

ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ

ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ

ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΟ ΠΑΙΔΩΝ “Η ΑΓΙΑ ΣΟΦΙΑ ”

Διευθυντής: Καθηγητής Καναβάκης Εμμανουήλ

Πανεπιστημιακό Έτος: 2012-2013

ΚΛΙΝΙΚΗ ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΕΚΤΙΜΗΣΗ
ΚΑΙ ΑΝΑΠΤΥΞΙΟΛΟΓΙΚΗ ΕΞΕΤΑΣΗ ΤΩΝ ΠΑΙΔΙΩΝ
ΠΟΥ ΓΕΝΝΙΟΥΝΤΑΙ ΜΕ ΠΡΟΕΜΦΥΤΕΥΤΙΚΗ ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΔΙΑΓΝΩΣΗ -
ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΓΟΝΕΪΚΟΥ ΑΓΧΟΥΣ

Διδακτορική Διατριβή

ΛΕΖΕ Γ. ΕΛΕΝΗ

Παιδίατρος

ΑΘΗΝΑ 2013

- Ημερομηνία αίτησης για εκπόνηση διδακτορικής διατριβής: 10/10/2008
- Ημερομηνία ορισμού τριμελούς επιτροπής: 19/12/2008
- Ημερομηνία καθορισμού θέματος διδακτορικής διατριβής και κατάθεση πρωτοκόλλου: 10/04/2009
- Ημερομηνία κατάθεσης Διατριβής:

Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή

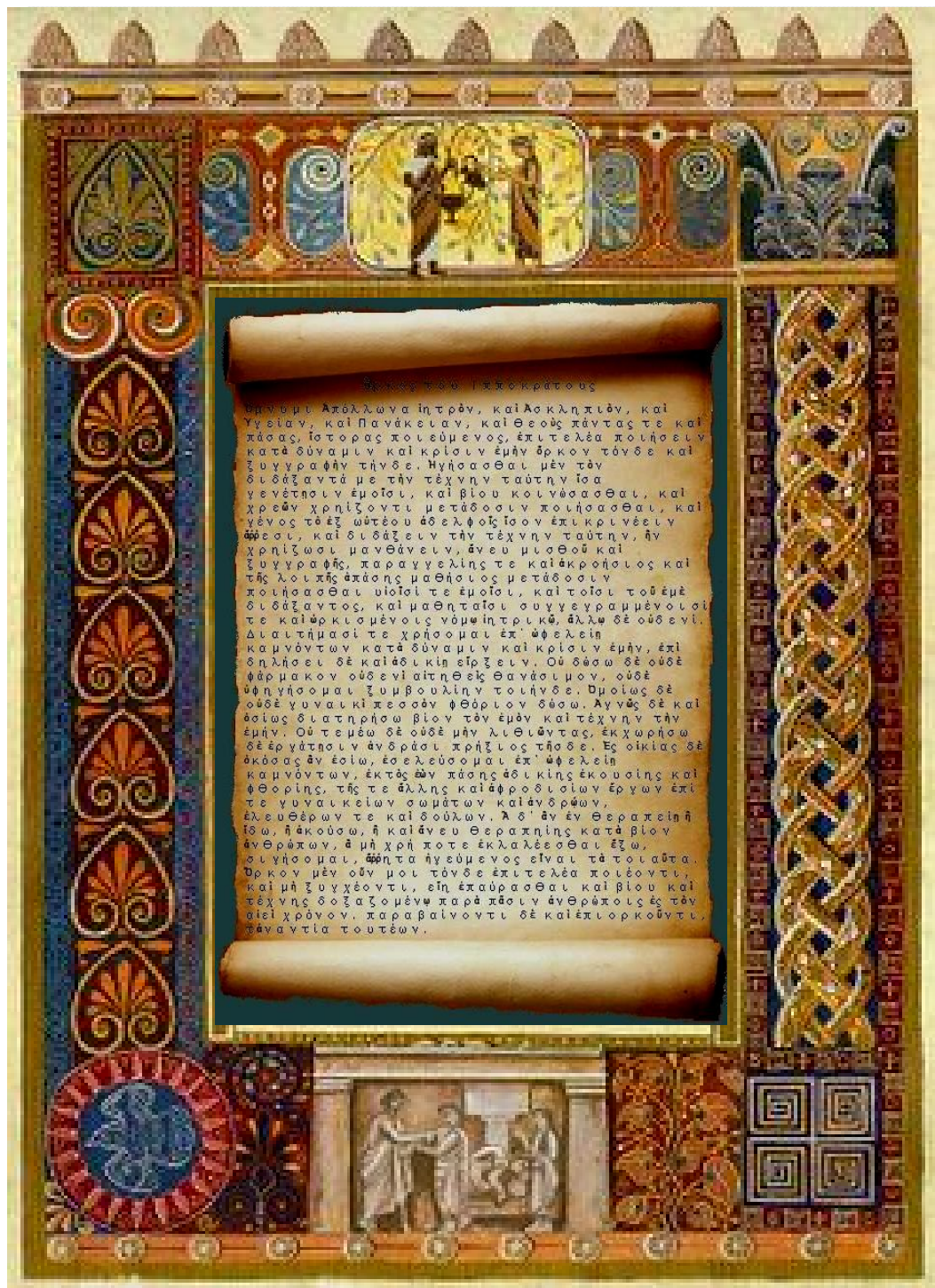
- I. Καθηγητής Γενετικής κ. Καναβάκης Εμμανουήλ (Επιβλέπων Καθηγητής)
- II. Καθηγήτρια Γενετικής κ. Κίτσιου-Τζέλη Σοφία
- III. Επίκουρη Καθηγήτρια Αναπτυξιακής Παιδιατρικής κ. Θωμαΐδου Λωρέττα

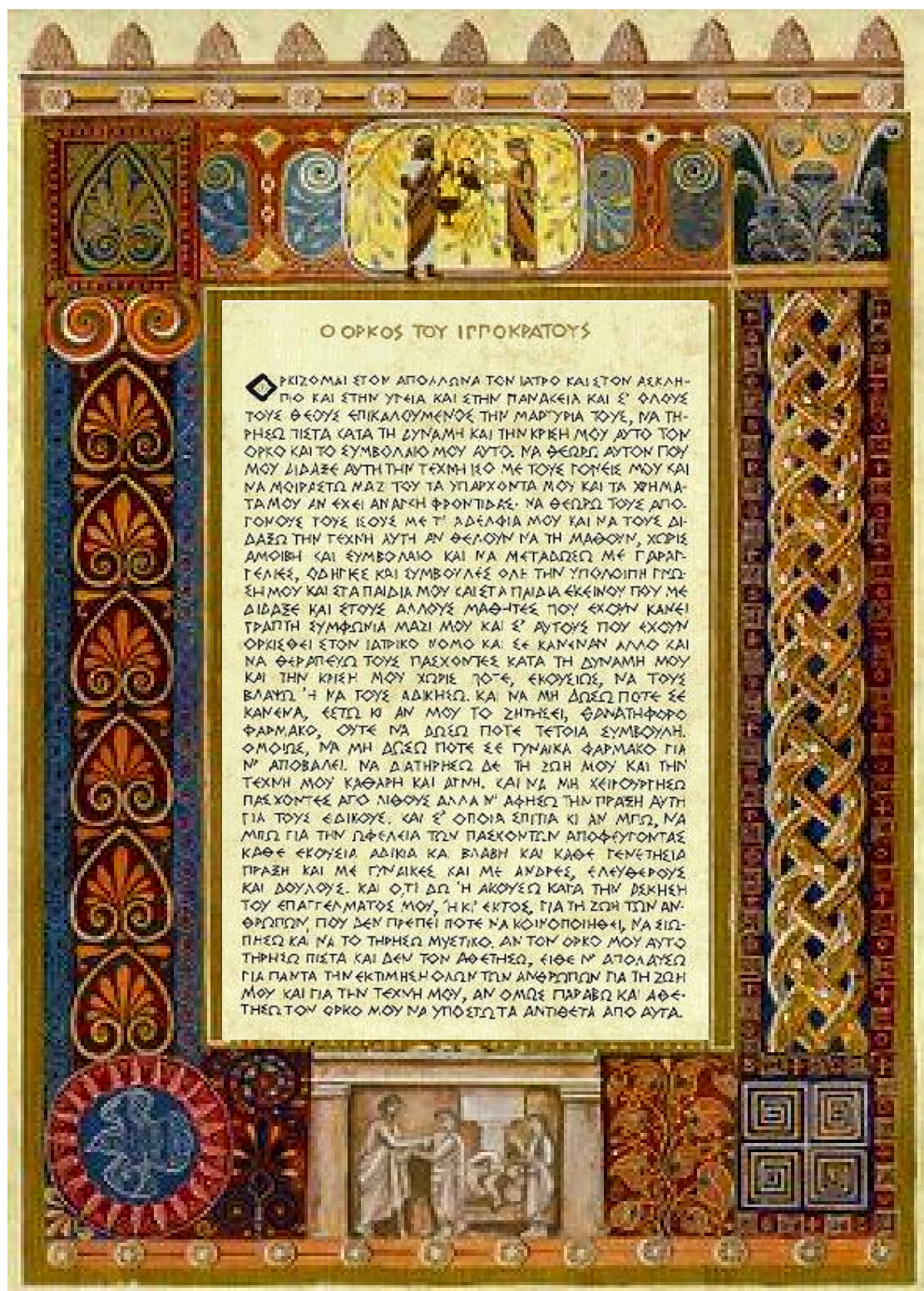
- Ημερομηνία σύστασης επταμελούς επιτροπής: 07/06/2013

Επταμελής Εξεταστική Επιτροπή

- I. Καναβάκης Εμμανουήλ, Καθηγητής Γενετικής Πανεπιστημίου Αθηνών
- II. Κίτσιου-Τζέλη Σοφία, Καθηγήτρια Γενετικής Πανεπιστημίου Αθηνών
- III. Θωμαΐδου Λωρέττα, Επίκουρη Καθηγήτρια Αναπτυξιακής Παιδιατρικής Πανεπιστημίου Αθηνών
- IV. Μπακούλα Χρύσα, Καθηγήτρια Παιδιατρικής Πανεπιστημίου Αθηνών
- V. Τζέτη Μαρία, Επίκουρη Καθηγήτρια Γενετικής Πανεπιστημίου Αθηνών
- VI. Μπότσης Δημήτρης, Καθηγητής Μαιευτικής-Γυναικολογίας Πανεπιστημίου Αθηνών
- VII. Συνοδινού-Traeger Ιωάννα-Ραχήλ, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Γενετικής Πανεπιστημίου Αθηνών

Η έγκριση της παρούσας διδακτορικής διατριβής από το Πανεπιστήμιο Αθηνών δεν δηλώνει αποδοχή των απόψεων του συγγραφέα (N 5343/1932, άρθρο 202)





Η διατριβή αυτή αφιερώνεται

Στην οικογένειά μου

και

*σε όλα τα παιδιά, που ανεξαρτήτως του τρόπου με τον οποίον έρχονται στον κόσμο, ξέρουν
να χαμογελούν, να αγαπούν και να μας διδάσκουν την αξία της στιγμής!*

ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ

Επώνυμο: ΛΕΖΕ

Όνομα: ΕΛΕΝΗ

Πατρώνυμο: ΓΕΩΡΓΙΟΣ

Ημερομηνία Γέννησης: 19-12-1977 **Τόπος Γέννησης:** Αθήνα

Διεύθυνση κατοικίας: Μηλιαράκη 46 Κ. Πατήσια Τ.Κ 11145 Αθήνα

Τηλέφωνο οικίας: 210 8314931 **Κινητό:** 6945 064 234

E-mail: lenaezel@yahoo.gr

ΣΠΟΥΔΕΣ

1995: Απολυτήριο 1^{ου} Λυκείου Άργους(με βαθμό 19,9 Άριστα) και Εισαγωγή στην Φαρμακευτική Σχολή του Πανεπιστημίου Αθηνών

1996: Εισαγωγή στην Ιατρική Σχολή του Πανεπιστημίου Αθηνών με Πανελλήνιες Εξετάσεις

18/12/2002: Πτυχίο Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Αθηνών (βαθμός “Λίαν Καλώς”)

2009: Έναρξη εκπόνησης Διδακτορικής Διατριβής με θέμα: “Κλινική γενετική εκτίμηση και αναπτυξιολογική εξέταση των παιδιών που γεννιούνται με προεμφυτευτική γενετική διάγνωση – αξιολόγηση γονεϊκού άγχους ”

ΕΠΑΓΓΕΛΜΑΤΙΚΗ ΕΜΠΕΙΡΙΑ

2013: Απόκτηση τίτλου Παιδιατρικής Ειδικότητας.

2011-2013: Ειδικευόμενη παιδιατρικής στην Β΄ Πανεπιστημιακή Παιδιατρική Κλινική του Πανεπιστημίου Αθηνών.

2008-2011: Παρείχε ιατρικές υπηρεσίες ως ιδιώτης στον Όμιλο Βιοϊατρικής Αθηνών (υποκαταστήματα Μιχαλακοπούλου και Αμπελοκήπων).

2008-2010: Συνεργάστηκε με το Εργαστήριο Ιατρικής Γενετικής του Πανεπιστημίου Αθηνών, Νοσοκομείο Παίδων “Η Αγία Σοφία”, του οποίου το Ιατρείο Κλινικής Γενετικής παρακολούθησε συστηματικά.

22/05/2006- 19/05/2008: Διορίστηκε ως ειδικευόμενη της Παιδιατρικής στο Γ.Ν. “Αχιλλοπούλειο” Νοσοκομείο Βόλου.

Το **2005** κατά την διάρκεια αναμονής έναρξης ειδικότητας συνεργάστηκε ως μεταφράστρια των κάτωθι Ξενογλωσσων Ιατρικών Βιβλίων με τις Ιατρικές Εκδόσεις Πασχαλίδη:

- ***Current Surgical Diagnosis & Treatment***
- ***Conn's Current Therapy***
- ***Dorland's Illustrated Medical Dictionary***
- ***Sutton Textbook of Radiology & Imaging***

31/03/2003- 30/07/2004: Διορίστηκε στο Κέντρο Υγείας Λήμνου για την εκπλήρωση της υποχρέωσης υπηρεσίας υπαίθρου (Αγροτικό) στο οποίο και παρατάθηκε η παραμονή της έως τις 30/01/2005 κατόπιν υπουργικής απόφασης.

ΔΙΔΑΚΤΙΚΗ ΕΜΠΕΙΡΙΑ

19/11/2003-01/06/2004: Δίδαξε το μάθημα “**Στοιχεία Νευρολογίας-Ψυχιατρικής**” στο 1^ο ΤΕΕ Μύρινας σε μαθητές (νοσηλευτές) του Β΄ Κύκλου Σπουδών του Τομέα Υγείας και Πρόνοιας της ειδικότητας “Βοηθοί Νοσηλευτές”.

ΞΕΝΕΣ ΓΛΩΣΣΕΣ

Άριστη γνώση της Αγγλικής γλώσσας πιστοποιημένη με πτυχία του University of Cambridge:

First Certificate in English

Higher και

Cambridge Proficiency

ΠΙΣΤΟΠΟΙΗΣΕΙΣ

Κάτοχος πιστοποιητικού παρακολούθησης και κάρτας εξειδίκευσης στο **APLS (Advanced Paediatric Life Support) 2007** – Εξειδίκευση Υποστήριξη Ζωής σε Παιδιά, 4ετούς ισχύος.

ΕΡΓΑΣΙΕΣ

1. Λεζέ Ε. (2002) **Τεκνοποίηση στην περι- και μετα- εμμηνοπαυσιακή ηλικία**
Προπτυχιακή εργασία στην Β΄ Γυναικολογική. Μαιευτική Κλινική Αρεταίειο Νοσοκομείο Αθηνών

2. Λεζέ Ε. (2002) *Καρκίνος του Οισοφάγου* Προπτυχιακή Εργασία στην Α΄ Χειρουργική Κλινική ΠΓΝΑ Λαϊκό Νοσοκομείο Αθηνών

ΣΥΜΜΕΤΟΧΕΣ ΣΕ ΣΥΝΕΔΡΙΑ ΩΣ ΕΙΣΗΓΗΤΡΙΑ ΣΕ ΕΛΕΥΘΕΡΕΣ ΚΑΙ ΑΝΑΡΤΗΜΕΝΕΣ ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΕΙΣ

1. Διεθνές Συνέδριο των Ιατρικών Συλλόγων Λήμνου και Cannakale Ίμβρος 09-12/09/2004

Leze E., Kasimatis E., Agos I., Papadimitriou M., Fragouli E., Kokolaki- Dora K., Vardakis Z., Renal Unit and Microbiology Laboratory, General Hospital of Limnos (2004) ***“ Acute renal failure due to severe hypercalcaemia in two elderly patients treated for osteoporosis. A modern variant of Milk- Alkali Syndrome”*** (Εισήγηση)

2. 45° Πανελλήνιο Παιδιατρικό Συνέδριο 2007

Λεζέ Ε., Λουκάκη Δ., Μαριδάκη Ε., Γεωργίου Κ. Παπαστεργίου Χ., Κυρίτση Ε., Πετσιάβα Ε. Παιδιατρική Κλινική Γ.Ν. Βόλου ***Στατιστική μελέτη των περιστατικών που διακομίστηκαν από το τμήμα προώρων δευτεροβάθμιου νοσοκομείου σε τριτοβάθμια κέντρα*** (εισηγήτρια)

3. 45° Πανελλήνιο Παιδιατρικό Συνέδριο 2007

Αναστασίου Α., Λεζέ Ε., Παπάζογλου Α., Παπαστεργίου Χ., Μαριδάκη Ε., Βαρλάμη Β., Φυλακτοπούλου Β., Χρηστάκου Ε., Κρητικός Κ., Πετσιάβα Ε., Παιδιατρική Κλινική Γ.Ν. Βόλου ***Συλλοίμωξη CMV, Parvo B19 και Coxsakie σε κορίτσι 8 ετών ή διασταυρούμενη ανοσία λόγω κοινών επιτόπων- αντιγόνων μεταξύ των ιών αυτών;*** (εισηγήτρια)

4. 46° Πανελλήνιο Παιδιατρικό Συνέδριο, Κέρκυρα 2008

Λεζέ Ελένη, Κυρίτση Ερμιόνη, Γκίμπας Γεώργιος, Βαρλάμη Βασιλική, Παπαστεργίου Χαρίκλεια, Ξηροφώτου Ευαγγελία, Νταγουλούδη Άννα, Λουκάκη Δέσποινα Πετσιάβα Ευφροσύνη, Παιδιατρική Κλινική «Αχιλλοπούλειου» Γ.Ν. Νοσοκομείου Βόλου ***Πρωτοπαθής φλοιοεπινεφριδιακή ανεπάρκεια σε παιδί 4 ετών (Poster)***

5. 48° Πανελλήνιο Συνέδριο Παιδιατρικής Μύκονος 2010

Θωμαΐδου Α, Λεζέ Ε, Μανωλάκος Ε, Κίτσιου-Τζέλη Σ, Δρανδάκη Η, Καναβάκης Ε, Καφετζής Ε. *Ψυχοκινητική εξέλιξη παιδιών που γεννήθηκαν μετά από Προεμφυτευτική Γενετική Διάγνωση (PGD) και αξιολόγηση του γονεϊκού άγχους.* Μονάδα Αναπτυξιακής Παιδιατρικής, Β΄ Παιδιατρική Κλινική Πανεπιστημίου Αθηνών, Νοσ. Παίδων “Π & Α Κυριακού”, Εργαστήριο Ιατρικής Γενετικής, Νοσοκομείο Παίδων “Η Αγία Σοφία”, Πανεπιστήμιο Αθηνών. (εισήγηση)

ΣΥΜΜΕΤΟΧΕΣ ΣΕ ΕΛΕΥΘΕΡΕΣ ΚΑΙ ΑΝΑΡΤΗΜΕΝΕΣ ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΕΙΣ ΣΕ ΣΥΝΕΔΡΙΑ

1. 45° Πανελλήνιο Παιδιατρικό Συνέδριο 2007

Λουκάκη Δ., Κυρίτση Ε., Λεζέ Ε., Μαριδάκη Ε., Χρηστάκου Ε., Βαρλάμη Β., Πετσιάβα Ε., Παιδιατρική Κλινική Γ.Ν. Βόλου *Στατιστική μελέτη των περιστατικών που νοσηλεύτηκαν σε τμήμα προώρων δευτεροβάθμιου νοσοκομείου*

2. 45° Πανελλήνιο Παιδιατρικό Συνέδριο 2007

Μαριδάκη Ε., Ζίφα Α., Χρηστάκου Ε., Λεζέ Ε., Αναστασίου Α., Θεοτόκης Π., Σταμάτης Κ., Μαμούρης Ζ., Πετσιάβα Ε., Σταθόπουλος Κ., Παιδιατρική Κλινική Γ.Ν. Βόλου και Τμήμα Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας *Μια νέα μιτοχονδριακή μετάλλαξη στο complex I της αναπνευστικής αλυσίδας σε νεογνό με έντονο περιγεννητικό stress*

3. 45° Πανελλήνιο Παιδιατρικό Συνέδριο 2007

Παπάζογλου Α., Βαρλάμη Β., Παπαστεργίου Χ., Γεωργίου Κ., Λεζέ Ε., Μαριδάκη Ε., Αναστασίου Α., Λουκάκη Δ., Πετσιάβα Ε., Παιδιατρική Κλινική Γ.Ν. Βόλου *Πομφολυγώδης επιδερμόλυση επιδερμικού τύπου σε νεογνό, με βαρείες βλάβες κατά τη γέννηση*

4. 45° Πανελλήνιο Παιδιατρικό Συνέδριο 2007

Κατσαρδάνης Κ. Κρητικός Κ., Παπαστεργίου Χ., Παπάζογλου Α., Βαρλάμη Β., Μαριδάκη Ε., Λεζέ Ε., Ξηροφώτου Ε., Αναστασίου Α., Παιδιατρική Κλινική Γ.Ν. Βόλου *Επιδημιολογία και κλινικές εκδηλώσεις νοσηλευθέντων παιδιών με λοίμωξη από Parvo B19, Coxsackie και Αδενοϊούς.*

5. 45° Πανελλήνιο Παιδιατρικό Συνέδριο 2007

Μαριδάκη Ε., Λεζέ Ε., Κυρίτση Ε., Λουκάκη Δ., Κρητικός Κ., Παπάζογλου Α., Πετσιάβα Ε., Παιδιατρική Κλινική Γ.Ν. Βόλου ***Στατιστική μελέτη νεογνών χαμηλού βάρους γέννησης***

6. 45° Πανελλήνιο Παιδιατρικό Συνέδριο 2007

Αναστασίου Α., Παπάζογλου Α. Κρητικός Κ., Βαρλάμη Β., Μαριδάκη Ε., Λεζέ Ε., Παπαστεργίου Χ., Γεωργίου Κ., Φυλακτοπούλου Β., Πετσιάβα Ε., Παιδιατρική Κλινική Γ.Ν. Βόλου ***Αντστρεπτή οξεία νεφρική ανεπάρκεια σε βρέφος με εμπύρετη γαστρεντερίτιδα και υπερδοσολογία μεφαιναμικού οξέος (Ponstan)***

7. 25° Παγκόσμιο Παιδιατρικό Συνέδριο, Αθήνα 2007

Maridaki E., Christakou E., Zifa E., Theotokis P., Leze E., Anastasiou A., Stamatis C., Mamouris Z., Petsiava E., Stathopoulos C., Paediatric Clinic, “ Achillopoulou” Regional Hospital, Volos, Greece & Department of Biochemistry and Biotechnology, University of Thessaly, Greece ***A mitochondrial mutation in a newborn with intense perinatal stress and anaemia.***

8. 25° Παγκόσμιο Παιδιατρικό Συνέδριο, Αθήνα 2007

Αναστασίου Αναστασία, Λεζέ Ε., Λουκάκη Δ., Ξηροφώτου Ε., Βαρλάμη Β., Παπαστεργίου Χ., Νταγουλούδη Α., Γκίμπας Γ., Πετσιάβα Ε. Παιδιατρική Κλινική Γ.Ν. Αχιλλοπούλειου Νοσοκομείου Βόλου. ***Περιγραφή δυο περιπτώσεων βαρείας μικροβιαμίας από μηνιγγιτιδόκοκκο σε νεογνό που κατέληξε και σε βρέφος που επιβίωσε***

9. 25° Παγκόσμιο Παιδιατρικό Συνέδριο, Αθήνα 2007

Αναστασίου Αναστασία, Παπαστεργίου Χ., Γκίμπας Γ., Λουκάκη Δ., Λεζέ Ε., Βαρλάμη Β., Ξηροφώτου Ε., Νταγουλούδη Α., Πετσιάβα Ε. Παιδιατρική Κλινική Γ.Ν. Αχιλλοπούλειου Νοσοκομείου Βόλου ***Περιγραφή περίπτωσης μηνιγγίτιδας - όψιμης νεογνικής λοίμωξης GBS σε βρέφος 40 ημερών. Η σημασία του πρώιμου ανιχνευτικού ελέγχου***

10. 25° Παγκόσμιο Παιδιατρικό Συνέδριο, Αθήνα 2007

Νταγουλούδη Α., Ξηροφώτου Ε., Λεζέ Ε., Παπαστεργίου Χ., Βαρλάμη Β., Γκίμπας Γ., Κυρίτση Ε., Μερίδης Θ., Πετσιάβα Ε., Παιδιατρική Κλινική Γ.Ν. Αχιλλοπούλειου Νοσοκομείου Βόλου *Παρουσίαση περιστατικού με πνευμονία και υπεζωκοτική συλλογή*

11. 25° Παγκόσμιο Παιδιατρικό Συνέδριο, Αθήνα 2007

Παπαστεργίου Χ., Βαρλάμη Β., Λεζέ Ε., Γκίμπας Γ., Ξηροφώτου Ε., Νταγουλούδη Α., Λουκάκη Δ., Κυρίτση Ε., Μερίδης Θ., Πετσιάβα Ε., Παιδιατρική Κλινική Γ.Ν. Αχιλλοπούλειου Νοσοκομείου Βόλου *Αγνώστου αιτιολογίας τρανσαμινασαιμία. Περιγραφή περιστατικού*

12. 25° Παγκόσμιο Παιδιατρικό Συνέδριο, Αθήνα 2007

Βαρλάμη Β., Κυρίτση Ε., Παπαστεργίου Χ., Λεζέ Ε., Ξηροφώτου Ε., Γκίμπας Γ., Νταγουλούδη Α., Λουκάκη Δ., Πετσιάβα Ε., Παιδιατρική Κλινική Γ.Ν. Αχιλλοπούλειου Νοσοκομείου Βόλου *Υποαλδοστερονισμός. Περιγραφή περιστατικού.*

13. 25° Παγκόσμιο Παιδιατρικό Συνέδριο, Αθήνα 2007

Λουκάκη Δ., Λεζέ Ε., Παπαστεργίου Χ., Βαρλάμη Β., Καρμύρη Φ., Μερίδης Θ., Πετσιάβα Ε., Παιδιατρική Κλινική Γ.Ν. Αχιλλοπούλειου Νοσοκομείου Βόλου *Παραφαρυγγικό απόστημα σε νήπιο. Περιγραφή περιστατικού.*

14. 25° Παγκόσμιο Παιδιατρικό Συνέδριο, Αθήνα 2007

Λουκάκη Δ., Παπαστεργίου Χ., Βαρλάμη Β., Μερίδης Θ., Ξανθοπούλου Χ., Λεζέ Ε., Καραντάνας Α., Πετσιάβα Ε., Παιδιατρική Κλινική Γ.Ν. Αχιλλοπούλειου Νοσοκομείου Βόλου *Μαστοειδίτιδα- Θρόμβωση σφηραγγώδους κόλπου σε νήπιο μετά από εμμένουσα ωτίτιδα. Παρουσίαση περιστατικού.*

15. 25° Παγκόσμιο Παιδιατρικό Συνέδριο, Αθήνα 2007

Αντασίου Α., Αγγελίνα Α., Κατσιαρδάνης Κ., Βαρλάμη Β., Λεζέ Ε., Ξηροφώτου Ε., Παπαστεργίου Χ., Νταγουλούδη Α., Γκίμπας Γ., Λουκάκη Δ., Παιδιατρική Κλινική Γ.Ν. Αχιλλοπούλειου Νοσοκομείου Βόλου *Διάγνωση εξόδου, πριν το*

εργαστηριακό αποτέλεσμα, παιών που νοσηλεύτηκαν σε επαρχιακό νοσοκομείο με πρόσφατη λοίμωξη από PARVOB19, το 2006- 2007.

16. 25^ο Παγκόσμιο Παιδιατρικό Συνέδριο, Αθήνα 2007

Αναστασίου Α., Κατσιαρδάνης Κ., Βαρλάμη Β., Λεζέ Ε., Ξηροφώτου Ε., Παπαστεργίου Χ., Νταγουλούδη Α., Γκίμπας Γ., Λουκάκη Δ., Παιδιατρική Κλινική Γ.Ν. Αχιλλοπούλειου Νοσοκομείου Βόλου, *Επιδημιολογία των περιπτώσεων διακομιδών από δευτεροβάθμιο σε τριτοβάθμια νοσοκομεία της Ελλάδας, 11^{ος} 2005- 11^{ος} 2006.*

17. 25^ο Παγκόσμιο Παιδιατρικό Συνέδριο, Αθήνα 2007

Αναστασίου Α., Κατσιαρδάνη Κ., Βαρλάμη Β., Λεζέ Ε., Ξηροφώτου Ε., Παπαστεργίου Χ., Νταγουλούδη Α., Γκίμπας Γ., Λουκάκη Δ., Παιδιατρική Κλινική Γ.Ν. Αχιλλοπούλειου Νοσοκομείου Βόλου *Μελέτη της κατηγοριοποίησης των λοιμώξεων για τις οποίες νοσηλεύτηκαν σε δευτεροβάθμιο νοσοκομείο παιδιά με ΤΚΕ>85mm στη διάρκεια ενός μηνός.*

18. Συνέδριο ΕΕΒΕ Θεσσαλονίκη 2008

Καλογρίδη Α., Σταύρου Μ., Θεοτόκης Π., Καμινάρη Α., Σταμάτης Κ., Λεζέ Ε., Πετσιάβα Ε., Μαμούρης Ζ., Σταθόπουλος Κ., Ζίφα Α., Τμήμα Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας και Παιδιατρική Κλινική Γ.Ν. Βόλου *Συνύπαρξη διαφορετικών μεταλλάξεων σε μιτοχονδριακά γονίδια tRNA συσχετίζεται με κλινικά συμπτώματα*

19. 1^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Εταιρίας Φροντίδας Υγείας και Εκπαίδευσης σε συνεργασία με την Ελληνική Εταιρία Κοινωνικής Παιδιατρικής και Προαγωγής Υγείας, 25-27 Οκτωβρίου 2008, Βόλος

Αναστασίου Α, Κατσιαρδάνης Κ, Βαρλάμη Β, Λεζέ Ε, Ξηροφώτου Ε, Παπαστεργίου Χ, Νταγουλούδη Α, Γκίμπας Γ, Λουκάκη Δ. Παιδιατρική Κλινική Αχιλλοπούλειου Γενικού Νομαρχιακού Νοσοκομείου Βόλου. *Επιδημιολογία των περιπτώσεων διακομιδών από δευτεροβάθμιο σε τριτοβάθμια νοσοκομεία της Ελλάδας, 11^{ος} 2005-12^{ος} 2006.*

20. ESHG Conference of Human Genetics, Sweden 2010

Kitsiou-Tzeli S, Willems P, Kosmadaki M, Leze E, Vettou C, Kanavakis E, Katsarou A. ***Nevoid basal carcinoma syndrome (Gorlin syndrome) and pronounced androgenic alopecia in a female with a novel mutation p.Leu 1159fsX32 of the PTCH gene.***

21. 49° Πανελλήνιο Παιδιατρικό Συνέδριο, Μεσσηνία, Costa Navarino, Ιούνιος 2011

Σύρμου Α, Στεφανάκη Κ, Κοσμά Κ, Λεζέ Ε, Τζέτη Μ, Γιαννίκου Κ, Οικονομάκης Β, Χουλάκης Μ, Κολιαλέξη Α, Κίτσιου-Τζέλη Σ, Μαύρου Α, Καναβάκης Ε. **Ασυνήθης περίπτωση τραχηλικού εξωγοναδικού τερατώματος σε ασθενή με σύνδρομο Cat-eye (dup 22q11.1-q11.21:1.6MB).**

22. 49° Πανελλήνιο Παιδιατρικό Συνέδριο, Μεσσηνία, “Costa Navarino”, Ιούνιος 2011

Λεζέ Ε, Τζέτη Μ, Κοσμά Κ, Σύρμου Α, Γιαννίκου Κ, Οικονομάκης Β, Νίκα Α, Κουβίδου Ε, Κίτσιου-Τζέλη Σ, Κανβάκης Ε, Καπετανάκης Ι. **Η εφαρμογή του συγκριτικού γονιδιωματικού υβριδισμού (array CGH) στη διάγνωση του συνδρόμου Jacobsen.**

23. 50° Πανελλήνιο Παιδιατρικό συνέδριο, Ιωάννινα, “Du Lac” Ιούνιος 2012

Παπαχρήστος Β, Σκόνδρας Ι, Λεζέ Ε, Καπουλέας Γ, Αχιλλέως Ο, Πασσαλίδης Α. Νοσοκομείο Παίδων “Π & Α Κυριακού”. **Εχινόκοκκος: ένας παλιός κίνδυνος, πάντα ζωντανός. Παρουσίαση 5χρονου κοριτσιού με εμπύρετο και μαζική πλευριτική συλλογή.**

ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ ΣΕ ΞΕΝΟΓΛΩΣΣΑ ΠΕΡΙΟΔΙΚΑ

1. Zifa E., Theotokis P., Kaminari A., Maridaki E., Leze E., Petsiava E., Mamuris Z., Stathopoulos C., Department of Biochemistry and Biotechnology, University of Thessaly, Paediatric Clinic, Achillopouleion Regional Hospital of Volos, Institute of Biomedical Research & Technology (BIOMED) **A novel G3337A mitochondrial ND1 mutation related to cardiomyopathy co-**

segregates with tRNA^{leu(CUN)} A12308G and tRNA^{Thr} C15946T mutations.
Mitochondrion (2008), doi:10.1016/j.mito.2008.04.001

2. Leze E., Giannatou I. Katana A., Kolialexi A., Mavrou A., Kanavakis E. Kitsiou-Tzeli S. **Unilateral microtia in an infant with Trisomy 18 mosaicism. Case report.** Genetic Counseling 2009;20:181-187

3. Kitsiou-Tzeli S., Leze E., Salavoura K., Giannatou I., Fretzayas A., Makrithanassis P. Kanavakis E. **Long term follow-up of a woman with classic form of Ehlers-Danlos syndrome associated with rare manifestations and review of the literature.** Genetic Counseling 2010; 21:75-83

4. Kitsiou-Tzeli Sophia, Vrettou Christina, Leze Eleni, Makrythanassis Periklis, Kanavakis Emmanouel, Willems Patrick **Milroy's primary congenital lymphedema in a male infant and review of the literature.** IN VIVO 2010;24:309-314

5. Emmanouil Manolakos , Catherine Sarri , Annalisa Vetro , Konstantinos Kefalas , Eleni Leze , Christalena Sofocleus , George Kitsos, Konstantina Merou, Haris Kokotas , Anna Papadopoulou , Achilleas Attilakos , Michael B. Petersen, Sofia Kitsiou-Tzeli **"Combined 22q11.1-q11.21 deletion with 15q11.2-q13.3 duplication identified by array-CGH in a 6 years old boy"**
Mol Cytogenet 2011; 23;4(1):6

6. Kitsiou-Tzeli S, Willems P, Kosmadaki M, Leze E, Vettou C, Kanavakis E, Katsarou A. **"Nevoid basal carcinoma syndrome (Gorlin syndrome) with a novel mutation p.Leu1159fsx32 in the PTCH gene and pronounced androgenic alopecia in a female as a possibly related symptom."** Eur J Dermatol 2011;38(12): 1205-1208

7. Kitsiou-Tzeli S, Frysira H, Giannikou K, Syrmou A, Kosma K, Kakourou G, Leze E, Sofocleous C, Kanavakis E, Tzetis M. **Microdeletion and**

microduplication 17q21.31 plus an additional CNV, in patients with intellectual disability identified by array-CGH. *Gene* 2012; Jan 15;492(1): 319-324

8. Thomaidis L , Kitsiou-Tzeli S, Critselis E, Drandakis H, Touliatou V, Mantoudis S, Leze E, Destouni A, Traeger-Synodinos J, Kafetzis D, Kanavakis E. **Psychomotor development of children born after preimplantation genetic diagnosis and parental stress evaluation.** *World J Pediatr* 2012;8(4):309-316

9. Tzetis M, Stefanaki K. Syrmou A, Kosma K, Leze E, Giannikou K, Oikonomakis V, Sofocleous C, Choulakis M, Kolialexi A, Makrythanasis P, Kitsiou-Tzeli S. **An unusual case of cat-eye syndrome phenotype and extragonadal mature teratoma: review of the literature.** *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol* 2012;94(7):561-566

10. Leze E, Thomaidis L, Kitsiou-Tzeli S, Kanavakis E. **Author reply.** *World J Pediatr* 2013;9(1): 90-91 doi: 10.1007/s12519-013-0409-1.

ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ ΣΕ ΕΛΛΗΝΙΚΑ ΠΕΡΙΟΔΙΚΑ

1. Λεζέ Ε. , Γιαννάτου Ε., Κάτανα Α., Κολιαλέξη Α., Μαύρου Α., Καναβάκης Ε., Κίτσιου-Τζέλη Σ. **Μωσαϊκισμός τρισωμίας 18 σε βρέφος με μικρωτία, πάρεση προσωπικού και συγγενή καρδιοπάθεια.** *ΠΑΙΔΙΑΤΡΙΚΗ* 2009;72:161-173

2. Κάτανα Α, Γιαννάτου Ε, Λεζέ Ε, Σαρίφη Φ, Μακρυθανάσης Π, Τσιβιτανίδου-Κακούρου Γ, Κίτσιου-Τζέλη Σ. **Κλινικός και μοριακός γενετικός έλεγχος σε οικογένεια με εκτοδερμική δυσπλασία.** *ΠΑΙΔΙΑΤΡΙΚΗ* 2009;72(4): 313-316

3. Κουράκης Γ., Γιαννάτου Ε., Λεζέ Ε., Αλεξάκη Α., Κάτανα Α., Κίτσιου-Τζέλη Σ. **Κληρονομική μονοσωμία 18p .** *ΠΑΙΔΙΑΤΡΙΚΗ* 2009; 72 (3): 216-220

4. Κάτανα Α., Γιαννάτου Ε., Λεζέ Ε., Σαρίφη Φ., Μακρυθανάσης Π., Τσιβιτανίδου-Κακούρου Τ., Κίτσιου-Τζέλη Σ. **Κλινικός και μοριακός γενετικός**

έλεγχος σε οικογένεια με εκτοδερμική δυσπλασία. ΠΑΙΔΙΑΤΡΙΚΗ 2009;72:313-316

5. Κίτσιου-Τζέλη Σοφία, Τζέτη Μαρία, Γιαννίκου Κρινιώ, Σύρμου Αρετή, Παπαβασιλείου Αντιγόνη, Σκουτέλη Ελένη, Λεζέ Ελένη, Καναβάκης Εμμανουήλ. **Σύνδρομο μικροελλείμματος και μικροδιπλασιασμού 17q21.31 διεγνωσμένα με τη νεότερη τεχνολογία μοριακού καρυοτύπου (array-CGH).** ΠΑΙΔΙΑΤΡΙΚΗ 2011;74(3):108-118

6. Λεζέ Ε, Τζέτη Μ, Κοσμά Κ, Σύρμου Α, Γιαννίκου Κ, Οικονομάκης Β, Κουβίδη Ε, Νίκα Α, Καπετανάκης Ι, Κίτσιου-Τζέλη Σ. **Η μοριακή διερεύνηση του συνδρόμου Jacobsen με την εφαρμογή συγκριτικού γενωμικού υβριδισμού (array CGH).** ΠΑΙΔΙΑΤΡΙΚΗ 2012;75:108-114

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ.....	23
ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	27
ABSTRACT.....	30
ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ.....	33

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Εισαγωγή.....	35
---------------	----

1. Προγεννητικός έλεγχος

1.1. Πρόληψη γενετικών νοσημάτων με κλασικό επεμβατικό προγεννητικό έλεγχο.....	35
1.2. Πρόληψη γενετικών νοσημάτων με Προεμφυτευτική Γενετική Διάγνωση (PGD).....	37

2. Υποβοηθούμενη Αναπαραγωγή- Artificial Reproductive Technology-ART

2.1. Ενδείξεις.....	41
2.2. Τεχνικές.....	42
2.3. Αριθμός μεταφερόμενων εμβρύων –κατευθυντήριες γραμμές.....	46
2.4. Ενδωαριακή σπερματέγχυση –Intracytoplasmic Sperm Injection (ICSI).....	47
2.4.1. Ενδείξεις ICSI.....	47
2.4.2. Επιλογή των γαμετών και περιγραφή της τεχνικής.....	50
I. Επιλογή σπερματοζωαρίου και ωαρίου.....	50
II. Μικρογονιμοποίηση	53
III. Καλλιέργεια εμβρύων	54
IV. Εμβρυομεταφορά.....	55

3. Η διαδικασία του προεμφυτευτικού γενετικού ελέγχου (PGD) και της προεμφυτευτικής γενετικής διάγνωσης (PGS).....

