της μίτωσης, μείωσης και τις φυσιολογικές διαφοροποιημένες λειτουργίες των κυττάρων που τελικά επηρεάζουν τη σπερματογένεση ([Matzuk and Lamb 2008](#_ENREF_133)).

* Αποφρακτική αζωοσπερμία

Η αποφρακτική αζωοσπερμία είναι μια κατάσταση που χαρακτηρίζεται από φυσιολογικά επίπεδα σπερματογένεσης αλλά από ανικανότητα του σπερματοζωαρίου να φτάσει στην εκσπερμάτιση λόγω κάποιου αποκλεισμού. Η παρεμπόδιση του αναπαραγωγικού συστήματος μπορεί να είναι συγγενής ή επίκτητη. Οι αιτίες της αποφρακτικής αζωοσπερμίας περιλαμβάνουν τη βασεκτομή, τη συγγενή αμφίπλευρη απουσία των αγγείων, την απόφραξη των εκσπερμάτιων αγωγών, την ιδιοπαθή ή τη ιατρογενή απόφραξη από χειρουργικές επεμβάσεις, όπως η αποκατάσταση της εσωτερικής κήλης,η εκτομή υδροκήλης, η ριζική χειρουργική της πυέλου, η ορχιδοπυξία ή η αποτυχημένη αναστροφή της βασεκτομής ([Leung, Mira et al. 2014](#_ENREF_119)).

Κινητικότητα σπέρματος

Άλλες ενδείξεις για τη ρύθμιση της κινητικότητας του σπέρματος προέρχονται από τις μελέτες των μεμβρανικών διαύλων ιόντων πλάσματος που ρυθμίζουν τους ενδοκυτταρικούς διαύλους ασβεστίου και καλίου στο σπέρμα. Είναι γνωστοί τέσσερις δίαυλοι κατιόντων του σπέρματος, γονίδια CatSper1-4 που είναι ομόλογα με τους διαύλους ασβεστίου ([Li, Ding et al. 2007](#_ENREF_122)). Πιστεύεται ότι ο ακριβής φυσιολογικός μηχανισμός υπερδραστηριότητας είναι μια αυξημένη είσοδος ενδοκυτταρικού ασβεστίου μέσω των διαύλων ασβεστίου σπέρματος CatSper1-4 ([Hamada, Esteves et al. 2012](#_ENREF_81)). Η στοχευμένη διαγραφή οποιουδήποτε από αυτά τα τέσσερα γονίδια στα ποντίκια οδηγεί σε ανδρική υπογονιμότητα ή σε σπέρμα με έλλειψη κινητικότητας χωρίς άλλη εμφανή φαινοτυπική διαφορά ([Navarro, Kirichok et al. 2007](#_ENREF_142)). Στους ανθρώπους, η μείωση της πρωτεΐνης CatSper και τα επίπεδα έκφρασης της αναφέρονται σε ακίνητο ή λιγότερο κινητικό σπέρμα ([Nikpoor, Mowla et al. 2004](#_ENREF_145)). Άλλες πρωτεΐνες διαύλου ιόντων και συναφείς πρωτεΐνες, συμπεριλαμβανομένου ενός ενταλλάκτη Na+/H+, ο οποίος, μαζί με τη διαλυτή αδενυλοκυκλάση, ρυθμίζει τις συγκεντρώσεις των διτανθρακικών για τον έλεγχο της κινητικότητας του σπέρματος ([Wang, Hu et al. 2007](#_ENREF_225)). Επειδή οι λειτουργίες τόσο του Na+/H+ ανταλλάκτη όσο και των πρωτεϊνών CatSpers απαιτούνται για την κινητικότητα του σπέρματος, αυτά τα κανάλια είναι δυνητικοί στόχοι για το σχεδιασμό ανδρικών αντισυλληπτικών ([Quill, Wang et al. 2006](#_ENREF_174)).

Μορφολογία σπερματοζωαρίων

Στα εργαστήρια εξωσωματικής γονιμοποίησης, δίνεται μεγάλη έμφαση στη σημασία της μορφολογίας του σπέρματος για την έκβαση της γονιμοποίησης. Η κακή μορφολογία του σπέρματος, όπως ορίζεται σύμφωνα με τα αυστηρά κριτήρια του Kruger που περιγράφουν το μέγεθος και το σχήμα του σπερματοζωαρίου, καθώς και η παρουσία ανωμαλιών όπως ένα κυτταροπλασματικό σταγονίδιο, είναι συχνά μια ένδειξη για την ενδοκυτταροπλασματική έγχυση σπέρματος (ICSI) στα στείρα ζευγάρια ([Kruger, Acosta et al. 1988](#_ENREF_112)). Μερικά μορφολογικά ελαττώματα που αναγνωρίζονται, συχνά παρουσιάζουν γενετική βάση. Λόγω των μοναδικών πρωτεϊνών που εμπλέκονται στην ολοκλήρωση της μείωσης και στη διαμόρφωση του σχήματος της κεφαλής και του ακροσώματος του σπερματοζωαρίου, έχουν προσδιοριστεί επιπρόσθετες μεταλλάξεις που προκαλούν ελαττώματα στις δομές αυτές. Σπερματοζωάρια με πολυπλοειδία, μεγάλες κεφαλές και πολλαπλά μαστίγια εξαιτίας της ύπαρξης ελαττωματικής κυτοκίνης κατά τη διάρκεια της μείωσης, προέρχονται από μια ομόζυγη μετάλλαξη στο γονίδιο AURKC ([Dieterich, Soto Rifo et al. 2007](#_ENREF_58)). Παρόμοια, μια ομόζυγη μετάλλαξη σε συνδυασμό με τη σπερματογένεση (SPATA16) συνδέεται με τη σφαιροζωοσπερμία, αν και άλλοι άνδρες με πλήρη ή μερική σφαιροζωοσπερμία, δεν παρουσιάζουν παρόμοιες μεταλλάξεις ([Dam, Koscinski et al. 2007](#_ENREF_51)), υπογραμμίζοντας και πάλι τη δυσκολία εντοπισμού γενετικών μεταλλάξεων στην ανδρική υπογονιμότητα λόγω των πολυπαραγοντικών αιτιολογιών ([Matzuk and Lamb 2008](#_ENREF_133))

**2.2.2 Μη-χρωμοσωμικές αιτίες της ανδρικής υπογονιμότητας**

Οι μη γενετικές αιτίες περιλαμβάνουν τον υπογοναδοτροπικό υπογοναδισμό, την κρυψορχία, δομικές ανωμαλίες του ανδρικού γεννητικού συστήματος (απόφραξη της εκφορητικής γεννητικής οδού, συγκόλληση σπερματοζωαρίων), λοιμώξεις των γεννητικών οργάνων, ανικανότητα, προηγούμενα οσχεϊκά ή βουβωνικά χειρουργεία, κιρσοκήλη, χρόνιες παθήσεις, την έκθεση σε χημικές ουσίες, διάφορες φαρμακευτικές αγωγές, περιβαλλοντικούς παράγοντες και ανοσολογικά αίτια.

Ελαττώματα γονιμοποίησης

Η γονιμοποίηση του ωαρίου περιλαμβάνει πολλές πολύπλοκες και περίπλοκες διαδικασίες. Τα ελαττώματα σε οποιαδήποτε από αυτές τις διεργασίες μπορούν να εμποδίσουν τη σύντηξη του σπερματοζωαρίου με το ωάριο και τον σχηματισμό του ζυγωτού. Ένα από τα πρώτα βήματα της γονιμοποίησης είναι η ενεργοποίηση. Η ενεργοποίηση του σπέρματος λαμβάνει χώρα φυσικά κατά τη διάρκεια του ταξιδιού μέσω της θηλυκής αναπαραγωγικής οδού, ενώ η in vitro ενεργοποίηση μπορεί να προκληθεί με απομάκρυνση του σπερματικού πλάσματος και επακόλουθη προσθήκη αντίστοιχου μέσου καλλιέργειας. Πολλές μεταβολές παρατηρούνται στο σπερματοζωάριο που υφίσταται ενεργοποίηση, συμπεριλαμβανομένων των αλλαγών στη σύνθεση μεμβράνης, δυναμικού μεμβράνης, ενδοκυτταρικού ρΗ και επιπέδων ασβεστίου, καθώς και αλλαγές στην φωσφορυλίωση πρωτεϊνών ([Hamada, Esteves et al. 2012](#_ENREF_81)). Μια μελέτη των Hortas et al. ([Hortas, Castilla et al. 2001](#_ENREF_87)) εξέτασε συγκεκριμένα τη δραστηριότητα της φωσφορυλίωσης πρωτεϊνών σπέρματος σε σχέση με την ενεργοποίηση. Η μελέτη παρατήρησε χαμηλή έκφραση υποδοχέων D-μαννόζης σε 6 από 15 άτομα με ανεξήγητη υπογονιμότητα, αποκαλύπτοντας μια αποτυχία ανάπτυξης κανονικής φυσιολογικής ενεργοποίησης. Αυτές οι διάφορες μεταβολές προκαλούνται από την εκροή της χοληστερόλης καθώς και τις μετατοπίσεις στο κανάλι ιόντων και τις μεταφορικές δραστηριότητες. Με την ενεργοποίηση αφαιρείται το προστατευτικό κάλυμμα που περιβάλλει το σπερματοζωάριο για να ακολουθήσει η ακροσωματική αντίδραση ([Hamada, Esteves et al. 2012](#_ENREF_81)).

Η σύνδεση του σπερματοζωαρίου με τη zona pellucida είναι απαραίτητη στη διαδικασία της γονιμοποίησης και είναι ένας σημαντικός πρόδρομος στην ακροσωματική αντίδραση. Υπάρχει ειδική αλληλεπίδραση υποδοχέα-πρόσδεσης μεταξύ του σπερματικού κυττάρου και της ζώνης γλυκοπρωτεϊνικής στιβάδας του ωοκυττάρου που επιτρέπει την αμοιβαία αναγνώριση και την επακόλουθη δέσμευση. Η πρωτεΐνη ZP3 στο ωάριο είναι η κύρια πρωτεΐνη που εμπλέκεται στη δέσμευση σπερματοζωαρίου- zona pellucida. Η ακριβής ταυτότητα του υποδοχέα ZP3 στο σπέρμα δεν έχει ακόμη προσδιοριστεί, παρόλο που οι μελέτες έχουν καταλήξει στο συμπέρασμα ότι ο πιο πιθανός υποψήφιος είναι η β-1,4-γαλακτοσυλτρανσφεράση Ι (GaIT). Κατά την διάρκεια της ωορρηξίας, η zona pellucida περιβάλλεται από μια συστάδα κυττάρων (cumulus oophorus) που αποτελείται από κύτταρα ενσωματωμένα σε μια εξωκυτταρική μήτρα που αποτελείται κυρίως από υαλουρονικό οξύ. Τα ελαττώματα στη δέσμευση με τη zona pellucida αναφέρονται στο 15% των υπογόνιμων ανδρών με φυσιολογικό σπέρμα ([Hamada, Esteves et al. 2012](#_ENREF_81)).

Η δέσμευση του σπερματοζωαρίου στη zona pellucida προκαλεί την απελευθέρωση των ενζύμων υδρόλυσης γνωστών ως ακροσωματική αντίδραση (AR). Η AR είναι απαραίτητη για τη γονιμοποίηση, διότι επιτρέπει στο σπερματοζωάριο να διεισδύσει στη ζώνη pellucida και κάνει ορατή τη θέση του σπερματοζωαρίου που συντήκεται με τη μεμβράνη του ωαρίου. Η ακροσίνη είναι το συγκεκριμένο ένζυμο που απελευθερώνεται. Οι φυσιολογικοί επαγωγείς της ακροσωματικής αντίδρασης είναι η πρωτεΐνη ZP3 και η προγεστερόνη, η οποία βρίσκεται σε υψηλές συγκεντρώσεις στο θυλακοειδές υγρό και στο συσσωμάτωμα (cumulus). Αυτές οι ενώσεις είναι αγωνιστές οι οποίοι διεγείρουν τη συγκέντρωση του ενδοκυτταρικού ασβεστίου, προκαλώντας μετατόπιση του εσωτερικού ρΗ και διέγερση της εξωκυτταρικής διεργασίας. Το πότε θα συμβεί η ακροσωματική αντίδραση είναι πολύ σημαντικό στοιχείο, καθώς τα σπερματοζωάρια που υποβάλλονται σε (AR) πριν έλθουν σε επαφή με τη δέσμευση στη zona pellucida δεν είναι σε θέση ούτε να τη δεσμεύσουν ούτε να διεισδύσουν σε αυτή ([Hamada, Esteves et al. 2012](#_ENREF_81)).

Ορμονικές αιτίες

Η μελέτη των ενδοκρινολογικών διαταραχών έχει εγείρει ανησυχίες σχετικά με την επίδραση που μπορεί να έχει στην αναπαραγωγή η έκθεση σε ορισμένες περιβαλλοντικές ενώσεις που επηρεάζουν το ενδοκρινολογικό σύστημα μέσω οιστρογόνων, ανδρογόνων, αντι-ανδρογόνων και αντιθυρεοειδικών μηχανισμών. Αυξημένες συγκεντρώσεις της ωχρινοτρόπου ορμόνης (LH) και ωοθυλακιοτρόπου ορμόνης (FSH) και χαμηλές συγκεντρώσεις των γοναδικών στεροειδών προκαλούν γοναδική ανεπάρκεια, που είναι μια αιτιολογία της υπογονιμότητας. Στους άνδρες, αυξημένες συγκεντρώσεις της LH μπορεί να είναι αποτέλεσμα υπεργοναδοτροπικού υπογοναδισμού (ΥΥ), ο οποίος μπορεί να οφείλεται σε διάφορες αιτίες, όπως η πρωτογενής ορχική ανεπάρκεια, το σύνδρομο Klinefelter λόγω δημιουργίας δυσγενετικών όρχεων, η ανεπάρκεια των κυττάρων Sertoli και η ανορχία([Poongothai, Gopenath et al. 2009](#_ENREF_172)).

Υπογοναδοτροπικός υπογοναδισμός

Οι ασθενείς με YY εμφανίζουν μειωμένα επίπεδα γοναδοτροπινών. Η ανεπάρκεια της υποθαλαμικής GnRH ή της δράσης της συνιστούν τις βασικές ενδοκρινικές ανωμαλίες τόσο στον υπογοναδοτροφικό υπογοναδισμό όσο και στο σύνδρομο Kallman. Λόγω ανεπάρκειας των LH και FSH, οι γονάδες δεν μπορούν να παράγουν ώριμα σπερματοζωάρια ούτε επαρκείς ποσότητες τεστοστερόνης. Απούσα ή ελλιπής εφηβική ανάπτυξη με σοβαρό υπογοναδισμό είναι η κλινική εικόνα, σήμα κατατεθέν των ΥΥ και σύνδρομο Kallmann. Οι ασθενείς παρουσιάζουν συχνά ετερόπλευρη ή αμφοτερόπλευρη κρυψορχία ή ορχεοπηξία (Nieschlag et al 2010).

Ανικανότητα

Η ανικανότητα ή η στυτική δυσλειτουργία επηρεάζει το 10% -15% όλων των ανδρών και μπορεί να είναι συναισθηματική και ψυχολογική αναπηρία για τους άνδρες και τις συντρόφους τους. Παθοφυσιολογικοί παράγοντες όπως τυχόν φαρμακευτικές αγωγές, διαταραχές της ροής του αίματος, νευρολογικές και ορμονικές διαταραχές είναι οι κύριες αιτίες στο 80% των περιπτώσεων της στυτικής δυσλειτουργίας. Οι ψυχολογικοί παράγοντες αντιπροσωπεύουν τις υπόλοιπες περιπτώσεις και μπορεί να αποδοθούν στο στρες, στο άγχος της απόδοσης ή στην παραπληροφόρηση σχετικά με τη σεξουαλικότητα ([Poongothai, Gopenath et al. 2009](#_ENREF_172)).

Προηγούμενα οσχεϊκά ή βουβωνικά χειρουργεία

Η γονόρροια και τα χλαμύδια προκαλούν οξεία φλεγμονή του όσχεου (συνήθως μονομερή) σε νεαρούς άνδρες. Ασυνήθιστα πρήξιμα στο όσχεο είναι κοινά. Τα περισσότερα από αυτά είναι μικρές, στρογγυλές, επιδιδυμικές κύστεις ή σπερματοκήλες που δεν απαιτούν περαιτέρω έρευνα ή θεραπεία ([Poongothai, Gopenath et al. 2009](#_ENREF_172)).

Κιρσόκηλη

Η πιο κοινή ανιχνεύσιμη αιτία της ανδρικής υπογονιμότητας είναι η κιρσοκήλη, η διάταση του φλεβικού πλέγματος του σπερματικού τόνου, του οποίου το αίμα συγκεντρώνεται τελικά στην έσω σπερματική φλέβα. Συνήθως εμφανίζεται αριστερά, λόγω της κάθετης εκβολής της αριστερής έσω σπερματικής στη σύστοιχη νεφρική φλέβα που έχει ως αποτέλεσμα να δημιουργείται φλεβική στάση. Οι ετερόπλευρες κιρσοκήλες είναι σπάνιες, κάτω από 2%, ενώ οι αμφοτερόπλευρες είναι συχνότερες, έως και 20%. Η συχνότητα της κιρσοκήλης ως αίτιο ανδρικής υπογονιμότητας είναι από 21-25,2% (Βενετίκου 2014, Wang et al 2015).

Έκθεση σε χημικά

Διάφορες χημικές ουσίες έχουν ενοχοποιηθεί ως τοξικές για την αναπαραγωγή. Οι ατμοσφαιρικοί ρύποι ανευρίσκονται στο αίμα, στα ούρα και στο σπέρμα των εκτεθειμένων ανδρών και μπορεί να επηρεάσουν την ποιότητα του σπέρματος. Τέστ για την λειτουργία των σπερματοζωαρίων, έχουν δείξει ότι τα υψηλά επίπεδα μολύβδου σε δείγματα σπέρματος μειώνουν την ικανότητα του σπέρματος να δεσμεύεται, να διεισδύει και να γονιμοποιεί το ωάριο ([Selevan, Borkovec et al. 2000](#_ENREF_197)).

Περιβαλλοντικοί παράγοντες

Υπάρχει μια αντιπαράθεση σχετικά με τη ελάττωση της συγκέντρωσης των ανθρώπινων σπερματοζωαρίων παγκοσμίως. Η έκθεση στη θερμότητα κατά τη διάρκεια της εργασίας είναι σημαντικός παράγοντας κινδύνου για την ανδρική υπογονιμότητα, επηρεάζοντας τη μορφολογία του σπέρματος και συμβάλοντας έτσι σε μια αργοπορημένη σύλληψη. Το ανδρικό αναπαραγωγικό σύστημα είναι ιδιαίτερα ευάλωτο στις επιπτώσεις του χημικού και του φυσικού περιβάλλοντος. Η ιδιοπαθής ανδρική υπογονιμότητα μπορεί να οφείλεται στην έκθεση σε περιβαλλοντικά τοξικά που μεταβάλλουν τις αναπαραγωγικές ορμόνες, τη σπερματογένεση ή τη λειτουργία του σπέρματος. Η ποιότητα του σπέρματος έχει αποδειχθεί ότι μεταβάλλεται λόγω έκθεσης σε περιβαλλοντικό όζον. Οι περιβαλλοντικές μελέτες για τον αναπαραγωγικό κίνδυνο αναφέρουν ότι ο αριθμός των σπερματοζωαρίων στους άνδρες, έχει μειωθεί σε ορισμένες βιομηχανικές χώρες ([Sokol, Kraft et al. 2006](#_ENREF_208)).

Ανοσολογικοί παράγοντες

Επειδή οι ανοσολογικοί παράγοντες λειτουργούν σχεδόν σε κάθε στάδιο της ανθρώπινης αναπαραγωγικής διαδικασίας, οι προκαλούμενες από αντισώματα βλάβες στους γαμέτες είναι μια σημαντική αιτία της ανοσολογικής υπογονιμότητας. Ο τρόπος ζωής και οι περιβαλλοντικοί παράγοντες, συμπεριλαμβανομένου του καπνίσματος, μπορούν να επηρεάσουν τους γαμέτες, οδηγώντας σε υπογονιμότητα / στειρότητα ([Benoff, Jacob et al. 2000](#_ENREF_23)).

Η σπερματογένεση δεν εμφανίζεται έως την έναρξη της εφηβείας και τα σπερματοζωάρια διατηρούνται χωριστά από το ανοσοποιητικό σύστημα από τον αιματο-ορχικό φραγμό. Όταν ο φραγμός αίματος-όρχεως παραβιάζεται για οποιονδήποτε λόγο και τα αντιγόνα σπέρματος έρχονται σε επαφή με το ανοσοποιητικό σύστημα, θα αντιμετωπίζονται ως ξένοι παράγοντες που οδηγούν σε σχηματισμό των αντισπερματικών αντισωμάτων (ASA) ([Mandelbaum, Diamond et al. 1987](#_ENREF_128)).

Ενώ κάποιο προηγούμενο τραύμα, λοίμωξη και απόφραξη έχουν εμπλακεί ως σαφή αιτιολογίες για το σχηματισμό ASA, πολλές περιπτώσεις ανοσολογικής υπογονιμότητας δεν είχαν αυτά τα συμβάντα ([Mazumdar and Levine 1998](#_ENREF_134)). Ο σχηματισμός των ASA έχει αναφερθεί στο 42% των ανδρών με ανεξήγητη υπογονιμότητα, σε 10,7% των ανδρών που υποβάλλονται σε αξιολογήσεις υπογονιμότητας, σε 10% των ανδρών σε ζευγάρια που υποβάλλονται σε θεραπεία εξωσωματικής γονιμοποίησης, αλλά μόνο σε 2% των γόνιμων αντρών ([Mandelbaum, Diamond et al. 1989](#_ENREF_129)).

Οι υποτάξεις ανοσοσφαιρίνης A (IgA) και G (IgG) είναι τα σημαντικά λειτουργικά αντισώματα σε σχέση με την ανδρική υπογονιμότητα, καθώς η IgM ανοσοσφαιρίνη έχει υψηλό μοριακό βάρος και δεν μπορεί να διεισδύσει στον αιματο-ορχικό φραγμό. Αυτά τα αντισώματα συνδέονται με τα σπερματοζωάρια και μειώνουν τη δυνατότητα γονιμοποίησης. Οι Clark et al., έδειξαν ένα ποσοστό γονιμοποίησης 27% όταν ≥ 80% των σπερματοζωαρίων ήταν συνδεδεμένα με IgA και IgG, ενώ ποσοστό γονιμοποίησης 72% παρατηρήθηκε όταν το ≤ 80% των σπερματοζωαρίων ήταν συνδεδεμένα με ASA ([Clarke, Lopata et al. 1985](#_ENREF_44)). Δεν είναι σαφές εάν η θέση των συδεδεμένων σπερματοζωαρίων με ASA, είτε πρόκειται για την κεφαλή ή την ουρά των σπερματοζωαρίων, είναι σημαντική, καθώς υπάρχουν συγκρουόμενες εκθέσεις αξιολόγησης της αξίας του εντοπισμού και της σχέσης του με την ικανότητα γονιμοποίησης ([Chiu and Chamley 2004](#_ENREF_40)).

Τα ASA έχουν την ικανότητα να διακόπτουν διάφορες φάσεις της γονιμοποίησης. Το συμπλήρωμα στην γυναικεία βλέννη του τραχήλου της μήτρας μπορεί να δεσμεύσει τα αντισπερματικά αντισώματα και να προκαλέσει λύση του κυττάρου του σπερματοζωαρίου, μειώνοντας την κινητικότητα και αναστέλλοντας την ικανότητα του σπερματοζωαρίου να διεισδύσει στην βλέννη του τραχήλου της μήτρας ([D'Cruz, Haas et al. 1991](#_ENREF_49)). Στοιχεία υποδηλώνουν ότι τα ASA προκαλούν τα σπερματοζωάρια να έχουν χαμηλότερα ποσοστά αυθόρμητης και επαγόμενης ακροσωματικής αντίδρασης σε σύγκριση με τα σπερματοζωάρια που δεν είναι συνδεδεμένα με ASA ([Tasdemir, Tasdemir et al. 1996](#_ENREF_213)). Ορισμένα ASA έχει επίσης αποδειχθεί ότι αναστέλλουν την αυθόρμητη αντίδραση ενεργοποίησης των σπερματοζωαρίων και υπάρχουν στοιχεία που υποδηλώνουν ότι μπορεί να παρεμβαίνουν στην αναγνώριση των θέσεων δέσμευσης του σπερματοζωαρίου στη ζώνη pellucida ([Chiu and Chamley 2004](#_ENREF_40)).

Η συγκόλληση ή συσσώρευση σπερματοζωαρίων είναι η μόνη γνωστή ανωμαλία του σπέρματος που συσχετίζεται με την παρουσία των ASA. Ένα τέτοιο φαινόμενο εξαρτάται από το χρόνο και μόνο σπάνια περιλαμβάνει μεγάλο ποσοστό κινητικών σπερματοζωαρίων αμέσως μετά την υγροποίηση ακόμη και όταν όλα τα σπερματοζωάρια που έχουν εκσπερματωθεί είναι επικαλυμμένα με αντισώματα. Επιπλέον, το σπέρμα περιέχει αρκετές ουσίες που αναστέλλουν την ενεργοποίηση του σπερματικού συμπληρώματος, το οποίο απαιτείται από την ακινητοποιητικά και αποπτωτικά ASA. Επομένως, η εύρεση φυσιολογικών παραμέτρων σπέρματος σε άνδρες με ανοσολογική υπογονιμότητα είναι ένα συνηθισμένο γεγονός ([Francavilla, Santucci et al. 2007](#_ENREF_67)).

Οξειδωτικό στρες

Τα αντιδραστικά είδη οξυγόνου (ROS) είναι ασταθή οξυγονούχα μόρια που σχηματίζονται ως υποπροϊόντα του οξειδωτικού μεταβολισμού. Αυτοί οι μεταβολίτες περιλαμβάνουν ελεύθερες ρίζες και μόρια μη ελεύθερων ριζών. Τα ιόντα υδροξυλίου και το υπεροξείδιο είναι παραδείγματα ελεύθερων ριζών, ενώ το υπεροξείδιο του υδρογόνου και το λιπιδικό υπεροξείδιο είναι παραδείγματα μη ελεύθερων ριζών ([Petersen, Lammel et al. 1980](#_ENREF_168)). Στην κατηγορία των ROS περιλαμβάνονται επίσης δραστικά είδη αζώτου όπως είναι το νιτρώδες οξείδιο, το νιτροξύλιο και τον υπεροξείδιο του νατρίου ([Sikka 2001](#_ENREF_203)).

Στο ανθρώπινο σπέρμα, οι πρωτογενείς παραγωγοί των ROS είναι λευκοκύτταρα και ανώριμα σπερματοζωάρια ([Garrido, Meseguer et al. 2004](#_ENREF_68)). Στα σπερματοζωάρια οι ROS παράγονται με δύο τρόπους: το σύστημα NADPH οξειδάσης στο επίπεδο της μεμβράνης πλάσματος του σπερματοζωαρίου και το σύστημα NADPH-εξαρτώμενης οξειδοαναγωγάσης σε μιτοχονδριακό επίπεδο. Οι μολύνεις μπορούν να προκαλέσουν συσσώρευση φλεγμονωδών κυττάρων στην γεννητική οδό, η κιρσοκήλη να οδηγήσει στην παραγωγή ανώριμων σπερματοζωαρίων, ενώ το κάπνισμα αποτελεί παράγοντα που διεγείρει τα σπερματοζωάρια να παράγουν περίσσεια ROS ([Saleh, Agarwal et al. 2002](#_ENREF_186)).

Τα πολυμορφοπύρηνα λευκοκύτταρα και τα μακροφάγα αντιπροσωπεύουν περίπου 50-60% και 20-30% όλων των σπερματικών λευκοκυττάρων, αντίστοιχα ([Thomas, Fishel et al. 1997](#_ENREF_217)). Αυτά τα λευκοκύτταρα μπορούν να ενεργοποιηθούν με μόλυνση και φλεγμονή, οπότε είναι ικανά να παράγουν 100 φορές μεγαλύτερες ποσότητες ROS από τα αδρανοποιημένα λευκοκύτταρα. Επιπλέον, πρόσφατα ανακαλύφθηκε ότι είναι επιβλαβής ακόμη και λευκοκυτταροσπερμία χαμηλού επιπέδου (κάτω από 1 εκατομμύριο λευκών αιμοσφαιρίων ανά 1 χιλιοστό λίτρου σπέρματος) και η θεραπεία τέτοιων χαμηλών επιπέδων λευκοκυττάρων μπορεί να οδηγήσει σε βελτίωση των ποσοστών εγκυμοσύνης ([Hamada, Agarwal et al. 2011](#_ENREF_80)).

Οι ROS είναι φυσιολογικά απαραίτητες στη διαδικασία γονιμοποίησης βοηθώντας στην ακροσωματιή αντίδραση του σπερματοζωαρίου, την υπερδραστηριότητα, την κινητικότητα και την ικανότητα διείσδυσης. Ωστόσο, πολύ υψηλά επίπεδα ROS μπορούν να συντρίψουν τη φυσική αντιοξειδωτική άμυνα του σώματος και να προκαλέσουν βλάβη, μια κατάσταση γνωστή ως οξειδωτικό στρες (OS). Μελέτες έχουν δείξει ότι υψηλά επίπεδα ROS μπορούν να βρεθούν σε 40-80% των στείρων ανδρών ([Agarwal, Saleh et al. 2003](#_ENREF_9)). Επιπροσθέτως, αυξημένα επίπεδα ROS μπορεί να βρεθούν σε έως και 11-78,5% των υπογόνιμων ανδρών με φυσιολογικές παραμέτρους σπέρματος ([Agarwal and Said 2003](#_ENREF_8)). Τα λιπίδια όπως τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα που υπάρχουν στη μεμβράνη πλάσματος του σπερματοζωαρίου είναι το πιο χημικά ευαίσθητο μακρομόριο στο OS. Η βλάβη στη μεμβράνη πλάσματος οδηγεί σε εξασθένηση της λειτουργίας του σπερματοζωαρίου, όπως μείωση της κινητικότητας και η αποτυχία συγχώνευσης σπερματοζωαρίου- ωαρίου ([Agarwal, Makker et al. 2008](#_ENREF_7)).

Ανεξήγητη υπογονιμότητα

Οι άνδρες κατηγοριοποιούνται ως πάσχοντες από ανεξήγητη υπογονιμότητα, όταν είναι στείροι παρόλο που έχουν φυσιολογική ανάλυση σπέρματος, φυσιολογικό ιστορικό και φυσική εξέταση και όταν έχει αποκλειστεί η γυναικεία υπογονιμότητα. Η μέση συχνότητα εμφάνισης της ανεξήγητης υπογονιμότητας είναι περίπου 15%, αν και αναφορές αυτής σε πληθυσμούς μελέτης κυμαίνονταν από 6% έως 37%. Πιθανοί παράγοντες που θα μπορούσαν να βοηθήσουν στην κατανόηση της υπογονομότητας περιλαμβάνουν την παρουσία αντισωμάτων έναντι του σπέρματος, βλάβες στο DNA του σπέρματος, αυξημένα επίπεδα αντιδραστικών ειδών οξυγόνου (ROS) και δυσλειτουργία σπερματοζωαρίων. Επίσης ο ακατάλληλος συγχρονισμός της συνουσίας (όχι μέσα στο θηλυκό γόνιμο παράθυρο), στυτική δυσλειτουργία ή εκσπερμάτιση, θα μπορούσαν να είναι πιθανοί παράγοντες της υπογονιμότητας ([Hamada, Esteves et al. 2012](#_ENREF_81)).

**2.3 Γυναικεία υπογονιμότητα**

Οι κυριότερες αιτίες για την γυναικεία υπογονιμότητα είναι προβλήματα με τις σάλπιγγες, την ωορρηξία, τις ορμόνες καθώς και η ενδομητρίωση. Παράγοντες όπως αυξημένη ηλικία, ανώμαλος κύκλος, ιστορικό κολπικών μολύνσεων ή παλαιότερα χειρουργεία, μπορεί να αποτελέσουν ενδείξεις για εξέταση νωρίτερα. Τα περισσότερα υπογόνιμα ζευγάρια μπορούν να αποκτήσουν παιδί με την κατάλληλη θεραπεία. Λίγοι μόνον ασθενείς είναι αποκλειστικά υπογόνιμοι, δηλαδή δεν μπορούν να αποκτήσουν παιδί ακόμη και μετά από θεραπεία. Αυτό μπορεί να οφείλεται στην απουσία σπέρματος, απουσία ωοθηκών ή μήτρας.

Η γυναικεία υπογονιμότητα μπορεί να χωριστεί σε δυο τύπους, την πρωτοπαθής, όταν δεν υπάρχει προηγούμενη εγκυμοσύνη (40% των περιπτώσεων) και στην δευτεροπαθής, όταν υπάρχει προηγούμενη εγκυμοσύνη, οποιοδήποτε και αν ήταν το αποτέλεσμα αυτής (60% των περιπτώσεων).

Αναλυτικότερα τα αίτια της γυναικείας υπογονιμότητας είναι τα εξής:

Ενδομητρίωση

Η ενδομητρίωση είναι μια καλοήθης φλεγμονώδης νόσος που εξαρτάται από οιστρογόνα και χαρακτηρίζεται από την παρουσία έκτοπων ενδομητρικών εμφυτευμάτων. Εμφυτεύματα εμφανίζονται κυρίως στην πύελο και συνηθέστερα στις ωοθήκες (ενδομητριώματα) , στο τοιχωματικό περιτόναιο και στον οπισθοπεριτοναϊκό χώρο (δηλαδή στο ορθοκολπικό διάφραγμα, στους ουρητήρες και στην ουροδόχο κύστη), ή σπανιότερα στον ορογόνο του εντέρου (σιγμοειδούς ή ειλεού) και στη σκωληκοειδή απόφυση. Εξαιρετικά σπάνιες εστίες ενδομητρίωσης έχουν εντοπιστεί στον ομφαλό, σε ουλή λαπαροτομίας ή περινεοτομίας και σε μακρινές θέσεις έξω από την περιτοναϊκή κοιλότητα όπως στον θώρακα, στην περικαρδιακή κοιλότητα, στους νεφρούς, στο πάγκρεας, στο δέρμα και αλλού. Από πλευράς εντόπισης στην πύελο, η ενδομητρίωση διακρίνεται σε (περιτοναϊκή, ωοθηκική και ενδομητρίωση του ορθοκολπικού διαφράγματος)([Giudice and Kao 2004](#_ENREF_72)).

Επειδή η ανάπτυξη των εμφυτευμάτων εξαρτάται από τα στεροειδή που παράγονται από τις ωοθήκες, η ενδομητρίωση είναι μια ασθένεια που πλήττει σοβαρότερα τις γυναίκες ηλικίας 25-35 ετών ([Olive and Schwartz 1993](#_ENREF_157)). Οι ασθενείς μπορεί να παρουσιάσουν ένα ευρύ φάσμα συμπτωμάτων που κυμαίνονται από το να είναι ασυμπτωματικές έως υπογόνιμες. Εκτός από την υπογονιμότητα, συσχετίζεται συνήθως με συμπτώματα όπως δυσπαρεύνεια, δυσμηνόρροια, συμπτώματα ουροδόχου κύστης / εντέρου και χρόνιο πυελικό άλγος.

Η ενδομητρίωση επηρεάζει δυσμενώς τη γονιμότητα. Είναι σαφές πως είναι μια σοβαρή ασθένεια που μπορεί να προκαλέσει υπογονιμότητα. Η ανατομία της πυέλου παραμορφώνεται και η αναπαραγωγική ικανότητα μειώνεται μέσω μηχανικών διαταραχών όπως οι πυελικές συμφύσεις. Αυτές οι διαταραχές μειώνουν την απελευθέρωση ή την πρόσληψη των ωοκυττάρων, μεταβάλλουν την κινητικότητα του σπέρματος, προκαλούν διαταραγμένες μυομητρικές συσπάσεις, καθώς επίσης μειώνουν τη γονιμοποίηση και την εμβρυομεταφορά ([Holoch and Lessey 2010](#_ENREF_86)). Οι γυναίκες που είναι υπογόνιμες είναι πιο πιθανό να έχουν προχωρημένα στάδια της νόσου ([D'Hooghe, Debrock et al. 2003](#_ENREF_50)). Ωστόσο, υπάρχουν ακόμα πολλές εικασίες σχετικά με τους προτεινόμενους μηχανισμούς με τους οποίους η ήπια νόσος επηρεάζει τη γονιμότητα ([Olive and Pritts 2001](#_ENREF_156)). Οι φλεγμονώδεις κυτοκίνες, οι παράγοντες ανάπτυξης και αγγειογένεσης και τα εκφυλισμένα γονίδια που εκφράζονται, εξετάζονται ως πιθανές αιτιολογικοί παράγοντες της υπογονιμότητας που σχετίζεται με την ενδομητρίωση.

Παρατηρείται μεταβολή της ωορρηξίας και της παραγωγής των ωοκυττάρων στην ενδομητρίωση και σχετίζεται με την αυξημένη παρουσία φλεγμονώδη κύτταρων στο περιτοναϊκό υγρό και στα ενδομητριώματα. Οι φλεγμονώδεις επιδράσεις που προκύπτουν από την παρουσία των ενδομητριωμάτων έχει αποδειχθεί ότι επηρεάζουν τόσο την παραγωγή ωοκυττάρων όσο και την ωορρηξία στις πληγείσες ωοθήκες ([Holoch and Lessey 2010](#_ENREF_86)). Υπάρχει επίσης μια διαταραχή της ωχρινικής φάσης στην ενδομητρίωση που μπορεί να οφείλεται σε δυσλειτουργία του υποδοχέα της προγεστερόνης καθώς και σε επίδραση στα γονίδια στόχου προγεστερόνης, γεγονός που με τη σειρά του οδηγεί σε μειωμένη δεκτικότητα του ενδομητρίου ([Giudice and Kao 2004](#_ENREF_72), [Holoch and Lessey 2010](#_ENREF_86)). Η ποιότητα ή η λειτουργία του σπέρματος μειώνεται επίσης και έχει προταθεί ότι αυτό προκαλείται από τις φλεγμονώδεις/ τοξικές επιδράσεις του περιτοναϊκού υγρού και των αυξημένων ενεργοποιημένων μακροφάγων ([Oral, Arici et al. 1996](#_ENREF_161)). Ο αυξημένος αριθμός φλεγμονωδών κυττάρων στο περιτοναϊκό υγρό όχι μόνο βλάπτει τα ωάρια και το σπέρμα, αλλά έχει επίσης αποδειχθεί ότι έχει τοξικές επιδράσεις στο έμβρυο ([Morcos, Gibbons et al. 1985](#_ENREF_138)). Επιπλέον, μελέτες έχουν δείξει αποκλίνουσα έκφραση γλουταθειονικής υπεροξειδάσης και καταλάσης στο ενδομήτριο ασθενών με ενδομητρίωση και υπάρχουν υπόνοιες ότι συμβαίνει επίσης αύξηση των ελεύθερων ριζών του ενδομητρίου και στη συνέχεια αρνητική επίδραση στη βιωσιμότητα του εμβρύου ([Ota, Igarashi et al. 2000](#_ENREF_163), [Ota, Igarashi et al. 2002](#_ENREF_164)).

Η μεταφορά γαμετών επηρεάζεται επίσης από το φλεγμονώδες περιβάλλον και τις αυξημένες κυτοκίνες που εντοπίζονται στην ενδομητρίωση. Η φλεγμονή παρεμποδίζει τη σαλπιγγική λειτουργία και μειώνει την κινητικότητα της σάλπιγγας. Οι διαταραγμένες μυομητρικές συσπάσεις που σχετίζονται με την ενδομητρίωση μπορούν επίσης να επηρεάσουν τη μεταφορά των γαμετών και την εμφύτευση εμβρύων ([Holoch and Lessey 2010](#_ENREF_86)).

Ο μηχανισμός και το ειδικό σήμα που οδηγεί σε μεταβολές στο ενδομήτριο των γυναικών με ενδομητρίωση δεν είναι καλά χαρακτηρισμένα. Υπάρχουν διάφορες άλλες μελέτες που προτείνουν ότι η παρεκκλίνουσα γονιδιακή έκφραση στο έκτοπο ενδομήτριο μπορεί να σχετίζεται με την υπογονιμότητα ή την εγκαθίδρυση της νόσου. Ένα παράδειγμα εκτροπής γονιδίου είναι το γονίδιο Hoxa10 / HOXA10 ([Taylor, Bagot et al. 1999](#_ENREF_214)). Αυτό το γονίδιο εμπλέκεται άμεσα στην εμβρυογένεση της μήτρας και στη συνέχεια στην αναγέννηση του ενδομητρίου σε κάθε εμμηνορροϊκό κύκλο. Η έκφραση αυτού του γονιδίου είναι απαραίτητη για την δεκτικότητα του ενδομητρίου. Τα ποντίκια με στοχευμένη διάσπαση του γονιδίου Hoxa10 δείχνουν πλήρη απώλεια της δεκτικότητας του ενδομητρίου. Παρομοίως, οι γυναίκες με χαμηλότερα επίπεδα έκφρασης του HOXA10 έχουν χαμηλότερα ποσοστά εμφύτευσης. Στις γυναίκες, κυκλική έκφραση από το ενδομήτριο αυτού του γονιδίου κορυφώνεται κατά τη διάρκεια της εμφύτευσης σε απόκριση σε οιστρογόνο και προγεστερόνη. Οι γυναίκες με ενδομητρίωση, ωστόσο, δεν παρουσιάζουν την μέση ωχρινική άνοδο όπως θα αναμενόταν, γεγονός που μπορεί να εξηγήσει εν μέρει την υπογονιμότητα τους ([Zanatta, Rocha et al. 2010](#_ENREF_233)).

Aνωμαλίες της μήτρας

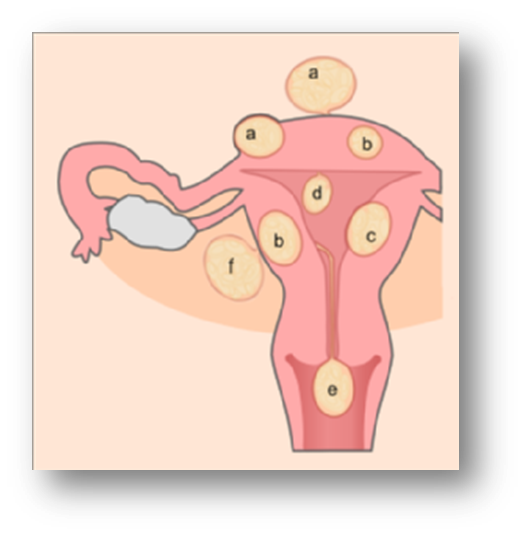
Οι πολύποδες και τα ινομυώματα μπορούν να βρεθούν τόσο σε γόνιμες όσο και σε στείρες γυναίκες. Άλλες καταστάσεις, όπως η αδενομύωση, είναι πιο δύσκολο να διαγνωσθούν με υπερήχους και μπορεί να απαιτούν παθολογική διάγνωση.

Ο πολύποδας του ενδομητρίου είναι μια υπερπλαστική υπερανάπτυξη των αδένων και του στρώματος που εντοπίζεται και σχηματίζει προεξοχή πάνω στην επιφάνεια της μήτρας. Μπορεί να είναι άμισχος ή πεπλεγμένος και, σπάνια, μπορεί να περιλαμβάνει εστίες νεοπλασματικής ανάπτυξης ([R. 1972](#_ENREF_175)). Οι πολύποδες του ενδομητρίου έχουν αναφερθεί σε 15-24% των στείρων γυναικών και σε περίπου 1,4% των ασθενών που υπόκεινται σε εξωσωματική γονιμοποίηση. Αν το μεγεθός τους είναι μικρό, σύχνα δεν μπορούν να εντοπιστούν και μπορεί να προκαλέσουν απρόβλεπτη αιμορραγία, μπορεί όμως να είναι και ασυμπτωματικοί ([Lass, Williams et al. 1999](#_ENREF_116)).

Η αιτιολογία των πολυπόδων ενδομητρίου πιστεύεται ότι σχετίζεται με διέγερση των οιστρογόνων. Δεν είναι σαφές τι καθιστά ορισμένα άτομα επιρρεπή στον σχηματισμό πολύποδων. Ωστόσο, παρατηρήθηκε μια συσχέτιση μεταξύ των ενδοθηλιακών πολυπόδων και της χρήσης ταμοξιφαίνης, πιθανώς λόγω των οιστρογονικών δράσεων της στο ενδομήτριο. Μια άλλη μελέτη, σε γυναίκες πριν την εμμηνόπαυση συγκρίνει την έκφραση των υποδοχέων οιστρογόνου και προγεστερόνης, και τα αποτελέσματα της υποδηλώνουν ότι η ανώμαλη έκφραση των υποδοχέων ορμονών μπορεί να συνεισφέρει στον σχηματισμό πολυπόδων του ενδομητρίου. Αν και ο ακριβής μηχανισμός με τον οποίο οι ενδομήτριοι πολύποδες προκαλούν υπογονιμότητα είναι ασαφής, μπορεί να επηρεάσουν το περιβάλλον του ενδομητρίου προκαλώντας αιμορραγία, παρεμβολή στην κανονική συστολή του μυοειδούς κατά τη διάρκεια της εμφύτευσης ή παρουσίαση μιας μη φυσιολογικής θέσης για εμφύτευση ([Alansari and Wardle 2012](#_ENREF_12)). Η γλυκοδελίνη είναι μια πρωτεΐνη που θεωρείται ότι διευκολύνει την εμφύτευση μειώνοντας τη δραστικότητα των κυττάρων φονιά. Κατά τη διάρκεια του φυσικού κύκλου υπερδιέγερσης, η γλυκοδελίνη μειώνεται, η οποία θεωρείται ότι διευκολύνει τη φυσιολογική γονιμοποίηση. Έχει προταθεί ότι οι πολύποδες ενδομητρίου παράγουν σημαντικές ποσότητες γλυκοδελίνης, παρεμποδίζοντας έτσι την πιθανότητα εγκυμοσύνης. Επιπλέον, υπάρχουν πιθανές μηχανικές επιδράσεις των πολύποδων στη μεταφορά των σπερματοζωαρίων μέσω της κοιλότητας της μήτρας ή κατά την εμφύτευση, ανάλογα με τη θέση και το μέγεθος των πολυπόδων ([Richlin, Ramachandran et al. 2002](#_ENREF_179)). Παρόλο που υπάρχει σαφής βελτίωση στη γονιμότητα μετά από μια πολυποδοεκτομή, εξακολουθεί να υπάρχει συζήτηση σχετικά με τη σημασία του μεγέθους και της θέσης των πολύποδων. Η σχέση μεταξύ της έκβασης γονιμότητας και του μεγέθους και του αριθμού των πολυπόδων είναι αμφιλεγόμενη, και υπάρχουν έρευνες που προτείνουν ότι οι πολύποδες <2 cm δεν έχουν δυσμενείς επιπτώσεις στην εμφύτευση ([Lass, Williams et al. 1999](#_ENREF_116)). Τέλος, μελέτες που εξέτασαν την πιθανή συσχέτιση μεταξύ πολυπόδων ενδομητρίου και ενδομητρίωσης, κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι η ενδομητρίωση εντοπίστηκε σημαντικά πιο συχνά όταν είχαν βρεθεί πολύποδες στο ενδομήτριο κατά την υστεροσαλπιγγογραφία.

Τα ινομυώματα (επίσης αναφερόμενα ως μυώματα και λειομυώματα) είναι καλοήθεις μονοκλωνικοί όγκοι της μήτρας που αποτελούνται κατά κύριο λόγο από κύτταρα λείου μυός. Είναι ο πιο συνηθισμένος όγκος του γυναικείου γεννητικού συστήματος, με μερικές μελέτες να εκτιμούν την επίπτωση τους κατά 70% ([Baird, Dunson et al. 2003](#_ENREF_18)). Υπάρχουν πολλές παραλλαγές στο μέγεθος και τη θέση αυτών των όγκων. Τα ινομυώματα περιγράφονται από τη θέση τους σε σχέση με το τοίχωμα της μήτρας. Τα υπορρογόνια ινομυώματα εντοπίζονται κάτω από τον ορογόνο χιτώνα, στην εξωτερική επιφάνεια της μήτρας. Εάν το μέγεθος του αυξηθεί , μπορεί να γίνουν μισχωτά, δηλαδή συνδέονται με τη μήτρα με ένα παχύ ή λεπτό μίσχο. Είναι δυνατόν να επεκταθούν προς τα πλάγια προς τους συνδέσμους της μήτρας οπότε ονομάζονται ενδοσυνδεσμικά. Τα ενδομυϊκά ινομυώματα αναπτύσσονται εντός του τοιχώματος της μήτρας. Τα υποβλεννογόνια ινομυώματα εντοπίζονται κάτω από το ενδομήτριο, μέσα στην κοιλότητα της μήτρας. Σπανίως μπορεί να αυξηθούν τόσο σε μέγεθος ώστε να αποκτήσουν μίσχο και να προβάλλουν από το τραχηλικό στόμιο προς τον κόλπο (τεχθέντα ινομυώματα). Παρόλο που οι περισσότερες γυναίκες είναι ασυμπτωματικές, περίπου το 25% των γυναικών αναπτύσσουν συμπτώματα όπως άτυπα κοιλιακά άλγη ή πιεστικά συμπτώματα , αιμορραγίες, υπογονιμότητα ή άλλα συμπτώματα μαζικής επίδρασης από ινομυώματα ([Buttram and Reiter 1981](#_ENREF_32)). Η παθογένεια των ινομυωμάτων της μήτρας βρίσκεται υπό διερεύνηση. Είναι αποδεκτό ότι η ανάπτυξή τους διεγείρεται τόσο από τα οιστρογόνα όσο και από την προγεστερόνη. Ωστόσο, οι μηχανισμοί που περιβάλλουν την αρχική γένεση αυτών των όγκων δεν είναι γνωστοί ([Islam, Protic et al. 2013](#_ENREF_97)). Ορισμένες μελέτες έχουν δείξει ότι μέχρι 40% των μεμονωμένων ινομυωμάτων έχουν κάποια χρωμοσωμική αλλοίωση. Η πιο συνηθισμένη χρωμοσωμική ανωμαλία που διαπιστώθηκε είναι η μετατόπιση των χρωμοσωμάτων 12 και 14. Το γονίδιο HMGA2, βρέθηκε σε αυτή τη μετατόπιση, ενώ αρκετοί άλλοι γενετικοί τόποι και γονιδιακά προϊόντα έχουν επίσης εμπλακεί στην ανάπτυξη των ινομυομάτων, συμπεριλαμβανομένης της κινάσης τύπου STE-20, AKAP13 και MED12, μεταξύ πολλών άλλων Επιπλέον, αρκετές χημειοκίνες, κυτοκίνες, συστατικά εξωκυτταρικής μήτρας (κολλαγόνα, φιμπρονεκτίνες) και αυξητικοί παράγοντες έχουν επίσης εμπλακεί στην ανάπτυξη αυτών ([Ciavattini, Di Giuseppe et al. 2013](#_ENREF_42)).

Είναι γενικά αποδεκτό ότι τα υποβλεννώδη ινομυώματα, τα οποία εγγενώς παραμορφώνουν την κοιλότητα της μήτρας, έχουν αρνητική επίδραση στη γονιμότητα. Τα ινομυώματα που προκαλούν ενδοκοιλιακή παραμόρφωση οδηγούν σε μειωμένα ποσοστά κλινικής εγκυμοσύνης, εμφύτευσης και συνεχιζόμενης εγκυμοσύνης / γέννησης, καθώς και σε αυξημένο ρυθμό αυθόρμητης αποβολής ([Pritts, Parker et al. 2009](#_ENREF_173)). Αντιθέτως, υπάρχει διαμάχη ως προς το εάν τα ινομυώματα που δεν προκαλούν παραμόρφωση της κοιλότητας της μήτρας έχουν κάποια επίδραση στη γονιμότητα. Ωστόσο, στην ίδια ανασκόπηση ([Pritts, Parker et al. 2009](#_ENREF_173)), διαπίστωσαν ότι οι ασθενείς με ινομυώματα χωρίς ενδοκοιλιακή εμπλοκή (ιδιαίτερα ενδομυϊκά ινομυώματα), σε σύγκριση με μάρτυρες χωρίς ινομυώματα, είχαν μειωμένους ρυθμούς εμφύτευσης και συνεχιζόμενη εγκυμοσύνη / ζωντανή γέννηση και αυξημένο ρυθμό αυθόρμητης αποβολής.



***Εικόνα.***

a) Yπορρογόνιο ινομύωμα

b) Ενδοτοιχωματικό

c) Υποβλεννογόνιο

d) Μισχωτό υποβλεννογόνιο

e) Τεχθέν ινομύωμα

f) Ενδοσυνδεσμικό

(http://www.kpapakonstantinou.com/documents/image003.png)

Άλλα ελαττώματα της αναπαραγωγικής οδού, περιλαμβάνουν συγγενείς παραμορφώσεις της μήτρας (για παράδειγμα, αγένεση μήτρας, μονόπλευρη μήτρα, διπλή μήτρα, διχοτομημένη μήτρα και πλήρης διάσπαση μήτρας) καθώς και άλλες αρτηριακές δυσπλασίες του Müllerian αγωγού. Οι ανατομικές ανωμαλίες του τραχήλου της μήτρας μπορεί να επηρεάσουν τη φυσική γονιμότητα, εν μέρει λόγω της μη φυσιολογικής παραγωγής βλέννας ([Matzuk and Lamb 2008](#_ENREF_133)).

Προβλήματα στην ωορρηξία

Τα ελαττώματα της ωορρηξίας μπορεί να είναι σημαντικά. Μόνο η τελική φάση της θυλακιογένεσης είναι ορμονοεξαρτώμενη και κατά τη διάρκεια της ζωής της γυναίκας μόνο 300-400 θυλάκια θα υποβληθούν σε ωορρηξία. Ωστόσο, τα ελαττώματα της ωορρηξίας αντιπροσωπεύουν μια βασική γυναικεία αναπαραγωγική ανεπάρκεια. Οι μετρήσεις των ορμονών παρέχουν χρήσιμες προσεγγίσεις για την αξιολόγηση της ωορρηξίας, αν και (με εξαίρεση τη μέτρηση της LH) οι πληροφορίες αυτές είναι αναδρομικές. Παρομοίως, οι εκτιμήσεις του ωοθηκικού αποθεματικού που έγιναν με βάση ενδοκρινικές μετρήσεις ή ανταπόκριση σε ορμονικές προκλήσεις (όπως το κιτρικό κλομιφαίνιο) μερικές φορές χρησιμοποιούνται σε συνδυασμό με μετρήσεις των ωοθηκών μέσω υπερήχων πριν από την έναρξη μιας υποβοηθούμενης θεραπείας ([Robins and Carson 2008](#_ENREF_181)).

Οι διαταραχές της ωορρηξίας, οι οποίες εμφανίζονται ως διαταραχές της εμμήνου ρύσεως, είναι η αιτία της υπογονιμότητας σε περίπου 25% των ζευγαριών που έχουν δυσκολία να συλλάβουν. Ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας (ΠΟΥ) κατατάσσει τις διαταραχές της ωορρηξίας σε τρεις ομάδες:

1. Οι διαταραχές της ωορρηξίας της Ομάδας Ι προκαλούνται από την αποτυχία σχηματισμού του υποθαλάμου και της υπόφυσης. Αυτή η κατηγορία περιλαμβάνει καταστάσεις όπως η υποθαλαμική αμηνόρροια και ο υπογοναδοτροφικός υπογοναδισμός. Συνήθως, οι γυναίκες εμφανίζουν αμηνόρροια (πρωτογενή ή δευτερογενή) η οποία χαρακτηρίζεται από χαμηλή γοναδοτροπίνη και έλλειψη οιστρογόνων. Περίπου το 10% των γυναικών με διαταραχές της ωορρηξίας έχουν μια διαταραχή της ωορρηξίας της ομάδας Ι.
2. Οι διαταραχές ωορρηξίας της Ομάδας ΙΙ ορίζονται ως δυσλειτουργίες του άξονα υποθαλάμου-υπόφυσης-ωοθήκης. Αυτή η κατηγορία περιλαμβάνει καταστάσεις όπως σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών και υπερπρολακτιναιμική αμηνόρροια. Περίπου το 85% των γυναικών με διαταραχές της ωορρηξίας έχουν μια διαταραχή της ωορρηξίας της ομάδας ΙΙ.
3. Οι διαταραχές της ωορρηξίας της ομάδας III προκαλούνται από την αποτυχία σχηματισμού των ωοθηκών. Περίπου το 5% των γυναικών με διαταραχές της ωορρηξίας έχουν διαταραχή της ωορρηξίας της ομάδας ΙΙΙ ([National Collaborating Centre for and Children's 2013](#_ENREF_141)).

Οι γυναίκες με τις διαταραχές της ωορρηξίας της Ομάδας Ι, που είναι επίσης γνωστές ως υπογοναδοτροφικός υπογοναδισμός, παρουσιάζουν συνήθως αμηνόρροια (πρωτογενή ή δευτερογενή), συχνά αποκαλούμενη υποθαλαμική αμηνόρροια, η οποία χαρακτηρίζεται από χαμηλά επίπεδα γοναδοτροφίνης και έλλειψη οιστρογόνων. Ο υπογοναδοτροφικός υπογοναδισμός έχει συνήθως μια άγνωστη αιτία. Ωστόσο, μπορεί να είναι συγγενής, για παράδειγμα όταν συνδέεται με ανόσμια είναι γνωστό ως σύνδρομο Kallmann. Η υποθαλαμική αμηνόρροια αναπτύσσεται συχνά ως αποτέλεσμα του χαμηλού σωματικού βάρους ή της υπερβολικής άσκησης. Η έλλειψη της υπόφυσης είναι ασυνήθιστη και, όπως συμβαίνει με όλες τις αιτίες της υπογονιμότητας, πρέπει να διερευνηθεί καταλλήλως πριν εξεταστεί η επαγωγή της ωορρηξίας ([National Collaborating Centre for and Children's 2013](#_ENREF_141)).

Η θεραπεία αυτών των διαταραχών της ωορρηξίας, εξαρτάται από τη διάγνωση. Οι επιλογές θεραπείας περιλαμβάνουν:

* παρεμβάσεις στον τρόπο ζωής (ομαλοποίηση του βάρους και άσκηση)
* παλμική απελευθέρωση της GnRH («αντλία GnRH»)
* γοναδοτροφίνες (ανθρώπινη εμμηνοπαυσιακή γοναδοτροπίνη [hMG] ([National Collaborating Centre for and Children's 2013](#_ENREF_141))

Το σύνδρομο των πολυκυστικών ωοθηκών (PCOS) είναι μια ετερογενής ομάδα διαταραχών που επηρεάζουν περίπου το 18% των γυναικών αναπαραγωγικής ηλικίας και είναι ο συνηθέστερος τύπος διαταραχής της ωορρηξίας της Ομάδας ΙΙ κατά τον ΠΟΥ. Πρόκειται για μια διαταραχή που χαρακτηρίζεται από υπερανδρογονισμό, δυσλειτουργία της ωορρηξίας και πολυκυστικές ωοθήκες. Οι κλινικές εκδηλώσεις του PCOS περιλαμβάνουν συνήθως διαταραχές της εμμήνου ρύσεως, οι οποίες κυμαίνονται από την αμηνόρροια μέχρι την εμμηνόρροια. Οι διαταραχές του δέρματος είναι επίσης πολύ συχνές μεταξύ αυτών των γυναικών. Επιπλέον, το 90% των γυναικών με PCOS δεν μπορούν να συλλάβουν ([2004](#_ENREF_1)).

Η αντίσταση στην ινσουλίνη μπορεί να είναι κεντρικός παράγοντας στην αιτιολογία του PCOS. Τα σημάδια της αντίστασης στην ινσουλίνη, όπως η υπέρταση, η παχυσαρκία και η κεντρική κατανομή του λίπους, σχετίζονται με άλλες σοβαρές καταστάσεις, όπως το μεταβολικό σύνδρομο, το μη-αλκοολικό λιπαρό συκώτι και την άπνοια ύπνου ([Setji, Holland et al. 2006](#_ENREF_199)). Όλες αυτές οι καταστάσεις είναι παράγοντες κινδύνου για μακροχρόνιες μεταβολικές βλάβες, όπως οι καρδιαγγειακές παθήσεις και ο διαβήτης ([Hardiman, Pillay et al. 2003](#_ENREF_82)). Το πιο σημαντικό είναι ότι η περιφέρεια της μέσης, ανεξάρτητα από το δείκτη μάζας σώματος (ΔΜΣ), είναι υπεύθυνη για την αύξηση της oxLDL ([Crist, Alekel et al. 2009](#_ENREF_47)). Η αντίσταση στην ινσουλίνη και/ή η υπερινσουλιναιμία αυξάνουν τη διαθεσιμότητα τόσο του κυκλοφορούντος ανδρογόνου όσο και της παραγωγής ανδρογόνων από τα επινεφρίδια και τις ωοθήκες, κυρίως με τη μείωση της SHBG ([Creanga, Bradley et al. 2008](#_ENREF_46)).

Το σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών συσχετίζεται επίσης με μειωμένες συγκεντρώσεις αντιοξειδωτικών και επομένως θεωρείται ως μια οξειδωτική κατάσταση. Η μείωση της κατανάλωσης του μιτοχονδριακού O2 και των επιπέδων γλουταθειόνης (GSH) μαζί με αυξημένη παραγωγή ROS εξηγεί τη μιτοχονδριακή δυσλειτουργία σε ασθενείς με PCOS. Τα μονοπυρηνά κύτταρα των γυναικών με PCOS είναι αυξημένα σε αυτήν την φλεγμονώδη κατάσταση, η οποία συμβαίνει περισσότερο από μια αυξημένη απόκριση στην υπεργλυκαιμία και την C-αντιδραστική πρωτεΐνη (CRP). Η φυσιολογική υπεργλυκαιμία δημιουργεί αυξημένα επίπεδα ROS από μονοπύρηνα κύτταρα, τα οποία στη συνέχεια ενεργοποιούν την απελευθέρωση του TNF-άλφα και αυξάνουν τον φλεγμονώδη μεταγραφικό παράγοντα NF-κάππα Β. Ως αποτέλεσμα, αυξάνονται περαιτέρω οι συγκεντρώσεις του TNF-αλφα, γνωστού μεσολαβητή της αντίστασης στην ινσουλίνη . Το επακόλουθο οξειδωτικό στρες δημιουργεί ένα φλεγμονώδες περιβάλλον που αυξάνει περαιτέρω την αντίσταση στην ινσουλίνη και συμβάλλει στον υπερανδρογονισμό ([Agarwal, Aponte-Mellado et al. 2012](#_ENREF_6)).