3.1. Γενετική συμβουλευτική	56
3.2. Κέντρο εξωσωματικής γονιμοποίησης –Ιατρική συμβουλευτική.....	57
3.3. Βιοψία εμβρύου.....	58

3.3.1. Βιοψία πολικού σωματίου.....	59
3.3.2. Βιοψία στο στάδιο της αυλάκωσης	61
3.3.3. Βιοψία στο στάδιο της βλαστοκύστης.....	62
3.4. Εμβρυομεταφορά -Εμφύτευση.....	66
4. Κατηγορίες προεμφυτευτικού ελέγχου	67
4.1. Προεμφυτευτική γενετική διάγνωση-Preimplantation genetic diagnosis (PGD): Εφαρμογές και μέθοδοι.....	68
4.1.1. Μονογονιδιακά νοσήματα.....	68
4.1.2. Μοριακές μέθοδοι που εφαρμόζονται στην PGD για μονογονιδιακά νοσήματα: PCR και παραλλαγές της	72
4.1.3. Νοσήματα που οφείλονται σε χρωμοσωμικές ανωμαλίες.....	74
4.1.4. Μιτοχονδριακά νοσήματα.....	75
4.1.5. HLA Typing-Επιλογή συμβατού αδερφού-δότη με PGD.....	76
4.2. Προεμφυτευτικό γενετικό screening- Preimplantation genetic screening (PGS): μέθοδοι και εφαρμογές.....	80
4.2.1 Εφαρμογές.....	80
4.2.2. Μέθοδος που χρησιμοποιείται στο PGS.....	85
4.3. Νεότερες τεχνικές και εφαρμογές τους: CGH & microarrays.....	87
5. Επιπτώσεις της υποβοηθούμενης αναπαραγωγής (IVF/ICSI).....	89
5.1. Μαιευτικές επιπτώσεις.....	90
5.2. Νοσηρότητα και θνησιμότητα.....	95
5.3. Συγγενείς ανωμαλίες.....	98
5.4. Νευρολογικές επιπτώσεις.....	109
5.5. Vanishing twin phenomenon-Νευρολογική έκβαση.....	111
5.6. Γονιδιακή αποτύπωση- Genomic imprinting.....	115
5.7. Αναπτυξιολογική εκτίμηση των παιδιών που γεννιούνται μετά από IVF/ICSI.....	123
5.7.1. Σωματική ανάπτυξη.....	123
5.7.2. Ψυχοκινητική ανάπτυξη & Γνωσιακή εξέλιξη.....	124
6. Επιπτώσεις σε παιδιά που γεννήθηκαν μετά από PGD/PGS:	
υπάρχουσα γνώση.....	127

6.1. Περιγεννητική περίοδος	129
6.2. Πολύδυμες κυήσεις.....	131
6.3. Νοσηρότητα.....	132
6.4. Μείζονες συγγενείς ανωμαλίες.....	133
6.5. Αναπτυξιολογική εκτίμηση παιδιών PGD/PGS.....	135
6.6. Άγχος γονέων (Parental Stress) παιδιών που γεννήθηκαν μετά από PGD/PGS.....	137
 <u>ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ</u>	138
 <u>ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ</u>	141
 A. Μεθοδολογία.....	141
1. Πληθυσμός της μελέτης.....	141
2. Δημογραφικά στοιχεία.....	143
2.1 Πληθυσμός “Παιδιά”.....	143
2.2. Πληθυσμός “Κυήσεις”.....	145
2.3. Πληθυσμός “Γονείς”.....	147
3. Ερωτηματολόγια.....	149
3.1. Ερωτηματολόγιο κλινικής γενετικής εκτίμησης.....	149
3.2. Κλίμακες αναπτυξιολογικής εκτίμησης.....	150
3.3. Ερωτηματολόγιο αξιολόγησης Γονεϊκού άγχους.....	153
 B. Στατιστική ανάλυση.....	155
 Γ. Τήρηση κανόνων ηθικής και δεοντολογίας.....	156
 <u>ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ</u>	157
 A. Γενετική εκτίμηση παιδιών που γεννήθηκαν μετά από PGD - αποτελέσματα	157
1. Συγγενείς ανωμαλίες.....	157

1.1. Λεπτομερής καταγραφή συγγενών ανωμαλιών και συχνότητα.....	157
1.2. Μονοπαραγοντική ανάλυση συγγενών ανωμαλιών.....	162
1.3. Πολυπαραγοντική ανάλυση συγγενών ανωμαλιών παιδιών PGD.....	165
B. Αναπτυξιολογική εξέταση-αποτελέσματα.....	166
1. Αξιολόγηση βάσει των κλιμάκων Bayley και Griffiths.....	166
1.1. Καταγραφή αποτελεσμάτων αναπτυξιολογικής εξέλιξης παιδιών PGD.....	166
1.2. Μονοπαραγοντική ανάλυση.....	174
1.2.1. Παράμετροι κυήσεως και προγεννητικοί παράγοντες.....	174
1.2.2. Περιγεννητικοί παράγοντες.....	178
1.2.3. Διάφορες άλλες παράμετροι.....	179
1.3. Πολυπαραγοντική ανάλυση.....	180
Γ. Αξιολόγηση άγχους γονέων- PSI score-Αποτελέσματα.....	185
1. Μονοπαραγοντική ανάλυση του άγχους και των επιμέρους παραμέτρων στους γονείς των παιδιών PGD.....	185
2. Σύγκριση Γονέων παιδιών PGD και Γονέων παιδιών από φυσική σύλληψη (ομάδα μαρτύρων-control group).....	191
Δ. Λοιπά στατιστικά αποτελέσματα-γενικά χαρακτηριστικά του δείγματος.....	193
<u>ΣΥΖΗΤΗΣΗ-ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....</u>	197
1. Κυήσεις PGD.....	197
1.1. Πολυδυμία.....	197
1.2. Προωρότητα.....	198
1.3. Χαμηλό και πολύ χαμηλό βάρος γέννησης.....	199
1.4. Καισαρική τομή.....	200
1.5. Επιπλοκές κυήσεως.....	202

1.6. Περιγεννητικές επιπλοκές.....	202
2. Συγγενείς ανωμαλίες.....	203
2.1. Συχνότητα μειζόνων και ελασσόνων συγγενών ανωμαλιών.....	203
2.2. Εντόπιση μειζόνων συγγενών ανωμαλιών ανά συστήματα και συζήτηση αποτελεσμάτων.....	204
2.3. Σύγκριση με μελέτες σε παιδιά PGD/PGS.....	205
2.4. Σύγκριση με μελέτες σε παιδιά από IVF/ICSI.....	207
2.5. Συσχέτιση μειζόνων συγγενών ανωμαλιών με το άρρεν φύλο.....	211
3. Αναπτυξιολογική εξέταση.....	212
3.1. Συχνότητα ψυχοκινητικής υστέρησης στο γενικό πληθυσμό.....	212
3.2. Συσχέτιση υστέρησης (σοβαρής ή μέτριας) με διάφορους παράγοντες.....	213
3.3. Συχνότητα ψυχοκινητικής υστέρησης.....	215
3.3.1. Σύγκριση με μελέτες σε παιδιά από PGD/PGS.....	215
3.3.2. Σύγκριση με μελέτες σε παιδιά από IVF/ICSI.....	220
4. Γονεϊκό άγχος ομάδας ελέγχου και μαρτύρων.....	225
4.1. Επίπεδα άγχους γονέων παιδιών PGD (ομάδα ελέγχου).....	225
4.2. Σύγκριση άγχους γονέων παιδιών PGD (ομάδα ελέγχου) και γονέων παιδιών από φυσική σύλληψη (ομάδα μαρτύρων).....	225
5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	231
5.1. Κυήσεις - Περιγεννητική περίοδος.....	231
5.2. Γενετική εκτίμηση: Μείζονες και Ελάσσονες Συγγενείς ανωμαλίες.....	231
5.3. Αναπτυξιολογική εκτίμηση: Ψυχοκινητική εξέλιξη.....	232
5.4. Άγχος γονέων παιδιών PGD και σύγκριση με γονείς παιδιών από φυσική σύλληψη.....	234

5.5. Περιορισμοί της μελέτης.....	234
5.6. Προτάσεις για τη δημόσια υγεία.....	237
<u>ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ</u>	239
<u>ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ</u>	267
1. Ερωτηματολόγιο Κλινικής Γενετικής Εκτίμησης.....	268
2. Ερωτηματολόγιο Γονεϊκού Άγχους (PSI-SF).....	275
3. Πρότυπα ανάπτυξης για πρόωρα και τελειόμηνα νεογνά, βρέφη και παιδιά.....	279



ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η Προεμφυτευτική Γενετική Διάγνωση (PGD) αποτέλεσε σταθμό στην ιστορία τόσο της γενετικής όσο και της υποβοηθούμενης αναπαραγωγής. Συνιστά μια αξιόπιστη εναλλακτική μορφή προγεννητικού ελέγχου για σοβαρές γενετικά μεταβιβαζόμενες παθήσεις. Εφαρμόζεται στον άνθρωπο για πάνω από 20 χρόνια και οι τεχνικές της συνεχώς εξελίσσονται ενώ χάρη σε αυτή επιτεύχθηκε η γέννηση περισσότερων από 10,000 υγιών παιδιών παγκοσμίως. Οι μέχρι τώρα μελέτες δείχνουν ότι είναι μέθοδος εφάμιλλης ασφάλειας με την υποβοηθούμενη αναπαραγωγή (In Vitro Fertilization/IVF, Intracytoplasmic Sperm Injection/ICSI) και τα παιδιά που γεννιούνται δεν διατρέχουν αυξημένο κίνδυνο συγγενών ανωμαλιών, ψυχοκινητικής υστέρησης ή άλλων προβλημάτων υγείας, ενώ στη χώρα μας δεν υπάρχουν μέχρι στιγμής στοιχεία που αφορούν στη γενετική και αναπτυξιολογική εκτίμηση των παιδιών που γεννιούνται με PGD. Εξακολουθούν όμως, όπως και για την κλασική εξωσωματική γονιμοποίηση, να εγείρονται ερωτήματα ως προς την ασφάλεια της μεθόδου PGD.

Ο στόχος της παρούσας μελέτης είναι η αναζήτηση της συχνότητας και του είδους των μειζόνων και ελασσόνων συγγενών ανωμαλιών σε παιδιά που γεννήθηκαν μετά από PGD στην Ελλάδα, η καταγραφή της αναπτυξιολογικής εξέλιξης καθώς και η μελέτη των επιπέδων άγχους των γονέων τους συγκριτικά και με ομάδα ελέγχου επιλεγμένη από το γενικό πληθυσμό. Η παρούσα διατριβή εκπονήθηκε στο Εργαστήριο Ιατρικής Γενετικής του Πανεπιστημίου Αθηνών και συγκεκριμένα, η κλινική γενετική εκτίμηση διενεργήθηκε στο Ιατρείο Κλινικής Γενετικής του Εργαστηρίου Ιατρικής Γενετικής, στο Νοσοκομείο Παιδών “Η Αγία Σοφία” ενώ η αναπτυξιολογική εξέταση και η εκτίμηση του γονεϊκού άγχους στη Μονάδα Αναπτυξιακής Παιδιατρικής της Β' Πανεπιστημιακής

Παιδιατρικής Κλινικής του Πανεπιστημίου Αθηνών, στο Νοσοκομείο Παίδων “Π & Α Κυριακού”.

Θερμές ευχαριστίες οφείλω στον επιβλέποντα Καθηγητή κ. Καναβάκη Εμμανουήλ, Διευθυντή του Εργαστηρίου Ιατρικής Γενετικής του Πανεπιστημίου Αθηνών, ο οποίος με δέχθηκε στο Εργαστήριο και μου έδωσε την ευκαιρία να εκπονήσω αυτή τη διατριβή. Θα ήθελα να τον ευχαριστήσω επιπλέον για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε και για τη δυνατότητα να παρακολουθήσω και να συμμετέχω ενεργά, για σχεδόν τρία χρόνια, στο Ιατρείο Κλινικής Γενετικής.

Ιδιαίτερες ευχαριστίες στην Καθηγήτρια Γενετικής κ. Κίτσιου-Τζέλη Σοφία για την πάντα πρόθυμη και ουσιαστική της καθοδήγηση σε κάθε επιμέρους στάδιο της εκπόνησης της παρούσας διατριβής. Η εμπειρία της στάθηκε πολύτιμη για την κατανόηση και προσέγγιση τόσο του αντικειμένου της διατριβής όσο και της ταχέως εξελισσόμενης επιστήμης της Γενετικής. Η παρακολούθηση του Ιατρείου Κλινικής Γενετικής, στο οποίο είναι υπεύθυνη αποτέλεσε εξαιρετική εμπειρία από επιστημονικής πλευράς. Πολύ δε περισσότερο, ο ανθρώπινος και διακριτικός τρόπος με τον οποίο προσεγγίζει τις οικογένειες με γενετικό νόσημα ήταν μια ξεχωριστή από μόνη της διδασκαλία.

Ευχαριστώ επίσης θερμά την Επίκουρη Καθηγήτρια Αναπτυξιακής Παιδιατρικής κ. Θωμαΐδου Λωρέττα, υπεύθυνη της Μονάδας Αναπτυξιακής Παιδιατρικής της Β’ Πανεπιστημιακής Παιδιατρικής Κλινικής Αθηνών, Νοσοκομείο Παίδων “Π & Α Κυριακού”, για τη πολύτιμη καθοδήγησή της σε ότι αφορούσε στην αναπτυξιολογική εκτίμηση των παιδιών, τις πάντα εύστοχες συμβουλές της και την ευκαιρία που μου έδωσε να εντρυφήσω στην μεθοδολογία και στον τρόπο αναπτυξιολογικής εκτίμησης των παιδιών.

Κατά την εκπόνηση της παρούσας διατριβής είχα την χαρά να συνεργαστώ με αξιόλογους επιστήμονες του Εργαστηρίου της Ιατρικής Γενετικής τους οποίους και θα ήθελα από καρδιάς να ευχαριστήσω:

Την Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Γενετικής κ. Συνοδινού -Traeger Ιωάννα-Ραχήλ για τις πάντα χρήσιμες συμβουλές της, τη διαρκή παρότρυνση και καθοδήγηση στη συλλογή του υλικού της μελέτης από τα αρχεία των Προεμφυτευτικών Γενετικών Διαγνώσεων που έχουν πραγματοποιηθεί στο Εργαστήριο Ιατρικής Γενετικής και χωρίς τα οποία η μελέτη θα ήταν αδύνατο να ολοκληρωθεί.

Τις κυρίες Βρεττού Χριστίνα, Χημικό, Κακούρου Γεωργία, Βιολόγο και Δεστούνη Ασπασία, Βιολόγο για την πάντα πρόθυμη επεξήγηση των πολύ εξειδικευμένων τεχνικών που χρησιμοποιούνται στην Προεμφυτευτική Γενετική Διάγνωση και την ενημέρωση για τις συνεχείς εξελίξεις στον τομέα αυτό.

Δεν μπορώ να παραβλέψω την κ. Τσεγκή Χριστίνα, Υφηγήτρια, που είχα την τιμή να γνωρίσω και η οποία από την πρώτη μου επαφή με το Εργαστήριο Ιατρικής Γενετικής με παρότρυνε, εμπνέωνε και καθοδηγούσε με τον πάντα ευγενικό μα συνάμα περιεκτικό και καίριο λόγο της.

Είχα επίσης τη χαρά να γνωρίσω και να συνεργαστώ με τις εξαιρετικές συναδέλφους μου, παιδιάτρους κ. Γιαννάτου Ειρήνη, κ. Κάτανα Αναστασία, κ. Κοσμά Κωνσταντίνα και κ. Σύρμου Αρετή τις οποίες επίσης ευχαριστώ για την άψογη πάντα συνεργασία μας κατά τη διάρκεια της εκπαίδευσής μας στο Ιατρείο Κλινικής Γενετικής, υπό την εποπτεία της Καθηγήτριας κ. Κίτσιου-Τζέλη Σοφίας.

Θα ήθελα επίσης να ευχαριστήσω όλο ανεξαιρέτως το προσωπικό του Εργαστηρίου Ιατρικής Γενετικής, επιστημονικό και διοικητικό, για την αγάπη με την οποία με περιέβαλαν και την προθυμία τους να με βοηθήσουν κατά τη διάρκεια εκπόνησης της διατριβής.

Ιδιαίτερες ευχαριστίες θα ήθελα να απευθύνω στην Καθηγήτρια Παιδιατρικής κ. Τζουμάκα-Μπακούλα Χρύσα, Διευθύντρια της Β' Πανεπιστημιακής Παιδιατρικής Κλινικής Αθηνών, όπου είχα τη χαρά να ολοκληρώσω την ειδίκευσή μου στην Παιδιατρική. Τα πάντα εύστοχα σχόλιά της, η διαρκής παρότρυνση και η αδιάληπτη παρουσία της ήταν άκρως

εποικοδομητικά τόσο για κάποια στάδια της διατριβής όσο και για την άρτια επιστημονική μου κατάρτιση.

Ιδιαίτερες ευχαριστίες οφείλω στον κ. Μαντούδη Στέλιο, Αναπτυξιακό Εργοθεραπευτή-Επιστημονικό συνεργάτη της Β' Πανεπιστημιακής Παιδιατρικής Κλινικής, για την ενεργό συμμετοχή του στην αναπτυξιολογική αξιολόγηση των παιδιών της μελέτης καθώς και στην πραγματικά ανεκτίμητη βοήθειά του στη οργάνωση της ομάδας μαρτύρων για το γονεϊκό άγχος.

Ευχαριστώ επίσης την κ. Δρανδάκη Ήρα, Ψυχολόγο, για την διάθεση των ερωτηματολογίων γονεϊκού άγχους PSI-SF και την ανάλυσή τους, καθώς και για τη χρήσιμη σχετική βιβλιογραφία που ήταν απαραίτητα για την ολοκλήρωση αυτού του σκέλους της μελέτης.

Ευχαριστώ επίσης θερμά την κ. Κριτσέλη Έλενα, Επιδημιολόγο-Διατροφολόγο, για τη στατιστική ανάλυση των πρώτων αποτελεσμάτων της μελέτης. Η εμπειρία της και τα σχόλιά της στάθηκαν πολύτιμα στην διαμόρφωση των πρώτων στοιχείων της μελέτης.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω παράλληλα τον κ. Αντωνογιώργο Γεώργιο, Παιδίατρο, για την τελική και συνολική στατιστική ανάλυση της παρούσας διατριβής.

Θα ήταν παράβλεψη να μην ευχαριστήσω από καρδιάς όσους γονείς δέχθηκαν την πρόσκληση συμμετοχής στη μελέτη μαζί με τα παιδιά τους, οι οποίοι δεν φείδονταν χρόνου και ταλαιπωρίας και ταξίδεψαν ακόμα και από απομακρυσμένες περιοχές, εκτός Αττικής.

Τέλος, ευχαριστώ την οικογένειά μου για τη διαρκή κατανόηση, συμπαράσταση και ψυχική ενδυνάμωση κατά τη διάρκεια της απαιτητικής μα συγχρόνως δημιουργικής διαδικασίας εκπόνησης της παρούσας διατριβής, αλλά και καθόλη τη μέχρι τώρα σταδιοδρομία μου.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Εισαγωγή: Η Προεμφυτευτική Γενετική Διάγνωση ή Preimplantation Genetic Diagnosis (PGD) αποτελεί ιδιαίτερα χρήσιμη μέθοδο που συνδυάζει την εξωσωματική γονιμοποίηση και τον γενετικό έλεγχο του εμβρύου, πριν τη μεταφορά στη μήτρα, με σκοπό τη γέννηση υγιούς παιδιού. Η ίδια η φύση της μεθόδου με την διενέργεια μικροεπεμβατικών χειρισμών στα πρώιμα στάδια του αναπτυσσόμενου εμβρύου είχε εγείρει, παλαιότερα, σοβαρά ερωτήματα ως προς την ασφάλειά της σχετικά με την φυσιολογική ανάπτυξη των παιδιών που γεννιούνται. Οι μέχρι τώρα όμως μελέτες δεν αναδεικνύουν αυξημένο κίνδυνο συγγενών γενετικών ανωμαλιών ή ψυχοκινητικής υστέρησης. Σκοπός της παρούσας διατριβής είναι η μελέτη, στη χώρα μας, των συγγενών ανωμαλιών και της ψυχοκινητικής ανάπτυξης των παιδιών που γεννιούνται μετά από PGD, καθώς και του άγχος των γονέων τους.

Πληθυσμός μελέτης - Μέθοδος: Στην παρούσα μελέτη 53 παιδιά (26 θήλεα και 27 αρρενα) που γεννήθηκαν από 39 κυήσεις PGD και οι 78 γονείς των παιδιών αυτών (39 ζευγάρια) που είναι φορείς μονογονιδιακού νοσήματος αποτέλεσαν τον πληθυσμό μελέτης. Περιελήφθησαν παιδιά τόσο από μονήρεις όσο και από πολύδυμες κυήσεις με PGD. Η κλινική γενετική και αναπτυξιολογική εξέταση των 51 παιδιών που επέζησαν της περιγεννητικής περιόδου διενεργήθηκε στην ηλικία των 6 μηνών έως 8 ετών, με την παράλληλη χρήση ερωτηματολογίων και των κλιμάκων ανάπτυξης Bayley, Griffiths. Η σύγκριση των αποτελεσμάτων έγινε με βάση τη διεθνή βιβλιογραφία. Από τους 78 γονείς των παιδιών PGD στην μελέτη αξιολόγησης του γονεϊκού άγχους συμμετείχαν οι 49. Την ομάδα ελέγχου αποτέλεσαν 52 γονείς παιδιών με φυσική σύλληψη, οι οποίοι επιλέχθηκαν από το γενικό πληθυσμό. Για τη μελέτη του γονεϊκού άγχους χρησιμοποιήθηκε το Parental Stress Index-Short Form (PSI-SF), προσαρμοσμένο στον ελληνικό πληθυσμό. Η στατιστική ανάλυση όλων των δεδομένων έγινε με τη χρήση των χ^2 , Fisher's exact test, Student's t-test,

Ανάλυση Διακύμανσης (Analysis of Variance-ANOVA), Man-Whitney και των Kruskal-Wallis καθώς και με ανάλυση πολλαπλής λογαριθμιστικής παλινδρόμησης.

Αποτελέσματα: Διαπιστώθηκε αυξημένη συχνότητα προωρότητας (31,6%), πολυδυμίας (28,2%) και καισαρικών τομών (87%). Σημαντικό ποσοστό (29,4%) των παιδιών που γεννήθηκαν μετά από προεμφυτευτική γενετική διάγνωση είχαν χαμηλό βάρος γέννησης ($\leq 2500\text{gr}$) ενώ το 10% γεννήθηκαν με πολύ χαμηλό βάρος ($\leq 1500\text{gr}$). Ένα μη αναμενόμενο εύρημα, που δεν αναφέρεται στην μέχρι τώρα βιβλιογραφία, ήταν η μεγαλύτερη επίπτωση των περιγεννητικών επιπλοκών στο θήλυ φύλο.

Το 15.7% των παιδιών που γεννήθηκαν μετά από PGD παρουσίασαν τουλάχιστον μία μείζονα συγγενή ανωμαλία, με συνηθέστερη την μακροκεφαλία ενώ οι άλλες μείζονες αφορούσαν στον εγκέφαλο/κρανίο, σκελετικό, πεπτικό, ουροποιογεννητικό και καρδιαγγειακό σύστημα. Το 72.6% είχαν κάποια ελάσσονα συγγενή ανωμαλία. Στατιστικά σημαντική ήταν η συσχέτιση του αρρενος φύλου με την εμφάνιση μειζόνων συγγενών ανωμαλιών, $P=0,05$ (9/πλάσιος σχεδόν κίνδυνος εμφάνισης σε σχέση με τα θήλεα, C.I. 0,96-82,94). Το εύρημα αυτό προέκυψε τόσο κατά τη μονοπαραγοντική όσο και κατά την πολυπαραγοντική ανάλυση ως προς το βάρος γέννησης και τον αριθμό των μεταφερόμενων εμβρύων. Αντιθέτως, δεν διαπιστώθηκε θετική συσχέτιση των μειζόνων ανωμαλιών με τον αριθμό των μεταφερόμενων εμβρύων, τις επιπλοκές της κύησης, το χαμηλό βάρος γέννησης ($\leq 10^{\text{η}}$ ΕΘ), την προωρότητα και την πολυδυμία.

Η αναπτυξιολογική εξέταση έδειξε ότι η πλειονότητα των παιδιών είχε φυσιολογική τιμή για το Κινητικό (67,5%), το Νοητικό (80,5%) και το Γενικό Αναπτυξιακό Πηλίκο (74,6%). Ωστόσο, το ποσοστό σοβαρής υστέρησης ήταν 3% για το Γενικό Πηλίκο, 5,9% για το Νοητικό Πηλίκο και 6,5% για το Κινητικό

Πηλίκο. Τα αντίστοιχα ποσοστά για την ήπια υστέρηση ήταν 11,7%, 8,7% και 17,3%, αποτελέσματα που διαφοροποιούνται από τη διεθνή βιβλιογραφία.

Οι γονείς των παιδιών PGD βρέθηκε όχι μόνο να έχουν στην πλειονότητά τους (71,1%) άγχος εντός του φυσιολογικού αλλά και να αντιμετωπίζουν λιγότερο συχνά υψηλά επίπεδα ψυχολογικής φόρτισης σχετικά με το γονεϊκό τους ρόλο (2,6% έναντι 17,3% της ομάδας μαρτύρων). Μολονότι, η στατιστική σημαντικότητα του παραπάνω ευρήματος είναι οριακή ($P=0,065$), αντίστοιχες μελέτες έχουν επίσης καταλήξει ότι οι γονείς παιδιών PGD δεν βιώνουν αυξημένα επίπεδα άγχους ως προς το ρόλο τους.

Συμπεράσματα: Η παρούσα μελέτη, πρώτη στην Ελλάδα και τρίτη παγκοσμίως, αφορά συγχρόνως στην κλινική γενετική και αναπτυξιολογική εκτίμηση παιδιών που γεννήθηκαν μετά από PGD καθώς και του άγχους των γονέων τους. Η μελέτη ανέδειξε ότι στην πλειονότητά τους τα παιδιά από PGD куήσεις φαίνονται να έχουν φυσιολογική ψυχοσωματική ανάπτυξη και οι γονείς τους να μην επιβαρύνονται ψυχολογικά ως προς το ρόλο τους. Ιδιαίτερα χαρακτηριστικά της μελέτης είναι η εξ ολοκλήρου κλινική εξέταση των παιδιών και η συμπερίληψη παιδιών τόσο από μονήρεις όσο και από πολύδυμες PGD куήσεις. Παρά τα ευοίωνα αποτελέσματα των μέχρι τώρα μελετών ως προς την ασφάλεια της μεθόδου PGD στο σύνολο της υγείας των παιδιών που γεννιούνται, η μελέτη αυτή καταδεικνύει την σπουδαιότητα προοπτικών κυρίως μελετών σε παιδιά από μονήρεις και πολύδυμες PGD куήσεις, σε εθνικό αλλά και διεθνές επίπεδο.

ABSTRACT

Introduction: Preimplantation Genetic Diagnosis (PGD) consists a useful method combining in vitro fertilization and genetic diagnosis of the embryo before its transfer in uterus and enables the delivery of a healthy child. Micro-manipulation at the very first stages of the developing embryo had raised, in the past, serious concern regarding the method's safety for the normal development of the children delivered. Though, the so far completed studies show that PGD children are not in increased risk of genetic anomalies or psychomotor delay. The purpose of this study is to estimate, in our country, the congenital anomalies and psychomotor development of children born after PGD and the parental stress.

Study population-Method: In the present study, 53 children (26 female and 27 male), born after 39 PGD pregnancies and their 78 parents (39 couples) who are carriers of monogenic disease consisted the study population. Singletons and twins/triplets have been included. Clinical genetic and developmental examination of the 51 children who survived the perinatal period was performed at the age of 6 months up to 8 years; during the evaluation, medical questionnaires, Bayley and Griffiths scales were used. The results of the study had been compared to data from the international relevant literature. 49 out of the 78 parents of PGD children participated in the study of parental stress. 52 parents of naturally conceived children from the general population formed the control group. Parental stress was estimated by using the Parental Stress Index-Short Form, standardized for the Greek population. Statistical analysis of all data was performed by χ^2 , Fisher's exact test, Student's t-test, Analysis of Variance-ANOVA, Mann-Whitney and Kruskal-Wallis and multiple logistic regression analysis.

Results: The study showed high frequency of prematurity (31,6%), multiple pregnancies (28,2%) and caesarian sections (87%). An important

percentage (29,4%) of the children born after PGD had low birth weight ($\leq 2500\text{gr}$) while 10% of them had very low birth weight ($\leq 1500\text{gr}$). An unexpected finding, not referred in the current literature, was the increased incidence of perinatal complications in female PGD neonates. 15.7% of children born after PGD showed at least one major congenital anomaly, with macrocephaly being the most common, and the rest anomalies concerning brain/ scalp, skeletal, peptic, urogenital and cardiovascular system. 72.6% of the children had a kind of minor congenital anomaly. The correlation of male gender and the presence of major congenital anomalies was statistically significant $P=0,05$ (relevant risk almost 9-fold higher than in females, C.I. 0,96-82,94). This finding resulted after univariate and multivariate analysis for birth weight and number of transferred embryos. No correlation between major anomalies and number of transferred embryos, pregnancy complications, low birth weight ($<10^{\text{th}}$ centile), prematurity or multiplicity has been established.

Developmental evaluation showed that the majority of children had normal values for the Motor Developmental Quotient (67,5%), for the Mental Developmental Quotient (80,5%) and for the General Developmental Quotient (74,6%). Consistent with severe retardation was General Developmental Quotient in 3%, Mental Developmental Quotient in 5,9% and Motor Developmental Quotient in 6,5%. Mild retardation was found in 11,7%, 8,7% and 17,3% of the above Quotients respectively. The latter results are in contrast to the international literature.

The majority (71,1%) of PGD parents not only expressed parental stress levels within normal but they also showed lower incidence of psychological distress regarding their parental role (2,6% instead of 17,3% in the control group). Although the statistical significance of this finding is borderline ($P=0,065$), several other studies had also concluded that PGD parents do not have increased levels of parental stress.

Conclusions: The present study, the first in Greece and the third worldwide, focuses concurrently on the clinical genetic and developmental evaluation of children born after PGD along with the estimation of their parents' stress. The study shows that the majority of children born after PGD have normal psychomotor development and their parents are not in higher psychological distress regarding their role. The totally clinical examination of the children and the inclusion of children from both single and multiple PGD gestations consist the special features of this study. Despite the encouraging results of current studies regarding the safety of PGD procedure for the general health of children born, the present study stresses the importance of further follow-up studies in singleton and multiples PGD children in national and worldwide level.

ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ

Array-CGH: array comparative genomic hybridization

ART: artificial reproductive technologies

ESHRE: European Society of Human Reproduction and Embryology

C.I.: Confidential intervals

DC centile: difficult child centile

DR: defensive response

FISH: fluorescent in situ hybridization

GeQ: general quotient

HCG ή hCG: chorionic gonadotropin

HLA: human leucocyte antigen

ICD-10: International Classification of Diseases

ICSI: Intra-Cytoplasmic Sperm Injection

IVF: in vitro fertilization

MeQ: mental quotient

MoQ: motor quotient

PGD: preimplantation genetic diagnosis

PGS: preimplantation genetic screening

PCDI centile: parental child difficult interaction centile

PD centile: parental distress centile

PCR: polymerase chain reaction

PSI centile: Parental stress index centile

P: P value

WISC-R: Weschler Intelligence Scale for Children–Revised

***Διευκρίνιση:** Για λόγους συντομίας και μόνο, στο κείμενο και στους πίνακες, χρησιμοποιείται συνοπτικά ο όρος “παιδιά **PGD**” αντί του ορθότερου “παιδιά που γεννήθηκαν μετά την διενέργεια προεμφυτευτικής γενετικής διάγνωσης”. Κατά τον ίδιο τρόπο χρησιμοποιείται και ο όρος “παιδιά **IVF/ICSI**” ή “Γονείς **PGD/PGS**”*

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η Προεμφυτευτική Γενετική Διάγνωση ή Preimplantation Genetic Diagnosis (PGD), σύμφωνα με την διεθνή ορολογία, είναι ο γενετικός έλεγχος των εμβρύων που προκύπτουν από εξωσωματική γονιμοποίηση με σκοπό να επιλεγούν, να μεταφερθούν και να εγκατασταθούν στη μήτρα μόνο τα υγιή για το ελεγχόμενο νόσημα έμβρυα (Lalioti 2008, Findlay 2000, Fiorentino et al 2006).

1. ΠΡΟΓΕΝΝΗΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ

1.1. ΠΡΟΛΗΨΗ ΓΕΝΕΤΙΚΩΝ ΝΟΣΗΜΑΤΩΝ ΜΕ ΚΛΑΣΙΚΟ ΠΡΟΓΕΝΝΗΤΙΚΟ ΕΠΕΜΒΑΤΙΚΟ ΕΛΕΓΧΟ

Ζευγάρια φορείς ή ομοζυγώτες μονογονιδιακών παθήσεων (αυτοσωμικών ή φυλοσύνδετων) ή ζευγάρια φορείς χρωμοσωμικών ανακατατάξεων διατρέχουν γενικά αυξημένο αναπαραγωγικό κίνδυνο: οι προσβεβλημένες κυήσεις μπορεί να καταλήξουν σε αποβολή ή και στη γέννηση πάσχοντος παιδιού και ενδεχομένως και στο θάνατο του τελευταίου (Πίνακα 1).

Αυτά τα ζευγάρια πριν από την ανάπτυξη του Προεμφυτευτικού Γενετικού Ελέγχου, είχαν τις εξής τρεις επιλογές: α) τον κλασικό προγεννητικό έλεγχο (βιοψία συγκυτιοτροφοβλάστης ή/και αμνιοπαρακέντηση) όπου είναι δυνατή η διάγνωση χρωμοσωμικών δομικών ή αριθμητικών ανωμαλιών, αλλά και ο έλεγχος μερικών μονογονιδιακών νοσημάτων και ακολούθως, επί

παθολογικού αποτελέσματος, τερματισμό της κύησης ή την απόκτηση πάσχοντος τέκνου β) την απόκτηση παιδιού με τη βοήθεια δότη γαμέτη (ωαρίου ή σπερματοζωαρίου) ή με υιοθεσία και γ) την ατεκνία (Ogilvie et al 2005).

Η βιοψία συγκυτιοτροφοβλάστης (CVS) και η αμνιοπαρακέντηση υπό υπερηχογραφική παρακολούθηση, αποτελούν τις δυο κλασικές επεμβατικές μορφές προγεννητικού γενετικού ελέγχου. Η αμνιοπαρακέντηση για την ανάλυση των κυττάρων του αναπτυσσόμενου εμβρύου που εμπεριέχονται σε αυτό, πραγματοποιείται περί την 15^η εβδομάδα της κύησης (2^ο τρίμηνο) και αποσκοπεί κυρίως στην καρυοτυπική ανάλυση του εμβρύου αλλά και σε πιο ειδικές περιπτώσεις στον έλεγχο του εμβρυικού DNA για συγκεκριμένα μονογονιδιακά νοσήματα.

Κατά την βιοψία συγκυτιοτροφοβλάστης, λαμβάνεται ένα μικρό δείγμα από τις χοριακές λάχνες (τον ιστό που επενδύει τη μήτρα και από το οποίο προέρχεται ο πλακούντας). Τα κύτταρα του πλακούντα είναι όμοια με αυτά του εμβρύου, αφού τόσο ο πλακούντας όσο και το έμβρυο προέρχονται εμβρυολογικά από το ίδιο γονιμοποιημένο ωάριο (βιβλιογραφική αναφορά αρ. 216, Centre of Genetics Education). Η βιοψία συγκυτιοτροφοβλάστης πραγματοποιείται περί τη 10^η-13^η εβδομάδα της κύησης (1^ο τρίμηνο κύησης) και από αυτή την άποψη πλεονεκτεί της αμνιοπαρακέντησης, δεδομένου ότι επί παθολογικού αποτελέσματος είναι πιο ασφαλής ο τερματισμός της κύησης στο στάδιο αυτό (Adusumalli et al 2007).

Και οι δυο μέθοδοι έχουν ακρίβεια της τάξης του 99% στην διάγνωση τουλάχιστον χρωσωμικών ανωμαλιών (Adusumalli et al 2007). Στους κινδύνους συγκαταλέγεται η αποβολή (0.5-1% μετά από αμνιοπαρακέντηση και 1-2% στην περίπτωση της CVS (Adusumalli et al 2007). Στην CVS επιπλέον υπάρχει ο κίνδυνος της πρόωρης ρήξης εμβρυϊκών υμένων, εμβρυομητρικής αιμορραγίας και λοίμωξης, αν και αντίστοιχα περιστατικά είναι σπάνια (Adusumalli et al 2007).

Βασικές ενδείξεις και για τις δυο μεθόδους προγεννητικού γενετικού ελέγχου είναι οι ακόλουθες (Πίνακας 1):

Πίνακας 1. Ενδείξεις κλασικού επεμβατικού προγεννητικού ελέγχου

ΕΝΔΕΙΞΕΙΣ ΚΛΑΣΙΚΟΥ ΕΠΕΜΒΑΤΙΚΟΥ ΠΡΟΓΕΝΝΗΤΙΚΟΥ ΕΛΕΓΧΟΥ
• Ηλικία μητέρας 35 και άνω • Παθολογικό screening test 1^{ου} τριμήνου (δηλαδή αυξημένος κίνδυνος για χρωμοσωμική ανωμαλία όπως αυτός υπολογίζεται από την συν-αξιολόγηση των δεικτών PAPP-A, β-HCG, αυχενική διαφάνεια και την ηλικία της μητέρας) • Θετικό ιστορικό για χρωμοσωμική ανωμαλία σε άλλο παιδί στην οικογένεια ή σε προηγούμενα εγκυμοσύνη • Κίνδυνος μεταβίβασης μονογονιδιακού γενετικού νοσήματος στην οικογένεια, εφόσον βέβαια είναι γνωστή η μοριακή βάση του νοσήματος και η υπεύθυνη μετάλλαξη.

Άλλες ενδείξεις Προγεννητικού επεμβατικού ελέγχου με αμνιοπαρακέντηση είναι η ανίχνευση παθολογικών ευρημάτων στον υπερηχογραφικό έλεγχο του εμβρύου (όπως ανατομική ανωμαλία κεντρικού νευρικού συστήματος, καρδιάς, νεφρών, πεπτικού ή σκελετικού συστήματος), με σκοπό τον αποκλεισμό συνδρόμων που συνδέονται με αυτά.

Είναι προφανές ότι ο κλασικός προγεννητικός γενετικός έλεγχος διενεργείται σε μια ήδη εγκατεστημένη και προχωρημένη κύηση. Επομένως, είναι πραγματικά ψυχοφθόρα και επώδυνη για το ζευγάρι η αναμονή μέχρι την πραγματοποίηση και ολοκλήρωση του ελέγχου όπως και πολύ περισσότερο η πιθανή καταφυγή σε διακοπή μιας παθολογικής κύησης.

1.2. ΠΡΟΛΗΨΗ ΓΕΝΕΤΙΚΩΝ ΝΟΣΗΜΑΤΩΝ ΜΕ ΠΡΟΕΜΦΥΤΕΥΤΙΚΗ ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΔΙΑΓΝΩΣΗ -PREIMPLANTATION GENETIC DIAGNOSIS (PGD)

Η προεμφυτευτική γενετική διάγνωση συμπληρώνει τον κλασικό προγεννητικό έλεγχο για τα ζευγάρια που διατρέχουν αυξημένο κίνδυνο να μεταβιβάσουν μονογονιδιακά γενετικά νοσήματα (Delhanty and Harper 2002, Ogilvie et al 2005). Όπως χαρακτηριστικά διευκρινίζεται από τη British Human Fertilisation and Embryology Authority:

“ο σκοπός του προεμφυτευτικού γενετικού ελέγχου είναι να παράσχει πληροφορίες ώστε να επιλεγούν μη προσβεβλημένα έμβρυα για μεταφορά”
(Bredenoord et al 2008).

Αντιστοίχως, το Health Council of the Netherlands διευκρινίζει ότι η PGD ορίζεται βάσει του σκοπού να επιτρέπει σε ζευγάρια που διατρέχουν υψηλό κίνδυνο για γενετικό νόσημα, να αποκτήσουν παιδί χωρίς τη νόσο αυτή (Bredenoord et al 2008). Είναι σαφές ότι η PGD πλεονεκτεί έναντι του κλασικού προγεννητικού ελέγχου ακριβώς επειδή η διάγνωση τίθεται πριν από την εγκατάσταση εγκυμοσύνης, αφού μόνο τα υγιή έμβρυα, δηλαδή εκείνα που δεν έχουν τη μελετώμενη διαταραχή ή μετάλλαξη, είναι εκείνα που μεταφέρονται στη μήτρα. Με τον τρόπο αυτό αποφεύγεται η διακοπή μιας εξελισσόμενης εγκυμοσύνης και δίνεται η δυνατότητα σε ζευγάρια που βρίσκονται σε κίνδυνο να γεννήσουν παιδί με γενετικό νόσημα να αποκτήσουν τελικά υγιή απόγονο. (Geraedts et al 2001, Fiorentino et al 2006, Findlay 2000, Thornhill et al 2005).

Η πρώτη εφαρμογή PGD για την προγεννητική ανίχνευση γενετικών παθήσεων στον άνθρωπο πραγματοποιήθηκε το 1989 για επιλογή θηλέων εμβρύων με σκοπό τον αποκλεισμό Χ-φυλοσύνδετων παθήσεων (Handyside et al 1990). Την ίδια χρονιά, η μέθοδος εφαρμόστηκε για μονογονιδιακή πάθηση (κυστική ίνωση) με τη χρήση PCR και ακολούθως επετάχθηκε και σε άλλες παθήσεις (Coutelle et al 1989, Findlay 2000, Fiorentino et al 2006, Ogilvie et al, 2005, DeUgarte et al 2008). Το 1990 γεννήθηκαν και τα πρώτα παιδιά από κυήσεις που επιτεύχθηκαν με τη βοήθεια της μεθόδου (Geraedts et al 2001).

Η εφαρμογή της PGD απετέλεσε σταθμό στην εξέλιξη της ιατρικής της αναπαραγωγής, της γενετικής και της μοριακής βιολογίας. Στην πραγματικότητα η PGD αποτελεί συνδυασμό των τεχνικών της εξωσωματικής γονιμοποίησης (In Vitro Fertilization-IVF), και ιδίως της ICSI (Intra-Cytoplasmic Sperm Injection), με αυτών της μοριακής βιολογίας όπως την αντίδραση αλυσιδωτής πολυμεράσης-polymerase chain reaction (PCR), τον φθορίζοντα in

situ υβριδισμό-fluorescent in situ hybridization (FISH), και προσφάτως τον συγκριτικό γενωμικό υβριδισμό σε μικροσυστοιχίες (array comparative genomic hybridization-arrayCGH). Οι εξελίξεις στους παραπάνω τομείς ήταν απαραίτητες για να μπορέσει να εφαρμοσθεί ο προεμφυτευτικός γενετικός έλεγχος στον άνθρωπο (Tsuchiya et al 2005, Basille et al 2009, Simpson 2010). Στις προηγούμενες δεκαετίες, οι επιστήμες της γενετικής και της υποβοηθούμενης αναπαραγωγής αναπτύχθηκαν παράλληλα και εξελίχθηκαν με αλματώδεις ρυθμούς, χρησιμοποιώντας κοινές εργαστηριακές μεθόδους (Monk 1993, Verlinsky 1998). Με σκοπό, επιπλέον, την βελτίωση της ποιότητας των παρεχόμενων υπηρεσιών, οι επιστημονικές ομάδες τόσο της γενετικής όσο και της ιατρικής υποβοηθούμενης αναπαραγωγής συνεργάζονται στενά (Raeburn 1998).

Αν και εξακολουθούν να υπάρχουν ποικίλα τεχνικά προβλήματα, καθώς και πρακτικά και ηθικά διλήμματα, η μέθοδος PGD έχει υιοθετηθεί από τα κέντρα υποβοηθούμενης αναπαραγωγής ως μια επιπλέον εναλλακτική στη κλασική Προγεννητική διάγνωση γενετικών νοσημάτων και συγκεκριμένα για ζευγάρια με ιστορικό μονογονιδιακού νοσήματος ή/και ιστορικό υπογονιμότητας που έχουν μάλιστα και επανειλημμένες αποβολές μετά την προγεννητική διάγνωση παθολογικού εμβρύου (Sermon et al 2004). Ζευγάρια που επιλέγουν την PGD αντί του κλασικού προγεννητικού ελέγχου και της διακοπής προσβεβλημένης κύησης, μπορεί επιπλέον να καταφεύγουν σε αυτή τη δυνατότητα και λόγω προσωπικών, κοινωνικο-πολιτισμικών ή θρησκευτικών πεποιθήσεων. Κυρίως όμως επιλέγουν την PGD είτε γιατί έχουν ήδη σε παλαιότερες κυήσεις υποβληθεί σε κλασικό προγεννητικό έλεγχο που προέκυψε παθολογικός ή γιατί, πέραν του ιστορικού γενετικού νοσήματος, ούτως ή άλλως θα υποβάλλονταν σε διαδικασία εξωσωματικής γονιμοποίησης για λόγους υπογονιμότητας (Geraedts et al 2001).

Μέχρι σήμερα υπολογίζεται ότι τουλάχιστον 50,000 κύκλοι έχουν διεθνώς πραγματοποιηθεί και περισσότερα από 10,000 παιδιά έχουν ήδη γεννηθεί μετά από PGD/PGS (preimplantation genetic screening) (Simpson 2010).