Η υπερηχογραφική εξέταση των ωοθηκών αποκαλύπτει χαρακτηριστικές εμφανίσεις, με πολλαπλά (12 ή περισσότερα) μικρά θυλακικά άντρα παρόντα. Το 2003, η συνάντηση συναίνεσης του Ρότερνταμ (με την υποστήριξη της Ευρωπαϊκής Εταιρείας Ανθρώπινης Αναπαραγωγής και Εμβρυολογίας [ESHRE / American Society of Reproductive Medicine - ASRM] συμφώνησε στον ορισμό της PCOS, δηλαδή την ύπαρξη τουλάχιστον δύο από τα ακόλουθα τρία κριτήρια με αποκλεισμό από άλλες αιτίες της διαταραχής του έμμηνου κύκλου ή της υπέρβασης ανδρογόνου:

* ολιγο-ωορρηξία και / ή ανωοθυλακιορρηξία,
* υπερανδρογονισμός (κλινικός και / ή βιοχημικός)
* πολυκυστικές ωοθήκες σε υπερηχογραφική σάρωση ([National Collaborating Centre for and Children's 2013](#_ENREF_141))

Οι επιλογές θεραπείας περιλαμβάνουν:

* απώλεια βάρους
* ιατρική περίθαλψη
* θεραπευτικές αγωγές δεύτερης γραμμής, συμπεριλαμβανομένης της λαπαροσκοπικής διαθερμίας των ωοθηκών (LOD) και της επαγωγής ωορρηξίας με έγχυση γοναδοτροπίνης
* υποβοηθούμενη σύλληψη (συνήθως in vitro γονιμοποίηση [IVF]) ([National Collaborating Centre for and Children's 2013](#_ENREF_141))

Η υπερπρολακτιναιμική αμηνόρροια είναι μια άλλη, αν και πολύ λιγότερο κοινή, διαταραχή της ωορρηξίας της Ομάδας ΙΙ. Κλινικά, εκτός από την αμηνόρροια και τη στειρότητα, οι γυναίκες με την πάθηση έχουν γαλακτορροία. Η πιο συνηθισμένη πηγή της πλεονάζουσας παραγωγής προλακτίνης είναι ένα μικροαδένωμα στην υπόφυση. Η θεραπεία γίνεται με αγωνιστές ντοπαμίνης ([National Collaborating Centre for and Children's 2013](#_ENREF_141)).

Χρωμοσωμικές ανωμαλίες και καρκίνος

Τα ελαττώματα των χρωμοσωμάτων δεν λαμβάνονται πάντοτε υπόψη στην αξιολόγηση γυναικείας υπογονιμότητας, αλλά σε μια ομάδα 1.012 γυναικών που ήταν υποψήφιες για ενδοκυτταροπλασματική έγχυση σπέρματος (ICSI), το 4.84% των γυναικών έδειξε αριθμητικές και δομικές χρωμοσωμικές ανωμαλίες, με το 2,77% να είναι κοινές ([Gekas, Thepot et al. 2001](#_ENREF_70)). Είναι ενδιαφέρον ότι, παρά την αυξημένη συχνότητα εμφάνισης χρωμοσωμικών ανωμαλιών, οι στείρες γυναίκες δεν αξιολογούνται συνήθως με ανάλυση καρυότυπου. Παρ 'όλα αυτά, υπάρχουν και άλλες ασθένειες της γυναικείας αναπαραγωγικής οδού, στις οποίες οι γενετικές μελέτες αρχίζουν σιγά σιγά να γίνονται γνωστές. Οι καρκίνοι της γυναικείας οδού αποτελούν σημαντική αιτία νοσηρότητας και θνησιμότητας. Παρόλο που οι ετήσιες αναλύσεις του τραχήλου της μήτρας με τεστ Παπανικολάου χρησιμοποιούνται για την ανίχνευση καρκινώματος in situ και του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας, δεν υπάρχουν ακόμα ειδικές και ευαίσθητες γενετικές ή διαγνωστικές εξετάσεις για την ανίχνευση ενδομητρικών ή ωοθηκικών καρκίνων. Παρομοίως, οι αιτίες καλοήθων καταστάσεων όπως τα ινομυώματα της μήτρας, η ενδομητρίωση και το σύνδρομο των πολυκυστικών ωοθηκών (PCOS), που προκαλούν σημαντική νοσηρότητα και υπογονιμότητα σε μεγάλο αριθμό γυναικών σε αναπαραγωγική ηλικία, δεν μπορούν να αναλυθούν γενετικά ακόμη. Ωστόσο, δημιουργούνται γενετικά μοντέλα για την αύξηση της κατανόησης αυτών των ασθενειών ([Matzuk and Lamb 2008](#_ENREF_133)).

Σαλπιγγικές διαταραχές

Υπολογίζεται ότι οι βλάβες στις σάλπιγγες αντιπροσωπεύουν το 14% των αιτίων της υπογονιμότητας στις γυναίκες. Η απόφραξη των σαλπίγγων περιλαμβάνει το κοντινό τμήμα (το οποίο είναι πιο κοντά στη μήτρα), το μεσαίο ή το μακρινό τμήμα (το οποίο είναι πιο απομακρυσμένο από τη μήτρα). Η στενή (μητροσαλπιγγική) απόφραξη εμφανίζεται σε 10-25% των γυναικών με σαλπιγγική ασθένεια ([Sulak, Letterie et al. 1987](#_ENREF_211)). Η παθολογική αυτή νόσος περιλαμβάνει την απόφραξη των σαλπίγγων και τις συμφύσεις της πυέλου λόγω λοίμωξης, ενδομητρίωσης και προηγούμενης χειρουργικής επέμβασης ([National Collaborating Centre for and Children's 2013](#_ENREF_141)). Η απόφραξη των ωαγωγών μπορεί να εμποδίσει το σπέρμα να φτάσει το ωάριο, είτε το ωάριο να κατέλθει προς τη μήτρα, αυξάνοντας την πιθανότητα έκτοπης εγκυμοσύνης. Συμφύσεις γύρω από την σάλπιγγα μπορεί να την παραμορφώσουν, ή να μειώσουν την κινητικότητα της, ή να διαταράξουν τη φυσιολογική ανατομική σχέση σάλπιγγας-ωοθήκης, έτσι ώστε να επηρεάσουν δυσμενώς την ικανότητα της να συλλέξει το ωάριο ([Krysiewicz 1992](#_ENREF_113)).

Οι λοιμώξεις είναι η συνηθέστερη αιτία προβλημάτων στις σάλπιγγες, ειδικά όταν η λοίμωξη δεν αντιμετωπιστεί άμεσα, ή δεν αντιμετωπιστεί επαρκώς. Τέτοιες μπορεί να είναι προηγούμενες μολύνσεις της οσφυϊκης ή πυελικής χώρας, λοιμώξεις που ίσως επεκταθούν στις σάλπιγγες μετά από έκτρωση, αποβολή ή τοκετό, σεξουαλικά μεταδιδόμενες ασθένειες όπως χλαμύδια ή γονόρροια ([Hurtgen 1982](#_ENREF_94)).Οι αυξημένοι τίτλοι των χλαμυδιακών αντισωμάτων σε γυναίκες συσχετίστηκαν σημαντικά με βλάβες στις σάλπιγγες ([Eggert-Kruse, Rohr et al. 1997](#_ENREF_62)). Ο τίτλος των χλαμυδιακών αντισωμάτων έχει επίσης αναφερθεί ότι είναι ακριβέστερος στην πρόβλεψη σοβαρής σαλπιγγικής παθολογίας από τις μη καθορισμένες σαλπιγγοπεριτοναϊκές ανωμαλίες ([Land, Evers et al. 1998](#_ENREF_115)). Επίσης υπάρχουν ενδείξεις ότι οι υδροσάλπιγγες (παγιδευμένο υγρό μέσα στις σάλπιγγες, λόγω παλαιότερων φλεγμονών), μειώνουν τις πιθανότητες επιτυχίας μιας υποβοηθούμενης μεθόδου και αυξάνουν την πιθανότητα αποβολής ([Hurtgen 1982](#_ENREF_94)).

Διαταραχές τραχηλικής βλέννης

Η τραχηλική βλέννη ταξινομείται εύκολα με βάση την εμφάνιση και την αίσθηση. Οι τύποι 1 και 2 τραχηλικής βλέννης τυπικά υπάρχουν στην αρχή του έμμηνου κύκλου και σχετίζονται με ξηρές (τύπου 1) ή υγρές (τύπου 2) αισθήσεις στο αιδοίο. Ο τύπος 3 τυπικά χαρακτηρίζεται από παχύ, κρεμώδες, λευκόχρωμη ή κιτρινωπή βλέννη και μια αίσθηση υγρασίας στο αιδοίο. Ο τύπος 4 χαρακτηρίζεται από διαφανή και ελαστική βλέννη (που θυμίζει ωμό ασπράδι αυγού) και μια υγρή ή ολισθηρή αίσθηση στο αιδοίο ([Bigelow, Dunson et al. 2004](#_ENREF_24)). Αρκετές μελέτες έχουν δείξει ότι η τραχηλική βλέννη είναι μια εξαιρετική μέθοδος για την πρόβλεψη πιθανότητας σύλληψης. Η σεξουαλική επαφή σε μια μέρα με την τραχηλική βλέννη να χαρακτηρίζεται ως τύπου 4 έχει υψηλότερη πιθανότητα σύλληψης ενώ αν η βλέννη χαρακτηρίζεται τύπου 1 ή 2 η πιθανότητα σύλληψης είναι χαμηλότερη. Σε περίπτωση δυσλειτουργίας η τραχηλική βλέννη, αν και εμφανίζει φυσιολογική σύσταση, δεν επιτρέπει την διέλευση φυσιολογικών σπερματοζωαρίων προς τη μήτρα και τις σάλπιγγες ([Scarpa, Dunson et al. 2007](#_ENREF_190)).

Αντισπερματικά αντισώματα στη γυναίκα, τον άνδρα ή και τα δύο, μπορεί να είναι η αιτία της μη οργανικής υπογονιμότητας σε μικρό αριθμό ζευγαριών. Τα αντισώματα απαντώνται συχνότερα στον ορό ή στα γεννητικά υγρά. Η διάγνωση βασίζεται σε διάφορες εργαστηριακές εξετάσεις για την αξιολόγηση της συμβατότητας σπέρματος-τραχηλικής βλέννης και για την ανίχνευση των αντισπερματικών αντισωμάτων. Η ύπαρξη αντισπερματικών αντισωμάτων στην τραχηλική βλέννη μπορεί να προκαλέσει θάνατο ή ακινητοποίηση των σπερματοζωαρίων ([De Muylder and Lord 1984](#_ENREF_54)).

Οξειδωτικό στρες

Κάθε μήνα, μια ομάδα ωοκυττάρων αρχίζει να αναπτύσσεται και να μεγαλώνει στην ωοθήκη, όμως μόνο ένα, το κυριαρχο ωοκύτταρο συνεχίζει στη διαδικασία της μείωσης Ι. Αυτή η διαδικασία επηρεάζεται από μια αύξηση των ROS και αναστέλλεται από τα αντιοξειδωτικά. Αντίθετα, η διαδικασία της μείωσης II προάγεται από τα αντιοξειδωτικά ([Behrman, Kodaman et al. 2001](#_ENREF_22)), υποδηλώνοντας ότι υπάρχει μια πολύπλοκη σχέση μεταξύ του ROS και των αντιοξειδωτικών στις ωοθήκες. Η αύξηση της παραγωγής στεροειδών στο αναπτυσσόμενο θυλάκιο προκαλεί την αύξηση του Ρ450, με αποτέλεσμα τον σχηματισμό των ROS. Τα αντιδραστικά είδη οξυγόνου που παράγονται από το προ-ωοθυλάκιο θεωρούνται σημαντικοί επαγωγείς για την ωορρηξία ([Ruder, Hartman et al. 2009](#_ENREF_184)). Η στέρηση οξυγόνου διεγείρει την ωοθυλακική αγγειογένεση, η οποία είναι σημαντική για την επαρκή ανάπτυξη του ωοθυλακίου. Το ROS-ωοθυλάκιο προάγει την απόπτωση, ενώ η FSH αντισταθμίζει αυτή την δράση στο αναπτυσσόμενο θυλάκιο. Το οιστρογόνα αυξάνονται ως απάντηση στην FSH, προκαλώντας την δημιουργία καταλάσης στο κυρίαρχο θυλάκιο, αποφεύγοντας έτσι την απόπτωση ([Behrman, Kodaman et al. 2001](#_ENREF_22)).

Η ωορρηξία είναι απαραίτητη για την αναπαραγωγή και ξεκινά από την αύξηση της LH, η οποία προάγει σημαντικές φυσιολογικές αλλαγές που έχουν ως αποτέλεσμα την απελευθέρωση ενός ώριμου ωαρίου. Η υπερβολική κατανάλωση προδρόμων φλεγμονής προερχόμενων μετά την LH δημιουργεί ROS, ενώ από την άλλη πλευρά, η εξάντληση αυτών των προδρόμων επιβαρύνει την ωορρηξία ([Shkolnik, Tadmor et al. 2011](#_ENREF_201)).

Στις ωοθήκες, το ωχρό σώματιο παράγεται μετά την ωορρηξία, παράγει προγεστερόνη, η οποία είναι απαραίτητη για μια επιτυχή εγκυμοσύνη. Τα αντιδραστικά είδη οξυγόνου παράγονται επίσης στο ωχρό σώματιο και αποτελούν βασικούς παράγοντες αναπαραγωγής. Όταν η εγκυμοσύνη δεν συμβεί, το ωχρό σώματιο εκφυλίζεται. Αντιστρόφως, όταν λαμβάνει χώρα η εγκυμοσύνη, το ωχρό σώματιο συνεχίζει τη λειτουργία του . Για την επαρκή ανάπτυξη των θυλακίων στον επόμενο κύκλο απαιτείται ταχεία μείωση της προγεστερόνης. Το ένζυμο Cu/Zn-SOD αυξάνεται στο ωχρό σώματιο κατά την πρώιμη έως τη μέση ωχρινική φάση και μειώνεται κατά την εκκριτική φάση. Αυτή η δραστηριότητα παραλληλίζεται με τη μεταβολή της συγκέντρωσης προγεστερόνης, σε αντίθεση με τα επίπεδα υπεροξειδίου των λιπιδίων, τα οποία αυξάνονται κατά την εκκριτική φάση ([Agarwal, Aponte-Mellado et al. 2012](#_ENREF_6)).

Η μείωση της συγκέντρωσης του ενζύμου Cu/Zn-SOD θα μπορούσε να εξηγήσει την αύξηση της συγκέντρωσης ROS κατά τη διάρκεια της εκκριτικής φάσης. Άλλες πιθανές εξηγήσεις για το μειωμένο Cu/Zn-SOD είναι η αύξηση της προσταγλανδίνης (PG) F2-άλφα ή των μακροφάγων ή μια μείωση της ροής αίματος των ωοθηκών ([Behrman, Kodaman et al. 2001](#_ENREF_22)). Η προσταγλανδίνη F2-α διεγείρει την παραγωγή των ανιόντων του οξειδωτικού στρες απο ωοθηκικά κύτταρα και φαγοκυτταρικά λευκοκύτταρα στο ωχρό σωμάτιο. Η μειωμένη ροή αίματος στις ωοθήκες προκαλεί βλάβη των ιστών από την παραγωγή ROS. Οι συγκεντρώσεις του Mn-SOD στο ωχρό σωμάτιο κατά τη διάρκεια της εκκριτικής φάσης αυξάνονται για να καθαριστούν τα ROS που παράγονται στα μιτοχόνδρια από φλεγμονώδεις αντιδράσεις και κυτοκίνες. Η πλήρης διάσπαση του ωχρού σωμάτιου προκαλεί σημαντική μείωση του Mn-SOD. Σε αυτό το σημείο, ο κυτταρικός θάνατος είναι επικείμενος ([Shkolnik, Tadmor et al. 2011](#_ENREF_201)). Το ένζυμο Cu/Zn-SOD σχετίζεται στενά με την παραγωγή προγεστερόνης, ενώ το Mn-SOD προστατεύει τα ωοθηκικά κύτταρα από την επαγόμενη από το οξειδωτικό στρες φλεγμονή ([Agarwal, Aponte-Mellado et al. 2012](#_ENREF_6)).

Κατά την διάρκεια μιας φυσιολογικής εγκυμοσύνης, η ενεργοποίηση των λευκοκυττάρων παράγει μια φλεγμονώδη απόκριση, η οποία σχετίζεται με αυξημένη παραγωγή ανιόντων του οξειδωτικού στρες στο 1ο τρίμηνο. Είναι σημαντικό ότι το οξειδωτικό στρες κατά το 2ο τρίμηνο της εγκυμοσύνης θεωρείται ένα φυσιολογικό φαινόμενο και υποστηρίζεται από την μιτοχονδριακή παραγωγή υπεροξειδίων λιπιδίων, ελεύθερων ριζών και βιταμίνης Ε στον πλακούντα που αυξάνεται καθώς η κύηση εξελίσσεται ([Agarwal, Aponte-Mellado et al. 2012](#_ENREF_6)).

Αύξηση ηλικίας και εμμηνόπαυση

Η γήρανση ορίζεται ως η σταδιακή απώλεια λειτουργιών των οργάνων και ιστών. Η ποιότητα των ωαρίων μειώνεται σε σχέση με την αυξανόμενη ηλικία της γυναίκας. Πρόσφατες μελέτες έχουν δείξει ότι τα ωοκύτταρα χαμηλής ποιότητας περιέχουν αυξημένη βλάβη mtDNA και χρωμοσωμική ανευπλοειδία, δευτερογενείς σε σχέση με την ηλικία δυσλειτουργίες. Αυτές οι μιτοχονδριακές αλλαγές μπορεί να προκύψουν από την υπερβολική ποσότητα των ROS, η οποία συμβαίνει μέσω του ανοίγματος των διαύλων ιόντων (π.χ. απώλεια της ομοιόστασης Ca2+). Τα επίπεδα της 8-OHdG, ενός οξειδωμένου παραγώγου της δεοξυγουανοσίνης, είναι υψηλότερα στα ωοκύτταρα γήρανσης. Στην πραγματικότητα, η 8-OHdG είναι η πιο κοινή τροποποίηση βάσης στη μεταλλαξιογόνο βλάβη και χρησιμοποιείται ως βιοδείκτης του οξειδωτικού στρες ([Salmon, Richardson et al. 2010](#_ENREF_188)).

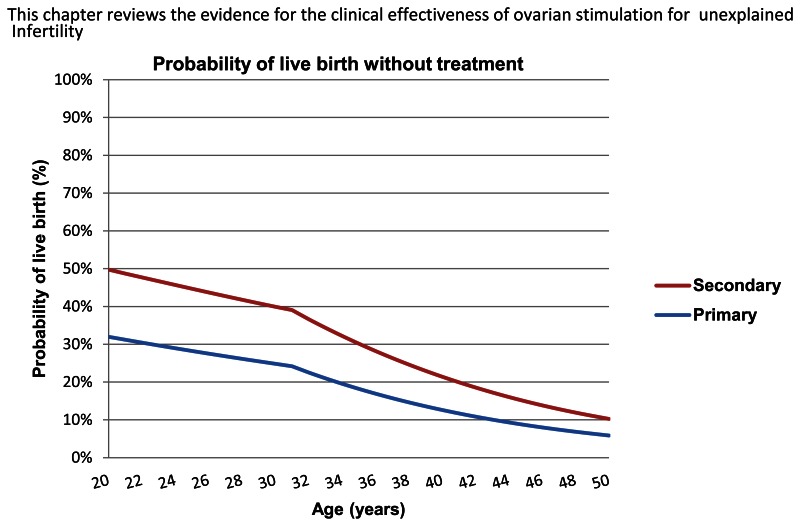
Το οξειδωτικό στρες, τα αποθέματα σιδήρου, τα λιπίδια του αίματος και το σωματικό λίπος συνήθως αυξάνονται με την ηλικία, ειδικά μετά την εμμηνόπαυση. Η διακοπή της εμμηνόρροιας οδηγεί σε αύξηση των επιπέδων σιδήρου σε όλο το σώμα. Τα αυξημένα αποθέματα σιδήρου θα μπορούσαν να προκαλέσουν οξειδωτική ανισορροπία, γεγονός που μπορεί να εξηγήσει γιατί η συχνότητα εμφάνισης καρδιακών παθήσεων είναι υψηλότερη στις μετεμμηνοπαυσιακές από τις προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες ([Crist, Alekel et al. 2009](#_ENREF_47)).

Η εμμηνόπαυση οδηγεί επίσης σε μείωση των οιστρογόνων και απώλεια των προστατευτικών τους επιδράσεων έναντι της οξειδωτικής βλάβης στο ενδομήτριο. Η θεραπεία αντικατάστασης ορμόνης (HRT) μπορεί να είναι επωφελής κατά του οξειδωτικού στρες με τον ανταγωνισμό των επιδράσεων των χαμηλότερων επιπέδων αντιοξειδωτικών που συμβαίνουν κανονικά με τη γήρανση. Ωστόσο, απαιτούνται περαιτέρω μελέτες για να καθοριστεί εάν η HRT μπορεί να βελτιώσει αποτελεσματικά τη μείωση της γονιμότητας λόγω ηλικίας ([Agarwal, Aponte-Mellado et al. 2012](#_ENREF_6)).

Ανεξήγητη υπογονιμότητα

Η υπογονιμότητα περιγράφεται ως «ανεξήγητη» όταν οι τυποποιημένες έρευνες, συμπεριλαμβανομένης της ανάλυσης σπέρματος, του έλεγχου διαπερατότητας των σαλπίγγων και της εκτίμησης της ωοθυλακιορρηξίας, δεν ανιχνεύουν τυχόν ανωμαλίες ή κάποια ειδική διάγνωση. Επομένως, πρόκειται για μια διάγνωση αποκλεισμού. Η βιβλιογραφία για την ανεξήγητη υπογονιμότητα βασίζεται σε μελέτες ετεροφυλόφιλων ζευγαριών με κολπική επαφή ([National Collaborating Centre for and Children's 2013](#_ENREF_141)).

Η ανεξήγητη υπογονιμότητα επηρεάζει περίπου το 15% των ζευγαριών που αναζητούν ιατρική συμβουλή, παρόλο που σε κάποιες μελέτες το 37% των ατόμων κατηγοριοποιείται ότι είναι στείροι για ανεξήγητους λόγους ([Aboulghar, Mansour et al. 2003](#_ENREF_3), [Isaksson and Tiitinen 2004](#_ENREF_96)). Συνολικά, περίπου το 15% των ζευγαριών που έχουν διαγνωστεί με ανεξήγητη υπογονιμότητα θα συλλάβουν χωρίς θεραπεία εντός 1 έτους και 35% εντός 2 ετών ([Isaksson and Tiitinen 1998](#_ENREF_95)). Ωστόσο, σε ορισμένες όμαδες, το ποσοστό εγκυμοσύνης επί 3 χρόνια χωρίς θεραπεία έχει αναφερθεί ότι είναι έως και 80% ([Guzick, Sullivan et al. 1998](#_ENREF_77)). Η ηλικία της γυναίκας είναι ο σημαντικότερος προγνωστικός δείκτης της επιτυχούς σύλληψης χωρίς θεραπεία με τα ποσοστά να πέφτουν σε μεγαλύτερο ποσοστό μετά την ηλικία των 30 ετών ([Hunault, Habbema et al. 2004](#_ENREF_93)).



***Εικόνα. Πιθανότητα αυθόρμητης γέννησης χωρίς θεραπεία σε γυναίκα με πρωτοπαθή (χωρίς προηγούμενη εγκυμοσύνη) ή δευτεροπαθή (προηγούμενη εγκυμοσύνη) υπογονιμότητα με διάρκεια 2 ετών, η οποία έχει κανονικές σεξουαλικές επαφές και έχει φυσιολογική ωορρηξία (***[***National Collaborating Centre for and Children's 2013***](#_ENREF_141)***)***

Στις δυτικές κοινωνίες είναι όλο και πιο συχνό να γεννιούνται παιδία από μεγαλύτερα σε ηλικία ζευγάρια, για αρκετούς λόγους. Αν και αναφέρονται ελάχιστες εγκυμοσύνες σε γυναίκες κοντά στα 50 τους χρόνια, γενικά υπάρχει μείωση της γονιμότητας με την πάροδο του χρόνου. Η μείωση είναι σταδιακή αλλά γίνεται πιο αισθητή μετά τα 30 και επιταχύνεται μεταξύ 35 και 40 χρόνων, έτσι ώστε στα 50 περίπου χρόνια η πιθανότητα εγκυμοσύνης να είναι περίπου στο 0.

Μερικές έρευνες έχουν υποδείξει ότι η ανεξήγητη υπογονιμότητα για περισσότερο από 3 χρόνια είναι ένας κακός προγνωστικός δείκτης για μια μελλοντική πιθανότητα εγκυμοσύνης, ενώ κάποιες άλλες δεν το βρήκαν αυτό. Ως αποτέλεσμα, τα ζευγάρια με ανεξήγητη υπογονιμότητα συχνά λαμβάνουν συμβουλές σχετικά με τον τρόπο ζωής και την επιτυχή σύλληψη και τους ζητείται να επιστρέψουν σε λίγους μήνες αν δεν έχει επιτευχθεί εγκυμοσύνη (αυτό είναι γνωστό ως «προσδοκώμενη διαχείριση»), αλλά δεν συνιστάται δραστική θεραπεία ([National Collaborating Centre for and Children's 2013](#_ENREF_141))

**2.4 Σχέση της υπογονιμότητας με το στρες**

Το άγχος ορίζεται συνήθως ως κατάσταση πραγματικής ή αντιλαμβανόμενης απειλής για την ομοιόσταση. Η διατήρηση της ομοιόστασης παρουσία ερεθισμάτων (στρεσογόνων) απαιτεί την ενεργοποίηση ενός σύνθετου φάσματος αποκρίσεων που εμπλέκουν το ενδοκρινικό, νευρικό και ανοσοποιητικό σύστημα, γνωστή ως αντίδραση στρες ([Carrasco and Van de Kar 2003](#_ENREF_35)). Λόγω της μεγάλης ποικιλίας φυσιολογικών και δυνητικά παθογόνων επιπτώσεων της ανταπόκρισης στο στρες, ορισμένα νευρωνικά και ενδοκρινικά συστήματα λειτουργούν για να ρυθμίσουν στενά αυτή την προσαρμοστική διαδικασία ([Smith and Vale 2006](#_ENREF_207)).

Οι ανατομικές δομές που μεσολαβούν στην αντίδραση στρες εντοπίζονται τόσο στο κεντρικό νευρικό σύστημα όσο και στους περιφερικούς ιστούς. Οι κύριοι τελεστές απόκρισης στρες εντοπίζονται στον παρακεντρικό πυρήνα (PVN) του υποθάλαμου, στον πρόσθιο λοβό της υπόφυσης και στα επινεφρίδια, γνωστός ως άξονας υποθαλάμου-υπόφυσης-επινεφριδίων (ΥΥΕ). Εκτός από τον άξονα ΗΡΑ, αρκετές άλλες δομές διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση των προσαρμοστικών αντιδράσεων στο άγχος. Αυτά περιλαμβάνουν νοραδρενεργικούς νευρώνες του εγκεφαλικού στελέχους, κυκλώματα του συμπαθητικού και του μυελού των επινεφριδίων και παρασυμπαθητικά συστήματα ([Habib, Gold et al. 2001](#_ENREF_79)).

Το ανθρώπινο σώμα λοιπόν, ανταποκρίνεται σε στρεσογόνα γεγονότα, σωματικά ή ψυχολογικά, με την απελευθέρωση «ορμονών στρες» που προετοιμάζουν την ανταπόκρισή του σε αυξημένες απαιτήσεις. Αυτές οι ορμόνες αλληλορυθμίζονται και συγχρόνως αλληλεπιδρούν με άλλες ορμόνες που είναι απαραίτητες για την αναπαραγωγή και ενεργούν άμεσα στο αναπαραγωγικό σύστημα ([Schenker, Meirow et al. 1992](#_ENREF_191)).

An external file that holds a picture, illustration, etc.
Object name is DialoguesClinNeurosci-8-383-g001.jpg

***Εικόνα.Σχηματική αναπαράσταση του άξονα υποθαλάμου-υπόφυσης-επινεφριδίων (ΥΥΕ)***

Το άγχος αυξάνει τη δραστηριότητα του συμπαθητικού νευρικού συστήματος και του μυελού των επινεφριδίων, με αποτέλεσμα την αυξημένη απελευθέρωση αδρεναλίνης (Α) και νοραδρεναλίνης (NA). Με παρατεταμένο στρες αυξάνεται η δραστικότητα των ενζύμων που συνθέτουν τις ορμόνες (Α) και (ΝΑ) και συνεπώς οδηγούν σε αυξημένη συγκέντρωση των ορμονών αυτών στο αίμα και μέσα στον εγκέφαλο ([Schenker, Meirow et al. 1992](#_ENREF_191)).

Οι υποφυσιοτροπικοί νευρώνες που εντοπίζονται στη μεσαία κυτταρική υποδιαίρεση του PVN συνθέτουν και εκκρίνουν τον παράγοντα απελευθέρωσης κορτικοτροπίνης (CRF), τον κύριο ρυθμιστή του άξονα ΥΥΕ ([Vale, Spiess et al. 1981](#_ENREF_221)). Σε απόκριση στο στρες, η CRF απελευθερώνεται σε υποφυσικά αγγεία που έχουν πρόσβαση στην πρόσθια υπόφυση. Η σύνδεση του CRF με τον υποδοχέα του στην υπόφυση προκαλεί την απελευθέρωση της αδρενοκορτικοτροπικής ορμόνης (ACTH) στην συστηματική κυκλοφορία. Ο κύριος στόχος για την κυκλοφορία του ACTH είναι ο φλοιός των επινεφριδίων, όπου διεγείρει τη σύνθεση και την έκκριση των γλυκοκορτικοειδών, που αποτελόυν τους τελεστές του ΥΥΕ άξονα και ρυθμίζουν τις φυσιολογικές μεταβολές μέσω διανυσματικά κατανεμημένων ενδοκυτταρικών υποδοχέων. Οι βιολογικές επιδράσεις των γλυκοκορτικοειδών είναι συνήθως προσαρμοστικές, ωστόσο η ανεπαρκής ή υπερβολική ενεργοποίηση του ΥΥΕ άξονα μπορεί να συμβάλει στην ανάπτυξη παθολογιών ([Munck, Guyre et al. 1984](#_ENREF_140)).

Αυτές οι ορμόνες του στρες αλληλεπιδρούν μεταξύ τους ως εξής:

(1) Οι γλυκοκορτικοειδείς ορμόνες αυξάνουν τη μετατροπή των (ΝΑ) και (Α) στο φλοιό των επινεφριδίων,

(2) CRF, NA και Α αυξάνουν την έκκριση της ACTH από την πρόσθια υπόφυση. Τα γλυκοκορτικοειδή και η σωματοστατίνη μειώνουν την έκκριση του ACTH,

(3) Το CRF διεγείρει την κεντρική νοραδρενεργική δραστηριότητα ([Schenker, Meirow et al. 1992](#_ENREF_191)).

Κεντρική ορμονική επίδραση στον έμμηνο κύκλο

Αρκετές μελέτες έδειξαν ότι ο ψυχολογικός τραυματισμός μπορεί να οδηγήσει σε αλλοίωση της συγκέντρωσης των κατεχολαμινών. Η ΝΑ συντίθεται σε κυτταρικά σώματα εντός του μεσεγκεφάλου και του κατώτερου εγκεφαλικού στελέχους. Ο σχηματισμός της είναι εξαιρετικά πλαστικός. Υπό κανονικές συνθήκες, η ποσότητα της ΝΑ που διατίθεται για απελευθέρωση από τις νευρικές απολήξεις, παραμένει σταθερή παρά τις μέτριες διακυμάνσεις στις σωματικές δραστηριότητες. Η έκκριση της NA ρυθμίζεται από σύντομους μηχανισμούς που περιλαμβάνουν πρώτα το ενζυμικό μονοπάτι - υδροξυλάση τυροσίνης και συμβαίνουν κυρίως στις νευρικές απολήξεις. Το σοβαρό στρες έχει ως αποτέλεσμα αλλαγές που διαρκούν πολλές μέρες. Αυτές οι αλλαγές συμβαίνουν σε κυτταρικά σώματα ως αποτέλεσμα της επαγωγής ενζύμων και του σχηματισμού νέων πρωτεϊνών. Μεταβολές στην έκκριση της ΝΑ παρατηρούνται στις νευρικές απολήξεις λίγες μέρες μετά από μια στρεσογόνο κατάσταση ([Schwartz 1982](#_ENREF_194)).

Οι φυσιολογικοί κύκλοι εμμηνορρυσίας διατηρούνται με την παλμική απελευθέρωση του GnRH από τον υποθάλαμο. Οι κατεχολαμινεργικές εκκρίσεις κρίσιμης συχνότητας και εύρους, προκαλούν την απελευθέρωση της GnRH ([Jarry, Leonhardt et al. 1989](#_ENREF_98)). Τα φάρμακα που παρεμβάλλονται στον μεταβολισμό της κατεχολαμίνης διαταράσσουν την απελευθέρωση της γοναδοτροπίνης και οδηγούν σε ανωοθυλακιορηξία . Ένα κοινό παράδειγμα είναι η ρεσερπίνη ([Schenker, Meirow et al. 1992](#_ENREF_191)).

Οι λειτουργίες της υπόφυσης επηρεάζονται από τις μεταβολές στις συγκεντρώσεις των κατεχολαμινών που επηρεάζουν την παλμική απελευθέρωση της GnRH. Μετρήσεις της NA στο ανθρώπινο πλάσμα κατά τη διάρκεια της προωοθυλακικής φάσης έδειξαν μια έντονη αύξηση της NA πριν ή ταυτόχρονα με την αύξηση της LH ([Rosner, Nagle et al. 1976](#_ENREF_182)). Μεταβολές των επιπέδων της ΝΑ ανευρίσκονται στις καταστάσεις της νευρικής ανορεξίας και μπορεί να είναι υπεύθυνες για τις χαμηλές βάσεις των γοναδοτροπινών σε αυτές τις ασθενείς.

Οι ορμόνες καταπόνησης όπως οι κατεχολαμίνες (αδρεναλίνη, νοραδρεναλίνη και ντοπαμίνη) και ο ΥΥΕ αλληλεπιδρά με ορμόνες που είναι υπεύθυνες για φυσιολογικούς κύκλους ωορρηξίας: με την ορμόνη απελευθέρωσης γοναδοτροπίνης ( GnRH ), την προλακτίνη, την LH και την FSH . Τα ενδογενή οπιοειδή και η έκκριση μελατονίνης μεταβάλλονται από το στρες και παρεμβαίνουν στην ωορρηξία. Το γυναικείο αναπαραγωγικό σύστημα συνδέεται με το συμπαθιτικό νευρικό σύστημα και παρέχει διαδρομές μέσω των οποίων το στρες μπορεί να επηρεάσει τη γονιμότητα στο επίπεδο των οργάνων του αναπαραγωγικού συστήματος ([Schenker, Meirow et al. 1992](#_ENREF_191)).

Σε πολλές περιπτώσεις συνυπάρχουν άγχος και υπογονιμότητα. Ωστόσο, στις περισσότερες από αυτές τις περιπτώσεις το άγχος είναι το αποτέλεσμα της υπογονιμότητας και μόνο στο 5% των περιπτώσεων το στρες είναι η μόνη αιτία της υπογονιμότητας([Seibel and Taymor 1982](#_ENREF_195)). Η υπογονιμότητα προκαλεί άγχος με διάφορους τρόπους και το ζευγάρι ως μονάδα, ο άνδρας και η γυναίκα, αντιδρούν με διάφορους τρόπους στο στρες ([Schenker, Meirow et al. 1992](#_ENREF_191)).

Η υπογονιμότητα προκαλεί στρες που επιδεινώνεται καθώς ο χρόνος περνά και το ζευγάρι παραμένει χωρίς παιδιά. Μεταξύ των αιτιών του στρες είναι η απομόνωση του ζευγαριού, η ζωή με μη πραγματοποιημένους στόχους και το αγέννητο παιδί, η διακοπή της καθημερινής ρουτίνας κατά την διάρκεια της αξιολόγησης και θεραπείας της υπογονιμότητας και η αίσθηση του ζευγαριού ότι δεν έχουν τον έλεγχο της ζωής τους. Το πρόγραμμα της εξωσωματικής γονιμοποίησης (IVF) θεωρείται από πολλούς ως το τελικό βήμα για την αξιολόγηση της γονιμότητας ενός ζευγαριού, επομένως τα ζευγάρια που συμμετέχουν σε ένα πρόγραμμα IVF έχουν ιδιαίτερα άγχος, ειδικά μετά από έναν αποτυχημένο κύκλο IVF ([Schenker, Meirow et al. 1992](#_ENREF_191)).

**2.5 Αξιολόγηση της υπογονιμότητας**

Η υπογονιμότητα μπορεί να προκληθεί από έναν αριθμό υποκείμενων συνθηκών, συμπεριλαμβανομένων των ωοθηκικών διαταραχών, της σαλπιγγικής βλάβης, των ανδρικών παραγόντων και των προβλημάτων της μήτρας ή των περιτοναίων. Πριν από την έναρξη της θεραπείας, είναι σημαντικό να πραγματοποιηθεί μια κλινική αξιολόγηση, δηλαδή η ανάληψη ενός ιατρικού ιστορικού και η κλινική εξέταση. Στις περισσότερες περιπτώσεις, διεξάγονται επίσης περαιτέρω διαγνωστικές έρευνες προκειμένου να διαπιστωθεί εάν υπάρχει παθολογική κατάσταση. Μόλις ολοκληρωθούν η αξιολόγηση και οι έρευνες, μπορεί να δημιουργηθεί ένα σχέδιο διαχείρισης με το άτομο ή το ζευγάρι σε μια προσπάθεια να βελτιωθούν οι πιθανότητες σύλληψής τους ([National Collaborating Centre for and Children's 2013](#_ENREF_141)).

**2.5.1 Διάγνωση ανδρικής υπογονιμότητας**

Σε πολλές κλινικές γονιμότητας σήμερα, η κλινική αξιολόγηση του αρσενικού μπορεί να είναι επιφανειακή και περιορίζεται σε μια εκτίμηση της παρουσίας ή της απουσίας σπερματοζωαρίων στην εκσπερμάτωση προτού προχωρήσουμε σε θεραπεία με τεχνολογία υποβοηθούμενης αναπαραγωγής (ART). Υπάρχουν πολλές καλά αναγνωρισμένες αιτίες της ανδρικής υπογονιμότητας στους ανθρώπους για τους οποίους μόλις αρχίζει να γίνεται κατανοητή η μοριακή βάση των αιτιών. Διάφορα μοντέλα ποντικών, όχι μόνο έχουν εντοπίσει εκατοντάδες αποδεδειγμένα ανδρικά γονίδια που σχετίζονται με την γονιμότητα, αλλά επίσης έχουν τοποθετήσει αυτά τα γονιδιακά προϊόντα σε κατηγορίες υπογονιμότητας. Όλο και περισσότερο, γενετικές ανωμαλίες έχουν εντοπιστεί σε υπογόνιμους άνδρες. Ωστόσο, ελλείψει αυστηρής κλινικής αξιολόγησης, αυτές οι αιτιολογίες μπορεί να μην διαγνωσθούν. Η πλειοψηφία των ενδοκρινικών διαταραχών είναι σχετικά απλή στη διάγνωση και θεραπεία, λόγω της διαθεσιμότητας εξετάσεων για τη διάγνωση ενδοκρινικών ελαττωμάτων. Ο ακρογωνιαίος λίθος της διάγνωσης για τους άνδρες, είναι η συνήθης ανάλυση σπέρματος (σπερμοδιάγραμμα), στην οποία αξιολογείται η συγκέντρωση του σπέρματος, η κινητικότητα, η μορφολογία και η παρουσία άλλων κυττάρων (σπερματογόνα και λευκά αιμοσφαίρια), καθώς και δείκτες για τη βατότητα και τη λειτουργία της ανδρικής αναπαραγωγικής οδού (όγκος, χρόνος υγροποίησης, παρουσία και απουσία pH και φρουκτόζης). Αυτή η ανάλυση, ωστόσο, δεν αποτελεί δοκιμασία για το δυναμικό γονιμότητας και υποδηλώνει υπογονιμότητα μόνο στην περίπτωση της αζωοσπερμίας (απουσία σπερματοζωαρίων στην εκσπερμάτωση, αποφρακτική και μη) ([Matzuk and Lamb 2008](#_ENREF_133)).

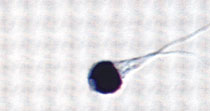
Τα κριτήρια του ΠΟΥ (Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας, 2010) για την αξιολόγηση της ποιότητας του σπέρματος βασίζονται σε πληθυσμούς γόνιμων ανδρών και περιγράφονται ως τιμές «αναφοράς» αντί για «κανονικές» τιμές. Τα στοιχεία αυτά ισχύουν μόνο για τις δοκιμές που διεξάγονται σύμφωνα με τη μεθοδολογία που περιγράφεται στο έγγραφο της Παγκόσμιας Οργάνωσης Υγείας (ΠΟΥ).

Οι παράμετροι ενός φυσιολογικού σπερμοδιαγράμματος (WHO χαμηλότερα όρια αναφοράς) είναι οι εξής ([National Collaborating Centre for and Children's 2013](#_ENREF_141)):

* Όγκος σπέρματος (κανονικές μορφές,%): 1,5 (1,4-1,7)
* Συνολικός αριθμός σπερματοζωαρίων (106 ανά εκσπερμάτωση): 39 (33-46)
* Συγκέντρωση σπερματοζωαρίων (106 ανά ml): 15 (12-16)
* Συνολική κινητικότητα (PR + ΝΡ,%): 40 (38-42)
* Προοδευτική κινητικότητα (PR,%): 32 (31-34)
* Ζωτικότητα (ζώντα σπερματοζωάρια,%): 58 (55-63)
* Φυσιολογική μορφολογία σπερματοζωαρίων: 4 (3.0-4.0)

Άλλες τιμές κατώτατων ορίων

* pH : ≥7,2
* Λευκοκύτταρα με θετική υπεροξειδάση (106 ανά ml): <1.0
* Δοκιμή MAR (κινητικά σπερματοζωάρια με δεσμευμένα σωματίδια,%): <50
* Δοκιμή ανοσοφθορισμού (κινητικά σπερματοζωάρια με δεσμευμένα σφαιρίδια,%): <50
* Σπερματικός ψευδάργυρος (μικρογραμμάρια / εκσπερμάτωση): ≥2,4
* Σπερματική φρουκτόζη (μικρογραμμάρια / εκσπερμάτωση): ≥13
* Σπερματική ουδέτερη γλυκοσιδάση (χιλιοστόλιτρα): > 20

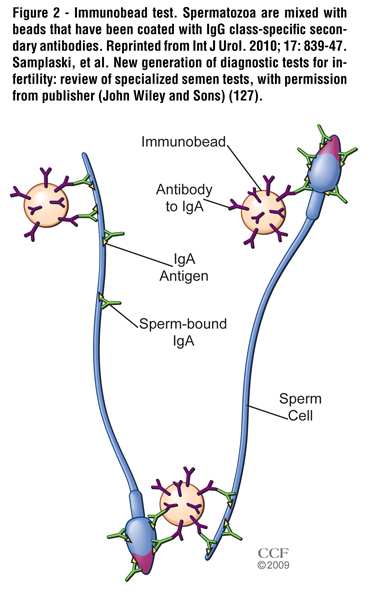
 

***Εικόνες. Σπερματοζωάριο με διπλή ουρά. Σπερματοζωάριο με λυγισμένη ουρά που   
 ευθύνεται για κακή κινητικότητα.***

(http://www.eugonia.com.gr/wp-content/themes/eugonia2/photos/210px/EIKONA\_110.jpg)

Υπάρχει ειδική ονοματολογία για το πότε αυτές οι τιμές δεν είναι φυσιολογικές ([National Collaborating Centre for and Children's 2013](#_ENREF_141)):

* Ασθενοζωοσπερμία: Ποσοστό προοδευτικά κινητικών (PR) σπερματοζωαρίων κάτω από το κατώτερο όριο αναφοράς
* Ασθενοτερατοζωοσπερμία: Ποσοστά τόσο στα προοδευτικά κινητά (PR) όσο και στα μορφολογικά φυσιολογικά σπερματοζωάρια κάτω από τα κατώτερα όρια αναφοράς
* Αζωοσπερμία: Δεν υπάρχουν σπερματοζωάρια στην εκσπερμάτωση (που δίνεται ως το όριο ποσοτικοποίησης για τη χρησιμοποιούμενη μέθοδο αξιολόγησης)
* Κρυπτοζωοσπερμία: Σπερματοζωάρια απουσιάζουν από φρέσκα παρασκευάσματα αλλά παρατηρούνται σε φυγοκεντριμένα σφαιρίδια
* Αιμοσπερμία (αιματοσπερμία): Παρουσία ερυθροκυττάρων στην εκσπερμάτωση
* Λευκοσπερμία (λευκοκυτοσπερμία,πυοσπερμία): Παρουσία λευκοκυττάρων στην εκσπερμάτωση πάνω από την τιμή κατώτατου ορίου
* Νεκροζωοσπερμία: Χαμηλό ποσοστό ζωντανών και υψηλό ποσοστό ακίνητων σπερματοζωαρίων στην εκσπερμάτωση
* Κανονικοζωοσπερμία: Συνολικός αριθμός (ή συγκέντρωση, ανάλογα με το αναφερόμενο αποτέλεσμα) των σπερματοζωαρίων και τα ποσοστά προοδευτικά κινητικών (PR) και μορφολογικά φυσιολογικών σπερματοζωαρίων, ίσων ή ανώτερων των κατώτερων ορίων αναφοράς
* Ολιγοασθενοζωοσπερμία: Ο συνολικός αριθμός (ή η συγκέντρωση, ανάλογα με το αναφερόμενο αποτέλεσμα) των σπερματοζωαρίων και το ποσοστό των προοδευτικά κινητικών σπερματοζωαρίων (PR) κάτω από τα κατώτατα όρια αναφοράς
* Ολιγοασθενοτερατοζωοσπερμία: Ο συνολικός αριθμός (ή η συγκέντρωση, ανάλογα με το αναφερόμενο αποτέλεσμα) των σπερματοζωαρίων και τα ποσοστά τόσο των προοδευτικά κινητικών (PR) όσο και των μορφολογικά φυσιολογικών σπερματοζωαρίων, κάτω από τα κατώτερα όρια αναφοράς
* Ολιγοτερατοζωοσπερμία: Ο συνολικός αριθμός (ή η συγκέντρωση, ανάλογα με το αναφερόμενο αποτέλεσμα) των σπερματοζωαρίων και το ποσοστό των μορφολογικά φυσιολογικών σπερματοζωαρίων κάτω από τα κατώτερα όρια αναφοράς
* Ολιγοζωοσπερμία: Συνολικός αριθμός (ή συγκέντρωση, ανάλογα με το αναφερόμενο αποτέλεσμα) των σπερματοζωαρίων κάτω από το κατώτατο όριο αναφοράς
* Τερατοζωοσπερμία: Ποσοστό μορφολογικά φυσιολογικών σπερματοζωαρίων κάτω από το κατώτατο όριο αναφοράς



***Εικόνα. Δοκιμή ανοσοφθορισμού. Τα σπερματοζωάρια αναμιγνύονται με σφαιρίδια τα οποία είναι συνδεδεμένα με IgG ειδικά αντισώματα.***

(http:brazjurol.com.br/september\_october\_2012/img/Hamada\_fig\_2.jpg)

Είναι προφανές ότι η ανδρική υπογονιμότητα μπορεί να προκύψει όχι μόνο από τη σπερματογένεση και γενετικά ελαττώματα που σχετίζονται με τη λειτουργία του σπέρματος, αλλά και από ελαττώματα που επηρεάζουν περισσότερες βασικές κυτταρικές λειτουργίες που απαιτούνται για τη μίτωση, τη μείωση και φυσιολογικές διαφοροποιημένες λειτουργίες κυττάρων που τελικά επηρεάζουν τη σπερματογένεση ([Matzuk and Lamb 2008](#_ENREF_133)).

Ο καρυότυπος παραμένει το χρυσό πρότυπο για τη γενετική αξιολόγηση. Ακόμη και με αυτή την επιφανειακή αξιολόγηση της γενετικής πληροφορίας, σχεδόν το 12% των υπογόνιμων ζευγαριών θα έχει μια αριθμητική ή δομική ανωμαλία χρωμοσωμάτων, με περίπου το 6% όλων των υπογόνιμων ανδρών που σχετίζονται με αριθμητικά ή δομικά χρωμοσωμικά ελαττώματα να είναι ορατά στον καρυότυπο ([Gekas, Thepot et al. 2001](#_ENREF_70)). Το σύνδρομο Klinefelter (XXY), μια αριθμητική χρωμοσωμική ανωμαλία, είναι συνηθισμένο και αντιπροσωπεύει σχεδόν το 14% όλων των μη αποφρακτικών αζωοσπερμιών. Μία τροποποίηση αυτής της προσέγγισης, ο μοριακός καρυότυπος, βρίσκεται στα αρχικά στάδια ανάπτυξης για τη διάγνωση δομικών χρωμοσωμικών ανωμαλιών πολύ μικρών για να παρατηρηθούν με καρυότυπο ρουτίνας. Η τεχνολογία συγκριτικού γενωμικού υβριδισμού μικροσυστοιχιών, μπορεί να χρησιμοποιηθεί σήμερα και προσφέρει την υπόσχεση αναγνώρισης άλλων μη αναγνωρισμένων δομικών χρωμοσωμικών ελαττωμάτων που σχετίζονται με την υπογονιμότητα, ιδιαίτερα κατά τη διάρκεια της προεμφυτευτικής διάγνωσης (PGD) και άλλων διαδικασιών εξέτασης εμβρύου κατά την εγκυμοσύνη ([Matzuk and Lamb 2008](#_ENREF_133)).

**2.5.2 Διάγνωση γυναικείας υπογονιμότητας**

Η λήψη ενός ιατρικού ιστορικού και η πραγματοποίηση μιας κλινικής εξέτασης παραμένουν ένα σημαντικό μέρος της αξιολόγησης των στείρων ζευγαριών. Το ιστορικό θα πρέπει να λαμβάνει υπόψη όλες τις ιατρικές πτυχές, συμπεριλαμβανομένων εκείνων που δεν είναι γυναικολογικής φύσης ([Matzuk and Lamb 2008](#_ENREF_133)).

Οι ειδικές διαγνωστικές εξετάσεις παρέχουν βασικές γνώσεις σχετικά με τη φύση της υπογονιμότητας. Η εκτίμηση της σαλπιγγικής βατότητας και της απεικόνισης της μήτρας και των ωοθηκών μέσω ενδοκολπικού υπέρηχου μπορεί να ανιχνεύσει με ακρίβεια κάποια πυελική παθολογία. Εκτός από τα γενετικά ελαττώματα, οι ανωμαλίες της μήτρας όπως οι πολύποδες και τα ινομυώματα μπορούν να βρεθούν τόσο σε γόνιμες όσο και σε υπογόνιμες γυναίκες. Άλλες καταστάσεις, όπως η αδενομύωση, είναι πιο δύσκολο να διαγνωσθούν με υπερήχους και μπορεί να απαιτούν παθολογική ταυτότητα. Τα ελαττώματα της ωορρηξίας μπορεί να είναι σημαντικά. Μόνο η τελική φάση της θυλακιογένεσης είναι ορμονοεξαρτώμενη και κατά τη διάρκεια της ζωής της γυναίκας μόνο 300-400 ωοθυλάκια θα υποβληθούν σε ωορρηξία. Ωστόσο, τα ελαττώματα της ωορρηξίας αντιπροσωπεύουν βασική γυναικεία αναπαραγωγική ανεπάρκεια. Οι μετρήσεις των ορμονών παρέχουν χρήσιμες προσεγγίσεις για την αξιολόγηση της ωορρηξίας, αν και (με εξαίρεση τη μέτρηση της LH) οι πληροφορίες αυτές είναι ανασκοπικές. Παρομοίως, οι εκτιμήσεις των αποθεμάτων των ωοθηκών που γίνονται με βάση ενδοκρινικές μετρήσεις ή ανταπόκριση σε ορμονικές προκλήσεις (όπως το κιτρικό κλομιφαίνιο) μερικές φορές χρησιμοποιούνται σε συνδυασμό με υπερηχιτικές μετρήσεις των ωοθηκών, πριν από την έναρξη ενός κύκλου υποβοηθούμενης αναπαραγωγής ART ([Matzuk and Lamb 2008](#_ENREF_133)).

Τα χρωμοσωμικά ελαττώματα δεν λαμβάνονται υπόψιν πάντα στην αξιολόγηση της γυναικείας υπογονιμότητας, αλλά σε μια ομάδα 1.012 γυναικών που ήταν υποψήφιες για ενδοκυτταροπλασματική έγχυση σπέρματος (ICSI), το 4,84% των γυναικών έδειξε να έχει αριθμητικές και δομικές χρωμοσωμικές ανωμαλίες, με πιο κοινά τα ελαττώματα των φυλετικών χρωμοσωμάτων (2,77%)([Gekas, Thepot et al. 2001](#_ENREF_70)). Είναι ενδιαφέρον ότι, παρά την αυξημένη συχνότητα εμφάνισης χρωμοσωμικών ανωμαλιών, οι υπογόνιμες γυναίκες δεν αξιολογούνται συνήθως με ανάλυση καρυότυπου. Παρ 'όλα αυτά, υπάρχουν και άλλες ασθένειες της γυναικείας αναπαραγωγικής οδού, στις οποίες οι γενετικές μελέτες αρχίζουν σιγά σιγά να εξελίσσονται. Οι καρκίνοι της γυναικείας οδού αποτελούν σημαντική αιτία νοσηρότητας και θνησιμότητας. Αν και οι ετήσιες αναλύσεις του τραχήλου της μήτρας με τεστ Παπανικολάου χρησιμοποιούνται για την ανίχνευση πρώιμων ιάσιμων καρκινωμάτων in situ και του τραχηλικού καρκίνου, δεν υπάρχει ακόμα κανένα ειδικό και ευαίσθητο γενετικό ή διαγνωστικό τεστ για την ανίχνευση επιθηλιακών καρκινωμάτων του ενδομητρίου της μήτρας ή των ωοθηκών. Ομοίως, οι αιτίες των καλοήθων καταστάσεων, όπως ινομυώματα της μήτρας, ενδομητρίωση και σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών (PCOS), οι οποίες προκαλούν σημαντική νοσηρότητα και υπογονιμότητα σε ένα μεγάλο σύνολο των γυναικών σε ηλικία τεκνοποίησης, είναι γενετικά δυσεπίλυτο αυτή τη στιγμή, καθιστώντας δύσκολες τις δοκιμές διαλογής. Ωστόσο, δημιουργούνται γενετικά μοντέλα για την αύξηση της κατανόησης αυτών των ασθενειών ([Matzuk and Lamb 2008](#_ENREF_133)).



***Εικόνα. Σειρά υπερηχογραφημάτων για έλεγχο ωοθυλακιορρηξίας***

(http://www.eugonia.com.gr/ypogonimotita/diagnosi/gynaikes/elegxos-wotylakiorrhksias/)

Μια σημαντική πρόοδος στη βιολογία της μήτρας είναι η δημιουργία ποντικών που εκφράζουν αποτελεσματικά τον ανασυνδυασμό Cre μέσα στον υποδοχέα της προγεστερόνης, στο ενδομήτριο της μήτρας. Τα διαγονιδιακά ποντίκια βοήθησαν να προσδιοριστούν οι βασικοί ρόλοι σε διάφορους παράγοντες και η προηγμένη γνώση αυτών των οδών μπορεί να βοηθήσει στη διάγνωση και τη θεραπεία της αποτυχίας εμφύτευσης στις γυναίκες ([Soyal, Mukherjee et al. 2005](#_ENREF_209)). Οι πρόσθετες εξελίξεις στην κατανόηση των βλαστικών κυττάρων της μήτρας μπορούν να βοηθήσουν στην αναδημιουργία της μήτρας (τεχνητές μήτρες) στις γυναίκες, όπως έγινε για την αποκατάσταση των κόλπων σε κουνέλια ([De Filippo, Bishop et al. 2008](#_ENREF_53)).

Η διάγνωση των ενδοκρινικών διαταραχών στις γυναίκες, που επηρεάζουν την ωορρηξία και οι δομικές ανωμαλίες της γυναικείας γεννητικής οδού είναι ρουτίνα. Το διακολπικό υπερηχογράφημα είναι απαραίτητο διότι προσφέρει πληροφορίες σχετικά με την ανατομία των εσωτερικών γεννητικών οργάνων της γυναίκας και, επιπλέον αποκαλύπτει το «αποθεματικό των ωοθηκών» με την καταμέτρηση των ωοθυλακίων που έχει κάθε ωοθήκη (antral follicle count, AFC). Τέλος από τον ορμονικό έλεγχο, προκύπτουν επιπλέον πληροφορίες σχετικά με την ωορρηξία και το «αποθεματικό των ωοθηκών» καθώς και το γενικό ορμονικό προφίλ της γυναίκας. Οι ορμόνες που ελέγχονται είναι η FSH, LH , Οιστραδιόλη, Προγεστερόνη. Τα τελευταία χρόνια η ορμόνη Anti-Mullerian (AMH) φαίνεται να υπερτερεί των υπολοίπων σχετικά με τον ακριβή προσδιορισμό του « ωοθηκικού αποθέματος». Ωστόσο, παραμένει ασαφές πόσο χρήσιμη είναι οποιαδήποτε μορφή δοκιμασιών ωοθηκικού αποθέματος για την πρόβλεψη της πιθανότητας φυσικής σύλληψης, την πιθανότητα εγκυμοσύνης μετά τη θεραπεία της γονιμότητας και την έκβαση των μετέπειτα κυήσεων. Οι σαφείς οδηγίες θα πρέπει να βοηθήσουν σε έναν αριθμό τομέων, όπως η μείωση του αριθμού των περιττών δοκιμών, η παροχή κριτηρίων για τον καθορισμό της πρόσβασης στην εξωσωματική γονιμοποίηση και η παροχή αξιόπιστων πληροφοριών βάσει των οποίων θα βασίζονται οι αποφάσεις θεραπείας ([Matzuk and Lamb 2008](#_ENREF_133)).

**ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3**

**ΣΤΑΔΙΑ ΚΑΙ ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΕΞΩΣΩΜΑΤΙΚΗΣ ΓΟΝΙΜΟΠΟΙΗΣΗΣ**

**3.1 Ιστορική αναδρομή**

Η αρχή της in vitro γονιμοποίηση (IVF) ήταν ένα εμπνευσμένο γεγονός. Η Lesley Brown και ο σύζυγός της John, από την πόλη του Μπρίστολ στο Ηνωμένο Βασίλειο, δεν κατάφεραν να συλλάβουν φυσικά καθ 'όλη τη διάρκεια εννέα ετών του συνεχιζόμενου γάμου τους. Η Lesley Brown είχε διμερή σαλπιγγική απόφραξη. Το 1976, απευθύνθηκε στον Δρ Patrick Christopher Steptoe, γυναικολόγο στο γενικό νοσοκομείο του Oldham, στο Manchester City, Ηνωμένο Βασίλειο. Την συμβούλευσε να δοκιμάσει μια νέα πειραματική τεχνική ώστε να παρακάμψει τις σάλπιγγες. Έτσι λοιπόν, η Lesley υποβλήθηκε σε λαπαροσκοπική ανάκτηση ωαρίων κατά τη διάρκεια ενός φυσικού μη διεγερμένου κύκλου ωορρηξίας. Ο κ. Robert Geoffrey Edwards, ένας βρετανός φυσιολόγος, χρησιμοποίησε το σπέρμα του συζύγου της για να γονιμοποιήσει το ανακτώμενο ωάριο στο εργαστήριο. Λίγες μέρες αργότερα, ένα έμβρυο σταδίου 8 κυττάρων τοποθετήθηκε εντός της μήτρας της Lesley . Στις 25 Ιουλίου 1978, η Λουίζ Μπράουν, το πρώτο μωρό στον κόσμο που σχεδιάστηκε εκτός του ανθρώπινου σώματος, γεννήθηκε σε ηλικία κύησης 38 εβδομάδων και 5 ημερών λόγω της σύμπτωσης μητρικής προεκλαμψίας. Η Louise ήταν υγιής κατά τη γέννηση και το βάρος της ήταν 2700 γραμμάρια ([Kamel 2013](#_ENREF_103)).

Η ιστορία της εξωσωματικής γονιμοποίησης χρονολογείται ήδη από το 1890 όταν ο Walter Heape, καθηγητής στο Πανεπιστήμιο του Cambridge, ανέφερε την πρώτη γνωστή περίπτωση μετεμφύτευσης εμβρύου σε κουνέλια. Το 1932, ο Aldous Huxley περιγράφει την τεχνική της εξωσωματικής γονιμοποίησης στο μυθιστόρημα επιστημονικής φαντασίας "Γενναίος Νέος Κόσμος". Το 1934, ο Gregory Pincus ανάμειξε αυγά και σπέρμα κουνελίων. Δεκατέσσερα χρόνια αργότερα, το 1948, οι Miriam Menken και John Rock ανακτούν περισσότερα από 800 ωάρια από γυναίκες, όμως το 1959 ήταν η χρονία που ο Min Chueh Chang, νέος Κινέζος ερευνητής αναπαραγωγής, απέκτησε αδιαμφισβήτητη ένδειξη γονιμοποίησης in vitro , επιτυγχάνοντας για πρώτη φορά ζωντανές γεννήσεις από ένα λευκό κουνέλι με τη χρήση αυγών και σπέρματος από μαύρα κουνέλια ([Kamel 2013](#_ENREF_103)).

Η πρώτη ανθρώπινη εγκυμοσύνη εξωσωματικής γονιμοποίησης αναφέρθηκε το 1973 από τους καθηγητές Carl Wood και John Leeton στη Μελβούρνη της Αυστραλίας. Δυστυχώς, τελείωσε σε πρώιμο θάνατο εμβρύου (λιγότερο από μία εβδομάδα). Το 1976, ο Patrick Steptoe και ο Robert Edwards δημοσίευσαν μια έκθεση σχετικά με μια έκτοπη εγκυμοσύνη μετά από μεταφορά ενός ανθρώπινου εμβρύου. Μετά τη γέννηση της Louise Brown στις 25 Ιουλίου 1978, ακολούθησε η γέννηση της Courtney Cross στις 16 Οκτωβρίου 1978, καθώς και του Alastair MacDonald (πρώτο αρσενικό μωρό), στις 14 Ιανουαρίου του 1979, τα πρώτα τρία μωρά της εξωσωματικής γονιμοποίησης στον κόσμο ([Kamel 2013](#_ENREF_103)).

Tο έτος 1978, ο Alex Lopata, στη Μελβούρνη της Αυστραλίας περιέγραψε τους πρώτους ωοθηκικούς κύκλους ύστερα από διέγερση κιτρικής κλομιφαίνης. Το 1980, η ομάδα εξωσωματικής γονιμοποίησης της Μελβούρνης κατόρθωσε να παραδόσει το πρώτο μωρό εξωσωματικής γονιμοποίησης της Αυστραλίας (τέταρτο μωρό εξωσωματικής γονιμοποίησης του κόσμου) μιας γυναίκας που ονομάζεται Candice Elizabeth Reed. Την ίδια χρονιά άνοιξε η πρώτη αμερικάνικη κλινική εξωσωματικής γονιμοποίησης στη Βιρτζίνια, στις Η.Π.Α. Ο Alan Handyside, στο Ηνωμένο Βασίλειο, εισήγαγε την προεμφυτευτική γενετική διάγνωση, για τον εντοπισμό γενετικά ανώμαλων εμβρύων, με βιοψία κυττάρων ([Kamel 2013](#_ENREF_103)).

Το 1981, ο Howard και η Georgianna Jones στη Βιρτζίνια, ανακοίνωσαν τη γέννηση του πρώτου αμερικανικού μωρού ύστερα από εξωσωματική γονιμοποίηση, της Elizabeth Jordan Carr, μετά από διέγερση των ωοθηκών με ανθρώπινη εμμηνοπαυσιακή γοναδοτροπίνη (hMG), ενώ την ίδια χρονία γεννήθηκε η Samantha Steel, που ήταν το πρώτο μωρό IVF που γεννήθηκε απο Αμερικανούς γονείς στην Αγγλία. Το κιτρικό κλομιφαίνιο (CC) και η ανθρώπινη εμμηνοπαυσιακή γοναδοτροπίνη (hMG) εισήχθησαν από τους Alan Trounson και John Leeton στην Αυστραλία, στα πρωτόκολλα θεραπείας εξωσωματικής γονιμοποίησης. Σε διεγερμένους κύκλους ωοθηκών, αυξήθηκε ο αριθμός των ώριμων ωοκυττάρων που ανακτήθηκαν, με την αναγνώριση του ακριβούς χρόνου της ωοθυλακιορρηξίας (± 36 ώρες αργότερα). Η ομάδα εργασίας εξωσωματικής του Clamart στη Γαλλία, με επικεφαλής τον Jacques Testar, ανέπτυξε την δοκιμασία LH-SIR, η οποία μπορούσε να ανιχνεύσει την αύξηση της LH κατά την αρχικά στάδια (όχι στην κορυφή της αύξησής της) σε ανθρώπινο πλάσμα για την ακριβή πρόβλεψη της ωοθυλακιορρηξίας και του καλύτερου χρόνου για την ανάκτηση των ωαρίων ([Kamel 2013](#_ENREF_103)).

Τα πρώτα δίδυμα κατεψυγμένα έμβρυα γεννήθηκαν στην Αυστραλία το 1982 και ο πρώτος τοκετός στον κόσμο μετά από ενδομήτρια σπερματέγχυση (IUI) έγινε κατά το ίδιο έτος επίσης. Ο Richard Fleming ήταν ο πρώτος που κατέδειξε ότι οι αγωνιστές της ορμόνης GnRH θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν για την εξάλειψη της πρόωρης λουτεϊνοποίησης των ωοθυλακίων και για τον έλεγχο της διεγέρσεως των ωοθηκών. Οι Δανοί γυναικολόγοι Susan Lenz και Jörgen G Lauritsen, έδειξαν πώς χρησιμοποιείται το διακοιλιακό υπερηχογράφημα ως οδηγός για την διακυστική αναρρόφηση ωοκυττάρων ([Kamel 2013](#_ENREF_103)).

Το 1983, η ομάδα εργασίας του Alan Trounson στην Αυστραλία κατόρθωσε να επιτύχει την πρώτη εγκυμοσύνη σε μια γυναίκα με αμφοτερόπλευρη ωοθηκεκτομή και σε μια στείρα γυναίκα με πρωτογενή ωοθηκική ανεπάρκεια, με τη χρήση δότριας ωαρίων. Η ομάδα εργασίας εξωσωματικής του Monash στην Αυστραλία ανέφερε μια επιτυχή εγκυμοσύνη από το πρώτο κατεψυγμένο έμβρυο, ενώ την ίδια χρονιά, εισήχθη in-vitro ωρίμανση (IVM) για τη γονιμοποίηση ανώριμων ωοκυττάρων. Ο Gleicher και οι συνεργάτες του ανέφεραν την έγκαιρη χρήση της δια του κόλπου διαδρομής για την ανάκτηση ωαρίων με τη βοήθεια της διακοιλιακής υπερηχογραφίας. Ο Robert Casper και οι συνάδελφοί του, ήταν οι πρώτοι που περιέγραψαν τη χρήση χαμηλής δόσης ανθρώπινης χοριακής γοναδοτροπίνης (hCG) για την υποστήριξη της ωχρινικής φάσης στους υποβοηθούμενους ωοθηκικούς κύκλους. Την ίδια χρονιά, η γέννηση των πρώτων τριδύμων μετά από εξωσωματική γονιμοποίηση παγκοσμίως αναφέρθηκε από τον Christopher Chen ([Kamel 2013](#_ENREF_103)).

Το 1984, τα πρώτα τετράδυμα μετά από εξωσωματική γονιμοποίηση στον κόσμο γεννήθηκαν στις 6 Ιανουαρίου, στη Μελβούρνη, στην Αυστραλία. Την ίδια χρονιά, ψηφίστηκε η πρώτη νομοθεσία για τη ρύθμιση της εξωσωματικής γονιμοποίησης (Υπογονιμότητα-Ιατρικές Διαδικασίες) στην Αυστραλία. Το πρώτο έμβρυο που μεταφέρθηκε με εμβρυομεταφορά σε παρένθετη μητέρα γεννήθηκε στην Καλιφόρνια, στις ΗΠΑ, ενώ από τον ενδοκρινολόγο Ricardo έγινε η πρώτη αναφορά εγκυμοσύνης μετά από λαπαροσκοπική ενδοσαλπιγγική μεταφορά των γαμετών ([Kamel 2013](#_ENREF_103)).

Το 1985, η πρώτη εγκυμοσύνη που επιτεύχθηκε με IVF αναρροφώντας σπέρμα διαδερμικά της επιδυδιμίδας είχε επιτυχία. Επίσης την ίδια χρονιά, μια σκανδιναβική ομάδα, με επικεφαλή τον γυναικολόγο Matts Wikland, στο Γκέτεμποργκ της Σουηδίας, περιέγραψε τη δυνατότητα χρήσης του διακολπικού υπερηχογραφήματος για ωοληψία, για πρώτη φορά. Με την τεχνική αυτή, η οπτική απεικόνιση των ωοθηκών ήταν πιο αποτελεσματική από την διακοιλιακή προσέγγιση και τα μικρότερα ωοθυλάκια ήταν πιο εύκολο να διατρηθούν. Ταυτόχρονα, η πρώτη έκθεση σχετικά με τη χρήση του κοιλιακού υπερηχογραφήματος ως οδηγό για την εμβρυομεταφορά, δόθηκε στη δημοσιότητα. Οι Quinn και Warnes δημοσίευσαν μια φόρμουλα με τίτλο «το ανθρώπινο σαλπιγγικό υγρό» που μιμείται το in vivo περιβάλλον στο οποίο εκτίθεται το έμβρυο, ενώ παράλληλα το 1985, ιδρύθηκε με τη βοήθεια του Robert Edwards και του Jean Cohen, η Ευρωπαϊκή Εταιρεία Ανθρώπινης Αναπαραγωγής και Εμβρυολογίας (ESHRE) ([Kamel 2013](#_ENREF_103)).

Το 1986, το Lupron® (GnRH αγωνιστής) χρησιμοποιήθηκε για πρώτη φορά για την πρόληψη της πρόωρης ωοθυλακιορρηξίας. Η ομάδα εξωσωματικής γονιμοποίησης του Monash αναφέρθηκε στην πρώτη εγκυμοσύνη στον κόσμο που επιτεύχθηκε με χειρουργική λήψη σπέρματος από ασθενή με αμφοτερόπλευρη απόφραξη των σπερματικών πόρων. Ο Daniel Navot και οι συνεργάτες του ανέφεραν την ικανότητα να προκαλούν τεχνητούς ενδομητρίους κύκλους και να επιτυγχάνουν εγκυμοσύνη σε απουσία της λειτουργικότητας των ωοθηκών. Ο Paul Devroey και οι συνεργάτες του ανέφεραν την πρώτη επιτυχή εγκυμοσύνη μετά από λαπαροσκοπική ενδοσαλπιγγική μεταφορά (ZIFT). Η εισαγωγή μιας νέας αποτελεσματικής μεθόδου ταχείας κατάψυξης, για κρυοσυντήρηση των ανθρώπινων εμβρύων έγινε το 1987. Η Νορβηγία ήταν η πρώτη χώρα στον κόσμο που πέρασε ένα νόμο σχετικά με την υποβοηθούμενη αναπαραγωγή στις 12 Ιουνίου 1987 (νορβηγική νομοθεσία για την Υποβοηθούμενη Αναπαραγωγή και Γενετική). Σύμφωνα με τον νόμο, η θεραπεία περιορίζεται για παντρεμένους ή ζευγάρια που συζούν. Ζευγάρια του ίδιου φύλου και ανύπαντρες γυναίκες είχαν εξαιρεθεί από τη θεραπεία εξωσωματικής γονιμοποίησης και η παρένθετη μητρότητα και η δωρεά εμβρύων δεν επιτρέπονταν ([Kamel 2013](#_ENREF_103)).

Το 1988, οι Leeanda Wilton και Alan Trounson εισήγαγαν μια πρώιμη τεχνική βιοψίας εμβρύου για γενετική μελέτη, και γίνονται και οι πρώτες αναφορές για γεννήσεις μετά από μικροχειρουργική αναρρόφηση σπέρματος από την επιδιδυμίδα (MESA) σε άνδρες με συγγενή αμφίπλευρη απουσία των σπερματικών πόρων (CBAVD). Την ίδια χρονιά, επιτυγχάνεται εγκυμοσύνη με τη μέθοδο υποζωνικής σπερματέγχυσης (SUZI), μετά τη διάτρηση της ζώνης pellucida, με μερική αποκοπή της ζώνης που διευκόλυνε τη διείσδυση των σπερματοζωαρίων ([Kamel 2013](#_ENREF_103)).

Το 1989, δημοσιεύθηκε η πρώτη έκθεση σχετικά με τη λήψη βιοψίας από τα προεμφυτευμένα ανθρώπινα έμβρυα και η ανίχνευση του φύλου τους, ενώ χρησιμοποιήθηκε για πρώτη φορά λέιζερ στον τομέα της υποβοηθούμενης αναπαραγωγής ([Kamel 2013](#_ENREF_103)).

Το 1990, ο Ολλανδός εμβρυολόγος, Jacques Cohen, δημοσίευσε την πρώτη έκθεση για την υποβοηθούμενη εκκόλαψη σε ανθρώπινα έμβρυα. Παράλληλα αρχίζουν να προτείνονται τόσο η χρήση αγωνιστή GnRH αντί για hCG ώστε να ενεργοποιηθεί η ενδογενής αύξηση της LH, όσο και η χρήση συνδυασμένων αντισυλληπτικών χαπιών από το στόμα, για συγχρονισμό των ωοθυλακίων και προγραμματισμό κύκλων σε πρόγραμμα εξωσωματικής γονιμοποίησης. Ο βρετανικός νόμος για την ανθρώπινη γονιμοποίηση και εμβρυολογία ορίζει ένα πλαίσιο για την πρακτική και την έρευνα των μεθόδων υποβοηθούμενης αναπαραγωγής (ART) βάσει της άδειας από την Αρχή Ανθρώπινης Γονιμοποίησης και Εμβρυολογίας (HFEA) ([Kamel 2013](#_ENREF_103)).

Το 1991, η in vitro ωρίμανση μίας δότριας ωοκυττάρων σε ένα μη διεγερμένο κύκλο οδήγησε σε επιτυχή κύηση. Ένας GnRH ανταγωνιστής εισήχθη στην πρόληψη ενός πρόωρου κύματος LH σε ένα ελεγχόμενο πρόγραμμα υπερδιέγερσης των ωοθηκών. Το 1992, πραγματοποιήθηκε η πρώτη επιτυχής εγκυμοσύνη μετά από ενδοκυτταροπλασματική σπερματέγχυση (ICSI) από τους Gianpiero Palermo και Andre Van-Steirteghem στις Βρυξέλλες. Μια περαιτέρω επιτυχής γονιμοποίηση και εμβρυομεταφορά (IVF-ET) επιτεύχθηκε μετά από θεραπεία με ανασυνδυασμένη ανθρώπινη FSH (rh-FSH). Μια δημοσιευμένη επιστημονική έκθεση ανέφερε ότι οι άνδρες με συγγενή αμφίπλευρη απουσία των σπερματικών πόρων (CBAVD) έχουν ήπια μορφή κυστικής ίνωσης (CF) ([Kamel 2013](#_ENREF_103)).

Το 1993, ο Sherman Silber και οι συνεργάτες του ανέφεραν, για πρώτη φορά, ότι οι στείροι άντρες με μη αποφρακτική αζωοσπερμία είναι σε θέση να παίζουν με τα δικά τους μωρά με τη χρήση διαδικασιών TESE και ICSI. Το 1994, μια επιτυχημένη in-vitro ωρίμανση ωαρίων και γονιμοποίηση σε ανωοθυλακιορρηκτικές γυναίκες με σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών (PCO) επιτεύχθηκε από τον Alan Trounson και τους συναδέλφους του στην Αυστραλία. Επίσης, τότε γεννήθηκαν τα πρώτα βρετανικά τρίδυμα με τη βοήθεια παρένθετης μητέρας. Η πρώτη μονάδα εξωσωματικής γονιμοποίησης στον κόσμο, η Υπηρεσία Γονιμότητας Midland στο Ηνωμένο Βασίλειο πήρε τη διαπίστευση ISO 9002: 1994 ([Kamel 2013](#_ENREF_103)).

Το 1995, έγινε η πρώτη αναφορά για τις δοκιμασίες των ανευπλοειδιών από τον Jacques Cohen. Η επιτυχής γονιμοποίηση ενός ωαρίου από ενός τελικού σταδίου σπερματοζωαρίου, με τη μέθοδο ICSI, αναφέρθηκε για πρώτη φορά από τον Vanderzwalmen το ίδιο έτος, με σκοπό να ξεπεραστεί το πρόβλημα της μη αποφρακτικής αζωοσπερμίας στους άνδρες. Το 1996, ο Manuel Gil-Salom και οι συνεργάτες του ανέφεραν επιτυχείς εγκυμοσύνες με ICSI με κρυοσυντηρημένα σπερματοζωάρια. Την ίδια χρονιά, ανακαλύφθηκε ότι οι άνδρες με σοβαρή ολιγοασθενοζωοσπερμία έχουν διαγραφή στα Υ χρωμοσωματά τους. Η Andrea Jurisicova, μια καναδή εμβρυολόγος, ήταν η πρώτη που αναγνώρισε ότι ο προ-εμφυτευτικός κατακερματισμός εμβρύου οδηγεί σε προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο. Στις 5 Ιουλίου αυτής της χρονιάς, ο Ian Wilmut και ο Keith Campbell κατάφεραν να κλωνοποιήσουν ένα πρόβατο την Dolly στο Ινστιτούτο Roslin στη Σκωτία με τη χρήση κυττάρων από τους μαστικούς αδένες ενός ενήλικου προβάτου και ενός ωοκυττάρου που του είχε αφαιρεθεί ο πυρήνας ([Kamel 2013](#_ENREF_103)).

Το 1997, οι Sun, Jurisicova και Robert Casper περιγράφουν τη χρήση τελικής σήμανσης dUTP-βιοτίνης για την ανίχνευση κατακερματισμού DNA στο σπέρμα και τη συσχέτισή του με την έκβαση της εξωσωματικής γονιμοποίησης. Διαπίστωσαν ότι το σπέρμα αυτό ήταν λιγότερο πιθανό να γονιμοποιήσει τα ωάρια. Η πρώτη επιτυχημένη γέννηση μετά τη μεταφορά του εκπυρηνισμένου κυτταροπλάσματος ενός δανεικού ωαρίου σε ένα ωάριο δέκτη έγινε επίσης τη χρονια αυτή. Τα πρώτα δίδυμα της Αυστραλίας γεννήθηκαν μετά από ανοιχτή βιοψία όρχεων, ενώ πραγματοποιήθηκε για πρώτη φορά η ενδοσαλπιγγική μεταφορά γαμετών (GIFT) από τους Porcu και Dal Prato μέσω ενδοτραχηλικής σαλπιγγοσκοπίας. Το 1998, η πρώτη αναφορά περίπτωσης για μια επιτυχή εγκυμοσύνη μετά από ελεγχόμενη υπερδιέγερση των ωοθηκών που προκαλείται από τον ανασυνδυασμένο ανταγωνιστή FSH και GnRH (Ganirelix®) δημοσιεύθηκε από τον Joseph Itskovitz-Eldor. Ο David Gardner στο Κέντρο Αναπαραγωγικής Ιατρικής του Κολοράντο στις ΗΠΑ εισήγαγε ένα μέσο χωρίς ορό για μεταφορά και καλλιέργεια βλαστοκύστεων. Ο Gianpiero Palermo και οι βοηθοί του, κατάφεραν να πάρουν το σπέρμα από τους όρχεις ανδρών με μη μωσαϊκό σύνδρομο Klinefelter και να επιτύχουν εγκυμοσύνη χρησιμοποιώντας τη διαδικασία ICSI. Η ομάδα IVF του Monash στην Αυστραλία ανακοίνωσε τη γέννηση διδύμων με τη χρήση της Ρομποτικής Laser τεχνικής της υποβοηθούμενης εκκόλαψης των κυττάρων ([Kamel 2013](#_ENREF_103)).

Το 1999, η Lilia Kuleshova και οι συνάδελφοί της ανακοίνωσαν την επιτυχή γέννηση μετά την υαλοποίηση ενός ανθρώπινου ωαρίου, ενώ αναφέρθηκε η πρώτη ανεπιθύμητη εγκυμοσύνη μετά τη χρήση της προεμφυτευτικής γενετικής διάγνωσης (PGD) για δρεπανοκυτταρική αναιμία. Η Δανία ανέφερε τον υψηλότερο αριθμό κύκλων IVF (1826 κύκλοι) ανά εκατομμύριο κατοίκους, ακολουθούμενος από τη Φινλανδία (1440 κύκλοι) και στη συνέχεια από τη Σουηδία, την Ισλανδία και τη Νορβηγία (περίπου 1000 κύκλοι). Αυτοί οι εξαιρετικά υψηλοί αριθμοί κύκλων εξωσωματικής γονιμοποίησης πιθανώς οφείλονται σε ένα συνδυασμό σχετικά υψηλών επιπέδων πρακτικής στις σκανδιναβικές χώρες και σε μια υψηλή δημόσια αναγνώριση της τεχνικής. Το 2000, οι Kutluk Oktay και Guvenc Karlikaya ήταν οι πρώτοι που ανέφεραν την επιτυχία της μεταμόσχευσης ανθρώπινου ωοθηκικού ιστού μετά από αποθήκευση σε κατάψυξη, ενώ εισήχθη και ένα πλήρως καθορισμένο νέο μέσο καλλιέργειας έμβρυων χωρίς προσθήκη πρωτεΐνης ([Kamel 2013](#_ENREF_103)).

Από το 2001, βελτιώθηκε ο ρυθμός εμφύτευσης στα τρέχοντα προγράμματα εξωσωματικής γονιμοποίησης με τη χρήση καθετήρα εμβρυομεταφοράς, καθοδηγούμενο με υπερηχογράφημα. Η πρώτη βρετανική άδεια απονεμήθηκε για την τυποποίηση PGD και HLA-ιστών. Αυστραλοί επιστήμονες κατάφεραν να γονιμοποιήσουν τα ωάρια των ποντικών χωρίς τη χρήση σπέρματος. Αυτό το βήμα άνοιξε την πόρτα για μελλοντική αναπαραγωγή του ενός φύλου. Τα πρώτα ανθρώπινα κλωνοποιημένα έμβρυα 6 κυττάρων επιτεύχθηκαν από μια ιδιωτική αμερικανική εταιρεία Advanced Cell Technology με σκοπό την έρευνα των βλαστικών κυττάρων. Το 2002, η Kylie de Boer και οι βοηθοί της ανέφεραν την πρώτη ζωντανή γέννηση μετά από βιοψία βλαστοκυττάρων για PGD. Για πρώτη φορά εφαρμόστηκε συγκριτική υβριδοποίηση γονιδιώματος και έλεγχος πολικού σωμάτιου για προεμφυτευτική γενετική διάγνωση χρωμοσωμικής ανευπλοειδίας. Το 2003, η πρώτη γέννηση με εξωσωματική γονιμοποίηση μετά από διέγερση των ωοθηκών με μακράς δράσης ανθρώπινη ανασυνδυασμένη ωοθυλακιοτρόπο ορμόνη (rFSH) αγωνιστή αναφέρθηκε. Το 2004, μια ομάδα Κορεατών παράγει την πρώτη κλωνοποιημένη ανθρώπινη βλαστοκύστη, ενώ παρέχονται προγράμματα συντήρησης γονιμότητας για τις γυναίκες που υποβλήθηκαν σε θεραπεία καρκίνου με in vitro ωρίμανση (IVM) και υαλοποίηση ωοκυττάρων. Επίσης δημοσιεύθηκε η πρώτη αναφορά σχετικά με τον φυσικό κύκλο ωορρηξίας στην εξωσωματική γονιμοποίηση σε συνδυασμό με την in vitro ωρίμανση (IVM) ως πιθανή προσέγγιση στη θεραπεία της υπογονιμότητας ([Kamel 2013](#_ENREF_103)).

Το 2005, η Adriana Iliescu αναφέρθηκε ως η γηραιότερη μητέρα του κόσμου που γέννησε σε ηλικία 66 ετών στο Νοσοκομείο Μητρότητας Giulesti, στο Βουκουρέστι της Ρουμανίας, μέσω εξωσωματικής γονιμοποίησης με δωρεά ωαρίων και σπερματοζωαρίων. Αναφέρθηκε η πρώτη γέννηση από μεταμόσχευση κατεψυγμένου φλοιού των ωοθηκών σε μια γυναίκα με ωοθηκική ανεπάρκεια μετά από χημειοθεραπεία. Το 2006 η Maria del Carmen Bousada έγινε η γηραιότερη μητέρα του κόσμου όταν γέννησε δίδυμα στην ηλικία των 66 ετών και 358 ημερών στην Ισπανία, με τη βοήθεια της εξωσωματικής γονιμοποίησης χρησιμοποιώντας ωάρια και σπερματοζωάρια από δωρεά. Ο Mohamed Bedaiwy και η ομάδα του ανέφεραν μια επιτυχή κρυοσυντήρηση ακέραιων ανθρώπινων ωοθηκών μαζί με το αγγειακό σύστημα. Στις 20 Δεκεμβρίου, η Louise Brown, η οποία παντρεύτηκε τον Wesley Mullinder, γέννησε φυσιολογικά τον γίο της Cameron, στο νοσοκομείο του St. Michael στο Bristol του Ηνωμένου Βασιλείου ([Kamel 2013](#_ENREF_103)).

Το 2007, δημοσιεύθηκε μια έκθεση από το Κέντρο Αναπαραγωγής του Mc Gill στον Καναδά και το Νοσοκομείο Maria Infertility στην Κορέα για επιτυχείς γεννήσεις μετά από μεταφορά βλαστοκύστεων που προήλθαν από ωάρια μετά από in vitro ωρίμανση. Ο Pasquale Patrizio εισήγαγε μια νέα τεχνική κατάψυξης πολλαπλών βαθμίδων για κρυοσυντήρηση ολόκληρης της ωοθήκης που είχε ως αποτέλεσμα τη διατήρηση της κανονικής αρχιτεκτονικής των ωοθηκών. Το 2008, ο Son Weon-Young και οι συνάδελφοί του, συνέστησαν διάστημα 38 ωρών μεταξύ της ένεσης hCG και της ανάκτησης ωοκυττάρων για την αύξηση των ποσοστών ωρίμανσης των ωοκυττάρων in vivo και in vitro. Τον Δεκέμβριο του 2008, οι Υπηρεσίες Γονιμότητας Midland στο Ηνωμένο Βασίλειο ξεκίνησαν τη διαδικασία κατάψυξης με υαλοποίηση. Οι Rajo Devi Lohan και Omkari Panwar έγιναν οι γηραιότερες μητέρες του κόσμου για να γεννήσουν στην ηλικία των 70 ετών στην Ινδία ([Kamel 2013](#_ENREF_103)).

Το 2009, οκτάδυμα (8 μωρά, 6 αγόρια και 2 κορίτσια) γεννήθηκαν από την Nadya Suleman, μια 33χρονη ιρακινή-αμερικανίδα γυναίκα στην Καλιφόρνια, στις ΗΠΑ (Τα δεύτερα οκτάδυμα στον κόσμο). Ο θεράπων ιατρός της Michael Kamrava είχε μεταφέρει δώδεκα κατεψυγμένα έμβρυα που είχαν απομείνει από προηγούμενους κύκλους εξωσωματικής γονιμοποίησης και το ιατρικό συμβούλιο της Καλιφόρνια διαπίστωσε ότι είναι μια «απειλητική για τη ζωή πρακτική» και απέσυρε από τον γιατρό την ιατρική άδεια. Το Cetrorelix acetate (LHRH ανταγωνιστής) εγκρίθηκε από το FDA για κλινική χρήση σε προγράμματα εξωσωματικής γονιμοποίησης. Το 2010, οι Υπηρεσίες Γονιμότητας Midland στο Ηνωμένο Βασίλειο επιβεβαίωσαν την πρώτη επιτυχή κύηση από υαλοποιημένες βλαστοκύστες. Η Σύνοδος Nobel στο Ινστιτούτο Karolinska της Σουηδίας προσέφερε το βραβείο Νόμπελ Φυσιολογίας και Ιατρικής του 2010 στον βρετανό φυσιολόγο Robert Edwards για την αξιόλογη εργασία στον τομέα της εξωσωματικής γονιμοποίησης ([Kamel 2013](#_ENREF_103)).

Το 2011, εισήχθη το νέο σύστημα παρακολούθησης με συνεχή καταγραφή εικόνων της πρώιμης ανάπτυξης εμβρύων ενώ βρίσκονται στο εργαστήριο IVF (EmbryoScope®) από την Unisense Fertilitech, στις ΗΠΑ.Το 2012, η οικογένεια της Lesley Brown, της μητέρας του IVF πρώτου κόσμου, επιβεβαίωσε το θάνατό της στο Bristol Royal Infirmary. Τον Μάιο του 2013, μια ομάδα επιστημόνων με επικεφαλή τον Shoukhrat Mitalipov, δημοσίευσε μια έκθεση σχετικά με την επιτυχή κλωνοποίηση του ανθρώπου. Οι ερευνητές σχεδιάζουν να λάβουν εμβρυϊκά βλαστικά κύτταρα, από αυτά που αναπτύσσονται οι βλαστοκύστες, για το σκοπό της θεραπευτικής κλωνοποίησης ([Kamel 2013](#_ENREF_103)).

Με τη γέννηση της Louise Brown, ο κόσμος γιόρτασε την έναρξη μιας νέας εποχής υποβοηθούμενης ανθρώπινης αναπαραγωγικής τεχνολογίας. Από τότε, η εξωσωματική γονιμοποίηση έχει γίνει μια κοινή διαδικασία με ιστορικό περισσότερων από 5 εκατομμυρίων γεννήσεων παγκοσμίως. Τα επόμενα χρόνια έχουν επιφέρει ταχεία πρόοδο που επιτρέπει σε περισσότερα στείρα ζευγάρια να έχουν τα δικά τους μωρά. Επί του παρόντος, η εξωσωματική γονιμοποίηση εκτελείται όχι μόνο για τη στειρότητα των σαλπίγγων, αλλά και για την ανεξήγητη υπογονιμότητα του ανδρικού παράγοντα, την ενδομητρίωση και τις διαταραχές ωορρηξίας.

**3.2 Προκαταρκτικές Εξετάσεις**

Οι προκαταρκτικές εξετάσεις πριν την ένταξη σε πρόγραμμα εξωσωματικής γονιμοποίησης IVF περιλαμβάνουν:

* Εξέταση σπέρματος (σπερμοδιάγραμμα, καλλιέργεια σπέρματος)
* Ορμονικές εξετάσεις και διακολπικό υπερηχογράφημα την 3η ημέρα του κύκλου
* Έλεγχος για ηπατίτιδες, HIV I-II, VDRL
* PAP TEST, μαστολογικός έλεγχος σε γυναίκες άνω των 35 ετών και καρδιολογική εξέταση
* Ειδικές εξετάσεις, όπως λαπαροσκόπηση ή υστεροσκόπηση, οι οποίες ενδέχεται να συστηθούν από τον υπεύθυνο ιατρό της Μονάδας με βάση την αξιολόγηση στοιχείων του κλινικού ιστορικού και των λοιπών εξετάσεων.  
  ([Geber, Coimbra et al. 2014](#_ENREF_69))

**3.3 Πρόκληση Ωοθηκικής Διέγερσης, (COΗ)**

Τις τελευταίες δύο δεκαετίες, τα ποσοστά εγκυμοσύνης για ασθενείς που υποβάλλονται σε εξωσωματική γονιμοποίηση (IVF) έχουν αυξηθεί σημαντικά. Δεδομένης της ανομοιογένειας των ασθενών που ξεκινούν την εξωσωματική γονιμοποίηση και το γεγονός ότι πολλά διαφορετικά φάρμακα μπορούν να χρησιμοποιηθούν μόνα τους ή σε διαφορετικούς συνδυασμούς (δημιουργώντας πολλαπλά δυναμικά πρωτόκολλα ελεγχόμενης διέγερσης των ωοθηκών, COH), θεωρούμε την ανάγκη προσδιορισμού ειδικών πληθυσμών ασθενών και προσαρμογής των πρωτόκολλων θεραπείας ώστε να εφαρμόζεται μια πιο εξατομικευμένη προσέγγιση στην COΗ ([Bosch and Ezcurra 2011](#_ENREF_26)).

Η πρώτη γέννηση μέσω της εξωσωματικής γονιμοποίησης που πραγματοποιήθηκε το 1978, έγινε μέσω ενός φυσικού κύκλου. Το 1980, το πρώτο έτος λειτουργίας του προγράμματος εξωσωματικής γονιμοποίσης στις ΗΠΑ, οι Georgeanna και Howard Jones προσπάθησαν να λάβουν λαπαροσκοπικά, ωοκύτταρα από 41 γυναίκες. Δυστυχώς, καμία από αυτές τις διαδικασίες δεν οδήγησε σε εγκυμοσύνη, και έτσι αποφάσισαν να προχωρήσουν ένα νέο πρόγραμμα εξωσωματικής γονιμοποίσης όπου θα χρησιμοποιούσαν ανθρώπινη εμμηνοπαυσιακή γοναδοτροπίνη (hMG) για να υπερδιεγείρουν τις ωοθήκες και να βελτιώσουν την αποτελεσματικότητα της ωοθηκικής ανάκτησης. Στα τέλη του 1981, η απόφαση αυτή οδήγησε στη γέννηση της Elizabeth Carr, μετά αφού η μητέρα της έλαβε συνολικά 7 φύσιγγες hMG για 4 ημέρες. Ημερησίως το όριο ήταν λίγοτερο από 150 διεθνείς μονάδες (IU) hMG ή δύο αμπούλες. Με αυτή τη φόρμουλα, οι Georgeanna και Howard Jones πραγματοποίησαν 55 λαπαροσκοπικές ανακτήσεις ωοκυττάρων με αποτέλεσμα 31 εμβρυομεταφορές και 7 εγκυμοσύνες κατά τη διάρκεια ενός έτους ([Jungheim, Meyer et al. 2015](#_ENREF_101)).

Η στρατηγική αυτή ήταν μια μινιμαλιστική προσέγγιση στα σημερινά πρότυπα, όπου κατά μέσο όρο χρησιμοποιούνται 150-300 IU γοναδοτροπίνης ημερησίως για 9-10 ημέρες. Σε σύγκριση με την εξωσωματική γονιμοποίηση το 1981, υπάρχουν επίσης αρκετές τεχνολογικές εξελίξεις που έχουν βελτιστοποιήσει την αναλογία ωοκυττάρων προς έμβρυο και τα ποσοστά εμφύτευσης εμβρύων IVF. Αυτές οι εξελίξεις οδήγησαν ορισμένους κλινικούς γιατρούς να υποστηρίξουν τη χορήγηση ελάχιστης δόσης γοναδοτροπίνης στην COS για τη μείωση του κινδύνου σύνδρομου υπερδιέγερσης των ωοθηκών, τη μείωση του κόστους φαρμάκων και παρακολούθησης και τη δημιουργία μιας φιλικότερης προς τον ασθενή προσέγγισης στην COS. Επιπλέον, υπάρχει διαμάχη ως προς το αν αυξανόμενες δόσεις γοναδοτροπίνης σε COS αυξάνουν τον κίνδυνο εμβρυϊκής ανευπλοειδίας και αρνητικής έκβασης της εξωσωματικής γονιμοποίησης. Από την άλλη πλευρά, η συνολική χρονική δέσμευση και το υψηλό κόστος που σχετίζεται με την εξωσωματική γονιμοποίηση και η μείωση της ωοθηκικής λειτουργίας που σχετίζεται με την ηλικία οδήγησαν σε στρατηγικές COS επικεντρωμένες στην απόκτηση μεγαλύτερων ποσοτήτων ωοκυττάρων διαθέσιμων τόσο για τρέχουσα όσο και για μελλοντική χρήση. Τέτοιες στρατηγικές υποστηρίζονται επίσης για τις γυναίκες που αντιμετωπίζονται με γοναδοτοξική θεραπεία που μπορεί να συντομεύσει το φυσιολογικό παράθυρο αναπαραγωγής ([Jungheim, Meyer et al. 2015](#_ENREF_101)).

Σήμερα, τα περισσότερα πρωτόκολλα COS ξεκινούν με 150-300 IU γοναδοτροπίνης χορηγούμενα ημερησίως με τα 225 IU να αποτελούν τη συνήθη δόση έναρξης για τους περισσότερους ασθενείς. Πολλοί κλινικοί γιατροί χρησιμοποιούν την ηλικία της ασθενούς και δείκτες αποθεματικού των ωοθηκών, όπως τα επίπεδα των δευτερογενών ώριμων ωοθυλακίων (AFC), τα επίπεδα της αντιμυλλέριου ορμόνης (AMH) και/ή τα επίπεδα της FSH και της οιστραδιόλης, για να καθοδηγήσουν αυτήν την αρχική δόση. Για τις γυναίκες που υπάρχει υποψία ή έχει αποδειχθεί ότι έχουν φτωχό αποθεματικό ωοθηκών, αρκετές μελέτες έχουν δείξει ότι δόσεις υψηλότερες από 450 IU ημερησίως δεν οδηγούν σε υψηλότερες αποδόσεις ωοκυττάρων ή σε υψηλότερα ποσοστά εγκυμοσύνης μετά την εξωσωματική γονιμοποίηση ([Jungheim, Meyer et al. 2015](#_ENREF_101)).

Η βασική και η κλινική έρευνα σε συνδυασμό με την πρόοδο της τεχνολογίας έχουν οδηγήσει στην ανάπτυξη μιας ευρείας ποικιλίας νέων θεραπευτικών επιλογών, ιδιαίτερα στην περιοχή της ελεγχόμενης διέγερσης των ωοθηκών. Η θυλακιοτρόπος ορμόνη FSH (ουρική ή ανασυνδυασμένη [u-FSH / r-FSH]) μπορεί να χρησιμοποιηθεί μόνη της ή να συσχετιστεί με τη δράση της ωχρινοτρόπου ορμόνης (LH), η οποία με τη σειρά της μπορεί να παρέχεται με τη μορφή ανθρώπινης εμμηνόπαυσης γοναδοτροφίνης (hMG), ανασυνδυασμένης ανθρώπινης LH (r-hLH) ή ανθρώπινης χοριακής γοναδοτροφίνης (hCG ουρική ή ανασυνδυασμένη [u-hCG / r-hCG]). Επιπλέον, η προαιρετική χρήση στεροειδών ορμονών όπως η προγεστερόνη, τα οιστρογόνα, η τεστοστερόνη ή η δεϋδροεπιανδροστερόνη (DHEA), ακόμα και η πιθανότητα θεραπείας με αυξητική ορμόνη, θα μπορούσε να εξεταστεί μετά από περαιτέρω έρευνα. Συνολικά, όλες αυτές οι επιλογές τείνουν να αυξάνουν την πολυπλοκότητα της διαδικασίας για ελεγχόμενη διέγερση των ωοθηκών ([Alviggi, Humaidan et al. 2012](#_ENREF_14))

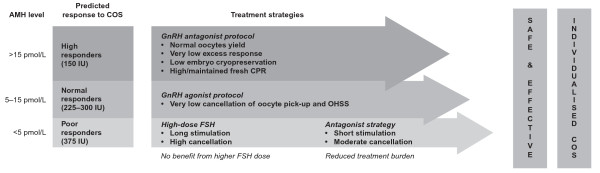
Σήμερα, τα δημογραφικά και ανθρωπομορφικά δεδομένα είναι οι κύριες πηγές πληροφοριών που χρησιμοποιούνται για την πρόγνωση και την καθοδήγηση της θεραπείας. Μαζί με τις βασικές ιατρικές και διατροφικές πληροφορίες, οι λειτουργικοί, ορμονικοί και γενετικοί βιοδείκτες είναι εργαλεία που μπορούν να παρέχουν ακριβέστερες διαγνωστικές και προγνωστικές πληροφορίες. Συμβατικοί παράγοντες όπως η ηλικία και τα δεδομένα του προηγούμενου κύκλου εξωσωματικής γονιμοποίησης χρησιμοποιούνται για τη λήψη αποφάσεων ζωτικής σημασίας για τη θεραπεία. Οι ποσοτικοί βιοδείκτες χρησιμοποιούνται κυρίως για την πρόβλεψη της πρόγνωσης και την παροχή συμβουλών σε ασθενείς ([Alviggi, Humaidan et al. 2012](#_ENREF_14)).

**3.3.1 Ορμονικοί βιοδείκτες : ΑΜΗ**

Οι Ινχιμπινη-Β, FSH και AMH είναι ορμονικοί δείκτες για την πρόβλεψη της ανταπόκρισης των ωοθηκών στην COS και της επιτυχίας με την τεχνολογία υποβοηθούμενης αναπαραγωγής (ART). Αν και τα επίπεδα της FSH χρησιμοποιούνται συχνότερα για να εκτιμηθεί η πιθανή ανταπόκριση της γυναίκας στην COH, η ΑΜΗ (ως παρακρινικό προϊόν των ανώριμων ωοθυλακίων) είναι ένα πιο άμεσο μέτρο της κατάστασης των ωοθηκών σε σύγκριση με άλλες ενδοκρινικές αναπαραγωγικές ορμόνες. Η ΑΜΗ παράγεται κατά κύριο λόγο από τα προ- άντρου και από μικρά πρώιμα θυλάκια, και συσχετίζεται με τον αριθμό των αρχέγονων ωοθυλακίων στο ανεξάρτητο από γοναδοτροφίνες στάδιο ανάπτυξης των ωοθυλακίων ([Alviggi, Humaidan et al. 2012](#_ENREF_14)).

Μια μικρή μελέτη που δείχνει την δυνητική χρήση της μέτρησης AMH σε ένα πρόγραμμα εξωσωματικής γονιμοποίησης (IVF) με τη συμμετοχή 316 ασθενών, εξέτασε 132 ανακτήσεις ωοκυττάρων σε γυναίκες που υποβλήθηκαν σε ένα μακρύ πρωτόκολλο αγωνιστή GnRH. Υπολογίστηκε ότι η AMH ≤ 1,26 ng/ml που χρησιμοποιήθηκε για την πρόβλεψη αποκρίσεων στην COS, διαπιστώθηκε ότι έχει 97% ευαισθησία για την πρόβλεψη φτωχών αποκρίσεων (<4 ωοκύτταρα που ανακτώνται) και ακρίβεια 98% στην πρόβλεψη μιας φυσιολογικής απόκρισης στην COH. Αυτά τα ευρήματα δείχνουν ότι τα επίπεδα της κυκλοφορούσας AMH μπορεί να είναι ένας καλός δείκτης του αποθεματικού των ωοθηκών και συσχετίζονται σε μεγάλο βαθμό με την ανταπόκριση των ωοθηκών στην COS ([Gnoth, Schuring et al. 2008](#_ENREF_73)).

Επίσης, σε μέλετες που έγιναν, επιλέχθηκαν διάφορες στρατηγηκές στην COH, με βάση τα επίπεδα της ΑΜΗ. Χορηγήθηκαν υψηλές, μεσαίες ή χαμηλές δόσεις FSH σε γυναίκες με χαμηλά, μεσαία και υψηλά επίπεδα ΑΜΗ, αντίστοιχα. Η επιλογή μεταξύ του μακρού πρωτοκόλλου αγωνιστή GnRH έναντι ενός ηπιότερου πρωτοκόλλου ανταγωνιστή GnRH καθορίστηκε επίσης με βάση τα επίπεδα ΑΜΗ. Τα δεδομένα από αυτές τις μελέτες θα πρέπει να επιβεβαιωθούν σε μεγάλες, τυχαιοποιημένες και ελεγχόμενες δοκιμές, αλλά υποδηλώνουν ότι η ΑΜΗ μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως ακριβές και αξιόπιστο εργαλείο πρόβλεψης για να καθορίσει στρατηγικές θεραπείας και να βελτιώσει την ασφάλεια, ανεκτικότητα και τα αποτελέσματα μιας εγκυμοσύνης.



***Εικόνα. Οι στρατηγικές θεραπείας και η προβλεπόμενη ανταπόκριση στην COS με βάση τα επίπεδα ΑΜΗ που κυκλοφορούν στην ασθενή . Οι στρατηγικές θεραπείας (δεξιά στήλη) και η προβλεπόμενη απόκριση σε COS (μεσαία στήλη) με βάση τα επίπεδα ΑΜΗ που κυκλοφορούν στην ασθενή (αριστερή στήλη) (***[***Alviggi, Humaidan et al. 2012***](#_ENREF_14)***)***

Επί του παρόντος, ένας περιοριστικός παράγοντας στη χρήση της AMH ως βιοδείκτη είναι η μεταβλητότητα που παρατηρείται μεταξύ των εμπορικών κιτ και η μεταβολή των αποτελεσμάτων που αναφέρθηκαν από διαφορετικά εργαστήρια. Αυτή η μεταβλητότητα μπορεί να είναι ένας από τους λόγους για την έλλειψη ομόφωνης συμφωνίας σχετικά με τις τιμές της ΑΜΗ όταν θα πρέπει να αποφασιστεί αν η ασθενής θα ακολουθήσει ή όχι μια ART ([Alviggi, Humaidan et al. 2012](#_ENREF_14)).

**3.3.2 Λειτουργικοί Βιοδείκτες: Δείκτης Μέτρησης Ώριμων Ωοθυλακίων, (AFC)**

Ένας ακόμη δείκτης του αποθεματικού των ωοθηκών, ένα προγνωστικό εργαλείο απόκρισης στην COS αποτελεί ο αριθμός των ώριμων ωοθυλακίων (AFC) που ανιχνεύθηκαν με υπερηχογράφημα των ωοθηκών. Σε μια μελέτη που περιελάμβανε 149 κύκλους θεραπείας, ο Chang και οι συνεργάτες του διαπίστωσαν ότι ο AFC μειώθηκε με την ηλικία και συσχετίστηκε αρνητικά με την FSH της τρίτης ημέρας και το ποσοστό ακύρωσης ενός κύκλου εξωσωματικής. Μια άλλη μελέτη, βρέθηκε ότι ο AFC συνδέεται σημαντικά με τα επίπεδα της ΑΜΗ και τον αριθμό των ωοκυττάρων που ανακτήθηκαν, ενώ βρέθηκε επίσης ότι είναι προγνωστικός δείκτης για φτωχή απόκριση στη COS ([Alviggi, Humaidan et al. 2012](#_ENREF_14)).

Η μέτρηση AFC είναι μια σχετικά εύκολη στην εκτέλεση τεχνική που είναι ευρέως προσβάσιμη λόγω της διαθεσιμότητας του εξοπλισμού υπερήχων. Παρά τη γενική αποδοχή της για την πρόβλεψη της απόκρισης των ωοθηκών, η χρήση του AFC στη ρουτίνα παρεμποδίστηκε από την έλλειψη τυποποιημένης μεθοδολογίας που θα επιτρέπει έγκυρες συγκρίσεις δεδομένων από διαφορετικά κέντρα και θα διευκολύνει έτσι τη σταθερή αξιολόγηση του AFC. Προκειμένου να αντιμετωπιστεί αυτό το ζήτημα, οι Broekmans και οι συνεργάτες τους, πρότειναν συστάσεις για την τυποποίηση της αξιολόγησης AFC στην ρουτίνα της κλινικής πρακτικής. Βασικές κλινικές και τεχνικές απαιτήσεις για την αξιολόγηση του AFC ορίστηκαν και προτάθηκε μια συστηματική μέθοδος μέτρησης και καταμέτρηση των ωοθυλακίων στην κλινική πρακτική ([Alviggi, Humaidan et al. 2012](#_ENREF_14)).

Παρόμοια με την ΑΜΗ, η μέτρηση AFC, χρησιμοποιήθηκε αρχικά ως απλός προγνωστικός παράγοντας και στη συνέχεια έγινε μια μεταβλητή λήψης αποφάσεων. Μετά την αρχική καθιέρωση του AFC ως αξιόπιστου προγνωστικού παράγοντα, η χρήση του σε συνδυασμούς ασθενών με πρωτόκολλα COS ήταν υποτιθέμενη. Μια πρώτη προσπάθεια αντιμετώπισης αυτού του προβλήματος ήταν η ανάλυση CONSORT (Consolidated Standards of Reporting Trials), η οποία στόχευε στον προσδιορισμό του κατά πόσον συγκεκριμένοι παράγοντες θα μπορούσαν να προβλέψουν βέλτιστα την ανταπόκριση στην διέγερση στην ART και στη συνέχεια να αναπτύξουν έναν αλγόριθμο θεραπείας για τον προσδιορισμό της βέλτιστης αρχικής δόσης της r-FSH ([Howles, Saunders et al. 2006](#_ENREF_89)). Τα αποτελέσματα από μια μετέπειτα μελέτη CONSORT καταδεικνύουν ότι η μέτρηση AFC, σε συνδυασμό με άλλα χαρακτηριστικά της ασθενούς, μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την εξατομίκευση της θεραπείας και τη μεγιστοποίηση της ανταπόκρισης στην COS και την ελαχιστοποίηση του κινδύνου ασθενείας και της θεραπείας ([Alviggi, Humaidan et al. 2012](#_ENREF_14)).

**3.3.3 Γενετικοί βιοδείκτες**

Τα γενετικά χαρακτηριστικά που επηρεάζουν τη γονιμότητα μπορεί να μην έχουν ορατά κλινικά σημεία ή ανωμαλίες. Εάν το γενετικό προφίλ ενός ασθενούς μειώνει επίσης την ανταπόκρισή του στη θεραπεία της γονιμότητας, η μη λήψη υπόψη του γονότυπου κατά το σχεδιασμό της θεραπείας οδηγεί συνεπώς σε μια στρατηγική μη βέλτιστης θεραπείας ([Alviggi, Humaidan et al. 2012](#_ENREF_14)).

Η FSH και η LH συνεργάζονται για την κανονική λειτουργία των ωοθηκών και την ανάπτυξη των ωοκυττάρων και η διαταραχή του ορμονικού σήματος θα μπορούσε να επηρεάσει την κανονική λειτουργία των ωοθηκών και την ανταπόκριση στην ωοθηκική διέγερση. Έτσι, η γενετική μεταβλητότητα που επηρεάζει την έμφυτη δραστηριότητα αυτών των ορμονών θα μπορούσε να παράσχει πολύτιμες πληροφορίες πρόβλεψης και να βοηθήσει τις επιλογές θεραπείας στην COH. Μεταλλάξεις στα γονίδια που κωδικοποιούν για τη σύνθεση της LH, ο υποδοχέας LH και ο υποδοχέας FSH έχουν ταυτοποιηθεί ως πιθανές αιτίες της υπογονιμότητας, καθώς και ως παράγοντες που μπορεί να επηρεάσουν τη θεραπευτική αγωγή γονιμότητας. Η υποευαισθησία στην FSH μπορεί επίσης να προκληθεί από γενετική παραλλαγή του υποδοχέα FSH. Δύο παραλλαγές του υποδοχέα FSH που έχουν πολυμορφισμούς (SNPs) στην περιοχή που τον κωδικοποιεί έχουν ταυτοποιηθεί και καλώς χαρακτηριστεί. Το γενετικό προφίλ του συγκεκριμένου ασθενή ορίζει την υποκείμενη φυσιολογία που καθορίζει την έννοια και την ερμηνεία των ορμονικών και λειτουργικών βιοδεικτών όπως η AMH και AFC ([Alviggi, Humaidan et al. 2012](#_ENREF_14)).

Εκτός από τη χρήση των ατομικών χαρακτηριστικών του ασθενούς για να προσδιοριστεί ποια πρωτόκολλα θεραπείας θα πρέπει να επιλεγούν, αυτή η συγκεκριμένη προσέγγιση για τον ασθενή θα μπορούσε ενδεχομένως να χρησιμοποιηθεί για τον προσδιορισμό του τρόπου χορήγησης των πρωτοκόλλων θεραπείας. Η προετοιμασία του ενδομητρίου είναι επίσης ένα κρίσιμο βήμα για την επιτυχία της εξωσωματικής γονιμοποίησης. Περαιτέρω ανάλυση των ορμονικών, λειτουργικών και γενετικών βιολογικών δεικτών και των σχέσεών τους με την ανταπόκριση των ασθενών στις μεταβολές των πρωτοκόλλων θεραπείας θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί στο μέλλον και απαιτούνται πρόσθετα κλινικά δεδομένα για την υποστήριξη αυτής της υπόθεσης ([Alviggi, Humaidan et al. 2012](#_ENREF_14)).

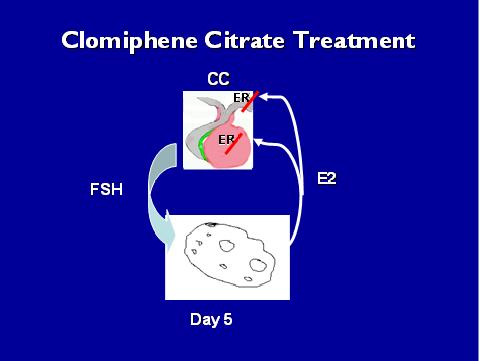
**3.3.4 Φάρμακα για την επαγωγή των γοναδοτροπινών**

Εκτός από τις επιλογές για τα πρωτόκολλα COH, υπάρχουν επιλογές ως προς το είδος του σκευάσματος γοναδοτροπίνης που θα χρησιμοποιηθεί. Υπάρχουν υψηλά καθαρισμένες ουρικές συνθέσεις της FSH και hMG, και ανασυνδυασμένες μορφές της FSH και hCG. Σε μια πρόσφατη μετα-ανάλυση 42 μελετών στις οποίες συμμετείχαν 9606 γυναίκες, δεν παρατηρήθηκε στατιστική διαφορά στο ποσοστό ζωντανών γεννήσεων μεταξύ ανασυνδυασμένης FSH και οποιουδήποτε άλλου σχήματος γοναδοτροπίνης που μελετήθηκε. Οι συντάκτες της μετα-ανάλυσης κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι η επιλογή της γοναδοτροπίνης θα πρέπει να εξαρτάται από τη διαθεσιμότητα, την ευκολία και το κόστος. Σε γενικές γραμμές, είναι αμφιλεγόμενο το θέμα για το αν η hMG ή η hCG πρέπει να συμπεριληφθούν στην διαδικασία της COS για να προσφέρουν κάποια δραστηριότητα στην LH. Ανεξάρτητα από αυτή τη συζήτηση, υπάρχουν κλινικά σενάρια στα οποία δεν πρέπει ποτέ να παραλειφθεί μια γοναδοτροπίνη με δραστηριότητα ωχρινοτρόπου ορμόνης (LH), είτε hMG είτε hCG. Αυτά περιλαμβάνουν περιπτώσεις υποθαλαμικής αμηνόρροιας και περιπτώσεις στις οποίες χρησιμοποιούνται ανταγωνιστές GnRH και τα επίπεδα LH είναι εξαιρετικά κατασταλμένα. Όσον αφορά τα σκευάσματα hCG για την ενεργοποίηση της τελικής ωρίμανσης των ωοθυλακίων, πρόσφατη επισκόπηση του Cochrane δεν έδειξε διαφορά στην ανασυνδυασμένη έναντι της ουρικής ([Jungheim, Meyer et al. 2015](#_ENREF_101)).

Εκτός από την επιλογή του πρωτοκόλλου COS και τη σύνθεση και τη δόση της γοναδοτροπίνης, είναι επίσης σημαντική η επιλογή της συχνότητας χορήγησης της γοναδοτροπίνης στην ελεγχόμενη διέγερση των ωοθηκών. Επίσης αμφιλεγόμενο ζήτημα είναι σχετικά με το αν είναι αποτελεσματικότερη η χορήγηση ημερήσιας δοσολογίας έναντι ημερήσιας διαίρεσης των δόσεων της γοναδοτροπίνης ([Jungheim, Meyer et al. 2015](#_ENREF_101)).

Καθώς ο Gemzell εξέτασε τις γοναδοτροπίνες που προέρχονται από την υπόφυση και ο Donini εργάστηκε για την απομόνωση των ουρικών γοναδοτροπινών για επαγωγή ωορρηξίας, η κλομιφαίνη προέκυψε απροσδόκητα στην κλινική σφαίρα. Η κλομιφαίνη συντέθηκε για πρώτη φορά το 1956 και βρέθηκε ότι είναι αγωνιστής και ανταγωνιστής του οιστρογονικού υποδοχέα. Οι πρώιμες μελέτες σε αρουραίους προέβλεπαν μια κατασταλτική λειτουργία της κλομιφαίνης στην υπόφυση και ένα αποτέλεσμα κατά της γονιμότητας. Ως εκ τούτου, οι αρχικές μελέτες εξέτασαν την κλομιφαίνη ως πιθανό από του στόματος αντισυλληπτικό. Προς έκπληξη των κλινικών ερευνητών, πρώιμες μελέτες σε ανθρώπους έδειξαν ότι η ωορρηξία διεγείρεται και δεν καταστέλλεται. Στη συνέχεια, αναφέρθηκε η χρήση κλομιφαίνης για την πρόκληση ωορρηξίας σε γυναίκες με αποφρακτική ανεπάρκεια και η πρώτη εγκυμοσύνη εμφανίστηκε στη βιβλιογραφία το 1963. Η ευκολία και η αποτελεσματικότητα αυτής της φαρμακευτικής αγωγής από το στόμα, την έκαναν γρήγορα μια δημοφιλή επιλογή θεραπείας για τις υπογόνιμες γυναίκες ([Beall and DeCherney 2012](#_ENREF_20)).

Δεδομένου ότι το FDA ενέκρινε την κλομιφαίνη το 1967 για επαγωγή ωορρηξίας, δεν έχει εγκριθεί καμία άλλη από του στόματος φαρμακευτική αγωγή. Δύο εναλλακτικά φάρμακα, η ταμοξιφένη και η λετροζόλη, έχουν μελετηθεί και μπορεί να είναι εξίσου αποτελεσματικά με την κλομιφαίνη και μπορούν επίσης να παρέχουν πρόσθετα οφέλη ([Beall and DeCherney 2012](#_ENREF_20)).



**Εικόνα. Ο μηχανισμός δράσης του κιτρικού κλομιφαίνιου**

*https://ivf-worldwide.com/images/stories/ivfprocesspictures/drugs/drugs2.jpg*

Το κιτρικό κλομιφαίνιο (CC), είναι ένας εκλεκτικός διαμορφωτής του οιστρογονικού υποδοχέα με κύριο μηχανισμό δράσης την μείωση της αρνητικής ανάδρασης των ενδογενών οιστρογόνων λόγω της παρατεταμένης εξάντλησης των οιστρογονικών υποδοχέων υποθαλάμου και υπόφυσης (ER). Αυτή η δράση συνεπώς οδηγεί σε αύξηση της απελευθέρωσης της GnRH από τον υποθάλαμο στην κυκλοφορία υποθαλάμου-υπόφυσης, προκαλώντας αύξηση στην απελευθέρωση των γοναδοτροπινών της υπόφυσης. Η χορήγηση μέτριου ερεθίσματος γοναδοτροπίνης στις ωοθήκες υπερνικά τις διαταραχές της ωορρηξίας και αυξάνει την ομάδα ωοθυλακίων που φθάνουν στην ωορρηξία ([Legro, Brzyski et al. 2014](#_ENREF_118)).

Το κιτρικό κλομιφαίνιο προκαλεί περισσότερες από μια ωοθυλακιορρηξίες κι έτσι, της αποδίδεται ένα ποσοστό 5-10% ευθύνης για πολύδυμες κυήσεις. Σε κάθε περίπτωση, η παρακολούθηση της ασθενούς πρέπει να περιλαμβάνει τον υπερηχογραφικό έλεγχο. Επίσης, η χορήγηση του σπάνια μπορεί να οδηγήσει σε σύνδρομο υπερδιέγερσης των ωοθηκών. Οι πιο συχνές παρενέργειες που εμφανίζονται με την χρήση αυτού του φαρμάκου περιλαμβάνουν τα αγγειοκινητικά συμπτώματα (10%), την κοιλιακή δυσφορία (6%), την δυσφορία μαστού (2%), την ναυτία-έμετο (2%), τα οπτικά συμπτώματα (2%) και τους πονοκεφάλους (1%). Οι παρενέργειες αυτές όμως δεν είναι δοσοεξαρτώμενες. Ακόμη, δεν έχει αναφερθεί αύξηση στις συγγενείς ανωμαλίες από την χρήση της κιτρικής κλομιφαίνης. Και τέλος, τα οφέλη της είναι ότι δεν απαιτείται εντατική παρακολούθηση κατά την χορήγησή της, είναι φθηνή και εύκολη στην χρήση (Bayer et al 2007).

Η ταμοξιφένη είναι ένας εκλεκτικός ρυθμιστής του οιστρογονικού υποδοχέα που χρησιμοποιείται ως ανοσοενισχυτική θεραπεία στη θεραπεία του καρκίνου του μαστού. Παρόμοια με την κλομιφαίνη, η ταμοξιφένη δρα κυρίως με δέσμευση των οιστρογονικών υποδοχέων στον υποθάλαμο, με αποτέλεσμα την αντιληπτή πτώση στα ενδογενή επίπεδα οιστρογόνων και οδηγώντας σε αύξηση της έκκρισης ενδογενούς γοναδοτροπίνης. Σε αντίθεση με την κλομιφαίνη, η ταμοξιφένη δρα ως αγωνιστής οιστρογόνου στους υποδοχείς του κόλπου και του ενδομητρίου. Το 1973, οι Williamson και Ellis ανέφεραν επαγωγή ωορρηξίας με ταμοξιφένη. Σχεδόν 10 χρόνια αργότερα, οι Messinis και Nillius διαπίστωσαν ότι η ταμοξιφένη ήταν εξίσου αποτελεσματική με την κλομιφαίνη για την πρόκληση ωορρηξίας σε γυναίκες με ανωοθυλακιορρηξία. Περαιτέρω μελέτες υποδεικνύουν ότι η ταμοξιφένη μπορεί να είναι μια εναλλακτική λύση για την κλομιφαίνη, ειδικά σε περιπτώσεις όπου οι γυναίκες αποτυγχάνουν στην ωοθυλακιορρηξία με κλομιφαίνη ή σε περιπτώσεις συντήρησης γονιμότητας για νέες γυναίκες που υποβάλλονται σε θεραπεία καρκίνου του μαστού ([Beall and DeCherney 2012](#_ENREF_20)).

Η λετροζόλη είναι ένας αναστολέας αρωματάσης εγκεκριμένος για χρήση σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες ως ανοσοενισχυτικής θεραπείας του καρκίνου του μαστού. Η αναστολή της αρωματάσης έχει ως αποτέλεσμα χαμηλότερα επίπεδα κυκλοφορούντος οιστρογόνου και μειωμένη αρνητική ανάδραση στον υποθάλαμο και στην υπόφυση, αυξάνοντας έτσι την έκκριση ενδογενούς γοναδοτροπίνης. Παρόμοια με την ταμοξιφένη, η λετροζόλη διαπιστώθηκε ότι είναι τόσο αποτελεσματική όσο η κλομιφαίνη για επαγωγή ωορρηξίας. Επιπλέον, η λετροζόλη μπορεί να είναι αποτελεσματική στην πρόκληση ωοθυλακιορρηξίας σε γυναίκες ανθεκτικές στην κλομιφαίνη και να έχει ως αποτέλεσμα χαμηλότερο ποσοστό πολλαπλής κύησης ([Beall and DeCherney 2012](#_ENREF_20)).

Η μετφορμίνη είναι ένας από του στόματος αντι-υπεργλυκαιμικός παράγοντας διγουανίδης και μειώνει τα επίπεδα γλυκόζης στο αίμα ενισχύοντας την περιφερική πρόσληψη γλυκόζης, μειώνοντας την απορρόφηση γλυκόζης από το έντερο και καταστέλλοντας τα επίπεδα της γλυκόζης στο ήπαρ. Η μετφορμίνη έχει πολλαπλές καθιερωμένες και αναπτυσσόμενες εφαρμογές στην αναπαραγωγική υγεία των γυναικών, συμπεριλαμβανομένου του συνδρόμου πολυκυστικών ωοθηκών (PCOS). Στις γυναίκες με ανωοθυλακιορρηξία με PCOS, το φάρμακο μειώνει τα επίπεδα ινσουλίνης, την παραγωγή της LH και τα επίπεδα ανδρογόνων που κυκλοφορούν. Όταν χρησιμοποιήθηκε για επαγωγή ωορρηξίας σε ασθενείς με PCOS, η μετφορμίνη βρέθηκε ότι αυξάνει τα ποσοστά ωορρηξίας και κλινικής εγκυμοσύνης. Αν και το φάρμακο μόνο του, δεν είναι ανώτερο από τον παράγοντα επαγωγής της ωορρηξίας το κιτρικό κλομιφαίνιο (CC), βελτιώνει τα αποτελέσματα γονιμότητας στις γυναίκες που εμφανίζουν αντίσταση στο CC. Αυτή η συνδυαστική θεραπεία μετφορμίνης και CC είναι επίσης αποτελεσματική στη βελτίωση της γονιμότητας σε παχύσαρκες ασθενείς με PCOS ([Christianson, Wu et al. 2015](#_ENREF_41)).

Μετά τις αρχικές αναφορές ανάπτυξης πολλαπλών ωοθυλακίων για την εξωσωματική γονιμοποίηση, έχουν περιγραφεί πολλαπλά σχήματα διέγερσης, συμπεριλαμβανομένης της κλομιφαίνης μόνης της, hMG, κλομιφαίνης συν hMG, FSH, GnRH, FSH συν hMG. Η χρήση αγωνιστών και ανταγωνιστών της GnRH βελτίωσε το ποσοστό εγκυμοσύνης προλαμβάνοντας την φυσική ωορρηξία. Τα μειονεκτήματα της χρήσης αυτών των φαρμάκων για την πρόκληση ανάπτυξης πολλαπλών ωοθυλακίων για εξωσωματική γονιμοποίηση και επαγωγή ωορρηξίας, περιλαμβάνουν το πολλαπλό σύνδρομο εγκυμοσύνης και το σύνδρομο υπερδιέγερσης των ωοθηκών (OHSS) ([Beall and DeCherney 2012](#_ENREF_20)).

Οι πρώτες αναφορές υπερδιέγερσης ως αποτέλεσμα της χορήγησης γοναδοτροπίνης εμφανίστηκαν στη βιβλιογραφία στις αρχές της δεκαετίας του 1940. Το σύνδρομο υπερδιέγερσης των ωοθηκών (OHSS) είναι μια σπάνια επιπλοκή που χαρακτηρίζεται από ταχεία μαζική μεγέθυνση των ωοθηκών, μετατόπιση υγρών με ασκίτη και αιμοσυγκέντρωση. Σοβαρές περιπτώσεις μπορεί να σχετίζονται με θρομβοεμβολικά επεισόδια, αναπνευστική δυσχέρεια και οξεία νεφρική ανεπάρκεια. Ο πρώτος θάνατος αναφέρθηκε το 1961. Παρόλο που το σύνδρομο OHSS είναι σπάνιο, με τη διεύρυνση των τεχνολογιών υποβοηθούμενης αναπαραγωγής και τη χρήση γοναδοτροπινών, η συνολική συχνότητα εμφάνισης του OHSS έχει αυξηθεί παγκοσμίως ([Beall and DeCherney 2012](#_ENREF_20)).