Λαμβάνοντας υπόψιν ότι στις μέρες μας, ο αριθμός των γενετικών διαταραχών που μπορεί να ανιχνευθούν με τη βοήθεια της PGD έχει αυξηθεί δραματικά και συμπεριλαμβάνει αριθμητικές όσο και δομικές ανωμαλίες, γίνεται αντιληπτό γιατί η συγκεκριμένη μέθοδος αποτελεί μια βασική συμπληρωματική τεχνική στις μέχρι σήμερα υπάρχουσες μεθόδους πρόληψης γενετικών παθήσεων και έχει καθιερωθεί ως εναλλακτική κλινική πρακτική στην υποβοηθούμενη αναπαραγωγή (Thornhill 2006).

Για την παρακολούθηση των κύκλων προεμφυτευτικής γενετικής διάγνωσης και screening που πραγματοποιούνται, όπως και της πορείας της κύησης καθώς και παιδιών που προκύπτουν, ανά τον κόσμο έχουν συσταθεί ειδικές επιτροπές εμπειρογνομόνων και επιστημονικές ομάδες. Στόχος είναι η λεπτομερής καταγραφή, ανάλυση και αξιολόγηση των σχετικών δεδομένων και ο καθορισμός πρωτοκόλλων ή κατευθυντήριων γραμμών σχετικά με τη βελτιστοποίηση της μεθόδου. Τα κέντρα αναφοράς για την Ευρώπη είναι η European Society of Human Reproduction and Embryology (ESHRE) και το ESHRE Consortium που δημιουργήθηκε το 1997 από το Special Interest Group (SIG). Η ESHRE PGD Consortium έθεσε ως κύριους στόχους να:

- i)** επιβλέπει την εφαρμογή της μεθόδου PGD
 - ii)** συλλέγει αναδρομικά και προοπτικά δεδομένα ως προς την ακρίβεια, αξιοπιστία και αποτελεσματικότητα της PGD
 - iii)** δώσει έναυσμα για μελέτες παρακολούθησης των κυήσεων και των παιδιών που γεννιούνται με τη βοήθεια PGD
 - iv)** παρέχει κατευθυντήριες οδηγίες και προτεινόμενα πρωτόκολλα
 - v)** σχηματίζει ενιαία συμφωνία σε θέματα σχετικά με τη μέθοδο και
 - vi)** εκπαιδεύσει στον τομέα της γενετικής και της αναπαραγωγής
- (Harper et al 2012)

Στην Αμερική, το 2005, η American Society for Reproductive Medicine (ASRM) η διαμόρφωσε και δικό της Special Interest Group (SIG) για την PGD. Η Preimplantation Genetic Diagnosis International Society (PGDIS) ιδρύθηκε το 2003 με σκοπό την οργάνωση της έρευνας, της εκπαίδευσης στον τομέα της

προεμφυτευτικής γενετικής διάγνωσης. Επιπλέον, εκδίδει επίσημο επιστημονικό περιοδικό στο διαδίκτυο (Reproductive BioMedicine Online).

2. ΥΠΟΒΟΗΘΟΥΜΕΝΗ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗ - ASSISTED REPRODUCTIVE TECHNOLOGY (ART)

Με τον όρο Τεχνολογία Υποβοηθούμενης Αναπαραγωγής (Assisted Reproductive Technologies ή αλλιώς ART) χαρακτηρίζονται όλες οι θεραπείες υπογονιμότητας στις οποίες τόσο τα ωάρια όσο και τα σπερματοζωάρια επεξεργάζονται στο εργαστήριο με την μέθοδο της εξωσωματικής γονιμοποίησης (In Vitro Fertilization IVF) και των συναφών τεχνικών (Clay et al, 2008). Η εξωσωματική γονιμοποίηση εφαρμόστηκε για πρώτη φορά στον άνθρωπο το 1978 και οδήγησε στη γέννηση του πρώτου παιδιού του “σωλήνα” Louise Brown (Racowsky 2002, Shiota and Yamada 2004). Το συγκεκριμένο παιδί γεννήθηκε μετά από λήψη και στη συνέχεια γονιμοποίηση in vitro ενός και μόνο ωαρίου και στη συνέχεια μεταφορά του σχηματισθέντος εμβρύου που συνίστατο από 8 μόλις κύτταρα, στην διάρκεια φυσιολογικού έμμηνου κύκλου (Racowsky 2002).

2.1. ΕΝΔΕΙΞΕΙΣ

Στους παράγοντες που συνιστούν και ενδείξεις ART ανήκουν πέρα από την ηλικία της μητέρας και άλλα αίτια υπογονιμότητας/στεριότητας στη γυναίκα και στον άνδρα ή και στους δυο (Wright et al 2008) (Πίνακας 2).

Πίνακας 2. Ενδείξεις εφαρμογής ART

ΕΝΔΕΙΞΕΙΣ ΓΙΑ ΕΦΑΡΜΟΓΗ ART
ΑΙΤΙΑ ΥΠΟΓΟΝΙΜΟΤΗΤΑΣ ΣΤΗ ΓΥΝΑΙΚΑ • Παράγοντες που αφορούν στους ωαγωγούς: ύπαρξη απόφραξης σαλπίγγων ή καταστροφή αυτών, που δημιουργεί δυσκολία στην μεταφορά του εμβρύου για εμφύτευση στη μήτρα • Ωοθηκική δυσλειτουργία: οι ωοθήκες φυσιολογικά μπορούν να παράγουν ωάρια. Οι πολλαπλές κύστεις στις ωοθήκες και το σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών ανήκουν στα αίτια ωοθηκικής λειτουργίας. • Ελαττωμένα αποθέματα στις ωοθήκες: η ικανότητα των ωοθηκών να παράγουν ωάρια είναι ελαττωμένη εξαιτίας συγγενών, ιατρογενών (φαρμακευτικών), χειρουργικών αιτιών ή και λόγω της φυσιολογικής έκπτωσης με την πάροδο της ηλικίας της γυναίκας • Ενδομητρίωση: αφορά στην παρουσία ιστού παρόμοιου με το ενδομήτριο σε έκτοπες θέσεις και πρόκειται για πάθηση που επηρεάζει τόσο την εμφύτευση όσο και τη γονιμοποίηση. • Παράγοντες της μήτρας: παρουσία δομικής ή λειτουργικής διαταραχής στην μήτρα μπορεί να αποτελέσει αίτιο υπογονιμότητας.
ΑΙΤΙΑ ΥΠΟΓΟΝΙΜΟΤΗΤΑΣ ΣΤΟΝ ΑΝΔΡΑ • Ανδρικοί παράγοντες: χαμηλός αριθμός σπερματοζωαρίων ή προβλήματα στη λειτουργία του σπέρματος που δυσχεραίνουν την γονιμοποίηση του ωαρίου από αυτό σε φυσιολογικές συνθήκες.
ΛΟΙΠΕΣ ΕΝΔΕΙΞΕΙΣ • Άλλα αίτια στειρότητας: ανοσολογικά προβλήματα ή χρωμοσωμικές ανωμαλίες, χημειοθεραπεία για καρκίνο ή άλλες σοβαρές παθήσεις. • Μη διευκρινισμένα αίτια: δεν έχει διαπιστωθεί δηλαδή καμιά αιτία στειρότητας στο σύντροφο. • Πολλαπλοί παράγοντες: συνύπαρξη περισσότερων του ενός αιτιών υπογονιμότητας στη γυναίκα μεμονωμένα ή σε συνδυασμό με υπογονιμότητα στον άντρα σύντροφό της.

2.2. ΤΕΧΝΙΚΕΣ

Η ART ουσιαστικά συντελεί στην αύξηση της γονιμότητας δίνοντας τη δυνατότητα στους γαμέτες να αλληλεπιδράσουν (Lewis & Klonoff-Cohen, 2005). Οι τεχνικές ART που αναπτύχθηκαν αρχικά εφαρμόστηκαν με ένδειξη την γυναικεία στειρότητα (και ιδιαίτερα για προβλήματα που αφορούσαν στις

σάλπιγγες) παρά την ανδρική, αφήνοντας έτσι ένα 35% των υπογόνιμων ζευγαριών με ελάχιστες εναλλακτικές για σύλληψη (Lewis & Klonoff-Cohen 2005, Dervoe & Van Steirteghem 2004). Στη συνέχεια αναπτύχθηκαν τεχνικές μικροχειρισμού (micromanipulation) με σκοπό την διεύρυνση των εφαρμογών της υποβοηθούμενης αναπαραγωγής όπως η PZD (partial zone dissection), η SUZI (subzonal insemination), GIFT (gamete intrafallopian transfer) και ZIFT (zygote intrafallopian transfer) (Dervoe & Van Steirteghem 2004). Ακόμα όμως και η εφαρμογή μεθόδων όπου προκαλείται διάνοιξη της διαφανούς ζώνης με μηχανικό, χημικό τρόπο ή laser απαραίτητη προϋπόθεση ήταν η ύπαρξη λειτουργικού σπέρματος με συνέπεια ακόμα 1-2% των ανδρών με πρόβλημα στειρότητας η οποία οφειλόταν σε διαταραχές στη σπερματογένεση πάλι αποκλείονταν από τις προαναφερθείσες μεθόδους (Lewis & Klonoff-Cohen, 2005). Έτσι, σταθμό στην ιστορία των τεχνικών υποβοηθούμενης αναπαραγωγής αποτέλεσε η εισαγωγή μιας νέας μεθόδου γνωστής και ως ICSI (intracytoplasmic sperm injection) στα τέλη της δεκαετίας του 90, με κύρια ένδειξη την ανδρική υπογονιμότητα και οι πρώτες επιτυχείς κυήσεις δημοσιεύθηκαν το 1992 (Lewis & Klonoff-Cohen 2005, Devroe & Van Steirteghem, 2004).

Η κλασική IVF περιλαμβάνει μια σειρά από επιμέρους στάδια στα οποία ανήκουν τα παρακάτω:

- επιλογή του ασθενούς
- ωοθηκική διέγερση
- ωοληψία καλλιέργεια του συμπλέγματος cumulus-oocyte insemination
- διαπίστωση ότι πραγματοποιήθηκε γονιμοποίηση
- διαπίστωση της αυλάκωσης του εμβρύου
- μεταφορά στη μήτρα του ενδεικνυόμενου αριθμού εμβρύων
- κρυοσυντήρηση των πλεοναζόντων εμβρύων και τέλος
- την πιστοποίηση της κλινικής εγκυμοσύνης (Van Steirteghem 2001).

Από τη πρώτη επιτυχή εφαρμογή των τεχνικών ART στον άνθρωπο μέχρι και τις μέρες μας πάνω από 1,000,000 παιδιά παγκοσμίως έχουν γεννηθεί με τον τρόπο αυτό (Shiota & Yamada, 2004). Ένας από τους βασικότερους ίσως στόχους- προκλήσεις των μεθόδων αυτών είναι η ανίχνευση των πιο ικανών εμβρύων, από πλευράς δυναμικού ανάπτυξης, ώστε να εμφυτευτεί ο μικρότερος δυνατόν αριθμός εμβρύων υψηλής ποιότητας γιατί μόνο με αυτό τον τρόπο μπορούμε να επιτύχουμε την μεγιστοποίηση των ποσοστών κύησης και παράλληλα την ελαχιστοποίηση του ποσοστού πολύδυμων κυήσεων που αποτελεί ένα από τα κύρια θέματα που αφορούν στις μεθόδους εξωσωματικής γονιμοποίησης (Racowski 2002). Μια άλλη πρόκληση εξίσου σημαντική με την προηγούμενη, είναι η επίτευξη εξίσου καλών ποσοστών εγκυμοσύνης και βελτιστοποίηση της πιθανότητας ασφαλούς κύησης ακόμα και σε εκείνες τις περιπτώσεις ζευγαριών στα οποία η πρόγνωση είναι πτωχή λόγω των υποκείμενων αιτίων υπογονιμότητας (Poikkeus et al 2007).

Στην υποβοηθούμενη αναπαραγωγή επιδιώκεται η επαγωγή της ωοθυλακιορρηξίας κατά τέτοιο τρόπο ώστε να ωριμάζουν πολλαπλά ωοθυλάκια ταυτόχρονα σε κάθε κύκλο και όχι ένα όπως συμβαίνει στο φυσιολογικό έμμηνο κύκλο. Τα τελευταία χρόνια η ελεγχόμενη ωοθηκική διέγερση αποτελεί τη μέθοδο εκλογής στην υποβοηθούμενη αναπαραγωγή (Tavmergen et al 2002). Συχνότερα, στα σχήματα επαγωγής της ωοθυλακιορρηξίας, χρησιμοποιούνται σε συνδυασμό οι αγωνιστές GnRH μαζί με γοναδοτροπίνες (HMG ή FSH) οι οποίες παρακάμπτουν ουσιαστικά την φυσιολογική ανάδραση ωοθηκών-υποθαλάμου-υπόφυσης και οδηγούν σε ελεγχόμενη υπερδιέγερση και λήψη πολλών ωαρίων ώριμων για γονιμοποίηση ακολούθως και εμβρυομεταφορά, (Tavmergen et al 2002, Loutradis et al 2005).

Το παραπάνω σχήμα του down-regulation της υπόφυσης με τη χρήση αγωνιστών της εκλυτικής ορμόνης των γοναδοτροπινών (GnRH) που ακολουθείται από την διέγερση των ωοθηκών με τη χρήση των εξωγενώς χορηγούμενων γοναδοτροπινών έχει εφαρμοστεί με επιτυχία την τελευταία δεκαετία ως μέθοδος στην ορμονική θεραπεία γυναικών που υποβάλλονται σε

εξωσωματική γονιμοποίηση. Με τη χρήση των αγωνιστών της GnRH στα πρωτόκολλα ελεγχόμενης ωοθηκικής διέγερσης τα υψηλά επίπεδα της ωχρινοτρόπου ορμόνης (LH) καταστέλλονται, προλαμβάνεται η πρόωρη έκλυση της LH και η απρόσφορη ανάπτυξη ωοθυλακίων ενώ παράλληλα βελτιώθηκε το ποσοστό κλινικά επιβεβαιωμένης εγκυμοσύνης (Tavmergen et al 2002, Loutradis et al 2005). Οι στρατηγικές υπερδιέγερσης των ωοθηκών συνδυάζουν τη χρήση GnRH και HMG ή ανασυνδυασμένα FSH και υπάγονται στις ακόλουθες κατηγορίες (Loutradis et al 2005):

1. Το μακρύ ("long") πρωτόκολλο, με τη θεραπεία να ξεκινά στην ωοθυλακική ή ωχρινική φάση του προηγούμενου κύκλου.

2. Το βραχύ ("short") πρωτόκολλο, όπου η θεραπεία ξεκινά ακριβώς πριν ή ταυτόχρονα με την έναρξη της επαγωγής με γοναδοτροπίνες, κατά την ωοθυλακική φάση στον τρέχοντα κύκλο.

3. Το υπερ-βραχύ πρωτόκολλο που αποτελεί μια ακόμα πιο βραχεία εκδοχή του προηγούμενου πρωτοκόλλου, κατά την οποία χορηγείται GnRH αγωνιστής μόνο τις ημέρες 2, 3 και 4 κατά την πρώιμη ωοθυλακική φάση.

Η χρήση GnRH ανταγωνιστών έχει τελευταία εφαρμοσθεί ως εναλλακτική των αγωνιστών GnRH στα πρωτόκολλα ελεγχόμενης ωοθηκικής διέγερσης (Griesinger et al 2006). Οι ανταγωνιστές GnRH έχουν εισαχθεί τα τελευταία χρόνια στα πρωτόκολλα ωοθηκικής διέγερσης στην ART με σκοπό να αναστείλει την πρώιμη αύξηση της LH, κάτι που μέχρι πρότινος είχε επιτευχθεί με τους GnRH αγωνιστές (Tarlatzis et al 2006).

Επιπλέον, στις τεχνικές υποβοηθούμενης αναπαραγωγής, υποστηρίζεται και η ωχρινική φάση, με την χρήση σχήματος ενδομυϊκής χορήγησης hCG(2500 IU) ή προγεστερόνης.

2.3. ΑΡΙΘΜΟΣ ΜΕΤΑΦΕΡΟΜΕΝΩΝ ΕΜΒΡΥΩΝ - ΚΑΤΕΥΘΥΝΤΗΡΙΕΣ ΓΡΑΜΜΕΣ

Ένα θέμα που απασχολεί συχνά σε θέματα εξωσωματικής γονιμοποίησης είναι ο αριθμός των μεταφερόμενων εμβρύων. Σύμφωνα με τους Min et al 2008, είναι σημαντικό να τίθενται κατευθυντήριες γραμμές που να διευκρινίζουν κάτι τέτοιο αφού συντελούν στην υγιή έκβαση των κυήσεων και στην ελάττωση του ποσοστού των πολύδυμων κυήσεων (Min et al 2008). Οι ίδιοι συγγραφείς υποστηρίζουν ότι τα έμβρυα που βρίσκονται στο στάδιο της βλαστοκύστης έχουν υψηλότερα ποσοστά εμφύτευσης συγκριτικά με εκείνα που είναι στη φάση της διάσχισης ειδικά για τις γυναίκες εκείνες που έχουν καλή πρόγνωση και υψηλής ποιότητας βλαστοκύστες (Min et al 2008).

Επιπλέον, οι Practice Committee of the Society for Assisted Reproductive Technology and the Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine έθεσαν το 2008 τις εξής κατευθυντήριες οδηγίες για τον αριθμό των μεταφερόμενων εμβρύων (Πίνακας 3).

Πίνακας 3. Οδηγίες για τον αριθμό των μεταφερόμενων εμβρύων

ΣΥΝΙΣΤΩΜΕΝΑ ΟΡΙΑ ΩΣ ΠΡΟΣ ΤΟΝ ΑΡΙΘΜΟ ΤΩΝ ΜΕΤΑΦΕΡΟΜΕΝΩΝ ΕΜΒΡΥΩΝ ΓΙΑ ΕΜΒΡΥΑ ΣΤΟ ΣΤΑΔΙΟ ΤΗΣ ΑΥΛΑΚΩΣΗΣ				
Πρόγνωση	Ηλικία <35	Ηλικία 35-37	Ηλικία 38-40	Ηλικία >40
Προτιμητέο ^α	½	2	3	5
Υπόλοιποι	2	3	4	5
ΣΥΝΙΣΤΩΜΕΝΑ ΟΡΙΑ ΩΣ ΠΡΟΣ ΤΟΝ ΑΡΙΘΜΟ ΤΩΝ ΜΕΤΑΦΕΡΟΜΕΝΩΝ ΕΜΒΡΥΩΝ ΓΙΑ ΕΜΒΡΥΑ ΣΤΟ ΣΤΑΔΙΟ ΤΗΣ ΒΛΑΣΤΟΚΥΣΤΗΣ				
Πρόγνωση	Ηλικία <35	Ηλικία 35-37	Ηλικία 38-40	Ηλικία >40
Προτιμητέο ^β	1	2	2	3
Υπόλοιποι	2	2	3	3
^α Η αιτιολόγηση για μεγαλύτερο αριθμό μεταφερόμενων εμβρύων θα πρέπει να τεκμηριώνεται σαφώς στο ατομικό φάκελο με το ιστορικό του ασθενούς				

^B Προτιμητέο: πρώτος κύκλος IVF, καλής ποιότητας έμβρυο, πλεόνασμα εμβρύων διαθέσιμο για κρυοσυντήρηση ή προηγούμενος επιτυχής κύκλος IVF

Fertil Steril 2008;90:163-164

2.4. ΕΝΔΟΩΑΡΙΑΚΗ ΣΠΕΡΜΑΤΕΓΧΥΣΗ - INTRACYTOPLASMIC SPERM INJECTION (ICSI)

Από όλες τις τεχνικές εξωσωματικής γονιμοποίησης εκείνη που έχει ιδιαίτερο ενδιαφέρον είναι η μέθοδος ICSI, η οποία άλλωστε είναι και στενά συνδεδεμένη με την εφαρμογή προεμφυτευτικού προγεννητικού ελέγχου, για αυτό και η αναφορά στην συγκεκριμένη μέθοδο θα είναι εκτενέστερη.

Κατά την τεχνική, όπως άλλωστε προδίδει το όνομά της, ένα σπερματοζώριο εκλεκτικά μπορεί να ενεθεί στο ωάριο για να επιτευχθεί γονιμοποίηση παρακάμπτοντας το φυσικό φράγμα της διαφανούς ζώνης (zona pellucida) (Sarkar 2007, Dervoe & Van Steirteghem 2004). Οι Palermo και συνεργάτες ήταν εκείνοι που εισήγαγαν την μέθοδο το 1992. Προηγουμένως, σε πειραματικό επίπεδο είχε επιτευχθεί η γέννηση ζωντανών απογόνων σε κουνέλια και βοοειδή ενώ στην πρώτη εφαρμογή της στον άνθρωπο, δυο υγιή αγόρια γεννήθηκαν από δυο διαφορετικές μονήρεις κυήσεις ενώ άλλο ένα αγόρι και ένα κορίτσι επίσης ήταν τα πρώτα δίδυμα που γεννήθηκαν με την τεχνική ICSI (Sarkar 2007, Dervoe & Van Steirteghem 2004).

2.4.1. ΕΝΔΕΙΞΕΙΣ ICSI

Η μέθοδος ICSI στις μέρες μας αποτελεί ένα πολύτιμο εργαλείο για την θεραπεία της σοβαρής ανδρικής στειρότητας και δίνει τη δυνατότητα σε ζευγάρια με αυτό το αίτιο υπογονιμότητας να αποκτήσουν παιδί χρησιμοποιώντας τους δικούς τους γαμέτες (Verproest & Tournaye, 2006) Αρχικά, η μέθοδος χρησιμοποιήθηκε για να αντιμετωπίσει την αντρική στειρότητα που αποτελεί αίτιο της υπογονιμότητας στο 20-40% των υπογόνιμων

ζευγαριών, αλλά όπως θα αναπτυχθεί ακολούθως η εφαρμογή της επεκτάθηκε (Sarkar 2007, Tarlatzis & Bili 1998).

Συνοπτικά οι ενδείξεις για την εφαρμογή της μεθόδου ICSI αποτελούν (Πίνακας 4):

Πίνακας 4. Ενδείξεις μεθόδου ICSI

ΚΥΡΙΕΣ ΕΝΔΕΙΞΕΙΣ ICSI
A. Ανδρική υπογονιμότητα • αζωοσπερμία (απουσία σπερματοζωαρίων) που μπορεί να αποδίδεται είτε σε αποφρακτικά αίτια στο γεννητικό σύστημα του άρρενος ή σε μη αποφρακτικά αίτια: • <u>συγγενή αίτια</u> (συγγενής απουσία των σπαραγγιδίων σωματίων vas deference) • <u>επίκτητα αίτια</u> (βασεκτομή, απόφραξη λόγω λοιμώξεων ή φλεγμονωδών καταστάσεων, μη φλεγμονώδη απόφραξη και τέλος προβλήματα στυτικής λειτουργίας) • ολιγοασθενοσπερμία • άρρενες από τους οποίους σπέρμα τους έχει φυλαχθεί σε τράπεζα σπέρματος πριν από επέμβαση βαζεκτομής • υψηλή συγκέντρωση αντισπερματικών αντισωμάτων • καρκινοπαθείς ασθενείς σε ύφεση, όπου μπορεί να κρυοσυντηρηθεί σπέρμα πριν την χημειοθεραπεία ή την ακτινοθεραπεία • ασθενείς με βλάβη του νωτιαίου μυελού • περιπτώσεις στυτικής δυσλειτουργίας • άρρενες με παλίνδρομη εκσπερμάτιση • περιπτώσεις πολλαπλών αποτυχημένων προσπαθειών με την κλασική IVF
B. Ως μέθοδος ρουτίνας στην εξωσωματική Γονιμοποίηση
Γ. Στα πλαίσια προεμφυτευτικού γενετικού ελέγχου ή προεμφυτευτικής γενετικής διάγνωσης

(Dervoe & Van Steirteghem 2004, Lewis et al 2005, Verproest & Tournaye, 2006, Sarkar 2007)

Σπερματοζωάρια από την επιδιδυμίδα μπορεί να ληφθούν με την διαδικασία MESA (microsurgical epididymal sperm aspiration) και να αξιοποιηθούν για διενέργεια ICSI σε ασθενείς με αποφρακτική αζωοσπερμία, (Dervoe & Van Steirteghem, 2004). Σε πιο ειδικές περιπτώσεις, η λήψη σπερματοζωαρίων μπορεί να γίνει απευθείας από τους όρχεις με την τεχνική TESA (testicular sperm aspiration) και TESE (testicular sperm extraction) όταν δεν είναι εφικτή η λήψη από την επιδιδυμίδα (Verproest & Tournaye, 2006, Dervoe & Van Steirteghem 2004).

Παρά την αρχική της εφαρμογή για την αντιμετώπιση της ανδρικής στειρότητας, άρχισε να γίνεται εμφανές ότι η ICSI μπορούσε επιπλέον να εφαρμοστεί σε ένα πλήθος άλλων περιπτώσεων, με συνέπεια στις μέρες μας, να έχει υιοθετηθεί πλέον από τα περισσότερα κέντρα υποβοηθούμενης αναπαραγωγής και να συνιστά *μέθοδο ρουτίνας* στα περισσότερα προγράμματα τεχνικής γονιμοποίησης (Tarlatis & Bili).

Βασικό πλεονέκτημα της μεθόδου συγκριτικά με την IVF, είναι αφενός το μικρότερο ποσοστό αποτυχίας που αντιστοιχεί στο 3% των θεραπευτικών κύκλων, δίνοντας έτσι την ευκαιρία στον κλινικό ιατρό να επιλέξει την ICSI όταν υπάρχει ιστορικό πολλαπλών αποτυχημένων προσπαθειών γονιμοποίησης με IVF και χαμηλό ποσοστό γονιμοποίησης. Επιπροσθέτως, εξωγενείς και δύσκολο να προβλεφθούν ή να ελεγχθούν παράγοντες που επηρεάζουν την έκβαση της κλασικής IVF όπως η μορφολογία του σπέρματος, η κινητικότητα των σπερματοζωαρίων ή η παρουσία αντιδραστικών στοιχείων οξυγόνου, δεν φαίνεται να επηρεάζουν σε μεγάλο βαθμό το αποτέλεσμα της εφαρμογής ICSI (Verproest & Tournaye, 2006).

Απόλυτα συνυφασμένη είναι η εφαρμογή της μεθόδου ICSI σε συνδυασμό με τον προεμφυτευτικό γενετικό έλεγχο (PGD) για αποκλεισμό μονογονιδιακών παθήσεων ή με την προεμφυτευτική γενετική διάγνωση (PGS) με σκοπό την ανίχνευση ανευπλοειδιών στο έμβρυο που πρόκειται να εμφυτευθεί. Η χρησιμότητα της ICSI στην περίπτωση αυτή έγκειται στο ότι αποφεύγεται η επιμόλυνση του σπερματικού DNA με επακόλουθη αύξηση του ποσοστού

γονιμοποίησης, ειδικά στις περιπτώσεις εκείνες που χαρακτηρίζονται από ανδρική στειρότητα (Verproest & Tournaye, 2006).

Η γονιμοποίηση με τη μέθοδο ICSI περιλαμβάνει, σε γενικές γραμμές, τα ακόλουθα στάδια:

1. την επιλογή των ασθενών που θα υποβληθούν στη διαδικασία
2. ωοθηκική διέγερση και τον χειρισμό του ωαρίου
3. την αξιολόγηση και επιλογή των σπερματοζωαρίων
4. την καθαυτό τεχνική
5. την διάσπαση του ωαρίου και τον σχηματισμό προπυρήνων μετά τη γονιμοποίηση
6. την ανάπτυξη του εμβρύου και την αντικατάσταση και κρυοσυντήρηση των πλεοναζόντων εμβρύων (Van Steirteghem A 2001).

2.4.2. ΕΠΙΛΟΓΗ ΤΩΝ ΚΑΤΑΛΛΗΛΩΝ ΓΑΜΕΤΩΝ ΚΑΙ ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΤΗΣ ΤΕΧΝΙΚΗΣ ICSI

I. Επιλογή σπερματοζωαρίου και ωαρίου

Ένα βασικό στάδιο για την επιτυχή έκβαση αλλά και την ασφάλεια για το ίδιο έμβρυο και κατ' επέκταση και του παιδιού που θα γεννηθεί με τη μέθοδο ICSI είναι η επιλογή των κατάλληλων για γονιμοποίηση γαμετών (σπερματοζωαρίου και ωαρίου).

Αναλυτικότερα, τα σπερματοζωάρια που χρησιμοποιούνται στην ICSI μπορεί να προέρχονται είτε από σπέρμα ή από την επιδιδυμίδα ή από τους όρχεις (Lewis et al 2005, Dervoe & van Steirteghem 2004), να είναι φρέσκα ή κατεψυγμένα αλλά οπωσδήποτε εκείνα που τελικά θα χρησιμοποιηθούν για τη γονιμοποίηση του ωαρίου με την βοήθεια της τεχνικής θα πρέπει να πληρούν κριτήρια και να ακολουθούν κατευθυντήριες γραμμές, δεδομένου ότι

παρακάμπτεται η φυσική επιλογή τους που λαμβάνει χώρα στην διάρκεια της φυσικής γονιμοποίησης (Sarkar 2007).

Σε μελέτες που έχουν γίνει τα τελευταία 15 χρόνια, έχει διαπιστωθεί σαφής συσχέτιση της μορφολογίας του χρησιμοποιούμενου σπερματοζωαρίου στην γονιμοποίηση του ωαρίου με τα ποσοστά εμφύτευσης και πιστεύεται ότι αυτό μπορεί να υποδηλώνει χρωμοσωμικές ανωμαλίες στο σχηματιζόμενο έμβρυο (Ubaldi & Rienzi, 2008).

Η κατάλληλη μορφολογία προσδιορίζεται με τη χρήση ανάστροφου μικροσκοπίου με μεγέθυνση 1000x με φακούς Normansky και ορυκτέλαιο καθώς και με ψηφιακή τεχνολογία ώστε τελικά να επιτυγχάνεται μεγέθυνση της τάξεως του 6500x (Ubaldi & Rienzi, 2008). Αυτή η τεχνική περιγράφηκε για πρώτη φορά από τους Bartoov et al το 2003 και είναι γνωστή ως IMSI (intracytoplasmic morphologically selected sperm injection) (Rajan & Franken 2006). Αφορά μόνο σε κινητά σπερματοζωάρια και δίνει τη δυνατότητα να αποκλειστούν εκείνα που παρουσιάζουν μορφολογικές ανωμαλίες οι οποίες αφορούν σε έξι υποκυτταρικά οργανύλλια (ακροσωμάτιο, μετα-ακροσωμική στιβάδα, αυχένας, μιτοχόνδρια, ουρά και πυρήνας) (Ubaldi & Rienzi 2008, Rajan & Franken 2006).

Εν συντομία, το φυσιολογικής μορφολογίας σπερματοζωάριο είναι εκείνο που φέρει κεφαλή ωοειδούς σχηματισμού, συμμετρική και με ομαλή υφή (Rajan & Franken 2006). Η σημασία της επιλογής του καταλληλότερου σπερματοζωαρίου για τη γονιμοποίηση είναι καθοριστική για τους παρακάτω λόγους (Rajan & Franken 2006):

- Τα σπερματοζωάρια των υπογόνιμων ανδρών είναι πιθανό να φέρουν διάφορες διαταραχές στον πυρήνα όπως την ύπαρξη ανωμαλιών στη χρωματινική δομή, ανευπλοειδίες, μικροελλείμματα στα χρωμοσώματα και σπασίματα στο DNA που στις μέρες μας μπορούν να διαπιστωθούν με διάφορα διαγνωστικά test. Έχει επιπλέον βρεθεί συσχέτιση ανάμεσα στη μορφολογία του σπερματοζωαρίου και στην ικανότητα πακεταρίσματος (packaging) της χρωματίνης.

- Η χρήση της ICSI στη θεραπεία σοβαρών περιπτώσεων ανδρικής στειρότητας μπορεί να οδηγήσει στην επιλογή και εισαγωγή περισσότερο μορφολογικά ανώμαλων σπερματοζωαρίων ή ακόμα και ανώριμων μορφών. Επιπλέον, το ποσοστό παθολογικών σπερματοζωαρίων που λαμβάνονται με επεμβατική μέθοδο είναι μεγαλύτερο συγκριτικά με το αντίστοιχο ποσοστό στο σπέρμα που λαμβάνεται με εκσπερμάτιση.

- Οι ανωμαλίες στον πυρήνα του σπερματοζωαρίου συνιστούν έναν από τους πιο καθοριστικούς παράγοντες για την εμβρυϊκή ανάπτυξη, την επιβίωση του εμβρύου στη μήτρα και τελικά του ποσοστού επιτυχίας της τεχνητής γονιμοποίησης.

- Σπερματοζωάρια παθολογικής μορφολογίας δεν αποκλείεται να γονιμοποιήσουν το ωάριο αλλά μπορεί να οδηγήσουν σε διάσπαση του εμβρύου, σε χαμηλά ποσοστά επιτυχούς γονιμοποίησης και καθυστέρησης της εμβρυϊκής ανάπτυξης.

- Βάσει των παραπάνω δεδομένων, τα σχηματιζόμενα και εμφυτευόμενα έμβρυα μπορεί να εμπεριέχουν χρωμοσωμικές ανωμαλίες. Η υγεία του απογόνου συνεπώς μπορεί να επηρεαστεί αφού υποστηρίζεται ότι βλάβες στο σπερματικό DNA είναι προμεταλλαξιογόνες και μπορούν να οδηγήσουν σε μεταλλάξεις μετά τη γονιμοποίηση, καθώς το ωάριο προσπαθεί να διορθώσει την DNA βλάβη πριν από την έναρξη της πρώτης διαίρεσης. Αυτές οι μεταλλάξεις με τη σειρά τους θα είναι μόνιμες στην σειρά των αρχέγονων κυττάρων και ενδεχομένως να είναι υπαίτιες για παθολογία στον απόγονο, όπως η στειρότητα (Rajan & Franken 2006).

Στην υποβοηθούμενη αναπαραγωγή με ICSI φυσικά εξετάζεται και το ωάριο που πρόκειται να γονιμοποιηθεί ως προς τη μορφολογία του. Εδώ, η αξιολόγηση είναι πιο αξιόπιστη, αφού ως φυσιολογικό ωάριο στη φάση της μειωτικής μετάφασης II, χαρακτηρίζεται εκείνο όταν κάτω από το απλό μικροσκόπιο φωτός φέρει διαυγή και κυκλοτερή διαφανή ζώνη, έναν μικρό περιλεκιθικό χώρο που εμπεριέχει μονήρες και ακέραιο πολικό σωματίο και ωχρό, ελαφρώς κοκκιωμένο κυτταρόπλασμα το οποίο στερείται εγκλείστων

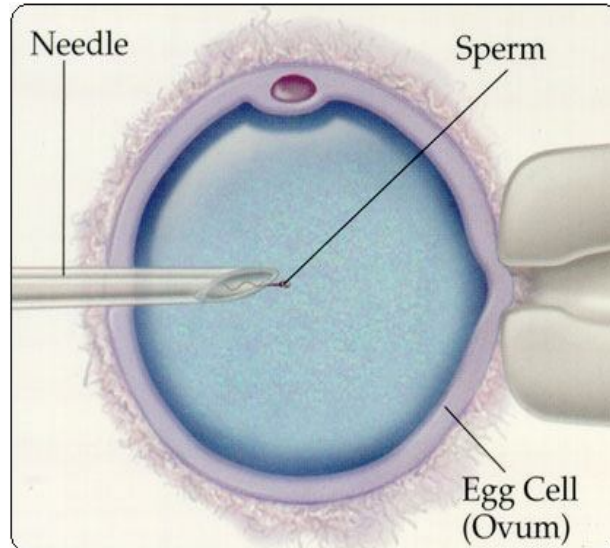
(Ubaldi & Rienzi, 2008). Με εξαίρεση τα γιγαντιαία ωάρια μετά από ελεγχόμενη ωοθηκική υπερδιέγερση τα οποία και αποκλείονται από την τεχνική, καθώς και εκείνα που δεν πληρούν τα κριτήρια του *φυσιολογικού*, έχει βρεθεί ότι η παρουσία άλλων μορφολογικών ανωμαλιών δεν επηρεάζει σημαντικά την δυνατότητα γονιμοποίησης αλλά ούτε και την ποιότητα του σχηματιζόμενου εμβρύου (Ubaldi & Rienzi, 2008).

II. Μικρογονιμοποίηση

Η μικρογονιμοποίηση πραγματοποιείται σε δυο χρόνους μετά την ωοληψία. Αρχικά τα ωάρια θα υποβληθούν σε ειδική κατεργασία με το ένζυμο της υαλουρονιδάσης, ώστε να αφαιρεθούν τα κοκκιώδη κύτταρα που περιβάλλουν την διαφανή ζώνη. Μετά τον καθαρισμό τους, τα ωάρια εκτιμώνται ως προς την ωριμότητα του πυρήνα τους χρησιμοποιώντας ως κριτήριο την διαπίστωση του 1^{ου} πολικού σωματίου, υπό την διαφανή ζώνη στον περιλεκιθικό χώρο, η οποία και επιβεβαιώνει την ωριμότητα του θηλυκού γαμέτη (Harper 2001).

Μετά την επιλογή των γαμετών που πρόκειται να χρησιμοποιηθούν, το ωάριο σταθεροποιείται σε ειδικό τριβλίο με μια μικρή σταγόνα καλλιεργητικού υλικού σε αυτό και με τη βοήθεια πιπέττας ακινητοποίησης ενώ με μια άλλη πιπέττα έγχυσης εσωτερικής διαμέτρου 6mm γίνεται η αναρρόφηση ενός και μόνο σπερματοζωαρίου (πρώτα από την ουρά του) που έχει προηγουμένως ακινητοποιηθεί σε polyvinylpyrrolidone (Dervoey & Van Steirteghem 2004, Check et al 2007). Ακολούθως, η πιπέττα αναρρόφησης εισάγεται διαμέσου της διάφανης ζώνης και της κυτταρικής μεμβράνης του ωαρίου στο κυτταρόπλασμα αυτού μέχρι ενός σημείου που απέχει επαρκώς από το πολικό σωματίο (Dervoey & Van Steirteghem 2004). Τα ωάρια στη συνέχεια, τοποθετούνται σε κατάλληλο για γονιμοποίηση μέσο (Quinn fertilization media) και σε υποκατάστατο πρωτεΐνης ορού 10% και επωάζονται για 16 ώρες τουλάχιστον πριν να εκτιμηθούν για σημεία γονιμοποίησης δηλαδή την εμφάνιση δύο προπυρήνων (Check et al 2007).

Εικόνα 1. Σχηματική απεικόνιση της μικρογονιμοποίησης με μέθοδο ICSI



III. Καλλιέργεια Εμβρύων

Η περίοδος της *in vitro* καλλιέργειας του εμβρύου αναγνωρίζεται ως ένα σημαντικό διάστημα και επιδιώκεται να προσομοιωθούν οι συνθήκες φυσιολογικού μικροπεριβάλλοντος του εμβρύου. Για το σκοπό αυτό υπάρχουν διάφορες συστάσεις ως προς την διάρκεια καλλιέργειας του γονιμοποιημένου εμβρύου καθώς και ως προς τα χρησιμοποιούμενα καλλιεργητικά μέσα (Novak's Gynecology 1998). Σε διάστημα 16 με 20 ώρες από την διενέργεια της ένεσης τα ωάρια ελέγχονται για σημεία γονιμοποίησης.

Για να θεωρηθεί γονιμοποιημένο το ωάριο, θα πρέπει να διαπιστωθούν οι δυο προπυρήνες, δυο πολικά σωμάτια, φυσιολογικό σχήμα και ανέπαφη τη διαφανή ζώνη και διαυγές, υγιές κυτταρόπλασμα (Harper 2001). Περί τις 16 ώρες από τη γονιμοποίηση, το ζυγωτό έχει διαιρεθεί και αποτελείται από 2 κύτταρα (βλαστομερίδια) με τη διαδικασία της αυλάκωσης, ενώ άλλες 12 ώρες μετά, έχει διαιρεθεί εκ νέου και αποτελείται από 4 βλαστομερίδια. Στο στάδιο των 4 μέχρι 8 κυττάρων, ενεργοποιούνται τα γονίδια του εμβρύου και αρχίζουν

να παράγονται οι ειδικές του πρωτεΐνες ενώ στα επόμενα δυο στάδια των 16 και 32 κυττάρων αντιστοίχως το έμβρυο βρίσκεται στη φάση του μοριδίου που ακολουθείται από αυτό της βλαστοκύστης (Λαϊνάς, 2006).

IV. Εμβρυομεταφορά

Εμβρυομεταφορά ορίζεται η διαδικασία μεταφοράς των εμβρύων στην κοιλότητα της μήτρας. Κλασικά, η εμβρυομεταφορά λαμβάνει χώρα την 2η μέρα μετά την ωοληψία, ωστόσο, η βελτίωση των καλλιεργητικών μέσων επιτρέπει αφενός την επιβίωση των εμβρύων και δίνει τη δυνατότητα να μεταφερθούν λίγο αργότερα (Harper 2001, Oatway et al 2004). Θεωρητικά, την 3η μέρα μετά την ωοληψία τα έμβρυα είναι καλύτερα αναπτυγμένα και ενδεχομένως να οδηγούν σε υψηλότερα ποσοστά επιτυχούς εμφύτευσης (Oatway et al 2004). Στην περίπτωση που τα έμβρυα έχουν αναπτυχθεί μέχρι το στάδιο της βλαστοκύστης, η εμβρυομεταφορά πραγματοποιείται την 5^η με 6^η ημέρα.

Πριν την μεταφορά, είναι απαραίτητος ο προσδιορισμός της ποιότητας των εμβρύων βάσει συγκεκριμένων κριτηρίων. Το σχήμα, το μέγεθος, η συμμετρία και η μορφή του κυτταροπλάσματος των βλαστομεριδίων, η παρουσία θραυσμάτων μη πυρηνικού κυτταροπλάσματος και ο αριθμός των βλαστομεριδίων εξετάζονται στο μικροσκόπιο (Harper 2001).

Την 2^η-3^η ημέρα από την αφαίρεση του ωαρίου ή κατά την 5^η-6^η ημέρα αν πρόκειται να μεταφερθεί βλαστοκύστη, πραγματοποιείται η εμβρυομεταφορά με την τοποθέτηση των γονιμοποιημένων ωαρίων διαμέσου του τραχήλου, στην κοιλότητα της μήτρας, με την βοήθεια ειδικού καθετήρα (Harper 2001).

Σε κάποιες ειδικές περιπτώσεις πραγματοποιείται μεταφορά γαμετών (ωαρίου και σπερματοζωαρίου) ή ζυγωτού (έμβρυο πρώιμου σταδίου μετά τη σύζευξη) 1-2 μέρες μετά την ωοληψία, απευθείας εντός της σάλπιγγας. Οι μέθοδοι αυτές είναι γνωστές αντίστοιχα ως GIFT (gamete intrafallopian transfer) και ZIFT (zygote intrafallopian transfer) (Clay Wright et al 2007).