**3.3.5 Πρωτόκολλα διέγερσης**

**3.3.5.α** Φυσικός Κύκλος IVF

Για την εξωσωματική γονιμοποίηση, είναι απαραίτητη η διέγερση της ανάπτυξης των ωοθυλακίων και η ανάκτηση των ωοκυττάρων, για τα οποία χρησιμοποιούνται διάφορες διαφορετικές μέθοδοι. Η πρώτη επιτυχής θεραπεία με IVF πραγματοποιήθηκε το 1978 ήταν σε έναν μη διεγερμένο φυσικό κύκλο. Παρόλο που οι εγκυμοσύνες εμφανίστηκαν με την πρόωρη εξωσωματική γονιμοποίηση IVF φυσικού κύκλου (NC-IVF), τα ποσοστά επιτυχίας ήταν χαμηλά δευτερεύοντα σε σχέση με την αύξηση (LH) που προκάλεσε ωορρηξία και οδήγησε σε ακυρώσεις ([Allersma, Farquhar et al. 2013](#_ENREF_13)).

Με την ανάπτυξη των ανταγωνιστών της GnRH ορμόνης, αναπτύχθηκε μια νέα θεραπεία IVF, γνωστή τροποποιημένη IVF φυσικού κύκλου (MNC-IVF), με λιγότερες επιπλοκές και κινδύνους σε σύγκριση με τα πρωτόκολλα COH. Λόγω της βελτίωσης των τεχνικών της διέγερσης των ωοθηκών και επίσης των βελτιωμένων εργαστηριακών τεχνικών όπως τα μέσα καλλιέργειας, η NC-IVF έχει και πάλι θεωρηθεί ως επιλογή. Ωστόσο, περισσότερες θεραπείες MNC ή NC είναι πιθανόν να είναι απαραίτητες προκειμένου να επιτευχθούν ποσοστά εγκυμοσύνης συγκρίσιμα με τα COH-IVF (Pelinck 2009). Συνολικά, το κόστος θεραπείας μπορεί να είναι χαμηλότερο σε NC-IVF και MNC-IVF σε σύγκριση με την COH-IVF, αλλά μπορεί να κοστίσει στη γυναίκα περισσότερη προσπάθεια να μείνει έγκυος λόγω του χαμηλότερου ποσοστού εγκυμοσύνης ανά θεραπεία και της ανάγκης επανάληψης των κύκλων θεραπείας. Από την άλλη πλευρά, οι ανεπιθύμητες ενέργειες της ορμονικής θεραπείας και η συναισθηματική δυσφορία της διέγερσης της εξωσωματικής γονιμοποίησης συχνά θεωρούνται απαράδεκτες και οι άνθρωποι φαίνεται να προτιμούν την απλότητα και τη σύντομη διάρκεια μιας χαμηλής θεραπείας διέγερσης ([Allersma, Farquhar et al. 2013](#_ENREF_13)).

Και στους δυο κύκλους, NC-IVF και MNC-IVF, παρακολουθούνται οι κύκλοι θεραπείας των γυναικών με φυσιολογική εμμηνορροϊκή λειτουργία για να μετρηθεί η δομή των ωοθυλακίων και η μορφολογία του ενδομητρίου. Όταν το ωοθυλάκιο φτάσει σε εκτιμώμενο μέγεθος 15 έως 20 mm, χορηγείται ενδομυϊκή ανθρώπινη χοριακή γοναδοτροπίνη (hCG) για την επακόλουθη ωρίμανση του ωοκυττάρου. Το ωοκύτταρο ανακτάται έπειτα με αναρρόφηση του ωοθυλακίου κάτω από κολπική καθοδήγηση υπερήχων. Τα πιθανά πλεονεκτήματα και των δύο NC-IVF και MNC-IVF είναι τα εξής:

* Η σχεδόν πλήρης απουσία πολλαπλών κυήσεων.
* Ο πολύ χαμηλός κίνδυνος για το σύνδρομο υπερδιέγερσης των ωοθηκών.
* Ο μειωμένος χρόνος διέγερσης.
* Η μείωση τόσο της σωματικής όσο και της συναισθηματικής πίεσης, όπως η ωοθηκική διέγερση (η οποία, δεν χρησιμοποιείται ή χρησιμοποιείται μόνο ως πρωτόκολλο πολύ χαμηλής δόσης).
* Το μειωμένο κόστος.
* Δεν απαιτείται κύκλος ανάπαυσης μετά από έναν αποτυχημένο κύκλο.

([Allersma, Farquhar et al. 2013](#_ENREF_13))

Η κρυοσυντήρηση μετά από MNC-IVF και NC-IVF δεν είναι γενικά δυνατή, επομένως δεν υπάρχουν διαθέσιμα έμβρυα για κατάψυξη. Επομένως, τα NC-IVF και MNC-IVF μπορεί να είναι προτιμότερα για ζευγάρια που αντιτίθενται στην κατάψυξη εμβρύων για πολιτιστικούς ή θρησκευτικούς λόγους ή όπου η κρυοσυντήρηση των εμβρύων είναι παράνομη. Τα πιθανά μειονεκτήματα της NC-IVF περιλαμβάνουν:

* υψηλότερο ποσοστό ακύρωσης (λόγω πρόωρων υπερβολικών επιπέδων LH)
* τις μειωμένες πιθανότητες μιας ζωντανής γέννησης ανά ξεκίνημα κύκλου.
* μειωμένες πιθανότητες μεταφοράς εμβρύου μετά από αποψυχθέντα κύκλο.

([Allersma, Farquhar et al. 2013](#_ENREF_13))

Ο IVF φυσικού κύκλου μιμείται τις φυσικές διεργασίες του σώματος, όπως μεταβολές στο ενδομήτριο κατά την προετοιμασία για εμφύτευση. Η θεραπεία είναι σωματικά λιγότερο απαιτητική από τη θεραπεία COS και συνήθως δεν απαιτείται κύκλος ανάπαυσης μετά από αποτυχημένη θεραπεία. Συνεπώς, η θεραπεία μπορεί να επαναληφθεί στον επόμενο κύκλο. Ωστόσο, επειδή μόνο ένα ωοκύτταρο ανασύρεται και επομένως εμφυτεύεται μόνο ένα έμβρυο, τα ποσοστά εγκυμοσύνης ανά γυναίκα ανά κύκλο είναι χαμηλά από 6% έως 7% ([Allersma, Farquhar et al. 2013](#_ENREF_13)).

Υπάρχουν δύο τύποι IVF φυσικού κύκλου:

1. Φυσικός κύκλος - IVF (NC-IVF)

• Στον NC-IVF δεν χορηγούνται φάρμακα.

• Από τη στιγμή που το ωοθυλάκιο προσεγγίζει την ωριμότητα (ωοθυλάκιο).

•Από τη στιγμή που το ωοθυλάκιο προσεγγίζει την ωριμότητα και προγραμματίζεται η ημερομηνία ανάκτησης.

• Η ενεργοποίηση της ωορρηξίας με χορήγηση hCG δίδεται όταν το μέγεθος του ωοθυλακίου είναι 15 έως 20 mm ή όταν η οιστραδιόλη του ορού ανεβαίνει ή όταν συμβαίνουν και τα δύο.

• Στην περίπτωση της αύξησης της LH (μετρούμενη στα ούρα), έιτε ακύρωσης ή πρόοδος της ωοθηκικής ανάκτησης. ([Allersma, Farquhar et al. 2013](#_ENREF_13))

1. Τροποποιημένος φυσικός κύκλος-IVF (MNC-IVF)

• Στον κύκλο MNC-IVF, τα πρωτόκολλα γοναδοτροπίνης χρησιμοποιούνται για την τόνωση της ανάπτυξης των ωοθυλακίων. Διαφορετικά πρωτόκολλα αρχίζουν τη χορήγηση ορμόνης διέγερσης ωοθυλακίων (FSH) σε διαφορετικά στάδια του κύκλου αλλά όλα τα πρωτόκολλα χρησιμοποιούν μια παρόμοια σύντομη περίοδο διέγερσης δύο έως έξι ημερών .

• Μετά από έως έξι ημέρες διέγερσης των ωοθηκών ή όταν το μεγαλύτερο ωοθυλάκιο φθάσει σε διάμετρο 14 mm (ο αριθμός των ημερών ποικίλει ανάλογα με τα διαφορετικά πρωτόκολλα), τότε οι ανταγωνιστές GnRH χορηγούνται για να καταστέλλουν την έκκριση της LH (να αποτρέψουν την πρόωρη ωοθυλακιορρηξία).

• Όταν το κύριο θυλάκιο φθάσει σε μέγεθος τουλάχιστον 15 έως 20 mm, η ωορρηξία ενεργοποιείται με τον ίδιο τρόπο όπως στην COH-IVF, αλλά μόνο ένα ωοκύτταρο αναπτύσσεται πλήρως και ανακτάται. ([Allersma, Farquhar et al. 2013](#_ENREF_13))

Τόσο ο κύκλος MNC-IVF όσο και ο φυσικός κύκλος NC-IVF έχουν ωοθηκική ανάκτηση που πραγματοποιείται με κολπικό υπερηχογράφημα και συνήθως υπό ήπια καταστολή ([Allersma, Farquhar et al. 2013](#_ENREF_13)).

**3.3.5.β** Μακρύ Πρωτόκολλο Αγωνιστή GnRH

Έτσι λοιπόν, η ελεγχόμενη υπερδιέγερση των ωοθηκών είναι ένα θεμελιώδες βήμα της in vitro γονιμοποίησης (IVF) που εφαρμόζεται στην πράξη από την αρχική της πρακτική τη δεκαετία του 1970. Με τον καιρό οι τεχνικές εξωσωματικής γονιμοποίησης ή υποβοηθούμενης αναπαραγωγής έχουν εξελιχθεί για να ικανοποιήσουν τις ανάγκες ασθενών που ταξινομούνται ως άτομα χαμηλής, μέσης και υψηλής ανταπόκρισης. Οι ανακαλύψεις των αναλόγων της ορμόνης GnRH και των αναστολέων της φυσικής στεροειδούς ορμόνης (οιστραδιόλη) όπως το κιτρικό κλομιφαίνιο (CC) έχουν προσφέρει πολλαπλές επιλογές όσον αφορά την υποβοηθούμενη αναπαραγωγή και έχουν βελτιώσει τα ποσοστά επιτυχίας της εξωσωματικής γονιμοποίησης. Οι μελέτες συνέχισαν να δημοσιεύουν πολυάριθμα θεραπευτικά σχήματα για διέγερση των ωοθηκών, συμπεριλαμβανομένων των αναλόγων GnRH, μιγμάτων CC και γοναδοτροπίνης (Gn) ή των συνδυασμένων θεραπευτικών αγωγών που αποτελούνται από CC, ανασυνδυασμένη ορμόνη διέγερσης ωοθυλακίων (FSH) και ωχρινοτρόπο ορμόνη (LH). Ανάλογα με τη χρήση ενός GnRH αγωνιστή έναντι ενός αναλόγου ανταγωνιστή, τα πρωτόκολλα ταξινομούνται ως GnRH αγωνιστών ή GnRH ανταγωνιστών ([Shrestha, La et al. 2015](#_ENREF_202)).

Τα πρωτόκολλα αγωνιστή και ανταγωνιστή GnRH χρησιμοποιούν συναγωνιστικά ή ανταγωνιστικά ανάλογα GnRH. Τα ανάλογα GnRH είναι δεκαπεπτίδια σχεδιασμένα από ανθρώπινη GnRH προκειμένου να αλληλεπιδράσουν με GnRH υποδοχείς. Αυτά τα ανάλογα έχουν ορισμένες υποκαταστάσεις αμινοξέων στην αλληλουχία αμινοξέων γοναδοτροπίνης που αυξάνει τις ημιζωές και τις ικανότητες των αναλόγων σε σύγκριση με τις φυσικές ορμόνες. Οι αγωνιστές GnRH επιτρέπουν την παρατεταμένη διέγερση της έκκρισης γοναδοτροπίνης, ενώ οι ανταγωνιστές GnRH δρουν ως μεσολαβητές της χημικής υποφυσιεκτομής. Συνολικά, και τα δύο ανάλογα χρησιμοποιούνται ευρέως στην IVF εξωσωματική γονιμοποίηση προκειμένου να επάγουν την ωοθυλακιογένεση. Αρκετά αγωνιστικά ανάλογα (τριπτορελίνη, λευπρορελίνη, δεσλορελίνη, γκοσερελίνη και ναφαρελίνη) και ένα ζεύγος ανταγωνιστικών αναλόγων (cetrorelix και ganirelix) έχουν εισαχθεί στις κλινικές πρακτικές ([Shrestha, La et al. 2015](#_ENREF_202)).

**Πίνακας 1**

**Τα πλεονεκτήματα των βασικών πρωτοκόλλων και κλινικών σεναρίων στα οποία μπορούν να προτιμηθούν (**[**Jungheim, Meyer et al. 2015**](#_ENREF_101)**)**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
|  | **Πλεονεκτήματα** | **Ειδικές περιπτώσεις/ Διάγνωση** |
| Μακρό (Αγωνιστών) | •Ευελιξία στον προγραμματισμό της έναρξης χορήγησης γοναδοτροπίνης | •Ενδομητρίωση |
| Βραχύ |  | •Φτωχή ανταπόκριση |
| Ανταγωνιστών | •Λιγότερη δόση και χαμηλότερο κόστος φαρμάκων  •Συνολικός χαμηλότερος κίνδυνος OHSS  • Δυνατότητα ενεργοποίησης με αγωνιστή GnRH για την αποφυγή OHSS | •Οι γυναίκες που κινδυνεύουν από υπεραντιδραστικότητα  •Πρωτόκολλα έναρξης φάσης τυχαίας / ωχρινικής φάσης για γυναίκες που υποβάλλονται σε συντηρητική γονιμότητα |

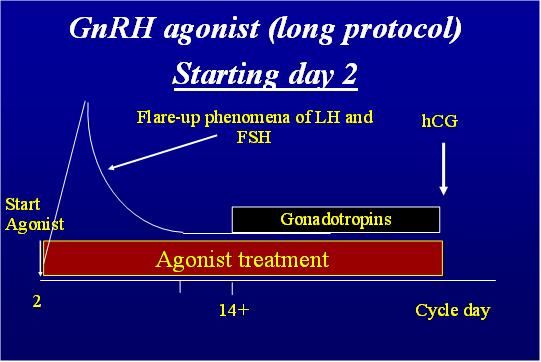
Η χρήση του αγωνιστή GnRH (GnRH-a) έχει αποκτήσει ευρεία δημοτικότητα, και τα περισσότερα προγράμματα ART χρησιμοποιούν αυτή την προσέγγιση ως την κυρίαρχη μέθοδο διέγερσης των ωοθηκών. Μια μετα-ανάλυση τυχαιοποιημένων ελεγχόμενων δοκιμών έδειξε ότι η χρήση αγωνιστή GnRH μείωσε τα ποσοστά ακύρωσης, αύξησε τον αριθμό των ωοκυττάρων που ανακτήθηκαν και βελτίωσε τα ποσοστά κλινικής εγκυμοσύνης ανά κύκλο που άρχισε και ανά εμβρυομεταφορά, σε σύγκριση με τα συμβατικά σχήματα διέγερσης. Επειδή η χρήση των αγωνιστών GnRH έχει ουσιώδη ιατρικά και πρακτικά πλεονεκτήματα, τα σχήματα που συνδυάζουν αγωνιστές GnRH με γοναδοτροπίνες για ελεγχόμενη υπερδιέγερση των ωοθηκών τώρα χρησιμοποιούνται συνήθως επίσης για τη θεραπεία ασθενών με χαμηλή ανταπόκριση που υποβάλλονται σε εξωσωματική γονιμοποίηση ([Weissman, Farhi et al. 2003](#_ENREF_227)).

Είναι διαθέσιμα διάφορα σχήματα για χορήγηση αγωνιστή GnRH κατά τη διάρκεια της ελεγχόμενης υπερδιέγερσης των ωοθηκών, εκ των οποίων τα πιο δημοφιλή και εκτεταμένα χρησιμοποιούμενα είναι τα μακρά και τα σύντομα πρωτόκολλα σε διάφορες παραλλαγές. Και τα δύο πρωτόκολλα αποτρέπουν αποτελεσματικά την αυθόρμητη αύξηση της LH. Ωστόσο, διαφέρουν σημαντικά από την άποψη της δυναμικής του κύκλου, της διάρκειας της θεραπείας και των εξωγενών απαιτήσεων γοναδοτροπίνης ([Weissman, Farhi et al. 2003](#_ENREF_227)). Διαφορετική ονοματολογία χρησιμοποιείται για αυτά τα πρωτόκολλα, αλλά τα βασικά συστατικά είναι τα ίδια. Διαφορετικά φάρμακα GnRH αγωνιστών, οδοί χορήγησης (ρινικές ή συστηματικές) και πρωτόκολλα GnRH-a έχουν χρησιμοποιηθεί στην ART. Η χρήση του φαρμάκου προκαλεί μια κατάσταση υπογοναδοτροπικού υπογοναδισμού, η οποία ονομάζεται επίσης «ιατρική γοναδεκτομή» ή «ιατρική υποφυσιεκτομή», κατάσταση που είναι ταχέως αναστρέψιμη ([Jungheim, Meyer et al. 2015](#_ENREF_101)).

Το μακρύ πρωτόκολλο αγωνιστών GnRH αρχίζει με τη χορήγηση 0,1 mg αγωνιστή GnRH (π.χ. τριπρελλίνη) την ημέρα 21 του κύκλου, ακολουθούμενη από χορήγηση γοναδοτροπίνης 150-225 IU ημερησίως ξεκινώντας την 2η ημέρα του κύκλου. Η προσαρμογή της δόσης της γοναδοτροπίνης βασίζεται στην ανάπτυξη των ωοθυλακίων. Η συνεχής χορήγηση αγωνιστή GnRH και γοναδοτροπίνης διαρκεί μέχρι την έναρξη της ένεσης ανθρώπινης χοριακής γοναδοτροπίνης (HCG), η οποία είναι περίπου 14 ημέρες μετά την αγωνιστική αγωγή GnRH ή όταν τα ωοθυλάκια φθάσουν από 16 έως 18 χιλιοστά (mm) σε μέγεθος, και κατά προτίμηση η αναλογία επιπέδων Ε2 προς αριθμό ωοθυλακίων > 14 mm να υπολογίζεται ότι είναι μικρότερο από 100 pg / mL. Η συλλογή των ωαρίων πραγματοποιείται μεταξύ 34-40 ωρών μετά την ένεση της HCG, πριν εμφανιστεί η ωορρηξία ([Shrestha, La et al. 2015](#_ENREF_202)).

Ο στόχος του μακρού πρωτόκολλου είναι να επιτευχθεί μείωση της ρύθμισης της υπόφυσης με καταστολή της έκκρισης ενδογενούς γοναδοτροπίνης πριν από τη διέγερση με εξωγενείς γοναδοτροπίνες. Μόλις επιτευχθεί η μείωση της ρύθμισης της υπόφυσης και η καταστολή των ωοθηκών, αρχίζει η διέγερση των ωοθηκών με εξωγενείς γοναδοτροπίνες, ενώ η χορήγηση αγωνιστή GnRH συνεχίζεται ταυτόχρονα μέχρι την ημέρα χορήγησης της hCG ([Weissman, Farhi et al. 2003](#_ENREF_227)).

Η χορήγηση συναγωνιστικών αναλόγων GnRH (Arvekap, Daronda, Suprefact, Lupron®) γίνεται τουλάχιστον δύο εβδομάδες πριν από την έναρξη της διέγερσης (για την επίτευξη καταστολής της ωοθηκικής δραστηριότητας) και συνεχίζεται μέχρι να χορηγηθεί ανθρώπινη χοριακή γοναδοτροπίνη (HCG). Η διέγερση της ωοθηκικής λειτουργίας γίνεται με φαρμακευτικά παρασκευαζόμενες γοναδοτροπίνες (Puregon, Gonal-F, Altermon, Metrodin, Menogon) μέσω της συνεχόμενης καταστολής της λειτουργίας της υπόφυσης και διαρκεί περίπου 10-14 ημέρες. Η έναρξη της 1ης φάσης του συναγωνισμού μπορεί να γίνει είτε από τη 2η ημέρα του έμμηνου κύκλου (μακρύ ωοθυλακικό πρωτόκολλο) ή τη μέση ωχρινική φάση (21η ημέρα) του προηγούμενου κύκλου (μακρύ ωχρινικό πρωτόκολλο), και είναι και οι δυο αποτελεσματικές. Εν τουτοις, όταν χορηγέιται GnRH-a κατά τη διάρκεια της μέσης ωχρινικής φάσης, η μείωση της ρύθμισης της υπόφυσης φαίνεται να επιτυγχάνεται ταχύτερα και επομένως χρειάζεται επιπλέον γοναδοτροπίνη για περαιτέρω διέγερση των ωοθηκών ([Siristatidis, Gibreel et al. 2015](#_ENREF_205)).



**Εικόνα. Μακρύ πρωτόκολλο αγωνιστών GnRH**

*(https://ivf-worldwide.com/images/stories/ivfprocesspictures/ivf\_protocols/protocols4.jpg)*

**3.3.5. γ** Η χρήση από του στόματος αντισυλληπτικών (OC) πριν από την χορήγηση GnRH-a.

Το κύριο πλεονέκτημα ενός μακρού πρωτοκόλλου αγωνιστών με χρήση αντισυληπτικών είναι το γεγονός ότι η θεραπεία στοχεύει στην επίτευξη καλύτερης συγχρονισμένης ανταπόκρισης και προγραμματισμένου κύκλου, συσχετίζεται με σημαντικά χαμηλότερο ποσοστό εγκυμοσύνης, μεγαλύτερη διάρκεια διέγερσης και υψηλότερη κατανάλωση γοναδοτροπίνης ([Orvieto and Laufer 2014](#_ENREF_162)).

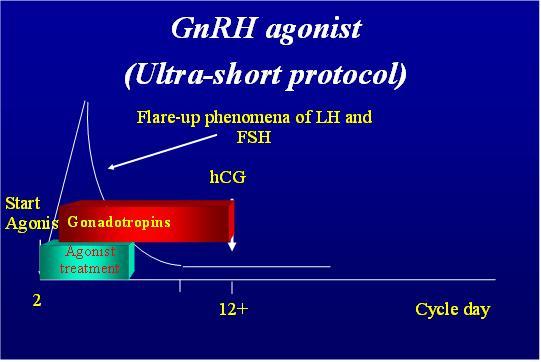
Πρόσφατα, η προκαταρκτική αγωγή με αντι-ανδρογόνα αντισυλληπτικά OC αποδείχθηκε ότι έχει ως αποτέλεσμα μια σημαντικά υψηλότερη απόδοση ωοκυττάρων σε δότες ωοκυττάρων σε σύγκριση με δότες που έλαβαν ανδρογονικά γεσταγόνα και συγκρίσιμη απόδοση σε δότες χωρίς προκαταρκτική χορήγηση OC. Αυτές οι διαφορές διατηρήθηκαν μετά από προσαρμογές για την ηλικία δότη και τη συνολική δόση FSH που χρησιμοποιήθηκε στην επαγωγή ωορρηξίας ([Orvieto and Laufer 2014](#_ENREF_162)).

**3.3.5. δ**  Σύντομο (βραχύ) Πρωτόκολλο Αγωνιστή

Το σύντομο (βραχύ) πρωτόκολλο εκμεταλλεύεται την αρχική διεγερτική επίδραση του αγωνιστή GnRH στην απελευθέρωση της γοναδοτροπίνης από την υπόφυση (γνωστή και ως επίδραση πυροδότησης) για την προώθηση της ωοθυλακικής ανάπτυξης. Ο αγωνιστής GnRH χορηγείται την 2η ημέρα του κύκλου, σε συνδυασμό με εξωγενείς γοναδοτροπίνες που χορηγούνται την 3η ημέρα από την έναρξη του κύκλου θεραπείας. Η απευαισθητοποίηση της υπόφυσης θα συμβεί αρκετές ημέρες αργότερα, ενώ οι ασθενείς παραμένουν σε θεραπεία με γοναδοτροπίνη ([Weissman, Farhi et al. 2003](#_ENREF_227)).

Μια συντομότερη περίοδος χορήγησης αγωνιστή GnRH προτείνεται στο πρωτόκολλο Ultrashort. Ο GnRHa χορηγείται για 3 ή 7 ημέρες, από την δεύτερη ημέρα του κύκλου (ως εκ τούτου, χρησιμοποιώντας μόνο την επίδραση φλεγμονής) ([Siristatidis, Gibreel et al. 2015](#_ENREF_206)).

Επίσης έχουν προταθεί διάφορες τροποποιήσεις στα προαναφερθέντα πρωτόκολλα, όπως είναι το πρωτόκολλο μικροδοσολογίας GnRH-a flare. Το πρωτόκολλο αυτό αναπτύχθηκε (με αρκετές τροποποιήσεις) για τους φτωχούς ανταποκριτές των ωοθηκών που έλαβαν αντισυληπτικά κατά τη διάρκεια του μήνα πριν από τη διέγερση, μικροδόσεις GnRH-a κατά τις πρώτες ημέρες της ωοθυλακικής φάσης και γοναδοτροπίνες που εισήχθησαν αρκετές ημέρες μετά. Έχει το πλεονέκτημα της αρχικής αύξησης της ενδογενούς γοναδοτροπίνης και διατηρεί την αποτελεσματικότητα στην πρόληψη της πρόωρης κύστης της ωχρινοποιητικής ορμόνης (LH). Η προεπεξεργασία με από του στόματος αντισυλληπτικά αποτρέπει το σχηματισμό ωχρού σωματίου και την ακόλουθη διέγερση από εξωγενή GnRH-a ([Davar, Rahsepar et al. 2013](#_ENREF_52)).



**Εικόνα. Σύντομο (βραχύ) πρωτόκολλο αγωνιστών GnRH**

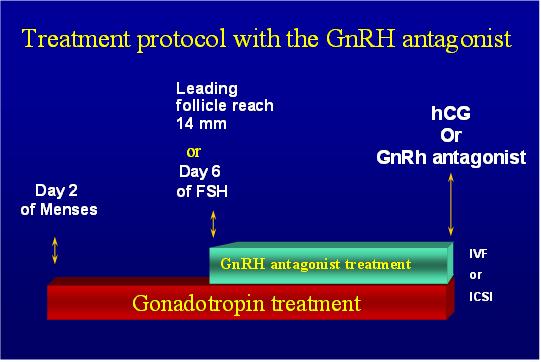
*(https://ivf-worldwide.com/images/stories/ivfprocesspictures/ivf\_protocols/protocols7.jpg)*

**3.3.5. ε**  Πρωτόκολλο ανταγωνιστών GnRH

Οι ανταγωνιστές GnRH (GnRH-ant), δρούν ανταγωνίζοντας τα φυσικά μόρια της GnRH στις θέσεις πρόσδεσής τους στην υπόφυση. Για το πρωτόκολλο ανταγωνιστή GnRH, η χορήγηση γοναδοτροπίνης στα 150-225 IU ημερησίως αρχίζει μετά από παρακολούθηση των μεγεθών των ωοθυλακίων των ασθενών την 2η με 3η ημέρα του κύκλου. Η δοσολογία της γοναδοτροπίνης ποικίλλει ανάλογα με την ωοθυλακική απόκριση. Περίπου μετά την 6η ημέρα έγχυσης γοναδοτροπίνης ή όταν το μέγεθος των ωοθυλακίων φθάσει τα 14 mm ή και περισσότερο, αρχίζει η υποδόρια χορήγηση του ανταγωνιστή της GnRH (π.χ., cetrorelix), μία φορά ημερησίως και συνεχίζεται έως ότου δοθεί η hCG. Ο ανταγωνιστής GnRH μακράς δράσης Cetrotide μπορεί επίσης να χορηγηθεί ως μία εφάπαξ ένεση (σε υψηλότερη δόση των 3 mg) και όχι ως ημερήσιες ενέσεις χαμηλότερης δόσης των 0,25 mg. Όταν χορηγείται η εφάπαξ δόση των 3 mg, το Cetrotide θα πρέπει να παρέχει 4 ημέρες καταστολής (χωρίς αύξηση της LH για 96 ώρες). Εάν η ασθενής χρειάζεται περισσότερες ημέρες διέγερσης πέραν των 96 ωρών, χορηγούνται οι ημερήσιες ενέσεις Cetrotide 0,25mg μέχρις ότου ολοκληρωθεί η διέγερση και εισαχθεί η hCG ([Allersma, Farquhar et al. 2013](#_ENREF_13), [Shrestha, La et al. 2015](#_ENREF_202)).

Ο ανταγωνιστής GnRH παρέχει άμεση καταστολή LH, η οποία πιθανώς βελτιώνει την ποιότητα των παραγόμενων βλαστοκύστεων. Σε ασθενείς που διατρέχουν κίνδυνο να αναπτύξουν σοβαρό OHSS, έχει ένα επιπλέον πλεονέκτημα στο ότι η τελική ωρίμανση των ωαρίων μπορεί να προκληθεί από αγωνιστή GnRH αντί της hCG, χωρίς να διακυβεύεται το αποτέλεσμα της εξωσωματικής γονιμοποίησης ([Orvieto and Laufer 2014](#_ENREF_162)).

Η επιβλαβής επίδραση των COC προθεραπείας στο πρωτόκολλο ανταγωνιστή της GnRH σχετίζεται με την πιθανή αρνητική επίδραση του συστατικού γεσταγόνου στο ενδομήτριο ή στα επίπεδα χαμηλής ενδογενούς LH που επάγονται από τα COC, με την επιβλαβή τους επίδραση στην ικανότητα των ωοκυττάρων ή στην δεκτικότητα του ενδομητρίου ([Orvieto and Laufer 2014](#_ENREF_162)).



**Εικόνα. Πρωτόκολλο ανταγωνιστών GnRH**

*(https://ivf-worldwide.com/images/stories/ivfprocesspictures/ivf\_protocols/protocols8.jpg)*

**3.3.5. ζ**  Ελάχιστο πρωτόκολλο διέγερσης με χρήση κιτρικού κλομιφαίνιου CC και συνδυασμό γοναδοτροπίνης

Το CC, έχει χρησιμοποιηθεί για τη θεραπεία της γονιμότητας τις τελευταίες τέσσερις δεκαετίες. Η αντι-οιστρογονική ιδιότητα του CC είναι το κύριο μειονέκτημα αυτής της θεραπείας. Ωστόσο, ανακαλύφθηκε αργότερα ότι αυτή η αντιοιστρογονική ιδιότητα μπορεί να προκαλέσει καταστολή της πρόωρης υπερτάσεως της LH που είναι υπεύθυνη για τη διατήρηση της ωοθυλακιογένεσης. Το ελάχιστο πρωτόκολλο διέγερσης χρησιμοποιεί CC σε συνδυασμό με την ανθρώπινη εμμηνόπαυση γοναδοτροπίνη (HMG), η οποία είναι πιο αποτελεσματική σε σύγκριση με τη χορήγηση μόνο HMG (46% έναντι 25,9%). Σε αυτό το πρωτόκολλο θεραπείας, η χορήγηση του CC λαμβάνει χώρα την 6η ημέρα ή νωρίτερα ανάλογα με την άνοδο των επιπέδων της LH και συνεχίζεται μέχρι τη χορήγηση της HCG. Αυτό ακολουθείται από την ανάκτηση ώριμων ωαρίων και εξωσωματικής γονιμοποίησης ([Shrestha, La et al. 2015](#_ENREF_202)).

Η λετροζόλη, ένας αναστολέας αρωματάσης, χρησιμοποιείται εναλλακτικά από το CC για το ελάχιστο πρωτόκολλο διέγερσης σε ορισμένους ασθενείς που είναι ανθεκτικοί στο CC. Η λετροζόλη χρησιμοποιείται στα 2,5 mg από την 2η ή 3η ημέρα της εμμήνου ρύσεως για 5 ημέρες σε συνδυασμό με τη γοναδοτροπίνη. Ωστόσο, η λετροζόλη αναπτύχθηκε για τη θεραπεία του μεταστατικού καρκίνου του μαστού και δεν έχει ακόμα εγκριθεί για χρήση στην πρόκληση ωορρηξίας ([Shrestha, La et al. 2015](#_ENREF_202)).

Τα αντιοιστρογόνα αποτελέσματα του CC καταστέλλουν την πρόωρη αύξηση της LH διατηρώντας παράλληλα μια θετική επίδραση στην ανάπτυξη των ωοθυλακίων. Το ελάχιστο πρωτόκολλο διέγερσης είναι ένα βολικό πρωτόκολλο, το οποίο χρησιμοποιεί σημαντικά λιγότερες αμπούλες γοναδοτροπίνης (5 έως 7 αμπούλες).Αυτό το πρωτόκολλο είχε ως αποτέλεσμα λιγότερο ώριμα ωοκύτταρα. κατά συνέπεια, χαμηλότερες πιθανότητες λήψης βιώσιμων κατεψυγμένων εμβρύων. Ωστόσο, ο ρυθμός εγκυμοσύνης και μεταμόσχευσης φαίνεται να είναι παρόμοιος με το πρωτόκολλο αγωνιστή. Αυτό το πρωτόκολλο είναι οικονομικά αποδεκτό για τις γυναίκες με προχωρημένη ηλικία ή για εκείνες με φτωχή ανταπόκριση ωοθηκών σε σύγκριση με πρωτόκολλα αγωνιστών ή ανταγωνιστών ([Weigert, Krischker et al. 2002](#_ENREF_226)).

Η λετροζόλη είναι επίσης αποτελεσματική για την πρόκληση ωορρηξίας σε περιπτώσεις ανθεκτικές στην κλομιφαίνη. Θεωρείται ανώτερη από την κλομιφαίνη επειδή:

1. διατηρεί το πάχος του ενδομητρίου καθώς δεν καταστρέφει τους υποδοχείς οιστρογόνων σε όλο το σώμα.
2. δεν παρεμποδίζει τον μηχανισμό αρνητικής ανάδρασης του άξονα υποθαλάμου-υπόφυσης-ωοθηκών και έτσι επιτρέπει την μονοποθυμική ανάπτυξη μειώνοντας τις πιθανότητες πολλαπλών κυήσεων ( 39 ).

Μελέτες έχουν επίσης δείξει ότι η λετροζόλη έχει καλύτερους ρυθμούς ωορρηξίας και εγκυμοσύνης από ότι η κλομιφαίνη σε ασθενείς με PCOS. Ωστόσο, η χρήση του φαρμάκου έχει συσχετιστεί με συγγενείς ανωμαλίες και δεν έχει εγκριθεί για χρήση στην πρόκληση ωορρηξίας ([Shrestha, La et al. 2015](#_ENREF_202)).

**3.3.5.η**  Κριτήρια για την επιλογή πρωτοκόλλου

Η χρήση του οποιουδήποτε πρωτοκόλλου διέγερσης σε κάθε ασθενή βασίζεται συνήθως στην απόφαση του γιατρού. Η απόφαση βασίζεται στα οφέλη και τις αδυναμίες κάθε θεραπευτικής επιλογής και, κυρίως, στην ανταπόκριση των ασθενών. Οι ασθενείς με διέγερση με γοναδοτροπίνη εμπίπτουν σε τρεις κατηγορίες με βάση την ανταπόκρισή τους: (I) υψηλή ανταπόκριση, (II) ενδιάμεση ανταπόκριση και (III) φτωχή ανταπόκριση. Συχνότερα, το επίπεδο FSH, ο αριθμός των ωαρίων, ο ρυθμός ακύρωσης κύκλου, η δόση γοναδοτροπίνης και τα επίπεδα Ε2 χρησιμοποιούνται ως κριτήρια για τον προσδιορισμό της κακής ανταπόκρισης των ωοθηκών. Ωστόσο, τα κριτήρια για τον καθορισμό των φτωχών ανταποκριτών ενδέχεται επίσης να διαφέρουν ανάλογα με τον ειδικό. Η κακή ανταπόκριση των ωοθηκών εμφανίστηκε στο 9-24% όλων των κύκλων IVF και ορίζεται ως μειωμένη ωοθηκική απόκριση με επαρκή διέγερση ([Tarlatzis, Zepiridis et al. 2003](#_ENREF_212)). Οι ([Malmusi, La Marca et al. 2005](#_ENREF_127)) περιγράφουν ασθενείς με φτωχή ανταπόκριση ασθενείς με χαμηλό αριθμό ωοκυττάρων (μικρότερο από 4) και χωρίς ανταπόκριση των ωοθηκών με FSH μεγαλύτερη από 300 IU. Η κακή ανταπόκριση έχει αποδειχθεί ότι σχετίζεται με την προχωρημένη μητρική ηλικία που επηρεάζει την ποιότητα ωοκυττάρων και τους αριθμούς των ωοθυλακίων. Αυτό έχει παρατηρηθεί και σε μερικούς νεαρούς ασθενείς, αλλά οι αιτίες είναι ασαφείς. Παρόλο που πολλές μελέτες διεξάγονται για να εντοπιστεί ποιο πρωτόκολλο είναι κατάλληλο για ασθενείς σε κάθε κατηγορία απόκρισης, δεν υπάρχει οριστική συναίνεση για το θέμα, δεδομένου ότι κάθε πρωτόκολλο έρχεται με οφέλη και περιορισμούς ([Oehninger 2011](#_ENREF_148)).

Οι κύριες παρενέργειες του μακρού πρωτοκόλλου αγωνιστή GnRH περιλαμβάνουν μεγαλύτερη διάρκεια θεραπείας, περισσότερες αμπούλες γοναδοτροπίνης, σχηματισμό κύστης ωοθηκών και μετεμμηνοπαυσιακά σύνδρομα (π.χ., εξάψεις, κολπική ξηρότητα κλπ). Ωστόσο, το πρωτόκολλο ανταγωνιστή μπορεί να υπερνικήσει αυτές τις παρενέργειες, αλλά το μειονέκτημα του είναι η χαμηλή παραγωγή ωοθυλακίων. Επιπλέον, το πρωτόκολλο ανταγωνιστή έχει χαμηλότερο ποσοστό εγκυμοσύνης και εμφύτευσης λόγω χαμηλού επιπέδου LH και εξασθενημένης έκκρισης οιστρογόνων. Σε σύγκριση με τους ασθενείς που υποβλήθηκαν σε θεραπεία με το πρωτόκολλο του ανταγωνιστή, οι ασθενείς που υποβλήθηκαν σε θεραπεία με το πρωτόκολλο του αγωνιστή έδειξαν σημαντικά υψηλότερο αριθμό ωοκυττάρων και ώριμων ωοκυττάρων (με τιμή P <0.05), ενώ ο ρυθμός ακύρωσης ενός κύκλου ήταν παρόμοιος. Υψηλοί αριθμοί ωαρίων που παρήχθησαν με το μακρύ πρωτόκολλο αγωνιστών πρότειναν ότι το πρωτόκολλο βελτίωσε επίσης τον αριθμό των εμβρύων που παρήχθησαν. Επομένως, το μεγάλο πρωτόκολλο αγωνιστή GnRH μπορεί να είναι ευεργετικό σε σχέση με το υψηλό ποσοστό συσσωρευμένης εγκυμοσύνης. Μια μελέτη που διεξήχθη από τους Rabinson et αϊ . επίσης ευνόησε το πρωτόκολλο αγωνιστή σε ασθενείς με φυσιολογικό δείκτη μάζας σώματος (ΔΜΣ) και δεν παρουσίασε διαφορά στην αποτελεσματικότητα μεταξύ των δύο πρωτοκόλλων σε ασθενείς με υψηλό ΔΜΣ (> 40). Ως εκ τούτου, ο ΔΜΣ μπορεί να είναι σημαντικός παράγοντας στην απόφαση της δόσης έναρξης της γοναδοτροπίνης και του πρωτοκόλλου θεραπείας. Η υψηλή δόση γοναδοτροπίνης απαιτήθηκε σε ασθενείς με υψηλό ΔΜΣ για να προάγει την καλή διέγερση των ωοθηκών ([Rabinson, Meltcer et al. 2008](#_ENREF_176)). Αυτές οι μελέτες αντιστοιχούσαν σε ασθενείς με όλους τους τύπους απόκρισης συμπεριλαμβανομένων εκείνων με κακή απόκριση και σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών (PCOS) ([Shrestha, La et al. 2015](#_ENREF_202)).

Αντίθετα, μια άλλη μελέτη του ίδιου έτους κατέληξε στο συμπέρασμα ότι το πρωτόκολλο του ανταγωνιστή παρήγαγε σημαντικά υψηλούς αριθμούς ωοκυττάρων (P=0,022) σε ασθενείς με φτωχή ανταπόκριση, οι οποίοι προηγουμένως υποβλήθηκαν σε θεραπεία με μεγάλο πρωτόκολλο GnRH ([Marci, Caserta et al. 2005](#_ENREF_130)). Μερικές μελέτες έχουν εμπλέξει το πρωτόκολλο ανταγωνιστή στην πρόληψη μέτριου ή σοβαρού συνδρόμου υπερδιέγερσης των ωοθηκών (OHSS), ειδικά σε γυναίκες με PCOS, λόγω της ταχείας καταστολής της γοναδοτροπίνης (δηλαδή, μικρότερο μήκος κύκλου, χαμηλό επίπεδο οιστρογόνων την ημέρα χορήγησης HCG και μικρότερος αριθμός ωοκυττάρων από ό,τι στο πρωτόκολλο αγωνιστή) ([Lainas, Sfontouris et al. 2010](#_ENREF_114), [Al-Inany, Youssef et al. 2011](#_ENREF_10)). Παρόλο που το πρωτόκολλο ανταγωνιστή θεωρείται ότι είναι καλύτερο στην πρόληψη του OHSS, ο κίνδυνος εξακολουθεί να υφίσταται όταν χρησιμοποιείται HCG για την τελική ωρίμανση. Αυτό προκαλεί αυξημένη έκφραση αγγειακού ενδοθηλιακού αυξητικού παράγοντα στα κύτταρα κοκκιώδους σειράς που οδηγούν σε αυξημένη αγγειακή διαπερατότητα και μετατόπιση υγρών ([Alama, Bellver et al. 2013](#_ENREF_11)). Αυτό μπορεί να προληφθεί χρησιμοποιώντας τον αγωνιστή GnRH για την τελική ενεργοποίηση της ωρίμανσης των ωαρίων. Επιπλέον, η χρήση του αγωνιστή GnRH μπορεί να μειώσει την έκφραση του αγγειακού ενδοθηλιακού αυξητικού παράγοντα, της ινχιμπίνης Β και του γονιδίου στεροειδογέννεσης που οδηγεί σε ελάχιστο ή μηδενικό κίνδυνο OHSS ([Haas, Ophir et al. 2014](#_ENREF_78)).

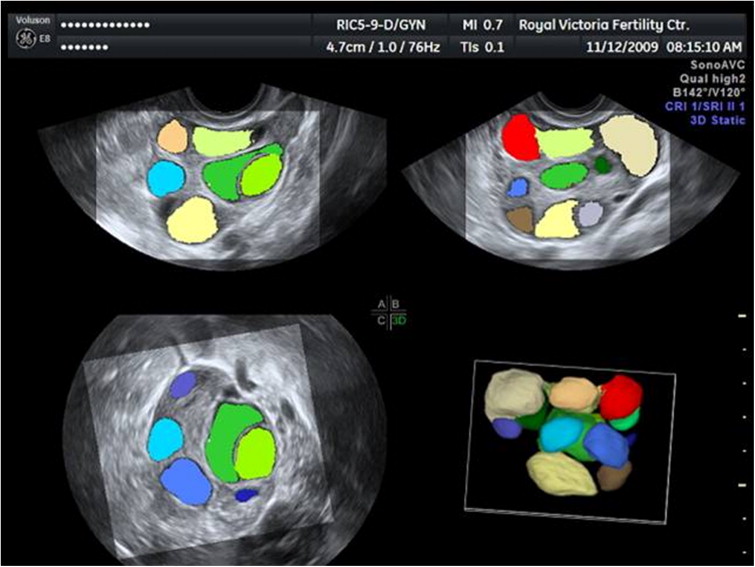
Επιπλέον, το πρωτόκολλο ανταγωνιστή GnRH έδειξε αυξημένο κίνδυνο σημαντικών συγγενών παραμορφώσεων όπως το σύνδρομο Beckwith-Wiedemann και ελάσσονες δυσπλασίες όπως νεφρική ανεπάρκεια, δερματικά σημάδια, τορτικολλίς (μια δυσπλασία στο λαιμό), πυλωρική στένωση και ασύμμετρη μορφή κεφαλής ([Tulandi, Martin et al. 2006](#_ENREF_218)). Συμπερασματικά θα λέγαμε ότι το μεγάλο πρωτόκολλο αγωνιστή GnRH έδειξε καλύτερη εκπλήρωση στον σκοπό της ελεγχόμενης διέγερσης των ωοθηκών, που είναι να επιτευχθεί μεγαλύτερος αριθμός ώριμων ωοθυλακίων, με συγκριτικά χαμηλότερους κινδύνους σε σύγκριση με το πρωτόκολλο ανταγωνιστή και κατά συνέπεια χρησιμοποιείται συχνότερα. Ωστόσο, το θέμα για ποιό πρωτόκολλο αγωνιστή GnRH είναι προτιμότερο σε ασθενείς με χαμηλή ανταπόκριση παραμένει αμφιλεγόμενο ([Weissman, Farhi et al. 2003](#_ENREF_227)). Η συζήτηση σχετικά με τα πρωτόκολλα GnRH έναντι ανταγωνιστών (GnRH-ant) κατά τη διάρκεια της COS είναι ένα άλλο παράδειγμα που υπογραμμίζει τον αυξανόμενο αριθμό επιλογών θεραπείας και την επείγουσα ανάγκη να αναπτυχθεί μια λογική για να γίνει η καλύτερη επιλογή θεραπείας για κάθε ασθενή ([Jungheim, Meyer et al. 2015](#_ENREF_101)).

Η αντιστοίχιση των ασθενών με το ιδανικό πρωτόκολλο είναι δύσκολη επειδή το αποτέλεσμα της ωορρηξίας των ωοθηκών προσδιορίζεται από πολλούς αλληλεπιδρώντες παράγοντες (γενετικούς και μη γενετικούς), οι οποίοι επηρεάζουν το επίπεδο απόκρισης που επιτυγχάνεται. Η σημασία καθεμιάς από αυτές τις μεταβλητές για το τελικό αποτέλεσμα δεν πρέπει να υποτιμηθεί. Για παράδειγμα, τα δημογραφικά χαρακτηριστικά των ασθενών που υποβάλλονται σε εξωσωματική γονιμοποίηση έχουν αποφασιστική επίδραση στις πιθανότητες επιτυχίας. Εκτός από την πολύ γνωστή επίδραση της ηλικίας και του αποθεματικού των ωοθηκών, η παρουσία ενδομητρίωσης, πολυκυστικών ωοθηκών και υψηλού ΔΜΣ μπορεί επίσης να επηρεάσει την ωοθηκική απόκριση και / ή την έκβαση του κύκλου. Στην πραγματικότητα, οι μονάδες IVF αντιμετωπίζουν μια μεγάλη ποικιλία παθολογιών ([Bosch and Ezcurra 2011](#_ENREF_26)).

Επιπλέον, σε ασθενείς με τις ίδιες παθολογίες, οι γενετικές διαφορές ενδέχεται να προδιαθέτουν ορισμένα άτομα να ανταποκριθούν καλύτερα σε ένα πρωτόκολλο διέγερσης έναντι άλλου. Ευτυχώς, όπως περιγράφηκε προηγουμένως, υπάρχουν πολλές διαφορετικές επιλογές πρωτοκόλλων για την διέγερση των ωοθηκών που βασίζονται σε διαφορετικούς συνδυασμούς των αναλόγων GnRH και διέγερση φάρμακα. Ωστόσο, δεδομένων των παραγόντων που αναφέρθηκαν παραπάνω, είναι ανακριβές να υποβληθεί ένα ενιαίο πρωτόκολλο για μια συγκεκριμένη ομάδα ασθενών, όταν μπορεί να υπάρχουν σημαντικές γενετικές διακυμάνσεις εντός αυτού του πληθυσμού. Προς το παρόν, για το ποια μέθοδος θα χρησιμοποιηθεί, η επιλογή γίνεται με εμπειρικό τρόπο και δυστυχώς, η μεθοδολογία δοκιμής και σφάλματος είναι η πιο συχνή διαδρομή για τους υπογόνιμους ασθενείς ([Bosch and Ezcurra 2011](#_ENREF_26)).

**3.4** Παρακολούθηση ωοθυλακιορρηξίας

Η παρακολούθηση της ωοθυλακικής φάσης απαιτείται για να προσαρμοστεί η δόση της γοναδοτροπίνης, να ανιχνευθεί η απειλητική υπερδιέγερση και να προγραμματιστεί η χορήγηση της HCG ([Gerris, Delvigne et al. 2014](#_ENREF_71)). Η ανταπόκριση των ωοθηκών παρακολουθείται από την 5η ημέρα της διέγερσης με ενδοκολπική υπερηχογραφία, ενώ μετρούνται και τα επίπεδα της LH και της Ε2 στον ορό. Με επαναλαμβανόμενες ενδοκολπικές σαρώσεις υπερήχου μετράται ο αριθμός και το μέγεθος των ώριμων ωοθυλακίων καθώς και το πάχος του ενδομητρίου. Συνήθως συμφωνείται ότι ένα ώριμο θυλάκιο φθάνει περίπου 18 mm σε διάμετρο και πάχος ενδομητρίου μεταξύ 7 και 14 mm, μετρώντας τις δύο γραμμές του ενδομητρίου σε μια σαγμιτική διάσταση της μήτρας. Όσον αφορά τη συγκέντρωση οιστρογόνου στον ορό, η τιμή πρέπει να συσχετίζεται με το μέγεθος και τον αριθμό των ωοθυλακίων. Δεν υπάρχουν απόλυτες τιμές για ένα στάδιο παρακολούθησης. ([Raine-Fenning, Deb et al. 2010](#_ENREF_177)).



**Εικόνα. Αυτόματα αναγνωρισμένα και χρωματικά κωδικοποιημένα ωοθυλάκια σε διεγερμένη ωοθήκη**

*(https://ars.els-cdn.com/content/image/1-s2.0-S0015028211005905-gr1.jpg)*

Τα κριτήρια για τη χορήγηση της hCG (10,000 IU) είναι τουλάχιστον 3 ωοθυλάκια με θυλακιώδη διάμετρο ≥17 mm και κατάλληλα κυκλοφορούντων Ε2 συγκεντρώσεων > 1,000 pg / mL ([Adonakis, Deshpande et al. 1998](#_ENREF_5)). Έτσι λοιπόν, μετά από 35-38 ώρες από την χορήγηση της hCG, διεξάγεται ενδοκολπική ανάκτηση των ωαρίων καθοδηγούμενη με υπερήχους ([Zhang, Ata et al. 2010](#_ENREF_236)).

**3.5** Ωοληψία

Η ανάκτηση των ωαρίων κατά τη διάρκεια των τεχνολογιών υποβοηθούμενης αναπαραγωγής (ARTs) εισήχθη το 1981. Η λαπαροσκοπική ανάκτηση αντικαταστάθηκε από την ανάκτηση κατευθυνόμενη με υπερηχογράφημα, λόγω της ικανότητάς της να αποφευχθεί μια επεμβατική χειρουργική επέμβαση, και κατέστη το χρυσό πρότυπο για την ανθρώπινη γονιμοποίηση (IVF). Ο αριθμός των εμβρύων που λαμβάνονται εξαρτάται από τον αριθμό των ωαρίων που ανακτώνται και μπορεί να υπόκειται σε πολλές μεταβλητές: μέγεθος διεγέρσεως των ωοθηκών, τύπος αναισθησίας (τοπικό, κατασταλτικό ή γενικό), τύπος βελόνας αναρρόφησης (ευρεία ή στενή οπή, μεμονωμένο ή διπλό κανάλι), μόνο αναρρόφηση ή αναρρόφηση με εξάψεις των ωοθυλακίων, καθώς και την εμπειρία και την ικανότητα του χειρουργού. Λίγες μελέτες έχουν αξιολογήσει το εύρος της βελόνας που χρησιμοποιήθηκε και τα αποτελέσματα της συλλογής ωαρίων ([Leung, Dahan et al. 2016](#_ENREF_120)).

Μία μελέτη σύγκρινε τις διαδοχικές συλλογές ωοκυττάρων με βελόνες εύρους 15, 17 ή 18 και διαπίστωσε ότι ο αριθμός των ωοκυττάρων που συλλέχθηκαν ήταν παρόμοιος ανεξάρτητα από το μέγεθος της βελόνας, αλλά εμφανίστηκε περισσότερος πόνος με την βελόνα εύρους 15 από ότι με τις βελόνες εύρους 17 ή 18 ([Awonuga, Waterstone et al. 1996](#_ENREF_16)). Μια δεύτερη μελέτη διαπίστωσε μια τάση προς ένα χαμηλότερο σκορ πόνου με ενδοκολπικές συλλογές που πραγματοποιήθηκαν με βελόνα μεγέθους 19 (που χρησιμοποιείται στη μέθοδο in vitro ωρίμανσης [IVM]) σε σύγκριση με μια βελόνα εύρους 16 ή 17 (που χρησιμοποιείται στις IVF ανακτήσεις), αν και δεν είναι στατιστικά σημαντικό ([Seyhan, Ata et al. 2014](#_ENREF_200)). Η μικρότερη βελόνα μπορεί να κάνει μια πιο άνετη συλλογή, παρά τις περισσότερες ωοθηκικές διατρήσεις και το μεγαλύτερο χρονικό διάστημα της διαδικασίας, και οι διευρυμένες ωοθήκες με πολλαπλά μεγάλα ωοθυλάκια και η υψηλότερη πίεση αναρρόφησης που χρησιμοποιείται στη συλλογή IVF προκάλεσε περισσότερο πόνο. Είναι πιθανό ότι εντός του εύρους των συμβατικών βελόνων, το μικρότερο μέγεθος έχει ως αποτέλεσμα μικρότερο πόνο ενδοκολπικά και μετεγχειρητικά, με παρόμοιο αριθμό συλλεχθέντων ωοκυττάρων. Ωστόσο, απαιτούνται περισσότερες μελέτες για να επιβεβαιωθεί αυτό ([Leung, Dahan et al. 2016](#_ENREF_120)). Πρέπει να σημειωθεί ότι στην ανάκτηση με την μέθοδο IVM, οι μελέτες υποστηρίζουν χαμηλότερες πιέσεις αναρρόφησης σε σύγκριση με την IVF για να βελτιωθεί η ανάκτηση, καθώς τα ωοκύτταρα απογυμνώνονται από κύτταρα cumulus σε υψηλότερες πιέσεις και επιπλέον η αρνητική επίδραση της αύξησης των πιέσεων αναρρόφησης είναι μεγαλύτερη στις βελόνες μεγαλύτερου μεγέθους. Για να μεγιστοποιηθεί ο αριθμός των ανακτώμενων ωοκυττάρων, προτάθηκε ωοθυλακική εισρόφηση ακολουθούμενη από έκπλυση. Επίσης, έχουν αναπτυχθεί βελόνες διπλού αυλού, οι οποίες έχουν ένα κανάλι για την έκπλυση υγρού στο θύλακα και ένα άλλο κανάλι για την αναρρόφηση του ωοκυττάρου ([Leung, Dahan et al. 2016](#_ENREF_120)).

Το πιθανό όφελος από την έκπλυση των ωοθυλακίων είναι ο αυξημένος αριθμός των ωοκυττάρων που συλλέγονται, γεγονός που ενδέχεται να αυξήσει την εγκυμοσύνη και τα ποσοστά ζωντανών γεννήσεων. Εντούτοις, τα πιθανά μειονεκτήματα περιλαμβάνουν το μεγαλύτερο χρονικό διάστημα της διαδικασίας με χορήγηση περισσότερων αναισθητικών και περισσότερους χειρισμούς των ιστών. Η έκπλυση μπορεί επίσης, θεωρητικά, να απομακρύνει μερικά από τα ωοθυλακικά κύτταρα που θα μπορούσαν ενδεχομένως να χρησιμεύσουν σε μια σημαντική ενδοκρινική ωχρινική υποστήριξη . Έχουν υπάρξει αρκετές ανασκοπήσεις σχετικά με την αποτελεσματικότητα της έκπλυσης των ωοθυλακίων στην ανθρώπινη εξωσωματική γονιμοποίηση ([Leung, Dahan et al. 2016](#_ENREF_120)). Μια μελέτη, που δούλεψε με πολλαπλές εκπλύσεις κατά την ωοληψία, κατέληξε στο συμπέρασμα πως ένα ώριμο ωοκύτταρο μπορεί να είναι σαν ένα ώριμο φρούτο που μπορεί εύκολα να συλλεχθεί, ενώ ένα ανώριμο ωοκύτταρο μπορεί να χρειαστεί αρκετές εκπλύσεις για να το απομακρύνει από την προσκόλλησή του στο τοίχωμα του ωοθυλακίου. Συχνά, η έκπλυση απαιτείται μόνο εάν δεν συλλέγονται κανένα ή λίγα ωοκύτταρα, που απαιτούν αλλαγή των βελονών στη μέση της διαδικασίας ([el Hussein, Balen et al. 1992](#_ENREF_63)).

Τα αναρροφήματα συλλέγονται σε σωληνάρια γεμάτα με προθερμασμένο ηπαρινισμένο αλατόνερο. Μετά την αρχική ταυτοποίηση των ωοκυττάρων κάτω από μικροσκόπιο, το υπολειπόμενο ωοθυλάκιο φιλτραρίζεται διαμέσου ενός πλέγματος 70 μm, και πλένεται τρεις φορές με μέσο έκπλυσης ωαρίων που περιέχει HEPES ρυθμιστικό διάλυμα συμπληρωμένο με αλβουμίνη ανθρώπινου ορού. Οποιοδήποτε επιπλέον ωοκύτταρο που υπάρχει στο φιλτραρισμένο αναρρόφημα απομονώνεται υπό στερεομικροσκόπιο ([Zhang, Ata et al. 2010](#_ENREF_236)).

**3.6** Ενδομήτρια σπερματέγχυση (IUI)

Το πρώτο βιβλίο με τίτλο ενδομήτρια σπερματέγχυση (IUI) δημοσιεύθηκε το 1962. Από τότε η IUI έχει εξελιχθεί με καινοτομίες όπως η προετοιμασία σπέρματος, η παρακολούθηση του προ-ωορρηκτικού χρόνου και η πρόκληση της ωορρηξίας με την ανθρώπινη χοριακή γοναδοτροπίνη (hCG). Η IUI έχει επίσης συνδυαστεί με διέγερση των ωοθηκών χρησιμοποιώντας κιτρικό κλομιφαίνιο (CC) ή γοναδοτροπίνες. Παρά το γεγονός ότι δεν έχει ταξινομηθεί ως τεχνική υποβοηθούμενης αναπαραγωγής (ART), χρησιμοποιείται ευρέως, συχνά ως εμπειρική θεραπεία, για ένα ευρύ φάσμα ενδείξεων προγεννητικότητας ([The 2009](#_ENREF_216))

Η ενδομήτρια σπερματέγχυση χρησιμοποιείται ευρέως για τη θεραπεία της στειρότητας σε ζευγάρια επειδή είναι μια απλή, ανέξοδη και αποδεκτή τεχνική υποβοηθούμενης αναπαραγωγής. Υπάρχουν ποικίλες ενδείξεις για IUI, όπως ο φτωχός ανδρικός παράγοντας, η εχθρότητα του τραχήλου της μήτρας και η ανεξήγητη υπογονιμότητα. Η ενδομήτρια σπερματέγχυση επιχειρείται εν γένει προτού προχωρήσουμε σε πιο δαπανηρές και επεμβατικές τεχνικές υποβοηθούμενης αναπαραγωγής, όπως η ενδοκυτταροπλασματική έγχυση σπέρματος (ICSI) ([Badawy, Elnashar et al. 2009](#_ENREF_17)). Είναι μια μη επεμβατική μέθοδος με ελάχιστη παρακολούθηση και κινδύνους και με εύλογο ποσοστό επιτυχίας εντός τριών ή τεσσάρων κύκλων στα περισσότερα κέντρα. Η τεχνική IUI είναι αναμφισβήτητα μια φιλικότερη προς τον ασθενή στρατηγική σε σύγκριση με την IVF/ICSI. ([Ombelet, Dhont et al. 2014](#_ENREF_158)).

Η λογική της θεραπείας με IUI είναι η αύξηση του ποσοστού σύλληψης στο ζευγάρι αυξάνοντας την πιθανότητα ο μέγιστος αριθμός υγιούς σπέρματος να φτάσει στη θέση γονιμοποίησης. Σε ζευγάρια με μη φυσιολογική βλέννα, το σκεπτικό μπορεί να είναι η παράκαμψη ενός πιθανού τραχηλικού παράγοντα. Ωστόσο, η δοκιμασία μετά τον κοιλιακό έλεγχο δεν αποτελεί συνιστώμενη ρουτίνα στις περισσότερες χώρες ( The Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine, ([2006](#_ENREF_2)).

Η IUI αντενδείκνυται σε γυναίκες με τραχηλική ατρησία, τραχηλίτιδα, ενδομητρίωση ή διμερή απόφραξη σαλπίγγων και στις περισσότερες περιπτώσεις αμηνόρροια ή σοβαρή ολιγοσπερμία ([The 2009](#_ENREF_216)).

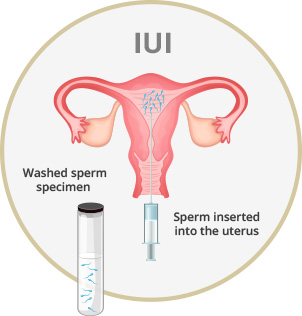
Πριν από την IUI, είναι απαραίτητο να αφαιρεθεί το σπερματικό πλάσμα για να αποφευχθούν οι επαγόμενες από προσταγλανδίνη συστολές της μήτρας. Η σπερματέγχυση με μη επεξεργασμένο σπέρμα σχετίζεται επίσης με λοίμωξη της πυέλου. Η απομάκρυνση του σπερματικού πλάσματος μπορεί να επιτευχθεί με σχετικά απλές διαδικασίες. Οι πιο συχνά χρησιμοποιούμενες μέθοδοι περιλαμβάνουν τη φυγοκέντρηση των σπερματοζωαρίων μέσω μέσου καλλιέργειας ή βαθμίδων πυκνότητας που ακολουθείται από επαναιώρηση σε κατάλληλα μέσα καλλιέργειας. Για τα συνήθη δείγματα σπέρματος, εξακολουθεί να είναι ασαφές αν υπάρχει κάποιο πλεονέκτημα στην απομόνωση των πιο κινητικών σπερματοζωαρίων πριν από τη σπερματέγχυση ή αν μπορούν να ληφθούν παρόμοια αποτελέσματα χρησιμοποιώντας ολόκληρο τον πληθυσμό των σπερματοζωαρίων στο δείγμα ([The 2009](#_ENREF_216)).

Δεν υπάρχει συναίνεση σχετικά με ένα κατώτατο όριο ποιότητας σπέρματος στο οποίο κάποιος θα συνηγορούσε την ICSI παρά την IUI. Διάφοροι συγγραφείς καθορίζουν διαφορετικά τα χαμηλότερα όρια τους, όπως η συγκέντρωση σπερματοζωαρίων ανά χιλιοστόλιτρο ή ο συνολικός αριθμός των κινητικών σπερματοζωαρίων στο δείγμα σπέρματος ή ο συνολικός αριθμός των κινητικών σπερματοζωαρίων στο δείγμα για σπερματέγχυση. Έχει αναφερθεί ότι τα ποσοστά εγκυμοσύνης είναι χαμηλότερα εάν το δείγμα σπέρματος περιέχει συνολικά <10 εκατομμύρια σπερματοζωάρια. Όσον αφορά το δείγμα σπερματέγχυσης, το συνιστώμενο κατώτατο όριο κυμαίνεται από 3 εκατομμύρια κινητικά σπερματοζωάρια έως 10 εκατομμύρια ([The 2009](#_ENREF_216))

Το εναιώρημα σπέρματος μπορεί να εναποτεθεί στον τράχηλο, τη μήτρα, το περιτόναιο ή το φαλλοπειάνο σωλήνα. Η IUI είναι μακράν η πιο κοινή μέθοδος. Εκτελείται με την εισαγωγή ενός εναιωρήματος σπέρματος 0,2-0,5 ml στη μήτρα με ένα μικρό καθετήρα, συνήθως χωρίς καθοδήγηση απεικόνισης. Με την έγχυση σπερματοζωαρίων (FSP), το σπέρμα είναι 4 ml, έτσι ώστε με αυτόν τον μεγάλο όγκο υγρού, το σπέρμα να μπορεί να γεμίσει όχι μόνο την κοιλότητα της μήτρας και τους φαλλοπειανούς σωλήνες, αλλά και κάποιο μέρος του όγκου μπορεί να καταλήξει ακόμη και μέσα στην περιτοναϊκή κοιλότητα. Για το κατεψυγμένο σπέρμα, η IUI είναι καλύτερο από την ενδοκυστική σπερματέγχυση (ICI): η πιθανότητα ζωντανής γέννησης μετά από έξι κύκλους σπερματέγχυσης είναι 2 φορές υψηλότερος (OR: 1,98, 95% CI: 1,02-3,86). Σε δύο μελέτες μεταξύ ασθενών με ανεξήγητη στειρότητα, τα αποτελέσματα με FSP ήταν καλύτερα από ότι με το IUI ([Kahn, Sunde et al. 1993](#_ENREF_102)) (Cantineau et al ., 2003 ). Για άλλες ενδείξεις, δεν υπάρχουν επαρκή στοιχεία που να υποδεικνύουν ότι το FSP είναι καλύτερο από το IUI ([The 2009](#_ENREF_216)).

Η γονιμοποίηση μπορεί να γίνει σε διάφορα χρονικά σημεία γύρω από την ωορρηξία και μπορεί να γίνει μια ή περισσότερες φορές. Στις περισσότερες δημοσιευμένες μελέτες, η σπερματέγχυση γίνεται 32-36 ώρες μετά τη χορήγηση hCG. Θεωρείται ότι ο χρόνος της γονιμοποίησης σε σχέση με την ωορρηξία είναι κρίσιμος για ένα βέλτιστο ποσοστό επιτυχίας, έτσι είναι μάλλον περίεργο το γεγονός ότι μερικές μελέτες σχεδιάστηκαν για να βρουν τον βέλτιστο χρόνο για τη γονιμοποίηση ([The 2009](#_ENREF_216)).

Λόγω της υπογονιμότητας, σε όλους τους κύκλους IUI προηγείται υπερδιέγερση των ωοθηκών με δισκία κιτρικής κλομιφαίνης ή FSH και hMG. Οι κύκλοι παρακολουθούνται με ενδοκολπικό υπερηχογράφημα για τον μέσο όρο των θυλακίων και το πάχος του ενδομητρίου τις ημέρες 10η, 12η και 14η του κύκλου. Χορηγείται ανθρώπινη χοριακή γοναδοτροπίνη hCG 5.000 IU για να προκληθεί ωορρηξία όταν μετράται τουλάχιστον ένα ωοθυλάκιο 18 mm ή περισσότερο ([Badawy, Elnashar et al. 2009](#_ENREF_17)).



**Εικόνα. Η ενδομήτρια σπερματέγχυση (IUI)**

(http://genesis-fertility.com/wp-content/uploads/2017/02/IUI.jpg)

**3.7** Εξωσωματική ωρίμανση ωαρίων, IVM

Η τεχνική της IVM έχει χρησιμοποιηθεί στην κτηνιατρική πρακτική για μεγάλο χρονικό διάστημα. Ωστόσο, η πρώτη εγκυμοσύνη που προέκυψε από IVM σε ανθρώπους αναφέρθηκε το 1991 χρησιμοποιώντας ωοκύτταρα δότη από μη διεγερμένες ωοθήκες από γυναίκες που υποβλήθηκαν σε γυναικολογική χειρουργική. Οι αρχικές αναφορές επικεντρώθηκαν στην ανάπτυξη ειδικών συνθηκών καλλιέργειας, στις μεταβολές στα πρωτόκολλα διέγερσης και εκκίνησης, στην επιλογή της ασθενούς, καθώς και στις τεχνικές γονιμοποίησης ([Julania, Walls et al. 2018](#_ENREF_100)).

Έχουν ληφθεί διάφορες προσεγγίσεις για να υποστηριχθεί η ανάπτυξη των πρώιμων ανθρώπινων ωοθυλακίων in vitro χρησιμοποιώντας φρέσκο ή αποψυγμένο- κρυοσυντηρημένο φλοιώδη ιστό. Είναι σαφές ότι για να επιτευχθεί η πλήρης in vitro ανάπτυξη των ανθρώπινων ωοκυττάρων απαιτείται ένα πολυδιάστατο σύστημα καλλιέργειας για την υποστήριξη καθενός από τα μεταβατικά στάδια. Το πρώτο στάδιο είναι να διευκολυνθεί η έναρξη της ανάπτυξης των αρχέγονων θυλακίων και να υποστηριχθεί η πρόωρη ανάπτυξη, το δεύτερο στάδιο είναι απαραίτητο για τη βελτιστοποίηση μέχρι την ολοκλήρωση της ανάπτυξης των ωαρίων που επιτυγχάνεται κατά τη διάρκεια του τρίτου σταδίου. Στη βελτιστοποίηση ενός συστήματος καλλιέργειας, η εστίαση πρέπει να είναι στην ανάπτυξη των ωοκυττάρων, η οποία μπορεί να μην απαιτεί την ανάπτυξη μεγάλων ωοθυλακικών δομών αλλά μάλλον τη διατήρηση κατάλληλα διαφοροποιημένων σωματικών κυττάρων σε επαφή με το αναπτυσσόμενο ωοκύτταρο. ([Telfer and McLaughlin 2012](#_ENREF_215)).

Η ρύθμιση της ενεργοποίησης των ωοθυλακίων είναι ακόμη ασαφής, αλλά περιλαμβάνει συνδυασμό ανασταλτικών, διεγερτικών και συντηρητικών παραγόντων. Έχει αποδειχθεί ότι χρησιμοποιώντας in vitro φαρμακολογικούς αναστολείς του PTEN (που είναι το ομόλογο φωσφατάσης και τενσίνης που διαγράφεται στο χρωμόσωμα δέκα και καταστέλλει την έναρξη της ανάπτυξης των θυλακίων), παρατηρείται αυξημένη ενεργοποίηση των ανθρώπινων αρχέγονων ωοθυλακίων. Ένα σύστημα μέσα στο οποίο ενεργοποιούνται και αναπτύσσονται καλά τα ανθρώπινα αρχέγονα θυλάκια, είναι η καλλιέργεια και ανάπτυξη αυτών μέσα σε μηχανικά χαλαρωμένα κομμάτια του φλοιού των ωοθηκών, ώστε να φθάσουν στο δευτερεύον στάδιο εντός 6 ημερών ([Telfer and McLaughlin 2012](#_ENREF_215)).

Το μέσο καλλιέργειας είναι ελεύθερο ανθρώπινου ορού και δεν υπάρχει πλέγμα στήριξης. Ένα βασικό βήμα σε αυτή τη διαδικασία είναι η προετοιμασία του ιστού, η οποία περιλαμβάνει την απομάκρυνση του μεγαλύτερου μέρους του υποκείμενου ιστού που σχηματίζουν τα στρωματικά κύτταρα και κάθε αναπτυσσόμενου θυλακίου έτσι ώστε ο καλλιεργημένος ιστός να αποτελείται κυρίως από το φλοιό των ωοθηκών που περιέχει αρχέγονα και πρωτογενή ωοθυλάκια. Όταν καλλιεργούνται αυτά τα μικρά θραύσματα του ανθρώπινου φλοιού των ωοθηκών υπάρχει σημαντική μετατόπιση των ωοθυλακίων από την αρχική ήρεμη κατάσταση στην αναπτυσσόμενη, μέσα σε σύντομες περιόδους καλλιέργειας 6 - 10 ημερών, που δείχνουν ότι η ενεργοποίηση προκύπτει από μια απελευθέρωση των ενδοωοθηκικών παραγόντων, οι οποίοι δρουν ώστε να αναστέλλουν την έναρξη της ανάπτυξης των ωοθυλακίων. Η καλλιέργεια λωρίδων του φλοιού των ωοθηκών, απομακρύνει τους θύλακες από τις in vivo ενδοκρινικές και παρακρινικές διαδικασίες που ρυθμίζουν την ταχύτητα της ανάπτυξης. Ωστόσο, οι θύλακες θα εξακολουθούν να υπόκεινται στην επίδραση των αλληλεπιδράσεων των θυλακίων και στην επίδραση των παραγόντων των στρωματικών κυτταρικών. Από έρευνες που έχουν γίνει γνωρίζουμε ότι το σχήμα των ιστών και η πυκνότητα των στρωματικών κυττάρων είναι σημαντικοί παράγοντες που συμβάλλουν στη ρύθμιση της έναρξης της ανάπτυξης των ωοθυλακίων in vitro, καθώς οι στερεοί κύβοι του φλοιώδους ιστού παρουσιάζουν μικρότερη έναρξη ανάπτυξης ([Hovatta, Silye et al. 1997](#_ENREF_88)) από τον φλοιό που καλλιεργείται ως πεπλατυσμένα φύλλα, οπου ένα μεγάλο μέρος του υποκείμενου ιστού των στρωματικών κυττάρων απομακρύνεται. Μόλις αρχίσει η ανάπτυξη των θυλακίων, τα ωοθυλάκια απελευθερώνονται από το περιβάλλον του ωοθηκικού φλοιού και καλλιεργούνται μεμονωμένα, ώστε να περιορίζεται η αλληλεπιδρασή τους με τους διάφορους παράγοντες ([Telfer and McLaughlin 2012](#_ENREF_215)).

Η εξέλιξη των ανθρώπινων ωοθυλακίων μετά την απομόνωση τους από τον φλοιό είναι αξιοσημείωτη. Σε παρουσία FSH, τα δευτερογενή ανθρώπινα θυλάκια που έχουν απομονωθεί ενζυματικά, μπορούν να διαφοροποιηθούν, να γίνουν στεροειδογονικά ενεργά και να αναπτυχθούν πλήρως σε ωοκύτταρα σε 30 ημέρες. Ο απώτερος στόχος ενός συστήματος που υποστηρίζει την αύξηση των ωοθυλακίων είναι η παραγωγή κατάλληλων επιγενετικά φυσιολογικών ωοκυττάρων. Για να επιτευχθεί αυτό, τα ωοκύτταρα που αναπτύχθηκαν in vitro πρέπει να ωριμάσουν in vitro. Η ωρίμανση ωοκυττάρων υπάρχει ήδη ως ξεχωριστή στρατηγική και χρησιμοποιείται συνήθως στις διαδικασίες τεχνολογίας ανθρώπινης υποβοηθούμενης αναπαραγωγής με ποικίλους βαθμούς επιτυχίας. Όπως αναφέρθηκε προηγουμένως η επίτευξη και η διατήρηση της ανάπτυξης των ωαρίων είναι ο βασικός στόχος οποιουδήποτε πλήρους in vitro αναπτυξιακού συστήματος, καθώς αυτό είναι ένας ειδικός δείκτης μεγέθους της ικανότητας των ωοκυττάρων να επαναλάβουν τη μείωση. Το σύστημα πρέπει επίσης να είναι σε θέση να υποστηρίξει την ωρίμανση του πυρήνα και την κυτταροπλασματική διαφοροποίηση των ωοκυττάρων in vitro. Είναι ευρέως αποδεκτό ότι ενώ το 40-80% των ανώριμων ανθρώπινων ωοκυττάρων μπορεί να ολοκληρώσει επιτυχώς την ωρίμανση in vitro και τη γονιμοποίηση μέχρι το στάδιο των ζωντανών γεννήσεων, ο ρυθμός ωρίμανσης των ανώριμων ωοκυττάρων είναι ακόμα πολύ χαμηλότερος από εκείνο των ωοκυττάρων που συλλέχθηκαν από διεγερμένες ωοθήκες, τα πρωτόκολλα είναι υπο-βέλτιστα ή πολλά από τα συλλεγέντα ωοκύτταρα είναι εγγενώς ανίκανα να υποστούν ωρίμανση. Τα αναπτυγμένα ωοκύτταρα in vitro μπορεί να απαιτήσουν μια περαιτέρω περίοδο ανάπτυξης εντός του συμπλέγματος των κοκκιωδών κυττάρων πριν από την ωρίμανση. Για να επιτευχθεί αυτή η τελική φάση ανάπτυξης, το ωοκύτταρο δεν μπορεί να θεωρηθεί ξεχωριστό από τα συνοδευτικά σωματικά κύτταρα αλλά αυτή η μονάδα ωοκυττάρου-σωματικών κυττάρων πρέπει να απομακρυνθεί από το θυλάκιο. Η διατήρηση των αλληλεπιδράσεων μεταξύ των σωματικών κυττάρων και των ωοκυττάρων και η σταθερότητα των κυτταροσκελετών είναι σημαντική σε αυτό το στάδιο και σε θυλάκια βοοειδών ζώων έχει αποδειχθεί ότι η σωστή ισορροπία της ακτιβίνης και της FSH in vitro επηρεάζει αυτές τις διεργασίες ([McLaughlin, Bromfield et al. 2010](#_ENREF_137)).

Η ωρίμανση in vitro (IVM) των ωοκυττάρων είναι μια μέθοδος που περιλαμβάνει την ανάκτηση και την καλλιέργεια των ανώριμων ωοκυττάρων για την προώθηση της ωρίμανσης τους υπό καθορισμένες συνθήκες καλλιέργειας. Στην τεχνολογία της ανθρώπινης υποβοηθούμενης αναπαραγωγής (ART), η θεραπεία IVM απαιτεί ελάχιστη ή καμία εξωγενή χορήγηση γοναδοτροπίνης. Η τεχνική IVM είναι η μόνη στρατηγική που μπορεί να ματαιώσει εντελώς τις επιπλοκές που σχετίζονται με τη συμβατική εξωσωματική γονιμοποίηση και μπορεί να συμβάλει σε προγράμματα διατήρησης της γονιμότητας ([Sanchez, Romero et al. 2015](#_ENREF_189)).

Η διαδικασία IVM τυπικά περιλαμβάνει την αναρρόφηση των θυλακίων των άντρων πριν το αρχικό θυλάκιο φθάσει σε διάμετρο 10-12 mm προκειμένου να αποφευχθούν τα αρνητικά ενδοθυλακικά αποτελέσματα από ένα κυρίαρχο θυλάκιο. Η συνιστώμενη πίεση κατά τη διάρκεια της ανάκτησης των ωοκυττάρων κυμαίνεται από 56 mm Hg έως 180 mm Hg και η διάμετρος της βελόνας αναρρόφησης κυμαίνεται από 16-20 gauge. Η επιφάνεια εγκάρσιας διατομής μίας βελόνας 17 gauge είναι 3,57 φορές ευρύτερη από αυτή της βελόνας 20 gauge. Η συνιστώμενη πίεση κενού για το IVM pick-up είναι 80-100 mm Hg. Η αναρρόφηση χαμηλότερης πίεσης μαζί με μια βελόνα αναρρόφησης 20 διαμέτρου μπορεί να βελτιώσει την αναπτυξιακή ικανότητα των ωοκυττάρων που προέρχονται από κύκλους IVM. Οι τεχνικές που θα χρησιμοποιηθούν, ο συνολικός χρόνος, η χρήση ενός μέσου έκπλυσης κατά τη διάρκεια της διαδικασίας ανάκτησης και οι ρυθμίσεις θερμοκρασίας στο σύστημα αντλίας-αναρρόφησης είναι επίσης σημαντικοί παράγοντες για το αναπτυξιακό δυναμικό και την κυτταροπλασματική ωρίμανση των ωοκυττάρων in vitro ([Hatirnaz and Ata 2018](#_ENREF_84)).

Στην περίπτωση κύκλων που προκαλούνται με FSH (ή hMG), τα ωοκύτταρα που ανακτώνται από θυλάκια άντρων χωρίς προηγούμενη έγχυση hCG είναι ομοιόμορφα εγκλεισμένα σε μια συμπαγή μάζα κοκκιωδών κυττάρων και γενικά βρίσκονται στο στάδιο των ανώριμων βλαστικών κυστιδίων (GV)-στάδιο. Ενώ αυτή η μη ενεργοποιημένη με hCG προσέγγιση έχει σχεδιαστεί για να αποφευχθεί η συλλογή μιας ετερογενούς ομάδας συμπλεγμάτων κοκκιωδών κυττάρων-ωοκυττάρου (COCs) σε διαφορετικά στάδια πυρηνικής ωρίμανσης, ο ρυθμός ωρίμανσης των ωοκυττάρων in vitro είναι χαμηλός (δηλαδή ~ 50%) σε σύγκριση με ελεγχόμενη διέγερση των ωοθηκών ακολουθούμενη από ενεργοποίηση με hCG, όπου το ~ 80% των συλλεγέντων ωοκυττάρων ωριμάζουν in νίνο. Οι χαμηλοί ρυθμοί ωρίμανσης στα υπάρχοντα συστήματα IVM υποδηλώνουν ότι μια σημαντική αναλογία των ανακτώμενων ωοκυττάρων από θυλάκια 2 έως 10 mm εξακολουθούν να είναι μειοτικά ανενεργά, και ως εκ τούτου, υπάρχει ανάγκη να χαρακτηριστεί η πυρηνική και η κυτταροπλασματική ικανότητα σε ανθρώπινα ωάρια χρησιμοποιώντας μεθόδους επικυρωμένες σε άλλα είδη ([Sanchez, Romero et al. 2015](#_ENREF_189)).

Ο λόγος για τη χρήση γοναδοτροπίνων πριν από την IVM είναι η ενεργοποίηση του αναπτυξιακού δυναμικού των ανώριμων ωοκυττάρων και η μεγαλύτερη συμβατότητα αυτών. Αυτό βέβαια είναι ένα θέμα που διεγείρει αρκετές διαφωνίες και είναι αρκετοί αυτοί που πιστεύουν ότι η IVM δεν θα πρέπει ποτέ να προετοιμαστεί με φαρμακολογικούς παράγοντες ([Hatirnaz and Ata 2018](#_ENREF_84)).

Η μόνη διαφορά IVM από τη συμβατική εξωσωματική γονιμοποίηση είναι η ωρίμανση των ωοκυττάρων υπό in vitro συνθήκες. Το IVM είναι ένας εργαστηριακός όρος και η απόκτηση των ανώριμων ωοκυττάρων εξαρτάται από ορισμένα κλινικά πρωτόκολλα, την παρακολούθηση και το συγχρονισμό της ωοθυλακιορρηξίας, δεν είναι πρωτόκολλο θεραπείας, είναι το εργαστηριακό μέρος ενός πρωτοκόλλου διέγερσης ή ενός κύκλου διέγερσης ([Hatirnaz and Ata 2018](#_ENREF_84)). Τα είδη διεγέρσεων παρατίθενται παρακάτω:

* Μη διεγερμένοι κύκλοι IVM χωρίς χορήγηση hCG
* Κύκλοι IVM με χορήγηση FSH (75 IU / ημέρα για 3 ημέρες. Έναρξη της 3ης ημέρας)
* Κύκλοι IVM με χορήγηση hCG (10.000 IU-20.000 IU ΙΜ όταν το ενδομήτριο φτάσει τα 8 mm)
* Κύκλοι IVM με χορήγηση FSH και hCG (ο συνδυασμός των παραπάνω πρωτοκόλλων)
* Κύκλος ανεξάρτητου IVM σε ασθενείς με καρκίνο (τυχαία έναρξη ή χρήση λετροζολίου)
* Κύκλοι IVM που μετατράπηκαν από συμβατική εξωσωματική γονιμοποίηση (διαδικασία διάσωσης)
* Χρήση αναστολέα αρωματάσης για διέγερση των ωοθηκών σε IVM (λετροζόλη 2,5 mg δύο φορές ημερησίως από την ημέρα 3 για πέντε ημέρες)
* Καταστολή με οιστρογόνο σε IVM (έναρξη οιστραδιόλης την 3η ημέρα του κύκλου)([Hatirnaz and Ata 2018](#_ENREF_84))

Η IVM δεν προωθεί την έναρξη διαδικασιών που ενεργοποιούν τα ανθρώπινα ωοκύτταρα που βρίσκονται σε ηρεμία. Μια επανάληψη της μείωσης ενός πλήρως ανεπτυγμένου ωαρίου πυροδοτείται από την ωχρινοτρόπο ορμόνη (LH) ή από τη χορήγηση hCG πριν από την ανάκτηση των ωοκυττάρων. Ωρίμανση των ωοκυττάρων σημαίνει ότι λαμβάνουν χώρα οι διαδικασίες της πυρηνικής και κυτταροπλασματικής ωρίμανσης, οι οποίες δεν πρέπει απαραίτητα να συμβαίνουν ταυτόχρονα ([Hatirnaz and Ata 2018](#_ENREF_84)). Κατά τη διάρκεια της εξέλιξης των ωοθυλακίων, τα ωοκύτταρα παραμένουν στην Πρόφαση Ι της μείωσης, ένα στάδιο στο οποίο ο πυρήνας είναι γνωστός ως βλαστικό κύτταρο (GV). Κατά τη διάρκεια αυτού του σταδίου, τα ωοκύτταρα αναπτύσσονται (σε ​​μέγεθος) και ο πυρήνας και το κυτταρόπλασμα τους αποκτούν ωριμότητα κατά την προετοιμασία για ωορρηξία. Η εγγενής ποιότητα ωοκυττάρων καθορίζει την ικανότητα των ωοκυττάρων να υπερνικήσουν το στάδιο της μείωσης και να προχωρήσουν στη φάση της Μεταφάσης ΙΙ (ΜΙΙ) (μειοτική ικανότητα), να υποβληθούν σε γονιμοποίηση και να υποστηρίξουν τα πρώιμα εμβρυϊκά στάδια (αναπτυξιακή ικανότητα). Παρόλο που η γνώση είναι ακόμη ατελής, βασικές μελέτες σε διάφορα είδη θηλαστικών έχουν δείξει ότι η μειοτική και αναπτυξιακή ικανότητα αποκτάται σταδιακά κατά τη διάρκεια της ογκογένεσης και ότι αυτό συνεπάγεται βασικά γεγονότα που συμβαίνουν στο αναπτυσσόμενο ωοκύτταρο. Οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ ωοκυττάρου και κοκκιωδών κυττάρων εμφανίζονται να διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην απόκτηση της πυρηνικής και της κυτταροπλασματικής ικανότητας. Η ογκομετρική ανάπτυξη ενός ωοκυττάρου συνοδεύεται από τροποποιήσεις μεγάλης κλίμακας στην οργάνωση της χρωματίνης, η οποία προκαλεί σημαντικές βιολογικές επιπτώσεις στον έλεγχο της συνολικής έκφρασης των γονιδίων μέσα στα ωοκύτταρα: τα ωοκύτταρα με χρωματίνη διασκορπισμένα σε ολόκληρο τον πυρήνα είναι μεταγραφικά δραστικά, ενώ εκείνα με συμπυκνωμένη χρωματίνη που βρίσκονται γύρω από τον πυρήνα είναι μεταγραφικά ανενεργά. ([Sanchez, Romero et al. 2015](#_ENREF_189)).

Για την παρακολούθηση της ικανότητας των ωοκυττάρων και της ωρίμανσης in vitro, αναπτύχθηκε ένα σύστημα καλλιέργειας τριών σταδίων, αλλά οι διαδικασίες in vivo επιταχύνονται σε συστήματα καλλιέργειας με βελτιστοποιήσεις για την ικανότητα των ωαρίων. Τα κυτταρικά και μοριακά συμβάντα που συμβαίνουν στο περιβάλλον των ωοθυλακίων συντονίζουν τόσο την εξέλιξη των ωοκυττάρων όσο και των σωματικών κυττάρων. Αυτή η πορεία συμβάντων αυξάνει τελικά την ποιότητα της συνάφειας των μέσων καλλιέργειας που χρησιμοποιούνται για την ωρίμανση των ωοκυττάρων in vitro στους ανθρώπους. Οι παράγοντες που εκκρίνονται από τα ωοκύτταρα , κυρίως οι GDF 9 και BMP 15, ρυθμίζουν τις λειτουργίες του συμπλέγματος των ωοκυττάρων και κοκκιωδών κυττάρων in vivo και έχουν μεγάλη επίδραση στην ποιότητα των ωοκυττάρων ([Hatirnaz and Ata 2018](#_ENREF_84)).

Μέχρι πρόσφατα, τα σκευάσματα των καλλιεργητικών μέσων ωρίμανσης και τα πρωτόκολλα καλλιέργειας δεν διέφεραν σημαντικά μεταξύ τους, με εξαίρεση τις διάφορες 24ωρες παραλλαγές του χρόνου της καλλιέργειας (γενικά αναφερόμενες μεταξύ 24 ωρών και 48 ωρών) και τις περιστασιακές μεταβολές στα πρόσθετα των μέσων καλλιέργειας. Σε ένα βασικό επίπεδο, τα μέσα καλλιέργειας IVM αποτελούνται από ένα μέσο καλλιέργειας βάσης, ορμονικά πρόσθετα και μια πηγή πρωτεΐνης. Τα αναφερόμενα βασικά μέσα συνίστανται είτε από εμπορικά διαθέσιμα μέσα IVM είτε από μέσα καθορισμένα από βλαστοκύστη, χωρίς να υπάρχουν αναφορές διαφορών στα ποσοστά επιτυχίας μεταξύ των δύο. Για την επιτυχή επανάληψη της διαδικασίας της μείωσης, είναι απαραίτητη η προσθήκη είτε της FSH, είτε της hCG ή της LH στο μέσο καλλιέργειας για να προωθηθεί ο πολλαπλασιασμός και να βοηθηθούν τα τελικά στάδια της ωρίμανσης των ωαρίων in vitro. Έχει αποδειχθεί ότι μετά την ανάκτηση ωοκυττάρων χωρίς χορήγηση hCG, τα μεγαλύτερα ωοκύτταρα στο στάδιο GV έχουν το μεγαλύτερο δυναμικό για μειοτική επανάληψη. Τα περισσότερα κλινικά πρωτόκολλα που έχουν αναφερθεί περιλαμβάνουν είτε αυτόλογο μητρικό ορό, αλβουμίνη ανθρώπινου ορού (HSA) ή ανθρώπινο ωοθυλακικό υγρό (HFF) ως πηγή πρωτεΐνης για χρήση σε καλλιέργεια με συγκρίσιμη αποτελεσματικότητα και των τριων. Προτίμηση μπορεί να δοθεί στην HSA, καθώς ο HFF και ο μητρικός ορός έχουν τη δυνατότητα να εισάγουν μολυσματικούς ρύπους και άλλα στοιχεία τα οποία μπορεί να επηρεάσουν αρνητικά την αναπτυξιακή ικανότητα των ωαρίων ή των εμβρύων, καθώς και να συμβάλλουν στην έλλειψη ετερογένειας σε περιπτώσεις, καθώς δεν επιτρέπουν για έναν επαρκή έλεγχο της ποιότητας ([Julania, Walls et al. 2018](#_ENREF_100)).

Άλλα πρόσθετα καλλιέργειας έχουν προταθεί για τη βελτίωση των ποσοστών επιτυχίας της IVM κατά τη διάρκεια των ετών. Ωστόσο, οι εκθέσεις τους είναι σποραδικές και σπάνια χρησιμοποιούνται στην καθημερινή καλλιέργεια. Ο αυξητικός παράγοντας (IGF-I) έχει δείξει θετικά στοιχεία σε ζωικά μοντέλα και πρώιμες μελέτες σε ανθρώπους, προωθώντας την επέκταση των κοκκιωδών κυττάρων και ο ανασυνδυασμένος επιδερμικός αυξητικός παράγοντας έχει προστεθεί με επιτυχία σε ορισμένα συστήματα καλλιέργειας, όπως επίσης και τα μέλη της οικογένειας, η αμφιρεγουλίνη και η επιρεγουλίνη. Τα τελευταία χρόνια, η ανακάλυψη άλλων παραγόντων που μπορούν να προωθήσουν την ωρίμανση των ωοκυττάρων όπως οι εκκρινόμενοι από ωοκύτταρα παράγοντες ΒΜΡ-15 και GDF9 έχουν θετική απόδοση σε ζωικά μοντέλα, με αποτέλεσμα την εμφάνιση δυναμικών in vitro συστημάτων για τη βελτίωση της ποιότητας και της ποσότητας του εμβρύου, τα αποκαλούμενα συστήματα προωρίμανσης ή προ-IVM. Μία από τις σημαντικές πτυχές είναι η διατήρηση της βέλτιστης συγκέντρωσης των επιπέδων κυκλικής μονοφωσφορικής αδενοσίνης / κυκλικής μονοφωσφορικής γουανοσίνης (cAMP / cGMP) μετά την απομάκρυνση από το θυλάκιο, καθώς παίζουν σημαντικό ρόλο στην επανάληψη / ανάσχεση του σταδίου της μείωσης του ωοκυττάρου ([Julania, Walls et al. 2018](#_ENREF_100)).

Ωστόσο, η ανάπτυξη εμβρύων μέσω της ART είναι κατώτερη από αυτή των in vivo εμβρύων, γεγονός που δείχνει ότι οι διαδικασίες ART επικαλούνται καταστάσεις κυτταρικού και μεταβολικού στρες και το έμβρυο ART αναγκάζεται να δαπανήσει ενέργεια για να προσαρμοστεί σε αυτό το ξένο περιβάλλον. Συγκεκριμένα, τα μέσα καλλιέργειας είναι ένας σημαντικός παράγοντας για επιτυχείς in vitro αλληλεπιδράσεις μεταξύ των γαμετών και της επακόλουθης ανάπτυξης εμβρύων ([Gruber and Klein 2011](#_ENREF_75)).

Μπορούν να χρησιμοποιηθούν τέσσερα πρωτόκολλα για την καλλιέργεια από τη γονιμοποίηση έως το στάδιο βλαστοκύστης σε ένα εργαστήριο ART:

1. διαδοχικό πρωτόκολλο μέσου, με διακοπτόμενη καλλιέργεια όπου δύο μέσα διαφορετικών συνθέσεων χρησιμοποιούνται διαδοχικά, η αλλαγή μέσου συμβαίνει την ημέρα 3 της εμβρυϊκής καλλιέργειας ,
2. διαδοχικό πρωτόκολλο μέσων με αλλαγή φρέσκου μέσου κάθε μέρα,
3. μονοκαλλιέργεια, αδιάλειπτη καλλιέργεια με χρήση ενός μέσου καθ 'όλη τη διάρκεια των 5 ημερών της εμβρυϊκής καλλιέργειας,
4. διακοπτόμενη καλλιέργεια όπου χρησιμοποιείται μέσο μονοκαλλιέργειας, αλλά ανανεώνεται την ημέρα 3 της εμβρυϊκής καλλιέργειας ([Gruber and Klein 2011](#_ENREF_75)).

Τα βασικά συστατικά των μέσων καλλιέργειας είναι τα εξής:

* Υδατάνθρακες

Εν συντομία, το πρώιμο έμβρυο παρουσιάζει μάλλον απλοϊκή φυσιολογία και διατηρεί χαμηλά επίπεδα οξειδωτικού μεταβολισμού, ενώ παρουσιάζει την φυσιολογία των σωματικών κυττάρων μετά από συμπίεση χρησιμοποιώντας ένα ευρύτερο φάσμα θρεπτικών ουσιών, οι βιοσυνθετικοί ρυθμοί αυξάνονται, μαζί με την ικανότητα να χρησιμοποιεί γλυκόζη. Αυτό συνεπάγεται μετατόπιση των ενεργειακών απαιτήσεων κατά το χρόνο ενεργοποίησης του εμβρυϊκού γονιδιώματος ή κατά το στάδιο μετά τη συμπύκνωση. Το ζυγωτό και τα επόμενα στάδια διάσπασης προτιμούν το πυροσταφυλικό ως την πρωταρχική πηγή ενέργειας, ενώ το εμβρυϊκό στάδιο οκτώ κυττάρων χρησιμοποιεί γλυκόζη. Η γλυκόζη είναι βασικός αναβολικός πρόδρομος και απαιτείται για τη σύνθεση των τριακυλγλυκερινών και των φωσφολιπιδίων και ως πρόδρομος για τα πολύπλοκα σακχάρων και των γλυκοπρωτεΐνων ([Gruber and Klein 2011](#_ENREF_75)).

* Αμινοξέα

Έχει προταθεί ότι τα «αμινοξέα- (ΑΑ)», είναι σημαντικοί ρυθμιστές της προ-εμφυτευτικής ανάπτυξης των θηλαστικών. Πριν από την έκφραση του εμβρυονικού γονιδιώματος, το έμβρυο χρησιμοποιεί καρβοξυλικά οξέα και ΑΑ ως πηγές ενέργειας. Τα αμινοξέα σε μέσα καλλιέργειας υφίστανται αυθόρμητα διάσπαση με αποτέλεσμα την απελευθέρωση αμμωνίου στο μέσο καλλιέργειας με συγκέντρωση αυτού εξαρτώμενη από το χρόνο. Το αμμώνιο είναι τοξικό για το έμβρυο και μειώνει τη βιωσιμότητα αυτού. Πρέπει να σημειωθεί ότι τα μέσα καλλιέργειας πρέπει να περιλαμβάνουν επαρκή επίπεδα θείου που περιέχουν αμινοξέα για την ελαχιστοποίηση της απόπτωσης που οδηγεί στην αδελφοποίηση μονοζυγώτη ([Gruber and Klein 2011](#_ENREF_75)).

* EDTA

Η χρησιμότητά του βασίζεται στην ικανότητά του να "απομονώσει" τα μεταλλικά ιόντα. Τα μεταλλικά ιόντα, αφού συνδεθούν με EDTA, παραμένουν στο διάλυμα αλλά εμφανίζουν μειωμένη αντιδραστικότητα. Ωστόσο, το EDTA σε συγκέντρωση 0,1 mmol / L μειώνει την εξέλιξη των βλαστοκυττάρων και τον αριθμό των κυττάρων ([Gruber and Klein 2011](#_ENREF_75)).

* Ρύθμιση οσμολυτών

Η διατήρηση ενός σταθερού όγκου μπροστά στις εξωκυτταρικές και ενδοκυτταρικές οσμωτικές διαταραχές είναι ένα κρίσιμο πρόβλημα που αντιμετωπίζουν όλα τα κύτταρα. Τα περισσότερα κύτταρα ανταποκρίνονται σε οίδημα ή συρρίκνωση ενεργοποιώντας ειδικές μεταβολικές ή μεμβρανικές μεταφορές που επιστρέφουν τον όγκο των κυττάρων στην κανονική κατάσταση ηρεμίας. Αυτές οι διαδικασίες είναι απαραίτητες για την κανονική λειτουργία και την επιβίωση των κυττάρων. Η ωσμωτική πίεση του υγρού των ωοθηκών είναι >360 mOsmol. Ωστόσο, η οσμωτικότητα των περισσότερων εμπορικά διαθέσιμων μέσων καλλιέργειας ART είναι χαμηλότερη σε περίπου 250-300 mOsmol. Όταν η συγκέντρωση NaCl εξαναγκαστεί στα 290 mOsmol, η ανάπτυξη του εμβρύου είναι σοβαρά μειωμένη. Η προσθήκη εξωκυτταρικού αμινοξέος, όπως η γλυκίνη, η βηταΐνη, η προλίνη, η αλανίνη και η υποταυρίνη, που δρουν ως οργανικοί οσμολύτες, προστατεύουν το έμβρυο πριν από την εμφύτευση από την υπερτονικότητα και αυξάνουν την ανάπτυξη του εμβρύου ([Gruber and Klein 2011](#_ENREF_75)).

* Επιπτώσεις του pH και των ρυθμιστικών

Το pH αναφέρεται μόνο στη συγκέντρωση ιόντων υδρογόνου και έχει νόημα μόνο όταν εφαρμόζεται σε υδατικά διαλύματα (με βάση το νερό). Η ισορροπία του pH εξαρτάται από τη συσχέτιση ή τη διάσταση των ενώσεων. Τα σημαντικότερα ιόντα είναι το νάτριο, το κάλιο, το μαγνήσιο, το χλωρίδιο και το γαλακτικό και επίσης το αμινοξύ γλυκίνη η οποία δρα ως ένα ενδοκυτταρικό ρυθμιστικό διάλυμα. Το ενδοκυτταρικό pH σε ανθρώπινα εμβρυϊκά κύτταρα διάσπασης είναι pH = 7,2 και είναι απαραίτητο για να διατηρηθεί η ενδοκυτταρική ομοιόσταση ([Gruber and Klein 2011](#_ENREF_75)).

* Μακρομόρια

Κοινές πηγές για μακρομόρια είναι πρωτεΐνες για μέσα καλλιέργειας όπως αλβουμίνη ανθρώπινου ορού ή συνθετικός ορός. Και οι δύο προστίθενται σε συγκεντρώσεις από 5 έως 20%. Σήμερα, τα περισσότερα εμπορικά μέσα περιλαμβάνουν συνθετικό ορό στον οποίο η σύνθεση είναι γνωστή. Η πρωτεΐνη με τη μορφή λευκωματίνης θεωρείται ότι διατηρεί τη σταθερότητα των κυτταρικών μεμβρανών. Η παρουσία μακρομορίων σε μέσα καλλιέργειας εμβρύων χρησιμεύει για τη διευκόλυνση του χειρισμού των γαμετών και των εμβρύων. Ωστόσο, η χρήση οποιωνδήποτε προϊόντων αίματος ενέχουν τον κίνδυνο ενδεχόμενης μόλυνσης και μόλυνσης των εμβρύων προ-εμφύτευσης. Μερικοί ερευνητές έχουν χρησιμοποιήσει συνθετικά πολυμερή όπως πολυβινυλική αλκοόλη (PVA) και πολυβινυλική πυρρολιδόνη (PVP) στην ART, αλλά δεν μπορεί να θεωρηθεί φυσιολογική εναλλακτική λύση στην πρωτεΐνη. Μια άλλη φυσιολογική εναλλακτική λύση έναντι της λευκωματίνης είναι η υαλουρονική γλυκοζαμινογλυκάνη (που ονομάζεται επίσης υαλουρονικό οξύ ή υαλουρονάνη). Το ανθρώπινο έμβρυο εκφράζει τον υποδοχέα για αυτό σε όλη την προ-εμφυτευτική ανάπτυξη ([Gruber and Klein 2011](#_ENREF_75)).

* Βιταμίνες

Η προσθήκη βιταμινών ως αντιοξειδωτικών στα μέσα καλλιέργειας που περιέχουν γλυκόζη και φωσφορικό βοήθησε στον μεταβολικό έλεγχο. Οι ακόλουθες πιθανές βιταμίνες είναι συστατικά διαφόρων μέσων καλλιέργειας ART: ασκορβικό οξύ, κυανοκοβαλαμίνη, φολικό οξύ και τοκοφερόλη ([Gruber and Klein 2011](#_ENREF_75)).

* Αυξητικοί παράγοντες

Η βλαστοκύστη εκφράζει συνδέτες και υποδοχείς για διάφορους αυξητικούς παράγοντες ([Gruber and Klein 2011](#_ENREF_75)).

* Αντιβιοτικά

Τα καλλιεργητικά μέσα συμπληρώνονται με αντιβιοτικά για την πρόληψη της βακτηριακής μόλυνσης. Τα αντιβιοτικά που χρησιμοποιούνται σήμερα είναι πενικιλλίνη (β-λακτάμη, 100 U / ml), στρεπτομυκίνη (αμινογλυκοσίδιο, 100 μg / ml) και γενταμυκίνη (αμινογλυκοσίδη 50 μg / ml). Η πενικιλλίνη δεν έχει άμεσες τοξικές επιδράσεις στο προεμφυτευτικό έμβρυο. Η στρεπτομυκίνη και η γενταμυκίνη διαταράσσουν τη σύνθεση των βακτηριακών πρωτεϊνών ([Gruber and Klein 2011](#_ENREF_75)).

Πριν από την αξιολόγηση της ωρίμανσης, τα περιβάλλοντα κύτταρα cumulus απομακρύνονται με έκθεση 30 δευτερολέπτων σε 80 IU/mL υαλουρονιδάση, σε μέσο έκπλυσης και με τη χρήση μίας πιπέτας εκπλύσεως ([Pongsuthirak, Songveeratham et al. 2015](#_ENREF_171)). Η ωριμότητα του πυρήνα των συλλεγέντων ωοκυττάρων αξιολογείται κάτω από το μικροσκόπιο διαχωρισμού με μεγάλη μεγέθυνση (x 80) χρησιμοποιώντας τη μέθοδο ολίσθησης ([Zhang, Ata et al. 2010](#_ENREF_236)). Τα ωοθυλάκια των θυλάκων συλλέγονται σε σωλήνες καλλιέργειας που περιέχουν ρυθμιστικό διάλυμα έκπλυσης με 2.5 IU / mL ηπαρίνη . Μετά την ταυτοποίησή τους, τα ωοκύτταρα τοποθετούνται αρχικά σε μέσο πλύσης ωαρίων (SAGE). Η ωριμότητα των ωοκυττάρων εκτιμάται μετά τη συλλογή των ωοκυττάρων ως εξής: τα ωοκύτταρα θεωρούνται ανώριμα εάν παρατηρηθεί στο κυτταρόπλασμα ένα βλαστικό κυστίδιο ή αν δεν υπάρχει πολικό σώματιο (ωάριο μεταφάσης Ι). Θεωρούνται ώριμα αν έχει λάβει χώρα η εξώθηση του πρώτου πολικού σωμάτιου (μεταφάση II). Η ωρίμανση των ωαρίων αξιολογείται με τα κύτταρα cumulus από εκπαιδευμένους εμβρυολόγους τις ημέρες 0, 1 και 2 μετά την ανάκτηση ωοκυττάρων (ημέρα 0: 0-6 ώρες). Τα ωοκύτταρα απογυμνώνονται λίγο πριν την μέθοδο ενδοτρακυτταροπλασματικής έγχυσης σπέρματος (ICSΙ). Όλες οι διαδικασίες χειρισμού των ωοκυττάρων διεξάγονται σε θερμά στάδια και πλάκες στους 37 °C. Ώριμα και ανώριμα ωοκύτταρα στη συνέχεια μεταφέρονται σε μέσο έκπλυσης (SAGE) συμπληρωμένο με 75 IU/L FSH και 75 IU/L LH και καλλιεργούνται στους 37 °C σε μια ατμόσφαιρα 6% CO2 , 5% O2 και 89% N2 με υψηλή υγρασία για μέγιστη διάρκεια 48 ωρών ([Zhang, Ata et al. 2010](#_ENREF_236), [Gremeau, Andreadis et al. 2012](#_ENREF_74)).



**Εικόνα. Διαφορετικά στάδια ωρίμανσης ωοκυττάρων. (Α) Βλαστικό κυστίδιο (GV) (ανώριμο). (Β) Ωοκύτταρο μεταφάσης Ι, απουσία βλαστικού κυστίδιου αλλά χωρίς εξώθηση πολικού σωμάτιου (ανώριμο), (C) Ωοκύτταρο μεταφάσης II, εξώθηση του πρώτου πολικού σωμάτιου (ώριμο).**

*( https://ars.els-cdn.com/content/image/1-s2.0-S0015028212005146-gr1.jpg)*

Με την ανάλυση του ανοσοφθορισμού, το μειοτικό στάδιο κάθε ωοκυττάρου μπορεί να οριστεί με βάση την οργάνωση μικροσωληνίσκων, μικροϊνών και χρωματίνης σε φυσιολογικές και ανώμαλες διαμορφώσεις όπως περιγράφεται παρακάτω. Η χρήση τριών ετικετών ανοσοφθορισμού (τομπουλίνη, ακτίνη και χρωματίνη) μπορεί να ενισχύσει την ακρίβεια του μειοτικού σταδίου αντί να στηρίζεται μόνο στη σήμανση χρωματίνης ή των μικροσωληνίσκων, ενώ η ανίχνευση μικροϊνών επιτρέπει με σαφήνεια την ανίχνευση ενός πολικού σωμάτιου (PB) ([Machtinger, Combelles et al. 2013](#_ENREF_124)).

Τα ωοκύτταρα που παρουσιάζουν φυσιολογικά μειοτικά στάδια, έχουν τα εξής χαρακτηριστικά:

1. GV (με σχήματα χρωματίνης και ενδοφασικούς μικροσωληνίσκους τυπικοί για ωοκύτταρα πρό-φασης Ι)
2. Μεταφάση Ι (ΜΙ, δηλαδή με άτρακτο μεταφάσης-Ι χωρίς πολικό σωμάτιο)
3. Ανάφαση I (AI, δηλαδή με άτρακτο και δύο ομάδες διαχωριστικών χρωμοσωμάτων και χωρίς ποικό σωμάτιο)
4. Τελόφαση Ι (ΤΙ, δηλαδή με άτρακτο τελοφάσης-Ι και δύο σαφώς διαχωρισμένα συσσωματώματα χρωμοσωμάτων, με ή χωρίς κυτταροπλασματικούς μικροσωληνίσκους)
5. Προ-μεταφάση II (ΡΜΙΙ, δηλαδή με ένα εξωθημένο πολικό σωμάτιο, μια όχι πλήρως συναρμολογημένη άτρακτο που είναι χαρακτηριστική της μεταφάσης και συμπυκνωμένα χρωμοσώματα διασκορπισμένα εντός της ατράκτου)
6. Μετάφαση ΙΙ (MII δηλαδή με μια μεμονωμένη άτρακτο με χρωμοσώματα και ένα εξωθημένο πολικό σωμάτιο) ([Machtinger, Combelles et al. 2013](#_ENREF_124)).

Τα ωοκύτταρα που παρουσιάζουν μη φυσιολογικές διαμορφώσεις έχουν τα εξής χαρακτηριστικά:

1. Τα ωοκύτταρα που παρουσιάζουν διάσπαση του βλαστικού κυστιδίου GV (GVBD) χωρίς ούτε ακέραιο βλαστικό κυστίδιο ούτε πολικό σωμάτιο, και με παρεκκλίνουσες μορφές συμπυκνωμένων χρωμοσωμάτων και μικροσωληνίσκων.
2. Τα ωοκύτταρα που δεν εμφάνισαν ούτε πολικό σωμάτιο ούτε άθικτο βλαστικό κυστίδιο, αλλά ενεργοποιήθηκαν με χρωματίνη χωρίς συμπύκνωση μαζί με την παρουσία πυκνής σειράς κυτταροπλασματικών μικροσωληνίσκων (Act - PB).
3. Τα ωοκύτταρα που διέθεταν εξώθηση ενός πολικού σωμάτιου και ενεργοποιήθηκαν, με αποσπασματική χρωματίνη που μοιάζει με προπυρήνα και πυκνή διάταξη κυτταροπλασματικών μικροσωληνίσκων (Act + PB).
4. Τα ωοκύτταρα που εκφυλίστηκαν (δηλαδή χωρίς ανιχνεύσιμα μικροϊνίδια ή μικροσωληνίσκοι και με εκφυλισμένη χρωματίνη)([Machtinger, Combelles et al. 2013](#_ENREF_124)).

An external file that holds a picture, illustration, etc.
Object name is det31201.jpg

**Εικόνα. Τρισδιάστατες εικόνες μικροσωληνίσκων (πράσινο) και χρωματίνης (κόκκινο) που παρουσιάζουν αντιπροσωπευτικά μειοτικά στάδια ωοκυττάρων μετά από καλλιέργεια. (Α) Βλαστικό κυστίδιο ωοκυττάρου, (B) Ανώμαλη κατανομή βλαστικού κυστιδίου, (C) Μεταφάση Ι, (D) Τελοφάση Ι, (Ε) Μεταφάση II,   
(F) Ενεργοποιημένο ωοκύτταρο με πολικό σωμάτιο.   
Ο αστερίσκος δείχνει το πολικό σωμάτιο. Το λευκό βέλος υποδεικνύει τη δομή που μοιάζει με προπυρήνα. Γραμμή κλίμακας: 10 μm.**([Machtinger, Combelles et al. 2013](#_ENREF_124))

Από την ημέρα της ωοληψίας η γυναίκα θα πρέπει να ξεκινήσει κατάλληλη υποστηρικτική αγωγή, η οποία περιλαμβάνει την χορήγηση προγεστερόνης από το στόμα 2 φορές ημερησίως και 400 mg ημερησίως σε μορφή κολπικού gel ή υπόθετων, με σκοπό την προετοιμασία του ενδομητρίου έτσι ώστε να δεχθεί το γονιμοποιημένο ωάριο και να επιτευχθεί η κύηση. Σε περίπτωση κύησης, η χορήγηση της προγεστερόνης θα πρέπει να συνεχιστεί μέχρι και την 10η εβδομάδα ([Zhang, Ata et al. 2010](#_ENREF_236)).

Η ωρίμανση των ωαρίων in vitro (IVM) μπορεί να χρησιμεύσει ως εναλλακτική λύση στη συμβατική θεραπεία IVF για γυναίκες που πάσχουν από σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών, σύνδρομο υπερδιέγερσης ωοθηκών ή επαναλαμβανόμενες αποτυχίες IVF, καθώς και σε περιπτώσεις τράπεζας ωοκυττάρων ή δωρεάς και συντήρησης γονιμότητας σε νέους ασθενείς. Τα γονιδιώματα του ωοκυττάρου και του σπερματοζωαρίου συμμετέχουν εξίσου στη δημιουργία του εμβρυονικού γονιδιώματος. Από τη στιγμή που το ωόπλασμα γίνεται το κυτταρόπλασμα του αναπτυσσόμενου εμβρύου, ενώ η κυτταροπλασματική συμβολή του σπερματοζωαρίου είναι ελάχιστη, η ποιότητα του ωοκυττάρου αποτελεί βασικό παράγοντα που καθορίζει την ποιότητα του αναπτυσσόμενου πρώιμου εμβρύου ([Levi, Ghetler et al. 2013](#_ENREF_121)). Τα τελευταία χρόνια,

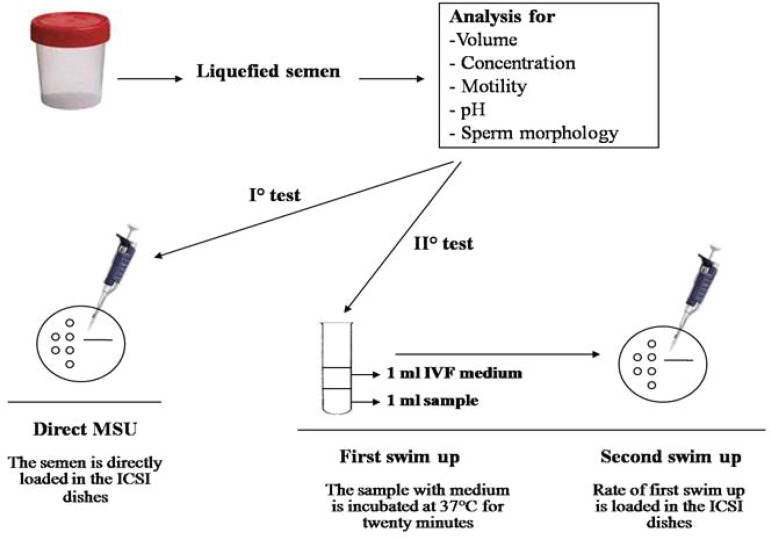
οι ενδείξεις επεκτάθηκαν σε όλες σχεδόν τις περιπτώσεις της υπογονιμότητας. Η IVM μπορεί να προσαρμοστεί ως επιλογή και οι επιπλέον πιθανές ενδείξεις της είναι οι εξής:

* Ασθενείς με νορμο-ωορρηξία
* Προηγούμενες αποτυχημένες προσπάθειες εξωσωματικής γονιμοποίησης
* Προβλήματα ωρίμανσης των ωαρίων
* Ασθενείς που έχουν υποβληθεί σε mTESE
* Ανάκτηση ωοκυττάρων έκτακτης ανάγκης λόγω κακοηθειών (όγκοι ευαίσθητοι σε οιστρογόνα)
* Ανάκτηση ωοκυττάρων από ωοθηκικούς ιστούς πριν από την υαλοποίηση
* Φτωχοί ανταποκριτές
* Για τη διάσωση των κύκλων IVF
* Ανθεκτικό σύνδρομο ωοθηκών
* Επαναλαμβανόμενη αποτυχία εμφύτευσης
* Προεμφυτευτική γενετική διάγνωση (PGD) / προεμφυτευτική γενετική εξέταση (PGS) ([Hatirnaz and Ata 2018](#_ENREF_84))

Η IVM μπορεί να έχει κάποια ανεπιθύμητα αποτελέσματα στις χρωμοσωμικές ευθυγραμμίσεις και τη δομή των ανώριμων ωοκυττάρων εντός του περιβάλλοντος καλλιέργειας. Σε μία μελέτη, ανιχνεύθηκαν 304 ωοκύτταρα από 101 γυναίκες και αξιολογήθηκαν με ανοσοϊστοχημική χρώση για άλφα τουμπουλίνη και χρωματίνη. Οι συγγραφείς κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι η συμπλήρωση του μέσου καλλιέργειας μπορεί να βελτιώσει την ταχύτητα ωρίμανσης αλλά δεν υποδεικνύει την παρουσία της δομής του ωοκυττάρου και της χρωμοσωμικής ευθυγράμμισης ([Hatirnaz and Ata 2018](#_ENREF_84)).

**3.8** Σπερμοληψία

Το σπέρμα συλλέγεται σε αποστειρωμένο δοχείο με αυνανισμό μετά από 3-5 ημέρες σεξουαλικής αποχής και κατόπιν διατηρείται για 30 λεπτά στους 37 ° C. Μετά την υγροποίηση, το δείγμα αναλύεται για τη συγκέντρωση, την κινητικότητα και τη μορφολογία του σπέρματος σύμφωνα με τα κριτήρια της Παγκόσμιας Οργάνωσης Υγείας (ΠΟΥ). Το δείγμα σπέρματος υποβάλλεται σε επεξεργασία με τη συμβατική μέθοδο swim-up. Εάν το δείγμα σπέρματος μετά από την παρασκευή έχει συνολικό αριθμό σπερματοζωαρίων (TMC) άνω των 2,0 × 106 με κινητικότητα σπέρματος (a + b)> 50% και μορφολογία > 5% των φυσιολογικών μορφών, το σπέρμα θεωρείται φυσιολογικό ([Xi, Zhu et al. 2012](#_ENREF_229)).

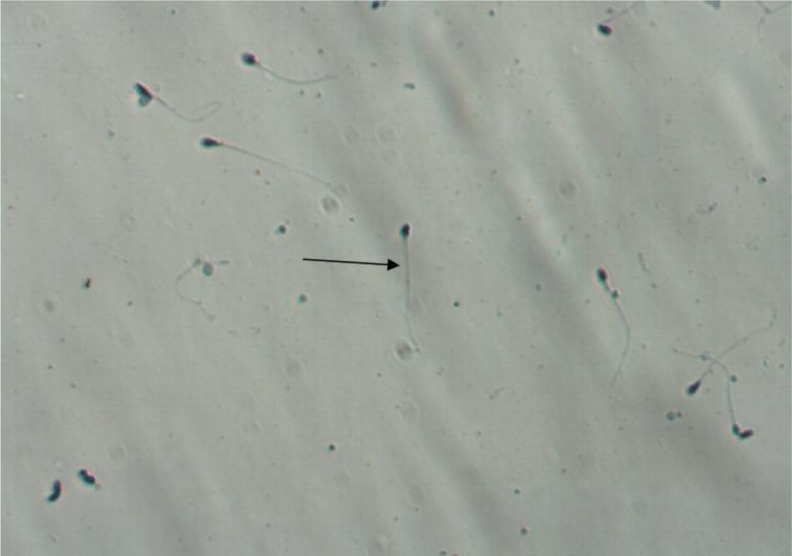


**Εικόνα. Διαδικασία τεχνικής swim up (**[**Palini, Primiterra et al. 2016**](#_ENREF_165)**)**

Μετά την ολοκλήρωση ή εντός 1 ώρας από την παραγωγή, εάν η υγροποίηση είναι ελλιπής, πραγματοποιείται μια αρχική αξιολόγηση των παραμέτρων του σπέρματος.

Όσον αφορά την άμεση τεχνική swim-up (DSU), 1 ml μέσου καλλιέργειας συμπληρωμένο με 10% αλβουμίνης ανθρώπινου ορού, στρωματοποιείται απαλά πάνω από το σπέρμα. Το σωληνάριο βρίσκεται σε κλίση κατά μια γωνία 45 ° και επωάζεται για 1 ώρα (37 °C, 6% CO2). Το υπερκείμενο μετά αναρροφάται και μεταφέρεται σε ένα κενό σωληνάριο. Όσον αφορά την τεχνική pellet swim-up (PSU), το δείγμα σπέρματος αραιώνεται σε αναλογία 1:2 (1+1) με το μέσο καλλιέργειας και φυγοκεντρείται για 10 λεπτά στις 1500 στροφές. Στη συνέχεια, το υπερκείμενο απορρίπτεται και 1 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας στρωματοποιείται πάνω στο δείγμα. Και πάλι, ο σωλήνας επωάζεται για 1 ώρα (37 °C, 6% CO2) και το υπερκείμενο αναρροφάται και μεταφέρεται σε ένα κενό σωληνάριο ([Volpes, Sammartano et al. 2016](#_ENREF_224)).

Όσον αφορά την τεχνική διαβάθμισης πυκνότητας (DG), το δείγμα σπέρματος στρωματοποιείται ήπια πάνω από τις ασυνεχείς βαθμίδες πυκνότητας (55% και 80%) και φυγοκεντρείται για 20 λεπτά στις 1500 στροφές. Στη συνέχεια, το 80% του κλάσματος αναρροφάται και τοποθετείται σε κενό αποστειρωμένο κωνικό σωληνάριο, έπειτα προστείθενται τουλάχιστον 3 ml καλλιεργητικού μέσου και το σωληνάριο φυγοκεντρείται για 10 λεπτά στις 1500 στροφές. Το δείγμα στη συνέχεια επαναιωρείται σε 0,5 ml του ίδιου νωπού μέσου καλλιέργειας. Τα σπερματοζωάρια που λαμβάνονται, χρησιμοποιούνται για την σπερματέγχυση των ωοκυττάρων ([Volpes, Sammartano et al. 2016](#_ENREF_224)).



**Εικόνα. Το μαύρο βέλος υποδεικνύει ένα μορφολογικά ανώμαλο κύτταρο σπερματοζωαρίων. (Μεγέθυνση, 400 ×) (**[**Xue, Wang et al. 2014**](#_ENREF_230)**)**

Στις πιο σοβαρές μορφές ανδρικής υπογονιμότητας, ο άντρας είναι εντελώς αζωοσπερμικός, ο οποίος ορίζεται όταν δεν υπάρχει σπέρμα στην ανάλυση σπέρματος ακόμη και μετά από φυγοκέντρηση σε δύο τουλάχιστον δείγματα με διάστημα συλλογής ενός μήνα. Η επίπτωση της αζωοσπερμίας εκτιμάται ότι είναι σε ποσοστό 1,9% στον γενικό πληθυσμό και το 15% των στείρων ανδρών ([Leung, Mira et al. 2014](#_ENREF_119)).

Με την εμφάνιση της ενδοκυτταροπλασματικής έγχυσης σπέρματος (ICSI), κατέστη δυνατή η προσφορά πατρότητας σε άνδρες οι οποίοι προηγουμένως δεν ήταν σε θέση να επιτύχουν βιολογική πατρότητα από μόνοι τους, δηλαδή άνδρες με μη αποφρακτική αζωοσπερμία. Επίσης κατέστη δυνατό να προσφέρουμε στους άνδρες με αποφρακτική αζωοσπερμία μια εναλλακτική οδό προς την πατρότητα εκτός από την μικροχειρουργική ανακατασκευή της αναπαραγωγικής οδού. Ως εκ τούτου, οι χειρουργικές τεχνικές ανάκτησης σπέρματος επέτρεψαν στην πλειοψηφία των αζωοσπερμικών ανδρών με αποφρακτική και μη αποφρακτική αζωοσπερμία ένα βιώσιμο και ελάχιστα επεμβατικό μέσο προς τη βιολογική πατρότητα. Ο στόχος όλων των τεχνικών ανάκτησης σπέρματος είναι η λήψη σπερματοζωαρίων που μπορούν να χρησιμοποιηθούν με τις τεχνικές υποβοηθούμενης αναπαραγωγής. Ο προσδιορισμός της διαδικασίας που είναι ιδανική για κάθε ασθενή οφείλεται σε διάφορους παράγοντες που περιλαμβάνουν την αιτία της αζωοσπερμίας, η διαθεσιμότητα ενός εξειδικευμένου μικροχειρουργού, το κόστος της διαδικασίας, η διαθεσιμότητα του χειρουργικού χώρου, ο συγχρονισμός με τον κύκλο γονιμοποίησης in vitro (IVF), ο αριθμός των επιθυμητών παιδιών, η απαιτούμενη απόδοση σπέρματος και η επιθυμία του ασθενούς. Ενώ η απόφαση να προχωρήσουμε σε χειρουργική ανάκτηση σπέρματος και υποβοηθούμενη αναπαραγωγή είναι πολύπλοκη, είναι σαφές ότι οι μικροχειρουργικές τεχνικές προσφέρουν τεράστιο όφελος έναντι των μη μικροχειρουργικών προσεγγίσεων στην ανάκτηση σπέρματος ([Leung, Mira et al. 2014](#_ENREF_119)).

Για σχεδόν όλους τους άνδρες με αποφρακτική αζωοσπερμία, οι επιλογές θεραπείας περιλαμβάνουν είτε μικροχειρουργική ανακατασκευή είτε χειρουργική ανάκτηση σπερματοζωαρίων σε συνδυασμό με IVF-ICSI. Σε γενικές γραμμές, ένα αποφραγμένο αναπαραγωγικό σύστημα έχει υψηλά επίπεδα παραγωγής σπέρματος. Το επιδιδυμικό υγρό που λαμβάνεται από ένα αποφραγμένο σύστημα θα έχει υψηλές αποδόσεις σπερματοζωαρίων μέχρι ενός εκατομμυρίου σπερματοζωαρίων ανά μικρολίτρο υγρού. Ενώ τα ποσοστά επιτυχίας του IVF-ICSI μεταξύ του σπέρματος των όρχεων και του επιδιδυμίου μπορεί να διαφέρουν στα κέντρα αναπαραγωγής, είναι αναμφισβήτητο ότι η εξαγωγή σπερματοζωαρίων από την επιδιδυμίδα μπορεί δυνητικά να οδηγήσει σε υψηλότερες αποδόσεις σπερματοζωαρίων. Ωστόσο, στο αποφραγμένο αναπαραγωγικό σύστημα ισχύει η έννοια της «ανεστραμμένης κινητικότητας» και σημαίνει ότι σπερματοζωάρια υψηλότερης ποιότητας βρίσκονται πιο κοντά στην αναπαραγωγική οδό από ό, τι σε απόσταση, όπου η δραστηριότητα των μακροφάγων είναι υψηλότερη και η ποιότητα του σπέρματος είναι χαμηλότερη. Ως εκ τούτου, η καλύτερη θέση για υψηλές αποδόσεις καλής ποιότητας σπέρματος είναι η εγγύς επιδιδυμίδα στο αποφραγμένο σύστημα ([Leung, Mira et al. 2014](#_ENREF_119)).