3. Η ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΤΟΥ ΠΡΟΕΜΦΥΤΕΥΤΙΚΟΥ ΓΕΝΕΤΙΚΟΥ ΕΛΕΓΧΟΥ (PGD) ΚΑΙ ΤΗΣ ΠΡΟΕΜΦΥΤΕΥΤΙΚΗΣ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΔΙΑΓΝΩΣΗΣ (PGS)

3.1. ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ

Η διαδικασία της PGD επιγραμματικά έχει ως εξής: Αρχικά το ζευγάρι που επιθυμεί να τεκνοποιήσει έρχεται σε επαφή με ιατρό κλινικό γενετιστή εξειδικευμένο στον τομέα αυτό, για να συζητήσουν την χρησιμότητα της μεθόδου ως εναλλακτικής στην προγεννητική διάγνωση και να εξηγηθούν τα πλεονεκτήματα καθώς και τα μειονεκτήματά της. Τα ζευγάρια που προσφεύγουν στην μέθοδο PGD, ανεξαρτήτως του ιατρικού λόγου-ένδειξης, είναι εξ ορισμού φορτισμένα ψυχολογικά τόσο λόγω του πιθανού κληρονομικού γενετικού νοσήματος όσο και λόγω της υποβολής σε εξωσωματική γονιμοποίηση με ότι αυτό κι αν συνεπάγεται. Κάποια από τα ζευγάρια αυτά έχουν ήδη βιώσει επεισόδια αποβολών, που από τη φύση τους είναι εμπειρίες ψυχοφθόρες. Η γενετική επομένως συμβουλευτική των ατόμων αυτών θα πρέπει να γίνεται με μεθοδικότητα, συνέπεια και να είναι αναλυτική. Σκοπός της είναι αφενός να διερευνηθεί το ιατρικό ατομικό και οικογενειακό ιστορικό, να αναζητηθούν οι ρεαλιστικές ενδείξεις για πιθανή εφαρμογή της μεθόδου και να καταστούν σαφείς οι επιμέρους παράμετροί της στο ενδιαφερόμενο ζευγάρι. Για το σκοπό αυτό οι Thornhill A.R. και deDie- Smulders C.E. (2005) προτείνουν η προσπέλαση του ζεύγους από τον γενετιστή να επικεντρώνεται στα ακόλουθα:

- Εκτίμηση του κινδύνου να μεταβιβάσουν τη νόσο στα παιδιά τους (γενετικός κίνδυνος).
- Εξήγηση της φύσης και της σοβαρότητας της κληρονομούμενης διαταραχής.
- Παράθεση άλλων εναλλακτικών γονιμοποίησης που υπάρχουν εκτός της PGD, όπως η προγεννητική διάγνωση, η εξωσωματική γονιμοποίηση με δωρεά γαμετών, ή άλλων επιλογών όπως η ατεκνία ή η αποδοχή του κινδύνου χωρίς

περαιτέρω έλεγχο. Ανάλυση των περιορισμών και των πλεονεκτημάτων της PGD συγκριτικά με τις άλλες εναλλακτικές απόκτησης υγιούς παιδιού.

- Συζήτηση για την πιθανότητα φυσικής σύλληψης και απόκτησης παιδιού με πρόβλημα αν δεν χρησιμοποιηθεί αντισυλληπτική μέθοδος.

- Εξήγηση ότι ελέγχεται μόνο η υπό μελέτη κληρονομούμενη διαταραχή και κατανόηση του σκοπού της εξέτασης

- Πληροφόρηση σχετικά με τις συγκεκριμένες εργαστηριακές μεθόδους που θα χρησιμοποιηθούν καθώς και τους περιορισμούς στους οποίους υπόκεινται.

- Προσδιορισμός χρονοδιαγράμματος για τον PGD έλεγχο.

- Διευκρίνιση της αξιοπιστίας του PGD ελέγχου και της πιθανότητας λανθασμένης διάγνωσης.

- Απόφαση σχετικά με τον αποκλεισμό των προσβεβλημένων ή μη διεγνωσμένων εμβρύων.

- Απόφαση σχετικά με την μεταφορά εμβρύων- φορέων.

- Για τα X- φυλοσύνδετα νοσήματα, απόφαση σχετικά με την διενέργεια ελέγχου της μετάλλαξης ή απλώς με τον προσδιορισμό φύλου με FISH.

- Συζήτηση σχετικά με την προγεννητική διάγνωση εφόσον η γυναίκα μείνει έγκυος (Thornhill et al, 2005)

3.2.ΚΕΝΤΡΟ ΕΞΩΣΩΜΑΤΙΚΗΣ ΓΟΝΙΜΟΠΟΙΗΣΗΣ-ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ

Ακολούθως, το ζευγάρι επισκέπτεται το γυναικολόγο για να εκτιμηθεί το αναπαραγωγικό ιστορικό του, να εξετασθεί κλινικά η γυναίκα και να γίνει αιμοληψία σε αυτή για τον προσδιορισμό των επιπέδων ορμονών όπως η FSH, LH και οιστραδιόλης. Μερικές φορές μπορεί επίσης να γίνει εργαστηριακός έλεγχος για λοιμώδη νοσήματα, ενώ σε κάποια κέντρα η λήψη καρυοτύπου και από τους δυο μέλλοντες γονείς αποτελεί αναπόσπαστο κομμάτι του ελέγχου. Τέλος, όσο αφορά στον άνδρα, αρκεί η ανάλυση του σπέρματος. Ανά περίπτωση μπορεί να διενεργηθεί και άλλος ενδεικνυόμενος έλεγχος, ενώ στα

περισσότερα κέντρα, το ζευγάρι συγκατατίθεται ενυπόγραφα για τη διενέργεια της PGD (Geraedts et al 2001).

Στον Πίνακα 5, συνοψίζονται οι ενδείξεις για τη διενέργεια PGD (Thornhill et al 2005).

Πίνακας 5. Ενδείξεις διενέργειας PGD/PGS.

ΓΕΝΙΚΑ ΚΡΙΤΗΡΙΑ ΥΠΟΒΟΛΗΣ ΣΤΗΝ ΜΕΘΟΔΟ PGD/PGS

Ως γενικά κριτήρια θεωρούνται: η διάγνωση να είναι εφικτή και η εγκυρότητα της μεθόδου να είναι υψηλή (>90%) ενώ από κλινικής πλευράς, οι ενδιαφερόμενοι ασθενείς να αντιμετωπίζουν πρόβλημα υπογονιμότητας που να μπορεί να αντιμετωπιστεί με εξωσωματική γονιμοποίηση.

ΚΡΙΤΗΡΙΑ ΥΠΟΒΟΛΗΣ ΣΕ PGD

- Η γενετική διάγνωση να είναι βέβαιη ή σχεδόν βέβαιη
- Ο κίνδυνος να είναι υψηλός για επανεμφάνιση μιας συγκεκριμένης γενετικής διαταραχής ή για καθ' έξιν αποβολές λόγω κάποιας δομικής χρωμοσωμικής ανωμαλίας στους γονείς
- Τα προβλήματα που προκύπτουν από την συγκεκριμένη γενετική διαταραχή να είναι σοβαρά

3.3. ΒΙΟΨΙΑ ΕΜΒΡΥΟΥ

Θεωρητικά, η βιοψία κυττάρων του αναπτυσσόμενου εμβρύου μπορεί να πραγματοποιηθεί σε οποιοδήποτε στάδιο από αυτό των 2 κυττάρων μέχρι και εκείνο της βλαστοκύστης ακόμα, πριν από την εξωσωματική γονιμοποίηση. Ειδικότερα, βιοψία μπορεί να πραγματοποιηθεί σε τρία στάδια ως προς το στάδιο ανάπτυξης του εμβρύου: στο στάδιο του πολικού σωματίου, στο στάδιο της αυλάκωσης (βλαστομεριδίου) ή σε αυτό της βλαστοκύστης. (De Vos et al 2001, Simpson 2010).

Τα κύτταρα που λαμβάνονται με κάθε μία από τις παραπάνω μεθόδους, στη συνέχεια, αναλύονται γενετικά είτε με PCR ή με FISH ανάλογα με το υπό εξέταση νόσημα (μονογονιδιακά νοσήματα, ανευπλοειδίες, χρωμοσωμικές ανακατατάξεις κ.ά), ενώ νεότερες τεχνικές όπως το CGH και τα microarrays έχουν αρχίσει να εφαρμόζονται επίσης σε συνδυασμό με τον προεμφυτευτικό γενετικό έλεγχο σε συγκεκριμένες περιπτώσεις. Αναφορά στις μεθόδους αυτές θα γίνει, ωστόσο, στις επόμενες ενότητες σε συνδυασμό με την ένδειξη για την οποία εφαρμόζονται.

Ανάλογα με το στάδιο στο οποίο επιλέγεται να γίνει η βιοψία κατά την Προεμφυτευτική Γενετική Διάγνωση, διακρίνουμε τις εξής περιπτώσεις:

3.3.1. ΒΙΟΨΙΑ ΣΤΟ ΣΤΑΔΙΟ ΤΟΥ ΠΟΛΙΚΟΥ ΣΩΜΑΤΙΟΥ

Η βιοψία στο στάδιο αυτό πραγματοποιείται επιλεκτικά σε συγκεκριμένες περιπτώσεις και το πρώτο και/ή το δεύτερο πολικό σωματίο αφαιρούνται με εξόρυξη (extrusion) από το ωάριο και αναλύονται γενετικά (Magli et al 2004, Verlinsky et al 1996, Altarescu et al 2008a, Altarescu et al 2008b). Το πρώτο πολικό σωματίο μπορεί να αφαιρεθεί από το ωάριο πριν την εξωσωματική γονιμοποίηση και να αναλυθεί γενετικά και για το λόγο αυτό παρέχει τη μοναδική δυνατότητα γενετικού ελέγχου προ της γονιμοποίησης (Simpson 2010). Πρακτικά, η γενετική ανάλυση του 1^{ου} πολικού σωματίου επιτρέπει την έμμεση γενετική εκτίμηση του ωοκυττάρου από το οποίο προέρχεται (De Vos et al 2001). Χρησιμοποιείται πιπέττα αναρρόφησης διαμέτρου ελαφρώς μεγαλύτερης αυτής του πολικού σωματίου (~ 20-30 μm) ώστε να μην καταστραφεί και λυθεί το τελευταίο και η λήψη γίνεται όταν το πολικό σωματίο έχει πλήρως αποκολληθεί από την κυτταρική μεμβράνη (Εικόνα 2).

Σύμφωνα με τα αποδεκτά από την ESHRE PGD Consortium πρωτόκολλα, το πρώτο πολικό σωματίο μπορεί να αφαιρεθεί κατά την φάση της ωοληψίας μεταξύ 36 έως και 42 ωρών μετά από την ένεση hCG ενώ το δεύτερο πολικό σωματίο αφαιρείται από το ζυγωτό μεταξύ των 18 και 22 ωρών από την

γονιμοποίηση. Ενδείκνυται η διάτρηση της διαυγούς ζώνης με τη βοήθεια laser ή με μηχανικό τρόπο και όχι πια με τη χρήση οξέος Tyrodes που μπορεί να βλάψει την άτρακτο. Αποδεκτή θεωρείται και η ταυτόχρονη λήψη των δυο πολικών σωματίων αν και το πρώτο μπορεί να έχει ήδη εκφυλιστεί κατά το πρώτο 24ωρο, αλλά είναι ικανοποιητική για εφαρμογή FISH. Άλλη εκδοχή είναι η εν σειρά αφαίρεση του πρώτου πολικού σωματίου την μέρα 0 και του δεύτερου την μέρα 1, τακτική που ενδείκνυται για εφαρμογή PCR (Thornhill et al 2005).

Τα τελευταία χρόνια η βιοψία πολικού σωματίου κερδίζει έδαφος για δυο διαφορετικούς λόγους. Ο πρώτος είναι ότι το πολικό σωματίο παρέχει γενετική πληροφορία πριν καν τη σύλληψη γεγονός που οδηγεί στην μείωση του αριθμού των ωαρίων που μπορούν να γονιμοποιηθούν, αφού προσδιορίζει τα γενετικώς φυσιολογικά ωάρια, και των εμβρύων που θα μεταφερθούν. Έτσι, η πλειονότητα των ευπλοειδικών ωαρίων μπορούν να γονιμοποιηθούν και να προκύψουν συγκρίσιμα ποσοστά κυήσεων, παρά τις αυστηρές νομοθετικές ρυθμίσεις, ακόμα και όταν δεν εκτιμηθεί και το δεύτερο πολικό σωματίο (Gianaroli et al 2009).

Άλλο σημαντικό πλεονέκτημα της βιοψίας πολικού σωματίου είναι ότι το πρώτο αλλά και το δεύτερο πολικό σωματίο αποτελούν εξωεμβρυϊκό υλικό και θεωρείται ότι δεν έχουν κάποιο βιολογικό ρόλο στην ανάπτυξη του σχηματιζόμενου εμβρύου (De Vos et al 2001). Επιπλέον, η βιοψία του 1^{ου} πολικού σωματίου δεν φαίνεται να επηρεάζει τα ποσοστά της γονιμοποίησης αλλά ούτε και των εμβρύων που τελικά μεταβαίνουν στο στάδιο της αυλάκωσης (De Vos et al 2001).

Εξάλλου, έχει διαπιστωθεί ότι η ποιότητα του ωαρίου φαίνεται να αποτελεί μια πιο αξιόπιστη ένδειξη της ποιότητας του εμβρύου. Ωστόσο, με τη βιοψία πολικού σωματίου (σε αντίθεση με τη βιοψία βλαστομεριδίου ή βλαστοκύστης) δεν μπορούν να αποκλειστούν στο έμβρυο οι πατρικής προέλευσης ανευπλοειδίες, γεγονός που αποτελεί και το κύριο μειονέκτημα της μεθόδου (Simpson 2010).

Συνοπτικά, η βιοψία πολικού σωματίου μπορεί να χρησιμοποιηθεί στις εξής περιπτώσεις:

1. Μονογονιδιακά νοσήματα όπως η κυστική ίνωση, αλλά τότε συνιστάται βιοψία του 2^{ου} πολικού σωματίου μετά τη γονιμοποίηση ή βιοψία βλαστοκύστης (Durban et al 2001).

2. Χώρες όπου η επιλογή των εμβρύων είναι απαγορευμένη για θρησκευτικούς –κοινωνικοπολιτισμικούς λόγους (Basille et al 2009).

3. Η γυναίκα να είναι φορέας ισοζυγισμένης χρωμοσωμικής αναδιάταξης, αν και η εφαρμογή για την περίπτωση αυτή είναι περιορισμένη λόγω τεχνικών κυρίως προβλημάτων στο χειρισμό τόσο μικρών κυττάρων όπως είναι το 1^ο πολικό σωματίο (Durban et al 2001).

4. Ενίοτε, στην προεμφυτευτική διάγνωση ανευπλοειδιών σε ζευγάρια που υποβάλλονται σε IVF και η μητέρα είναι προχωρημένης ηλικίας, με στόχο την ανίχνευσή τους και την αποφυγή μεταφοράς ωαρίων με συνήθεις ανευπλοειδίες.

3.3.2. ΒΙΟΨΙΑ ΣΤΟ ΣΤΑΔΙΟ ΤΗΣ ΑΥΛΑΚΩΣΗΣ

Στη βιοψία βλαστομεριδίου, διατετραίνεται η διαφανής ζώνη (zona pellucida) η οποία είναι ένα στρώμα γλυκοπρωτεϊνών που περιβάλλει το έμβρυο (Εικόνα 3). Πραγματοποιείται την 3^η ημέρα από τη γονιμοποίηση, όπου το έμβρυο αποτελείται από 5 έως 10 κύτταρα και αποτελεί τη συχνότερα εφαρμοζόμενη μέθοδο. Για να είναι επιτυχής η βιοψία στο στάδιο της αυλάκωσης πρέπει αφενός το κύτταρο που λαμβάνεται να είναι άθικτο και να περιέχει έναν καλά ορατό πυρήνα και επιπλέον η περαιτέρω εξέλιξη του εμβρύου να μην επηρεάζεται (De Vos et al 2001).

Τα έμβρυα μεταφέρονται αρχικά σε υλικό ελεύθερο ασβεστίου, για να διασπαστούν οι ισχυρές συνδέσεις, και στη συνέχεια σταθεροποιούνται με αναρρόφηση σε ειδική πιπέττα. Η διαφανής ζώνη (zona pellucida) διατετραίνεται με laser (το οποίο συνδέεται με μικρότερο μηχανικό stress του

κυττάρου και άρα μικρότερο ποσοστό λύσης του), με μηχανικό τρόπο ή με όξινο διάλυμα και λαμβάνεται το κύτταρο (εμπύρηνο βλαστομερίδιο) για βιοψία με την ειδική πιπέττα διαμέτρου ~ 30-40μm πολύ προσεκτικά για να μην προκληθεί βλάβη ούτε στο ίδιο αλλά ούτε και στα υπόλοιπα βλαστομερίδια (Magli et al 2004). Η μηχανική διάνοιξη ή αυτή με τη χρήση laser αποτελούν και τις συχνότερα εφαρμοζόμενες τεχνικές (Cohen et al 2007). Η ύπαρξη ενός καλά ορατού πυρήνα καθοδηγεί για την επιλογή του βλαστομεριδίου που πρόκειται να ληφθεί για βιοψία. Ένα ή δυο βλαστομερίδια λαμβάνονται για το σκοπό αυτό και η γενετική ανάλυση (με PCR ή FISH ανάλογα με την ένδειξη του ελέγχου) πραγματοποιείται την ίδια μέρα (Basille et al 2009). Συνιστάται από κάποιους ειδικούς να γίνει διάγνωση σε 2 αντί του ενός κύτταρα λόγω προβλημάτων όπως το φαινόμενο allele drop out (ADO), μωσαϊκισμού.

Προτείνεται, για την αξιολόγηση της επιτυχίας της μεθόδου, τα εργαστήρια που πραγματοποιούν PGD να καταγράφουν το ποσοστό σχηματισμού βλαστοκύστης μετά από βιοψία στο στάδιο της αυλάκωσης. Αυτό πρακτικά είναι πλέον εφικτό, δεδομένου ότι συνήθως η εμβρυομεταφορά πραγματοποιείται την 4^η μέρα αλλά μπορεί να γίνει και την 5^η (De Vos et al 2001).

3.3.3. ΒΙΟΨΙΑ ΣΤΟ ΣΤΑΔΙΟ ΤΗΣ ΒΛΑΣΤΟΚΥΣΤΗΣ

Προτιμάται βλαστοκύστη που φέρει πυρήνα και η βιοψία γίνεται μετά από διάτρηση της διαυγούς ζώνης (Εικόνα 2 και 4). Στην περίπτωση μάλιστα αυτή, αφαιρείται και εξετάζεται ένα μόνο κύτταρο αλλά αν χρειάζονται δυο τότε το έμβρυο πρέπει να αποτελείται τουλάχιστον από 6 κύτταρα (Thornhill et al 2005, DeUgarte et al 2008, Findlay 2000, Ogilvie et al 2005). Η βιοψία στο στάδιο αυτό αφορά σε βιοψία τροφοεκτοδέρματος από το οποίο θα προέλθει ο πλακούντας. Πραγματοποιείται το πρωί της 5^{ης}-6^{ης} μέρας μετά από τη γονιμοποίηση του ωαρίου σε βλαστοκύστη 120-κυττάρων (Simpson 2010). Η τεχνική που χρησιμοποιείται για τη λήψη των κυττάρων προς εξέταση είναι

αυτή της zona slitting (παρόμοιας με αυτή της partial zona dissection) με τη χρήση ειδικής υάλινης βελόνας ή laser (De Vos et al 2001).

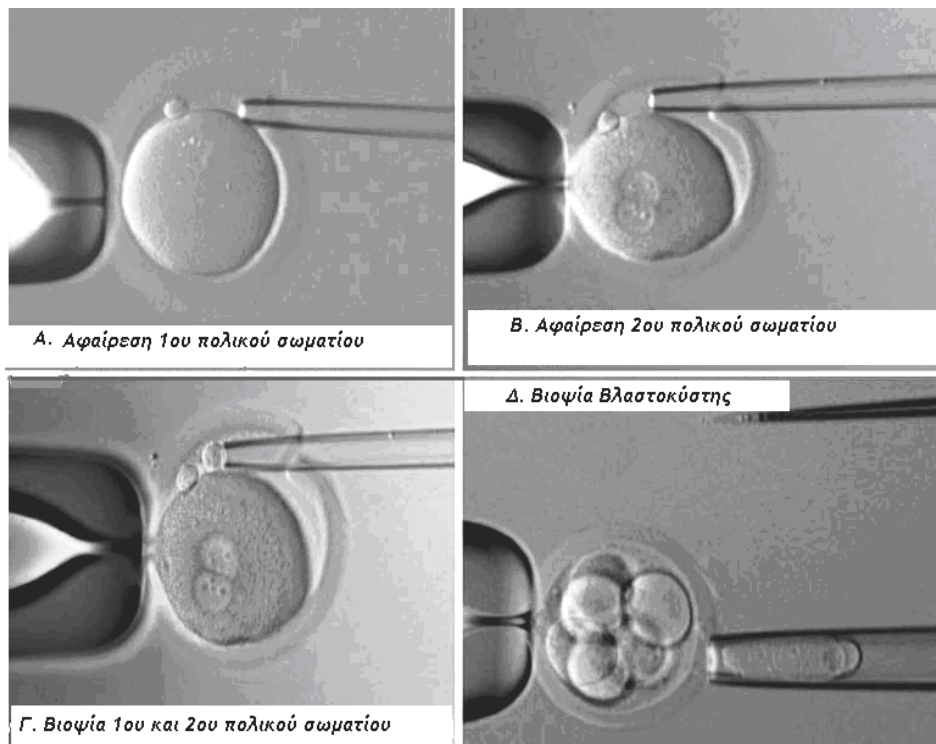
Τα πλεονεκτήματα της μεθόδου αυτής είναι ότι αφενός παρέχει περισσότερο υλικό για ανάλυση (μπορούν να χρησιμοποιηθούν έως και 20 κύτταρα) και αφετέρου τα κύτταρα που λαμβάνονται προέρχονται από την περιοχή του τροφοεκτοδέρματος, ενώ η έσω μάζα του κυττάρου, από την οποία και θα αναπτυχθεί το έμβρυο, παραμένει άθικτη. Με τον τρόπο αυτό αποφεύγεται η πιθανά επιβλαβής απώλεια κυττάρων από έμβρυα 3-ημερών (Basille et al 2009, De Vos et al 2001).

Παρά τα προαναφερθέντα πλεονεκτήματα της μεθόδου, η εμπειρία είναι σχετικά μικρή. Σύμφωνα με μια ομάδα από την Αυστραλία, η βιοψία στο στάδιο της βλαστοκύστης συνδυάζεται με μεγαλύτερο ποσοστό εμφύτευσης (41%) και παρά του ότι λιγότερες βλαστοκύστες συγκριτικά με έμβρυα 3^{ης} μέρας αναλύθηκαν στο κέντρο αυτό, το ποσοστό ζωντανών-γεννήσεων ανά έμβρυο που επιλέχθηκε για εμβρυομεταφορά ήταν αντιστοίχως 34.2% και 25.5% και για το λόγο αυτό, θεωρείται ότι αποτελεί μια σπουδαία εναλλακτική (McArthur et al 2005, McArthur et al 2008, De Vos et al 2001). Επιστήμονες που ασχολούνται με την ART έχουν επαναφέρει την βιοψία βλαστοκύστης ως μέθοδο εκλογής, αφού έδειξαν πλεονέκτημα της εμβρυομεταφοράς όταν γίνεται μετά από 5 ημέρες in vitro καλλιέργειας. Οι επιπλέον 2-3 μέρες στην καλλιέργεια, πέραν αυτών που χρειάζονται για ένα έμβρυο 8 κυττάρων, επιτρέπουν να γίνει καλύτερη επιλογή εκείνων που θα είναι βιώσιμα, δεδομένου ότι το 1/3 περίπου των εμβρύων με χρωμοσωμικές ανωμαλίες που δεν επιλέγονται αφορούν σε έμβρυα 3-5 ημερών (Simpson et al 2010).

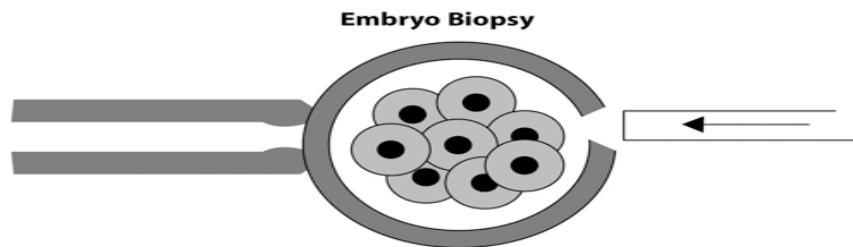
Κύριο πρόβλημα, ωστόσο, είναι ότι ένας πολύ μικρός αριθμός εμβρύων κατορθώνει να φθάσει στο στάδιο της βλαστοκύστης (μόλις το 10-20%) και συνεπώς ο αριθμός των διαθέσιμων προς βιοψία και μεταφορά εμβρύων μειώνεται σημαντικά (Findlay 2000, Ogilvie et al 2005). Επιπλέον, τα έμβρυα στην περίπτωση αυτή θα πρέπει να μεταφερθούν στη μήτρα πριν από την 6^η μέρα περιορίζοντας έτσι το χρονικό διάστημα για τη διάγνωση (Ogilvie et al

2005, De Vos et al 2001). Τελευταία επίσης μεγάλος προβληματισμός υπάρχει για την παράταση της καλλιέργειας των εμβρύων και την επίπτωση των καλλιεργητικών μέσων στην αύξηση της συχνότητας των νοσημάτων που οφείλονται στη γονιδιακή αποτύπωση (imprinting).

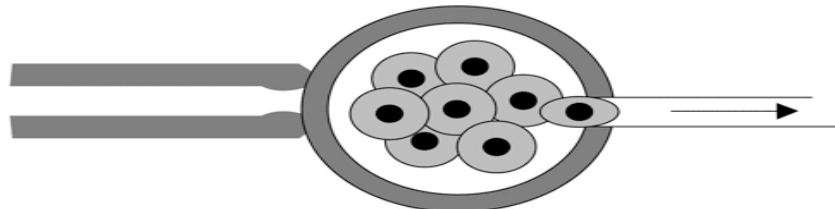
Εικόνα 2. Βιοψία 1^{ου} και 2^{ου} πολικού σωματίου (Α, Β, Γ) και βιοψία βλαστοκύστης



Εικόνα 3. Βιοψία βλαστομεριδίου σχηματικά, μετά από διάνοιξη της διαυγούς ζώνης σε έμβρυο 8 κυττάρων. Διακρίνεται αριστερά η πιπέτα σταθεροποίησης και δεξιά της αναρρόφησης.

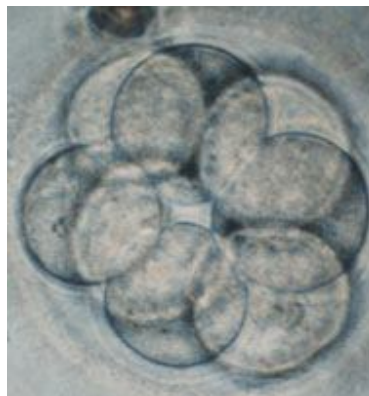


Το έμβρυο 8 κυττάρων συγκρατείται σε μια πιπέτα σταθεροποίησης και δημιουργείται οπή στη διαφανή ζώνη (zona pellucida)



Ένα βλαστομερίδιο αναρροφάται σε πιπέτα βιοψίας και ακολούθως ελέγχεται γενετικά

Εικόνα 4. Βλαστοκύστη 8 κυττάρων όπως διακρίνεται στο κοινό μικροσκόπιο



3.4. ΕΜΒΡΥΟΜΕΤΑΦΟΡΑ-ΕΜΦΥΤΕΥΣΗ

Η γενετική ανάλυση (με PCR ή FISH ανάλογα με την ένδειξη του ελέγχου) πραγματοποιείται την ίδια μέρα με τη βιοψία και ο γενετικός έλεγχος έχει ολοκληρωθεί εντός 7 το πολύ ωρών (Basille et al 2009). Μέχρι πρότινος, όλες οι εξετάσεις προεμφυτευτικού ελέγχου θα έπρεπε να έχουν ολοκληρωθεί μέχρι την 6^η μέρα από τη γονιμοποίηση ώστε να μπορέσουν να μεταφερθούν τελικά στην μήτρα μόνο τα υγιή για το εξεταζόμενο νόσημα έμβρυα, συνήθως μέχρι δυο τον αριθμό (Geraedts et al 2001, Simpson 2010). Οι εξελίξεις στον τομέα της κρυοσυντήρησης, οδήγησαν αφενός στην ευρύτερη χρήση της τελευταίας στον τομέα της υποβοηθούμενης αναπαραγωγής, αφετέρου στη δυνατότητα κατάψυξης των εμβρύων που έχουν ήδη εξετασθεί με βιοψία στα πλαίσια προεμφυτευτικού γενετικού ελέγχου (Simpson 2010).

Η εμβρυομεταφορά στην περίπτωση που η βιοψία έχει πραγματοποιηθεί στο στάδιο της αυλάκωσης (3 ημερών έμβρυο) λαμβάνει χώρα την ίδια μέρα, αλλά εάν η διάγνωση χρειάζεται 24 ώρες να ολοκληρωθεί, θεμιτή είναι και η εμβρυομεταφορά την 4^η ημέρα επίσης. Εάν πάλι έχει γίνει βιοψία στο στάδιο της βλαστοκύστης η ενδεικνυόμενη μέρα για μεταφορά είναι η 5^η-6^η μέρα.

Τα έμβρυα μεταφέρονται με τη χρήση ειδικού καθετήρα που εισάγεται υπό υπερηχογραφική παρακολούθηση στην κοιλότητα της μήτρας και εναποθέτει τα έμβρυα περίπου 1cm από τον πυθμένα της. Μετά την εμβρυομεταφορά, χορηγείται προγεστερόνη και επιπλέον hCG προκειμένου να υποστηριχθεί η ωχρινική φάση (Harper 2001).

Η β-χοριακή γοναδοτροπίνη μετράται την 12^η μέρα και επί θετικής εγκυμοσύνης στην 6^η-7^η εβδομάδα κύησης πραγματοποιείται υπερηχογραφικός έλεγχος για την διαπίστωση του αμνιακού σάκου και της καρδιακής λειτουργίας του εμβρύου. Εφόσον επιβεβαιωθεί και υπερηχογραφικά η κύηση, συνιστάται η διενέργεια βιοψίας τροφοβλάστης (CVS) ή αμνιοπαρακέντησης (Geraedts et al 2001).

Πρόσφατα, χάρη σε προόδους σε θέματα κρυοσυντήρησης, προέκυψε μια ιδιαίτερα υποσχόμενη εξέλιξη στον τομέα του προεμφυτευτικού ελέγχου. Συγκεκριμένα, υπάρχει πλέον η δυνατότητα κρυοσυντήρησης των εμβρύων, που έχουν ήδη ελεγχθεί με βιοψία βλαστοκύστης, και εμβρυομεταφοράς τους μετά από 1 μήνα. Στο παραπάνω χρονικό διάστημα, μπορεί να ολοκληρωθεί ο έλεγχος με πιο ειδικές, νεότερες μοριακές μεθόδους όπως ο έλεγχος arrayCGH για μονονουκλεοτιδικούς πολυμορφισμούς (SNPs) ή copy number variants (CNVs).

4. ΚΑΤΗΓΟΡΙΕΣ ΠΡΟΕΜΦΥΤΕΥΤΙΚΟΥ ΓΕΝΕΤΙΚΟΥ ΕΛΕΓΧΟΥ

Όπως όλες οι εφαρμογές στην Ιατρική, είτε αυτές πραγματοποιούνται για διαγνωστικούς ή για θεραπευτικούς σκοπούς, ο Προεμφυτευτικός Γενετικός Έλεγχος υπόκειται σε κάποια κριτήρια και περιορισμούς ως προς τις ενδείξεις και τις αντενδείξεις του. Με τον τρόπο αυτό γίνεται ορθολογιστική η εφαρμογή του και προκύπτουν και τα επιθυμητά αποτελέσματα. Συγκεκριμένα, ο Προεμφυτευτικός Γενετικός Έλεγχος, μπορεί να πραγματοποιηθεί είτε με την μορφή της Προεμφυτευτικής Γενετικής Διάγνωσης (PGD) ή με αυτή του Preimplantation Genetic Screening γνωστού και ως PGS, και πρέπει να διενεργείται εφόσον αυτό είναι επιθυμητό σε συγκεκριμένες κατηγορίες ασθενών που εμπίπτουν στην κάθε μια μορφή του. Έχει γίνει μια προσπάθεια να οριστούν guidelines που να εφαρμόζονται από τα διάφορα κέντρα PGD, χωρίς όμως αυτό να σημαίνει ότι συνιστούν κανόνες ή πρωτόκολλα που δεν επιδέχονται παρεκκλίσεις (Thornhill et al 2005). Αντιθέτως, η αξιολόγηση της εκάστοτε περίπτωσης και η εξατομικευμένη προσαρμογή της στον ασθενή είναι απαραίτητη (Thornhill et al 2005). Επιπλέον, η γενετική ανάλυση πραγματοποιείται με διαφορετικές τεχνικές ανάλογα με την πάθηση που

επιδιώκεται να αποκλειστεί και έτσι σε κάθε μορφή προγεννητικού ελέγχου χρησιμοποιούνται και διαφορετικές μέθοδοι, όπως θα αναλυθεί στη συνέχεια.

Με βάση τα τρέχοντα δεδομένα, διακρίνονται δυο κατηγορίες Προεμφυτευτικού Γενετικού Ελέγχου, ανάλογα με το αίτιο για το οποίο αυτός αποφασίζεται και εφαρμόζεται: η Προεμφυτευτική Γενετική Διάγνωση (PGD) και το Προεμφυτευτικό Γενετικό screening (PGS).

4.1. ΠΡΟΕΜΦΥΤΕΥΤΙΚΗ ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΔΙΑΓΝΩΣΗ - PREIMPLANTATION GENETIC DIAGNOSIS (PGD)

Στην πρώτη κατηγορία, την χαρακτηριζόμενη και “*υψηλού κινδύνου*”, εφαρμόζεται η Προεμφυτευτική Γενετική Διάγνωση (PGD) σε ζευγάρια που υποβάλλονται σε εξωσωματική γονιμοποίηση και επιπλέον διατρέχουν υψηλό κίνδυνο μεταβίβασης γενετικής ανωμαλίας στους απογόνους τους. Στις διαταραχές αυτές υπάγονται:

4.1.1. ΜΟΝΟΓΟΝΙΔΙΑΚΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ

Μονογονιδιακές διαταραχές οι οποίες διακρίνονται με βάση τον τύπο κληρονομικότητας σε αυτοσωματικές υπολειπόμενες, αυτοσωματικές επικρατητικές καθώς και σε Χ- φυλοσύνδετες, και αποδίδονται συνήθως σε σημειακές μεταλλάξεις (αντικατάσταση, προσθήκη ή και αποκοπή ενός ή λίγων νουκλεοτιδίων) στο υπεύθυνο γονίδιο (Traeger-Synodinos 2006).

Στον άνθρωπο, η πρώτη εφαρμογή PGD με PCR χρησιμοποιήθηκε για την ανίχνευση μονογονιδιακής υπολειπόμενης νόσου (κυστική ίνωση) και για τον προσδιορισμό του φύλου του εμβρύου (Coutelle et al 1989, Handyside et al 1990, Findlay 2000).

Η ομάδα αυτού του τύπου νοσημάτων που μπορεί να ελεγχθούν προεμφυτευτικά είναι μεγάλη και συνεχώς εμπλουτίζεται. Ήδη στις ημέρες μας υπολογίζεται ότι τουλάχιστον 50 μονογονιδιακά νοσήματα είναι δυνατό να ανιχνευθούν στο έμβρυο πριν την εμφύτευση στη μήτρα. Στους Πίνακες 6 και 7

που ακολουθούν παρατίθενται οι πιο συχνές εφαρμογές προεμφυτευτικής γενετικής διάγνωσης καθώς και νεότερες που μπορεί να πραγματοποιηθούν κατά περίπτωση.

Σύμφωνα με την τελευταία δημοσίευση της ESHRE PGD Consortium το 2012, για τα αυτοσωματικά υπολειπόμενα νοσήματα μέχρι πρόσφατα η συχνότερη αιτία διενέργειας PGD ήταν η κυστική ίνωση, αλλά τα τελευταία χρόνια το HLA typing για λόγους μεταμόσχευσης κερδίζει έδαφος, ενώ η νωτιαία μυϊκή ατροφία ακολουθεί. Αντίστοιχα, από τα αυτοσωματικά επικρατή νοσήματα συχνότερη είναι η μυοτονική δυστροφία και η νόσος Huntington, ενώ από τα Χ-φυλοσύνδετα η μυϊκή ατροφία Duchenne και η αιμορροφιλία. Φυσικά, το συχνότερο αίτιο εφαρμογής διαφοροποιείται στα ανά την Ευρώπη κέντρα ανάλογα με την συχνότητα των μονογονιδιακών νοσημάτων (Harper et al 2012).

Πίνακας 6. Συχνότερες εφαρμογές του Προεμφυτευτικού Γενετικού Ελέγχου (PGD)

ΜΟΝΟΓΟΝΙΔΙΑΚΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ ΓΙΑ ΤΑ ΟΠΟΙΑ ΣΥΧΝΟΤΕΡΑ ΕΦΑΡΜΟΖΕΤΑΙ Ο ΠΡΟΕΜΦΥΤΕΥΤΙΚΟΣ ΓΕΝΕΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ (PGD)
Αυτοσωματικά υπολειπόμενα • Κυστική ίνωση • Β-θαλασσαιμία • Δρεπανοκυτταρική αναιμία • Νωτιαία μυϊκή ατροφία (τύπου I) • Νόσος Tay-Sachs • Συγγενής υπερπλασία επινεφριδίων • Νόσος Gaucher
Αυτοσωματικά επικρατητικά • Μυοτονική δυστροφία • Νόσος Huntington

- Σύνδρομο Marfan
- Σύνδρομο Wiskott-Aldrich
- Νευροϊνωμάτωση

Χ-Φυλοσύνδετα νοσήματα

- Σύνδρομο Ευθραύστου Χ
- Μυϊκή Δυστροφία Duchenne
- Αιμοφοιλία
- Σύνδρομο Lesch-Nyhan

Πίνακας 7. Σοβαρές μονογονιδιακές παθήσεις που μπορούν να ελεγχθούν με προεμφυτευτικό γενετικό έλεγχο και τρόπος κληρονομικότητάς τους (Μερικός κατάλογος).

ΟΝΟΜΑ ΠΑΘΗΣΗΣ	ΤΡΟΠΟΣ ΚΛΗΡΟΝΟΜΙΚΟΤΗΤΑΣ
•Κυστική Ήλωση	Αυτοσωματική Υπολειπόμενη
•β- Θαλασσαιμία	Αυτοσωματική Υπολειπόμενη
•Δρεπανοκυτταρική Αναιμία	Αυτοσωματική Υπολειπόμενη
•Νωτιαία Μυϊκή Ατροφία	Αυτοσωματική Υπολειπόμενη
•Tay-Sachs	Αυτοσωματική Υπολειπόμενη
•Gaucher	Αυτοσωματική Υπολειπόμενη
•Συγγενής υπερπλασία επινεφριδίων	Αυτοσωματική Υπολειπόμενη
•Σύνδρομο Ευθραύστου Χ	Χ-Φυλοσύνδετη
•Μυϊκή Δυστροφία Duchenne	Χ-Φυλοσύνδετη
•Αιμοφιλία	Χ-Φυλοσύνδετη
•Χ-Φυλοσύνδετη αδρενολευκοδυστροφινόπαθεια	Χ-Φυλοσύνδετη

•Νευροϊνωμάτωση I	Αυτοσωματική Επικρατητική
•Diamond-Blackfan anemia	Αυτοσωματική Επικρατητική
•Fanconi anemia	Αυτοσωματική Υπολειπόμενη
•Υποϊδρωτική εκτοδερμική δυσπλασία	Αυτοσωματική υπολειπόμενη ή αυτοσωματική επικρατητική ή Χ- φυλοσύνδετη
•Σύνδρομο Crouzon	Αυτοσωματική επικρατητική
•Σύνδρομο Apert	Αυτοσωματική επικρατητική
•Σύνδρομο Pfeiffer	Αυτοσωματική επικρατητική
•Πολυκυστική νόσος νεφρών τύπου I	Αυτοσωματική επικρατητική
•Σύνδρομο υπερ-ανοσοσφαιρίνης M (Hyper-Immunoglobulin M Syndrome)	Χ-Φυλοσύνδετη υπολειπόμενη
•Μυοτονική Δυστροφία	Αυτοσωματική επικρατητική
•Σύνδρομο Marfan	Αυτοσωματική επικρατητική
•Σύνδρομο Wiskott-Aldrich	Φυλοσύνδετη/επικρατητική
•Σύνδρομο Lesch-Nyhan	Αυτοσωματική επικρατητική
•Νόσος Huntington	Αυτοσωματική επικρατητική
•Νευροϊνωμάτωση II	Αυτοσωματική επικρατητική
•Γλυκογονίαση	Αυτοσωματική υπολειπόμενη (συνήθως)
•Συγγενής αμαύρωση Leber	Αυτοσωματική Υπολειπόμενη
•Λιποειδής υπερπλασία επινεφριδίων	Αυτοσωματική υπολειπόμενη
•Σπαστική παραπληγία 3Α	Αυτοσωματική επικρατητική

Traeger-Synodinos, Abou-Sleiman et al 2002, Harper et al 2002, Kuliev et al 2005 De Ryckle et al 2005

4.1.2. ΜΟΡΙΑΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ ΠΟΥ ΕΦΑΡΜΟΖΟΝΤΑΙ ΣΤΗΝ PGD ΓΙΑ ΜΟΝΟΓΟΝΙΔΙΑΚΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ: PCR & ΠΑΡΑΛΛΑΓΕΣ ΤΗΣ

Για την ανίχνευση μονογονιδιακών νοσημάτων, η ανάλυση DNA γίνεται με τη μέθοδο της αλυσιδωτής αντίδρασης της πολυμεράσης (PCR) που επιτρέπει τον πολλαπλασιασμό συγκεκριμένων αλληλουχιών του γενετικού υλικού (Ogilvie et al 2005, Lalioti 2008). Η ανίχνευση γίνεται είτε άμεσα αναζητώντας τη συγκεκριμένη μετάλλαξη και/ή έμμεσα με δείκτες διαχωρισμού αλληλομόρφων (markers of allelic segregation) (Ray et al 1996, Butler et al 2005). Το 1985, περιγράφηκε για πρώτη φορά η αντίδραση της αλυσωτής πολυμεράσης η οποία επιτρέπει τον πολλαπλασιασμό συγκεκριμένων αλληλουχιών DNA in vitro χρησιμοποιώντας το ένζυμο DNA πολυμεράση και ολιγονουκλεοτιδικούς εκκινητές (primers) για την ανίχνευση του εξεταζόμενου τμήματος DNA (Saiki et al 1988). Μετά από διαδοχικούς κύκλους επεξεργασίας με το ένζυμο, επιτυγχάνεται ο πολλαπλασιασμός του τμήματος DNA που μας ενδιαφέρει. Τα πολλαπλασιασμένα τμήματα που προκύπτουν μπορούν στη συνέχεια να αναλυθούν με διάφορες διαδικασίες ανάλογα με τις απαιτήσεις του ελέγχου, όπως πέψη με περιοριστικά ένζυμα, αλληλούχηση (sequencing) και ανάλυση του μεγέθους των πολυμορφισμών στην πολλαπλασιασμένη αλληλουχία (Ogilvie et al 2005).

Στον άνθρωπο η μέθοδος εφαρμόστηκε για πρώτη φορά σε συνδυασμό με την PGD για προσδιορισμό φύλου του εμβρύου και για ανίχνευση αυτοσωματικού υπολειπόμενου νοσήματος (Handyside et al 1989, Verlinsky et al 1990). Ήδη στην πρώτη αυτή εφαρμογή για τον προσδιορισμό του φύλου του εμβρύου, μετά από την αφαίρεση του βλαστομεριδίου από το έμβρυο, το κύτταρο υπεβλήθη σε PCR με τη χρήση ειδικών εκκινητών για το Y-χρωμόσωμα. Το αποτέλεσμα της όλης διαδικασίας ήταν να γεννηθούν υγιή θήλεα αλλά καταγράφηκε μια λάθος διάγνωση όταν η απουσία ενός σήματος ερμηνεύθηκε ως θήλυ έμβρυο και όχι ως αποτυχία πολλαπλασιασμού. Έτσι, αυτό το γεγονός έδειξε την αδυναμία του να βασιστεί η διάγνωση σε PCR με ένα μόνο εκκινητή και αυτό οδήγησε στην ανάπτυξη μεθόδων όπως η φθορίζουσα PCR, primer

extension pre-amplification (PEP) ή και εναλλακτικών τεχνικών όπως ο *in situ* υβριδισμός (FISH) (Findlay 2000).

Τα κύρια πλεονεκτήματα της μεθόδου είναι αφενός η ευαισθησία, αφού είναι δυνατή η ανίχνευση μιας μόνο αντιγράφου-αλληλουχίας (copy sequence) σε ένα ή ελάχιστα κύτταρα και αφετέρου η ταχύτητά της αφού η διαδικασία ολοκληρώνεται σε διάστημα λίγων ωρών. Αν και η ευαισθησία και η ειδικότητα της PCR είναι υψηλή, η μέθοδος χρήζει βελτιστοποίησης δεδομένου ότι ενώ η απαιτεί 100-500ng DNA (20,000-100,000 κύτταρα), κατά την PGD είναι διαθέσιμα μόνο 1-2 κύτταρα (Ray et al 1996, Butler et al 2005). Έτσι, έχουν αναπτυχθεί και νεότερες μορφές της μεθόδου.

Πλέον, στις μέρες μας, εφαρμόζεται πολλαπλή **(multiplex PCR)** η οποία αποσκοπεί, με τη χρήση πολλαπλών εκκινητών, στον ταυτόχρονο πολλαπλασιασμό διαφορετικών τμημάτων γενετικού υλικού σε βαθμό τέτοιο που όλα να ανιχνεύονται επαρκώς

Άλλη μορφή είναι η **φθορίζουσα PCR**, μια μέθοδος που μπορεί να ανιχνεύει το προϊόν της PCR με χρήση φθορίζουσων χρωστικών και DNA sequencer, με αποτέλεσμα να αυξάνει την ευαισθησία και την ειδικότητα της κλασικής μεθόδου, κάτι που βρίσκει εφαρμογή στην αντιμετώπιση βασικών προβλημάτων στη διενέργεια της PGD, όπως του φαινομένου ADO (Ogilvie et al 2005, Findlay 2000). Η μέθοδος είναι κατά 1000 φορές πιο ευαίσθητη από την κλασική PCR στην ανίχνευση σήματος ενώ παράλληλα είναι εξαιρετικά ακριβής και αξιόπιστη ακόμα και αν το σήμα του ενός αλληλομόρφου είναι πολύ πιο ασθενές (<1%) (Kimpton et al 1993).

Τέλος, η ποσοτική σε αληθή χρόνο PCR (**quantitative real time PCR**) (**RT-PCR**) με χρήση πολυμορφικών **STRs** αποτελεί μια άλλη παραλλαγή της αρχικής τεχνικής που βρίσκει εφαρμογή στον προεμφυτευτικό έλεγχο. Παρέχει τη δυνατότητα για διαπίστωση της γονιδιακής έκφρασης μέσω της ποσοτικής RT-PCR ανάλυσης των αντιγράφων (transcripts) του mRNA σε ένα κύτταρο. Η RT-PCR είναι ιδανική για την ανίχνευση σημειακών μεταλλάξεων και την ανάλυση γονιδιακής ποσότητας (dosage) που είναι υπεύθυνα για τα

μονογονιδιακά νοσήματα. Επιτρέπει γενικά, την ανάπτυξη πρωτοκόλλων που χαρακτηρίζονται από ταχύτητα, ακρίβεια, ευαισθησία και χαμηλό κόστος. Είναι εξαιρετικά χρήσιμη στην γενετική ανάλυση των γονέων με μονογονιδιακό νόσημα οπότε, με γνωστή, πλέον, την μετάλλαξη, η προεμφυτευτική γενετική διάγνωση στο έμβρυο καθίσταται εφικτή, γρήγορη και ακριβής (Traeger-Synodinos 2006).

4.1.3. ΝΟΣΗΜΑΤΑ ΠΟΥ ΟΦΕΙΛΟΝΤΑΙ ΣΕ ΧΡΩΜΟΣΩΜΙΚΕΣ ΑΝΩΜΑΛΙΕΣ

Στην κατηγορία αυτή υπάγονται νοσήματα που οφείλονται σε χρωμοσωμικές ανωμαλίες (μεταθέσεις, δομικές ανωμαλίες κ.ά.) (Thornhill et al, 2005, Lalioti 2008). Η ειδική κατηγορία ατόμων που ενδείκνυται να υποβάλλονται σε PGD είναι οι φορείς χρωμοσωμικών ανακατατάξεων όπως οι αναστροφές και οι Robertsonian μεταθέσεις που απαντώνται με συχνότητα 1/500 άτομα στο γενικό πληθυσμό, κάποιες εκ των οποίων είναι ειδικές για την οικογένεια στην οποία διαπιστώνονται. Αυτή η ειδική κατηγορία ζευγαριών αντιμετωπίζει προβλήματα υπογονιμότητας, επανειλημμένων αποβολών ή και γέννηση παιδιού με χρωμοσωμική ανωμαλία, ως αποτέλεσμα της ισοζυγισμένης διαταραχής στους γονείς. Στην συγκεκριμένη κατηγορία, ο έλεγχος πραγματοποιείται με την βοήθεια της FISH και απαιτεί ειδικούς ανιχνευτές για την κάθε χρωμοσωμική αναδιάταξη (Ogilvie et al 2005). Αναλυτικότερα, στις Robertsonian μεταθέσεις, ένας και μόνο ανιχνευτής για κάθε χρωμόσωμα επαρκεί. Για αντίστροφες μεταθέσεις (reciprocal) αντιθέτως απαιτούνται τρεις ανιχνευτές: δυο για κάθε άκρο του πρώτου χρωμοσώματος που εμπλέκεται στη μετάθεση και ένας τρίτος πλησίον ή μακριά από το σημείο σπασίματος (Ruangvutilert et al 2000).

Με σκοπό να αυξηθεί η ακρίβεια της προεμφυτευτικής γενετικής διάγνωσης για μονογονιδιακά νοσήματα έχουν αναπτυχθεί νεότερες τεχνικές, όπως ο συγκριτικός γενωμικός υβριδισμός (comparative genomic hybridization-CGH) και οι μικροσυστοιχίες (microarrays) (Basile et al 2009).

4.1.4. ΜΙΤΟΧΟΝΔΡΙΑΚΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ

Τα μιτοχονδριακά νοσήματα αποτελούν μια ειδική κατηγορία γενετικά μεταβιβαζόμενων παθήσεων που κληρονομούνται μόνο από την μητέρα στους απογόνους της. Στην κατηγορία αυτή ανήκουν παθήσεις όπως το σύνδρομο MELAS (Mitochondrial myopathy, Encephalopathy, Lactic acidosis, Stroke-like episodes), NARP (Neurogenic muscle weakness, Ataxia, Retinitis Pigmentosa), LHON (Leber Hereditary Optic Neuropathy) (Bredenoord et al 2008). Οι παθήσεις αυτές είναι συνήθως σοβαρές γιατί επεμβαίνουν την παραγωγή ενέργειας από το κύτταρο και συνεπώς προσβάλλουν κυρίως τα όργανα εκείνα που έχουν τις μεγαλύτερες ενεργειακές ανάγκες (εγκέφαλος, μύες, καρδιά, σκελετικοί μύες, ήπαρ και νεφροί) (Bredenoord et al 2008).

Η ένδειξη του προεμφυτευτικού ελέγχου έχει νόημα στις ετεροπλασμικές (heteroplasmic) μεταλλάξεις που είναι και οι συνηθέστερες στα μιτοχονδριακά νοσήματα και προσβάλλουν κάποιους από τους ιστούς με αποτέλεσμα το κλινικό φάσμα να εμφανίζει μεγάλη ετερογένεια (Bredenoord et al 2008).

Ο προεμφυτευτικός έλεγχος στην περίπτωση των μιτοχονδριακών νοσημάτων δεν αποσκοπεί στο να γεννηθούν απαλλαγμένα από τη νόσο παιδιά, αλλά παιδιά που φέρουν μικρότερο φορτίο της μετάλλαξης και άρα δυνητικά θα πάσχουν λιγότερο. Σε παθήσεις όπως η NARP/Leigh, MELAS αυτό βρίσκει εφαρμογή. Αντιθέτως στην LHON όλα τα έμβρυα έχουν φορτίο 100% της μετάλλαξης αλλά δεδομένου ότι η διεισδυτικότητα της νόσου είναι φυλο-εξαρτώμενη, η επιλογή θήλεος εμβρύου θα ελαττώσει τον κίνδυνο νόσησης σημαντικά (από 30% σε τυχαία σύλληψη σε 10% μετά από την επιλογή φύλου). (Bredenoord et al 2008). Για τους ανωτέρω λόγους, η καθιέρωση της ένδειξης της PGD για τα μιτοχονδριακά νοσήματα αποτελεί ειδική περίπτωση και τα κύρια αντεπιχειρήματα σύμφωνα με τους Bredenoord et al 2008 είναι τα εξής:

- “είναι αποδεκτό να υποβληθεί κανείς σε IVF/PGD ξέροντας ότι θα γεννήσει μόνο προσβεβλημένα παιδιά; Είναι αποδεκτό να φέρει κανείς στον κόσμο ένα παιδί έχοντας γνώση ότι η υγεία του θα είναι σημαντικά διαταραγμένη;”

- Το παιδί στερείται από το δικαίωμα που έχει κάθε άτομο να μην γνωρίζει, ειδικά για μια νόσο για την οποία δεν υπάρχει ειδική θεραπεία.
- Η απόφαση για τους ίδιους τους γονείς που θα υποβληθούν σε PGD/IVF για μιτοχονδριακό νόσημα είναι ακόμα πιο πολύπλοκη.
- Δεν αξιοποιούνται άλλες δυνατότητες όπως η τεκνοποίηση με ωάρια από δότρια.
- Με εξαίρεση την φυλο-εξαρτώμενη LHON, καταναλώνονται πολύ περισσότερα έμβρυα συγκριτικά με την IVF.
- Πολλοί υποστηρίζουν ότι η εφαρμογή της PGD για μιτοχονδριακά νοσήματα οδηγεί σε έναν φαύλο κύκλο κατά τον οποίο η αποδοχή μιας ηθικά αμφιλεγόμενης ιατρικής μεθόδου δίνει τη δυνατότητα στην αποδοχή και άλλων ακόμη μεθόδων που εγείρουν ηθικά διλήμματα και προβληματισμούς.

4.1.5. HLA TYPING-ΕΠΙΛΟΓΗ ΣΥΜΒΑΤΟΥ ΑΔΕΡΦΟΥ-ΔΟΤΗ ΜΕ PGD

Η διενέργεια της προεμφυτευτικής γενετικής διάγνωσης δεν περιορίζεται στον αποκλεισμό μονογονιδιακού νοσήματος στο έμβρυο. Σε πολύ ειδικές περιπτώσεις έχει επεκταθεί και σε εφαρμογές όπως η επιλογή εμβρύων που θα μπορούσαν να αποτελέσουν HLA συμβατούς δότες για το ήδη υπάρχον παιδί της οικογένειας και το οποίο πάσχει από νοσήματα που χρήζουν μεταμόσχευσης μυελού ως μοναδική θεραπεία. Η εφαρμογή αυτή είναι υψηλής σπουδαιότητας για τους εξής λόγους: α) το παιδί που πάσχει, χωρίς την μεταμόσχευση από συμβατό δότη είναι καταδικασμένο β) ακόμα και αν υπάρχει μη συγγενής δότης συμβατός, η δωρεά από αυτόν δεν είναι το ίδιο αποτελεσματική και ασφαλής όπως εάν προερχόταν από συγγενή HLA-συμβατό δότη γ) η εύρεση απόλυτα συμβατού δότη στο συγγενικό περιβάλλον ή στο γενικό πληθυσμό είναι εξαιρετικά δύσκολη και δεν επιτυγχάνεται πάντα δ) η λήψη βλαστικών κυττάρων για μεταμόσχευση από το ομφάλιο αίμα του παιδιού-δότη που θα γεννηθεί, δεν θέτει σε κίνδυνο τον δότη και επιπλέον δεν χρειάζεται να

συνοδεύει από μελλοντικούς ιατρικούς χειρισμούς στον ίδιο (Robertson 2003, Kuliev et al 2005).

Το 1999 χρονολογείται η πρώτη εφαρμογή της PGD στις Ηνωμένες Πολιτείες, με σκοπό την γέννηση παιδιού HLA συμβατού που θα μπορούσε να αποτελέσει δωρητή βλαστικών κυττάρων για το πάσχον από αναιμία Fanconi πρώτο παιδί της οικογένειας (Verlinsky et al 2001). Η δεύτερη δημοσιευμένη περίπτωση, αυτή τη φορά στην Βρετανία, αφορούσε στη γέννηση παιδιού συμβατού ώστε τα συμβατά βλαστικά κύτταρα από το ομφάλιο αίμα να μεταμοσχευθούν στον αδερφό που έπασχε από ομόζυγη β-μεσογειακή αναιμία (Kmietowicz Z 2001).

Συχνότερη ένδειξη εφαρμογής HLA typing με PGD αποτελεί η β-μεσογειακή αναιμία και η δρεπανοκυτταρική αναιμία. Ακολουθεί σε συχνότητα η οξεία λεμφοβλαστική αναιμία, ενώ σε μεμονωμένες περιπτώσεις η μέθοδος εφαρμόζεται για νοσήματα όπως πρωτοπαθείς ανοσοανεπάρκειες και ενδογενείς διαταραχές του μεταβολισμού (σύνδρομο Hurler και Gaucher) (Van Van de Velde et al 2009). Στον ακόλουθο Πίνακα 8, συνοψίζονται κάποια από τα νοσήματα για τα οποία η μέθοδος έχει ένδειξη καθώς και δεδομένα από διάφορα κέντρα έως το 2005. Στην τελευταία καταγραφή, η ESHRE ανακοίνωσε 138 κύκλους επιπλέον κύκλους μέχρι και το 2009 (Goossens et al 2012).

Πίνακας 8. Προεμφυτευτικό HLA-typing

Νόσος	Κύκλοι	Κυήσεις
Fanconi αναιμία	39	6
β-μεσογειακή/δρεπανοκυτταρική αναιμία	74	11
Χ-φυλοσύνδετη υπερ-IgM	5	2
Σύνδρομο Wiscott-Aldrich	2	1
Χ-φυλοσύνδετη υποϊδρωτική εκτοδερμική δυσπλασία	1	1
Χ-φυλοσύνδετη αδρενολευκοδυστροφία	1	0
Diamond-Blackfan αναιμία	7	2

Απλαστική αναιμία	2	0
Λευχαιμία	49	15
ΣΥΝΟΛΟ	180	38

Από: Kuliev et al. Preimplantation genetics. Improving access to stem cell therapy. Ann NY Acad Sci. 2005;1054:223-227

Η μέθοδος συνίσταται στην ανάλυση βλαστομεριδίων (με τη βοήθεια της multiplex nesting PCR) και στον έλεγχο ταυτόχρονα για μεταλλάξεις, για μικροδορυφορικές επαναλήψεις (πολυμορφικές αλληλουχίες)(markers), κληρονομούμενες παράλληλα με το HLA και για γονίδια του συμπλέγματος ιστοσυμβατότητας HLA. Με τον τρόπο αυτό επιτρέπει την επιλογή εμβρύου που όχι μόνο θα είναι απαλλαγμένο από το γονιδιακό νόσημα που υπάρχει στην οικογένεια (κάτι που άλλωστε αποτελεί και βασικό λόγο διενέργειας της PGD) αλλά συγχρόνως θα είναι HLA συμβατό ώστε να αποτελέσει δωρητή βλαστικών κυττάρων (από αίμα ομφαλίου λώρου) με σκοπό να σωθεί το ήδη πάσχον παιδί. Αυτή η τεχνική μπορεί να βρει εφαρμογή όχι μόνο για κληρονομούμενες μονογονιδιακά παθήσεις που χρήζουν μεταμόσχευσης ως οριστική θεραπεία αλλά και για επίκτητες παθήσεις (π.χ. λευχαιμία) (Harton et al 2011). Ειδικόι πολυμορφικοί δείκτες εφαρμόζονται σε όλη την περιοχή του HLA ελέγχοντας για πιθανούς ανασυνδυασμούς εντός αυτής και για αντίγραφο του χρωμοσώματος 6, επιτρέποντας έτσι την χαρτογράφηση της HLA περιοχής (typing) με μεγάλη ακρίβεια (Kuliev et al 2005). Μπορεί να γίνει άμεση ή έμμεση χαρτογράφηση του HLA συστήματος. Ειδικά για την έμμεση χαρτογράφηση, θα πρέπει να επιλεγεί επαρκής αριθμός μικροδορυφόρων (microsatellites) για να ανιχνεύσουν ανασυνδυασμούς εντός της ελεγχόμενης HLA περιοχής. Η ESHRE το 2011 αναθεώρησε τις κατευθυντήριες οδηγίες σε θέματα που αφορούν στην PGD και HLA typing και προσδιορίζει τις ενδεικνυόμενες τεχνικές που βοηθούν στη βελτίωση της ανάλυσης (Harton et al 2011).

Προβληματισμοί ηθικού, φιλοσοφικού και ψυχολογικού χαρακτήρα προέκυψαν όπως ήταν αναμενόμενο για αυτή την εφαρμογή της PGD. Ανέκυψαν ερωτήματα του τύπου πόσο ηθικό είναι

1. να “χρησιμοποιείται ο άνθρωπος ως μέσο και όχι ως τελικός σκοπός” αντίθετα με το φιλοσοφικό δόγμα του Immanuel Kant

2. να επιλέγεται ένα παιδί ως δότης παρά τη θέλησή του

3. να “σχεδιάζεται” το παιδί που θα γεννηθεί σύμφωνα με τη συμβατότητα ενώ αυτή η επιλογή δεν αφορά στη δική του υγεία

4. κατά πόσο είναι επιθυμητό και αγαπητό ένα παιδί που γεννιέται μόνο με σκοπό να σώσει ένα άλλο

5. ποιες είναι οι τυχόν ψυχολογικές επιπτώσεις στο παιδί-“σωτήρα” γνωρίζοντας το λόγο για τον οποίο γεννήθηκε ή

6. ποια η αντιμετώπισή του από την οικογένεια εάν η μεταμόσχευση τελικά δεν βοηθήσει στη σωτηρία του άλλου παιδιού και πλήθος άλλων καίριων ενδοιασμών (Boyle and Savulescu 2001, Robertson 2003, Devolder 2005, De Wert et al 2007).

Για κάθε ένα από τα προηγούμενα ερωτήματα υπήρξε και υπάρχει ισχυρός αντίλογος, αλλά κατόπιν θεώρησης των επιμέρους παραμέτρων, ήδη από το 1998, η American Society of Reproductive Medicine και η American Medical Association στην διάσκεψη του WHO για θέματα ηθικής στο χώρο της ιατρικής γενετικής, έκαναν αποδεκτή την εφαρμογή της PGD σε συνδυασμό με το HLA-typing με σκοπό τη γέννηση παιδιών-δοτών (WHO, Geneva 1998).

4.2. ΠΡΟΕΜΦΥΤΕΥΤΙΚΟ ΓΕΝΕΤΙΚΟ SCREENING - PREIMPLANTATION GENETIC SCREENING (PGS)

4.2.1.ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ

Αν και σημαντικός αριθμός κύκλων PGD πραγματοποιούνται για κληρονομικά νοσήματα ή για χρωμοσωμικές ανακατατάξεις, υπογόνιμα ζευγάρια που πρόκειται να υποβληθούν σε εξωσωματική γονιμοποίηση καταφεύγουν στο λεγόμενο προεμφυτευτικό γενετικό screening ή PGS με σκοπό να αυξηθεί το ποσοστό επιτυχίας της τελευταίας μέσω του αποκλεισμού χρωμοσωμικών ανωμαλιών στο έμβρυο (Wells & Levy 2003). Αυτή είναι και η δεύτερη κατηγορία προεμφυτευτικού ελέγχου ή χαρακτηριζόμενη και ως “χαμηλού κινδύνου”. Γενικά, σε αυτή την ομάδα συγκαταλέγονται γυναίκες σε προχωρημένη ηλικία, ζευγάρια με επανειλημμένες αποτυχίες εξωσωματικής γονιμοποίησης και ζευγάρια με φυσιολογικό μεν καρυότυπο αλλά πολλαπλές αποβολές. (Thornhill et al, 2005).

Για να γίνει κατανοητό πώς ο χρωμοσωμικός έλεγχος του σχηματιζόμενου εμβρύου μπορεί να συντελέσει σε καλύτερα ποσοστά επιτυχούς IVF, πρέπει να αναφερθούν κάποια στοιχεία που έχουν διαπιστωθεί σε μελέτες σχετικά με τις ανευπλοειδίες και τις αποβολές στον άνθρωπο.

Η εξέλιξη του ζυγωτού σε ένα υγιές έμβρυο είναι μια διαδικασία αυστηρά ελεγχόμενη και εξαρτώμενη από την ύπαρξη φυσιολογικού γενετικού υλικού και την ακριβή έκφραση των διαφόρων γονιδίων σε συγκεκριμένο χρόνο. Δεν είναι τυχαίο ότι οι χρωμοσωμικές ανωμαλίες με τη μορφή της ανευπλοειδίας συνήθως επιδρούν δυσμενώς στην ανάπτυξη του εμβρύου, λόγω τροποποίησης της έκφρασης μιας πληθώρας γονιδίων (Wells & Levy 2003). Έχει διαπιστωθεί ότι, φυσιολογικά, η πιθανότητα μιας γυναίκας να φέρει σε πέρας μια εγκυμοσύνη από τη σύλληψη μέχρι και τον τοκετό είναι 25% για κάθε έμμηνο κύκλο, ενώ το μεγαλύτερο ποσοστό των αυτομάτων αποβολών αποδίδεται σε ανευπλοειδίες ασύμβατες με τη ζωή (Wilton 2002). Έχει βρεθεί ότι:

α) σε αυτόματες αποβολές ύστερα από IVF, το ποσοστό χρωμοσωμικών ανωμαλιών ανέρχονταν σε ένα ποσοστό της τάξης του 60%

β) μόνο το 30% των εμβρύων από φυσική σύλληψη τελικά εμφυτεύονται και κατορθώνουν να επιβιώσουν

γ) μόνο το 15% των απωλειών εμβρύων αναγνωρίζονται ως αποβολές, ενώ οι υπόλοιπες αφορούν σε πολύ πρώιμα στάδια

δ) το 22% των εμβρύων που αποβάλλονται σε κύσεις από φυσική σύλληψη χάνονται στην πρώτη ήδη εβδομάδα της κύησης (Munné et al 1995).

Οι ανευπλοειδίες που διαπιστώνονται στα έμβρυα αυτόματων αποβολών μπορεί είτε να κληρονομούνται από αντίστοιχες στο σπερματοζωάριο ή στο ωάριο, ή να εμφανίζονται *de novo* μετά τη γονιμοποίηση, ενώ η συσχέτιση της προχωρημένης ηλικίας της μητέρας με την εμφάνιση ανευπλοειδιών στο έμβρυο έχει πολύ καλά τεκμηριωθεί (Wilton 2002). Οι χρωμοσωμικές ανωμαλίες ανιχνεύονται σε παθολογικής μορφολογίας αλλά και σε αργά αναπτυσσόμενα έμβρυα, έχει διαπιστωθεί όμως ότι ακόμα και έμβρυα *φυσιολογικής* μορφολογίας μπορεί επίσης να είναι ανευπλοειδικά, μια πιθανότητα που επιπλέον αυξάνει ανάλογα με την ηλικία της μητέρας (Simpson 2001). Η λογική λοιπόν υπόθεση είναι ότι η επιλογή και μεταφορά φυσιολογικών χρωμοσωμικά εμβρύων θα αυξήσει το ποσοστό κλινικών κύσεων (Simpson 2001).

Συνέπεια της διαπίστωσης της αρκετά σημαντικής συχνότητας ανευπλοειδιών στο πρώιμο έμβρυο ήταν η επέκταση της κλασικής PGD τεχνικής με τη μορφή του Preimplantation Genetic Screening για ανίχνευση ανευπλοειδιών (γνωστού και ως PGD-AS ή PGS), με ένδειξη σε ζευγάρια που έχουν πτωχή πρόγνωση επιτυχούς εφαρμογής εξωσωματικής γονιμοποίησης (Wilton 2002). Η PGS για πρώτη φορά περιγράφηκε από τους Verlinsky et al το 1995 όταν χρησιμοποίησαν ανιχνευτές FISH για τα χρωμοσώματα X, 18 και/ή 13/21 για να αναλύσουν το πρώτο και κάποιες φορές και το δεύτερο πολικό σωματίο των ωαρίων ασθενών που υποβάλλονταν σε IVF λόγω υπογονιμότητας (Wilton 2002).

Η PGS, σε συνδυασμό με την χρήση FISH ανάλυσης, στα περισσότερα κέντρα εξωσωματικής γονιμοποίησης εφαρμόζεται σε γυναίκες με:

- επανειλημμένες αποτυχίες εμφύτευσης- εξωσωματικής
- ιστορικό καθέξιν αποβολών και
- μεγάλη ηλικία για τεκνοποίηση (συνήθως μεγαλύτερες των 37 ετών).

(Wilton 2004, Thornhill 2006, Donoso et al 2007, Lalioti 2008, Anderson & Pickering 2008).

Η επιλογή αυτών των ομάδων ασθενών για την εφαρμογή της προεμφυτευτικής γενετικής διάγνωσης προέκυψε από συμπεράσματα μελετών που αφορούν σε κάθε μία από τις παραπάνω ομάδες.

Αναλυτικότερα, έρευνες έχουν δείξει ότι, φυσιολογικά στο γενικό πληθυσμό, λιγότερο από το 50% των κυήσεων από φυσική σύλληψη κατορθώνουν να ολοκληρωθούν, με περισσότερες να διακόπτονται πριν ή λίγο μετά την εμφύτευση. Αντίστοιχα δεδομένα έχουν παρατηρηθεί και στις κυήσεις από εξωσωματική γονιμοποίηση και, ενώ πολλοί παράγοντες στην προκειμένη περίπτωση μπορεί να συμβάλλουν στο αρνητικό αποτέλεσμα, οι χρωμοσωμικές ανωμαλίες εξακολουθούν να αποτελούν έναν από τους πιο σημαντικούς παράγοντες (Wells & Levy 2003).

Όσο αφορά στην δεύτερη ομάδα, ως επανειλημμένες αποβολές ορίζονται 3 τουλάχιστον αυτόματες διακοπές της κύησης, ηλικίας μικρότερης των 20-28 εβδομάδων, και απαντώνται σε ποσοστό 1% ενώ στο 50% αυτών δεν ανευρίσκεται κάποια αιτία (Garrisi et al 2008, Donoso et al 2007). Σύμφωνα με άλλον ορισμό, ως καθέξιν αποβολές ορίζονται *ακόμα και* δυο ή περισσότερες αποβολές σε διαδοχικές κυήσεις (Garrisi et al 2008). Έχει διαπιστωθεί ότι συχνά η αυτόματη αποβολή οφείλεται σε τρισωμία των χρωμοσωμάτων 13, 14, 15, 16, 21 ή 22 καθώς και το ότι 50-60% των εμβρύων που αποβάλλονται σε έδαφος αδιάγνωστων καθέξιν αποβολών φέρουν αριθμητικές χρωμοσωμικές ανωμαλίες (Donoso et al 2007). Εξάλλου, το 90% των χρωμοσωμικά ανώμαλων

κυημάτων αποβάλλεται τελικά, σε αντίθεση με μόνο ένα 7% των φυσιολογικών χρωμοσωμικά εμβρύων (Garrisi et al 2008).

Παρά την αρχική υπόθεση ότι ο αποκλεισμός χρωμοσωμικών ανωμαλιών στο έμβρυο αυξάνει την πιθανότητα κύησης μετά από εξωσωματική, δεν υπάρχουν συγκλίνοντα στατιστικά στοιχεία όσο αφορά στην μείωση του ποσοστού αποβολών σε γυναίκες με ιστορικό καθέξιν αποβολών αλλά φυσιολογικό καρυότυπο στις ίδιες. Σε μελέτη των Munne et al 2005 σε γυναίκες αυτής της κατηγορίας με ηλικία άνω των 35 ετών, το ποσοστό αποβολών βρέθηκε 12% μετά από εφαρμογή PGS για 9 χρωμοσώματα αντί για 86% που καταγραφόταν στις φυσικές τους συλλήψεις. Σε άλλη ωστόσο μελέτη όπου η PGS αφορούσε μόνο 7 χρωμοσώματα δεν διαπιστώθηκε αντίστοιχο όφελος από την εφαρμογή του προεμφυτευτικού ελέγχου, ενώ δεν φαίνονται να επωφελούνται ούτε και οι ασθενείς κάτω των 35 ετών με ιστορικό καθέξιν αποβολών (Laloti 2008).

Σχετικά με την τελευταία ομάδα της προχωρημένης ηλικίας της μητέρας, η επιλογή του συγκεκριμένου κριτηρίου βασίζεται στις μελέτες που δείχνουν ότι η μεγάλη ηλικία της γυναίκας σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο ανευπλοειδιών (Donoso et al 2007). Επίσης, το 70% των αποβολών στις πρώτες 6 εβδομάδες της κύησης οφείλεται σε αριθμητικές χρωμοσωμικές ανωμαλίες (Donoso et al 2007). Αντιθέτως, μετά την 10^η εβδομάδα κύησης, το ποσοστό αποβολών μειώνεται στο 2-3% με τις χρωμοσωμικές ανωμαλίες να συνιστούν μόνο το 5% των αιτιολογικών παραγόντων αυτών των αποβολών (Donoso et al 2007). Επιπλέον, η μεγάλη ηλικία της μητέρας σχετίζεται και με το χαμηλό ποσοστό εμφύτευσης και τα υψηλότερα ποσοστά αποβολών που εν μέρει ερμηνεύονται από την αυξημένη συχνότητα ανευπλοειδιών στις γυναίκες αυτές (Donoso et al 2007).

Θα πρέπει βέβαια να σημειωθεί ότι τα αποτελέσματα από τις επιμέρους μελέτες σχετικά με την εφαρμογή σε γυναίκες προχωρημένης ηλικίας είναι αντικρουόμενα. Αναλυτικότερα, σε μελέτη 341 κύκλων PGS που πραγματοποιήθηκαν σε γυναίκες άνω των 38 ετών διαπιστώθηκε ένα

ικανοποιητικό ποσοστό εξέλιξης της κύησης ανά εμβρυομεταφορά της τάξεως του 25% (Rubio et al 2005), ενώ σε άλλες μελέτες δεν παρατηρήθηκε βελτίωση του ποσοστού εμφύτευσης με την χρήση της μεθόδου (Munne et al 1999). Αντιστοίχως, στην μετα-ανάλυση των Twisk et al 2006 για δυο τυχαιοποιημένες μελέτες, δεν καταγράφηκε καμιά διαφορά στο ποσοστό των ζώντων κυήσεων, του ποσοστού εξέλιξης της κύησης ανά γυναίκα και του ποσοστού κλινικής εγκυμοσύνης παρά την χρήση PGS. Παρόμοια ήταν και τα αποτελέσματα μιας μεγάλης τυχαιοποιημένης μελέτης σε 289 κύκλους PGS στους οποίους εξετάστηκαν τα χρωμοσώματα X, Y, 13, 16, 18, 21 και 22 (Staessen et al 2004). Επιπλέον τα ποσοστά εμφύτευσης δεν φαίνεται να μεταβάλλονται με την ηλικία (37- 43 έτη), με αποτέλεσμα η χρήση της PGS να μην οδηγεί σε βελτίωσή τους (Donoso et al 2007).

Ωστόσο, αν και υπάρχει ένας ικανός αριθμός μελετών επί του θέματος, μόνο δυο τυχαιοποιημένες στατιστικές μελέτες αφορούν στην χρήση της μεθόδου με ένδειξη την ηλικία της μητέρας, ενώ σε καμιά τους δεν διαπιστώνεται αύξηση στο ποσοστό ζώντων γεννήσεων και μάλιστα η πιο πρόσφατη εξ αυτών δείχνει ότι το συγκεκριμένο ποσοστό μειώνεται (Anderson & Pickering 2008).

Πρόσφατα τόσο η American Society of Reproductive Medicine όπως και η British Fertility Society κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι η PGS, όπως πλέον εφαρμόζεται, δεν βελτιώνει τα ποσοστά ζώντων γεννήσεων σε γυναίκες με προχωρημένη ηλικία, επανειλημμένες προσπάθειες εμφύτευσης ή καθ' ἑξιν αποβολές (Anderson & Pickering 2008, ASRM, 2008). Μια σειρά από άλλα πιθανά αίτια έχουν θεωρηθεί υπεύθυνα για αυτή την αναντιστοιχία θεωρίας και πράξης, όπως ο ανεπαρκής αριθμός των εξεταζόμενων χρωμοσωμικών ανωμαλιών, η επεμβατική φύση της προεμφυτευτικής γενετικής διάγνωσης αλλά το πιο πιθανό αίτιο είναι ο μωσαϊκισμός στα έμβρυα που βρίσκονται στο στάδιο της αυλάκωσης (Cohen et al 2007, Handyside & Thornhill 2007)

4.2.2. ΜΕΘΟΔΟΣ ΠΟΥ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΕΙΤΑΙ ΣΤΟ PGS

Μέχρι πρότινος, για όλες τις χρωμοσωμικές ανωμαλίες, όπως και για τον προσδιορισμό του φύλου του εμβρύου, η FISH αποτελούσε τη μέθοδο εκλογής με βάση τα τότε δεδομένα (Lalioi 2008). Η τεχνική βασίζεται στον υβριδισμό του DNA των χρωμοσωμάτων από κύτταρα στο στάδιο της μεσόφασης με τη χρήση ειδικών DNA ανιχνευτών (probes) -συνήθως κλωνοποιημένων τμημάτων DNA- οι οποίοι είναι σημειωμένοι με διαφορετικές φθορίζουσες χρωστικές. Οι ανιχνευτές μπορεί να είναι ειδικοί για το γενετικό τόπο (locus-specific), ειδικοί για το κεντρομερίδιο (centromere-specific όταν π.χ. μελετώνται τα φυλετικά χρωμοσώματα X και Y) ή για όλο/μέρος του χρωμοσώματος και έχουν την ικανότητα να προσδένονται με το συμπληρωματικό τους τμήμα DNA (Wells & Levy 2003, Ruangvutilert et al 2000). Τα φθορίζοντα σήματα είναι ορατά και στο στάδιο της μεσόφασης όπως φυσικά και στη μετάφαση, επιτρέποντας την ανίχνευση ανευ/πολυ-πλοειδιών ακόμα και στο στάδιο της μεσόφασης. Η μέθοδος FISH χρησιμοποιείται για να εντοπίσει αριθμητικές και δομικές ανωμαλίες (Ruangvutilert et al 2000).

Κατά τη μέθοδο αυτή, τα υπό εξέταση κύτταρα σταθεροποιούνται σε μια υάλινη επιφάνεια και ανιχνευτές DNA για 9 έως 12 χρωμοσώματα που πρόκειται να εξεταστούν, σημαίνονται με διαφορετικές φθορίζουσες χρωστικές και τα σήματα φθορισμού που προκύπτουν παρατηρούνται στο μικροσκόπιο (Lalioi 2008). Έχουν αναπτυχθεί κατά καιρούς διάφορα πρωτόκολλα ως προς τον μέγιστο αριθμό των χρωμοσωμάτων που αναλύονται από έναν μεσοφασικό πυρήνα (Colls et al 2007). Έτσι, αρχικά, χρησιμοποιήθηκαν ανιχνευτές για τα χρωμοσώματα X, Y, 13, 16, 18 και 21 κατά την εφαρμογή της FISH στην PGD, ενώ πλέον στις μέρες μας τα περισσότερα κέντρα PGD ελέγχουν για τυχόν ανευπλοειδία των χρωμοσωμάτων 13, 15, 16, 17, 18, 21, 22, X και Y (Lalioi 2008, Munne et al 1998). Για τον προσδιορισμό του φύλου σε ένα κύτταρο, χρησιμοποιούνται ανιχνευτές επαναλαμβανόμενης αλληλουχίας που είναι ειδικοί για τις κεντρομεριδικές περιοχές των φυλετικών χρωμοσωμάτων και άλλος ένας τρίτος ανιχνευτής για το κεντρομερίδιο ενός αυτοσώματος (Ogilvie et al

2005). Ωστόσο, ο προσδιορισμός φύλου για τα φυλοσύνδετα νοσήματα δεν θεωρείται ιδανικός αφού το 50% των άρρενων εμβρύων δεν θα είναι προσβεβλημένα από τη νόσο (Ogilvie et al 2005).

Σε μια τυπική εφαρμογή PGS, μόνο ένα με δύο κύτταρα αναλύονται από το κάθε έμβρυο και η διαδικασία απαιτεί υψηλή αποτελεσματικότητα και ειδικότητα. Για το λόγο αυτό, στη μελέτη τους οι Munne et al 1998 επεδίωξαν να εκτιμήσουν την αποτελεσματικότητα των ειδικών ανιχνευτών για τα χρωμοσώματα X, Y, 13, 16, 18 και 21 όταν αυτοί χρησιμοποιούνταν ταυτόχρονα σε ένα και μόνο βλαστομερίδιο (Munne et al 1998). Με το συγκεκριμένο πρωτόκολλο ανιχνεύονται ταυτόχρονα οι αντίστοιχες ανευπλοειδίες και επιπλέον η ανευπλοειδία του χρωμοσώματος 16 που αποτελεί την πιο συχνή χρωμοσωμική ανωμαλία που ανιχνεύεται στις αυτόματες αποβολές (Munne et al 1998).

Είναι αναμενόμενο ότι οι περιορισμοί της τεχνικής αυτής στον προεμφυτευτικό γενετικό έλεγχο είναι εκείνοι της μεθόδου FISH. Πράγματι, εάν περισσότεροι από 3 ανιχνευτές χρησιμοποιηθούν, η αποτελεσματικότητα της μεθόδου μειώνεται εξαιτίας της αυξημένης πιθανότητας αλληλοεπικαλυπτόμενα σήματα να δώσουν την εικόνα ενός και μόνο σήματος (Ruangvutilert et al 2000). Επιπλέον, μόνο συγκεκριμένος αριθμός χρωμοσωμάτων μπορεί να αναλυθεί ταυτόχρονα με FISH σε ένα κύτταρο βιοψίας (Kallioniemi et al 1992).

Αυτός ο περιορισμός έδωσε το έναυσμα για τη χρήση νεότερων μεθόδων όπως του συγκριτικού γενωμικού υβριδισμού (CGH) ο οποίος δίνει τη δυνατότητα για λεπτομερέστερη χρωμοσωμική ανάλυση στο υπό βιοψία κύτταρο και επίσης μπορεί να ελέγξει όλο το γονιδίωμα για χρωμοσωμικές ανωμαλίες, με εξαίρεση τις ισοζυγισμένες μεταθέσεις (Kallioniemi et al 1992). Αρχικά, σημειώθηκε ότι το CGH στην PGD εμφάνισε πρόβλημα λόγω του απαιτούμενου χρόνου για να ολοκληρωθεί ο έλεγχος (72 ώρες) που το καθιστούσε ασύμβατο με το μικρό διαθέσιμο χρονικό περιθώριο για προεμφυτευτική διάγνωση και εμβρυομεταφορά. Έτσι, άρχισαν να μελετώνται τρόποι για μείωση του χρόνου της διάγνωσης καθώς και για την ανάπτυξη

Βελτιωμένων τεχνικών με τη χρήση μικροσυστοιχιών (microarrays) (Wilton et al 2002, Wells et al 2003, Hu et al 2004, Hu et al 2007, Hellani et al 2008). Πλέον, νεότερες τεχνολογίες βρίσκουν εφαρμογή στην Προεμφυτευτική Γενετική Διάγνωση.

4.3. ΝΕΟΤΕΡΕΣ ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΚΑΙ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΤΟΥΣ: CGH & MICROARRAYS

Μια από τις μεγαλύτερες προκλήσεις στην προγεννητική αλλά και προεμφυτευτική γενετική διάγνωση είναι η ανάπτυξη τεχνικών ταχύτατων, που επιτρέπουν ακριβή ανάλυση και εξαγωγή το μέγιστο των κυτταρογενετικών πληροφοριών που αφορά στο εξεταζόμενο υλικό. Ειδικά στην περίπτωση του προεμφυτευτικού ελέγχου, συχνά υπάρχει ο περιορισμός ότι μόνο ένα ή δυο κύτταρα είναι διαθέσιμα για ανάλυση και συνήθως αυτά βρίσκονται στο στάδιο της μεσόφασης, όπου τα χρωμοσώματα βρίσκονται μέσα στον πυρήνα και δεν είναι διακριτά ως ξεχωριστή δομή. Επιπλέον, τα αποτελέσματα της ανάλυσης πρέπει να είναι διαθέσιμα εντός 48ώρου το πολύ προκειμένου να γίνει η εμβρυομεταφορά.

Στις μέρες μας, η πιο επιτυχής προσέγγιση του πλήρους καρυοτυπικού ελέγχου σε ένα κύτταρο είναι ο συγκριτικός γενωμικός υβριδισμός (comparative genomic hybridization-CGH). Το CGH αρχικά αναπτύχθηκε από βιολόγους στην έρευνα του καρκίνου που έπρεπε να ανιχνεύσουν ανευπλοειδίες σε μικρό αριθμό κυττάρων από συμπαγείς καρκινικούς όγκους. Η βασική του αρχή είναι η σύγκριση του εξεταζόμενου δείγματος DNA με ένα δείγμα γνωστού ή φυσιολογικού DNA, τα οποία σημαίνονται με πράσινη και κόκκινη φθορίζουσα χρωστική, και η τοποθέτησή τους ταυτόχρονα σε φυσιολογικά χρωμοσώματα μεταφασικού πυρήνα που έχει μονιμοποιηθεί σε αντικειμενοφόρο πλάκα. Τα σημασμένα τμήματα DNA υβριδοποιούνται και στη συνέχεια τα φθορίζοντα σήματα κατά μήκος των μεταφασικών χρωμοσωμάτων αναλύονται με κατάλληλο λογισμικό (Wilton 2004).

Η χρωμοσωμική ανάλυση μεμονωμένων κυττάρων από έμβρυα ανθρώπου σε προεμφυτευτικό στάδιο, με τη χρήση πολλαπλασιασμού όλου του γονιδιώματος και συγκριτικού γενωμικού υβριδισμού στη συνέχεια, εισήχθη για πρώτη φορά πριν από περίπου 10 έτη (Voullaire et al 2000, Wells and Delhanty 2000). Εξαρχής, η παραπάνω τεχνολογία ήταν εξαιρετικά δαπανηρή και τα έμβρυα 3 ημερών έπρεπε να καταψυχθούν εν αναμονή των αποτελεσμάτων του CGH επηρεάζοντας δυσμενώς την ποιότητα των εμβρύων (Wilton et al 2001, Munne and Wells 2003). Αντιθέτως, οι νεότερες μέθοδοι που βασίζονται στις μικροσυστοιχίες φαίνεται ότι έδωσαν τη δυνατότητα συγκρίσεων διαγνωστικών αποτελεσμάτων και ικανοποιητικής ταχύτητας γενετικού ελέγχου χωρίς την ανάγκη της κρυοσυντήρησης των εμβρύων.