Στους άνδρες με μη αποφρακτική αζωοσπερμία, πριν από την εμφάνιση του IVF-ICSI, είχαν μόνο τις επιλογές χρήσης σπέρματος δότη ή υιοθεσίας, χωρίς εφικτή διαδρομή προς τη βιολογική πατρότητα. Ωστόσο, η εμφάνιση του ICSI επέτρεψε τη χρήση εξαιρετικά χαμηλού αριθμού σπερματοζωαρίων για να επιτρέψει τη βιολογική πατρότητα για αυτή την ομάδα των ασθενών,για έως και 15% των στείρων ανδρών. Με την ανακάλυψη ότι ο όρχις μπορεί να έχει ένα ετερογενές πρότυπο παραγωγής σπέρματος, κατέστη δυνατό να βρεθούν και να αφαιρεθούν μικροιστοτεμαχίδια όρχεων που παράγουν σπερματοζωάρια για χρήση σε συνδιασμό με τεχνικές υποβοηθούμενης αναπαραγωγής. Με την εισαγωγή τηε τεχνικής μικροδιάταξη mTESE, η οπτική μεγέθυνση επέτρεψε την εκλεκτική απομάκρυνση των σπερματοδόχων σωληναρίων με αποτέλεσμα την αύξηση των ποσοστών ανάκτησης σπέρματος με την λιγότερη εφικτή αφαίρεση ιστού από τους όρχεις ([Leung, Mira et al. 2014](#_ENREF_119)).

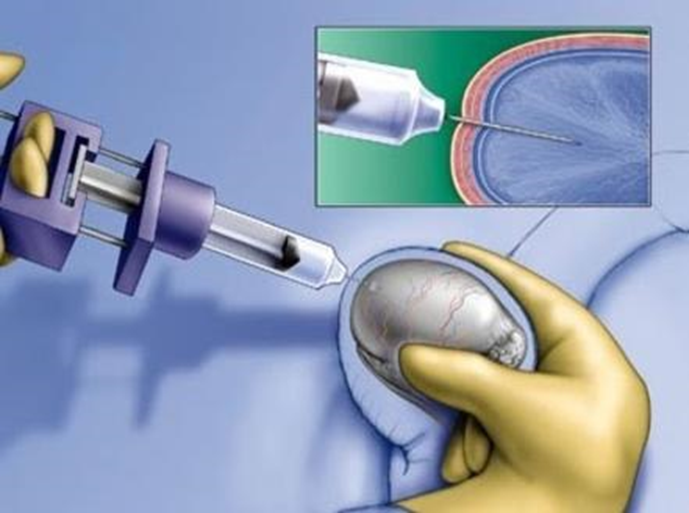
Υπάρχουν πολλές διαδερμικές τεχνικές που είναι διαθέσιμες για την ανάκτηση σπερματοζωαρίων, συμπεριλαμβανομένης της αναρρόφησης των όρχεων δια μέσου λεπτής βελόνας (TFNA), της υποδόριας επιδιδυμικής αναρρόφησης σπέρματος (PESA) και της διαδερμικής βιοψίας των όρχεων (PercBiopsy). Η ανοιχτή ανάκτηση σπέρματος από τους όρχεις είναι επίσης μια βιώσιμη επιλογή (ανεξάρτητα από το αν υπάρχει μονή ή πολλαπλή βιοψία). Όλες αυτές οι τεχνικές δεν απαιτούν μικροχειρουργική ικανότητα και οι περισσότερες μπορούν να πραγματοποιηθούν με τοπική αναισθησία ή με καταστολή IV (συνειδητή καταστολή). Με την εμφάνιση του ICSI, οι άνδρες με μη αποφρακτική αζωοσπερμία δεν εχουν μόνο τις επιλογές χρήσης σπέρματος δότη ή υιοθεσίας, αλλά η χρήση εξαιρετικά χαμηλού αριθμού σπερματοζωαρίων τους επιτρέπει πλεον τη βιολογική πατρότητα για έως και 15% των στείρων ανδρών. Με την ανακάλυψη ότι ο όρχις μπορεί να έχει ένα ετερογενές πρότυπο παραγωγής σπέρματος, κατέστη δυνατό να βρεθούν και να αφαιρεθούν μικρά τμήματα ιστού από τους όρχεις που παράγουν σπερματοζωάρια για χρήση στην υποβοηθούμενη αναπαραγωγή. Οι μέθοδοι που χρησιμοποιούνται επί του παρόντος για την ανάκτηση σπέρματος στη μη αποφρακτική αζωοσπερμία περιλαμβάνουν τις τεχνικές TFNA, TESE και mTESE. Με την εισαγωγή της mTESE, η οπτική μεγέθυνση επέτρεψε την εκλεκτική απομάκρυνση των σπερματοδόχων σωληναρίων με αποτέλεσμα την αύξηση των ποσοστών ανάκτησης σπέρματος με την αφαίρεση των ορχικών ιστών (9,4 έναντι 720 mg) σε σύγκριση με την συμβατική ή πολυεπίπεδη TESE ([Leung, Mira et al. 2014](#_ENREF_119)).

**Πίνακας. Πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα των διαφόρων τεχνικών ανάκτησης σπέρματος (**[**Leung, Mira et al. 2014**](#_ENREF_119)**)**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Τεχνική** | **Πλεονεκτήματα** | **Μειονεκτήματα** |
| **MESA**  (Μικροχειρουργική επιδιδυμική αναρρόφηση σπέρματος) | • Μεγάλος αριθμός σπερματοζωαρίων σε μία διαδικασία  • Μικρή επιμόλυνση με αίμα | • Απαιτεί μικροχειρουργικές δεξιότητες  • Είναι καλύτερα να γίνεται υπό περιφερειακή ή γενική αναισθησία  • Υψηλό κόστος για τον ασθενή |
| **PESA**  (Διαδερμική επιδιδυμική αναρρόφηση σπέρματος) | • Δεν απαιτεί μικροχειρουργικές δεξιότητες  • Γρήγορη  • Ελάχιστα επεμβατική | • Μερικές φορές χαμηλή απόδοση σπέρματος  • Λιγότερο αξιόπιστη ανάκτηση  • Πιθανή βλάβη της ορχικής αρτηρίας  • Επιδιδυμική βλάβη  • Χαμηλές πιθανότητες επιτυχίας στη δεύτερη προσπάθεια |
| **TESE**  (Εκχύλιση ορχικού σπέρματος) | • Δεν απαιτεί μικροχειρουργικές δεξιότητες  • Αξιόπιστη ανάκτηση σπέρματος | • Περισσότερο επεμβατική από τις διαδερμικές διαδικασίες  • Αφαίρεση του ορχικού παρεγχύματος  • Πιθανότητα αιματώματος των όρχεων |
| **TFNA**  (Παρακέντηση όρχεων με λεπτή βελόνα) | • Δεν απαιτεί μικροχειρουργικές δεξιότητες  • Γρήγορη  • Ελάχιστα επεμβατική | • Σε μοντέλα ζώων παρουσιάζεται διάχυτη ίνωση στους όρχεις  • Πολύ χαμηλή απόδοση σπέρματος  • Αποδόσεις ανεπαρκείς για κρυοσυντήρηση |

* **Μικροχειρουργική επιδιδυμική αναρρόφηση σπέρματος (MESA)**

Η MESA είναι μια μικροχειρουργική διαδικασία στην οποία απομονώνονται μεμονωμένα επιδιδυμικά σωληνάρια με τη χρήση χειρουργικού μικροσκοπίου, γυάλινης μικροπιπέτας, και διάφορα μικροχειρουργικά όργανα όπως οφθαλμικό μικρονυστέρι. Είναι η προτιμώμενη προσέγγιση για την ανάκτηση σπέρματος σε ασθενείς με αποφρακτική αζωοσπερμία. Από όλες τις τεχνικές χειρουργικής ανάκτησης σπέρματος, αποδίδει τον μεγαλύτερο αριθμό σπερματοζωαρίων με αποδόσεις κυμαινόμενες από 15-99 εκατομμύρια σπερματοζωάρια. Η τεχνική MESA παρέχει μια επαρκή ποσότητα κινητικών σπερματοζωαρίων ώστε να επιτευχθεί αποτελεσματικά η διαδικασία της κρυοσυντήρησης. Επιπλέον, με την άμεση μικροχειρουργική απεικόνιση της επιδιδυμίδας και των θέσεων διάτρησης της, επιτρέπει την ελάχιστη μόλυνση των δειγμάτων με αίμα (το οποίο είναι τοξικό για το σπέρμα) και μειώνει τον κίνδυνο άλλων καταστροφών στην επιδιδυμίδα και την παροχή αίματος στους όρχεις. Η MESA απαιτεί τη χρήση γενικής αναισθησίας ή τουλάχιστον περιφερειακής αναισθησίας με IV καταστολή καθώς και εκπαιδευμένου μικροχειρουργού ([Leung, Mira et al. 2014](#_ENREF_119)).



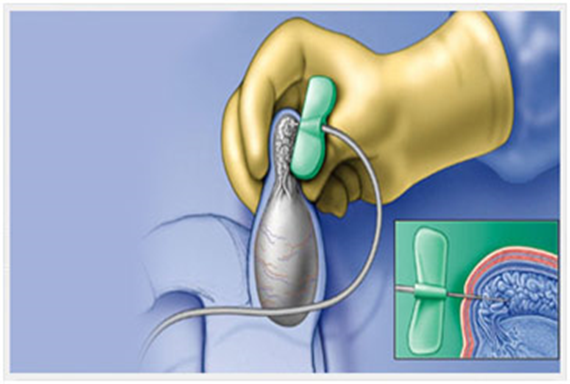
**Εικόνα. Η τεχνική MESA**

*(http://www.fsivf.in/wp-content/uploads/2017/02/mesa.jpg)*

* **Διαδερμική επιδιδυμική αναρρόφηση σπέρματος (PESA)**

Η τεχνική PESA είναι μια διαδικασία που δεν απαιτεί μικροχειρουργική ικανότητα και μπορεί να γίνει με τοπική αναισθησία για την ανάκτηση σπέρματος. Μία βελόνα πεταλούδας προπλένεται με μέσα έκπλυσης σπέρματος και προσαρτάται σε μια σύριγγα η οποία περιέχει μικρό όγκο μέσων έκπλυσης. Το κεφάλι της επιδιδυμίδας σταθεροποιείται μεταξύ του αντίχειρα και του δείκτη και η βελόνα πεταλούδας εισάγεται κατά μήκος του μακριού άξονα της επιδιδυμίδας όχι περισσότερο από το ένα τρίτο της διαδρομής προς τα κάτω. Στη συνέχεια, η βελόνα αποσύρεται αργά με αρνητική πίεση μέχρις ότου εμφανιστεί γαλακτώδες λευκό υγρό στο σωληνάκι της βελόνας , οπότε η σωλήνωση συσφίγγεται με έναν αιμοστάτη και το σύστημα ξεπλένεται έπειτα σε ένα σωληνάριο συλλογής. Μπορούν να πραγματοποιηθούν πολλαπλές διελεύσεις μέχρι να επιτευχθεί μια επαρκής απόδοση σπέρματος ([Leung, Mira et al. 2014](#_ENREF_119)).

Τα οφέλη της τεχνικής PESA περιλαμβάνουν το υψηλό ποσοστό επιτυχίας του στην απόκτηση σπερματοζωαρίων, με 84% ποσοστό επιτυχίας στη λήψη κινητικών σπερματοζωαρίων. Επιπλέον, η PESA είναι σχετικά απλή διαδικασία, δεν απαιτεί μικροχειρουργική κατάρτιση και μπορεί να γίνει με τοπική αναισθησία. Ωστόσο, οι αρνητικές πτυχές της διαδικασίας περιλαμβάνουν την ανησυχία ότι η διαδικασία μπορεί να προκαλέσει εκτεταμένη επιδιδυμική ίνωση, καθιστώντας τις μελλοντικές απόπειρες για έρευνα της PESA πιο δύσκολες και αποκλείοντας οποιαδήποτε πιθανότητα μικροχειρουργικής ανασυγκρότησης στο μέλλον. Άλλα μειονεκτήματα περιλαμβάνουν την τυφλή φύση της διαδικασίας, τη μεταβλητή απόδοση σπέρματος και τη δυσκολία διαχείρισης τέτοιων μικρών δειγμάτων με βελόνες πεταλούδας και σωλήνες IV. Επίσης, τα δείγματα μπορούν εύκολα να μολυνθούν με αίμα, δεδομένης της τυφλής φύσης της διαδικασίας, η οποία μπορεί να επηρεάσει αρνητικά την ποιότητα του σπέρματος. Τέλος, καθώς η παροχή αίματος των όρχεων διέρχεται από την επιδιδυμία στην περιοχή αυτή, υπάρχει επίσης ο κίνδυνος ακούσιας βλάβης στην παροχή αίματος από την τυφλά τοποθετημένη βελόνα πεταλούδας. Συνολικά, αν και απλή και όχι χωρίς οφέλη, η μεταβλητότητα της απόδοσης των σπερματοζωαρίων, η πιθανότητα μόλυνσης του δείγματος με αίμα και ο κίνδυνος βλάβης στην παροχή αίματος στους όρχεις καθιστούν την τεχνική PESA μια διαδικασία με σημαντικό κίνδυνο ([Leung, Mira et al. 2014](#_ENREF_119)).



**Εικόνα. Η τεχνική ΡESA**

*(*[*http://www.careivfdhaka.com/images/tesa-pesa-2.jpg*](http://www.careivfdhaka.com/images/tesa-pesa-2.jpg)*)*

* **Εκχύλιση σπέρματος όρχεων (TESE)**

Η συμβατική μέθοδος TESE μπορεί να πραγματοποιηθεί στο πλαίσιο της αποφρακτικής αζωοσπερμίας. Αυτή η τεχνική παρέχει αρκετά πλεονεκτήματα. Υπό ιδανικές συνθήκες και σε έναν ασθενή με μια σοβαρή αποφρακτική αζωοσπερμία, υπάρχει η προσδοκία για ποσοστό ανάκτησης σπέρματος σχεδόν 100%. Δεν απαιτεί μικροχειρουργικές δεξιότητες και η διαδικασία μπορεί να πραγματοποιηθεί γρήγορα και άνετα υπό τοπική αναισθησία στο γραφείο του χειρουργού. Η μέθοδος βασίζεται στην κατασκευή ενός μικρού παράθυρου στο δέρμα του όσχεου χρησιμοποιώντας τεχνικές χωρίς νυστέρι έως ότου φτάσουμε στην περιοχή tunica vaginalis (πρόκειται για την μεμβρανική κάλυψη των όρχεων σε όλη την επιφάνεια εκτός από την οπίσθια περιοχή), και αφού την σταθεροποιήσει ο ιατρός, μέσω μιας μικρής τομής με ένα νυστέρι, συλλέγεται μια μικρή ποσότητα ιστού όρχεων ([Leung, Mira et al. 2014](#_ENREF_119)).

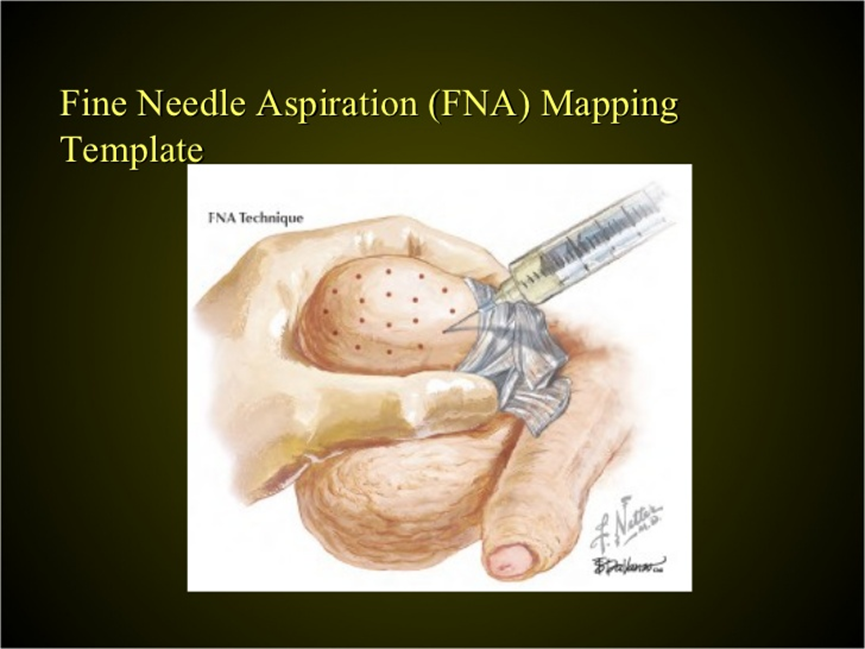


**Εικόνα. Η τεχνική ΤESΕ**

*(https://image.slidesharecdn.com/cf-sexuality-stanford-7-12-120816144546-phpapp02/95/men-with-cystic-fibrosis-are-having-children-26-728.jpg?cb=1345128716)*

* **Παρακέντηση των όρχεων δια μέσου λεπτής βελόνας (TFNA)**

Από τις διαδερμικές τεχνικές ανάκτησης σπέρματος, το TFNA είναι η ελάχιστα επεμβατική τεχνική αλλά αποδίδει το χαμηλότερο αριθμό σπερματοζωαρίων. Η τοπική αναισθησία εφαρμόζεται στο ορχικό δέρμα. Ο χειρουργός χρησιμοποιεί τον αντίχειρα και το δείκτη του για να σταθεροποιήσει τους όρχεις πριν εισάγει τη βελόνα κατά μήκος του μακριού άξονα. Τα σπερματικά σωληνάρια πρέπει να διαταράσσονται για να αποκτήσουν σπέρμα σε αυτή την τεχνική. Επομένως, η βελόνα αποσύρεται επανειλημμένα ελαφρώς και επαναπροσανατολίζεται μέχρις ότου αναρροφάται υλικό από τους όρχεις. Μια υποδοχή βελόνας Franzen μπορεί να χρησιμοποιηθεί για να παρέχει αρνητική πίεση για την αναρρόφηση. Ωστόσο, δεν προτιμούμε αυτήν την προσέγγιση λόγω της χαμηλής απόδοσης σπερματοζωαρίων και της πιθανότητας προοδευτικής βλάβης των όρχεων που προκαλείται από την TFNA ([Leung, Mira et al. 2014](#_ENREF_119)).



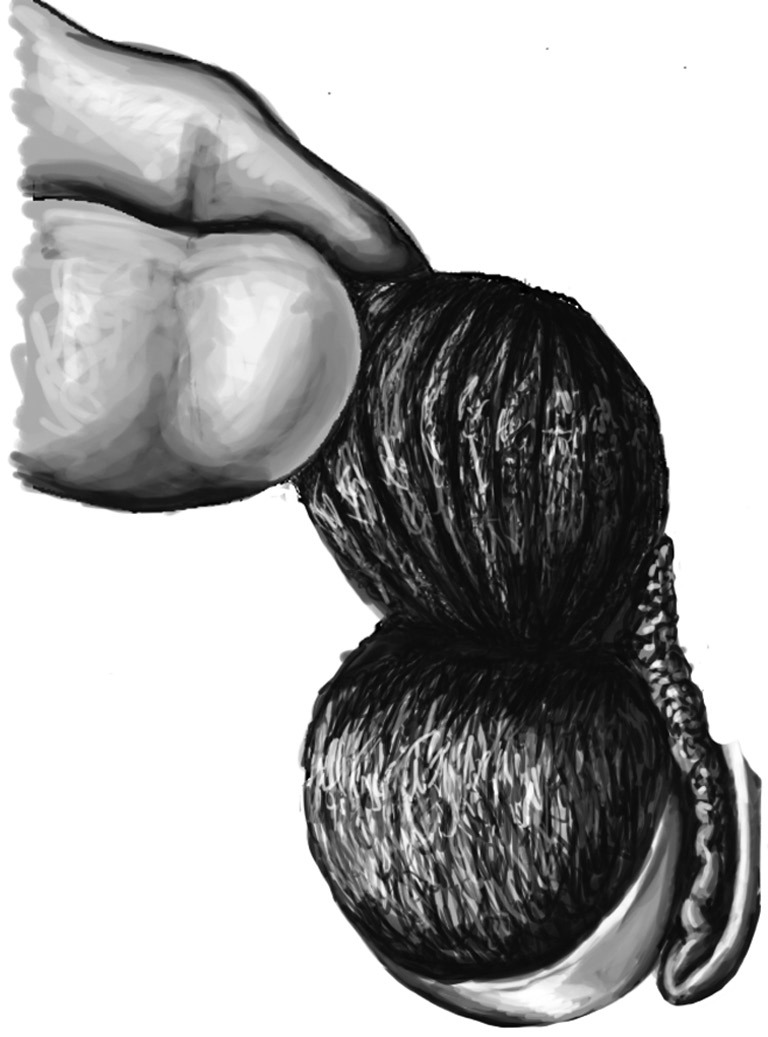
**Εικόνα. Η τεχνική TFNA**

*(https://image.slidesharecdn.com/cf-sexuality-stanford-7-12-120816144546-phpapp02/95/men-with-cystic-fibrosis-are-having-children-33-728.jpg?cb=1345128716)*

* **Διαδερμική βιοψία όρχεων με τη χρήση βελόνας (Percbiopsy)**

Μια άλλη επιλογή για τη διαδερμική ανάκτηση σπέρματος είναι η χρήση μιας ειδικής μεγαλύτερης βελόνας για βιοψία των όρχεων. Αυτή είναι μια βελόνα 14 διαμέτρου που συνήθως εξάγει μεγαλύτερο αριθμό σπερματοζωαρίων. Μπορεί να πραγματοποιηθεί με τοπική αναισθησία. Με αυτή τη μέθοδο πολλαπλές βιοψίες μπορούν να ληφθούν από μία θέση εισόδου. Οι διαδερμικές βιοψίες βελόνας δίνουν υψηλότερο αριθμό σπερματοζωαρίων από την τεχνική TFNA, αλλά λιγότερο και χαμηλότερης ποιότητας από την τεχνική (MESA). Παρόμοια με όλες τις διαδερμικές διαδικασίες, αυτή είναι μια τυφλή διαδικασία και η πιθανότητα ενός αιματώματος μετά τη διαδικασία δεν θεωρείται ασήμαντη, δεδομένης της μεγαλύτερης διαμέτρου των χρησιμοποιούμενων βελόνων βιοψίας. Τέλος, τα μικρά δείγματα ιστών των όρχεων είναι δύσκολα στη διαχείριση και συχνά απαιτείται ένας επιπλέον βοηθός για την αναρρόφηση του δείγματος και την προετοιμασία της βελόνας, καθώς ο χειρουργός σταθεροποιεί τον όρχι για να χρησιμοποιήσει την ίδια θέση εισόδου για περισσότερες βιοψίες ([Leung, Mira et al. 2014](#_ENREF_119)).

* + **Εκχύλιση σπέρματος όρχεων με μικροτομή (mTESE)**

 Ο κίνδυνος τραυματισμού των όρχεων σε συνδυασμό με τη χαμηλή συλλογή σπερματοζωαρίων οδήγησε στην ανάπτυξη της τεχνικής mTESE. Περιλαμβάνει τη χρήση λειτουργικού μικροσκοπίου για την ανίχνευση σπερματοζωαρίων που είναι πιο πιθανό να μπουν στη διαδικασία της σπερματογένεσης. Έχουν αρχικά επιλεγεί οι όρχεις με μεγαλύτερο όγκο ή αυτοί που διαθέτουν καλύτερης ποιότητας σπερματοζωάρια που παρατηρήθηκαν σε βιοψία (αν είχε πραγματοποιηθεί προηγούμενη βιοψία).Ο χειρούργος έπειτα από μικροχειρουργικές διατομές κατά μήκος των λοβών του όρχεος, διαχωρίζει και εξετάζει άμεσα κάθε σπερματοδόχο σωληνάριο για την πιθανότητα παραγωγής σπερματοζωαρίων ([Leung, Mira et al. 2014](#_ENREF_119)).

**Εικόνα. Η τεχνική mTESE**

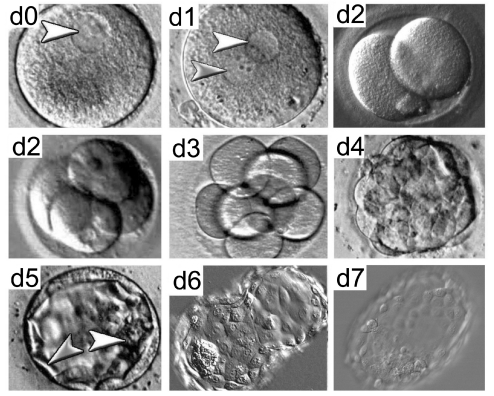
*(https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4708305/bin/tau-  
 03-01-094-f1.jpg<)*

**3.9** Γονιμοποίηση και Προεμφυτευτική Ανάπτυξη Εμβρύων

Πριν από τη γονιμοποίηση, τα ωοκύτταρα αξιολογούνται με στερεομικροσκόπιο και μόνο τα ώριμα ωοκύτταρα με ομοιόμορφο κυτταρόπλασμα και άθικτη τη ζώνη pellucida (ΖΡ) υποβάλλονται σε διαδικασία γονιμοποίησης. Τα ωοκύτταρα στα οποία οι μεμβράνες κυτταροπλάσματος έχουν λυθεί, θεωρούνται εκφυλισμένα και απορρίπτονται([Casillas, Betancourt et al. 2018](#_ENREF_36)) .

Στη συμβατική γονιμοποίηση, τα ωοκύτταρα επωάζονται σε μέσο καλλιέργειας και δεν πραγματοποιείται καμία άλλη παρέμβαση. Τα σπερματοζωάρια (5×104–10×104 κινητικά σπερματοζωάρια μέσα στο τρυβλίο) διαβρώνουν από μόνα τους τις κοκκιώδεις στοιβάδες, συναντούν το ωάριο, προσκολλώνται στη διαφανή ζώνη και τότε ένα από αυτά διεισδύει μέσα του και το γονιμοποιεί, περίπου 3-4 ώρες μετά την ανάκτηση. Τρεις ώρες αργότερα, τα κύτταρα corona, που βρίσκονται γύρω από τη ζώνη pellucida, αφαιρούνται για να εκτιμηθεί η γονιμοποίηση. Εάν δεν υπάρχει κανένα σημάδι γονιμοποίησης (δηλαδή δεν εμφανίζεται δεύτερο πολικό σωμάτιο 6 ώρες μετά τη σπερματέγχυση), τότε μπορεί να πραγματοποιηθεί η τεχνική της ICSI διάσωσης έπειτα από τη συγκατάθεση του ασθενούς ([Xi, Zhu et al. 2012](#_ENREF_229)).

Κατά τη διάρκεια της γονιμοποίησης, το ώριμο ωοκύτταρο ενεργοποιείται για να εμπλακεί στην ανάπτυξη του εμβρύου. Με την ενεργοποίηση των ωοκυττάρων συνεπάγεται ένα πλήθος μοριακών μεταβολών. Γενικά, ενεργοποιείται από τη δέσμευση του αρσενικού γαμέτη στην κυτταρική μεμβράνη του ωοκυττάρου με αποτέλεσμα την ενδοκυτταρική έκλυση Ca2+ μέσα στο κυτταρόπλασμα κατά τη διάρκεια της γονιμοποίησης. Η αρχική αύξηση του ελεύθερου κυτταροπλασματικού Ca2+ ξεκινά από τη θέση της διείσδυσης του σπερματοζωαρίου και επεκτείνεται σαν κύμα μέσα στο ωοκύτταρο. Μία θεωρούμενη φωσφολιπάση που μεταφέρεται μέσω της κεφαλής του σπερματοζωαρίου, καταλύει την υδρόλυση της PIP2 (4,5 διφωσφορική φωσφατιδυλινοσιτάλη) στην μεμβράνη του πλάσματος που απελευθερώνει την IP3 (1,4,5 τριφωσφορική ινοσιτόλη) και την DAG (διακυλγλυκερόλη). Η IP3συνδέεται με τον υποδοχέα που υπάρχει στη μεμβράνη του ενδοπλασματικού δικτύου και προκαλεί τη ροή του Ca2+ στο κυτταρόπλασμα που απαιτείται για την ενεργοποίηση του ωοκυττάρου. Η διαφανής ζώνη και η κυτταρική μεμβράνη αλλάζουν με στόχο να εμποδίζεται η είσοδος άλλων σπερματοζωαρίων. Ακόμη, το ωάριο (πλέον δευτερογενές ωοκύτταρο) συμπληρώνει την δεύτερη μειωτική διαίρεση και εκβάλλει το δεύτερο πολικό σωμάτιο. Το ωάριο αυτό πια είναι εντελώς ώριμο και ο πυρήνας του ονομάζεται «θηλυκός προπυρήνας». Η κεφαλή του σπερματοζωαρίου μεγεθύνεται και ονομάζεται «αρσενικός προπυρήνας» ενώ η ουρά του εκφυλίζεται ([Neri, Lee et al. 2014](#_ENREF_143)).



**Εικόνα. Στάδια ανάπτυξης ανθρώπινου εμβρύου προ της εμφύτευσης.**

Εικόνες αντίθεσης φάσης ανάπτυξης ανθρώπινου εμβρύου από την ημέρα 0 έως την ημέρα 7. Μετά τη γονιμοποίηση, τα έμβρυα υποβάλλονται σε μια σειρά μιτωτικών κυτταρικών διαιρέσεων. Τα βέλη στις εικόνες d0 και d1 δείχνουν τους προπυρήνες. Περίπου την ημέρα 4, το έμβρυο συμπιέζεται, με αποτέλεσμα το σχηματισμό ενός κυτταρικού μορίου που αποτελείται από κύτταρα (ή βλαστομερή) σε ένα συμπαγές σύμπλεγμα που περιέχεται στη ζώνη pellucida. Η βλαστοκύστη, η οποία σχηματίζεται την 5η ημέρα, είναι μια δομή γεμάτη με υγρό που αποτελείται από μια εσωτερική κυτταρική μάζα (άσπρο βέλος) και το τροφοεκτόδερμα (γκρίζο βέλος). Την ημέρα 6, η βλαστοκύστη «εκκολάπτεται» από την ζώνη pellucida και είναι έτοιμη να εμφυτευθεί στο τοίχωμα της μήτρας την ημέρα 7 ([Niakan, Han et al. 2012](#_ENREF_144)).

Ανάπτυξη: Η προ-εμφυτευτική εμβρυϊκή ανάπτυξη μπορεί να κατηγοριοποιηθεί σε τρεις φάσεις βάσει μελετών γονιδιακής έκφρασης. Η φάση Ι, από τη γονιμοποίηση έως το στάδιο των 2 κυττάρων, είναι η περίοδος ενεργοποίησης του ζυγωτικού γονιδιώματος (ZGA). Η φάση II, από το στάδιο των 4 κυττάρων σε 8 κυττάρων, είναι η φάση της ενεργοποίησης του μέσου προεμφυτευτικού γονιδίου. Η φάση ΙΙΙ, από το στάδιο των 8 κυττάρων σε βλαστοκύστη, είναι η περίοδος κυτταρικής διαφοροποίησης που παράγει κυρίως τις κυτταρικές σειρές της εσωτερικής κυτταρικής μάζας (ICM) και του τροφοεκτοδέρματος (ΤΕ)([Chason, Csokmay et al. 2011](#_ENREF_38)) .

Μεταβολισμός: Το πυροσταφυλικό είναι το προτιμώμενο υπόστρωμα στις Φάσεις Ι και ΙΙ, με την πρόσληψη γλυκόζης να αυξάνεται σταδιακά και να ξεπερνά το πυροσταφυλικό κατά τη Φάση ΙΙΙ, παράλληλα με την αύξηση της δραστικότητας των γλυκολυτικών οδών. Ο φυσιολογικός σχηματισμός του ζυγώτου (2PN) συνοδεύεται από συγκεκριμένες διαδοχικές αλλαγές στη μιτοχονδριακή κατανομή. Η κατανάλωση οξυγόνου, ένας βιώσιμος δείκτης για τη μεταβολική δραστηριότητα, αυξάνεται σημαντικά στη Φάση ΙΙΙ ([Chason, Csokmay et al. 2011](#_ENREF_38)).

Επιγενετική: Η DNA μεθυλτρανσφεράση 1 (Dnmt1) στοχεύει το ημιμεθυλιωμένο DNA και διατηρεί τα αποτυπώματα κατά την αναπαραγωγή του DNA. Το πατρικό γονιδίωμα είναι ενεργά απομεθυλιωμένο ακολουθούμενο από την παθητική απομεθυλίωση του γονιδιώματος της μητέρας. Η αρχική μεθυλίωση αρχίζει στη φάση του morula και συμπίπτει με την έναρξη της κυτταρικής διαφοροποίησης. Οι πυρηνικές πρωταμίνες του σπέρματος αντικαθίστανται διαδοχικά από ακετυλιωμένες ιστόνες και στη συνέχεια από μονομεθυλιωμένες ιστόνες και έπειτα από δι- και τριμεθυλιωμένες ιστόνες (H3K4me3, H3K9me2, H3K27me2 / 3). Εν τω μεταξύ, οι μητρικές προπυρηνικές ιστόνες τροποποιούνται μέσω ακετυλίωσης και μεθυλίωσης ταυτόχρονα. Η συνδετική πρωτεϊνική ιστόνη Η1 μειώνεται στα στάδια διάσπασης που πιθανόν οφείλεται στο ZGA, ενώ η έκφραση της μάκροH2A, ενός συστατικού της ετεροχρωματίνης του ανενεργού χρωμοσώματος Χ, αυξάνεται στα τελευταία στάδια της προεμφυτευτικής ανάπτυξης. Η ιστόνη δυακετυλάση 1 (HDAC1) εμφανίζεται μετά τη γονιμοποίηση και είναι ζωτικής σημασίας για την ανάπτυξη πριν από την εμφύτευση. Η έκφραση της ERG-συσχετιζόμενης πρωτεΐνης με την περιοχή SET (ESET), ένα ένζυμο ιστονικής μεθυλοτρανσφεράσης, καταστέλλει την CDX2 και είναι ζωτικής σημασίας για την πολυδύναμη ικανότητα του ICM. Η JmJD2C, μία ιστόνη δυμεθυλάση που απαιτείται για την ανάπτυξη του εμβρύου, εμφανίζεται στο στάδιο 2 κυττάρων και κορυφώνεται στο στάδιο 8 κυττάρων και εμπλέκεται στη NANOG ρύθμιση ([Chason, Csokmay et al. 2011](#_ENREF_38)).

Στην υποβοηθούμενη αναπαραγωγή, η επιλογή των εμβρύων που έχουν την δυνατότητα εμφύτευσης είναι απαραίτητη για την επιτυχή εμφύτευση. Η μεταφορά των εμβρύων στο στάδιο της βλαστοκύστης βοηθά τον εμβρυολόγο σε αυτή τη διαδικασία επιλογής επειδή τα μη βιώσιμα έμβρυα και κάποια έμβρυα που φέρουν χρωμοσωμικές ανωμαλίες μπορούν να εξαλειφθούν κατά τη διάρκεια της καλλιέργειας . Η μεταφορά στο στάδιο της βλαστοκύστης είναι πιο φυσιολογική επειδή το ενδομήτριο συγχρονίζεται με το αναπτυξιακό στάδιο του εμβρύου. Επιπλέον, για να εκτιμηθεί η πραγματική βιωσιμότητα ενός εμβρύου (δηλαδή η ενεργοποίηση του μεταγεννητικού γονιδιώματος), το έμβρυο πρέπει να καλλιεργηθεί εως το στάδιο της βλαστοκύστης. Ωστόσο, δεν είναι όλα τα έμβρυα σταδίου διάσπασης που φτάνουν στο στάδιο των βλαστοκυττάρων εξίσου ικανά ή εμφυτεύσιμα ([Balaban, Yakin et al. 2006](#_ENREF_19)).

Ο βαθμός βλαστοκύστης συνδέεται στενά με την επιτυχία της μεταφοράς των βλαστοκύστεων, οι βλαστοκύστες καλής ποιότητας οδηγούν σε υψηλότερους ρυθμούς εμφύτευσης σε σύγκριση με βλαστοκύστες κακής ποιότητας ([Balaban, Yakin et al. 2006](#_ENREF_19)).

Έχουν προταθεί πολυάριθμοι μορφολογικοί ή βιοχημικοί δείκτες για την επιλογή βλαστοκύστεων για μεταφορά. Τα συστήματα μορφολογικής ταξινόμησης λαμβάνουν υπόψη τη διόγκωση της κοιλότητας της βλαστοκύστης, τα χαρακτηριστικά της εσωτερικής κυτταρικής μάζας και του τροφεκτοδέρματος. Τα δύο διαφορετικά συστήματα που έχουν αξιολογηθεί ως προς την ικανότητά τους να προβλέπουν την επιτυχία της εμφύτευσης βλαστοκυττάρων είναι τα συστήματα βαθμολόγησης Dokras και Gardner. Και τα δύο συστήματα βασίζονται στη μορφολογική αξιολόγηση της εσωτερικής κυτταρικής μάζας και της κοιλότητας της βλαστοκύστης ([Balaban, Yakin et al. 2006](#_ENREF_19))

Τα βασικά μορφολογικά χαρακτηριστικά που σχετίζονται με τη βιωσιμότητα του εμβρύου είναι:

1. Αριθμός κυττάρων και βαθμός συμμετρίας: εάν όλα τα κύτταρα είναι παρόμοια σε μέγεθος και υπάρχει ένας κατάλληλος αριθμός κυττάρων, αυτό δείχνει ότι το έμβρυο έχει καλή πιθανότητα να είναι βιώσιμο.
2. Κατακερματισμός των κυττάρων: ένα χαμηλό ποσοστό όγκου εμβρύου που αποτελείται από θραύσματα κυττάρων είναι ένας δείκτης υψηλής βιωσιμότητας, ενώ ένα έμβρυο που περιέχει πολλά θραύσματα κυττάρων θεωρείται ότι έχει μειωμένο δυναμικό.
3. Χαρακτηριστικά της ζώνης pellucida (ZP): τα έμβρυα με λεπτότερη ZP και μεγαλύτερη μεταβολή στο πάχος της ZP έχουν μεγαλύτερη πιθανότητα να προκαλέσουν εγκυμοσύνη ([Filho, Noble et al. 2010](#_ENREF_66)).

Το πάχος της ZP είναι ένας αξιόπιστος δείκτης του ποσοστού επιτυχίας της εξωσωματικής γονιμοποίησης και μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως κριτήριο επιλογής εμβρύου. Στις περισσότερες περιπτώσεις, η μεταβολή του πάχους ZP μετράται σε τρία σημεία και χρησιμοποιούνται οι ακόλουθες εξισώσεις:

ZPTmean= (ΖΤΡ1+ΖΤΡ2+ΖΤΡ3) και ZPTV= ZPTmax-ZPT mean x100%

3 ZPT mean

όπου: ZPTn (n = 1, 2, 3) είναι το πάχος της ζώνης Pellucida στο σημείο n, ZPTV είναι η μεταβολή του πάχους της ζώνης Pellucida, ZPTmax είναι το μέγιστο πάχος της ζώνης Pellucida, ZPTmean είναι το μέσο πάχος της ζώνης Pellucida ([Filho, Noble et al. 2010](#_ENREF_66)).

Η μέτρηση της ZP είναι καλά τεκμηριωμένη και μπορεί να χρησιμοποιηθεί για να επιλεγούν έμβρυα για μεταφορά στις ημέρες 2 και 3 μετά τη γονιμοποίηση όταν η ZP είναι πλέον εμφανής και μπορεί εύκολα να απεικονιστεί και να μετρηθεί. Το πάχος της ΖΡ αντιστρόφως συσχετίζεται με τη βιωσιμότητα του εμβρύου. Αυτό το κριτήριο φαίνεται επίσης να είναι ιδιαίτερα σημαντικό σε περιπτώσεις όπου μόνο υποβέλτιστα έμβρυα μορφολογίας είναι διαθέσιμα για μεταφορά. Μπορεί επίσης να είναι χρήσιμο να εντοπίζονται περιπτώσεις όπου τα έμβρυα μπορούν να επωφεληθούν από την υποβοηθούμενη εκκόλαψη. Η εκκόλαψη εμφανίζεται συνήθως φυσιολογικά την ημέρα 5 ή τη μέρα 6 μετά τη γονιμοποίηση, αλλά μπορεί να παρεμποδιστεί εάν η ZP είναι πολύ παχιά ή σκληρή. Τα βιώσιμα έμβρυα τείνουν να έχουν ποικιλία μικρότερης και υψηλότερης ZP ([Filho, Noble et al. 2010](#_ENREF_66)).

Επίσης η ανάλυση των προπυρήνων μπορεί να αξιολογηθεί για την ταξινόμηση των εμβρύων με βάση την μορφολογία. Οι προπυρήνες, είναι σφαιρικά σώματα που εμφανίζονται στο κυτταρόπλασμα του γονιμοποιημένου ωοκυττάρου μετά τη σπερματέγχυση. Η φυσιολογική γονιμοποίηση έχει ως αποτέλεσμα τη δημιουργία δύο προπυρήνων, η μία που περιέχει τη γενετική συμβολή του σπέρματος, και η άλλη που προέρχεται από το ωοκύτταρο. Η εκτίμηση του εμβρύου γίνεται σε 16-18 ώρες μετά τη σπερματέγχυση, με βαθμολογίες που αποδίδονται σε: (α) η θέση των προπυρήνων στο κυτταρόπλασμα, (β) η θέση των νουκλεολίων (μικρά σφαιρικά σώματα μέσα σε κάθε προπυρήνα), και (γ) η εμφάνιση του κυτταροπλάσματος ([Filho, Noble et al. 2010](#_ENREF_66)).

Η θέση των προπυρήνων αξιολογείται και βαθμολογείται με 5 ή 1. Δίνεται βαθμός 5 εάν οι προπυρήνες είναι κοντά ή ευθυγραμμισμένοι, ενώ μια βαθμολογία 1 δίδεται εάν οι προπυρήνες είναι καλά διαχωρισμένοι ([Filho, Noble et al. 2010](#_ENREF_66)).

Η θέση των νουκλεολίων αξιολογείται και βαθμολογείται με 5, 4 ή 3. Εάν τα νουκλεόλια είναι ευθυγραμισμένα σε μια σειρά στην προπυρηνική ένωση, δίνεται βαθμολογία 5 για αυτό το χαρακτηριστικό. Εάν τα νουκλεόλια αρχίζουν να ευθυγραμμίζονται, αποδίδεται ένα σκορ 4, ενώ τα διασκορπισμένα νουκλεόλια χαρακτηρίζονται με βαθμολογία 3 ([Filho, Noble et al. 2010](#_ENREF_66)).

Η εμφάνιση του κυτταροπλάσματος αξιολογείται και βαθμολογείται με 5 ή 3. Εάν το κυτταρόπλασμα είναι ετερογενές σε εμφάνιση με καθαρό φωτοστέφανο γύρω από τις άκρες, μερικές φορές με μια καθαρή περιοχή στο κέντρο γύρω από τους προπυρήνες και ένα σκοτεινό δακτύλιο στη μέση, τότε αυτό χαρακτηριστικό βαθμολογείται με 5. Εάν το κυτταρόπλασμα είναι διαυγές ομοιογενές, ή κοκκινωπό ή/και σκοτεινό, τότε δίνεται μια βαθμολογία 3 ([Filho, Noble et al. 2010](#_ENREF_66)).

Ο τελικός βαθμός του εμβρύου είναι τότε το άθροισμα των τριών επιτευχθέντων βαθμών. Επιπλέον, στις 24-26 ώρες εξετάζεται το έμβρυο και εάν παρουσιάζει διάσπαση της πυρηνικής μεμβράνης ή διάσπαση σε στάδιο δύο κυττάρων (είναι και τα δύο σημάδια ότι το έμβρυο προχωράει σύμφωνα με το χρονοδιάγραμμα) προστίθεται επιπλέον βαθμολογία 10 στον τελικό βαθμό εμβρύου . Έτσι, το τελικό εύρος βαθμολογίας είναι από 7 έως 25 και υψηλότερη βαθμολογία είναι ένδειξη υψηλότερης βιωσιμότητας ([Filho, Noble et al. 2010](#_ENREF_66)).

An external file that holds a picture, illustration, etc.
Object name is TOBEJ-4-170_F1.jpg

**Εικόνα. Παραδείγματα εικόνας εμβρύου: ( Α ) γονιμοποιημένο ωοκύτταρο, ( Β ) διάσπαση εμβρύου, ( C ) βλαστοκύστη.**

(ZP: ζώνη pellucida), (1st PB: πρώτο πολικό σωμάτιο), (ICM : εσωτερική κυτταρική μάζα), (TE: τροφοεκτόδερμα) ([Filho, Noble et al. 2010](#_ENREF_66))

Τα έμβρυα στο στάδιο της διάσπασης μπορούν να βαθμολογηθούν ως εξής:

* Εμβρυο βαθμού 1: χωρίς θραύση κυττάρων με ομοιόμορφα βλαστομερή ίσου μεγέθους
* Εμβρυο βαθμού 2: <20% κατακερματισμός κυττάρων, με ομοιογενή βλαστομερή ίσου ή άνισου μεγέθους
* Εμβρυο βαθμού 3: 20%-50% κατακερματισμός κυττάρων, με βλαστομερή άνισου μεγέθους
* Εμβρυο βαθμού 4:> 50% κατακερματισμός κυττάρων, με βλαστομερή άνισου μεγέθους ([Balaban, Yakin et al. 2006](#_ENREF_19))

Η ταξινόμηση των βλαστοκυττάρων σύμφωνα με τον Dokras έχει ως εξής:

* Βαθμός 1: Οι βλαστοκύστεις χαρακτηρίζονται από πρώιμο σχηματισμό μιας έκκεντρης και στη συνέχεια διογκωμένης κοιλότητας που φέρει επένδυση από μια ξεχωριστή περιοχή εσωτερικής κυτταρικής μάζας και από ένα στρώμα τροφοεκτοδέρματος.
* Βαθμός 2: Η βλαστοκύστη εμφανίζει μια μεταβατική φάση όπου παρατηρούνται απλά ή πολλαπλά κενοτόπια τα οποία κατά τη διάρκεια των επόμενων ημερών εξελίσσονται στην τυπική εμφάνιση βλαστοκύστης βαθμού 1.
* Βαθμός 3: Οι βλαστοκύστεις εμφανίζονται με πολλές εκφυλιστικές εστίες στην εσωτερική κυτταρική μάζα με κύτταρα που εμφανίζονται σκοτεινά και νεκρωμένα ([Balaban, Yakin et al. 2006](#_ENREF_19)).

Στη βαθμολόγηση Gardner οι βλαστοκύστες ταξινομούνται σύμφωνα με το μέγεθος:

1. Πρόωρη βλαστοκύστη - η βλαστική κοιλότητα είναι μικρότερη από το ήμισυ του όγκου του εμβρύου.
2. Βλαστοκύστη - η βλαστική κοιλότητα είναι μεγαλύτερη ή ίση με το ήμισυ του όγκου του εμβρύου.
3. Πλήρης βλαστοκύστη - η βλαστική κοιλότητα ενσωματώνει εντελώς το έμβρυο.
4. Επεκτεινόμενη βλαστοκύστη - ο όγκος της βλαστικής κοιλότητας είναι μεγαλύτερος από τον όγκο του πρώιμου εμβρύου και η ζώνη pellucida λεπτύνεται.
5. Η βλαστοκύστη εκκολάπτεται - το τροφεκτόδερμα έχει αρχίσει να σχηματίζει μια κήλη μέσω της ζώνης pellucida.
6. Εκκολαπτόμενη βλαστοκύστη - η βλαστοκύστη έχει ξεφύγει τελείως από τη ζώνη pellucida ([Balaban, Yakin et al. 2006](#_ENREF_19)).

Για τις βλαστοκύστες που ταξινομήθηκαν από τον βαθμό 3 έως 6, εκτιμάται επίσης η ανάπτυξη της εσωτερικής κυτταρικής μάζας (ICM) και του τροφοεκτοδέρματος (ΤΕ). Η ταξινόμηση ICM έχει ως εξής:

1. Σφιχτά συστοιχισμένα, πολλά κύτταρα
2. Χαλαρά ομαδοποιημένα, μερικά κύτταρα
3. Πολύ λίγα κύτταρα ([Balaban, Yakin et al. 2006](#_ENREF_19)).

Η ταξινόμηση (ΤΕ) έχει ως εξής:

1. Πολλά κύτταρα που σχηματίζουν ένα σφιχτά δεμένο επιθήλιο
2. Λίγα κύτταρα
3. Πολύ λίγα κύτταρα που σχηματίζουν ένα χαλαρό επιθήλιο ([Balaban, Yakin et al. 2006](#_ENREF_19)).

**3.10** Ενδοκυτταροπλασματική Έγχυση Σπέρματος (ICSI)

Ενδοκυτταροπλασματική έγχυση σπέρματος (ICSI) είναι η έγχυση ενός μόνο σπερματοζωαρίου στο κυτταρόπλασμα ενός ώριμου ωοκυττάρου. Αυτή η θεραπεία προσφέρεται σε περιπτώσεις σοβαρής ανδρικής υπογονιμότητας. Η χρήση της ICSI έχει παρόμοια αποτελέσματα με αυτά της συμβατικής γονιμοποίησης in vitro (IVF) με φυσιολογικές παραμέτρους σπέρματος, όπως αξιολογήθηκε από τις συστάσεις της Παγκόσμιας Οργάνωσης Υγείας ([Van der Westerlaken, Helmerhorst et al. 1999](#_ENREF_222)).

Κατά τη διάρκεια της διαδικασίας ICSI, το ωοκύτταρο στερεώνεται με πιπέτα συγκράτησης με τέτοιο τρόπο ώστε το πολικό σωμάτιο του ωοκυττάρου να βρίσκεται στη θέση ώρας 6 ή 12 κατά τη στιγμή της έγχυσης. Όταν η βελόνα ένεσης εισέρχεται στο ωοκύτταρο στη θέση ώρας 3, το άνοιγμα της λοξότμησης της βελόνας είναι στραμμένο προς τη θέση ώρας 6. Κατά τη διάρκεια της έγχυσης ελέγχεται αν η άκρη της βελόνας βρίσκεται μέσα στο κυτταρόπλασμα, αναρροφώντας το κυτταρόπλασμα στη βελόνα ώστε να επιβεβαιωθεί ότι η μεμβράνη των ωοκυττάρων είναι σπασμένη. Κατά τη διάρκεια αυτής της αναρρόφησης του κυτταροπλάσματος ενδέχεται να υποστούν βλάβες ή να χαθούν διάφορες δομές. Μπορεί να υπάρχει διαφορά μεταξύ του κινδύνου απώλειας ή καταστροφής δομών στα ωοκύτταρα που εγχέονται με το πολικό σωμάτιο στη θέση 6 ή 12. Στον άνθρωπο μπορεί να υποτεθεί ότι τα χρωμοσώματα του ωοκυττάρου βρίσκονται στην περιφέρεια του ωοκυττάρου πλησίον της θέσης του πρώτου πολικού σωμάτιου και συνεπώς η πιθανότητα βλάβης του μειοτικού άξονα ή / και της διατάραξης της οργάνωσης των μικροσωληνίσκων στο ωοκύτταρο, έχει σημαντικό ρόλο στη γονιμοποίηση και στην εμβρυϊκή ανάπτυξη και μπορεί να διαφέρει ανάλογα με τη θέση του πολικού σωμάτιου σε σχέση με το άνοιγμα της βελόνας ένεσης. Αυτές οι δομές μπορεί να είναι υπεύθυνες για την ανάπτυξη των εμβρύων. Οι διαφορές στις βλάβες αυτών των δομών μπορεί να εκφραστούν από τις διαφορές στα ποσοστά γονιμοποίησης, τα ποσοστά διάσπασης, την ποιότητα των εμβρύων και τα ποσοστά κύησης και έκτρωσης ([Van der Westerlaken, Helmerhorst et al. 1999](#_ENREF_222)).

Η πρακτική χρήση της μικρογονιμοποίησης άρχισε στα μέσα της δεκαετίας του '80 με τη διάτρηση και την μερική αποκοπή της ζώνης pellucida. Έκτοτε, το πεδίο αυτό έχει υποβληθεί σε τόσο γρήγορη εξέλιξη, ώστε αυτές οι πρώιμες προσεγγίσεις έχουν εγκαταλειφθεί υπέρ της ενδοκυτταροπλασματικής έγχυσης σπέρματος (ICSI), αφήνοντας τη χρήση της μερικής αποκοπής της ζώνης pellucida περιοριζόμενη στο στάδιο των 4-8 εμβρυϊκών κυττάρων (εκκόλαψη) σε μια προσπάθεια να προωθηθεί η εμφύτευση. Η διάτρηση της ζώνης pellucida (ZD) περιλαμβάνει τη δημιουργία ενός περιγεγραμμένου ανοίγματος στην ζώνη μέσω μιας μικροπιπέτας από λεπτό γυαλί με τη χρήση διαλύματος οξέος (Tyrode). Δυστυχώς, μετά από σπερματέγχυση, κατάφεραν να εισέλθουν περισσότερα από ένα σπερματοζωάρια μέσα από τις διάτρητες ζώνες με αποτέλεσμα την πολυσπερμική γονιμοποίηση. Επιπλέον, η χρήση όξινου μέσου για τη διεξαγωγή της διάτρησης είχε επιβλαβή επίδραση στο ωοκύτταρο – μια επίδραση που δεν παρατηρήθηκε στα έμβρυα του σταδίου διάσπασης κατά τη διαδικασία της «εκκόλαψης». Την ίδια στιγμή που δοκιμάστηκε η τεχνική της διάτρησης της ζώνης pellucida, εισήχθη η μηχανική αποκοπή μιας τρύπας στην περιοχή, η οποία σχεδιάστηκε αρχικά για τον πυρηνικό χειρισμό των γονιμοποιημένων ωοκυττάρων. Εναλλακτικές αλλά παρόμοιες διαδικασίες είναι η διάσπαση της ζώνης στην οποία η ζώνη «παραβιάζεται» μηχανικά με δύο άγκιστρα από λεπτό γυαλί τα οποία ελέγχονται από ένα μικροεπεξεργαστή και η ζώνη μαλακώνει με σύντομη έκθεση σε θρυψίνη ή προνάση. Η μερική αποκοπή της ζώνης (PZD) περιλαμβάνει την εγκοπή της ζώνης με μια γυάλινη βελόνα πριν από την έκθεση του επεξεργασμένου ωαρίου στα σπερματοζωάρια. Για όλες αυτές τις τεχνικές, τα σπερματοζωάρια πρέπει να είναι προοδευτικά κινητικά και να έχουν τη δυνατότητα να υποστούν την ακροσωμική αντίδραση. Η τεχνική PZD φέρει επίσης έναν ξεχωριστό κίνδυνο τραυματισμού στα ωοκύτταρα από την ανάγκη να παράγει ένα άνοιγμα βέλτιστου μεγέθους στην ζώνη ώστε να επιτρέψει στα σπερματοζωάρια να διεισδύσουν ενώ παράλληλα περιορίζει αυτόν τον αριθμό ώστε να αποτρέψει το ενδεχόμενο μιας πολυσπερμικής γονιμοποίησης. Η τοπική χρήση λέιζερ υιοθετήθηκε επίσης για να εισαγάγει ένα κενό ακριβών διαστάσεων στην ζώνη και οδήγησε σε λίγους υγιείς απογόνους. Όμως, όλες αυτές οι πρώιμες διαδικασίες όχι μόνο οδήγησαν σε μέτρια βελτίωση του ρυθμού γονιμοποίησης, με την PZD να είναι η πιο χρήσιμη από την άποψη αυτή, αλλά σχετίζονται με μια μη βιώσιμη εμφάνιση πολυσπερμίας. Η μηχανική εισαγωγή των σπερματοζωαρίων απευθείας στο χώρο μεταξύ της ζώνης pellucida και της κυτταρικής μεμβράνης ενός ωοκυττάρου - υποζωνική έγχυση σπερματοζωαρίων (SUZI) - εισήχθη ως ένας άλλος τρόπος για να ξεπεραστούν οι ανεπάρκειες της συγκέντρωσης και της κινητικότητας του σπέρματος και αυτή η τεχνική αποδείχθηκε πιο αποτελεσματική από τη ZD ή τη PZD, ιδιαίτερα μετά από προηγούμενη επαγωγή της ακρωσωμικής αντίδρασης. Ωστόσο, η τεχνική SUZI παρέμεινε επίσης περιορισμένη εξαιτίας της ανικανότητάς της να υπερνικήσει τις ακροσωματικές ανωμαλίες ή τη δυσλειτουργία της διαδικασίας σύντηξης σπερματοζωαρίων-κυτταρικής μεμβράνης ωοκυττάρων, με αποτέλεσμα μέτρια ποσοστά γονιμοποίησης καθώς αντιμετωπίζονται πιο σοβαρές μορφές ανδρικής στειρότητας ([Neri, Lee et al. 2014](#_ENREF_143)).

Η κατάσταση άλλαξε με την ανάπτυξη της διαδικασίας ενδοκυτταροπλασματικής έγχυσης σπέρματος (ICSI), η οποία συνεπάγεται την εισαγωγή ενός σπερματοζωαρίου στο ωάπλασμα. Αυτή η προσέγγιση προέκυψε ως ικανή για να παρέχει τις πιο αξιόπιστες και συνεπείς πιθανότητες γονιμοποίησης, διότι παρακάμπτει όλα τα αρχικά στάδια της φυσικής γονιμοποίησης - διείσδυση των κοκκιωδών κυττάρων cumulus, σύνδεση με την ζώνη pellucida και σύντηξη με το ωόλεμα. Η τεχνική πρωτοστάτησε σε ζώα, αρχικά στον αχινό της θάλασσας και στη συνέχεια σε ωάρια ποντικού. Αργότερα, παρατηρήθηκαν σχετικά υψηλά ποσοστά αποσυμπύκνωσης πυρήνα σπερματοζωαρίων μετά από μικροέγχυση σπερματοζωαρίων ανθρώπινου ή χρυσού χάμστερ σε ωοκύτταρα χάμστερ και ταυτόχρονα χρησιμοποιήθηκε η ICSI για να μελετηθούν οι καθοριστικοί χρόνοι του σχηματισμού των ανδρικών προπυρήνων. Αυτή η προσέγγιση χειρισμού γαμετών είχε τον κίνδυνο πρόκλησης βλάβης και λύσης των ωοκυττάρων και σε πρώιμες μελέτες μόνο το 30% των ώριμων ωοκυττάρων που έλαβαν έγχυση επιβίωσαν από τη διαδικασία, ακόμη και όταν χρησιμοποιήθηκαν μικροπιπέτες υπό ιδανικές συνθήκες ([Neri, Lee et al. 2014](#_ENREF_143)).

Η τεχνική ICSI χρησιμοποιείται σήμερα ευρέως στην υποβοηθούμενη αναπαραγωγή και έχει παράσχει σχετικές πληροφορίες σχετικά με τη βασική επιστήμη γονιμοποίησης. Τα ωάρια των θηλαστικών που εγχέονται με ολόκληρο το σπέρμα θηλαστικών μπορούν να εμφανίσουν φυσιολογικά γεγονότα ενεργοποίησης ωαρίων, συμπεριλαμβανομένης της έκλυσης Ca2+, και μπορούν να αναπτυχθούν σταδιακά. Αυτό υποδηλώνει ότι η επαφή των σπερματοζωαρίων και των μεμβρανών του ωοπλάσματος δεν αποτελεί κρίσιμο βήμα για την ενεργοποίηση των ωαρίων. Η έγχυση σπέρματος σε διάφορα στάδια της σπερματογένεσης έχει δείξει ότι η επιμήκυνση των σπερματίδων μπορεί να ενεργοποιήσει τα ωάρια, ενώ στρογγυλές σπερματίδες και δευτερογενή σπερματοκύτταρα δεν μπορούν. Η ενεργοποίηση των ωαρίων και η επακόλουθη ανάπτυξη μετά από ICSI είναι ειδικές για το σπέρμα και δεν μπορούν να υποκατασταθούν από τεχνητή εισαγωγή Ca2+ στο ωάριο από το εξωτερικό καλλιεργητικό μέσο, ενώ ούτε η εισαγωγή γυάλινης πιπέτας με ή χωρίς έγχυση μέσου καλλιέργειας μπορεί να διατηρήσει μια ενδοκυταρική απελευθέρωση Ca2+  ώστε να ενεργοποιηθούν τα εγχυθέντα ωοκύτταρα ([Neri, Lee et al. 2014](#_ENREF_143)).

Τέτοιες προσεγγίσεις μικροδιαχείρισης έχουν επίσης γίνει ένα ισχυρό εργαλείο για μια πληρέστερη κατανόηση των βασικών στοιχείων της ωρίμανσης των ωαρίων, της γονιμοποίησης και της πρώιμης ανάπτυξης. Οι τεχνικές αυτές είναι τώρα ένα σημαντικό συστατικό της διαδικασίας που στοχεύει στη διάγνωση και μερικές φορές ακόμη και στη διόρθωση των γενετικών ανωμαλιών. Παρομοίως, μικροδιαχείρηση ή μικροχειρουργική χρησιμοποιείται για την βελτιστοποίηση των ρυθμών εμφύτευσης σε ορισμένες περιπτώσεις ([Neri, Lee et al. 2014](#_ENREF_143)).

Λόγω της δημοτικότητας της ICSI, οι τάσεις προς την επιλογή του ιδανικού σπερματοζωαρίου για την παροχή του πιο κατάλληλου γαμέτη που να είναι σε θέση να εξασφαλίσει την επιτυχή ανάπτυξη και εμφύτευση των εμβρύων, έχουν υλοποιηθεί με την «κινητική εξέταση μορφολογίας οργανικών σπερματοζωαρίων» (MSOME) υπό υψηλή μεγέθυνση. Με αυτή την προσέγγιση, η διαλογή χρησιμεύει ώστε να επιλεγεί ένα σπερματοζωάριο για ICSI με το βέλτιστο σχήμα. Η διαδικασία είναι βαπτισμένη "ενδοκυτταροπλασματική μορφολογικά επιλεγμένη έγχυση σπέρματος" (IMSI), και η χρήση της ισχυρίζεται ότι αποδίδει ανώτερες κλινικές εκβάσεις από ό, τι με τη συμβατική ICSI ([Neri, Lee et al. 2014](#_ENREF_143)).

Η μορφολογική εκτίμηση των βιώσιμων σπερματοζωαρίων με μεγάλη μεγέθυνση πραγματοποιείται με τη χρήση ενός ανεστραμμένου μικροσκοπίου εξοπλισμένου με οπτική παρεμβατικής αντίθεσης NIC Nomarski DIC. Η μέγιστη οπτική μεγέθυνση (φακός X100 κάτω από εμβάπτιση λαδιού), η επιλογή μεγέθυνσης (X1.5) και η μεγέθυνση ψηφιακού βίντεο (X44) οδήγησαν σε μια τελική μεγέθυνση οθόνης βίντεο περίπου X6600. Τα κριτήρια αξιολόγησης των πυρήνων είναι η ομαλή, συμμετρική, οβάλ διαμόρφωση και ομοιογένεια του σχήματος του σπερματικού πυρήνα με «κενοτόπια» που δεν υπερβαίνουν περισσότερο από το 4% της επιφάνειας του πυρήνα. Ο ρόλος που αποδίδεται στα πυρηνικά αυτά κενοτόπια και η θέση τους στο κεφάλι του σπέρματος δεν είναι ξεκάθαρος ([Neri, Lee et al. 2014](#_ENREF_143)).