Γνωρίζοντας ότι ο μωσαϊκισμός του εμβρύου στο στάδιο της αυλάκωσης απουσιάζει στη φάση του ζυγωτού, η βιοψία του πολικού σωματίου θεωρητικά πλεονεκτεί στην εφαρμογή του arrayCGH στα πλαίσια του προεμφυτευτικού γενετικού ελέγχου (PGS). Επιπλέον, η βιοψία πολικού σωματίου παρέχει περισσότερο χρόνο για την μελέτη των χρωμοσωμάτων με τις νεότερες τεχνικές του (micro-array, MLPA) μετά από πολλαπλασιασμό (amplification) ολοκλήρου του γονιδιώματος (Handyside et al 2004, Spits et al 2006). Το μειονέκτημα είναι ότι με τη βιοψία πολικού σωματίου, εξετάζονται μόνο μητρικής προέλευσης χρωμοσωμικές ανευπλοειδίες, οι οποίες όμως συνιστούν και την πλειονότητα των ανθρώπινων ανευπλοειδιών (περισσότερο από το 90%) (Verlinsky et al 1995, Nicolaidis and Petersen 1998).

5. ΕΠΙΠΤΩΣΕΙΣ ΤΗΣ ΥΠΟΒΟΗΘΟΥΜΕΝΗΣ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗΣ (IVF/ICSI): ΥΠΑΡΧΟΥΣΑ ΓΝΩΣΗ

Η παρακολούθηση κυήσεων και των παιδιών που γεννήθηκαν με υποβοηθούμενη αναπαραγωγή έχει δείξει ότι η εφαρμογή τόσο της IVF όσο και της μεθόδου ICSI ενδεχομένως συνδέεται με διάφορες επιπλοκές της κύησης, συγγενείς ανωμαλίες και σύνδρομα που μπορεί να επηρεάσουν δυσμενώς την αναπτυξιακή εξέλιξη του παιδιού. Η IVF και η ICSI σε διάφορες μελέτες έχουν συνδεθεί με αυξημένες μαιευτικές, περιγεννητικές και άλλες επιπλοκές, όπως η προ-εκλαμψία, οι αιμορραγίες, ο πρόδρομος πλακούντας και η ρήξη πλακούντα, η προωρότητα, το χαμηλό βάρος γέννησης, η αυξημένη νεογνική νοσηρότητα και οι συγγενείς ανωμαλίες. Αν και δεν μπορεί να παραβλεφθεί το γεγονός ότι η υπογονιμότητα αποτελεί η ίδια έναν ανεξάρτητο παράγοντα που διαμορφώνει τον κίνδυνο μαιευτικών και νεογνολογικών επιπλοκών-τουλάχιστον σε μονήρεις κυήσεις- δεν έχει αποσαφηνιστεί πλήρως ο ρόλος των μεθόδων της υποβοηθούμενης αναπαραγωγής στην εμφάνιση διαφόρων επιπλοκών.

Συνοπτικά, τα θέματα που έχουν κατά καιρούς προβληματίσει την διεθνή επιστημονική κοινότητα σχετικά με την ασφάλεια της υποβοηθούμενης αναπαραγωγής (IVF/ICSI) είναι τα ακόλουθα:

- Μαιευτικές και περιγεννητικές επιπλοκές - έκβαση κυήσεως
- Μακροπρόθεσμη νοσηρότητα και θνησιμότητα
- Συγγενείς ανωμαλίες
- Νευρολογικές επιπτώσεις
- Η επίπτωση του “εξαφανιζόμενου” (vanishing) εμβρύου στο κύημα που επιβιώνει
- Το φαινόμενο της γονιδιακής αποτύπωσης (genomic imprinting)
- Γνωσιακή εξέλιξη-Ψυχοκινητική ανάπτυξη

Για κάθε ένα από τους προαναφερθέντες προβληματισμούς η γνώση, ερμηνεία και κατανόηση των συμπερασμάτων, που έχουν καταγραφεί από τη στατιστική ανάλυση στοιχείων που αφορούν σε κυήσεις και παιδιά που αποκτήθηκαν με τη βοήθεια της IVF/ICSI, είναι σημαντική δεδομένου ότι η ίδια μέθοδος του προεμφυτευτικού γενετικού ελέγχου (PGD/PGS) είναι άμεσα συνυφασμένη με την ICSI από τεχνικής απόψεως. Κατ' επέκταση, τα συμπεράσματα μελετών που αφορούν στην ασφάλεια των μεθόδων υποβοηθούμενης αναπαραγωγής θεωρητικά επεκτείνονται και στην PGD/PGS.

5.1. ΜΑΙΕΥΤΙΚΕΣ ΚΑΙ ΠΕΡΙΓΕΝΝΗΤΙΚΕΣ ΕΠΙΠΛΟΚΕΣ

Μια πρώτη γενική διαπίστωση από τη μέχρι τώρα παρακολούθηση κυήσεων και γεννήσεων μετά από IVF/ICSI είναι ότι χαρακτηρίζονται από αυξημένο κίνδυνο μαιευτικών επιπλοκών (όπως αποκόλληση πλακούντα, προεκλαμψία, αιμορραγία πρόδρομου πλακούντα) συγκριτικά με τις φυσικές κυήσεις, αλλά χωρίς να διευκρινίζεται αν αυτό είναι αποτέλεσμα της μεθόδου ή του αιτίου υπογονιμότητας του ζεύγους (Helmerhorst 2004).

Ως προς την περιγεννητική έκβαση, οι πιο σημαντικές παράμετροι αξιολόγησής της είναι το ποσοστό προωρότητας, το χαμηλό βάρος κατά τη γέννηση και η περιγεννητική θνητότητα. Είναι γνωστό ότι η ηλικία κύησης καθώς και το βάρος γέννησης συνιστούν τους κύριους παράγοντες που επηρεάζουν την περιγεννητική θνητότητα και την πρόκληση αναπηριών. Για το λόγο αυτό, στις περισσότερες μελέτες εκτίμησης των κυήσεων από IVF/ICSI, αυτές αποτελούν και τις παραμέτρους που καταγράφονται και εκτιμώνται. Άλλοι παράγοντες, που μπορούν να επηρεάσουν δυσμενώς την έκβαση της κύησης και να οδηγήσουν σε επιπλοκές, είναι η προχωρημένη ηλικία της μητέρας και ενδεχομένως τα αίτια της υπογονιμότητας που συγχρόνως αποτελούν και τις ενδείξεις για την υποβοηθούμενη αναπαραγωγή (Olivennes et al 2002).

Το μείζον όμως θέμα, όσο αφορά στην υποβοηθούμενη αναπαραγωγή, αποτελούν οι πολύδυμες κυήσεις οι οποίες είναι συχνές και στην ουσία φαίνεται να συνιστούν έναν ανεξάρτητο παράγοντα που προδιαθέτει σε μαιευτικές και περιγεννητικές επιπλοκές, προβλήματα κατά την νεογνική περίοδο αλλά και συγγενείς ανωμαλίες (Wennerholm et al 2000, Hansen et al 2005). Είναι γνωστό ότι η συχνότητα των πολύδυμων κυήσεων είναι σαφώς υψηλότερη στις IVF/ICSI κυήσεις ακόμα και μετά τον αυστηρότερο καθορισμό του προτεινόμενου αριθμού εμβρύων που μεταφέρονται για εμφύτευση. Το ποσοστό τους υπολογίζεται σε 22.7% στην Ευρώπη και σε 31.7% στις ΗΠΑ μετά από IVF/ICSI, σε αντίθεση με το ποσοστό 1-2% που απαντάται στο γενικό πληθυσμό φυσικών συλλήψεων (Andersen et al 2008, Wright et al 2008). Για την κάθε μέθοδο ξεχωριστά, η μελέτη των Buckett et al (2007), στο Μόντρεαλ του Καναδά, έδειξε ότι το ποσοστό των δίδυμων κυήσεων μετά από IVF ήταν 20% και μετά από ICSI 17%, έναντι του 1.7% σε φυσικές συλλήψεις, και τα ποσοστά των τριδύμων κυήσεων ήταν 3%, 3% και 0% αντιστοίχως. Το δείγμα της συγκεκριμένης μελέτης αποτέλεσαν 55 παιδιά από IVM (in Vitro Maturation), 217 παιδιά IVF και 160 παιδιά από ICSI (συνολικά 432 παιδιά) που γεννήθηκαν κατά τη χρονική περίοδο 1993-2003 και τα οποία εξετάστηκαν μέχρι και την ηλικία των 12 μηνών. Πηγή δεδομένων αποτέλεσαν τα αρχεία της McGill Obstetrics and Neonatal Database, στο Μόντρεαλ του Καναδά.

Σύμφωνα με την ίδια έρευνα όπως και άλλη των Shebl et al (2008) στην Αυστρία, η συχνότητα των καισαρικών τομών, σε κυήσεις υποβοηθούμενης αναπαραγωγής είναι γενικά υψηλότερη, συγκριτικά με τις φυσικές συλλήψεις, αλλά αφορά ακόμα και στις μονήρεις κυήσεις από υποβοηθούμενη αναπαραγωγή (36% σε IVF/ICSI έναντι 26.3% σε φυσικές μονήρεις κυήσεις) (Buckett et al 2007, Shebl et al 2008). Για τις δίδυμες κυήσεις από IVF/ICSI, στην μελέτη των Pinborg et al από τη Δανία, η συχνότητα της καισαρικής τομής υπολογίστηκε σε 52.9% ενώ σε δίδυμες φυσικές κυήσεις το ίδιο ποσοστό ήταν 42.7% (Pinborg et al 2004). Ο κίνδυνος όμως αυτός εξαλειφόταν όταν γινόταν ανάλυση λαμβάνοντας υπόψιν την ηλικία της μητέρας και τον αριθμό του τόκου.

Οι Poikkeus et al (2007) επικεντρώθηκαν στη μελέτη τους σε 269 παιδιά που γεννήθηκαν από IVF/Single Embryo Transfer (SET), IVF/ 230 παιδιά από Double Embryo Transfer (DET) και 15037 παιδιά από φυσική σύλληψη, με σκοπό να διευκρινίσουν κατά πόσο η μαιευτική και περιγεννητική έκβαση σε κυήσεις IVF σχετίζεται με τον αριθμό των εμβρύων που μεταφέρονται. Διαφορές ως προς τη συχνότητα της καισαρικής, το βάρος γέννησης και τις μαιευτικές επιπλοκές ήταν αντίστοιχες στις δυο ομάδες IVF-SET και IVF-DET. Αντιθέτως όταν η σύγκριση αφορούσε στην ομάδα SET με αυτή της φυσικής σύλληψης, οι ερευνητές κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι η συχνότητα της καισαρικής τομής ήταν αυξημένη ακόμα και στην μεταφορά ενός και μόνο εμβρύου (OR) 1.54 με 95% (CI) 1.18-2.00.

Επίσης, σε καλά σχεδιασμένες μελέτες φαίνεται συσχέτιση των τεχνικών ART και με το χαμηλό και πολύ χαμηλό βάρος γέννησης όπως και με την προωρότητα (Jackson et al 2004, Helmerhorst et al 2004, Schieve et al 2005). Προηγουμένως, οι Bonduelle et al δημοσίευσαν το 2002 τα αποτελέσματα από μελέτη 2889 παιδιών που γεννήθηκαν στο Βέλγιο μετά από ICSI (1991-1999) και 2995 παιδιών από IVF (1983-1999). Η μελέτη περιορίστηκε σε παιδιά που προέρχονταν από φρέσκα μόνο έμβρυα. Τα στοιχεία που συγκεντρώθηκαν προέρχονταν από τα κέντρα της εξωσωματικής, την παρακολούθηση της κύησης, τις μαιευτικές και νεογνολογικές μονάδες και τους υπεύθυνους ιατρούς. Τα δεδομένα διασταυρώνονταν σε ηλικία 2 μηνών και με πληροφορίες από τους γονείς και από φυσική κλινική εξέταση. Όσο αφορά στην προωρότητα, βρέθηκε ελάχιστα υψηλότερη στην ομάδα των ICSI (31.8%) έναντι της IVF (29.3%). Αξιολογώντας παράλληλα το βάρος γέννησης των παιδιών αυτών, οι Bonduelle et al κατέγραψαν ποσοστό 26.5% και 26.7% χαμηλού βάρους γέννησης (<2500g) σε παιδιά από IVF και ICSI αντιστοίχως.

Ως προς τα σωματομετρικά στοιχεία, οι Pinborg et al (2004) σε μελέτη 3438 διδύμων και 5164 παιδιών από μονήρεις κυήσεις (φυσικές και μετά από IVF/ICSI) που γεννήθηκαν στο διάστημα 1995-2000 στη Δανία, διαπίστωσαν ότι το μέσο βάρος γέννησης ήταν σημαντικά χαμηλότερο στην ομάδα IVF/ICSI, ενώ

σημαντικά υψηλότερος ήταν ο κίνδυνος για χαμηλό βάρος γέννησης και προωρότητα στα δίδυμα από IVF/ICSI, ακόμα και μετά την εξομάλυνση για παράγοντες όπως η ηλικία της μητέρας. Ωστόσο, όταν η εξομάλυνση αφορούσε από κοινού την ηλικία της μητέρας και τον αριθμό του τόκου, οι παραπάνω διαφορές εξαλείφθηκαν και παραδόξως τα IVF/ICSI δίδυμα είχαν ακόμα και χαμηλότερο κίνδυνο για χαμηλό βάρος γέννησης <2500g, σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου. Στο σημείο αυτό, αξίζει να σημειωθεί ότι ακόμα και στο γενικό πληθυσμό, ο κίνδυνος προωρότητας είναι 5πλάσιος στους διδύμους συγκριτικά με τις μονήρεις κυήσεις, και το 50% των διδύμων είναι χαμηλού βάρους γέννησης (<2500g) συγκριτικά με το 6% μόνο των παιδιών από μονήρη κύηση (Liu & Blair 2002, Basatemur & Sutcliffe 2008).

Διαφωτιστική είναι η μελέτη των Poikkeus et al (2007) οι οποίοι επικεντρώθηκαν στην εκτίμηση της νεογνολογικής έκβασης 269 παιδιών που γεννήθηκαν μετά από μεταφορά ενός εμβρύου στα πλαίσια IVF (SET, Single Embryo Transfer) καθώς και 15037 παιδιών από φυσικές συλλήψεις. Μετά από εξομάλυνση ως προς την ηλικία της μητέρας, τον τόκο και κοινωνικο-οικονομικούς παράγοντες, διαπιστώθηκε ότι τα παιδιά από IVF/SET είχαν αυξημένο κίνδυνο να γεννηθούν πρόωρα (OR 2.85 με 95% CI 1.96–4.16) αλλά και με χαμηλότερο βάρος γέννησης, σε σχέση με την ομάδα ελέγχου των παιδιών από φυσική σύλληψη (OR 2.01 με 95% CI 1.19–3.99).

Η συνολική συχνότητα αυτόματης αποβολής στις κυήσεις IVF/ICSI εκτιμήθηκε από τους Tummers et al (2003) σε σύνολο 1597 κλινικά διαγνωσμένων κυήσεων IVF/ICSI, την περίοδο 1993-2000 στο Βέλγιο. Το ποσοστό της αυτόματης αποβολής υπολογίστηκε σε 21.7% για τις μονήρεις κυήσεις, σε 17.1% για τις δίδυμες κυήσεις (εκ των οποίων το 12.1% αντιστοιχούσε σε vanishing twin φαινόμενο και το 5.0% σε πλήρεις αποβολές). Για την ερμηνεία των αποτελεσμάτων αυτών, οι Tummers et al επισημαίνουν ότι ο κίνδυνος στο γενικό πληθυσμό για αυτόματη αποβολή στο πρώτο τρίμηνο της εγκυμοσύνης είναι 10-20%, με πτωτική τάση προϊούσης της κύησης, και ένας λόγος που δεν μπορεί να υπολογιστεί με ακρίβεια το ποσοστό αυτό είναι ότι

αρκετές αποβολές συμβαίνουν πριν καν διαπιστωθεί η εγκυμοσύνη. Αντιθέτως, σύμφωνα με τους ερευνητές, στις κυήσεις από IVF/ICSI η παρακολούθηση ξεκινά από την αρχή, γεγονός που, σε συνδυασμό με την κατά μέσο όρο 3-5 έτη μεγαλύτερη ηλικία των μητέρων αυτής της ομάδας και τη συνακόλουθη γήρανση των γαμετών, οδηγεί στο ελαφρώς υψηλότερο εκτιμώμενο ποσοστό αυτόματων αποβολών. Στη συγκεκριμένη δημοσίευση, τονίζεται επίσης ότι οι δίδυμες κυήσεις IVF/ICSI εμφανίζουν καλύτερη δυναμική επιβίωσης συγκριτικά με τις φυσικές συλλήψεις, γεγονός που αντικατοπτρίζεται στα ποσοστά αποβολών ανά εμβρυϊκό σάκο τα οποία είναι μικρότερα από τις μονήρεις κυήσεις (Tummers et al 2003).

Όσο αφορά στην περιγεννητική θνησιμότητα, σε μελέτη στη Δανία, τα δίδυμα IVF ήταν διπλάσια αυτής των singletons IVF αλλά δεν υπήρχε στατιστική διαφορά μεταξύ διδύμων φυσικής και εξωσωματικής σύλληψης (Pinborg 2004). Στην ίδια μελέτη δεν διαπιστώθηκε διαφορά ως προς τη θνησιμότητα ($P=0.3$) κατά τη νεογνική περίοδο ή τη συχνότητα αποβολών ($P=0.2$) μεταξύ των διδύμων IVF/ICSI και αυτών από φυσικές συλλήψεις. Η συνολική θνησιμότητα κατά τη βρεφική ηλικία ήταν σημαντικά χαμηλότερη στα παιδιά IVF/ICSI συγκριτικά με εκείνα των φυσικών συλλήψεων ($P=0.04$), αλλά δεν υπήρχε καμιά διαφορά αυτής της μορφής όταν εκτιμήθηκαν ξεχωριστά τα δίδυμα διαφορετικού φύλου των δυο ομάδων (Pinborg 2004). Αντίθετα, σε παλαιότερη μελέτη από το Βέλγιο, των Bonduelle et al (2002) σε μεγάλο αριθμό παιδιών από IVF ή ICSI διαπιστώθηκε ότι η συνολική βρεφική θνησιμότητα (μέχρι την ηλικία των 2 μηνών) ήταν σημαντικά αυξημένη στην πρώτη ομάδα (1.73% έναντι 0.53%, $P<0.001$) και μάλιστα ειδικά στη νεογνική περίοδο τα αντίστοιχα ποσοστά ήταν 1.02% και 0.19%.

Αξίζει να σημειωθεί ότι δεν έχουν διαπιστωθεί διαφορές ως προς τη συχνότητα των μαιευτικών και νεογνολογικών επιπλοκών ανάμεσα στις δυο μεθόδους IVF και ICSI. Αναλυτικότερα, σε σύγκριση 216 διδύμων κυήσεων μετά από IVF/ICSI με 377 φυσικές δίδυμες κυήσεις, οι Shebl et al (2008) διαπίστωσαν αρχικά ότι η πρώτη ομάδα είχε σημαντικά αυξημένη συχνότητα για παιδιά

λιποβαρή- SGA (Small for Gestational Age) σε σχέση με την ομάδα ελέγχου, ενώ αυξημένη ήταν επίσης και η συχνότητα καισαρικών τομών στην ομάδα των IVF/ICSI. Αντίθετα, μεταξύ των δυο ομάδων, δεν διαπιστώθηκε διαφορά ως προς τη μέση ηλικία κυήσεως, την προωρότητα, το βάρος γέννησης και τη συχνότητα του χαμηλού και του πολύ χαμηλού βάρους γέννησης.

Δεδομένου ότι οι πολύδυμες κυήσεις, ως ανεξάρτητος αιτιολογικός παράγοντας, προδιαθέτουν για τις προαναφερθείσες μαιευτικές και περιγεννητικές επιπλοκές, γίνεται προσπάθεια παγκοσμίως να μειωθεί ο αριθμός των μεταφερόμενων εμβρύων ανά κύκλο IVF/ICSI. Σε αυτό συνηγορούν τα αποτελέσματα από μια σκανδιναβική μελέτη που έδειξε ότι η εφαρμογή της SET (Single Embryo Transfer) ενώ μειώνει στο 5% τη συχνότητα των πολύδυμων κυήσεων, διατηρεί το ποσοστό επιτυχούς εμφύτευσης στο 30-40%, και παράλληλα οδηγεί σε σημαντική μείωση της προωρότητας, του χαμηλού βάρους γέννησης και των παιδιατρικών επιπλοκών στα παιδιά αυτά σε σχέση με αυτά από DET (Dual Embryo Transfer) (Bergh et al 2005, Kjellberg et al 2006).

Θα πρέπει όμως να διευκρινιστεί ότι ενώ η IVF/ICSI είναι σαφώς συνυφασμένες με πολυδυμία, ο περιορισμός των πολύδυμων κυήσεων με την χρήση αυστηρών κριτηρίων ως προς τον αριθμό των μεταφερόμενων εμβρύων, αναμένεται βεβαίως να μειώσει αλλά όχι και να εξαλείψει τελείως τον αυξημένο κίνδυνο για επιπλοκές στα παιδιά από IVF/ICSI. Χαρακτηριστικά, σε μελέτες παιδιών από μονήρεις κυήσεις IVF/ICSI βρέθηκε ότι ακόμα και σε αυτή την ομάδα ο κίνδυνος προωρότητας, χαμηλού βάρους γέννησης, νεογνικής θνητότητας και νοσηρότητας εξακολουθούσε να ήταν αυξημένος συγκριτικά με τις φυσικές συλλήψεις (Helmerhorst et al 2004, Jackson et al 2004, McDonald et al 2005).

5.2. ΝΟΣΗΡΟΤΗΤΑ ΚΑΙ ΘΝΗΣΙΜΟΤΗΤΑ

Η IVF συνδυάζεται με πολύδυμες κυήσεις καθώς και με προωρότητα. Και οι δυο αυτές καταστάσεις είναι πιθανό να επηρεάζουν τη νοσηρότητα

(morbidity) στα παιδιά που γεννιούνται από εξωσωματική γονιμοποίηση. Διάφορες μελέτες συνηγορούν σε αυτό το συμπέρασμα.

Το 2002, οι Ericson et al στη Σουηδία δημοσίευσαν τα αποτελέσματα της μελέτης τους που αφορούσε σε 9056 ζώντα παιδιά από IVF και σε 1.417.166 παιδιά που γεννήθηκαν με φυσική σύλληψη συνολικά κατά τη χρονική περίοδο 1984-1998. Από τα παιδιά της πρώτης ομάδας, ένα ποσοστό 1.7% (σύνολο 156) απεβίωσαν πριν το τέλος του 1998. Η ανάγκη για νοσηλεία των παιδιών από εξωσωματική γονιμοποίηση ήταν σημαντικά υψηλότερη (odd ratio ~3) και μάλιστα όσο αφορά στη νεογνική περίοδο, αλλά αυξημένα odd ratios (1.2-1.3) διαπιστώθηκαν και για τις ηλικίες μέχρι 6 ετών. Επιπλέον, καταγράφηκε στατιστικά σημαντικά αυξημένη συχνότητα νοσηλείας για προβλήματα νευρολογικά [όπως η εγκεφαλική παράλυση (1.7) και η επιληψία (1.5)], για συγγενείς ανωμαλίες (1.8), για όγκους (1.6), άσθμα (1.4) και διάφορες λοιμώξεις (1.4). Ωστόσο, δεν διαπιστώθηκε αυξημένος κίνδυνος για εμφάνιση καρκίνου της παιδικής ηλικίας, όταν περισσότερα δεδομένα χρησιμοποιήθηκαν. Η αυξημένη συχνότητα νοσηρότητας σε παιδιά από IVF αποδόθηκε εν μέρει μόνο σε θέματα όπως η πολυδυμία και η προωρότητα, αφού ακόμα και όταν η μελέτη επικεντρωνόταν σε τελειόμηνα νεογνά, η υπεροχή της ομάδας εξωσωματικής, ως προς τις συγκεκριμένες παραμέτρους, δεν εξαλειφόταν. Τονίζεται ακόμα ότι οι γονεϊκοί παράγοντες υπογονιμότητας και ειδικότερα η διάρκεια της περιόδου που το ζευγάρι δεν έχει αποκτήσει παιδί ενώ το επιδιώκει φάνηκε ότι συνιστούν έναν ανεξάρτητο παράγοντα που επηρεάζει τη συχνότητα παραπομπής και νοσηλείας ενός παιδιού από εξωσωματική γονιμοποίηση.

Στη Φιλανδία επίσης, αυξημένη νοσηρότητα όπως και θνησιμότητα σε παιδιά από IVF διαπιστώθηκε από τους Koivurova et al (2003) στη μελέτη 299 παιδιών αυτής της ομάδας και 558 παιδιών ομάδας ελέγχου. Η μελέτη αφορούσε μέχρι και την ηλικία των 3 ετών. Η θνησιμότητα ήταν διπλάσια στην ομάδα IVF συγκριτικά με την αναμενόμενη για τα Φινλανδικά δεδομένα (13.1/1000 γεννήσεις ζώντων στην ομάδα IVF έναντι της 5.2/1000 γεννήσεις ζώντων στο γενικό πληθυσμό). Ο κίνδυνος για υπολειπόμενο βάρος και ύψος

(κάτω από την 3^η εκατοστιαία θέση) κατά τον 1^ο όπως και κατά τον 2^ο χρόνο της ζωής στα παιδιά από IVF παρουσίαζε στατιστικά σημαντική αύξηση σε σχέση με την ομάδα ελέγχου. Αυξημένος επίσης ήταν και ο συνολικός κίνδυνος για διάφορες ασθένειες στην ομάδα των παιδιών IVF μέχρι την ηλικία των 3 ετών και ιδίως για τις παθήσεις του αναπνευστικού συστήματος και τις γαστρεντερίτιδες, αλλά το εύρημα αυτό δεν επιβεβαιωνόταν όταν η σύγκριση αφορούσε μόνο σε παιδιά και των δυο ομάδων από δίδυμες κυήσεις. Γενικό συμπέρασμα ήταν ότι μετά τη νεογνική περίοδο και μέχρι την ηλικία των 3 ετών, η σωματική αλλά όχι η ψυχοκινητική υγεία των παιδιών IVF υπολειπόταν συγκριτικά με τα παιδιά από φυσικές συλλήψεις, κάτι που αποδίδεται ως ένα βαθμό και στα περιγεννητικά προβλήματα των παιδιών αυτών.

Αντίστοιχα συμπεράσματα εξήχθησαν όταν, στον ίδιο πληθυσμό, οι Koivumona et al (2007) συνέχισαν την παραπάνω μελέτη μέχρι την ηλικία των 7 ετών, σε 303 παιδιά από IVF. 567 παιδιά αποτέλεσαν την ομάδα ελέγχου, η οποία είχε επιλεγεί κατάλληλα ως προς επιμέρους χαρακτηριστικά, όπως το φύλο, η πολυδυμία και ως προς διάφορους κοινωνικο-οικονομικούς παράγοντες. Χαρακτηριστικό ωστόσο ήταν ότι δεν βρέθηκαν διαφορές ως προς τη νοσηρότητα ανάμεσα σε παιδιά από δίδυμες (IVF ή φυσικές) κυήσεις. Ενώ, όπως και σε άλλες μελέτες, η νοσηλεία για εγκεφαλική παράλυση, άσθμα ρευματοειδή αρθρίτιδα και λοιμώξεις ήταν στην ομάδα των παιδιών από IVF υψηλότερη, δεν ήταν δυνατό να εξαχθεί στατιστικά σημαντικό αποτέλεσμα λόγω του μικρού δείγματος.

Το 2004 οι Pinborg et al, από τη Δανία, δημοσίευσαν τα αποτελέσματα μελέτης 3438 διδύμων από IVF/ICSI και 10362 διδύμων από φυσικές συλλήψεις, για την περίοδο 1995-2000. Δεν διαπιστώθηκαν διαφορές ως προς τις ανωμαλίες και τα ποσοστά θνησιμότητας μεταξύ των δυο ομάδων, παρά τις συχνότερες παραπομπές για νοσηλεία σε νεογνολογική μονάδα των παιδιών από IVF/ICSI, φαινόμενο που ήταν ακόμα πιο έντονο όταν επρόκειτο για διδύμους διαφορετικού φύλου. Συγκεκριμένα, η συχνότητα των νοσηλευθέντων παιδιών για τα δίδυμα IVF/ICSI, τα δίδυμα της ομάδας ελέγχου και τα παιδιά

IVF/ICSI από μονήρεις κυήσεις ήταν αντίστοιχα 69.8%, 69.6% και 49.8%, ενώ των παιδιών που υποβλήθηκαν σε χειρουργική επέμβαση ήταν 10.6%, 11.2% και 8.5%. Ειδικά ως προς τα τελειόμηνα, τα δίδυμα IVF/ICSI νοσηλεύονταν πιο συχνά από αυτά των μονήρων κυήσεων IVF/ICSI, ενώ πιο συχνές ήταν και οι χειρουργικές επεμβάσεις στα δίδυμα IVF/ICSI συγκριτικά με αυτά των μονήρων κυήσεων IVF/ICSI, αλλά αυτή η παρατήρηση εξαλειφόταν όταν ο έλεγχος περιοριζόταν μόνο σε μονήρεις IVF/ICSI κυήσεις. Διαφορές μεταξύ των δυο μεθόδων της υποβοηθούμενης αναπαραγωγής ή και μεταξύ των δυο φύλων δεν διαπιστώθηκαν.

5.3. ΣΥΓΓΕΝΕΙΣ ΑΝΩΜΑΛΙΕΣ

Οι πρώτες ανησυχίες σχετικά με τη συσχέτιση των συγγενών ανωμαλιών και της εξωσωματικής γονιμοποίησης άρχισαν κατά τη δεκαετία του '90. Δεδομένης της μικρής συχνότητας των συγγενών ανωμαλιών στο γενικό πληθυσμό, που υπολογίζεται σε 3-4%, καθώς και των συνεχών εξελίξεων στις μεθόδους και στα χρησιμοποιούμενα πρωτόκολλα εξωσωματικής, οι περισσότερες μελέτες στερούνταν στατιστικής ισχύος όσο αφορά στην ανίχνευση αυξημένης συχνότητας συγγενών ανωμαλιών σε παιδιά από εξωσωματική γονιμοποίηση (Wilkins-Haug 2008). Εκτός αυτού, στις μελέτες που έχουν μέχρι σήμερα δημοσιευθεί, υπάρχουν διάφορα μεθοδολογικά προβλήματα όπως το μικρό δείγμα, ο διαφορετικός ορισμός των συγγενών ανωμαλιών, η μη ομοιογένεια των ομάδων, ο πρώιμος έλεγχος για τις συγγενείς ανωμαλίες π.χ. κατά τη νεογνική περίοδο κ.ά. (Wilkins-Haug 2008, Schieve et al 2005).

Ειδικότερα ως προς το δείγμα, χαρακτηριστικά αναφέρεται ότι για να διαπιστωθεί μια αύξηση της τάξεως του 1.5% (πάνω από το 3% της συχνότητας των συγγενών ανωμαλιών στο γενικό πληθυσμό), με στατιστική ισχύ 80%, *alpha* 5%, χρειάζονται περίπου 2511 παρατηρήσεις (Bonduelle et al 2002).

Αναλυτικότερα, σε κάποιες από τις σχετικές με τις συγγενείς ανωμαλίες μελέτες παρουσιάζεται τάση για ψευδώς αρνητικό αποτέλεσμα π.χ. κατηγοριοποιώντας σε ευρείες, ανομοιογενείς ομάδες. Σε άλλες πάλι συμβαίνει

το αντίθετο, δηλαδή εμφανίζεται τάση για ψευδώς θετικό αποτέλεσμα π.χ. με το να ακολουθείται διαφορετικό follow-up μεταξύ των ομάδων ART και non-ART. Κατά βάση, το κυριότερο πρόβλημα στην αξιολόγηση της συσχέτισης των μεθόδων υποβοηθούμενης αναπαραγωγής με τις συγγενείς ανωμαλίες είναι η δυσκολία να συγκεντρωθεί ένα επαρκές δείγμα, η αδυναμία να συνυπολογιστούν διακοπές κυήσεων που μπορεί να οφείλονται στην προγεννητική διαπίστωση συγγενούς ανωμαλίας, αλλά και η δυσκολία στον αποκλεισμό άλλων παραγόντων που μπορεί να συνυπάρχουν και να τροποποιούν συστηματικά τα αποτελέσματα (Schieve et al 2005). Οι μεθοδολογικοί περιορισμοί μπορεί να οδηγούν σε μεγάλη απόκλιση των ευρημάτων ως προς τη συχνότητα, που κυμαίνεται από 25 έως 115 ανά 1,000 IVF δίδυμα. (Pinborg 2005). Συνολικά, τα αποτελέσματα των διαφόρων μελετών εξακολουθούν να είναι αντικρουόμενα ως προς τη συσχέτιση της υποβοηθούμενης αναπαραγωγής με τις συγγενείς ανωμαλίες, αλλά τα όλο και αυξανόμενα δεδομένα συνηγορούν υπέρ μιας πιθανής θετικής συσχέτισης. (Schieve et al 2005).

Συνεπώς, διαπιστώνεται ότι γενικά χρειάζονται πολύ καλά οργανωμένες και πολυπληθείς μελέτες για να εξαχθούν στατιστικώς σημαντικά συμπεράσματα σχετικά με τον αυξημένο ή όχι κίνδυνο εμφάνισης συγγενών ανωμαλιών σε παιδιά από εξωσωματική γονιμοποίηση σε σχέση με το γενικό πληθυσμό. Έχοντας υπόψιν τους περιορισμούς των μέχρι τώρα μελετών, θα γίνει ακολούθως αναφορά σε κάποιες χαρακτηριστικές εξ αυτών καθώς και σε ανασκοπήσεις ή μετα-αναλύσεις των μέχρι τώρα δημοσιευμένων ερευνών.

Μια από τις πιο καλά σχεδιασμένες μελέτες ήταν αυτή των Ericson & Källén (2001) στη Σουηδία σε δείγμα 9111 παιδιών που γεννήθηκαν μετά από IVF κατά την περίοδο 1982-1997. Ομάδα ελέγχου αποτέλεσαν 1.690.577 παιδιά από φυσική σύλληψη του γενικού πληθυσμού που γεννήθηκαν στο διάστημα αυτό. Στη μελέτη ο ορισμός των συγγενών ανωμαλιών βασίστηκε στο Κεφάλαιο 14 του ICD8/9 ή στο Κεφάλαιο 17 του ICD 10. Διαπιστώθηκε ότι ανωμαλίες που αφορούσαν στο πεπτικό σύστημα (ατρησία οισοφάγου, ατρησία λεπτού εντέρου

ή ορθού και ομφαλοκήλη) αλλά και αυτές του νευρικού σωλήνα (δισχιδής ράχη, ανεγκεφαλία) εμφανίζονταν με συχνότητα 3πλάσια σε κυήσεις από εξωσωματική γονιμοποίηση. Ειδικά όμως όσο αφορά στην περίπτωση της ομφαλοκήλης, οι Ericson & Källén υποστηρίζουν ότι παρά την στατιστική σημαντικότητα, το εύρημα μάλλον θα πρέπει να χαρακτηριστεί ως τυχαίο. Είναι επίσης χαρακτηριστικό ότι από τις 12 συνολικά περιπτώσεις ανωμαλιών του νευρικού σωλήνα που καταγράφηκαν, οι 9 παρατηρήθηκαν σε πολύδυμες κυήσεις, αν και προηγουμένως έχει περιγραφεί πιθανή επίδραση της ωοθηκικής διέγερσης με την εμφάνιση ανωμαλιών αυτού του είδους (Lancaster et al 2000). Τέλος, καμιά ανωμαλία του νευρικού σωλήνα δεν διαπιστώθηκε σε παιδιά από ICSI ενώ, χαρακτηριστικά αυξημένη ήταν η πιθανότητα εμφάνισης *υποσπαδία* σε παιδιά από ICSI: 36% (95% CI 19-56%) χωρίς όμως ο αυξημένος κίνδυνος να επιβεβαιώνεται και στο σύνολο των κλασικών IVF (Ericson & Källén 2001). Ωστόσο, οι επιστήμονες επισημαίνουν ότι, επειδή η αναλογία αρρένων/θηλέων μετά από ICSI διαφέρει ελαφρώς (0.96) από τη φυσιολογική αναλογία 1.06, ο αυξημένος κίνδυνος εμφάνισης υποσπαδία υποεκτιμάται, σε μικρό όμως βαθμό. Η ειδική συσχέτιση της συγκεκριμένης ανωμαλίας με την μέθοδο ICSI μπορεί να αποδοθεί, σύμφωνα με τους ίδιους αλλά και άλλους συγγραφείς, ενδεχομένως σε αίτια πατρικής υπογονιμότητας που άλλωστε αποτελούν και ειδική ένδειξη για την εφαρμογή της εν λόγω τεχνικής (Wennerholm et al 2000, Ericson & Källén 2001).

Οι καρδιακές συγγενείς ανωμαλίες, που αποτελούν επίσης και τη συχνότερη κατηγορία συγγενών ανωμαλιών, μελετήθηκαν στη Βόρεια Φινλανδία, σε πληθυσμό 304 παιδιών από IVF και 569 παιδιών από φυσικές συλλήψεις -στανταρισμένων εκτός των άλλων και για την ηλικία της μητέρας- που αποτέλεσαν την ομάδα ελέγχου, από τους Koivurova et al (2002). Παρατηρήθηκε ότι οι συγγενείς καρδιοπάθειες έχουν συχνότητα τετραπλάσια στην ομάδα των παιδιών από IVF αλλά η διαφορά δεν ήταν τόσο μεγάλη όταν η μελέτη επικεντρωνόταν σε μονήρεις κυήσεις (OR 3.0 95% CI 0.5-18.0) και αντίθετως δεν διαπιστώθηκε σε διδύμους (O.R 0.8 95% CI 0.2-3.4). Σε αντίθεση

με άλλες μελέτες δεν διαπιστώθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά όσο αφορά σε άλλες συγγενείς ανωμαλίες, συμπεριλαμβανομένου του ΚΝΣ και των άκρων. Στην ίδια μελέτη, 20 από τα παιδιά της πρώτης ομάδας και 25 από τη δεύτερη (ποσοστό 6.6% έναντι του 4.4% της ομάδας ελέγχου) εμφάνισαν συγγενή ανωμαλία/σύνδρομο. Το υψηλό ποσοστό 6.6% σε σχέση με αντίστοιχο άλλων μελετών, αποδίδεται ενδεχομένως στο ότι η καταγραφή των συγγενών ανωμαλιών δεν περιορίστηκε στην νεογνική και βρεφική περίοδο αλλά επεκτάθηκε και μέχρι την ηλικία των 3 ετών. Είναι αξιοσημείωτο ότι η συχνότητα των συγγενών ανωμαλιών συνδεόταν ισχυρά με το αρρεν φύλο στην ομάδα ελέγχου (21 αρρενα, 4 θήλεα) ακόμα και όταν αποκλείονταν από την ανάλυση ανωμαλίες του ουροποιογεννητικού συστήματος. Οι Koivumona et al επισημαίνουν ότι στη συγκεκριμένη μελέτη επειδή οι μητέρες των παιδιών της ομάδας ελέγχου είχαν επιλέγει να ταιριάζουν με την ηλικία των μητέρων της πρώτης ομάδας (αυξημένη) μπορεί οι πραγματικές διαφορές ως προς τις συχνότητες στο γενικό πληθυσμό να είναι ακόμα υψηλότερες.

Οι Hansen et al το 2002 δημοσίευσαν μια καλά οργανωμένη από στατιστικής απόψεως μελέτη, σχετικά με τη συχνότητα των μείζονων συγγενών ανωμαλιών στο γενικό πληθυσμό της Αυστραλίας. Διαπιστώθηκε διπλάσια συχνότητά τους σε παιδιά που γεννήθηκαν μετά από ART τεχνικές σε σχέση με αυτά από φυσικές συλλήψεις. Το εύρημα εξακολουθούσε να είναι σταθερό και όταν στη στατιστική ανάλυση ελήφθησαν υπόψιν διάφορες υποκατηγορίες. Η αυξημένη συχνότητα δεν φάνηκε να σχετίζεται έμμεσα με τη μέθοδο ICSI. Μια αξιοσημείωτη διαπίστωση ήταν ότι ενώ το ποσοστό των πολλαπλών συγγενών στον πληθυσμό ελέγχου ήταν 0.5%, σε παιδιά από ART ανερχόταν σε 2.0% και στην ICSI στο 1.6%. Ακόμα όμως και αυτά τα αποτελέσματα δεν μπορούσαν με βεβαιότητα να αποδοθούν αποκλειστικά στην εξωσωματική γονιμοποίηση.

Οι ίδιοι επιστήμονες το 2005 δημοσίευσαν μια μελέτη ανασκόπησης και μετα-ανάλυσης μελετών από το 1978 μέχρι τον Μάρτιο του 2003, σχετικά με τη συχνότητα συγγενών ανωμαλιών στην εξωσωματική γονιμοποίηση. Επτά ανεξάρτητοι επιστήμονες αξιολόγησαν τα άρθρα αυτής της περιόδου και τελικά

Βρέθηκαν 25 μελέτες που πληρούσαν τα στατιστικά κριτήρια που είχαν τεθεί. Στα 2/3 των ερευνών αυτών είχε διαπιστωθεί αυξημένη συχνότητα (κατά 25%) εμφάνισης συγγενών ανωμαλιών στα παιδιά από εξωσωματική σε σχέση με τις φυσικές συλλήψεις. Από αυτές τις 25 μελέτες, όμως, λόγω μεθοδολογικών προβλημάτων, μόνο 7 αξιολογήθηκαν ως «υψηλής ποιότητας» και μετα-αναλύθηκαν ποσοτικά από την ομάδα των επιστημόνων. Προέκυψε ότι ο κίνδυνος εμφάνισης συγγενών ανωμαλιών σε παιδιά από εξωσωματική ήταν κατά 30-40% αυξημένος σε σχέση με φυσικές συλλήψεις, ενώ το παραπάνω εύρημα διαπιστώθηκε και όταν στη μετα-ανάλυση εξετάζονταν μόνο οι μείζονες ανωμαλίες, μόνο παιδιά από μονήρεις κυήσεις και μόνο IVF και ICSI. Το pooled odd ratio 1.40 (95% CI 1.28-1.53) έδειξε σημαντικά αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης συγγενών ανωμαλιών μετά από εξωσωματική, κάτι που ίσχυε και όταν παρέλειψαν την μελέτη των Ericson & Kallen 2001) που συνέβαλε στις επτά αυτές μελέτες κατά ποσοστό 72.8% (Hansen et al 2005).

Πρόσφατα, οι Reefhuis et al (2009) στις Η.Π.Α συγκέντρωσαν στοιχεία από το National Birth Defects Prevention Study- το εθνικό κέντρο πρόληψης συγγενών ανωμαλιών- για το χρονικό διάστημα Οκτώβριος 1997 μέχρι Δεκέμβριο 2003. Τα στοιχεία για τις συγγενείς ανωμαλίες στα παιδιά που γεννιούνται συνήθως καταγράφονται μέχρι τον πρώτο χρόνο ζωής και σπανιότερα σε μεγαλύτερες ηλικίες (2,3 και 6 ετών). Οι μητέρες των παιδιών με συγγενείς ανωμαλίες εκλήθησαν να απαντήσουν και το ποσοστό συμμετοχής ήταν υψηλό (της τάξης του 70%). Οι ομάδες των παιδιών διακρίθηκαν σε παιδιά από φυσική σύλληψη και σε αυτά από εξωσωματική, ενώ έγινε πολυπαραγοντική ανάλυση των δεδομένων και πάντα σε σχέση με μονήρεις ή πολύδυμες κυήσεις, αφού οι τελευταίες επίσης σχετίζονται με συγγενείς ανωμαλίες. Διαπιστώθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση σε παιδιά από μονήρεις κυήσεις, μετά από εξωσωματική, με το τμήμα μεσοκοιλιακού διαφράγματος (OR 2.1 95% CI 1.1-4.0), το τμήμα μεσοκολπικού και μεσοκοιλιακού διαφράγματος (OR 2.8 95% CI 1.2-7.0), τη χειλεοσχιστία με/χωρίς υπερωοσχιστία (OR 2.4 95% CI 1.2-5.1), την ατρησία οισοφάγου (OR

4.5 95% CI 1.9-10.5), την ατρησία ορθού-πρωκτού (OR 3.7 95% CI 1.5-9.1) καθώς και με τον υποσπαδία (OR 2.1 95% CI 0.9-5.2). Δεν διαπιστώθηκε, όμως, στατιστικά σημαντική συσχέτιση με τις παραπάνω συγγενείς ανωμαλίες στις πολύδυμες κυήσεις όταν αυτές ήταν αποτέλεσμα εξωσωματικής γονιμοποίησης. Ειδικά όσο αφορά στον υποσπαδία οι επιστήμονες εικάζουν ότι ίσως αυτός να συνδέεται περισσότερο με παράγοντες υπογονιμότητας του ζεύγους παρά με την εξωσωματική γονιμοποίηση αυτή καθ'εαυτή.

Οι προηγούμενες μελέτες αφορούσαν κυρίως σε συγκρίσεις παιδιών φυσικών και εξωσωματικών κυήσεων. Ένα ερώτημα που εύλογα προκύπτει είναι κατά πόσο το είδος της μεθόδου υποβοηθούμενης αναπαραγωγής προδιαθέτει για συγγενείς ανωμαλίες. Το 2002 οι Bonduelle et al στο Βέλγιο δημοσίευσαν τα αποτελέσματα μελέτης σε 2889 παιδιά από ICSI (1991-1999) και σε 2995 παιδιά από IVF (1983-1999), με σκοπό τη διαπίστωση τυχόν στατιστικά σημαντικής διαφοράς μεταξύ των δυο μεθόδων υποβοηθούμενης αναπαραγωγής ως προς τις μείζονες συγγενείς ανωμαλίες. Ως μείζονες χαρακτηρίστηκαν οι συγγενείς ανωμαλίες που προκαλούν λειτουργική ανικανότητα ή/και χρήζουν χειρουργικής αποκατάστασης. Έχοντας επιτύχει στατιστική ισχύ της μελέτης της τάξεως του 85% για δυνατότητα ανίχνευσης διαφοράς στη συχνότητα συγγενών ανωμαλιών κατά 1.5% και αντίστοιχα στατιστική ισχύ 90% για διαφορά 2%, οι ερευνητές διαπίστωσαν ότι η συχνότητα των συγγενών ανωμαλιών στην υποβοηθούμενη αναπαραγωγή δεν σχετίζεται με το είδος της εφαρμοζόμενης μεθόδου. Αναλυτικότερα, στη μελέτη αυτή η συχνότητα εμφάνισης συγγενών ανωμαλιών σε γεννημένα παιδιά ICSI ήταν 3.4% και αντίστοιχα σε γεννημένα παιδιά από IVF ήταν 3.8% ($P=0.538$). Ακόμα και μετά την στατιστική επεξεργασία όλων των συγγενών ανωμαλιών σε όλες τις κυήσεις (συμπεριλαμβανομένων αποβολών, διακοπών ή ολοκληρωμένων κυήσεων) τα αντίστοιχα ποσοστά εμφάνισης συγγενών ανωμαλιών ήταν 4.2% και 4.6% ($P=0.48$). Σε ανάλογα συμπεράσματα οδηγήθηκαν και οι Oldereid et al (2003) σε μελέτη στη Νορβηγία συγγενών ανωμαλιών σε 1731 παιδιά από IVF και 553 παιδιά από ICSI. Τα αντίστοιχα ποσοστά εμφάνισης ήταν 5.14% και

5.42% για όλες τις συγγενείς ανωμαλίες και 3.00% και 3.07% όσο αφορά στις μείζονες συγγενείς ανωμαλίες. Ακόμα και σε πιο πρόσφατες μελέτες, διαφορές μεταξύ των δυο μεθόδων ως προς την εν λόγω παράμετρο δεν διαπιστώθηκαν (Pinborg et al 2005, Lie et al 2005, Klemetti et al 2005, Olson et al 2005, Zhu et al 2006, Buckett et al 2007).

Πέρα από τη γενική αυτή διαπίστωση, οι Bonduelle et al (2002) επιδίωξαν με τη μελέτη τους, να διερευνήσουν τυχόν διαφορές ως προς τη συχνότητα των συγγενών ανωμαλιών ανάλογα με τον τρόπο λήψης-προέλευση του χρησιμοποιούμενου σπέρματος (από εκσπερμάτιση, από μη-εκσπερμάτιση, χρήση σπέρματος ληφθέντος από όρχεις ή από επιδιδυμίδα). Επιπλέον αξιολογήθηκαν παράμετροι του σπέρματος όπως αριθμός σπερματοζωαρίων μικρότερος ή όχι του 5.000.000/ml και συγκεντρώσεις μικρότερες ή μεγαλύτερες των 20×10^6 /ml. Σε καμία από αυτές τις επιμέρους ομάδες δεν βρέθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά ως προς τη συχνότητα εμφάνισης συγγενών ανωμαλιών στα παιδιά που γεννήθηκαν. Η μόνη παράμετρος που φάνηκε να οδηγεί σε στατιστικά σημαντική αύξηση ($P=0.028$) της εν λόγω συχνότητας ήταν η κινητικότητα του σπέρματος $<50\%$.

Το 2005 Klemetti et al δημοσίευσαν τα αποτελέσματα της μελέτης του ποσοστού συγγενών ανωμαλιών σε παιδιά που γεννήθηκαν με διάφορες μεθόδους IVF/ART κατά την περίοδο 1996-1998 στη Φινλανδία. Τα στοιχεία συγκεντρώθηκαν από το φινλανδικό Medical Birth Register. Το δείγμα αποτελούσαν 4559 IVF, 4467 παιδιά από άλλες μεθόδους ART και 27.078 παιδιά από φυσική σύλληψη. Από τη στατιστική ανάλυση των συγγενών ανωμαλιών στις παραπάνω ομάδες, βρέθηκε ότι ο κίνδυνος εμφάνισής τους ήταν αυξημένος στην ομάδα IVF (OR 1.3 95% CI 1.1-1.6) αλλά και στις υπόλοιπες ART συγκριτικά με την ομάδα ελέγχου των παιδιών από φυσική σύλληψη ακόμα και μετά την εξομάλυνση για την ηλικία της μητέρας και άλλους πιθανούς παράγοντες. Ο συνολικός κίνδυνος στα παιδιά IVF ήταν στατιστικά σημαντικά υψηλότερος συγκριτικά με την ομάδα φυσικής σύλληψης, το εύρημα όμως αυτό αφορούσε μόνο τις μονήρεις και όχι τις πολύδυμες κυήσεις. Ένα ενδιαφέρον εύρημα ήταν

ότι μετά από στατιστική επεξεργασία ως προς το φύλο, φάνηκε αυξημένος κίνδυνος μείζονων συγγενών ανωμαλιών στα αγόρια από μονήρεις και πολύδυμες κυήσεις IVF σε σχέση με τα κορίτσια της ίδιας ομάδας καθώς ότι και τα κορίτσια από πολύδυμες IVF κυήσεις είχαν μειωμένο κίνδυνο εμφάνισης συγγενών ανωμαλιών ως προς την ομάδα ελέγχου. Επιπλέον, στα αγόρια από μονήρεις IVF κυήσεις υπερετερούσαν ανωμαλίες που αφορούσαν στο ουροποιογεννητικό και μυοσκελετικό σύστημα, ενώ στα κορίτσια της ART ομάδας, συχνότερα απαντώμενες ήταν ανωμαλίες καρδιάς. Τέλος, στην ανάλυση των συγγενών ανωμαλιών κατά οργανικά συστήματα, διαπιστώθηκε ότι γενικά η ομάδα IVF διέτρεχε αυξημένο κίνδυνο συγγενούς ανωμαλίας ανεξάρτητα από το είδος/εντόπισή της σε σχέση με την ομάδα φυσικής σύλληψης. Ωστόσο, όταν η σύγκριση γινόταν ως προς την ομάδα ART, η IVF παρουσίαζε αυξημένη συχνότητα για ανωμαλίες «οφθαλμοί, ώτα, πρόσωπο, τράχηλος», «αναπνευστικό σύστημα», «ουροποιογεννητικό» και «μυοσκελετικό» σύστημα (Klemetti et al 2005) (Πίνακας 9).

Πίνακας 9. Συχνότητα συγγενών ανωμαλιών ανά εξεταζόμενο πληθυσμό παιδιών από μονήρεις κυήσεις

ΣΥΓΓΕΝΗΣ ΑΝΩΜΑΛΙΑ	ΠΑΙΔΙΑ ΑΠΟ ΜΟΝΗΡΕΙΣ ΚΥΗΣΕΙΣ							
	IVF (n = 2,930)			Άλλη μέθοδος ART (n = 3,926)			Ομάδα ελέγχου (n = 26,489)	
	n	/10,000	P ^b	n	/10,000	P ^b	n	/10,000
Οποιαδήποτε	125	427	<.001	138	352	.022	756	285
ΚΝΣ	9	31	.008	12	31	.003	31	12
Ωτα, οφθαλμοί, πρόσωπο, τράχηλος	12	41	.009	6	15	.693	48	18
Καρδιά	44	150	.042	59	150	.021	287	108
Υπόλοιπο κυκλοφορικό σύστημα	6	20	.740	12	31	.088	47	18
Αναπνευστικό	5	17	.284	5	13	.647	27	10
Υπερω/κείλεο-σχιστίες	12	41	.034	14	36	.076	56	21
Πεπτικό	14	48	.028	16	41	.083	67	25
Ουροποιογεννητικό	35	119	<.001	26	66	.150	129	49
Μυοσκελετικό	34	116	.004	30	76	.588	182	69
Δέρμα, τρίκες, νύχια	1	3	.533	2	5	.757	17	6
Χρωμοσωμικές ανωμαλίες	8	27	.304	7	18	.927	49	18
Λοιπά	12	41	.171	19	48	.020	71	27

Klemetti et al. Fertil Steril 2005; 84:1300-1307

Την ίδια χρονιά, οι Lie et al (2005) δημοσίευσαν μια μετα-ανάλυση 4 προοπτικών μελετών από ένα σύνολο 22 άρθρων που αρχικά επιλέχθηκαν και αφορούσαν στις συγγενείς ανωμαλίες παιδιών από ICSI συγκριτικά με παιδιά από IVF. Η ανάλυση επικεντρώθηκε σε 5 υποκατηγορίες συγγενών ανωμαλιών που αποτελούσαν και τις πιο συνηθισμένες: καρδιαγγειακές, μυοσκελετικές, υποσπαδίας, νευρικού σωλήνα και χειλο/υπερωοσχιστία (Πίνακας 10). Ο συνολικός κίνδυνος εμφάνισης μείζονος συγγενούς ανωμαλίας ήταν 1.12 φορές μεγαλύτερος σε παιδιά από ICSI (Risk Ratio 1.12, 95% CI 0.97-1.28, $P=0.12$). Στην στατιστική μετα-ανάλυση για κάθε υποκατηγορία ανωμαλίας διαπιστώθηκε ελάχιστη υπεροχή του Risk Ratio στην ομάδα ICSI. Το τεστ ετερογένειας (test heterogeneity) ήταν στατιστικά σημαντικό μόνο στην περίπτωση του υποσπαδία, αντικατοπτρίζοντας στην ουσία τις διαφορετικές τάσεις (tendencies) στις μελέτες των Ericson & Källén (2001) και Bonduelle (2002).

Πίνακας 10. Κατανομή είδους εμφανιζόμενων συγγενών ανωμαλιών σε παιδιά από IVF/ICSI

	ΑΡΙΘΜΟΣ ΠΑΙΔΙΩΝ ΑΝΑ ΚΑΤΗΓΟΡΙΑ ΣΥΓΓΕΝΟΥΣ ΑΝΩΜΑΛΙΑΣ											
	n παιδιών		Καρδιαγγειακή ανωμαλία		Μυοσκελετική ανωμαλία		Υποσπαδίας		ΚΝΣ		Χειλο-υπερωϊοσχιστίες	
	ICSI	IVF	ICSI	IVF	ICSI	IVF	ICSI	IVF	ICSI	IVF	ICSI	IVF
Ericson 2001	1652	7523	20	84	3	31	10	18	0	6	5	17
Bonduelle 2002	2889	2995	30	44	23	12	8	15	12	6	6	6
	301	837	4	15	10	28	1	7	0	3	1	2

Hansen 2002												
Oldereid 2003	553	1731	3	11	7	15	3	5	1	5	1	4

Lie et al. International Journal of Epidemiology 2005;34:696-701

Μεταγενέστερη μελέτη ανασκόπησης έδειξε ότι οι συγγενείς ανωμαλίες αφορούν πρακτικά σε όλα τα συστήματα με υπεροχή στο καρδιαγγειακό και στο ουροποιητικό και η συχνότητα είναι αυξημένη σε παιδιά από IVF (Κοίνυγονα 2002, Hansen et al 2002, Olson 2005, Wilkins-Haug 2008) (Πίνακες 11 και 12). Άλλες συγγενείς ανωμαλίες (ανεγκεφαλία, υδροκεφαλία, ανωμαλία σύγκλισης του νευρικού σωλήνα, ανωμαλίες πεπτικού) που είχαν περιγραφεί σε παλαιότερες μελέτες διδύμων από φυσική σύλληψη (Källén 1986) έχουν επίσης περιγραφεί στην IVF (Pinborg 2005).

Οι δίδυμες κυήσεις IVF/ICSI εμφανίζουν γενικά αυξημένη συχνότητα ανωμαλιών συγκριτικά με τις μονήρεις IVF/ICSI (Pinborg 2005), αλλά χωρίς διαφορά ανάμεσα στις δυο μεθόδους (Bonduelle et al 2002, Pinborg et al 2004, Lie et al 2005). Θα πρέπει στο σημείο αυτό να επισημανθεί και πάλι ότι είναι γνωστό ότι η συχνότητα των συγγενών ανωμαλιών είναι υψηλότερη σε πολύδυμες κυήσεις, ακόμα και όταν πρόκειται για φυσικές.

Ενδιαφέρον παρουσιάζει η πρόσφατη μελέτη των Belva et al (2008), με την οποία επιδιώχθηκε να διερευνηθεί η επίδραση της κρυοσυντήρησης του εμβρύου στην εμφάνιση συγγενών ανωμαλιών. Μελετήθηκαν με τη βοήθεια ερωτηματολογίου και κλινικής εξέτασης στην ηλικία των 2 μηνών, 547 παιδιά που προέκυψαν από ICSI με κρυοσυντηρημένα έμβρυα και 390 παιδιά IVF επίσης από έμβρυα σε κρυοσυντήρηση. Ομάδα ελέγχου αποτέλεσαν παιδιά από ICSI/IVF κυήσεις με εμφύτευση φρέσκων εμβρύων. Δεν διαπιστώθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ως προς παραμέτρους όπως το χαμηλό βάρος γέννησης ή την εμφάνιση χρωμοσωμικών ανωμαλιών μεταξύ των τριών

ομάδων. Ένα χαρακτηριστικό όμως εύρημα ήταν η διαπίστωση διπλάσιας σχεδόν συχνότητας εμφάνισης μείζονων συγγενών ανωμαλιών στην ομάδα cryo-ICSI (6.4%) συγκριτικά με την ομάδα cryo-IVF (3.1%) και την ομάδα fresh-ICSI (3.4%) (OR 1.96 95%CI 1.31-2.91). Στην ίδια μελέτη, διαπιστώθηκε στατιστικά μη σημαντική αύξηση στη συχνότητα εμφάνισης *de novo* χρωμοσωμικών ανωμαλιών στην ομάδα cryo-ICSI παιδιών σε σχέση με αυτήν των fresh-ICSI παιδιών (3.2% έναντι 1.7% με OR 1.96 95% CI 0.92-4.14).

Πίνακας 11. Συχνότητα και είδος συγγενούς ανωμαλίας κατά συστήματα ανά εξεταζόμενο πληθυσμό

Είδος συγγενούς ανωμαλίας	Όλα τα βρέφη					Μόνο από μονήρεις κυήσεις				
	ICSI	P	IVF	P	Φυσική σύλληψη (N=4000)	ICSI	P	IVF	P	Φυσική σύλληψη (N=3906)
	(N=301)	VALUE	(N=837)	VALUE		(N=186)	VALUE	(N=527)	VALUE	
	no. (%)		no. (%)			no. (%)		no. (%)		
Οποιαδήποτε	26 (8.6)	<0.001	75 (9.0)	<0.001	168 (4.2)	18 (9.7)	<0.001	50 (9.5)	<0.001	164 (4.2)
Καρδιαγγειακό	4 (1.3)		15 (1.8)	<0.001	24 (0.6)	3 (1.6)		7 (1.3)		24 (0.6)
Ουροποιητικό	7 (2.3)		22 (2.6)	0.01	54 (1.4)	5 (2.7)		14 (2.7)	0.03	52 (1.3)
Μυοσκελετικό	10 (3.3)	0.004	28 (3.3)	<0.001	45 (1.1)	5 (2.7)		20 (3.8)	<0.001	44 (1.1)
Γαστρεντερικό	3 (1.0)		5 (0.6)		25 (0.6)	2 (1.1)		2 (0.4)		24 (0.6)
ΚΝΣ	0		3 (0.4)		6 (0.2)	0		2 (0.4)		6 (0.2)
Χρωμοσωμική	3 (1.0)	0.05	6 (0.7)	0.03	9 (0.2)	3 (1.6)	0.02	3 (0.6)		9 (0.2)
Μεταβολικά	1 (0.3)		2 (0.2)		4 (0.1)	0		1 (0.2)		4 (0.1)
Άλλες	2 (0.7)		21 (2.5)	<0.001	25 (0.6)	2 (1.1)		15 (2.8)	<0.001	25 (0.6)

Hansen M et al. N Engl J Med, 2002

Πίνακας 12. Συχνότητα εμφάνισης συγγενών ανωμαλιών κατά συστήματα ανά πληθυσμό μελέτης

ΣΥΣΤΗΜΑ	Σύνολο βρεφών (n = 10,227)			Παιδιά από μονήρεις κυήσεις (n = 5,499)			
	Ομάδα ελέγχου P (n=8,422)	IVF P (n=1,462)	IUI P (n = 343)	Ομάδα ελέγχου P (n = 4,590)	IVF (n = 645)	IUI P (n = 264)	P
ΚΝΣ	50 (0.6)	9 (0.6)	1 (0.3)	15 (0.3)	2 (0.3)	1 (0.4)	
Καρδιαγγειακό	100 (1.2)	33 (2.3)	.002 5 (1.5)	45 (1.0)	16 (2.5)	.003 4 (1.5)	
Ώτα	29 (0.3)	8 (0.6)	2 (0.6)	12 (0.3)	4 (0.6)	2 (0.8)	
Οφθαλμοί	42 (0.5)	8 (0.6)	2 (0.6)	19 (0.4)	5 (0.8)	0 (0)	
Γαστρεντερικό	48 (0.6)	8 (0.6)	3 (0.9)	15 (0.3)	4 (0.6)	2 (0.8)	
Ουροποιογεννητικό	86 (1.0)	12 (0.8)	2 (0.6)	39 (0.9)	5 (0.8)	0 (0)	
Μυοσκελετικό	103 (1.2)	32 (2.2)	.007 9 (2.6)	.042 55 (1.2)	17 (2.6)	.006 7 (2.7)	0.08
Πρόσωπο/Στόμα	43 (0.5)	10 (0.7)	4 (1.2)	27 (0.6)	6 (0.9)	3 (1.1)	
Αναπνευστικό	6 (0.1)	3 (0.2)	0 (0)	1 (0.02)	0 (0)	0 (0)	
Δέρμα	19 (0.2)	4 (0.3)	0 (0)	12 (0.3)	4 (0.6)	0 (0)	
Σύνδρομα	30 (0.4)	12 (0.8)	.026 1 (0.3)	17 (0.4)	7 (1.1)	.022 0 (0)	
Όγκοι	10 (0.1)	3 (0.2)	0 (0)	4 (0.1)	1 (0.2)	0 (0)	
Χρωμοσωμική ανωμ	20 (0.2)	6 (0.4)	0 (0)	13 (0.3)	3 (0.5)	0 (0)	
Λοιπά	8 (0.1)	2 (0.1)	0 (0)	0 (0)	1 (0.2)	0 (0)	

Olson 2005, Fertil Steril 2005

5.4. ΝΕΥΡΟΛΟΓΙΚΕΣ ΕΠΙΠΤΩΣΕΙΣ

Οι νευρολογικές επιπτώσεις σε παιδιά που γεννιούνται από εξωσωματική γονιμοποίηση είναι άλλο ένα μεγάλο θέμα που έχει απασχολήσει τους ερευνητές. Ο κυριότερος λόγος είναι ότι οι δίδυμες κυήσεις γενικά- και κατ' επέκταση και οι κυήσεις από εξωσωματική, που σε μεγάλο βαθμό είναι πολύδυμες - ενέχουν αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης εγκεφαλικής παράλυσης στα παιδιά που θα γεννηθούν, συγκριτικά με τις μονήρεις κυήσεις. Ο κίνδυνος μάλιστα είναι μεγαλύτερος εάν πρόκειται για δίδυμη κύηση και συμβεί ενδομήτριος θάνατος του ενός εμβρύου (Pharoah et al 2002, Glinianaia 2002). Ο ενδομήτριος θάνατος του ενός κυήματος σε μια δίδυμη κύηση, αν και σπάνιο γεγονός στο δεύτερο ή στο τρίτο τρίμηνο αυτής, έχει σημαντικές αρνητικές επιπτώσεις, ειδικά όταν πρόκειται για μονοχοριακούς διδύμους. Οι επιπλοκές που έχουν καταγραφεί είναι θάνατος και του άλλου εμβρύου ή επιβίωσή του αλλά με σοβαρότατες νευρολογικές βλάβες ή πρόωρος τοκετός (Ong et al 2006). Ειδικότερα, έχει συσχετισθεί η εγκεφαλική παράλυση σε δίδυμο, που επιβιώνει μετά από ενδομήτριο θάνατο του έτερου εμβρύου, κυρίως με

μονοζυγωτικούς μονοχοριακούς διδύμους. Η πολυκυστική εγκεφαλομαλακία που μπορεί να παρατηρηθεί σε συνδυασμό με τον ενδομήτριο θάνατο του ενός διδύμου ερμηνεύεται με δυο θεωρίες. Η μία υποθέτει ότι μετά το θάνατο του ενός εμβρύου μεταφέρεται υλικό θρόμβωσης στο άλλο κύημα. Η δεύτερη θεωρία είναι γνωστή και ως «θεωρία της αιμοδυναμικής ανισότητας» σύμφωνα με την οποία οι πλακουντιακές αναστομώσεις (που συχνά υπάρχουν σε μονοχοριακούς πλακούντες) επιτρέπουν τη ροή αίματος από το έμβρυο που επιβιώνει σε αυτό που πεθαίνει ενδομητρίως οδηγώντας σε περιόδους υποαιμάτωσης, υπότασης και οξείας εμβρυϊκής αναιμίας με επακόλουθο τη νευρολογική βλάβη (Ong et al 2006).

Όσο αφορά στην εγκεφαλική παράλυση, μελέτη στη Σουηδία (n=2060), έδειξε μεγαλύτερο κίνδυνο εγκεφαλικής παράλυσης σε δίδυμα που γεννήθηκαν με IVF/ICSI συγκριτικά με παιδιά IVF/ICSI, από μονήρεις όμως κυήσεις (Strömberg et al 2002). Στην ίδια μελέτη ο παραπάνω κίνδυνος δεν διέφερε σημαντικά ανάμεσα σε δίδυμα IVF/ICSI και δίδυμα φυσικής σύλληψης. Αντίθετα, ήταν αυξημένος όταν δίδυμα IVF/ICSI συγκρίνονταν με παιδιά από μονήρεις φυσικές συλλήψεις. Χαρακτηριστικό είναι ότι η IVF φάνηκε να είναι ανεξάρτητος παράγοντας κινδύνου νευρολογικής παράλυσης, ακόμα και μετά από διόρθωση άλλων παραγόντων όπως το χαμηλό βάρος γέννησης και η προωρότητα (Strömberg et al 2002).

Αντίθετα αποτελέσματα είχαν δυο άλλες μελέτες. Η πρώτη, στη Δανία (n=3393) δεν κατέληξε σε στατιστικώς σημαντική διαφορά ως προς τη συχνότητα εγκεφαλικής παράλυσης σε παιδιά από IVF/ICSI συγκριτικά με τα φυσικής σύλληψης αλλά ούτε και ανάμεσα στις δύο μεθόδους (IVF/ICSI) (Pinborg et al 2004). Η δεύτερη μελέτη στο Leiden (Κάτω Χώρες), είχε αντίστοιχα μη στατιστικά σημαντικά συμπεράσματα (Knoester et al 2007). Αναλυτικότερα, η νευρολογική εξέταση των παιδιών ICSI ηλικίας 5-8 ετών -αλλά μόνο από μονήρεις κυήσεις- έδειξε ότι η αυτή η μέθοδος της υποβοηθούμενης αναπαραγωγής δεν αποτελεί ανεξάρτητο προγνωστικό παράγοντα για τη νευρολογική ανάπτυξη των παιδιών που θα γεννηθούν. Ακόμα και η υψηλότερη

συχνότητα ήπιας νευρολογικής δυσλειτουργίας που βρέθηκε αρχικά στην ομάδα παιδιών ICSI, συγκριτικά με εκείνα που προέρχονταν από φυσική σύλληψη, εξαλείφθηκε όταν ελήφθη υπόψη ο αριθμός του τόκου της μητέρας (parity) (Knoester et al 2007). Στη μελέτη αυτή ως ήπια νευρολογική δυσλειτουργία ορίστηκε η παρουσία δυσλειτουργίας σε ένα ή δύο τομείς που υποδηλώνει φυσιολογικό αλλά όχι άριστα λειτουργούντα εγκέφαλο, ενώ σοβαρή είναι η παρουσία δυσλειτουργίας σε πλέον των δυο επιπέδων που έχει προκληθεί περιγεννητικά και συνδέεται με πιθανή ανατομική βλάβης του εγκεφάλου. Οι τομείς αξιολόγησης αυτά ή “clusters” που αξιολογούνται είναι οι ακόλουθοι:

1. Δυσλειτουργική ρύθμιση του μυϊκού τόνου 2. Διαταραχή αντανακλαστικών 3. Χορειόμορφη δυσκινησία 4. Προβλήματα συντονισμού 5. Διαταραχή λεπτής κινητικότητας 6. Λοιπές, σπάνιες εκδηλώσεις 7. Αισθητηριακές διαταραχές και 8. Διαταραχή κρανιακών νεύρων (Hadders-Algra 2002).

5.5. VANISHING TWIN PHENOMENON - ΝΕΥΡΟΛΟΓΙΚΗ ΕΚΒΑΣΗ

Το φαινόμενο του “vanishing twin” (“εξαφανιζόμενου διδύμου”) αφορά δίδυμες κυήσεις και σύμφωνα με τους Jauniaux et al (1998) συνίσταται στην εξάλειψη του ενός αμνιακού σάκου ή εμβρύου σε μια δίδυμη κύηση όπου προηγουμένως είχε διαπιστωθεί καρδιακή λειτουργία. Το φαινόμενο αυτό μπορεί να συμβεί σε οποιαδήποτε εβδομάδα της κύησης, είτε αυτή είναι φυσική ή προέρχεται από εξωσωματική γονιμοποίηση. Σε μελέτες σε εξωσωματικές κυήσεις, διαπιστώθηκε ότι σε ένα ποσοστό της τάξης του 12-30% των δίδυμων κυήσεων (υπερηχογραφικά διαπιστωμένων στην 8^η εβδομάδα της κύησης) καταλήγουν ως μονήρεις, ένα 60-83% ως δίδυμες κυήσεις και το υπόλοιπο 5-10% ως αυτόματες αποβολές (Tummers et al 2003). Αν και οι μελέτες που αφορούν στη συχνότητα του φαινομένου είναι περιορισμένες, οι Pinborg et al (2005) διαπίστωσαν ότι το ποσοστό εμφάνισης του φαινομένου vanishing twin σε κυήσεις από εξωσωματική γονιμοποίηση ανέρχεται στο 10%. Αντίστοιχο ήταν το

ποσοστό στη μικρότερη μελέτη των La Sala et al (2006) όπου υπολογίστηκε σε 12% επί του συνόλου των μονήρων κυήσεων από IVF.

Το φαινόμενο vanishing twin έχει συνδεθεί με αρνητικές επιπτώσεις τόσο για την κύηση όσο και για το έμβρυο που επιβιώνει. Πιθανολογείται ότι η αρνητική επίπτωσή του στην έκβαση της κύησης οφείλεται σε εμφύτευση του εμβρύου -εξαιτίας της παρουσίας αρχικά και άλλου κυήματος- σε μη πρόσφορη περιοχή με μητροπλακουντιακή ανεπάρκεια (Van Orpenraaij et al 2009). Αναλυτικότερα, έχει βρεθεί ότι ειδικά η καθυστερημένη υποστροφή του ενός διδύμου σε φυσικές δίδυμες κυήσεις σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο νοσηρότητας και θνητότητας του επιβιώσαντος διδύμου (Pharoah & Andi 2000, Scher et al 2002) καθώς και με χαμηλό βάρος γέννησης του επιβιώσαντος διδύμου (Pinborg et al 2007).

Δεδομένου ότι το ποσοστό πολυδυμίας σε κυήσεις από εξωσωματική κυμαίνεται από 25%-37.1% (Basatemur & Sutcliffe, 2008), το φαινόμενο της αυτόματης υποστροφής του ενός εμβρύου (vanishing twin) διαδραματίζει ουσιαστικό ρόλο στην έκβαση των παιδιών που θα γεννηθούν τελικά. Οι μελέτες που αφορούν στις συνέπειες του φαινομένου του vanishing twin είναι περιορισμένες, αλλά μερικά από τα συμπεράσματα είναι εξέχουσας σημασίας.

Οι Pinborg et al (2005) διεξήγαγαν Δανία με συμμετοχή πολλών δημοσίων κλινικών για εξωσωματική γονιμοποίηση μια μελέτη σε 8542 υπηχογραφικά διαπιστωμένες κυήσεις από IVF/ICSI κατά την περίοδο 1995-2001 οι οποίες διακρίθηκαν ως εξής: Α) ένα έμβρυο με θετικούς καρδιακούς παλμούς και ένας αμνιακός σάκος/έμβρυο χωρίς παλμό Β) ένα βιώσιμο έμβρυο Γ) δυο βιώσιμα έμβρυα. Μετά τη γέννηση των παιδιών, αυτά διακρίθηκαν σε τρεις ομάδες: Ομάδα I: αυτά που επιβίωσαν στα οποία συμπεριελήφθησαν οι επιβιώσαντες δίδυμοι από κύηση στην οποία συνέβη είτε το φαινόμενο vanishing twin είτε ενδομήτριος θάνατος του άλλου εμβρύου. Ομάδα II: παιδιά από αμιγώς μονήρεις κυήσεις εξ αρχής και Ομάδα III: δίδυμοι από κυήσεις με δυο θετικούς καρδιακούς παλμούς εμβρύων. Συνολικά, 9631 παιδιά συμπεριελήφθησαν τελικά στη μελέτη εκ των οποίων 3748 (38.9%) δίδυμα και 5883 (61.1%) από

μονήρεις κυήσεις. Από το σύνολο των 642 επιζήσαντων, 424 αντιστοιχούσαν σε «πρώιμους επιζήσαντες (δηλαδή η εξαφάνιση του άλλου διδύμου έγινε πριν την 8^η εβδομάδα), 187 ενδιάμεσοι επιζήσαντες (8^η-22^η εβδομάδα) και 31 σε όψιμους επιζήσαντες (μετά την 22^η εβδομάδα). Τα παιδιά που εκτιμήθηκαν ως προς τυχόν νευρολογικές επιπτώσεις που ταξινομήθηκαν ως: 1) εγκεφαλική παράλυση 2) νοητική υστέρηση ή σοβαρές νοητικές αναπτυξιακές διαταραχές, εγκεφαλική παράλυση και μειωμένη ψυχοκινητική ανάπτυξη και 3) όλες οι νευροαναπτυξιακές διαταραχές. Το χαμηλό βάρος γέννησης, η ηλικία μητέρας πάνω από 35 έτη, η πολύδυμη κύηση, το φύλο του παιδιού, η μέθοδος της εξωσωματικής, η ηλικία του παιδιού και η αυτόματη ή όχι μείωση κατά τη διάρκεια της κύησης θεωρήθηκαν ως πιθανοί παράγοντες που επηρεάζουν επίσης την νευρολογική έκβαση και μελετήθηκαν ξεχωριστά.

Διαπιστώθηκε αφενός ότι η θνησιμότητα στην ομάδα των επιζήσαντων διδύμων ήταν σημαντικά αυξημένη εάν το φαινόμενο της υποστροφής συνέβαινε στην μέση περίοδο της κύησης (8^η έως 22^η εβδομάδα) και στην τελευταία (μετά την 22^η εβδομάδα) σε αντίθεση με το αν συνέβαινε πριν την 8^η εβδομάδα. Αντίστοιχα, η εμφάνιση νευρολογικών επιπλοκών και νευροαναπτυξιακών διαταραχών συσχετιζόταν με το φαινόμενο του *vanishing twin* όσο πιο αργά στη διάρκεια της κύησης συνέβαινε αυτό. Αντιθέτως, δεν διαπιστώθηκαν διαφορές ως προς τη νευρολογική έκβαση ανάμεσα στις ομάδες των παιδιών από μονήρεις κυήσεις και επιβιώσαντες διδύμους από κυήσεις στις οποίες η υποστροφή του έτερου διδύμου συνέβη πριν την 8^η εβδομάδα της κύησης.

Οι ίδιοι ερευνητές (Pinborg et al 2007) διερεύνησαν αργότερα και κατά πόσον το φαινόμενο του *vanishing twin* αποτελεί προγνωστικό παράγοντα για τη γέννηση παιδιών μικρών για την ηλικία κύησης (*small-for-gestational age*). Συγκεκριμένα, μελέτησαν ακριβώς την παράμετρο του βάρους γέννησης σε 642 παιδιά που γεννήθηκαν μετά από υπερηχογραφικά διαπιστωμένη εξαφάνιση του διδύμου τους. Η ομάδα των «επιζήσαντων» διακρίθηκε σε τρεις επιμέρους ομάδες ανάλογα με την περίοδο στην οποία εξαφανίστηκε ο άλλος δίδυμος, δηλαδή σε «πρώιμους» επιζήσαντες (<8 εβδομάδες), σε «ενδιάμεσους» (8^η-22^η

εβδομάδα) και σε «όψιμους» επιζήσαντες (>22^η εβδομάδα). Επίσης, συμπεριελήφθησαν στη μελέτη και 5237 παιδιά από εξ αρχής μονήρεις κυήσεις καθώς και 3678 παιδιά από εξ αρχής δίδυμες κυήσεις. Από τη μελέτη αποκλείστηκαν τα πρόωρα νεογνά (<37 εβδομάδες κύησης), η ηλικία της μητέρας πάνω από 35, ο αριθμός των τοκετών της, η ομάδα (singletons ή επιζήσαντες) και η περίοδος όπου συνέβη το φαινόμενο vanishing twin. Αυτή η μελέτη έδειξε για πρώτη φορά ότι τα παιδιά που γεννιούνται από κυήσεις IVF στις οποίες παρατηρήθηκε vanishing twin φαινόμενο διατρέχουν *αυξημένο* κίνδυνο να γεννηθούν SGA σε σχέση με παιδιά από μονήρεις εξωσωματικές κυήσεις (OR: 1.50, 95% CI: 1.03-2.20). Επιπλέον, όσο πιο αργά στη διάρκεια της κύησης συνέβαινε η εξαφάνιση του άλλου εμβρύου, τόσο πιο υψηλός ήταν ο κίνδυνος για SGA ($r = -0.10$, $P < 0.02$). Όταν μάλιστα στη στατιστική ανάλυση λαμβάνονταν υπόψιν παράγοντες όπως η ηλικία της μητέρας, ο τόκος, το φύλο του νεογνού και η προεκλαμψία, το φαινόμενο του εξαφανιζόμενου εμβρύου (OR:1.56, 95% CI:1.06-2.27) και η ηλικία κύησης που συνέβη (OR:2.08, 95% CI:1.00-4.35) ήταν οι μοναδικοί προγνωστικοί παράγοντες για SGA. Χαρακτηριστικά, και στα τελειόμηνα νεογνά οι «πρώιμοι επιζήσαντες» υπολείπονταν κατά 49g των παιδιών από εξ αρχής μονήρεις κυήσεις, αν και αυτό το εύρημα δεν ήταν στατιστικά σημαντικό.

Το 2006, οι La Sala et al βρήκαν ότι το φαινόμενο του εξαφανιζόμενου διδύμου (το οποίο το είχαν ορίσει ως εξαφάνιση του ενός εμβρύου κατά το πρώτο τρίμηνο μιας αρχικά δίδυμης κύησης) συνέβαινε στο 12.2% στο σύνολο των ζώντων νεογνών που γεννήθηκαν από μονήρεις εξωσωματικές κυήσεις, αλλά δεν διαπίστωσαν καμιά στατιστικά σημαντική διαφορά ως προς το μαιευτικό αποτέλεσμα (obstetric outcome) μεταξύ της ομάδας των vanishing twins και των παιδιών από μονήρεις κυήσεις. Ωστόσο η μελέτη αυτή είχε μικρό αριθμό δείγματος ($n=44$) για την ομάδα των vanishing twins και δεν έγινε κάποια σύγκριση ως προς το SGA.

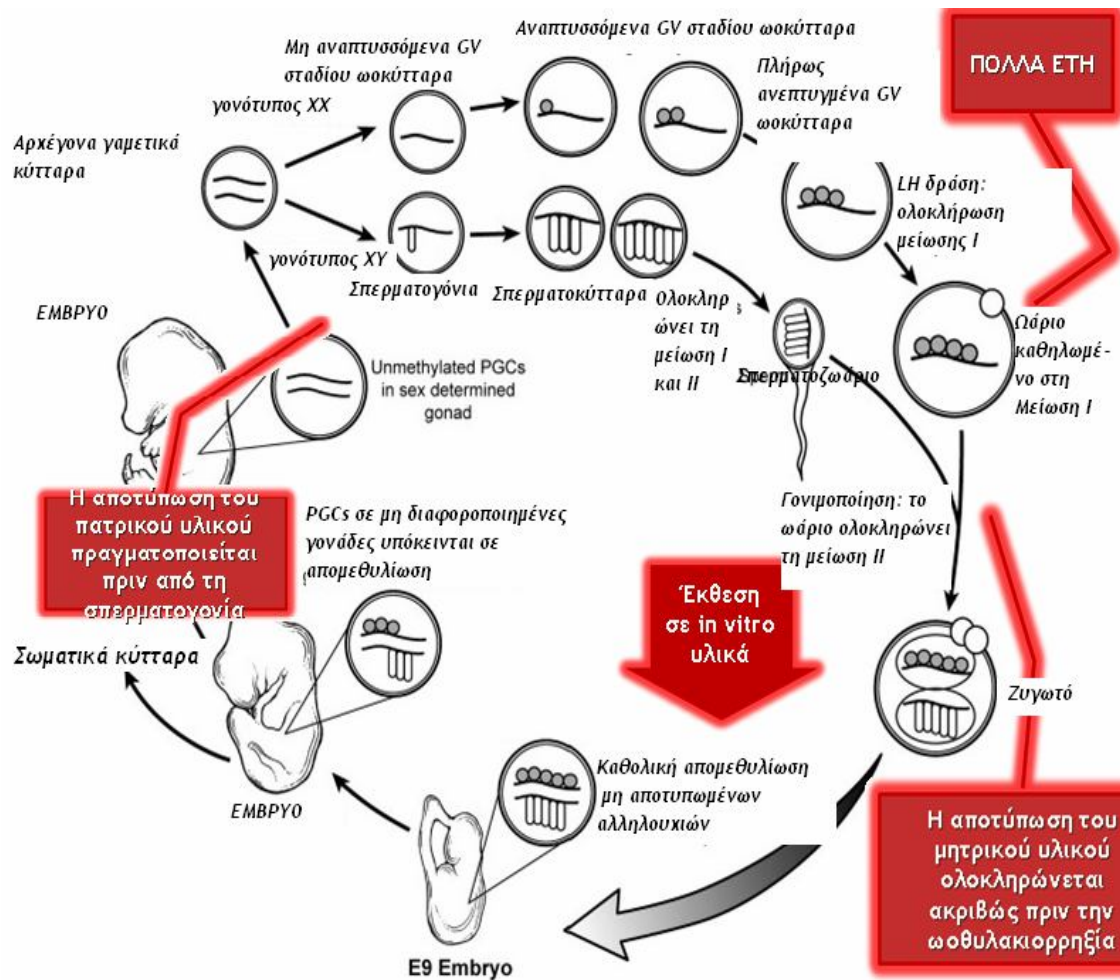
5.6. ΓΟΝΙΔΙΑΚΗ ΑΠΟΤΥΠΩΣΗ - GENOMIC IMPRINTING

Η γονιδιακή αποτύπωση είναι ένα πολύπλοκο επιγενετικό φαινόμενο που παρατηρείται στα θηλαστικά και χαρακτηρίζεται από την έκφραση ενός μόνο από ορισμένα κληρονομούμενα από τους γονείς ομόλογα αλληλία. Συνοπτικά, πρόκειται για μια πολύ-σταδιακή διαδικασία που ξεκινά σε κάθε αναπαραγωγικό κύκλο με την επιγενετική σήμανση των γαμετών κατά ειδικό ως προς το φύλο τρόπο (Rivera et al 2008) (Εικόνα 5). Η αμετάβλητη μεταβίβαση του γονεο-ειδικού σήματος στον απόγονο και η επακόλουθη έκφραση σε αυτόν του ενός μόνο αλληλίου από τα αποτυπωμένα γονίδια-έτσι ώστε να είναι πρακτικά ημιζυγώτης- είναι απαραίτητη για την ομαλή εμβρυογένεση και ανάπτυξη (Rivera et al 2008). Το φαινόμενο λαμβάνει χώρα στο στάδιο της γαμετογένεσης και στο προεμφυτευτικό στάδιο και ολοκληρώνεται σε αυτό της βλαστοκύστης (Εικόνα 6).