Οι πρώιμες μελέτες για τη δομή του ανθρώπινου σπέρματος στη δεκαετία του 1950 και του 1960, αποκάλυψαν ότι τα κενοτόπια στον σπερματικό πυρήνα έχουν παρατηρηθεί στη μεγάλη πλειοψηφία των ανθρώπινων σπερματοζωαρίων ανεξάρτητα από τη γονιμότητα των δοτών. Επίσης παρατηρείται και μια εσοχή ή κοίλο στην κεφαλή του σπερματοζωαρίου, όμως κατά τη διάρκεια της μορφογένεσης του σπέρματος, η εξωτερική ακροσωματική μεμβράνη παραμορφώνεται και δημιουργεί αυτό που φαίνεται να είναι ένα κενοτόπιο. Αυτές οι δομές που μοιάζουν με κενοτόπια εξαφανίζονται καθώς το σπερματοζωάριο ωριμάζει στην επιδιδυμίδα ή κατά τη στιγμή της ακροσωμικής αντίδρασης. Σε άλλες περιπτώσεις, ωστόσο, φαίνεται να αυξάνονται με τη θερμοκρασία (37 °C) και τον χρόνο επώασης (> 2 ώρες). Είναι ενδιαφέρον ότι αυτές οι κενοτοπικές δομές ή κρατήρες εμφανίζονται σε πάνω από το 90% των σπερματοζωαρίων στους γόνιμους δότες με φυσιολογικές παραμέτρους σπέρματος. Αναλύσεις των σπερματοζωαρίων από διαφορετικές πηγές, εκσπερμάτισης ή χειρουργικής ανάκτησης, αποκάλυψαν επίσης την ποικίλη παρουσία και το μέγεθος των κενοτοπίων που αναπτύσσονται κατά τη διάρκεια των δυναμικών διεργασιών της σπερματογένεσης και της ωρίμανσης. Αυτή η επιφανειακή ανωμαλία δεν μεταφράστηκε σε υψηλότερη συχνότητα εμφάνισης κατακερματισμού ή ανευπλοειδίας του DNA ούτε στην ικανότητα των κενοτοπικών σπερματοζωαρίων να παράγουν ζυγώτες ικανούς να αναπτυχθούν σε βλαστοκύστεις ([Neri, Lee et al. 2014](#_ENREF_143)).

Οι διαφορές μεταξύ των χειριστών που πραγματοποιούν τις ενέσεις μπορούν επίσης να επηρεάσουν το αποτέλεσμα της ICSI. Αν και η ίδια η διαδικασία ICSI εκτελείται με πρότυπο πρωτόκολλο, μπορεί να προκύψουν δια-μεμονωμένες διαφορές στην τεχνική της ένεσης. Η επίδραση της διαδικασίας ICSI στα χαρακτηριστικά των ωοκυττάρων και στα χαρακτηριστικά του σπέρματος μετά την ένεση έχει μελετηθεί τόσο σε κυτταρολογικό όσο και σε αναπτυξιακό επίπεδο ωοκυττάρων και εμβρύων. Η επίδραση της θέσης του πολικού σωμάτιου σε σχέση με το άνοιγμα της βελόνας της ένεσης τη στιγμή της έγχυσης έχει μελετηθεί στο αναπτυξιακό επίπεδο των ωοκυττάρων και των εμβρύων. Ωστόσο, αυτές οι μελέτες δεν περιλάμβαναν ποσοστά εγκυμοσύνης και ποσοστά αμβλώσεων που προέκυψαν από τη μεταφορά εμβρύων προερχόμενων από ωοκύτταρα που εγχύθηκαν με το πολικό σωμάτιο σε διαφορετικές θέσεις σε σχέση με το άνοιγμα της βελόνας έγχυσης. Μέχρι στιγμής δεν έχουν δημοσιευθεί μελέτες σχετικά με τις διαφορές μεταξύ των φορέων που πραγματοποιούν τις ενέσεις ([Van der Westerlaken, Helmerhorst et al. 1999](#_ENREF_222)).

Τα ωοκύτταρα που θα χρησιμοποιηθούν στην ICSI, υποβάλλονται σε αγωγή με υαλουρονιδάση 0.5% (5 mg / ml) για 10-20 δευτερόλεπτα για ενζυματική λύση των των κοκκιωδών κυττάρων cumulus. Το ακτινωτό στέφανο από τα κύταρα corona απομακρύνεται μηχανικά με μία πιπέτα Pasteur υπό καθοδήγηση μικροσκοπίου. Ακολούθως, προσδιορίζεται η ωριμότητα των ωοκυττάρων και μόνο τα ωάρια που βρίσκονται στο στάδιο της μεταφάσης II χρησιμοποιούνται για τη διαδικασία ICSI.

Η γονιμοποίηση επιβεβαιώθηκε με την παρατήρηση δύο προπυρήνων (PN) 14-18 h μετά την ICSI ([Xi, Zhu et al. 2012](#_ENREF_229)).

Ο κύριος καθοριστικός παράγοντας επιτυχούς μεταφοράς εμβρύου είναι η ικανότητα χειριστή να υποβάλλει έμβρυα όπου οι πιθανότητες εμφύτευσης είναι υψηλότερες, χωρίς να τραυματίζεται το ενδομήτριο

**3.11** Εμβρυομεταφορά (ΕΤ)

Το στάδιο της εμβρυομεταφοράς (ΕΤ) είναι το κρίσιμο τελικό βήμα της εξωσωματικής γονιμοποίησης (IVF), και παρόλο που η εκτέλεσή της έχει αλλάξει σε μεγάλο βαθμό από τις πρώτες ημέρες της τεχνικής, επί του παρόντος διεξάγεται σε μια μάλλον τυποποιημένη μόδα ([López, García et al. 2014](#_ENREF_123)).

Ο κύριος καθοριστικός παράγοντας επιτυχούς μεταφοράς εμβρύου είναι η ικανότητα του χειριστή να εναποθέτει τα έμβρυα εκεί όπου οι πιθανότητες εμφύτευσης είναι υψηλότερες, χωρίς τραυματισμό του ενδομητρίου, ενώ επισής πολύ σημαντικά για μια επιτυχημένη εμβρυομεταφορά είναι η ποιότητα του εμβρύου και τα χαρακτηριστικά των ασθενών. Υπάρχουν αρκετοί λόγοι που σχετίζονται με τη μεταφορά εμβρύων που μπορεί να οδηγήσουν σε αποτυχία εμφύτευσης: εναπόθεση εμβρύων σε υποβέλτιστη θέση, επαγωγή συστολών της μήτρας και ιατρογενή βλάβη στα έμβρυα. Η παρουσία αίματος στον καθετήρα, που υποδεικνύει μια δύσκολη μεταφορά εμβρύου, σχετίζεται επίσης με χαμηλότερα ποσοστά εγκυμοσύνης και εμφύτευσης ([López, García et al. 2014](#_ENREF_123)).

Γενικά, η ασθενής πρέπει να βρίσκεται στη ραχιαία λιθοτομική θέση. Ένας αποστειρωμένος κολποδιαστολέας εισάγεται και ο τράχηλος καθαρίζεται με καλλιεργητικά μέσα μεταφοράς. Εάν παρατηρείται βλέννα στον εξωτράχηλο, αναρροφάται με αποστειρωμένη σύριγγα για να αποφευχθεί η παρεμπόδιση της απελευθέρωσης των εμβρύων μέσα στην κοιλότητα της μήτρας. Εν συντομία, ένας άδειος καθετήρας εισάγεται μέσω του τραχηλικού σωλήνα μέχρι την είσοδο της κοιλότητας της μήτρας και χρησιμεύει ως οδηγός για έναν δεύτερο καθετήρα που περιέχει τα έμβρυα. Στη συνέχεια, τα έμβρυα εναποτίθενται 15-20 mm στην επιφάνεια του ενδομητρίου της βάσης. Ο καθετήρας διατηρείται στην κοιλότητα της μήτρας για περίπου 10 δευτερόλεπτα μετά την εναπόθεση των εμβρύων. Η όλη διαδικασία διεξάγεται με υπερηχογραφική καθοδήγηση, με τον ασθενή να έχει πλήρη κύστη, η οποία καθιστά ευκολότερη την είσοδο του καθετήρα στην κοιλότητα της μήτρας και μειώνει τη συχνότητα χρήσης χειρουργικής λαβίδας. Τέλος, ο καθετήρας εξετάζεται για συγκρατημένα έμβρυα, τα οποία, αν υπάρχουν, μεταφέρονται εκ νέου ([López, García et al. 2014](#_ENREF_123)).

Μια απλή μεταφορά εμβρύου (SET) διεξάγεται σε εκείνες τις περιπτώσεις όπου υπάρχει ιατρική ή μαιευτική αντένδειξη για δίδυμη κύηση ή κατόπιν αιτήματος του ασθενούς. Κατά τη διάρκεια εμβρυομεταφοράς φρέσκου εμβρύου, τα έμβρυα μεταφέρονται την 2η ή 3η ημέρα μετά τη γονιμοποίηση ή την 5η ή 6η ημέρα εάν η ασθενής είχε τρεις ή περισσότερες προηγούμενες αποτυχίες κύκλου IVF. Για την εμβρυομεταφορά κατεψυγμένου εμβρύου (FET), τα έμβρυα μεταφέρονται μια ημέρα μετά την απόψυξη αν η κρυοσυντήρηση έγινε την 2η-3η ημέρα ή την ίδια μέρα με την απόψυξη αν η κρυοσυντήρηση έγινε την 5η-6η ημέρα ([López, García et al. 2014](#_ENREF_123)).

Η προετοιμασία του ενδομητρίου διαφέρει στις κατηγορίες εμβρυομεταφοράς. Σε περιπτώσεις εμβρυομεταφοράς μετά από εναν νέο κύκλο εξωσωματικής γονιμοποίησης με ασθενή με δικά της ωάρια, η μόνη θεραπεία είναι η υποστήριξη της ωχρινικής φάσης με προγεστερόνη (400 mg / 12 h) κολπικά χορηγούμενη από την ημέρα της ανάκτησης των ωαρίων. Σε περιπτώσεις εμβρυομεταφοράς με ωοκύτταρα δότριας όπου η ασθενής έχει υπολειμματική ωοθηκική λειτουργία, η υπόφυση καταστέλλεται με χορήγηση αγωνιστών GnRH. Επιπλέον, υπάρχει μια φάση της οιστρογονιής προετοιμασίας του ενδομητρίου, όπου βαλερική οιστραδιόλη χορηγείται από του στόματος σε αυξανόμενες δόσεις, από 2 έως 6 mg ανά ημέρα ή ημιένυδρη οιστραδιόλη δίδεται διαδερμικά 75-150. Σε περιπτώσεις FET, στην προετοιμασία του ενδομητρίου η λήψη προγεστερόνης αρχίζει 3 ή 5 ημέρες πριν από τη μεταφορά του εμβρύου, ανάλογα με το στάδιο του εμβρύου κατά τη στιγμή της κατάψυξης. Η θεραπεία με οιστρογόνα και προγεστερόνη συνεχίζεται μέχρι τον έλεγχο εγκυμοσύνης, 14 ημέρες μετά τη μεταφορά του εμβρύου και, σε περίπτωση θετικού αποτελέσματος, μέχρι την 12η εβδομάδα της εγκυμοσύνης ([López, García et al. 2014](#_ENREF_123)).

**3.12** Εμφύτευση βλαστοκύστης στη μήτρα

Η επιτυχής εμφύτευση απαιτεί συγχρονισμό μεταξύ της απόκτησης της ικανότητας εμφύτευσης από την βλαστοκύστη και μιας δεκτικής κατάστασης στο ενδομήτριο της μήτρας. Αυτά τα δύο γεγονότα ρυθμίζονται με ακρίβεια από τις μητρικές ορμόνες, συγκεκριμένα το ωοθηκικό οιστρογόνο και την προγεστερόνη. Τα μοριακά και γενετικά στοιχεία υποδεικνύουν ότι οι ωοθηκικές ορμόνες μαζί με τα τοπικά παραγόμενα μόρια σηματοδότησης, συμπεριλαμβανομένων των κυτοκινών, των αυξητικών παραγόντων, των μεταγραφικών παραγόντων homeobox, των μεσολαβητών λιπιδίων και των μορφογονικών γονιδίων, λειτουργούν μέσω αυτοκρινών αλληλεπιδράσεων και παρακρινών για να καθορίσουν τη σύνθετη διαδικασία εμφύτευσης ([Zhang, Lin et al. 2013](#_ENREF_234)).

Η αλληλεπίδραση μεταξύ της βλαστοκύστης και της μήτρας μπορεί να συμβεί μόνο σε σύντομο χρονικό διάστημα, δηλαδή στο "παράθυρο εμφύτευσης". Σε απάντηση του εμβρύου εμφύτευσης, το περιβάλλον στρώμα της μήτρας υφίσταται κυτταρικό μετασχηματισμό, μια διαδικασία γνωστή ως φθαρτοειδής αντίδραση, για να διευθετηθεί η εμβρυϊκή ανάπτυξη και διείσδυση. Το τοπικά προκαλούμενο φθαρτό παρέχει μια θετική ανατροφοδότηση για να υποστηρίξει την επιβίωση του εμβρύου. Θεωρείται επίσης ότι το φθαρτό λειτουργεί ως φραγμός έναντι των μητρικών ανοσολογικών αποκρίσεων στο ημι-αλλογονικό έμβρυο. Ωστόσο, παραμένει εν πολλοίς ασαφής ο τρόπος με τον οποίο η βλαστοκύστη διαφεύγει της μητρικής παρακολούθησης της μητέρας κατά τη στιγμή της εμφύτευσης. Με την εμφάνιση προηγμένων τεχνολογιών, διεξήχθη σε διάφορες μελέτες μια γενική ανάλυση της έκφρασης των γονιδίων και των πρωτεϊνών στο εμφυτεύσιμο έμβρυο και τη μήτρα σε διάφορες μελέτες για την εξάλειψη των μοριακών δικτύων που ελέγχουν την εμφύτευση σε ποντίκια, καθώς και στους ανθρώπους. Ωστόσο, εξαιτίας πειραματικών δυσκολιών και ηθικών περιορισμών, η κατανόηση της ανθρώπινης εμφύτευσης εξακολουθεί να βασίζεται κυρίως σε ζωικά μοντέλα, ιδιαίτερα στο ποντίκι. Τα μοντέλα knockout ποντικών παρέχουν πολύτιμες πληροφορίες που έχουν χρησιμοποιηθεί για την κατασκευή μιας προσωρινής μοριακής βάσης εμφύτευσης. Δεδομένου ότι η εμφύτευση εμβρύου είναι μια δυναμική αναπτυξιακή διαδικασία που ενσωματώνει πολλά μόρια σηματοδότησης σε ένα επακριβώς ενορχηστρωμένο πρόγραμμα, είναι σημαντικό να κατανοηθεί το ιεραρχικό τοπίο των οδών που διέπουν αυτές τις διεργασίες για τη δημιουργία νέων στρατηγικών για τη διόρθωση της αποτυχίας εμφύτευσης και τη βελτίωση των ποσοστών εγκυμοσύνης στις γυναίκες ([Zhang, Lin et al. 2013](#_ENREF_234)).

Η διαδικασία της εμφύτευσης μπορεί να ταξινομηθεί σε τρία στάδια: εφαρμογή, πρόσφυση και διείσδυση. Η εφαρμογή, είναι το στάδιο κατά το οποίο τα εμβρυϊκά κύτταρα του τροφεκτοδέρματος προσεγγίζουν στενά το επιθηλιο της μήτρας. Αυτό ακολουθείται από το στάδιο προσκόλλησης στο οποίο η συσχέτιση του τροφεκτοδέρματος και του επιθηλίου της μήτρας είναι επαρκώς στενή ώστε να αντισταθεί στην αποβολή της βλαστοκύστης με έκπλυση του αυλού της μήτρας. Το στάδιο της διείσδυσης περιλαμβάνει την εισβολή του τροφεκτοδέρματος στο επιθηλίο της μήτρας. Η κυτταρική διαφοροποίηση των κυττάρων σε κύτταρα φθαρτού (φθαρτοειδής αντίδραση) είναι πιο εκτεταμένη και η απώλεια του επιθηλίου της μήτρας είναι εμφανής σε αυτό το στάδιο. Αυτά τα τρία στάδια εμφύτευσης αποτελούν μια συνέχεια ([Dey, Lim et al. 2004](#_ENREF_55)).

Πριν την έναρξη του σταδίου της εφαρμογής της βλαστοκύστης στο επιθήλιο της μήτρας, εμφανίζεται γενικευμένο στρωματικό οίδημα. Αυτό το γεγονός οδηγεί στο κλείσιμο του επιθηλίου της μήτρας, το οποίο έχει ως αποτέλεσμα την αλληλοδιείσδυση των μικροκυττάρων του τροφεκτοδέρματος και του επιθηλίου της μήτρας, ακολουθούμενη από στενότερη επαφή μεταξύ τους (αντίδραση πρόσφυσης ή προσκόλλησης). Το επιθηλιακό «κλείσιμο» εμφανίζεται σε ολόκληρη τη μήτρα κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης ή της ψευδοεγκυμοσύνης και συνεπώς δεν απαιτεί την παρουσία βλαστοκυττάρων. Η εκκίνηση της μήτρας μόνο με προγεστερόνη φαίνεται να επαρκεί για να συμβεί αυτό το γεγονός, το «επιθηλιακό σφράγισμα» δεν εμφανίζεται απουσία προγεστερόνης ([Dey, Lim et al. 2004](#_ENREF_55)).

Με βάση διαφορετικούς τύπους αλληλεπιδράσεων κυττάρων βλαστοκύστης-μήτρας, ο Bonnet πρότεινε την εξής ταξινόμηση: κεντρική, εκκεντρική και διάμεση. Η κεντρική εμφύτευση εμφανίζεται σε θηλαστικά όπως τα κουνέλια, τα κουνάβια και ορισμένα μαρσιποφόρα. Σε αυτά τα ζώα, οι βλαστοκύστες αναπτύσσονται και επεκτείνονται εκτεταμένα πριν από την εμφύτευση. Αντίθετα, οι βλαστοκύστεις ποντικών, αρουραίων και χάμστερ είναι μικρές και εμφανίζουν μέτρια επέκταση. Σε αυτά τα είδη, ένας θάλαμος εμφύτευσης σχηματίζεται από την διείσδυση του επιθηλίου της μήτρας, η οποία είναι χαρακτηριστικό της εκκεντρικής εμφύτευσης. Σε ινδικά χοιρίδια, χιμπατζήδες και ανθρώπους, η διαδικασία εμφύτευσης είναι του ενδιάμεσου τύπου, δηλαδή, οι βλαστοκύστες ενσωματώνονται εντός του υποεπιθηλιακού στρώματος. Τα αποτελέσματα υπερδομικών μελετών οδήγησαν τους Schlafke και Enders, στην ταξινόμηση της εμφύτευσης στους τύπους: παρεμπόδισης, μετατόπισης και σύντηξης. Στον παρεμβατικό τύπο εμφύτευσης, ο οποίος εμφανίζεται σε ανθρώπους και ινδικά χοιρίδια, οι τροφοβλάστες διεισδύουν μέσω του επιθηλίου της μήτρας, φθάνουν και επεκτείνονται ως τη βασική στιβάδα. Η αντίδραση προσκόλλησης συμπίπτει με μια τοπική αύξηση της στρωματικής αγγειακής διαπερατότητας στη θέση της βλαστοκύστης. Στους ανθρώπους, η αντίδραση προσκόλλησης συμβαίνει περίπου στην 8η ημέρα ([Dey, Lim et al. 2004](#_ENREF_55)).

Τα τελευταία χρόνια, τα μοντέλα γενετικά τροποποιημένων ποντικών έχουν δώσει πολύτιμες ενδείξεις για την κατανόηση των ρόλων της προγεστερόνης και του οιστρογόνου κατά τη διάρκεια της εμφύτευσης εμβρύου. Η λειτουργία της προγεστερόνης προκαλείται κυρίως από τον υποδοχέα της, PR (που κωδικοποιείται από το γονίδιο Pgr ), που έχει δύο ισομορφές, PRA και PRB. Και οι δύο ισόμορφες εκφράζονται στη μήτρα. Τα θηλυκά ποντίκια που δεν έχουν τόσο PRA όσο και PRB είναι στείρα με πολλά ελαττώματα στις λειτουργίες των ωοθηκών και της μήτρας, ενώ αυτές οι λειτουργίες είναι φυσιολογικές σε γυναίκες με έλλειψη PRB, υποδεικνύοντας ότι βασικές λειτουργίες που ρυθμίζονται από την προγεστερόνη στις μήτρες προκαλούνται κυρίως από το PRA. Τα οιστρογόνα λειτουργούν στη μήτρα κυρίως μέσω πυρηνικών υποδοχέων οιστρογόνων. Το οιστρογόνο ER έχει επίσης δύο ισομορφές, γνωστές ως ERa (που κωδικοποιούνται από το γονίδιο Esr1 ) και ERβ (που κωδικοποιείται από το γονίδιο Esr2). Προηγούμενες μελέτες που χρησιμοποίησαν ποντίκια με νοκ-άουτ για οιστρογόνα παρουσιάζουν τις διαφορικές τους λειτουργίες στη βιολογία της μήτρας. Το ERa είναι ο σημαντικότερος μεσολαβητής της σηματοδότησης των οιστρογόνων κατά την πρώιμη εγκυμοσύνη, ενώ το επίπεδο έκφρασης του ERβ είναι σημαντικά χαμηλότερο στις γυναίκες με στειρότητα ([Zhang, Lin et al. 2013](#_ENREF_234)).

Η απόκτηση της ικανότητας εμφύτευσης από τη βλαστοκύστη αποτελεί προϋπόθεση για την επιτυχή εμφύτευση. Τα στρωματικά κύτταρα που περιβάλλουν την εμφυτευτική βλαστοκύστη υποβάλλονται σε χαρακτηριστικές αλλαγές, ενσωματώνοντας τελικά το έμβρυο στους μητριαίους ιστούς. Ο μηχανισμός με τον οποίο κατευθύνεται η βλαστοκύστη στο μητριαίο επιθήλιο της μήτρας ή με τον οποίο επιτυγχάνεται ο προσανατολισμός της βλαστοκύστης κατά τη στιγμή της εμφύτευσης παραμένει ασαφής. Κατά την έναρξη της αντίδρασης πρόσδεσης και στη συνέχεια της διαδικασίας εμφύτευσης με οιστρογόνα, οι βλαστοκύστες διατηρούν τον προσανατολισμό τους και το τροφοεκτοδέρμιο ολόκληρης της επιφάνειας της βλαστοκύστης έχει τη δυνατότητα σύνδεσης με το επιθηλιο της μήτρας, και ότι η σύνδεση συμβαίνει τυχαία αμέσως μετά την απώλεια της ζώνης pellucida. Όλα αυτά τα γεγονότα, από το «επιθηλιακό σφράγισμα» μέχρι την αντίδραση προσκόλλησης, εμφανίζονται μεταξύ περίπου 86 και 92 ωρών μετά από το σύνθημα σε έρευνες που έγιναν σε τρωκτικά ([Dey, Lim et al. 2004](#_ENREF_55)).

Η καθυστερημένη εμφύτευση είναι μια διαδικασία με την οποία η εμφύτευση αναβάλλεται για ορισμένο χρονικό διάστημα. Η μήτρα παραμένει σε κατάσταση ηρεμίας και τα έμβρυα στο στάδιο της βλαστοκύστης είναι αδρανή ([Dey, Lim et al. 2004](#_ENREF_55)). Παρόλο που τα έμβρυα αναπτύσσονται σε βλαστοκύστεις και υποβάλλονται σε διάλυση της ζώνης pellucida, παρουσιάζουν ενδείξεις ότι είναι ανενεργά με υποθετική μεταβολική δραστηριότητα, μειωμένες κυτταρικές διαιρέσεις με χαμηλή σύνθεση DNA. Οι υπερδομικές παρατηρήσεις των κυττάρων των τροφοβλαστών στις αδρανείς βλαστοκύστεις αποκαλύπτουν αρκετές μορφολογικές μεταβολές της δομής. Για παράδειγμα, τα ριβοσώματα γίνονται μονοσώματα, το ενδοπλασματικό δίκτυο είναι λιγότερο διαμορφωμένο και το σύστημα Golgi δεν είναι καλά αναπτυγμένο. Η βλαστοκύστη μπορεί να διατηρήσει αυτήν την αδρανή κατάσταση μέσα στην κοιλότητα της μήτρας για ημέρες ή και εβδομάδες. Αλλά υπό τις κατάλληλες συνθήκες, η βλαστοκύστη ενεργοποιείται ταχέως για να επαναλάβει την ανάπτυξή της με προσκόλληση και εισβολή. Η ενεργός βλαστοκύστη επίσης παρουσιάζει ξεχωριστές μορφολογικές διαφορές από την αδρανή βλαστοκύστη. Χρησιμοποιώντας το μοντέλο καθυστερημένης εμφύτευσης ποντικού και τις τεχνικές μεταφοράς βλαστοκύστης, έχει αποδειχθεί ότι οι αδρανείς βλαστοκύστες αποτυγχάνουν να εμφυτεύονται στην δεκτική μήτρα, υπογραμμίζοντας την άποψη ότι η κατάσταση δραστηριότητας των βλαστοκύστεων καθορίζει το «παράθυρο» της εμφύτευσης σε ποντίκια. Ωστόσο, εξακολουθεί να είναι άγνωστος ο τρόπος με τον οποίο οι βλαστοκύστες υποβάλλονται σε αδρανοποίηση και επιβιώνουν για παρατεταμένο χρονικό διάστημα ή πώς ενεργοποιούνται για να αποκτήσουν ικανότητα εμφύτευσης ([Zhang, Lin et al. 2013](#_ENREF_234)).

An external file that holds a picture, illustration, etc.
Object name is nihms474804f2.jpg

**Εικόνα. Σήματα που συμμετέχουν στην ενεργοποίηση βλαστοκυττάρων και επιθηλιακή προετοιμασία της μήτρας για δεκτικότητα.**

**Η επίτευξη της ικανότητας εμφύτευσης των βλαστοκυττάρων (ενεργοποίηση βλαστοκύστης) περιλαμβάνει τη σηματοδότηση στεροειδών, κανναβινοειδή σηματοδότηση και μονοπάτια σηματοδότησης Wnt. Η απόκτηση της δεκτικότητας της μήτρας υπό την επίδραση της προγεστερόνης και του οιστρογόνου των ωοθηκών συνδέεται με την ισοπέδωση του επιθηλίου της κοιλότητας της μήτρας και την απώλεια της πολικότητας στη θέση της πρόσδεσης του εμβρύου (**[**Zhang, Lin et al. 2013**](#_ENREF_234)**).**

Οιστρογονικά παράγωγα: Η αλληλεπίδραση των οιστρογόνων των ωοθηκών μέσω των πυρηνικών ER είναι απαραίτητη για την παρασκευή της δεκτικής μήτρας, ενώ η 4-υδροξυοιστραδιόλη μεταβολίζει την κατεχόλη που παράγεται τοπικά στη μήτρα και ενεργοποιεί τη βλαστοκύστη για εμφύτευση ([Zhang, Lin et al. 2013](#_ENREF_234)).

Σηματοδότηση από κανναβινοειδή: Με την ανακάλυψη των κανναβινοειδών υποδοχέων, εντοπίστηκαν δύο ενδογενείς κανναβινοειδείς σύμπλοκα, η ανανταμίδη και η 2-αραχιδονιογλυκερόλη που μπορούν να συντεθούν στη μήτρα κατά τη διάρκεια της πρώιμης κύησης. Η δραστηριότητα προκαλούμενη από υποδοχέα του ανανταμιδίου εξαρτάται από την εξωκυτταρική συγκέντρωση του, ενώ η ενδοκανναβινοειδής σηματοδότηση έχει πρόσφατα επισημανθεί ως μια σημαντική μεσολαβούμενη από λιπίδια οδό που κατευθύνει την ανάπτυξη του εμβρύου πριν από την εμφύτευση και την έγκαιρη προσπέλαση των εμβρύων στη μήτρα. Αξίζει να σημειωθεί ότι οι αυθόρμητες απώλειες εγκυμοσύνης συνδέονται με αυξημένα επίπεδα ανανταμιδίου σε γυναίκες, ενισχύοντας την έννοια ότι η ενδοκανναβινοειδής σηματοδότηση είναι ένας σημαντικός καθοριστικός παράγοντας της εμβρυϊκής μοίρας κατά την εμφύτευση ([Zhang, Lin et al. 2013](#_ENREF_234)).

Σηματοδότηση Wnt: Το πολύ συντηρημένο μονοπάτι σηματοδότησης Wnt εμπλέκεται στη διαδικασία της εμφύτευσης, μέσω της περίπλοκης αλληλεπίδρασης μεταξύ της βλαστοκύστης και της μήτρας. Η πολυπλοκότητα και ο πλεονασμός της Wnt οικογένειας των πρωτεϊνών, υποδοχέων, εξωκυττάριων ανταγωνιστών και συστατικών ενδοκυτταρικής σηματοδότησης υποδεικνύουν ότι η φύση του ενδοκυτταρικού μηχανισμού Wnt καθορίζει την ενορχήστρωση αυτής της οδού σήματος κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης. Επίσης η σηματοδότηση Wnt είναι τουλάχιστον μία οδός που προσδιορίζει την ικανότητα της βλαστοκύστης για εμφύτευση ([Zhang, Lin et al. 2013](#_ENREF_234)).

Παραγόμενα σήματα από το έμβρυο για την εμφύτευση: Υπάρχει μια μακρόχρονη αναζήτηση ειδικών εμβρυϊκών σημάτων που μπορούν να επηρεάσουν λειτουργικά τη μήτρα, καθώς και άλλα αναπαραγωγικά όργανα. Η γενική ανάλυση γονιδίων των αδρανοποιημένων έναντι των ενεργών βλαστοκυττάρων καταδεικνύει ότι ο αυξητικός παράγοντας τύπου EGF (HB-EGF) που κωδικοποιείται από το γονίδιο Hbegf είναι σημαντικά ενεργοποιημένος κατά τη διάρκεια της ενεργοποίησης των βλαστοκυττάρων. Ο HB-EGF διεξάγει έναν βρόχο αυτόματης επαγωγής μεταξύ της εμφυτευτικής βλαστοκύστης και της μήτρας μέσω παρακρινικών τρόπων. Η μητρική ανεπάρκεια του HB-EGF που στοχεύει στη μήτρα, καθυστερεί το παράθυρο εμφύτευσης και συμβάλλει στην έκβαση της εγκυμοσύνης, ενώ η αμφιρεγουλίνη, ένας άλλος ηπαρινικός συνδέτης, μέλος της οικογένειας EGF, αντισταθμίζει μερικώς την απώλεια του HB-EGF κατά την εμφύτευση. Στους ανθρώπους, το HB-EGF εκφράζεται σε μεγάλο βαθμό στο δεκτικό ενδομήτριο και ο υποδοχέας ErbB4 εντοπίζεται στην επιφάνεια του τροφοεκτοδέρματος σε βλαστοκύστες κατά την εμφύτευση, υποδεικνύοντας ότι η σηματοδότηση HB-EGF-ErbB4 επίσης διαμεσολαβεί στην αλληλεπίδραση του επιθηλίου τροφοεκτοδέρματος-μήτρας κατά τη διάρκεια της εμφύτευσης στην ανθρώπινη μήτρα. Το HB-EGF συνεχίζει να ρυθμίζει την ανάπτυξη της τροφοβλάστης και την επιβίωση μέσω του πλακούντα κατά το πρώτο τρίμηνο της ανθρώπινης κύησης. Μετά την προσκόλληση, το έμβρυο έρχεται απευθείας σε επαφή με το ενδομήτριο και τα στρωματικά κύτταρα της μήτρας και ξεκινούν οι διαδικασίες για την ενσωμάτωση και την προστασία του εμβρύου ([Zhang, Lin et al. 2013](#_ENREF_234)).

Η μήτρα διαφοροποιείται σε μεταβληθείσα κατάσταση όταν οι βλαστοκύστες είναι ικανές για αποτελεσματική αμφίδρομη επικοινωνία ώστε να ξεκινήσουν τη διαδικασία εμφύτευσης. Αυτή η κατάσταση ονομάζεται δεκτικότητα της μήτρας για εμφύτευση και διαρκεί για περιορισμένο χρονικό διάστημα ([Dey, Lim et al. 2004](#_ENREF_55)). Η περίοδος της δεκτικότητας της μήτρας εμφανίζεται μεταξύ των ημερών 20 και 24 ενός κανονικού έμμηνου κύκλου (ημέρες 6 έως 10 μετά την αύξηση ωορρηξίας LH). Το κλειδί για την υποδοχή της μήτρας είναι τα δυναμικά και επακριβώς ελεγχόμενα μοριακά και κυτταρικά γεγονότα που οδηγούν στην ανάπτυξη βλαστοκύστεων, την προσκόλληση και τα επακόλουθα συμβάντα της εμφύτευσης. Αυτή η δυναμική διαδικασία περιλαμβάνει μια ποικιλία γονιδίων που περιλαμβάνουν κυτοκίνες, μεταγραφικούς παράγοντες homeobox και αναπτυξιακά γονίδια που συνεργάζονται με τις στεροειδής ορμόνες των ωοθηκών για να προσδιορίσουν την δεκτητικότητα της μήτρας ([Zhang, Lin et al. 2013](#_ENREF_234))

Τα στεροειδή των ωοθηκών, προγεστερόνη και οιστρογόνο είναι οι κύριες ορμόνες που κατευθύνουν την μήτρα ώστε να δεχτεί το έμβρυο. Η συγχρονισμένη παραγωγή προγεστερόνης και οιστρογόνου προκαλεί δομικές και λειτουργικές αλλαγές στη μήτρα που επιτρέπουν στη βλαστοκύστη να προσκολλάται και να ξεκινά τη διαδικασία εμφύτευσης. Σε κάποιο βαθμό, το παράθυρο της δεκτικότητας της μήτρας είναι ευέλικτο και μπορεί να τροποποιηθεί σε διαφορετικά ορμονικά περιβάλλοντα. Σε αυτό το στάδιο, το περιβάλλον της μήτρας είναι σε θέση να υποστηρίξει την ανάπτυξη, την προσκόλληση, και τα επόμενα γεγονότα της εμφύτευσης της βλαστοκύστης. Οι κύριοι παράγοντες που καθορίζουν την δεκτητικότητα της μήτρας είναι τα στεροειδή των ωοθηκών, η προγεστερόνη και / ή τα οιστρογόνα. Είναι άγνωστο αν παίζει ρόλο η έκκριση οιστρογόνων από την ωοθήκη πριν την εμφύτευση ή το έμβρυο ([Dey, Lim et al. 2004](#_ENREF_55)).

Σε πειράματα που έχουν γίνει σε ποντίκια και αρουραίους, οι συντονισμένες δράσεις της προγεστερόνης και των οιστρογόνων που ρυθμίζουν τον πολλαπλασιασμό και/ή τη διαφοροποίηση των κυττάρων της μήτρας, δημιουργούν το παράθυρο εμφύτευσης. Αν και βλαστοκύστες αποτελούν τους επαγωγείς των γεγονότων της εμφύτευσης, διάφορα μη ειδικά ερεθίσματα, όπως ενδομητρική έγχυση λαδιού, αέρα, και μηχανικά ερεθίσματα μπορούν επίσης να κινήσουν ορισμένα στοιχεία της φθαρτοειδούς αντίδρασης σε ψευδοεγκυμοσύνη ή σε προετοιμασμένες με στεροειδείς ορμόνες μήτρες. Ωστόσο, υπάρχουν ενδείξεις ότι οι αρχικές αντιδράσεις της μήτρας που προκαλούνται από μη ειδικούς ερεθισμούς είναι διαφορετικές από εκείνες που προκαλούνται από βλαστοκύστες ([Dey, Lim et al. 2004](#_ENREF_55)).

Η ευαισθησία της μήτρας σε σχέση με τις στεροειδείς ορμονικές απαιτήσεις και την εμφύτευση έχει ταξινομηθεί ως προ-αποδεκτικές, δεκτικές και μη-δεκτικές (ανθεκτικές) φάσεις. Τα στοιχεία δείχνουν ότι η αποτελεσματικότητα της εμφύτευσης της μήτρας μειώνεται με το χρόνο. Η δεκτικότητα της μήτρας παραμένει ανοικτή για παρατεταμένο χρονικό διάστημα σε χαμηλότερα επίπεδα οιστρογόνων, αλλά κλείνει ταχέως σε υψηλότερα επίπεδα. Η μη δεκτικότητα της μήτρας που επάγεται σε υψηλά επίπεδα οιστρογόνων συνοδεύεται από ανώμαλη έκφραση της μήτρας των σχετιζόμενων με το στάδιο της εμφύτευσης γονιδίων. Η προσεκτική ρύθμιση των επιπέδων των οιστρογόνων μπορεί να βελτιώσει τη γονιμότητα των γυναικών σε προγράμματα γονιμοποίησης in vitro. Ένας άλλος κρίσιμος παράγοντας που καθορίζει το παράθυρο εμφύτευσης είναι η κατάσταση της δραστηριότητας της βλαστοκύστης ([Zhang, Liu et al. 2013](#_ENREF_235)).

Τα στεροειδή των ωοθηκών προγεστερόνη και οιστρογόνο είναι κύριες ορμόνες που κατευθύνουν την δεκτητική της μήτρας. Η συγχρονισμένη παραγωγή προγεστερόνης και οιστρογόνου προκαλεί δομικές και λειτουργικές αλλαγές στη μήτρα που επιτρέπουν στη βλαστοκύστη να προσκολλάται και να ξεκινά τη διαδικασία εμφύτευσης. Σε κάποιο βαθμό, το παράθυρο της δεκτικότητας της μήτρας είναι ευέλικτο και μπορεί να τροποποιηθεί σε διαφορετικά ορμονικά περιβάλλοντα. Χρησιμοποιώντας διαφορετικές δόσεις οιστρογόνων στο μοντέλο καθυστερημένης εμφύτευσης, τα οιστρογόνα επεκτείνουν το παράθυρο της υποδοχής της μήτρας σε ένα χαμηλό όριο, ενώ φυσιολογικά υψηλότερα επίπεδα κλείνουν ταχέως το παράθυρο εμφύτευσης, μετατρέποντας το περιβάλλον της μήτρας σε μια ανθεκτική κατάσταση. Η έκθεση σε υψηλά επίπεδα οιστρογόνων, η οποία μπορεί να οφείλεται σε διέγερση των ωοθηκών με κιτρικό κλομιφαίνη στην εξωσωματική γονιμοποίηση, οδηγεί σε αποτυχία εμφύτευσης και επαναρρόφηση εμβρύου. Αυτός ο μειωμένος ρυθμός εμφύτευσης σε κύκλους IVF μπορεί να οφείλεται σε ασυγχρόνια μεταξύ του ενδομητρίου και της βλαστοκύστης όταν εκτίθενται σε υψηλά επίπεδα οιστρογόνου. Από τις κυτοκίνες που έχουν μελετηθεί, το γονίδιο LIF είναι το πλέον κατάλληλο για την εμφύτευση και εκφράζεται σε υψηλά επίπεδα στο αδενικό επιθήλιο του εκκριτικού ενδομητρίου, με σημαντική αύξηση του ενδοθηλιακού και αδενικού επιθηλίου στη μεσο-εκκριτική φάση. Απαιτείται ένα βέλτιστο επίπεδο του LIF για την εμφύτευση των βλαστοκυττάρων σε γυναίκες. Επιπλέον, υπάρχουν κλινικά στοιχεία που δείχνουν ότι η ανεπάρκεια του LIF συνδέεται με ανεξήγητες επανειλημμένες αποβολές και στειρότητα στις γυναίκες ([Zhang, Lin et al. 2013](#_ENREF_234)).

An external file that holds a picture, illustration, etc.
Object name is nihms474804f3.jpg

**Εικόνα. Δίκτυα σηματοδότησης που ρυθμίζουν την εμφύτευση εμβρύου (**[**Zhang, Lin et al. 2013**](#_ENREF_234)**).**

Τα γονίδια homeobox είναι εξελικτικά διατηρημένοι ρυθμιστές μεταγραφής που ελέγχουν την εμβρυϊκή μορφογένεση και διαφοροποίηση. Η έκφραση των γονιδίων HOXA10 και HOXA11 στο ενδομήτριο αυξάνεται σημαντικά στην μέση ωχρινική φάση όταν η μήτρα είναι δεκτική για την προσκόλληση του εμβρύου, και είναι σημαντικά χαμηλότερη στις υπογόνιμες γυναίκες. Ο διάλογος μεταξύ της βλαστοκύστης και της μήτρας παρουσιάζει κοινές αλληλεπιδράσεις επιθηλίου-μεσεγχυματικών κυττάρων που συμβαίνουν κατά τη διάρκεια της εμβρυογένεσης και περιλαμβάνει εξελικτικά διατηρημένες οδούς σηματοδότησης που μεσολαβούν από τις πρωτεΐνες (IHH), τις μορφογενετικές πρωτεΐνες των οστών (BMPs), τους Wnts και τους συγγενείς υποδοχείς τους ([Zhang, Lin et al. 2013](#_ENREF_234)).

Κατά τη διάρκεια της προ-εμφύτευσης, το υγρό της μήτρας παρέχει ένα μέσο για τη μεταφορά των προ-εμφυτευτικών εμβρύων στη μήτρα και η απορρόφηση του υγρού της μήτρας την 4η ημέρα της εγκυμοσύνης διευκολύνει τη διαδικασία κλεισίματος του επιθηλίου και της τοποθέτησης βλαστοκύστης μέσα στην κοιλότητα της μήτρας. Ένα προφίλ αντισταθμιστικής έκφρασης και ισορροπημένης δραστηριότητας των γονιδίων CFTR και ENaC της μήτρας παρέχουν ένα μοριακό μηχανισμό, με τον οποίο μπορεί να επιτευχθεί η μέγιστη απορρόφηση υγρού και το κλείσιμο της κοιλότητας της μήτρας για να διευκολυνθεί η τοποθέτηση των βλαστοκυττάρων. Τα μόρια προσκόλλησης παίζουν βασικούς ρόλους στην τοποθέτηση και προσάρτηση των βλαστοκυττάρων κατά τη διάρκεια της εμφύτευσης. Μια ομάδα μορίων προσκόλλησης, όπως οι ιντεγκρίνες, το σύμπλοκο τροφινίνη-βυστίνη-ταστίνη, οι σελεκτίνες και οι καντερίνες, εμπλέκονται σε αυτές τις διεργασίες. Η συντονισμένη ανάπτυξη των ενδομητρικών αδένων από το επιθήλιο της μητρικής κοιλότητας, γνωστή ως αδενογένεση της μήτρας, είναι ένα κυρίαρχο γεγονός κατά τη διάρκεια της μεταγεννητικής μορφογένεσης της μήτρας. Η διαδικασία της αδενογένεσης περιλαμβάνει τρία τυπικά βήματα, εκβλάστηση, διείσδυση και διακλάδωση. Το αδενικό επιθήλιο που προέρχεται από το επιθήλιο της μητρικής κοιλότητας διαφοροποιείται και διακλαδώνεται μέσω της διείσδυσης των αδενικών σωληνίσκων στο στρώμα της μήτρας και στη συνέχεια τα αδενικά στοιχεία διατηρούν τη διακλάδωση και την περιτύλιξη για να διαστέλλονται σε όλο το ενδομητρικό στρώμα. Η ανάπτυξη του ενδομητρίου ξεκινά κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης του εμβρύου μέσα στη μήτρα, συνεχίζεται από τη γέννηση έως την ηλικία των 6 ετών και αναπτύσσεται πλήρως με την εφηβεία ([Zhang, Lin et al. 2013](#_ENREF_234))

Σε απάντηση της εμφύτευσης, τα στρωματικά κύτταρα που περιβάλλουν το έμβρυο εμφύτευσης υφίστανται εκτεταμένο πολλαπλασιασμό και επακόλουθη διαφοροποίηση σε πολυπυλοειδή κύτταρα φθαρτού. Τα διαφοροποιημένα στρωματικά κύτταρα αρχικά σχηματίζουν μια πρωτοταγή ζώνη χωρίς αγγεία (PDZ) που εγκλείει το έμβρυο το απόγευμα της 5ης ημέρας. Τα στρωματικά κύτταρα δίπλα στην PDZ συνεχίζουν να πολλαπλασιάζονται και στη συνέχεια διαφοροποιούνται σε μια καλά αγγειοποιημένη δευτερεύουσα ζώνη (SDZ). Αυτή η διαφοροποίηση είναι σημαντική για την παροχή θρέψης στο αναπτυσσόμενο έμβρυο και για να παρέχει ένα φραγμό που να εμποδίζει την ανεξέλεγκτη εισβολή των τροφοβλαστών και να προστατεύει το έμβρυο από την απόρριψη της μητέρας πριν από το σχηματισμό του λειτουργικού πλακούντα ([Zhang, Lin et al. 2013](#_ENREF_234)).

Σε γυναίκες κατά τη διάρκεια του φυσιολογικού κύκλου της εμμήνου ρύσεως ή σε θεραπεία με εξωσωματική γονιμοποίηση, εάν η εμφύτευση εμφανίζεται πέρα ​​από το κανονικό παράθυρο, συχνά παρατηρείται απώλεια της εγκυμοσύνης, γεγονός που υποδηλώνει την υψηλή συσχέτιση αποτυχίας εγκυμοσύνης με αναβολή της εμφύτευσης. Η εμφύτευση μπορεί να λάβει χώρα, χωρίς αρνητικές συνέπειες, μέχρι και αρκετές ημέρες, π.χ. 6-8 ημέρες μετά την ωορρηξία. Η ανάγκη συγχρονισμού του ανεξάρτητα αναπτυσσόμενου εμβρύου και της γυναικείας αναπαραγωγικής οδού είναι, ως εκ τούτου, πρωταρχικής σημασίας και διευκολύνεται μέσω της ταχείας μετά-μεταγραφικής ρύθμισης των φυσιολογικών αποκρίσεων σε κρίσιμα στοιχεία στο τοπικό μικροπεριβάλλον ([Zhang, Lin et al. 2013](#_ENREF_234)).

**3.13** Εγκυμοσύνη μετά από εξωσωματική γονιμοποίηση

Η κλινική εγκυμοσύνη ορίζεται ως η παρουσία ενός σάκου κύησης με εμβρυϊκή καρδιακή δραστηριότητα. Η συνεχιζόμενη εγκυμοσύνη ορίζεται ως η εγκυμοσύνη που συνεχίζεται πέρα ​​από την 12η εβδομάδα κύησης ([Karimzade, Oskouian et al. 2010](#_ENREF_105)). Θετική δοκιμή εγκυμοσύνης ορίζεται ως τιμή hCG ορού >5 UI/l, 14 ημέρες μετά τη μεταφορά του εμβρύου ([López, García et al. 2014](#_ENREF_123)).

Τα τελευταία 30 χρόνια, τα πολλαπλά ποσοστά γεννήσεων έχουν αυξηθεί δραματικά σε διεθνές επίπεδο, συνδέονται εν μέρει με την αυξημένη ηλικία της μητέρας κατά την εγκυμοσύνη, αλλά κυρίως με τις θεραπείες υπογονιμότητας. Η εγκυμοσύνη πολλαπλών εμβρύων μετά από επαγωγή ωορρηξίας ή υπερδιέγερση των ωοθηκών συμβαίνει σε ποσοστά μεταξύ 5% έως 40%. Το δημοσιευμένο ποσοστό πολλαπλών κυήσεων ως αποτέλεσμα εξωσωματικής γονιμοποίησης είναι περίπου 30% ([Okun and Sierra 2014](#_ENREF_155)).

Αν και οι περισσότερες πολλαπλές εγκυμοσύνες μετά από τεχνική IVF είναι διχοριονικά δίδυμα, η συχνότητα των μονοζυγωτικών δίδυμων (τα περισσότερα από τα οποία έχουν μονοχοριονικό πλακούντα) σε όλες τις εγκυμοσύνες IVF εκτιμάται σε 0,9% έως 2%, σε σύγκριση με το 0,4% περίπου των γεννήσεων από αυθόρμητες εγκυμοσύνες. Οι εγκυμοσύνες της εξωσωματικής γονιμοποίησης (IVF) που συμβαίνουν μετά τη μεταφορά των βλαστοκυττάρων (5 ημέρες μετά τη γονιμοποίηση) συσχετίζονται συχνότερα με μονοζυγωτικά δίδυμα (6%) από τις εγκυμοσύνες που συμβαίνουν μετά τη μεταφορά του σταδίου διάσπασης έμβρυα (2%) (2-3 ημέρες μετά τη γονιμοποίηση) ([Okun and Sierra 2014](#_ENREF_155)).

Οι ασθενείς με πρωτογενή υπογονιμότητα έχουν σημαντικά υψηλότερη αναλογία (49,1%) μιας επιτυχούς εγκυμοσύνης από εκείνους με δευτερογενή υπογονιμότητα (46,8%). Το ποσοστό εγκυμοσύνης ήταν σημαντικά υψηλότερο στις οικογένειες με μόνο ένα γονέα χωρίς υπογονιμότητα σε σύγκριση με τις οικογένειες στις οποίες και οι δύο γονείς ήταν υπογόνιμοι. Επιπλέον, η μεγαλύτερη ηλικία των γονέων, ο υψηλότερος δείκτης μάζας σώματος της μητέρας και ο μεγαλύτερος χρόνος υπογονιμότητας σχετίζονται σημαντικά με χαμηλότερα ποσοστά εγκυμοσύνης ([Zhong, Liu et al. 2017](#_ENREF_237)).

**3.14** Kλινικοί παράγοντες που επηρεάζουν το επιτυχημένο ποσοστό εγκυμοσύνης

Οι μεσολαβούμενες από τις τεχνολογίες υποβοηθούμενης αναπαραγωγής (ART) θεραπείες υπογονιμότητας έφεραν τεράστια οφέλη στους υπογόνιμους ασθενείς. Ωστόσο, αναφέρονται περιγεννητικά ή νεογνικά προβλήματα που σχετίζονται με ART. Πρόσφατες μελέτες αποκάλυψαν την ART ως ανεξάρτητο παράγοντα που συμβάλλει στα φτωχά αποτελέσματα της μητέρας και των νεογνών. Για παράδειγμα, μια συστηματική ανασκόπηση 25 μελετών έδειξε ότι τα βρέφη που γεννήθηκαν με ART έχουν ένα σημαντικό 30-40% αυξημένο κίνδυνο για γενετικές ανωμαλίες σε σύγκριση με εκείνα που γεννήθηκαν με αυθόρμητη κύηση. Επιπλέον, η ART σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο χαμηλού βάρους γέννησης (LBW), πρόωρη γέννηση (PTB), μικρή ηλικία κύησης και καρκίνο παιδικής ηλικίας ([Zhong, Liu et al. 2017](#_ENREF_237)).

Σήμερα λίγα είναι γνωστά για τους παράγοντες που σχετίζονται με τους κινδύνους ART. Ορισμένες μελέτες έδειξαν ότι οι κοινωνικές καταστάσεις, χαρακτηριστικά που σχετίζονται με την εγκυμοσύνη και ιατρικές καταστάσεις είναι διαφορετικές μεταξύ των μητέρων που έχουν υποβληθεί σε ART αγωγή ή όχι, ωστόσο, είναι αδιευκρίνιστο αν η παραπάνω διαφορά συμβάλλει στον αυξημένο κίνδυνο ανεπιθύμητων αποτελεσμάτων της εγκυμοσύνης. Επιπλέον, διαφορετικές τεχνικές υποβοηθούμενης αναπαραγωγής μπορεί να έχουν διαφορετικούς επιτυχείς ρυθμούς και κινδύνους. Ο χαρακτηρισμός των φυσιολογικών και τεχνικών παραγόντων που συσχετίζουν τους αυξημένους κινδύνους της ART είναι καθοριστικής σημασίας για την ανάπτυξη καλύτερων στρατηγικών θεραπείας ART για τους υπογόνιμους ασθενείς ([Zhong, Liu et al. 2017](#_ENREF_237)).

Επιπλέον, οι περιπτώσεις εγκυμοσύνης μέσω εξωσωματικής γονιμοποίησης πολύ συχνά περιπλέκονται από τον υψηλό κίνδυνο εμφάνισης του συνδρόμου εξαφάνισης διδύμου, μια αιτία της οποίας είναι η συσσώρευση εμβρύου κατά την εμφύτευση και η επακόλουθη απορρόφηση του ενός εμβρύου από το άλλο . Η ποιότητα του εμβρύου και η δεκτικότητα του ενδομητρίου είναι δύο καθοριστικοί παράγοντες για την επιτυχία της εγκυμοσύνης σε ασθενείς που υποβάλλονται σε πρόγραμμα IVF-ET. Όσον αφορά τα έμβρυα, τα κλινικά δεδομένα δείχνουν ότι το 70% των εμβρύων που επιλέγονται για μεταφορά αποτυγχάνουν να εμφυτεύονται. Για να αυξηθούν τα ποσοστά εγκυμοσύνης, μεταφέρονται πολλαπλά έμβρυα, τα οποία ευθύνονται για επιπλοκές λόγω της πολλαπλής κύησης. Μια προεπιλογή εμβρύων υψηλής ποιότητας μέσω της παρακολούθησης της εμβρυϊκής μεταβολικής δραστηριότητας και της μορφολογίας μπορεί να μειώσει σημαντικά τις επιπλοκές της εξωσωματικής γονιμοποίησης, διατηρώντας παράλληλα αποδεκτά ποσοστά εγκυμοσύνης ([Zhang, Lin et al. 2013](#_ENREF_234)).

Η πολλαπλή εγκυμοσύνη είναι, αναμφίβολα, το πιο σημαντικό ζήτημα που σχετίζεται με την τεχνική της εξωσωματικής γονιμοποίησης. Η αυξημένη συχνότητα εμφάνισης ανεπιθύμητων αποτελεσμάτων για τα έμβρυα και τα νεογνά πολλαπλών κυήσεων έχει αναφερθεί, με την πρόωρη γέννηση και με μερικά σημαντικά επακόλουθα. Ο κίνδυνος νοσηρότητας και θνησιμότητας αυξάνεται με κάθε επιπλέον έμβρυο σε μια πολλαπλή κύηση. Μια πρόσφατη διετής μελέτη σε ένα νοσοκομείο του Κεμπέκ έδειξε ότι το 17% όλων των εισαγωγών ήταν από πολλαπλές εγκυμοσύνες σε γυναίκες που υποβάλλονταν σε ART. Από αυτές, το 91% προέκυψε από την εξωσωματική γονιμοποίηση, με 2 έως 6 έμβρυα που μεταφέρθηκαν και το 9% από εγκυμοσύνες που σχεδιάστηκαν μετά από διέγερση των ωοθηκών. Μια μελέτη στην Αυστραλία ανέφερε ομοίως ότι 12,3% των εισαγωγών μεταξύ 1994 και 2005 προήλθε από τεχνικές υποβοηθούμενης αναπαραγωγής. Από αυτά, το 5% ήταν ένα έμβρυο, το 27% ήταν δίδυμα και το 65% ήταν τρίδυμα. Δεν υπάρχει καμία αμφιβολία ότι η αυξανόμενη χρήση των τεχνολογιών υποβοηθούμενης αναπαραγωγής, έχει οδηγήσει σε αυξημένη περιγεννητική νοσηρότητα και θνησιμότητα δευτερογενώς σε αύξηση της συχνότητας πολλαπλής κύησης ([Okun and Sierra 2014](#_ENREF_155)).

Αρκετές μελέτες έχουν βρει έναν αυξημένο κίνδυνο πρόωρου τοκετού, είτε ορίζεται ως γέννηση πριν από τις 37 εβδομάδες, στις 32 έως 36 εβδομάδες, ή πριν από τις 32 εβδομάδες, στις εκγκυμοσύνες μέσω IVF έναντι αυθόρμητων τοκετών. Επιπλέον, σε όλες σχεδόν τις μελέτες εγκυμοσύνης που προκύπτουν από οποιοδήποτε τύπο τεχνικών ART, το χαμηλό βάρος γέννησης των νεογνών εμφανίζεται πιο συχνά από ό,τι στις αυθόρμητες εγκυμοσύνες. Επίσης η διέγερση των ωοθηκών συσχετίζεται σταθερά με το χαμηλό σωματικό βάρος. Η έκθεση σε γοναδοτροπική διέγερση, η οποία παράγει αυξημένα φυσιολογικά επίπεδα κυκλοφορούσας οιστραδιόλης σε συνδυασμό με in vitro καλλιέργεια, μπορεί να είναι συσσωρευτικά επιβλαβής για την φυσιολογική ανάπτυξη εμβρύου ([Okun and Sierra 2014](#_ENREF_155)).

Ορισμένες μελέτες που συνέκριναν τους κύκλους IVF φρέσκων και κρυοσυντηρημένων εμβρύων, έδειξαν ότι οι κατεψυγμένες εμβρυομεταφορές έχουν ως αποτέλεσμα υψηλότερο σωματικό βάρος γέννησης, μικρότερη πιθανότητα βρεφών SGA (νεογνά με βάρος γέννησης ή μήκος κάτω από το 10ο εκατοστημόριο) και χαμηλότερο ποσοστό πρόωρης γέννησης. Υπάρχουν ευρήματα που υποδηλώνουν ότι οι αλλαγές στο περιβάλλον της μήτρας που σχετίζονται με την παραγωγή πολλαπλών ωοθυλακίων αυξάνει τον κίνδυνο χαμηλού σωματικού βάρους γέννησης ([Okun and Sierra 2014](#_ENREF_155)).

Πιθανές πρώιμες ανωμαλίες του πλακούντα είναι σύμφωνες με το εύρημα αλλαγμένων επιπέδων στο μητρικό ορό για σύνδρομο Down και ανοιχτών ελαττωμάτων νευρικού συστήματος κατά το πρώτο και το δεύτερο τρίμηνο . Αρκετές μελέτες, βρήκαν ένα σημαντικά χαμηλότερο επίπεδο PAPP-A μεταξύ των εγκυμοσύνων ART (εκτός αυτών με FET) 0,8 MoM και μιας αυξημένης ολικής hCG. Επίσης υπάρχουν πολλές μελέτες που αναφέρουν αυξημένο κίνδυνο προεκλαμψίας στις εγκυμοσύνες μέσω των τεχνικών ART. Μικρές μελέτες έχουν συνδέσει ωοκύτταρα δότη με ένα αυξημένο κίνδυνο προεκλαμψίας. Ενώ άλλες επιπλοκές του πλακούντα με αυξημένη συχνότητα στις ART περιλαμβάνουν τον previa πλακούντα, αποκοπή πλακούντα και αιμορραγία πριν και μετά τον τοκετό ([Okun and Sierra 2014](#_ENREF_155))

Η χρονική στιγμή της μεταφοράς του εμβρύου στην εξωσωματική γονιμοποίηση ή στην IVF/ICSI μπορεί να επηρεάσει το αποτέλεσμα. Ο βέλτιστος χρόνος εξελίσσεται από το στάδιο διάσπασης στη βλαστοκύστη, καθώς ο ρυθμός επιτυχίας μετά τη μεταφορά των βλαστοκύστεων είναι υψηλότερος, με αποτέλεσμα υψηλότερο ρυθμό ζωντανών γεννήσεων ([Okun and Sierra 2014](#_ENREF_155)).

Αρκετές μεγάλες μελέτες βασισμένες σε μητρώα που εξετάζουν μακροχρόνια αποτελέσματα παιδιών που γεννήθηκαν μέσω εξωσωματικής γονιμοποίησης δημοσιεύθηκαν πρόσφατα. Μια 10ετής μελέτη παρακολούθησης δεν διαπίστωσε σημαντική διαφορά μεταξύ της ICSI και των αυθόρμητα συλληφθέντων παιδιών. Η φυσική υγεία, μέχρι στιγμής, φαίνεται ίση, αν και έχει αναφερθεί αύξηση στους κρυψορχικούς όρχεις και το προκύπτον ουρογεννητικό χειρουργείο σε αγόρια μετά από ICSI. Αν και μικρές μελέτες ανέφεραν αύξηση σε ορισμένες μορφές καρκίνου της παιδικής ηλικίας , τα στοιχεία του μητρώου δεν υποστηρίζουν αυτή τη σχέση ([Okun and Sierra 2014](#_ENREF_155)).

**Αρθρο σοσοσοσοσοσοσοσοσος ΚΡΥΟΣΥΝΤΗΡΗΣΗ**

[**https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23046814/**](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23046814/)

**https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26848188**

**βλαστικα κυτταρα στη γυναικα**

**Μια σημαντική πρόοδος στη βιολογία της μήτρας (και της ωοθηκικής ωοθήκης) είναι η δημιουργία ποντικών που εκφράζουν αποτελεσματικά την recombinase Cre στο ενδομήτριο της μήτρας 69. Τα διαγονιδιακά ποντίκια με το Cre που εισέρχονται στον τόπο υποδοχέα προγεστερόνης διαγράφουν αλληλοσυστοιχούμενα αλληλόμορφα σε υπεύθυνους για την προγεστερόνη ιστούς, συμπεριλαμβανομένης της ευρύτερης διαίρεσης των γονιδίων στο επιθήλιο της μήτρας, το στρώμα και το μυομήτριο καθώς ωριμάζουν τα ποντίκια. Αυτοί οι ποντικοί υποδοχέα προγεστερόνης-Cre βοήθησαν να προσδιοριστούν οι βασικοί ρόλοι του ΒΜΡ2, του μεταγραφικού παράγοντα II μεταγραφής του προαγωγέα ωολευκωματίνης κοτόπουλου, του συν-ενεργοποιητή υποδοχέα στεροειδούς 2 (SRC2), του PTEN και του επαγόμενου από το μιτογόνο γονιδίου-6 στη βιολογία και τον καρκίνο της μήτρας και στην ωορρηκτική λειτουργία του πολλαπλασιαστή υπεροξειδώματος -ενεργοποιημένου υποδοχέα-γ. Η προηγμένη γνώση αυτών των οδών μπορεί να βοηθήσει στη διάγνωση και τη θεραπεία της αποτυχίας εμφύτευσης στις γυναίκες. Είναι πιθανό ότι αυτές οι μελέτες και οι πρόσθετες εξελίξεις στην κατανόηση των βλαστικών κυττάρων της μήτρας θα βοηθήσουν στην ανανέωση των τεχνητών μητρών στις γυναίκες,70**

**https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3786590/**

**https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6022428/**

**Υαλοποίηση στην in vitro ωρίμανση (**[**Hatirnaz and Ata 2018**](#_ENREF_84)**)**

**Η κρυοσυντήρηση των in vitro ώριμων ωοκυττάρων είναι μια νέα διάσταση στην υποβοηθούμενη αναπαραγωγή. Τα κρυοπροστατευτικά μπορεί να έχουν βλάβη της μειοτικής ατράκτου των ωοκυττάρων και μπορεί να μεταβάλλουν τη λειτουργία και την ακεραιότητα των μιτοχονδρίων κατά τη διάρκεια της υαλοποίησης. In vitro - ωοκύτταρα ωοκυττάρων από δότες έδειξαν ότι η άτρακτος και τα χρωμοσώματα δεν επηρεάστηκαν από διαλύματα υαλοποίησης ( 121 ). Υπάρχουν μερικές εναλλακτικές συσκευασίες για την υαλοποίηση. Μια ιταλική ομάδα μελέτησε τη χρήση της υαλοποίησης Cryotop σε ωοκύτταρα IVM GV και τα συνέκρινε με ωοκύτταρα GV και ωοκύτταρα MII από φρέσκους κύκλους. Η μικροσκοπία φωτός και τα αποτελέσματα μικροσκοπίας αντίθεσης φάσης δεν έδειξαν σημαντικές μεταβολές στο ολεημα και στο κυτταρόπλασμα. Τα υπερδομικά χαρακτηριστικά των ωοκυττάρων GV διατηρήθηκαν κατά τη διάρκεια της υαλοποίησης Cryotop και οι συγγραφείς κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι το στάδιο GV φαίνεται πιο κατάλληλο για υαλοποίηση από τα ωοκύτταρα MII ( 122 ) . Για τον προσδιορισμό της αντοχής των ωοκυττάρων GV, 184 ανώριμα ωοκύτταρα χωρίστηκαν σε δύο ομάδες και 100 ωοκύτταρα MII υαλοποιήθηκαν για 24-48 ώρες μετά από IVM και άλλα ωοκύτταρα 84 GV υαλοποιήθηκαν άμεσα και in vitroωρίμασε μετά την απόψυξη. Η επιβίωση των αποψυγμένων ωοκυττάρων και των αποψυγμένων και in vitro- ωοθυλακιοειδών ωοκυττάρων ήταν παρόμοια αλλά ο ρυθμός ωρίμανσης ήταν υψηλότερος στην ομάδα που είχε ωριμάσει πρώτα και υαλοποιήθηκε αργότερα. Οι συγγραφείς κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι η ωρίμανση IVM ήταν πιο αποτελεσματική όταν πραγματοποιήθηκε πριν από την υαλοποίηση των ωοκυττάρων GV ( 123 ) . Η τρίτη ημέρα υαλοποιημένα-θερμαινόμενα έμβρυα από in vitro ώριμα ωοκύτταρα έχουν το ίδιο δυναμικό για να φτάσουν στο στάδιο της βλαστοκύστης σε σύγκριση με τα φρέσκα έμβρυα. Εντούτοις, η εμβρυονική μετάβαση σε εμβρυϊκό στάδιο μετάβασης σε εμβρυϊκά στάδια διάσπασης, δηλαδή η ημέρα 3, ήταν χαμηλή και οι συγγραφείς κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι in vitro- εμβρυϊκή ανάπτυξη προερχόμενη από ωοκύτταρα πριν από την 3η ημέρα μειώθηκε, αλλά μετά από γονιδιωματική ενεργοποίηση. τα έμβρυα που περνούν πέρα ​​από την ημέρα 3 έως την ημέρα 5 δεν επηρεάστηκαν από την υαλοποίηση ( 124 ) . Κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης, τα ωάρια χρησιμοποιούν Ca2 + για πολλές φυσιολογικές διεργασίες και σε μελέτες ποντικών, διαλύματα αλλοίωσης που περιλαμβάνουν διμεθυλοσουλφοξείδιο προκάλεσαν προσωρινές αυξήσεις στις συγκεντρώσεις Ca2 + . Το CP επίσης αυξάνει το ενδοκυτταρικό Ca2 +συγκεντρώσεις. Οι ίδιες φυσιολογικές αρχές μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε ανθρώπινα ωάρια και τα ωοκύτταρα GV τυχαιοποιήθηκαν σε πέντε ομάδες. G1; Τα ωοκύτταρα GV που έχουν ωριμάσει με IVM, G2. υαλοποιημένο στο στάδιο GV, G3. Τα ωοκύτταρα GV που έχουν ωριμάσει με IVM και στη συνέχεια έχουν υαλοποιηθεί, G4. ανθρώπινο ωοκύτταρο IVM μέσω των ενδοκυτταρικών ταλαντώσεων και G5. GV ωοκύτταρα που εκτέθηκαν σε ιονομυκίνη και IVM μέχρι την MII. Οι συγγραφείς κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι το οσμωτικό σοκ από τα διαλύματα υαλοποίησης μπορεί να έχει επηρεάσει την ικανότητα ωρίμανσης των ωοκυττάρων IVM ( 125 ) . Η υαλοποίηση κάτω από τους 196 ° C δεν σημαίνει ότι το κρυοπεριβάλλον είναι ασηπτικό. επομένως, η προστασία των εμβρύων ή των ωοκυττάρων είναι υποχρεωτική και συστήνεται ένα σύστημα μεταφοράς και αποθήκευσης που διαχωρίζει τους γαμέτες και τα έμβρυα από άλλα εργαστήρια ( 126 ).**

**ΚΥΡΙΟ ΜΕΡΟΣ**

ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΔΡΟΜΗ

ΤΙ ΕΙΝΑΙ ΕΞΩΣΩΜΑΤΙΚΗ (ορισμός)

ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ IVF- ΣΤΑΔΙΑ

* Αξιολόγηση κ διάγνωση υπογονιμότητας
* Βασικές εξετάσεις
* Πρωτόκολλα (Φυσικός κύκλος, πρόκληση ωοθυλακιορηξίας /+ IUI ενδομήτρια σπερματέγχυση)
* Παρακολούθηση ωοθυλακιορρηξίας με us
* Ωοληψία
* Επεξεργασία σπέρματος (\* ανδρική στειρότητα/ συλλογή σπέρματος TESA,TESE,MESA,PESE)
* Γονιμοποίηση ωαρίων
* Εμβρυομεταφορά
* Έλεγχος κύησης

ΕΝΙΣΧΥΣΗ ΜΕ ΑΛΛΕΣ ΤΕΧΝΙΚΕΣ

* ICSI ενδοκυτταροπλασματική ένεση σπέρματος-μικρογονιμοποίηση
* GIFT Gamete Intra fallopian Transfer (\*1 ανοιχτή σάλπιγγα)
* ZIFT Zygote Intra fallopian Transfer (\*1 ανοιχτή σάλπιγγα)
* Υποβοηθούμενη εκκόλαψη (PZD-μερική διάσπαση ζώνης,SUZI-υποζονική σπερματέγχυση)

ΟΔΗΓΙΕΣ ΓΙΑ ΑΡΙΘΜΟ ΜΕΤΑΦΟΡΑΣ ΕΜΒΡΥΩΝ

ΠΑΡΕΝΕΡΓΕΙΕΣ

ΠΡΟΕΜΦΥΤΕΥΤΙΚΗ ΔΙΑΓΝΩΣΗ PGD

ΚΑΤΑΨΥΞΗ ΓΕΝΕΤΙΚΟΥ ΥΛΙΚΟΥ

ΚΛΩΝΟΠΟΙΗΣΗ

**ΣΥΖΗΤΗΣΗ**

VF ΕΝΑΝΤΙ IUI

Να μπει στην περιληψη

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4278353/>

Η επιτυχής εμφύτευση απαιτεί συγχρονισμό μεταξύ της απόκτησης της ικανότητας εμφύτευσης από την βλαστοκύστη και μιας δεκτικής κατάστασης στο ενδομήτριο της μήτρας ( Dey et al., 2004 , Tranguch et al., 2005b , Wang and Dey, 2006 ). Αυτά τα δύο γεγονότα ρυθμίζονται με ακρίβεια από τις μητρικές ορμόνες, συγκεκριμένα το ωοθηκικό οιστρογόνο και την προγεστερόνη ( Conneely et al., 2002 , Curtis Hewitt et al., 2002). Τα μοριακά και γενετικά στοιχεία υποδεικνύουν ότι οι ωοθηκικές ορμόνες μαζί με τα τοπικά παραγόμενα μόρια σηματοδότησης, συμπεριλαμβανομένων των κυτοκινών, των αυξητικών παραγόντων, των μεταγραφικών παραγόντων homeobox, των μεσολαβητών λιπιδίων και των μορφογονικών γονιδίων, λειτουργούν μέσω αυτοκρινών αλληλεπιδράσεων και παρακρινών για να καθορίσουν τη σύνθετη διαδικασία εμφύτευσης ( Dey et al. ., 2004 ). Ωστόσο, το ιεραρχικό τοπίο των μονοπατιών μοριακής σηματοδότησης που διέπουν τις αλληλεπιδράσεις εμβρύου-ουρήθρας κατά τη διάρκεια της πρώιμης εγκυμοσύνης πρέπει να διερευνηθεί σε βάθος.

**ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ**

Ιατράκης Γ. Μ., Βιβλίο Γυναικολογίας, Εκδόσεις Δεσμός, Αθήνα 2006.

Βενετίκου Μ. Σ., Open Courses, Τ.Ε.Ι. Αθήνας, Νοσολογία, Αθήνα 2014.

Bayer R. Steven, M.D., Alper M. Michael, M.D., Penzias S. Alan, M.D., The Boston IVF Handbook of Infertility, 2nd Edition, Informa healthcare, Harvard Medical School Boston, MA USA 2007.

Cantineau AEP, Heineman MJ, Cohlen BJ. Single versus double intrauterine insemination (IUI) in stimulated cycles for subfertile couples, Cochrane Database Syst Rev , 2003 Art. No.: CD003854, doi:10.1002/14651858.CD003854

Mader S. Sylvia, Human Understanding Anatomy and Physiology, 5th Edition, Book on Demand, New York 2013.

Wang Christina, M.D., Swerdloff S. Ronald, M.D., Snyder J. Peter, M.D., Matsumoto M. Alvin, M.D., Martin A. Kathryn, M.D., Treatment of male infertility, UpToDate 2015.

Nieschlag E., Behre M. H., Nieschlag S., Andrology, Male Reproductive, Health and Dysfunction, 3rd Completely Revised and Updated Edition, Springer, Germany 2010.

Hamm B. and Forstner R., MRI and CT of the female pelvis, Springer Verlag, Berlin Heidelberg 2007.

Rae-Dupree Janet and Dupree Pat, Anatomy and Physiology Workbook for Dummies, Wiley Publishing, Inc., Indianapolis 2007.

Pack E. Phillip, Ph. D., Anatomy and Physiology, Hungry Minds, Inc., New York 2001.

Vander Sherman, M. D., Ph. D, Luciano, Ph. D., Τσακόπουλος Μ., Φυσιολογία του Ανθρώπου, Εκδόσεις Π. Χ. Πασχαλίδης, Αθήνα 2011.

Schunke M., Schulte E., Schumacher U., Βασική Περιγραφική Ανατομική ΙΙ, Εκδόσεις Π. Χ., Πασχαλίδης, Αθήνα 2007.

(2004). "Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome." Fertil Steril **81**(1): 19-25.

(2006). "Optimal evaluation of the infertile female." Fertility and Sterility **86**(5, Supplement): S264-S267.

Aboulghar, M. A., R. T. Mansour, G. I. Serour and H. G. Al-Inany (2003). "Diagnosis and management of unexplained infertility: an update." Arch Gynecol Obstet **267**(4): 177-188.

Ackert, C. L., J. E. Gittens, M. J. O'Brien, J. J. Eppig and G. M. Kidder (2001). "Intercellular communication via connexin43 gap junctions is required for ovarian folliculogenesis in the mouse." Dev Biol **233**(2): 258-270.

Adonakis, G., N. Deshpande, R. W. Yates and R. Fleming (1998). "Luteinizing hormone increases estradiol secretion but has no effect on progesterone concentrations in the late follicular phase of in vitro fertilization cycles in women treated with gonadotropin-releasing hormone agonist and follicle-stimulating hormone." Fertil Steril **69**(3): 450-453.

Agarwal, A., A. Aponte-Mellado, B. J. Premkumar, A. Shaman and S. Gupta (2012). "The effects of oxidative stress on female reproduction: a review." Reprod Biol Endocrinol **10**: 49.

Agarwal, A., K. Makker and R. Sharma (2008). "Clinical relevance of oxidative stress in male factor infertility: an update." Am J Reprod Immunol **59**(1): 2-11.

Agarwal, A. and T. M. Said (2003). "Role of sperm chromatin abnormalities and DNA damage in male infertility." Hum Reprod Update **9**(4): 331-345.

Agarwal, A., R. A. Saleh and M. A. Bedaiwy (2003). "Role of reactive oxygen species in the pathophysiology of human reproduction." Fertil Steril **79**(4): 829-843.

Al-Inany, H. G., M. A. Youssef, M. Aboulghar, F. Broekmans, M. Sterrenburg, J. Smit and A. M. Abou-Setta (2011). "GnRH antagonists are safer than agonists: an update of a Cochrane review." Hum Reprod Update **17**(4): 435.

Alama, P., J. Bellver, C. Vidal and J. Giles (2013). "GnRH analogues in the prevention of ovarian hyperstimulation syndrome." Int J Endocrinol Metab **11**(2): 107-116.

Alansari, L. M. and P. Wardle (2012). "Endometrial polyps and subfertility." Hum Fertil (Camb) **15**(3): 129-133.

Allersma, T., C. Farquhar and A. E. Cantineau (2013). "Natural cycle in vitro fertilisation (IVF) for subfertile couples." Cochrane Database Syst Rev(8): CD010550.

Alviggi, C., P. Humaidan and D. Ezcurra (2012). "Hormonal, functional and genetic biomarkers in controlled ovarian stimulation: tools for matching patients and protocols." Reprod Biol Endocrinol **10**: 9.

Amann, R. P. (2008). "The cycle of the seminiferous epithelium in humans: a need to revisit?" J Androl **29**(5): 469-487.

Awonuga, A., J. Waterstone, O. Oyesanya, R. Curson, G. Nargund and J. Parsons (1996). "A prospective randomized study comparing needles of different diameters for transvaginal ultrasound-directed follicle aspiration." Fertil Steril **65**(1): 109-113.

Badawy, A., A. Elnashar and M. Eltotongy (2009). "Effect of sperm morphology and number on success of intrauterine insemination." Fertility and Sterility **91**(3): 777-781.

Baird, D. D., D. B. Dunson, M. C. Hill, D. Cousins and J. M. Schectman (2003). "High cumulative incidence of uterine leiomyoma in black and white women: ultrasound evidence." Am J Obstet Gynecol **188**(1): 100-107.

Balaban, B., K. Yakin and B. Urman (2006). "Randomized comparison of two different blastocyst grading systems." Fertil Steril **85**(3): 559-563.

Beall, S. A. and A. DeCherney (2012). "History and challenges surrounding ovarian stimulation in the treatment of infertility." Fertility and Sterility **97**(4): 795-801.

Bedford, J. M. (2008). "Puzzles of mammalian fertilization--and beyond." Int J Dev Biol **52**(5-6): 415-426.

Behrman, H. R., P. H. Kodaman, S. L. Preston and S. Gao (2001). "Oxidative stress and the ovary." J Soc Gynecol Investig **8**(1 Suppl Proceedings): S40-42.

Benoff, S., A. Jacob and I. R. Hurley (2000). "Male infertility and environmental exposure to lead and cadmium." Hum Reprod Update **6**(2): 107-121.

Bigelow, J. L., D. B. Dunson, J. B. Stanford, R. Ecochard, C. Gnoth and B. Colombo (2004). "Mucus observations in the fertile window: a better predictor of conception than timing of intercourse." Hum Reprod **19**(4): 889-892.

Borum, K. (1961). "Oogenesis in the mouse. A study of the meiotic prophase." Exp Cell Res **24**: 495-507.

Bosch, E. and D. Ezcurra (2011). "Individualised controlled ovarian stimulation (iCOS): maximising success rates for assisted reproductive technology patients." Reprod Biol Endocrinol **9**: 82.

Bowles, J., D. Knight, C. Smith, D. Wilhelm, J. Richman, S. Mamiya, K. Yashiro, K. Chawengsaksophak, M. J. Wilson, J. Rossant, H. Hamada and P. Koopman (2006). "Retinoid signaling determines germ cell fate in mice." Science **312**(5773): 596-600.

Brennan, J. and B. Capel (2004). "One tissue, two fates: molecular genetic events that underlie testis versus ovary development." Nat Rev Genet **5**(7): 509-521.

Britt, K. L., P. K. Saunders, S. J. McPherson, M. L. Misso, E. R. Simpson and J. K. Findlay (2004). "Estrogen actions on follicle formation and early follicle development." Biol Reprod **71**(5): 1712-1723.

Bronson, R. (2011). "Biology of the male reproductive tract: its cellular and morphological considerations." Am J Reprod Immunol **65**(3): 212-219.

Bullejos, M., J. Bowles and P. Koopman (2002). "Extensive vascularization of developing mouse ovaries revealed by caveolin-1 expression." Dev Dyn **225**(1): 95-99.

Buttram, V. C., Jr. and R. C. Reiter (1981). "Uterine leiomyomata: etiology, symptomatology, and management." Fertil Steril **36**(4): 433-445.

Cao, W., G. L. Gerton and S. B. Moss (2006). "Proteomic profiling of accessory structures from the mouse sperm flagellum." Mol Cell Proteomics **5**(5): 801-810.

Capel, B., K. H. Albrecht, L. L. Washburn and E. M. Eicher (1999). "Migration of mesonephric cells into the mammalian gonad depends on Sry." Mech Dev **84**(1-2): 127-131.

Carrasco, G. A. and L. D. Van de Kar (2003). "Neuroendocrine pharmacology of stress." Eur J Pharmacol **463**(1-3): 235-272.

Casillas, F., M. Betancourt, C. Cuello, Y. Ducolomb, A. López, L. Juárez-Rojas and S. Retana-Márquez (2018). "An efficiency comparison of different in vitro fertilization methods: IVF, ICSI, and PICSI for embryo development to the blastocyst stage from vitrified porcine immature oocytes." Porcine Health Manag **4**.

Chandley, A. C. (1998). "Chromosome anomalies and Y chromosome microdeletions as causal factors in male infertility." Hum Reprod **13 Suppl 1**: 45-50.

Chason, R. J., J. Csokmay, J. H. Segars, A. H. DeCherney and D. R. Armant (2011). "Environmental and epigenetic effects upon preimplantation embryo metabolism and development." Trends in endocrinology and metabolism: TEM **22**(10): 412-420.

Chemes, H. E., S. Brugo, F. Zanchetti, C. Carrere and J. C. Lavieri (1987). "Dysplasia of the fibrous sheath: an ultrastructural defect of human spermatozoa associated with sperm immotility and primary sterility." Fertil Steril **48**(4): 664-669.

Chiu, W. W. and L. W. Chamley (2004). "Clinical associations and mechanisms of action of antisperm antibodies." Fertil Steril **82**(3): 529-535.

Christianson, M. S., H. Wu, Y. Zhao, M. Yemini, M. Leong and Z. Shoham (2015). "Metformin use in patients undergoing in vitro fertilization treatment: results of a worldwide web-based survey." J Assist Reprod Genet **32**(3): 401-406.

Ciavattini, A., J. Di Giuseppe, P. Stortoni, N. Montik, S. R. Giannubilo, P. Litta, M. S. Islam, A. L. Tranquilli, F. M. Reis and P. Ciarmela (2013). "Uterine fibroids: pathogenesis and interactions with endometrium and endomyometrial junction." Obstet Gynecol Int **2013**: 173184.

Clarke, G. N. (2006). "A.R.T. and history, 1678-1978." Hum Reprod **21**(7): 1645-1650.

Clarke, G. N., A. Lopata, J. C. McBain, H. W. Baker and W. I. Johnston (1985). "Effect of sperm antibodies in males on human in vitro fertilization (IVF)." Am J Reprod Immunol Microbiol **8**(2): 62-66.

Couse, J. F., S. C. Hewitt, D. O. Bunch, M. Sar, V. R. Walker, B. J. Davis and K. S. Korach (1999). "Postnatal sex reversal of the ovaries in mice lacking estrogen receptors alpha and beta." Science **286**(5448): 2328-2331.

Creanga, A. A., H. M. Bradley, C. McCormick and C. T. Witkop (2008). "Use of metformin in polycystic ovary syndrome: a meta-analysis." Obstet Gynecol **111**(4): 959-968.

Crist, B. L., D. L. Alekel, L. M. Ritland, L. N. Hanson, U. Genschel and M. B. Reddy (2009). "Association of oxidative stress, iron, and centralized fat mass in healthy postmenopausal women." J Womens Health (Larchmt) **18**(6): 795-801.

Cummings, A. M. and R. J. Kavlock (2004). "Function of sexual glands and mechanism of sex differentiation." J Toxicol Sci **29**(3): 167-178.

D'Cruz, O. J., G. G. Haas, Jr., B. L. Wang and L. E. DeBault (1991). "Activation of human complement by IgG antisperm antibody and the demonstration of C3 and C5b-9-mediated immune injury to human sperm." J Immunol **146**(2): 611-620.

D'Hooghe, T. M., S. Debrock, J. A. Hill and C. Meuleman (2003). "Endometriosis and subfertility: is the relationship resolved?" Semin Reprod Med **21**(2): 243-254.

Dam, A. H., I. Koscinski, J. A. Kremer, C. Moutou, A. S. Jaeger, A. R. Oudakker, H. Tournaye, N. Charlet, C. Lagier-Tourenne, H. van Bokhoven and S. Viville (2007). "Homozygous mutation in SPATA16 is associated with male infertility in human globozoospermia." Am J Hum Genet **81**(4): 813-820.

Davar, R., M. Rahsepar and E. Rahmani (2013). "A comparative study of luteal estradiol pre-treatment in GnRH antagonist protocols and in micro dose flare protocols for poor-responding patients." Arch Gynecol Obstet **287**(1): 149-153.

De Filippo, R. E., C. E. Bishop, L. F. Filho, J. J. Yoo and A. Atala (2008). "Tissue engineering a complete vaginal replacement from a small biopsy of autologous tissue." Transplantation **86**(2): 208-214.

De Muylder, X. and J. Lord (1984). "[Sterility of immunologic origin]." Can Med Assoc J **130**(10): 1296-1301.

Dey, S. K., H. Lim, S. K. Das, J. Reese, B. C. Paria, T. Daikoku and H. Wang (2004). "Molecular cues to implantation." Endocr Rev **25**(3): 341-373.

Di Pasquale, E., P. Beck-Peccoz and L. Persani (2004). "Hypergonadotropic ovarian failure associated with an inherited mutation of human bone morphogenetic protein-15 (BMP15) gene." Am J Hum Genet **75**(1): 106-111.

Dierich, A., M. R. Sairam, L. Monaco, G. M. Fimia, A. Gansmuller, M. LeMeur and P. Sassone-Corsi (1998). "Impairing follicle-stimulating hormone (FSH) signaling in vivo: targeted disruption of the FSH receptor leads to aberrant gametogenesis and hormonal imbalance." Proc Natl Acad Sci U S A **95**(23): 13612-13617.

Dieterich, K., R. Soto Rifo, A. K. Faure, S. Hennebicq, B. Ben Amar, M. Zahi, J. Perrin, D. Martinez, B. Sele, P. S. Jouk, T. Ohlmann, S. Rousseaux, J. Lunardi and P. F. Ray (2007). "Homozygous mutation of AURKC yields large-headed polyploid spermatozoa and causes male infertility." Nat Genet **39**(5): 661-665.

Durlinger, A. L., M. J. Gruijters, P. Kramer, B. Karels, H. A. Ingraham, M. W. Nachtigal, J. T. Uilenbroek, J. A. Grootegoed and A. P. Themmen (2002). "Anti-Mullerian hormone inhibits initiation of primordial follicle growth in the mouse ovary." Endocrinology **143**(3): 1076-1084.

Durlinger, A. L., P. Kramer, B. Karels, F. H. de Jong, J. T. Uilenbroek, J. A. Grootegoed and A. P. Themmen (1999). "Control of primordial follicle recruitment by anti-Mullerian hormone in the mouse ovary." Endocrinology **140**(12): 5789-5796.

Eddy, E. M., K. Toshimori and D. A. O'Brien (2003). "Fibrous sheath of mammalian spermatozoa." Microsc Res Tech **61**(1): 103-115.

Eggert-Kruse, W., G. Rohr, T. Demirakca, R. Rusu, H. Naher, D. Petzoldt and B. Runnebaum (1997). "Chlamydial serology in 1303 asymptomatic subfertile couples." Hum Reprod **12**(7): 1464-1475.

el Hussein, E., A. H. Balen and S. L. Tan (1992). "A prospective study comparing the outcome of oocytes retrieved in the aspirate with those retrieved in the flush during transvaginal ultrasound directed oocyte recovery for in-vitro fertilization." Br J Obstet Gynaecol **99**(10): 841-844.

Eppig, J. J. (2001). "Oocyte control of ovarian follicular development and function in mammals." Reproduction **122**(6): 829-838.

Evers, J. L. (2002). "Female subfertility." Lancet **360**(9327): 151-159.

Filho, E. S., J. A. Noble and D. Wells (2010). "A Review on Automatic Analysis of Human Embryo Microscope Images." The Open Biomedical Engineering Journal **4**: 170-177.

Francavilla, F., R. Santucci, A. Barbonetti and S. Francavilla (2007). "Naturally-occurring antisperm antibodies in men: interference with fertility and clinical implications. An update." Front Biosci **12**: 2890-2911.

Garrido, N., M. Meseguer, C. Simon, A. Pellicer and J. Remohi (2004). "Pro-oxidative and anti-oxidative imbalance in human semen and its relation with male fertility." Asian J Androl **6**(1): 59-65.

Geber, S., B. B. Coimbra, G. P. Geber and M. Sampaio (2014). "Birth of a normal child after in vitro fertilization treatment followed by dengue fever." Arch Gynecol Obstet **290**(5): 1037-1039.

Gekas, J., F. Thepot, C. Turleau, J. P. Siffroi, J. P. Dadoune, S. Briault, M. Rio, G. Bourouillou, F. Carre-Pigeon, R. Wasels and B. Benzacken (2001). "Chromosomal factors of infertility in candidate couples for ICSI: an equal risk of constitutional aberrations in women and men." Hum Reprod **16**(1): 82-90.

Gerris, J., A. Delvigne, N. Dhont, F. Vandekerckhove, B. Madoc, M. Buyle, J. Neyskens, E. Deschepper, D. De Bacquer, L. Pil, L. Annemans, W. Verpoest and P. De Sutter (2014). "Self-operated endovaginal telemonitoring versus traditional monitoring of ovarian stimulation in assisted reproduction: an RCT." Hum Reprod **29**(9): 1941-1948.

Giudice, L. C. and L. C. Kao (2004). "Endometriosis." Lancet **364**(9447): 1789-1799.

Gnoth, C., A. N. Schuring, K. Friol, J. Tigges, P. Mallmann and E. Godehardt (2008). "Relevance of anti-Mullerian hormone measurement in a routine IVF program." Hum Reprod **23**(6): 1359-1365.

Gremeau, A.-S., N. Andreadis, M. Fatum, J. Craig, K. Turner, E. McVeigh and T. Child (2012). "In vitro maturation or in vitro fertilization for women with polycystic ovaries? A case–control study of 194 treatment cycles." Fertility and Sterility **98**(2): 355-360.

Gruber, I. and M. Klein (2011). "Embryo culture media for human IVF: which possibilities exist?" J Turk Ger Gynecol Assoc **12**(2): 110-117.

Gunby, J., F. Bissonnette, C. Librach and L. Cowan (2010). "Assisted reproductive technologies (ART) in Canada: 2006 results from the Canadian ART Register." Fertil Steril **93**(7): 2189-2201.

Guzick, D. S., M. W. Sullivan, G. D. Adamson, M. I. Cedars, R. J. Falk, E. P. Peterson and M. P. Steinkampf (1998). "Efficacy of treatment for unexplained infertility." Fertil Steril **70**(2): 207-213.

Haas, J., L. Ophir, E. Barzilay, G. M. Yerushalmi, Y. Yung, A. Kedem, E. Maman and A. Hourvitz (2014). "GnRH agonist vs. hCG for triggering of ovulation--differential effects on gene expression in human granulosa cells." PLoS One **9**(3): e90359.

Habib, K. E., P. W. Gold and G. P. Chrousos (2001). "Neuroendocrinology of stress." Endocrinol Metab Clin North Am **30**(3): 695-728; vii-viii.

Hamada, A., A. Agarwal, R. Sharma, D. B. French, A. Ragheb and E. S. Sabanegh, Jr. (2011). "Empirical treatment of low-level leukocytospermia with doxycycline in male infertility patients." Urology **78**(6): 1320-1325.

Hamada, A., S. C. Esteves, M. Nizza and A. Agarwal (2012). "Unexplained male infertility: diagnosis and management." Int Braz J Urol **38**(5): 576-594.

Hardiman, P., O. C. Pillay and W. Atiomo (2003). "Polycystic ovary syndrome and endometrial carcinoma." Lancet **361**(9371): 1810-1812.

Hashimoto, N., R. Kubokawa, K. Yamazaki, M. Noguchi and Y. Kato (1990). "Germ cell deficiency causes testis cord differentiation in reconstituted mouse fetal ovaries." J Exp Zool **253**(1): 61-70.

Hatirnaz, S. and B. Ata (2018). "Oocyte in vitro maturation: A sytematic review." **15**(2): 112-125.

Holdcraft, R. W. and R. E. Braun (2004). "Hormonal regulation of spermatogenesis." Int J Androl **27**(6): 335-342.

Holoch, K. J. and B. A. Lessey (2010). "Endometriosis and infertility." Clin Obstet Gynecol **53**(2): 429-438.

Hortas, M. L., J. A. Castilla, M. T. Gil, F. Samaniego, M. Morell and M. Redondo (2001). "Alterations in sperm protein phosphorylation in male infertility." Andrologia **33**(5): 282-286.

Hovatta, O., R. Silye, R. Abir, T. Krausz and R. M. Winston (1997). "Extracellular matrix improves survival of both stored and fresh human primordial and primary ovarian follicles in long-term culture." Human Reproduction **12**(5): 1032-1036.

Howles, C. M., H. Saunders, V. Alam and P. Engrand (2006). "Predictive factors and a corresponding treatment algorithm for controlled ovarian stimulation in patients treated with recombinant human follicle stimulating hormone (follitropin alfa) during assisted reproduction technology (ART) procedures. An analysis of 1378 patients." Curr Med Res Opin **22**(5): 907-918.

Hreinsson, J. G., J. E. Scott, C. Rasmussen, M. L. Swahn, A. J. Hsueh and O. Hovatta (2002). "Growth differentiation factor-9 promotes the growth, development, and survival of human ovarian follicles in organ culture." J Clin Endocrinol Metab **87**(1): 316-321.

Hubertus, J., M. Lacher, M. Rottenkolber, J. Muller-Hocker, M. Berger, M. Stehr, D. von Schweinitz and R. Kappler (2011). "Altered expression of imprinted genes in Wilms tumors." Oncol Rep **25**(3): 817-823.

Hull, M. G., C. M. Glazener, N. J. Kelly, D. I. Conway, P. A. Foster, R. A. Hinton, C. Coulson, P. A. Lambert, E. M. Watt and K. M. Desai (1985). "Population study of causes, treatment, and outcome of infertility." Br Med J (Clin Res Ed) **291**(6510): 1693-1697.

Hunault, C. C., J. D. Habbema, M. J. Eijkemans, J. A. Collins, J. L. Evers and E. R. te Velde (2004). "Two new prediction rules for spontaneous pregnancy leading to live birth among subfertile couples, based on the synthesis of three previous models." Hum Reprod **19**(9): 2019-2026.

Hurtgen, J. P. (1982). "Reproductive diseases." Vet Clin North Am Large Anim Pract **4**(2): 277-299.

Isaksson, R. and A. Tiitinen (1998). "Obstetric outcome in patients with unexplained infertility: comparison of treatment-related and spontaneous pregnancies." Acta Obstet Gynecol Scand **77**(8): 849-853.

Isaksson, R. and A. Tiitinen (2004). "Present concept of unexplained infertility." Gynecol Endocrinol **18**(5): 278-290.

Islam, M. S., O. Protic, P. Stortoni, G. Grechi, P. Lamanna, F. Petraglia, M. Castellucci and P. Ciarmela (2013). "Complex networks of multiple factors in the pathogenesis of uterine leiomyoma." Fertil Steril **100**(1): 178-193.

Jarry, H., S. Leonhardt and W. Wuttke (1989). "Biochemistry of the LHRH pulse generator: a concept for induction of synchronous, phasic activity of LHRH neurons." The menstrual cycle and its disorders: 17-25.

Juengel, J. L., N. L. Hudson, D. A. Heath, P. Smith, K. L. Reader, S. B. Lawrence, A. R. O'Connell, M. P. Laitinen, M. Cranfield, N. P. Groome, O. Ritvos and K. P. McNatty (2002). "Growth differentiation factor 9 and bone morphogenetic protein 15 are essential for ovarian follicular development in sheep." Biol Reprod **67**(6): 1777-1789.

Julania, S., M. L. Walls and R. Hart (2018). "The Place of In Vitro Maturation in PCO/PCOS." **2018**: 5750298.

Jungheim, E. S., M. F. Meyer and D. E. Broughton (2015). "Best practices for controlled ovarian stimulation in in vitro fertilization." Semin Reprod Med **33**(2): 77-82.

Kahn, J. A., A. Sunde, A. Koskemies, V. von During, T. Sordal, F. Christensen and K. Molne (1993). "Fallopian tube sperm perfusion (FSP) versus intra-uterine insemination (IUI) in the treatment of unexplained infertility: a prospective randomized study." Hum Reprod **8**(6): 890-894.

Kamel, R. M. (2013). "Assisted reproductive technology after the birth of louise brown." J Reprod Infertil **14**(3): 96-109.

Kao, S.-H., H. Chao, H.-W. Liu, T.-L. Liao and Y.-H. Wei (2004). Sperm mitochondrial DNA depletion in men with asthenospermia.

Karimzade, M. A., H. Oskouian, S. Ahmadi and L. Oskouian (2010). "Local injury to the endometrium on the day of oocyte retrieval has a negative impact on implantation in assisted reproductive cycles: a randomized controlled trial." Arch Gynecol Obstet **281**(3): 499-503.

Keith L. Parker, Andreas Schedl and B. P. Schimmer (1999). "GENE INTERACTIONS IN GONADAL DEVELOPMENT." Annual Review of Physiology **61**(1): 417-433.

Knight, P. G. and C. Glister (2006). "TGF-beta superfamily members and ovarian follicle development." Reproduction **132**(2): 191-206.

Koopman, P., A. Munsterberg, B. Capel, N. Vivian and R. Lovell-Badge (1990). "Expression of a candidate sex-determining gene during mouse testis differentiation." Nature **348**(6300): 450-452.

Koubova, J., D. B. Menke, Q. Zhou, B. Capel, M. D. Griswold and D. C. Page (2006). "Retinoic acid regulates sex-specific timing of meiotic initiation in mice." Proc Natl Acad Sci U S A **103**(8): 2474-2479.

Kreidberg, J. A., H. Sariola, J. M. Loring, M. Maeda, J. Pelletier, D. Housman and R. Jaenisch (1993). "WT-1 is required for early kidney development." Cell **74**(4): 679-691.

Krisfalusi, M., K. Miki, P. L. Magyar and D. A. O'Brien (2006). "Multiple glycolytic enzymes are tightly bound to the fibrous sheath of mouse spermatozoa." Biol Reprod **75**(2): 270-278.

Kruger, T. F., A. A. Acosta, K. F. Simmons, R. J. Swanson, J. F. Matta and S. Oehninger (1988). "Predictive value of abnormal sperm morphology in in vitro fertilization." Fertil Steril **49**(1): 112-117.

Krysiewicz, S. (1992). "Infertility in women: diagnostic evaluation with hysterosalpingography and other imaging techniques." AJR Am J Roentgenol **159**(2): 253-261.

Lainas, T. G., I. A. Sfontouris, I. Z. Zorzovilis, G. K. Petsas, G. T. Lainas, E. Alexopoulou and E. M. Kolibianakis (2010). "Flexible GnRH antagonist protocol versus GnRH agonist long protocol in patients with polycystic ovary syndrome treated for IVF: a prospective randomised controlled trial (RCT)." Hum Reprod **25**(3): 683-689.

Land, J. A., J. L. Evers and V. J. Goossens (1998). "How to use Chlamydia antibody testing in subfertility patients." Hum Reprod **13**(4): 1094-1098.

Lass, A., G. Williams, N. Abusheikha and P. Brinsden (1999). "The effect of endometrial polyps on outcomes of in vitro fertilization (IVF) cycles." J Assist Reprod Genet **16**(8): 410-415.

Lee, W. S., F. Otsuka, R. K. Moore and S. Shimasaki (2001). "Effect of bone morphogenetic protein-7 on folliculogenesis and ovulation in the rat." Biol Reprod **65**(4): 994-999.

Legro, R. S., R. G. Brzyski, M. P. Diamond, C. Coutifaris, W. D. Schlaff, P. Casson, G. M. Christman, H. Huang, Q. Yan, R. Alvero, D. J. Haisenleder, K. T. Barnhart, G. W. Bates, R. Usadi, S. Lucidi, V. Baker, J. C. Trussell, S. A. Krawetz, P. Snyder, D. Ohl, N. Santoro, E. Eisenberg and H. Zhang (2014). "Letrozole versus clomiphene for infertility in the polycystic ovary syndrome." N Engl J Med **371**(2): 119-129.

Leung, A., J. Mira and W. Hsiao (2014). "Updates on sperm retrieval techniques." Transl Androl Urol **3**(1): 94-101.

Leung, A. S., M. H. Dahan and S. L. Tan (2016). "Techniques and technology for human oocyte collection." Expert Rev Med Devices **13**(8): 701-703.

Levi, M., Y. Ghetler, A. Shulman and R. Shalgi (2013). "Morphological and molecular markers are correlated with maturation-competence of human oocytes." Hum Reprod **28**(9): 2482-2489.

Li, H. G., X. F. Ding, A. H. Liao, X. B. Kong and C. L. Xiong (2007). "Expression of CatSper family transcripts in the mouse testis during post-natal development and human ejaculated spermatozoa: relationship to sperm motility." Mol Hum Reprod **13**(5): 299-306.

López, M. J., D. García, A. Rodríguez, M. Colodrón, R. Vassena and V. Vernaeve (2014). "Individualized embryo transfer training: timing and performance." Human Reproduction **29**(7): 1432-1437.

Machtinger, R., C. M. Combelles, S. A. Missmer, K. F. Correia, P. Williams, R. Hauser and C. Racowsky (2013). "Bisphenol-A and human oocyte maturation in vitro." Hum Reprod **28**(10): 2735-2745.

Magoffin, D. A. (2005). "Ovarian theca cell." Int J Biochem Cell Biol **37**(7): 1344-1349.

Malki, S., P. Berta, F. Poulat and B. Boizet-Bonhoure (2005). "Cytoplasmic retention of the sex-determining factor SOX9 via the microtubule network." Exp Cell Res **309**(2): 468-475.

Malmusi, S., A. La Marca, S. Giulini, S. Xella, D. Tagliasacchi, T. Marsella and A. Volpe (2005). "Comparison of a gonadotropin-releasing hormone (GnRH) antagonist and GnRH agonist flare-up regimen in poor responders undergoing ovarian stimulation." Fertil Steril **84**(2): 402-406.

Mandelbaum, S. L., M. P. Diamond and A. H. DeCherney (1987). "The impact of antisperm antibodies on human infertility." J Urol **138**(1): 1-8.

Mandelbaum, S. L., M. P. Diamond and A. H. DeCherney (1989). "Relationship of antibodies to sperm head to etiology of infertility in patients undergoing in vitro fertilization/embryo transfer." Am J Reprod Immunol **19**(1): 3-5.

Marci, R., D. Caserta, V. Dolo, C. Tatone, A. Pavan and M. Moscarini (2005). "GnRH antagonist in IVF poor-responder patients: results of a randomized trial." Reprod Biomed Online **11**(2): 189-193.

Marty, M. S., R. E. Chapin, L. G. Parks and B. A. Thorsrud (2003). "Development and maturation of the male reproductive system." Birth Defects Research Part B: Developmental and Reproductive Toxicology **68**(2): 125-136.

Mattsson, P. and A. Medvedev (2015). "Modeling of testosterone regulation by pulse-modulated feedback." Adv Exp Med Biol **823**: 23-40.

Matzuk, M. M. and D. J. Lamb (2008). "The biology of infertility: research advances and clinical challenges." Nat Med **14**(11): 1197-1213.

Mazumdar, S. and A. S. Levine (1998). "Antisperm antibodies: etiology, pathogenesis, diagnosis, and treatment." Fertil Steril **70**(5): 799-810.

Mc, K. D., A. T. Hertig, E. C. Adams and S. Danziger (1953). "Histochemical observations on the germ cells of human embryos." Anat Rec **117**(2): 201-219.

McLachlan, R. I., C. Mallidis, K. Ma, S. Bhasin and D. M. de Kretser (1998). "Genetic disorders and spermatogenesis." Reprod Fertil Dev **10**(1): 97-104.

McLaughlin, M., J. J. Bromfield, D. F. Albertini and E. E. Telfer (2010). "Activin promotes follicular integrity and oogenesis in cultured pre-antral bovine follicles." Mol Hum Reprod **16**(9): 644-653.

Morcos, R. N., W. E. Gibbons and W. E. Findley (1985). "Effect of peritoneal fluid on in vitro cleavage of 2-cell mouse embryos: possible role in infertility associated with endometriosis." Fertil Steril **44**(5): 678-683.

Morita, Y., T. F. Manganaro, X. J. Tao, S. Martimbeau, P. K. Donahoe and J. L. Tilly (1999). "Requirement for phosphatidylinositol-3'-kinase in cytokine-mediated germ cell survival during fetal oogenesis in the mouse." Endocrinology **140**(2): 941-949.

Munck, A., P. M. Guyre and N. J. Holbrook (1984). "Physiological functions of glucocorticoids in stress and their relation to pharmacological actions." Endocr Rev **5**(1): 25-44.

National Collaborating Centre for, W. s. and H. Children's (2013). National Institute for Health and Clinical Excellence: Guidance. Fertility: Assessment and Treatment for People with Fertility Problems. London, Royal College of Obstetricians & Gynaecologists

National Collaborating Centre for Women's and Children's Health.

Navarro, B., Y. Kirichok and D. E. Clapham (2007). "KSper, a pH-sensitive K+ current that controls sperm membrane potential." Proc Natl Acad Sci U S A **104**(18): 7688-7692.

Neri, Q. V., B. Lee, Z. Rosenwaks, K. Machaca and G. D. Palermo (2014). "Understanding fertilization through intracytoplasmic sperm injection (ICSI)." Cell calcium **55**(1): 24-37.

Niakan, K. K., J. Han, R. A. Pedersen, C. Simon and R. A. R. Pera (2012). "Human pre-implantation embryo development." Development (Cambridge, England) **139**(5): 829-841.

Nikpoor, P., S. J. Mowla, M. Movahedin, S. A. Ziaee and T. Tiraihi (2004). "CatSper gene expression in postnatal development of mouse testis and in subfertile men with deficient sperm motility." Hum Reprod **19**(1): 124-128.

Nilsson, E. E. and M. K. Skinner (2003). "Bone morphogenetic protein-4 acts as an ovarian follicle survival factor and promotes primordial follicle development." Biol Reprod **69**(4): 1265-1272.

Nilsson, E. E. and M. K. Skinner (2004). "Kit ligand and basic fibroblast growth factor interactions in the induction of ovarian primordial to primary follicle transition." Mol Cell Endocrinol **214**(1-2): 19-25.

Oehninger, S. (2011). "Poor responders in in vitro fertilization (IVF) therapy: the challenge continues." Facts Views Vis Obgyn **3**(2): 101-108.

Oktay, K., D. Briggs and R. G. Gosden (1997). "Ontogeny of follicle-stimulating hormone receptor gene expression in isolated human ovarian follicles." J Clin Endocrinol Metab **82**(11): 3748-3751.

Oktay, K., G. Karlikaya, O. Akman, G. K. Ojakian and M. Oktay (2000). "Interaction of extracellular matrix and activin-A in the initiation of follicle growth in the mouse ovary." Biol Reprod **63**(2): 457-461.

Oktay, K., H. Newton, J. Mullan and R. G. Gosden (1998). "Development of human primordial follicles to antral stages in SCID/hpg mice stimulated with follicle stimulating hormone." Hum Reprod **13**(5): 1133-1138.

Oktay, K., O. Oktem, A. Reh and L. Vahdat (2006). "Measuring the impact of chemotherapy on fertility in women with breast cancer." J Clin Oncol **24**(24): 4044-4046.

Oktem, O. and K. Oktay (2007). "The role of extracellular matrix and activin-A in in vitro growth and survival of murine preantral follicles." Reprod Sci **14**(4): 358-366.

Oktem, O. and K. Oktay (2008). "The ovary: anatomy and function throughout human life." Ann N Y Acad Sci **1127**: 1-9.

Okun, N. and S. Sierra (2014). "Pregnancy outcomes after assisted human reproduction." J Obstet Gynaecol Can **36**(1): 64-83.

Olive, D. L. and E. A. Pritts (2001). "Treatment of endometriosis." N Engl J Med **345**(4): 266-275.

Olive, D. L. and L. B. Schwartz (1993). "Endometriosis." N Engl J Med **328**(24): 1759-1769.

Ombelet, W., N. Dhont, A. Thijssen, E. Bosmans and T. Kruger (2014). "Semen quality and prediction of IUI success in male subfertility: a systematic review." Reproductive BioMedicine Online **28**(3): 300-309.

Opitz, J. M., S. S. Shapiro and D. T. Uehling (1979). "Genetic causes and workup of male and female infertility. 2. Abnormalities presenting between birth and adult life." Postgrad Med **65**(6): 157-162, 164, 166.

Opitz, J. M., S. S. Shapiro and D. T. Uehling (1979). "Genetic causes and workup of male and female infertility. 3. Details of the clinical evaluation." Postgrad Med **66**(1): 129-136.

Oral, E., A. Arici, D. L. Olive and G. Huszar (1996). "Peritoneal fluid from women with moderate or severe endometriosis inhibits sperm motility: the role of seminal fluid components." Fertil Steril **66**(5): 787-792.

Orvieto, R. and N. Laufer (2014). "Ultrashort flare gonadotropin-releasing hormone (GnRH) agonist/GnRH antagonist protocol: a valuable tool in the armamentarium of ovulation induction for in vitro fertilization." Fertility and Sterility **102**(5): 1254-1255.

Ota, H., S. Igarashi, N. Kato and T. Tanaka (2000). "Aberrant expression of glutathione peroxidase in eutopic and ectopic endometrium in endometriosis and adenomyosis." Fertil Steril **74**(2): 313-318.

Ota, H., S. Igarashi, N. Sato, H. Tanaka and T. Tanaka (2002). "Involvement of catalase in the endometrium of patients with endometriosis and adenomyosis." Fertil Steril **78**(4): 804-809.

Palini, S., M. Primiterra, S. De Stefani, M. F. Pedna, M. Sparacino, P. Farabegoli, S. Benedetti, C. Bulletti and V. Sambri (2016). "A new micro swim-up procedure for sperm preparation in ICSI treatments: preliminary microbiological testing." JBRA Assisted Reproduction **20**(3): 94-98.

Pask, A. (2016). "The Reproductive System." Adv Exp Med Biol **886**: 1-12.

Pask, A. J., N. E. Calatayud, G. Shaw, W. M. Wood and M. B. Renfree (2010). "Oestrogen blocks the nuclear entry of SOX9 in the developing gonad of a marsupial mammal." BMC Biol **8**: 113.

Petersen, B. H., C. J. Lammel, D. P. Stites and G. F. Brooks (1980). "Human seminal plasma inhibition of complement." J Lab Clin Med **96**(4): 582-591.

Pierik, F. H., J. T. Vreeburg, T. Stijnen, F. H. De Jong and R. F. Weber (1998). "Serum inhibin B as a marker of spermatogenesis." J Clin Endocrinol Metab **83**(9): 3110-3114.

Pigny, P., E. Merlen, Y. Robert, C. Cortet-Rudelli, C. Decanter, S. Jonard and D. Dewailly (2003). "Elevated serum level of anti-mullerian hormone in patients with polycystic ovary syndrome: relationship to the ovarian follicle excess and to the follicular arrest." J Clin Endocrinol Metab **88**(12): 5957-5962.

Pongsuthirak, P., S. Songveeratham and T. Vutyavanich (2015). "Comparison of blastocyst and Sage media for in vitro maturation of human immature oocytes." Reprod Sci **22**(3): 343-346.

Poongothai, J., T. S. Gopenath and S. Manonayaki (2009). "Genetics of human male infertility." Singapore Med J **50**(4): 336-347.

Pritts, E. A., W. H. Parker and D. L. Olive (2009). "Fibroids and infertility: an updated systematic review of the evidence." Fertil Steril **91**(4): 1215-1223.

Quill, T. A., D. Wang and D. L. Garbers (2006). "Insights into sperm cell motility signaling through sNHE and the CatSpers." Mol Cell Endocrinol **250**(1-2): 84-92.

R., S. (1972). "The incidence and significance of early carcinomas in endometrial polyps." The Journal of Pathology **108**(1): 47-53.

Rabinson, J., S. Meltcer, E. Zohav, O. Gemer, E. Y. Anteby and R. Orvieto (2008). "GnRH agonist versus GnRH antagonist in ovarian stimulation: the influence of body mass index on in vitro fertilization outcome." Fertil Steril **89**(2): 472-474.

Raine-Fenning, N., S. Deb, K. Jayaprakasan, J. Clewes, J. Hopkisson and B. Campbell (2010). "Timing of oocyte maturation and egg collection during controlled ovarian stimulation: a randomized controlled trial evaluating manual and automated measurements of follicle diameter." Fertil Steril **94**(1): 184-188.

Rajkovic, A., S. A. Pangas, D. Ballow, N. Suzumori and M. M. Matzuk (2004). "NOBOX deficiency disrupts early folliculogenesis and oocyte-specific gene expression." Science **305**(5687): 1157-1159.

Richlin, S. S., S. Ramachandran, A. Shanti, A. A. Murphy and S. Parthasarathy (2002). "Glycodelin levels in uterine flushings and in plasma of patients with leiomyomas and polyps: implications for implantation." Human Reproduction **17**(10): 2742-2747.

Roberts, L. M., J. Shen and H. A. Ingraham (1999). "New Solutions to an Ancient Riddle: Defining the Differences between Adam and Eve." The American Journal of Human Genetics **65**(4): 933-942.

Robins, J. C. and S. A. Carson (2008). "Female fertility: what every urologist must understand." Urol Clin North Am **35**(2): 173-181, vii.

Rosner, J. M., C. A. Nagle, N. P. de Laborde, E. Pedroza, A. Badano, P. R. F. Casas and M. Carril (1976). "Plasma levels of norepinephrine (NE) during the periovulatory period and after LH-RH stimulation in women." American Journal of Obstetrics and Gynecology **124**(6): 567-572.

Rossi, P., S. Dolci, C. Albanesi, P. Grimaldi and R. Geremia (1993). "Direct evidence that the mouse sex-determining gene Sry is expressed in the somatic cells of male fetal gonads and in the germ cell line in the adult testis." Mol Reprod Dev **34**(4): 369-373.

Ruder, E. H., T. J. Hartman and M. B. Goldman (2009). "Impact of oxidative stress on female fertility." Curr Opin Obstet Gynecol **21**(3): 219-222.

Russell, L. D., N. K. Saxena and T. T. Turner (1989). "Cytoskeletal involvement in spermiation and sperm transport." Tissue Cell **21**(3): 361-379.

Saleh, R. A., A. Agarwal, R. K. Sharma, D. R. Nelson and A. J. Thomas, Jr. (2002). "Effect of cigarette smoking on levels of seminal oxidative stress in infertile men: a prospective study." Fertil Steril **78**(3): 491-499.

Saling, P. M. (1982). "Development of the ability to bind to zonae pellucidae during epididymal maturation: reversible immobilization of mouse-spermatozoa by lanthanum." Biol Reprod **26**(3): 429-436.

Salmon, A. B., A. Richardson and V. I. Perez (2010). "Update on the oxidative stress theory of aging: does oxidative stress play a role in aging or healthy aging?" Free Radic Biol Med **48**(5): 642-655.

Sanchez, F., S. Romero, M. De Vos, G. Verheyen and J. Smitz (2015). "Human cumulus-enclosed germinal vesicle oocytes from early antral follicles reveal heterogeneous cellular and molecular features associated with in vitro maturation capacity." Hum Reprod **30**(6): 1396-1409.

Scarpa, B., D. B. Dunson and E. Giacchi (2007). "Bayesian selection of optimal rules for timing intercourse to conceive by using calendar and mucus." Fertil Steril **88**(4): 915-924.

Schenker, J. G., D. Meirow and E. Schenker (1992). "Stress and human reproduction." Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol **45**(1): 1-8.

Schmahl, J., E. M. Eicher, L. L. Washburn and B. Capel (2000). "Sry induces cell proliferation in the mouse gonad." Development **127**(1): 65-73.

Schwabe, G. C., K. Hoffmann, N. T. Loges, D. Birker, C. Rossier, M. M. de Santi, H. Olbrich, M. Fliegauf, M. Failly, U. Liebers, M. Collura, G. Gaedicke, S. Mundlos, U. Wahn, J. L. Blouin, B. Niggemann, H. Omran, S. E. Antonarakis and L. Bartoloni (2008). "Primary ciliary dyskinesia associated with normal axoneme ultrastructure is caused by DNAH11 mutations." Hum Mutat **29**(2): 289-298.

Schwartz, J. (1982). "Biochemical control mechanism in synaptic transmission." Principles of Natural Science: 129-130.

Seibel, M. M. and M. L. Taymor (1982). "Emotional aspects of infertility." Fertility and Sterility **37**(2): 137-145.

Sekido, R. and R. Lovell-Badge (2008). "Sex determination involves synergistic action of SRY and SF1 on a specific Sox9 enhancer." Nature **453**(7197): 930-934.

Selevan, S. G., L. Borkovec, V. L. Slott, Z. Zudova, J. Rubes, D. P. Evenson and S. D. Perreault (2000). "Semen quality and reproductive health of young Czech men exposed to seasonal air pollution." Environ Health Perspect **108**(9): 887-894.

Serour, G. I. (2009). "Reproductive and sexual health rights: 15 years after the International Conference on Population and Development." Int J Gynaecol Obstet **106**(2): 99-101.

Setji, T. L., N. D. Holland, L. L. Sanders, K. C. Pereira, A. M. Diehl and A. J. Brown (2006). "Nonalcoholic steatohepatitis and nonalcoholic Fatty liver disease in young women with polycystic ovary syndrome." J Clin Endocrinol Metab **91**(5): 1741-1747.

Seyhan, A., B. Ata, W. Y. Son, M. H. Dahan and S. L. Tan (2014). "Comparison of complication rates and pain scores after transvaginal ultrasound-guided oocyte pickup procedures for in vitro maturation and in vitro fertilization cycles." Fertil Steril **101**(3): 705-709.

Shkolnik, K., A. Tadmor, S. Ben-Dor, N. Nevo, D. Galiani and N. Dekel (2011). "Reactive oxygen species are indispensable in ovulation." Proc Natl Acad Sci U S A **108**(4): 1462-1467.

Shrestha, D., X. La and H. L. Feng (2015). "Comparison of different stimulation protocols used in in vitro fertilization: a review." Ann Transl Med **3**(10): 137.

Sikka, S. C. (2001). "Relative impact of oxidative stress on male reproductive function." Curr Med Chem **8**(7): 851-862.

Singh, K., S. K. Singh, R. Sah, I. Singh and R. Raman (2005). "Mutation C677T in the methylenetetrahydrofolate reductase gene is associated with male infertility in an Indian population." Int J Androl **28**(2): 115-119.

Siristatidis, C. S., A. Gibreel, G. Basios, A. Maheshwari and S. Bhattacharya (2015). "Gonadotrophin-releasing hormone agonist protocols for pituitary suppression in assisted reproduction." Cochrane Database of Systematic Reviews(11).

Siristatidis, C. S., A. Gibreel, G. Basios, A. Maheshwari and S. Bhattacharya (2015). "Gonadotrophin‐releasing hormone agonist protocols for pituitary suppression in assisted reproduction." Cochrane Database of Systematic Reviews(11).

Smith, S. M. and W. W. Vale (2006). "The role of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in neuroendocrine responses to stress." Dialogues Clin Neurosci **8**(4): 383-395.

Sokol, R. Z., P. Kraft, I. M. Fowler, R. Mamet, E. Kim and K. T. Berhane (2006). "Exposure to Environmental Ozone Alters Semen Quality." Environmental Health Perspectives **114**(3): 360-365.

Soyal, S. M., A. Mukherjee, K. Y. Lee, J. Li, H. Li, F. J. DeMayo and J. P. Lydon (2005). "Cre-mediated recombination in cell lineages that express the progesterone receptor." Genesis **41**(2): 58-66.

Stouffs, K., D. Vandermaelen, H. Tournaye, I. Liebaers, A. Van Steirteghem and W. Lissens (2009). "[Genetics and male infertility]." Verh K Acad Geneeskd Belg **71**(3): 115-139.

Sulak, P. J., G. S. Letterie, C. C. Coddington, C. C. Hayslip, J. E. Woodward and T. A. Klein (1987). "Histology of proximal tubal occlusion." Fertil Steril **48**(3): 437-440.

Tarlatzis, B. C., L. Zepiridis, G. Grimbizis and J. Bontis (2003). "Clinical management of low ovarian response to stimulation for IVF: a systematic review." Hum Reprod Update **9**(1): 61-76.

Tasdemir, I., M. Tasdemir, J. Fukuda, H. Kodama, T. Matsui and T. Tanaka (1996). "Sperm immobilization antibodies in infertile male sera decrease the acrosome reaction: a possible mechanism for immunologic infertility." J Assist Reprod Genet **13**(5): 413-416.

Taylor, H. S., C. Bagot, A. Kardana, D. Olive and A. Arici (1999). "HOX gene expression is altered in the endometrium of women with endometriosis." Hum Reprod **14**(5): 1328-1331.

Telfer, E. E. and M. McLaughlin (2012). "Strategies to support human oocyte development in vitro." Int J Dev Biol **56**(10-12): 901-907.

The, E. C. W. G. (2009). "Intrauterine insemination." Human Reproduction Update **15**(3): 265-277.

Thomas, J., S. B. Fishel, J. A. Hall, S. Green, T. A. Newton and S. J. Thornton (1997). "Increased polymorphonuclear granulocytes in seminal plasma in relation to sperm morphology." Hum Reprod **12**(11): 2418-2421.

Tulandi, T., J. Martin, R. Al-Fadhli, N. Kabli, R. Forman, J. Hitkari, C. Librach, E. Greenblatt and R. F. Casper (2006). "Congenital malformations among 911 newborns conceived after infertility treatment with letrozole or clomiphene citrate." Fertil Steril **85**(6): 1761-1765.

Turner, R. M., M. P. Musse, A. Mandal, K. Klotz, F. C. Jayes, J. C. Herr, G. L. Gerton, S. B. Moss and H. E. Chemes (2001). "Molecular genetic analysis of two human sperm fibrous sheath proteins, AKAP4 and AKAP3, in men with dysplasia of the fibrous sheath." J Androl **22**(2): 302-315.

Uusitalo, M., M. Heikkilä and S. Vainio (1999). "Molecular Genetic Studies of Wnt Signaling in the Mouse." Experimental Cell Research **253**(2): 336-348.

Vale, W., J. Spiess, C. Rivier and J. Rivier (1981). "Characterization of a 41-residue ovine hypothalamic peptide that stimulates secretion of corticotropin and beta-endorphin." Science **213**(4514): 1394-1397.

Van der Westerlaken, L. A. J., F. M. Helmerhorst, J. Hermans and N. Naaktgeboren (1999). "Intracytoplasmic sperm injection: position of the polar body affects pregnancy rate." Human Reproduction **14**(10): 2565-2569.

van Rooij, I. A., F. J. Broekmans, E. R. te Velde, B. C. Fauser, L. F. Bancsi, F. H. de Jong and A. P. Themmen (2002). "Serum anti-Mullerian hormone levels: a novel measure of ovarian reserve." Hum Reprod **17**(12): 3065-3071.

Volpes, A., F. Sammartano, S. Rizzari, S. Gullo, A. Marino and A. Allegra (2016). "The pellet swim-up is the best technique for sperm preparation during in vitro fertilization procedures." Journal of Assisted Reproduction and Genetics **33**(6): 765-770.

Wang, D., J. Hu, I. A. Bobulescu, T. A. Quill, P. McLeroy, O. W. Moe and D. L. Garbers (2007). "A sperm-specific Na+/H+ exchanger (sNHE) is critical for expression and in vivo bicarbonate regulation of the soluble adenylyl cyclase (sAC)." Proc Natl Acad Sci U S A **104**(22): 9325-9330.

Weigert, M., U. Krischker, M. Pohl, G. Poschalko, C. Kindermann and W. Feichtinger (2002). "Comparison of stimulation with clomiphene citrate in combination with recombinant follicle-stimulating hormone and recombinant luteinizing hormone to stimulation with a gonadotropin-releasing hormone agonist protocol: a prospective, randomized study." Fertil Steril **78**(1): 34-39.

Weissman, A., J. Farhi, M. Royburt, H. Nahum, M. Glezerman and D. Levran (2003). "Prospective evaluation of two stimulation protocols for low responders who were undergoing in vitro fertilization–embryo transfer." Fertility and Sterility **79**(4): 886-892.

Wilhelm, D., S. Palmer and P. Koopman (2007). "Sex determination and gonadal development in mammals." Physiol Rev **87**(1): 1-28.

Xi, Q.-s., L.-x. Zhu, J. Hu, L. Wu and H.-w. Zhang (2012). "Should few retrieved oocytes be as an indication for intracytoplasmic sperm injection?" Journal of Zhejiang University. Science. B **13**(9): 717-722.

Xue, X., W.-S. Wang, J.-Z. Shi, S.-L. Zhang, W.-Q. Zhao, W.-H. Shi, B.-Z. Guo and Z. Qin (2014). "Efficacy of swim-up versus density gradient centrifugation in improving sperm deformity rate and DNA fragmentation index in semen samples from teratozoospermic patients." Journal of Assisted Reproduction and Genetics **31**(9): 1161-1166.

Yan, C., P. Wang, J. DeMayo, F. J. DeMayo, J. A. Elvin, C. Carino, S. V. Prasad, S. S. Skinner, B. S. Dunbar, J. L. Dube, A. J. Celeste and M. M. Matzuk (2001). "Synergistic roles of bone morphogenetic protein 15 and growth differentiation factor 9 in ovarian function." Mol Endocrinol **15**(6): 854-866.

Yan, H. H., D. D. Mruk, W. M. Lee and C. Y. Cheng (2007). "Ectoplasmic specialization: a friend or a foe of spermatogenesis?" Bioessays **29**(1): 36-48.

Zanatta, A., A. M. Rocha, F. M. Carvalho, R. M. Pereira, H. S. Taylor, E. L. Motta, E. C. Baracat and P. C. Serafini (2010). "The role of the Hoxa10/HOXA10 gene in the etiology of endometriosis and its related infertility: a review." J Assist Reprod Genet **27**(12): 701-710.

Zhang, S., H. Lin, S. Kong, S. Wang, H. Wang, H. Wang and D. R. Armant (2013). "Physiological and molecular determinants of embryo implantation." Molecular aspects of medicine **34**(5): 939-980.

Zhang, X. D., J. X. Liu, W. W. Liu, Y. Gao, W. Han, S. Xiong, L. H. Wu and G. N. Huang (2013). "Time of insemination culture and outcomes of in vitro fertilization: a systematic review and meta-analysis." Hum Reprod Update **19**(6): 685-695.

Zhang, X. Y., B. Ata, W. Y. Son, W. M. Buckett, S. L. Tan and A. Ao (2010). "Chromosome abnormality rates in human embryos obtained from in-vitro maturation and IVF treatment cycles." Reprod Biomed Online **21**(4): 552-559.

Zhong, X., J. Liu, Q. Cui, S. Liang, Y. Lin, H. Liu and Q. Zeng (2017). "Effect of parental physiological conditions and assisted reproductive technologies on the pregnancy and birth outcomes in infertile patients." Oncotarget **8**(11): 18409-18416.

Zuccarello, D., A. Ferlin, C. Cazzadore, A. Pepe, A. Garolla, A. Moretti, G. Cordeschi, S. Francavilla and C. Foresta (2008). "Mutations in dynein genes in patients affected by isolated non-syndromic asthenozoospermia." Hum Reprod **23**(8): 1957-1962.