Αναλυτικότερα, στους διπλοειδείς οργανισμούς υπάρχουν φυσιολογικά δυο αντίγραφα για κάθε αυτοσωματικό γονίδιο, ένα από κάθε γονέα. Τα περισσότερα από τα γονίδια αυτά εκφράζονται ταυτόχρονα και από τα δυο αλληλόμορφα. Ωστόσο, σε ένα μικρό ποσοστό, ένα από τα αλληλόμορφα αποσιωπάται εάν προέρχεται από τη μητέρα ή από τον πατέρα (ανάλογα με το γονίδιο) και η όλη διαδικασία είναι γνωστή ως γονιδιακή αποτύπωση. Η διαδικασία αυτή συνίσταται στην χημική τροποποίηση των πρωτεϊνών ιστονών που συνδέονται με το μόριο του DNA, χωρίς όμως να αλλάζει η νουκλεοτιδική αλληλουχία. Ειδικότερα, τα γονίδια που υπόκεινται στο φαινόμενο οργανώνονται σε σωρούς (clusters) κατά μήκος του γονιδιώματος και οι επιγενετικές τροποποιήσεις αφορούν στην ρυθμιστική περιοχή αυτών των σωρών (imprinting control region ICRs) η οποία είναι πλούσια σε CG δινοκλεοτίδια. Τα τελευταία αποτελούν ρυθμιστικούς παράγοντες της έκφρασης των γονιδίων (η μεθυλίωση αναστέλλει την έκφραση) και είναι εκείνα που μεθυλιώνονται με ειδικό τρόπο ανάλογα με το γονέα. Με τον τρόπο αυτό τελικά μόνο το ένα από τα δυο αλληλία του συγκεκριμένου γονιδίου είναι λειτουργικό, ενώ το άλλο δεν εκφράζεται, ανάλογα με την γονεϊκή προέλευση.

Η ιδιαιτερότητα του φαινομένου έγκειται, επιπλέον, στο ότι το ένα από τα κληρονομούμενα από τους γονείς αλληλία εκφράζεται διαφορετικά σε διαφορετικούς ιστούς καθώς και σε διαφορετικά στάδια ανάπτυξης. (Rivera et al 2008, Manipalviratn et al 2009).

Εικόνα 5. Γονιδιακή αποτύπωση: σχηματική απεικόνιση



Πηγή: Lawrence TL, et al. *Epigenetics and Assisted Reproductive Technologies: Human Imprinting Syndromes. Seminars in Reproductive Medicine* 2008 (μεταφρασμένη)

Τα αποτυπωμένα γονίδια συνιστούν ένα μικρό μόνο ποσοστό στα θηλαστικά. Στον άνθρωπο έχουν περιγραφεί τουλάχιστον 40 περίπου αποτυπωμένα γονίδια ενώ περισσότερα από 80 έχουν περιγραφεί συνολικά στον άνθρωπο και στα ποντίκια (Niemtz et al 2004, Rivera et al 2008). Έχει διαπιστωθεί ότι τα αποτυπωμένα αυτά γονίδια είναι σημαντικά για την ομαλή ρύθμιση της εμβρυονικής ανάπτυξης, τη λειτουργία του πλακούντα και τη νευροψυχολογία (Rivera et al 2008). Μάλιστα εικάζεται ότι τα πατρικής προέλευσης αποτυπωμένα γονίδια προάγουν την εμβρυϊκή αύξηση σε αντίθεση με τα μητρικής προέλευσης που την καταστέλλουν (Constancia et al 2002). Κάποια από αυτά μπορεί να δρουν ως αυξητικοί παράγοντες, όπως το *IGF-2* στο σύνδρομο Beckwith-Wiedemann είτε ως ρυθμιστές της γονιδιακής έκφρασης, όπως το *GRB10* στο σύνδρομο Silver-Russell (Eggermann et al 2008, Blik et al 2009). Οι διαταραχές στην αποτύπωση επηρεάζουν:

α) την ομαλή οργανογένεση (νευρικό σύστημα, διαμόρφωση οργάνων) και την ανάπτυξη

β) τη βιωσιμότητα του ατόμου

γ) τη συμπεριφορική και γλωσσική ανάπτυξη ενώ φαίνεται να σχετίζονται και με την εξάρτηση από αλκοόλ, τη σχιζοφρένεια και ενδεχομένως τη διπολική διαταραχή (Butler 2009)

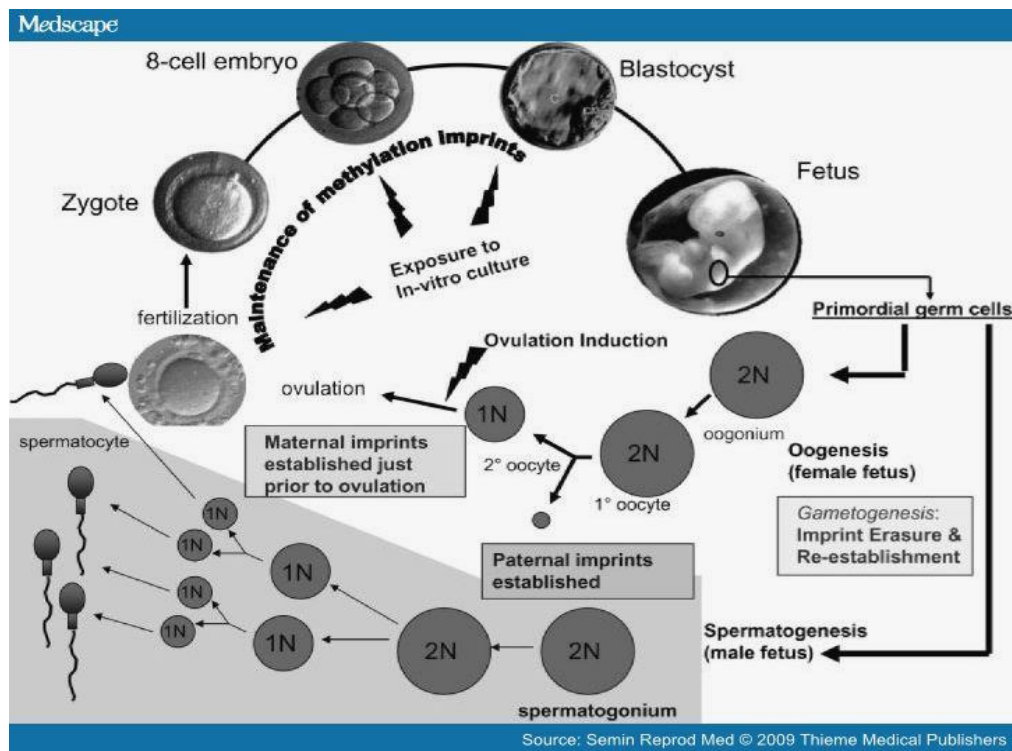
δ) την ανάπτυξη διαφόρων κακοηθειών (π.χ. ρετινοβλάστωμα) και πιθανόν πολυπαραγοντικών παθήσεων όπως ο σακχαρώδης διαβήτης (Murphy 2003).

Υπολογίζεται ότι πάνω από 100 διαφορετικές παθολογικές καταστάσεις ή σύνδρομα μπορεί να αποδίδονται σε διαταραγμένη γονιδιακή τροποποίηση όπως Angelman (AS), Prader-Willi (PWS), Beckwith-Wiedemann (BWS), Silver-Russell, Albright Κληρονομική οστεοδυστροφία κ.ά. (Luedi et al 2007, Butler 2009).

Ενδεχομένως, οι τεχνικές υποβοηθούμενης αναπαραγωγής να προδιαθέτουν σε αύξηση των σφαλμάτων γονιδιακής αποτύπωσης μέσω

τροποποίησης συγκεκριμένων γονιδίων (Neelanjana M & Sabaratnam 2008, Butler 2009). Αυτό διότι είναι γνωστό ότι η εξωσωματική γονιμοποίηση περιλαμβάνει χειρισμούς σε διάφορα στάδια της διαδικασίας της σύλληψης, από τη διέγερση για την παραγωγή γαμετών μέχρι και την καλλιέργεια των εμβρύων, όπως η χρήση ορμονών για την ρύθμιση της υποφυσιακής λειτουργίας, η ωρίμανση in vitro των ωαρίων, η χρήση ανώριμων σπερματοζωαρίων, η χρήση της ICSI που διατετραίνει το ωάριο για να ενέσει το σπερματοζωάριο, η καλλιέργεια σε διάφορα υλικά των εμβρύων που προκύπτουν σε in vitro συνθήκες μέχρι τελικά να μεταφερθούν και εγκατασταθούν στην μήτρα και τέλος η κρυοσυντήρηση γαμετών, ωθηκικού ιστού ή εμβρύων. Καθένα από αυτά τα στάδια μπορεί να ενέχει κινδύνους για την ομαλή διεργασία τα γονιδιακής αποτύπωσης και των προτύπων μεθυλίωσης (Neelanjana M & Sabaratnam 2008, Manipalviratn et al 2009).

Εικόνα 6. Γονιδιακή αποτύπωση κατά το σχηματισμό του εμβρύου



Πηγή: Medscape/Semin Reprod Med © 2009 Thieme Medical Publishers

Αν και η επίδραση των τεχνικών ART στη γονιδιακή αποτύπωση δεν έχει μελετηθεί σε μοριακό επίπεδο για ηθικούς λόγους στον άνθρωπο, υπάρχουν αρκετές μελέτες σε πειραματικά μοντέλα σε ζώα που να το υπαινίσσονται. Οι μόνες μελέτες που αφορούν στον άνθρωπο έχουν επιδιώξει να αναδείξουν συσχέτιση των μεθόδων εξωσωματικής με τα σύνδρομα BWS, AS, PWS (όπως και του προτύπου της διαταραχής μεθυλίωσης που διαπιστώνεται) και βασίζονται σε συγκρίσεις μεταξύ παιδιών από φυσική σύλληψη και αυτών από εξωσωματική γονιμοποίηση. Συνοπτικά, σε ορισμένες μελέτες, οι τεχνικές υποβοηθούμενης αναπαραγωγής έχουν συνδεθεί με σύνδρομα όπως το Angelman και Beckwith-Wiedemann και μάλιστα σε ορισμένες μελέτες από Η.Π.Α, Αγγλία και Γαλλία αναφέρεται έως και τριπλάσιος κίνδυνος συγκριτικά με τις φυσικές συλλήψεις (DeBaun et al 2003, Cox et al 2002, Scutcliffe et al 2006, Bowdin et al 2007, Butler 2009, Lim et al 2009, Manipalviratn et al 2009).

Το σύνδρομο Beckwith-Wiedemann (BWS), για το οποίο υπάρχουν και τα περισσότερα βιβλιογραφικά δεδομένα, είναι μια σπάνια διαταραχή αποτύπωσης στο χρωμόσωμα 11 που χαρακτηρίζεται από συγγενή μακροσωμία, μακρογλωσσία, ελλείμματα της μέσης γραμμής της κοιλιακής χώρας, ομφαλοκήλη, νεογνική υπογλυκαιμία και ποικίλες αναπτυξιακές διαταραχές, ενώ υπάρχει αυξημένος κίνδυνος για ανάπτυξη διαφόρων καρκίνων όπως το ραβδομυοσάρκωμα, ηπατοβλάστωμα και όγκος Wilms. Το σύνδρομο Angelman (AS) χαρακτηρίζεται από μικροκεφαλία, ιδιόμορφο προσωπείο, υποτονία, σοβαρή νοητική υστέρηση, αταξικό βάδισμα, επιληπτικές κρίσεις και οφείλεται σε διαταραχή αποτύπωσης στο χρωμόσωμα 15 μητρικής προέλευσης. Όταν η διαταραχή αποτύπωσης αφορά στο πατρικό χρωμόσωμα 15 εκδηλώνεται τότε εκδηλώνεται το σύνδρομο Prader-Willi (PWS) που χαρακτηρίζεται από υποτονία, νοητική υστέρηση, παχυσαρκία, υπογοναδισμό και προδιάθεση για σακχαρώδη διαβήτη (Neelanjana M & Sabaratnam 2008).

Παλαιότερη μελέτη των Olivennes et al 2001, έδειξε ότι 1 παιδί είχε BWS από τα 73 μετά από ART που εξετάστηκαν, ποσοστό ιδιαίτερα υψηλό δεδομένης

της συχνότητας του συνδρόμου στο γενικό πληθυσμό που υπολογίζεται σε 1:14,500. Αντιθέτως, στην μελέτη των Bowdin et al, μόνο 1 από τα 1523 παιδιά της μελέτης είχε BWS αποδεδειγμένο μοριακά. Σύμφωνα με την μελέτη των Bowdin et al (2007) ο απόλυτος κίνδυνος για εμφάνιση των δυο συνδρόμων σε παιδιά από ART ήταν <1%. Οι ίδιοι μελετητές απέδωσαν το αποτέλεσμα αυτό στην πιθανότητα να έχει διαφύγει η διάγνωση των BWS, AS εξαιτίας της σπανιότητας των νοσημάτων, της χρήσης ερωτηματολογίου και του μικρού ποσοστού συμμετοχής (61%) (Bowdin et al 2007).

Σε μια μεγάλης κλίμακας μελέτη των Halliday et al (2004), καταγράφηκαν συνολικά 37 περιστατικά με BWS σε σύνολο 1.316.000 γεννήσεων κατά τη χρονική περίοδο 1983-2003. Κατά την ίδια χρονική περίοδο το σύνολο των γεννήσεων μετά από εξωσωματική ήταν 14.894. 4 από τα 37 παιδιά με το σύνδρομο προέρχονταν από εξωσωματική (4:14.894). Ανάλυση των 37 περιπτώσεων και 148 της ομάδα ελέγχου έδειξαν ότι η IVF ήταν ο τρόπος γονιμοποίησης σε 4 από τις περιπτώσεις (10.81%) και μόνο σε 1 από την ομάδα ελέγχου (0.67%) οδηγώντας σε ένα OR της τάξης του 17.8% (95% CI 1.8-432.9) and Fisher's-exact-test two-sided P p .006. Διαπιστώθηκε έως και 9 πλάσιος κίνδυνος εμφάνισης συνδρόμου BWS σε παιδιά από ART (1:36.000 έναντι του 1:4000 σε παιδιά από φυσική σύλληψη). Χαρακτηριστικά, το πρότυπο διαταραχής της αποτύπωσης ήταν σε όλες τις περιπτώσεις η υπομεθυλίωση του μητρικού KvDMR1/LIT1 που έχει διαπιστωθεί και σε άλλες μελέτες και η οποία στο γενικό πληθυσμό ατόμων με BWS αναμένεται σε ποσοστό 46%.

Σε άλλη μελέτη στη Βρετανία από τους Sutcliffe et al (2006) οι επιστήμονες προσέγγισαν 213 οικογένειες με θετικό ιστορικό των συνδρόμου Beckwith-Wiedemann (BWS) με σκοπό να διερευνηθεί η πιθανή του συσχέτιση με εξωσωματική γονιμοποίηση (IVF, ICSI, φαρμακευτική θεραπεία υπογονιμότητας). Από την έρευνα αποκλείστηκαν 4 οικογένειες στις οποίες υπήρχε οικογενούς μορφής BWS και όπου, ούτως ή άλλως, τα παιδιά τους δεν προέρχονταν από εξωσωματική γονιμοποίηση. Στην έρευνα δέχτηκαν να συμμετάσχουν 83 οικογένειες. Αντίστοιχα προσεγγίστηκαν και ακόμα 384

οικογένειες με σύνδρομο Angelman (AS) (δέχτηκαν να συμμετάσχουν 81) και άλλες 522 με σύνδρομο Prader-Willi (PWS) (συμμετείχαν οι 169). Συνολικά, βρέθηκε ότι 11 παιδιά με BWS, 3 παιδιά με AS και 9 παιδιά με PWS προέρχονταν από εξωσωματική γονιμοποίηση. Διαπιστώθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ ART και BWS (2.9% με 95% CI 1.4-6.3% αντί 0.8% που αναμενόταν) αλλά όχι και με το PWS. Ένα άλλο εύρημα ήταν ότι και οι 8 περιπτώσεις παιδιών με BWS μετά από ART που ελέγχθηκαν μοριακά εμφάνιζαν απώλεια της μεθυλίωσης του μητρικού αλληλίου στην περιοχή KvDMR1 (ενώ το αναμενόμενο ποσοστό ήταν 50%).

Οι Bowdin et al (2007) μελέτησαν παιδιά που γεννήθηκαν με ART κατά το χρονικό διάστημα 1989-2002 στο Δουβλίνο καθώς και κατά την περίοδο 1997-2003 στο Μπέρμιγχαμ. Στους γονείς των παιδιών αυτών, στάλθηκε ερωτηματολόγιο που αφορούσε στο μαιευτικό ιστορικό, τις συγγενείς ανωμαλίες, χρωμοσωμική ανάλυση και ερωτήσεις ενδεικτικές για την παρουσία κριτηρίων συνδρόμου με διαταραχή της γονιδιακής αποτύπωσης. Τα 70 παιδιά που πιθανά είχαν τέτοιου είδους διαταραχή εκλήθησαν και εξετάστηκαν 47 από κλινικό γενετιστή. εκ των οποίων μόνο 1 είχε BWS και κανένα AS (Bowdin et al 2007).

Οι Lim et al 2009 μελέτησαν 25 παιδιά από ART που είχαν κλινικά διαγνωσμένο σύνδρομο BWS (12 IVF/13 ICSI) και 87 παιδιά από φυσική σύλληψη με το σύνδρομο και με διαπιστωμένη απώλεια μεθυλίωσης του KvDMR1. Οι δυο ομάδες μελετήθηκαν και ως προς τις τυχόν διαφορές των φαινοτυπικών εκδηλώσεων του συνδρόμου. 24 από τα 25 αυτά παιδιά ART παρουσίαζαν απώλεια μεθυλίωσης του KvDMR1. Επειδή η απώλεια μεθυλίωσης σε περιοχές ρύθμισης της αποτύπωσης άλλες εκτός του 11p15.5 μπορεί να τροποποιήσει τα φαινοτυπικά χαρακτηριστικά του συνδρόμου BWS, μελετήθηκαν επιπλέον διαφορετικά μεθυλιωμένες περιοχές (DMRs) στα χρωμοσώματα 6q24, 7q32, 15q13. Διαπιστώθηκε ότι η απώλεια μεθυλίωσης αφορούσε στο μητρικό αλληλόμορφο στις παραπάνω περιοχές στο 37.5% των παιδιών με BWS από ART έναντι του 6.4% των παιδιών από φυσική σύλληψη. Το

εύρημα αυτό, ότι οι πολλαπλά υπομεθυλιωμένες DMRs είναι συχνότερες -αν και όχι αποκλειστικές- στην εξωσωματική γονιμοποίηση, μπορεί να εξηγεί την παθολογική ανάπτυξη ή τα αναπτυξιολογικά προβλήματα σε μερικά παιδιά από εξωσωματική γονιμοποίηση.

Τα πρότυπα διαταραχών μεθυλίωσης που ανιχνεύονται σε παιδιά με σύνδρομο BWS, AS τα οποία γεννήθηκαν μετά από τεχνικές ART μελετήθηκαν από διάφορες ομάδες ερευνητών. Όπως ήδη αναλύθηκε προηγουμένως, οι Lim et al 2009 διαπίστωσαν IC2 επιμεθυλίώσεις (KvDMRI απώλεια μεθυλίωσης) σε 24 από τα 25 παιδιά με σύνδρομο BWS μετά από ART, ποσοστό πολύ υψηλό συγκριτικά με το αναμενόμενο, που (παρά το μικρό δείγμα εδώ) έχει διαπιστωθεί και σε άλλες μελέτες (DeBaun et al 2003, Scutcliffe et al 2006). Παλαιότερα και οι Maipalviratn et al (2002) είχαν διαπιστώσει ότι το ποσοστό των διαταραχών αποτύπωσης σε παιδιά με σύνδρομο Beckwith-Wiedemann ήταν 90%, όταν αυτά είχαν συλληφθεί με τεχνική ART, συγκριτικά με 40-50% παιδιών με το σύνδρομο αλλά από φυσική σύλληψη. Αντίστοιχα, παιδιά από ART με AS εμφανίζουν συχνότερα επιμεθυλίωση της περιοχής SNRPN, αντί για την απώλεια ή απενεργοποίηση κρίσιμων γονιδίων στο μητρικής προέλευσης χρωμόσωμα 15, που αποτελεί και τη συχνότερη υπεύθυνη για το σύνδρομο AS διαταραχή. Η πιθανή συσχέτιση ICSI με το AS είχε αρχικά διατυπωθεί από τον Cox et al (2002) που και στις δυο περιπτώσεις του συνδρόμου AS σε παιδιά από ICSI διαπιστώθηκε μια σπάνια διαταραχή της αποτύπωσης (απώλεια της μεθυλίωσης του μητρικού αλληλίου στην περιοχή DMR του SNRPN χωρίς απώλεια του κέντρου αποτύπωσης. Αυτή η διαταραχή αποτελεί σπάνια αιτία του συνδρόμου AS στο γενικό πληθυσμό (1:300,000) αλλά βρέθηκε και σε άλλα παιδιά από εξωσωματική με το σύνδρομο AS. Η ίδια διαταραχή της μεθυλίωσης διαπιστώθηκε και από τους DeBaun et al 2003 όπως και στη μελέτη των Scutcliffe et al (2006) σε 1 από τα 3 παιδιά με AS που γεννήθηκαν μετά από ART και ελέγχθηκαν μοριακά. Εξάλλου, η αποτύπωση του μητρικού αλληλίου SNRPN λαμβάνει χώρα στο στάδιο της γονιμοποίησης ή και αργότερα, γεγονός που

ερμηνεύει την πιθανή συμμετοχή της ICSI στην εμφάνιση του συνδρόμου (Buitting et al 2003).

5.7. ΑΝΑΠΤΥΞΙΟΛΟΓΙΚΗ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗ ΠΑΙΔΙΩΝ ΠΟΥ ΓΕΝΝΙΟΥΝΤΑΙ ΜΕΤΑ ΑΠΟ IVF/ICSI

5.7.1. ΣΩΜΑΤΙΚΗ ΑΝΑΠΤΥΞΗ

Πολλές δημοσιεύσεις στη διεθνή βιβλιογραφία συνηγορούν ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά ως προς τις σωματομετρικές παραμέτρους κατά τη γέννηση (περίμετρος κεφαλής, ύψος, βάρος) παιδιών που γεννήθηκαν μετά από IVF/ICSI σε σχέση με παιδιά από φυσικές συλλήψεις και ότι η ψυχοκινητική ανάπτυξη δεν εμφανίζει διαφορές μεταξύ των δυο ομάδων.

Όσο αφορά στη σωματική ανάπτυξη, ήδη από το 1992 δημοσιεύθηκαν οι πρώτες μελέτες με ενθαρρυντικά στοιχεία (Basatemur & Sutcliffe 2008). Τα θετικά ευρήματα των πρώτων αυτών μελετών, επιβεβαιώθηκαν και από νεότερες μελέτες που εξέτασαν την ομάδα παιδιών IVF/ICSI μέχρι την ηλικία των 5 ετών (Bonduelle et al 2004, Bonduelle et al 2004b, Ludwig et al 2008) και επίσης στην ηλικία των 8 ετών (Belva et al 2007, Knoester et al 2008). Συγκεκριμένα, στις μελέτες αυτές που συμπεριελάμβαναν λεπτομερή φυσική εξέταση παιδιών γεννημένων μετά από IVF/ICSI και εκτίμησή τους μέχρι και την παιδική ηλικία, δεν διαπιστώθηκαν διαφορές στατιστικά σημαντικές μεταξύ των παιδιών IVF/ICSI και των παιδιών από φυσική σύλληψη αλλά ούτε και μεταξύ των δυο μεθόδων εξωσωματικής γονιμοποίησης (Bonduelle et al 2005, Bonduelle et al 2004, Belva et al 2007, Ludwig et al 2008).

Σε αντίθεση με τις προαναφερθείσες μελέτες, μόνο δυο άλλες μελέτες κατέληξαν σε διαφορετικά συμπεράσματα. Αναλυτικότερα, οι Koivumäki et al (2003) διαπίστωσαν ότι το σωματικό βάρος των παιδιών που γεννήθηκαν με τη βοήθεια IVF και εκτιμήθηκαν μέχρι τη ηλικία των 3 ετών, υπολειπόταν σημαντικά σε σχέση με τα παιδιά της ίδιας ηλικίας αλλά από φυσικές

συλλήψεις. Σε δεύτερη μελέτη από τη Νέα Ζηλανδία, στην οποία όμως το δείγμα της ομάδας IVF/ICSI, ηλικίας 5-6 ετών, ήταν σχετικά περιορισμένο (n=69), φάνηκε ότι τα παιδιά από IVF/ICSI ήταν σημαντικά ψηλότερα σε σχέση με την ομάδα ελέγχου (φυσική σύλληψη) ακόμα και όταν είχε ληφθεί υπόψη η ηλικία και το ύψος των γονέων τους (Miles et al 2007).

5.7.2. ΨΥΧΟΚΙΝΗΤΙΚΗ ΑΝΑΠΤΥΞΗ & ΓΝΩΣΙΑΚΗ ΕΞΕΛΙΞΗ

Οι μέχρι σήμερα μελέτες της ψυχοκινητικής εξέλιξης των παιδιών από IVF δεν έχουν αναδείξει διαφορές σε σχέση με παιδιά από φυσικές συλλήψεις. Ήδη στην μελέτη των Koivurova et al (2003) σε 299 παιδιά IVF και 558 παιδιά φυσικών συλλήψεων που αποτέλεσαν την ομάδα ελέγχου, παρά τις διαφορές ως προς τη νοσηρότητα και τη θνησιμότητα, δεν παρατηρήθηκε υπολειπόμενη ψυχοκινητική ανάπτυξη στην ομάδα των IVF. Το συμπέρασμα αυτό προέκυπτε είτε κατά την στατιστική ανάλυση του συνόλου των δυο ομάδων ή και μετά την επεξεργασία μόνο των δίδυμων παιδιών IVF και διδύμων από φυσικές συλλήψεις.

Η απουσία αυξημένου κινδύνου εμφάνισης νευρολογικών διαταραχών ή νοητικής υστέρησης σε παιδιά IVF, ICSI διαπιστώθηκε και στην αναδρομική μελέτη των Pinborg et al 2004, στη Δανία όπου η σύγκριση έγινε σε 3393 δίδυμα και 5130 μονόδυμα παιδιά από IVF/ICSI και 10239 δίδυμα παιδιά από φυσική σύλληψη, ηλικίας 2-7 ετών. Η αξιολόγηση έγινε με τη μελέτη όλων των διαγνωσμένων σε παιδιά νευρολογικών διαταραχών ή νοητικής υστέρησης (σύμφωνα με το International Classification of Diseases -ICD-10) όπως αυτές είχαν καταχωρηθεί σε εθνικό κέντρο αναφοράς, την πενταετία 1995-2000 (Pinborg et al 2004b) .

Η γνωσιακή ανάπτυξη στην ηλικία των 2 ετών των παιδιών που γεννήθηκαν μετά από ICSI όπως και αυτών μετά από IVF, καθώς και η ψυχολογική κατάσταση στην ηλικία των 5 ετών είναι εντός των φυσιολογικών ορίων (Bonduelle 2005, Leslie 2003). Τις ίδιες ηλικίες επεξεργάζεται και άλλη

μελέτη (Leslie et al 2003), συγκρίνοντας την ψυχοκινητική ανάπτυξη σε 97 παιδιά από ICSI με 80 παιδιά από απλή IVF και 110 από φυσική σύλληψη. Συγκεκριμένα, τα παιδιά αυτά εκτιμήθηκαν αναπτυξιολογικά τόσο στην ηλικία του 1 έτους όσο και στην ηλικία των 5 ετών στη συνέχεια, με τη χρήση της κλίμακας Bayley και του WPPSI-R (Weschler Preschool and Primary Scales of Intelligence). Μειωμένο IQ<85 βρέθηκε στο 5.2% των παιδιών ICSI (έναντι του 2.5% και 0.9% των ομάδων IVF και φυσικής σύλληψης αντιστοίχως) αλλά χωρίς να συνοδεύεται από στατιστικά σημαντική διαφορά, αν και η στατιστική ισχύς της μελέτης ήταν μικρή (30%). Διαφορές επίσης δεν διαπιστώθηκαν ούτε ως προς το φυσιολογικό και το υψηλό νοητικό ηλικίο. Διαπιστώθηκε ότι τα παιδιά στο 1^ο έτος εμφάνισαν νοητικό ηλικίο σημαντικά χαμηλότερο σε σχέση με αυτό που προέκυπτε από την επανεξέτασή τους στο 5^ο έτος. Αυτό αποδόθηκε σε διαφορές των δυο μεθόδων Bayley και WPPSI-R, και ειδικότερα στην καλύτερη αξιολόγηση των κινητικών δεξιοτήτων παρά των πραγματικών νοητικών δεξιοτήτων με την δοκιμασία Bayley και στην πιο εμπεριστατωμένη εκτίμηση της μακροχρόνιας νοημοσύνης με το WPPSI-R. Ως ανεξάρτητος προγνωστικός παράγοντας για το κάτω του μέσου όρου νοητικό ηλικίο μετά την πολυπαραγοντική ανάλυση ήταν το χαμηλότερο μορφωτικό επίπεδο της μητέρας (Πίνακας 13).

Πίνακας 13. Προγνωστικοί παράγοντες για χαμηλό IQ

Σημαντικοί προγνωστικοί παράγοντες για κάτω του μέσου όρου scores στο IQ απόδοσης, λεκτικό IQ και πλήρους κλίμακας IQ στη λογιστική ανάλυση					
Μεταβλητή	Προγνωστικός Παράγοντας	Odds ratio	95% CI*	P	
Performance (Απόδοσης) IQ	Μητέρα χωρίς τριτοβάθμια μόρφωση	6.13	1.86, 20.00	0.003	

Verbal (Λεκτικό) IQ	Κύρια γλώσσα επικοινωνίας στο σπίτι όχι Αγγλικά	3.84	1.56, 9.45	0.003
	Πατέρας χωρίς τριτοβάθμια μόρφωση	3.00	1.26, 7.19	0.013
Full-scale (Πλήρους κλίμακας) IQ	Μητέρα χωρίς τριτοβάθμια μόρφωση	4.00	1.41, 11.36	0.009

Leslie GI et al. Hum Reprod 2003;10:2067-2072

*CI: Confidential Intervals

Σε μια μικρότερης κλίμακας μελέτη των Papaligoura et al (2004), στην Ελλάδα, 34 παιδιά ICSI εκτιμήθηκαν, στην ηλικία των 12 μηνών, με την κλίμακα Bayley ως προς τη γνωσιακή τους εξέλιξη. Η σύγκριση των αποτελεσμάτων έγινε με εκείνα που προέκυψαν από την εξέταση 26 παιδιών από IVF κυήσεις και 29 παιδιών με φυσική σύλληψη, τα οποία αποτέλεσαν τις ομάδες μαρτύρων. Κατά την ανάλυση, δεν διαπιστώθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά ως προς τη γνωσιακή εξέλιξη στην ηλικία των 12 μηνών των παιδιών μεταξύ των τριών ομάδων.

Η μελέτη των Leunens et al 2006 ήταν η πρώτη που εκτίμησε παιδιά από IVF/ICSI στην ηλικία των 8 ετών. Συγκεκριμένα μελετήθηκαν 151 παιδιά ηλικίας 8 ετών από μονήρεις κυήσεις μετά από ICSI (ηλικία κύησης >32 εβδομάδων) καθώς και 153 παιδιά από μονήρεις φυσικές συλλήψεις. Κάποια από τα παιδιά αυτά είχαν συμμετάσχει και σε προηγούμενη μελέτη των ίδιων ερευνητών, μέχρι την ηλικία των 5 ετών. Η αξιολόγηση έγινε με τη χρήση Wechsler Intelligence Scale for Children-Revised (WISC-R) and Movement Assessment Battery for Children (ABC). Από τη στατιστική ανάλυση:

- δεν διαπιστώθηκαν διαφορές νοητικού πηλίκου ανάμεσα στα δύο φύλα.
- βρέθηκε όμως μια σχετική αλλά μη στατιστικά σημαντική υπεροχή στο νοητικό πηλίκο των παιδιών ICSI συγκριτικά με αυτά από φυσική σύλληψη, που αποδόθηκε στο καλύτερο μορφωτικό επίπεδο της μητέρας.

Οι ίδιοι ερευνητές επέκτειναν στη συνέχεια τη μελέτη και στα ίδια παιδιά IVF/ICSI μέχρι την ηλικία των 10 ετών και κατέληξαν στα ίδια συμπεράσματα με εξαίρεση την υπεροχή στο νοητικό πηλίκο που δεν εξακολουθούσε να υπάρχει (Leunens et al 2008).

Σε μικρότερο βαθμό έχει εξετασθεί και το ενδεχόμενο να σχετίζονται οι μέθοδοι εξωσωματικής και με διάφορες εκδηλώσεις από την παιδοψυχιατρική σφαίρα. Ειδικότερα, σε ανασκόπηση μελετών που διερευνούσαν το ποσοστό διαταραχών αυτιστικού φάσματος (ΔΑΦ) παιδιών από εξωσωματική γονιμοποίηση, φάνηκε ότι τα συμπεράσματα ήταν ετερόκλητα και οι μελέτες είχαν αρκετούς μεθοδολογικούς περιορισμούς (Hvidtjorn et al 2009). Ενδεικτικά, στη μελέτη των Klemetti et al 2006 εκτιμήθηκε αυξημένος κίνδυνος για ένα ευρύ φάσμα ψυχιατρικών διαταραχών (F80-98) συμπεριλαμβανομένου των ΔΑΦ σε παιδιά που γεννήθηκαν μετά από IVF (OR 1.68, 95% CI 1.11-2.58). Αντιθέτως, οι Maimburg & Væth (2007) αναφέρουν προστατευτική επίδραση (OR 0.37, 95% CI 0.14-0.98) μεταξύ της εξωσωματικής γονιμοποίησης και του αυτισμού στην μελέτη τους σε 473 παιδιά με αυτισμό και 473 μαρτύρων με αντιστοιχία ως προς την υπό μελέτη ομάδα για διάφορους παράγοντες όπως ηλικία κύησης.

6. ΕΠΙΠΤΩΣΕΙΣ ΣΕ ΠΑΙΔΙΑ ΠΟΥ ΓΕΝΝΗΘΗΚΑΝ ΜΕΤΑ ΑΠΟ PGD/PGS: ΥΠΑΡΧΟΥΣΑ ΓΝΩΣΗ

Η παρακολούθηση των παιδιών που γεννιούνται μετά από προεμφυτευτικό γενετικό έλεγχο ως προς την σωματική τους ανάπτυξη, την γενικότερη υγεία και φυσικά την ψυχοκινητική τους εξέλιξη είναι υψίστης σημασίας.

Η εφαρμογή της μεθόδου προεμφυτευτικής γενετικής διάγνωσης, είτε στα πλαίσια της πρόληψης μονογονιδιακών νοσημάτων (PGD) ή στα πλαίσια του αποκλεισμού σοβαρών ανευπλοειδιών σε προεμφυτευτικό στάδιο (PGS) εξαπλώνεται όλο και περισσότερο. Ενδεικτικά, αναφέρουμε ότι μόνο κατά τη

χρονική περίοδο από τον Ιανουάριο του 2005 μέχρι και το Δεκέμβριο του 2007 σύμφωνα με στοιχεία που προέρχονται από 39 κέντρα παγκοσμίως, μεταξύ των οποίων και η Ελλάδα, πραγματοποιήθηκαν 3488 κύκλοι, παρακολουθήθηκαν 845 κυήσεις και γεννήθηκαν 670 παιδιά με PGD/PGS (Goossens et al, 2008).

Η ταχεία εξάπλωση της εφαρμογής της μεθόδου τονίζει και την αναγκαιότητα της παρακολούθησης των παιδιών που θα γεννηθούν ώστε σε βάθος χρόνου να εξαχθούν σαφή, έγκυρα και αξιόπιστα συμπεράσματα ως προς την ασφάλειά της, δεδομένου ότι η ίδια η μέθοδος, που συνίσταται σε βιοψία του αναπτυσσόμενου εμβρύου κατά την 3η μέρα της αυλάκωσης, είναι εξ ορισμού πιο επεμβατική συγκρινόμενη με την κλασική IVF/ICSI (Desmyttere 2009). Πρέπει δηλαδή να διερευνηθεί κατά πόσο ασφαλής είναι η αφαίρεση ενός κυττάρου κατά τα πρώιμα στάδια του αναπτυσσόμενου εμβρύου όχι μόνο για την εξέλιξη του ίδιου του εμβρύου αλλά και για την μετέπειτα υγεία του παιδιού που θα γεννηθεί. Χαρακτηριστικά, η ίδια η ESHRE PGD Consortium υποστηρίζει σε πρόσφατη έκθεσή της ότι:

“ η παρακολούθηση κυήσεων από PGD αλλά και των παιδιών που γεννιούνται, είναι θέμα σωστής πρακτικής και είναι απαραίτητο να ολοκληρώνεται”

(Goossens et al, 2009).

Αν και διεθνώς μέχρι σήμερα, περισσότερα από 2000 μη προσβεβλημένα παιδιά έχουν γεννηθεί με τη μέθοδο PGD, η έκβαση και η εξέλιξη των παιδιών αυτών πέραν της νεογνικής ηλικίας δεν έχει επαρκώς μελετηθεί (Eshre 1999, Eshre 2000, Eshre 2002, Sermon et al 2005, Harper et al 2006, Sermon et al 2007, Harper et al 2008, Goossens et al 2008). Ελάχιστες δε είναι οι μέχρι τώρα σχετικές δημοσιευμένες μελέτες στη διεθνή βιβλιογραφία, τα συμπεράσματα

των οποίων έχουν στηριχτεί σε κλινική εξέταση αυτών των παιδιών, σε αντίθεση με τις πρώτες μελέτες παιδιών PGD, που είχαν περιοριστεί σε προφορική ή γραπτή επικοινωνία με τους γονείς.

Ακολουθώς, αναλύονται μόνο οι κλινικές έρευνες καθώς και τα συμπεράσματα τα οποία προέκυψαν, με μια παράλληλη σύντομη αναφορά στο σχεδιασμό της εκάστοτε μελέτης. Οι παράμετροι που αξιολογήθηκαν στις μελέτες αυτές είναι ήταν η περιγεννητική έκβαση, η προωρότητα και η διδυμία, η νοσηρότητα και η ψυχοσωματική ανάπτυξη των παιδιών PGD/PGS σε σύγκριση είτε με ομάδα ελέγχου παιδιών από φυσική σύλληψη ή παιδιών από απλή ICSI. Το δε γονεϊκό άγχος είχε συνεκτιμηθεί και ως μεταβλητή σε ελάχιστες μελέτες.

Πρέπει να σημειωθεί ότι σε πολλές από τις πρόσφατες αυτές μελέτες γίνεται προσπάθεια σύγκρισης των κυήσεων και των παιδιών από PGD/PGS με κυήσεις και παιδιά ICSI και όχι απαραίτητως αντίστοιχων φυσικής συλλήψεως. Η τακτική αυτή υποστηρίζεται από το γεγονός ότι οι δυο μέθοδοι είναι στενά συνυφασμένες. Επομένως, η διαπίστωση, σε μια μελέτη, μη στατιστικά σημαντικής διαφοράς μεταξύ τους, ως προς τις εξεταζόμενες, επιμέρους παραμέτρους δείχνει ότι ο προεμφυτευτικός γενετικός έλεγχος τουλάχιστον είναι το ίδιο ασφαλής με την κλασική IVF/ICSI.

6.1 ΠΕΡΙΓΕΝΝΗΤΙΚΗ ΠΕΡΙΟΔΟΣ

Πρώτοι οι Banerjee et al (2008) δημοσίευσαν τα αποτελέσματα της μελέτη σχετικά με την έκβαση 49 παιδιών που γεννήθηκαν από PGD/PGS και εκτιμήθηκαν κλινικά στην ηλικία των 18 μηνών. Από τη μελέτη αποκλείστηκαν τα πρόωρα ηλικίας κύησης <32 εβδομάδων και εκείνα που η μητέρα τους δεν ήταν Αγγλόφωνη ή ήταν παιδιά μεταναστών. Διαπίστωσαν ότι τα 12 παιδιά από PGD/PGS (24.5%) είχαν χαμηλό βάρος γέννησης <2500g έναντι του 1 από τα 66 (1.5%) παιδιά φυσικής σύλληψης που συνιστούσαν την ομάδα ελέγχου. Σημαντικά μικρότερη ήταν και η διάρκεια των κυήσεων PGD/PGS (38.2 ± 2.6

εβδομάδες) έναντι των φυσικών κυήσεων (40.0 ± 1.4 εβδομάδες) ($P < 0.0001$). Επίσης το ποσοστό προώρων (< 37 εβδομάδων) ήταν 8.2% στην ομάδα παιδιών PGD/PGS έναντι 1.5% στην ομάδα μαρτύρων. Δεν διαπιστώθηκε διαφορά στη συχνότητα ανάγκης άμεσης ανάνηψης στα νεογνά των δύο ομάδων ή στην συχνότητα εισαγωγής σε μονάδα εντατικής νοσηλείας νεογνών (Banerjee et al 2008).

Σε μεταγενέστερες μελέτες, στο Βέλγιο, από τους Desmyttere et al (2009a, 2009b), η διάρκεια της κύησης και τα σωματομετρικά μεγέθη κατά τη γέννηση και στην ηλικία των 2 ετών δεν φαίνεται να διαφέρουν στατιστικά, μεταξύ των 102 παιδιών PGD/PGS και των 102 παιδιών από απλή ICSI. Στην μελέτη συμπεριελήφθησαν και στις δύο ομάδες παιδιά από μονήρεις και πολύδυμες κυήσεις. Εξαιτίας δε της μικρότερης ηλικίας κατά την κλινική εξέταση των παιδιών PGD/PGS συγκριτικά με εκείνη των παιδιών ICSI, έγινε σύγκριση των Standard Deviation scores (SD scores) (Desmyttere et al 2009a).

Επίσης, οι Desmyttere et al (2009b) αναφέρουν ότι η συχνότητα των καισαρικών τομών σε κυήσεις PGD/PGS ήταν συχνότερη συγκριτικά με κυήσεις από ICSI χωρίς όμως να συνδέεται και με στατιστικά σημαντική αρνητική έκβαση των παιδιών από PGD/PGS. Στην ίδια μελέτη καταγράφηκαν αυξημένες επιπλοκές της κύησης στις μητέρες PGD/PGS συγκριτικά όμως με εγκύους από φυσική σύλληψη, αλλά χωρίς διαφορά ως προς γυναίκες που είχαν υποβληθεί σε ICSI. Στις επιπλοκές αυτές συμπεριλαμβάνονταν ο διαβήτης κύησης, θυρεοειδοπάθειες, υπέρταση κύησης, παθολογία του πλακούντα και πρόωρες συσπάσεις.

Πρόσφατα, οι Liebaers et al (2010) μελέτησαν προοπτικά ομάδες 581 παιδιών (που γεννήθηκαν μετά από 1443 κύκλους PGD και 1310 κύκλους PGS) και 2889 παιδιών ICSI που γεννήθηκαν κατά το χρονικό διάστημα 1991-1999. Στόχος της μελέτης ήταν η εκτίμηση της πιθανής αρνητικής επίδρασης της βιοψίας του εμβρύου (στην συγκεκριμένη μελέτη αφορούσε σε βιοψία βλαστομεριδίου σε έμβρυο 3 ημερών) στην υγεία των παιδιών αυτών γενικότερα. Αναλυτικότερα, η σύγκριση των τριών ομάδων αφορούσε στη μέση

διάρκεια της κύησης, στον αριθμό των προώρων ανά ομάδα ελέγχου (PGD/PGS/ICSI), στο βάρος γέννησης καθώς και στο χαμηλό (<2500g) και πολύ χαμηλό (<1500g) βάρος γέννησης των παιδιών. Για τις παραπάνω μεταβλητές, δεν προέκυψε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των μεθόδων PGD/PGS και ICSI (Liebaers et al 2010).

Στην ίδια μελέτη, το σύνολο των αποβολών ήταν 11 για την ομάδα PGD (3.5%) και 7 αποβολές για την PGS (2.6%). Ένα χαρακτηριστικό εύρημα, ωστόσο, ήταν η στατιστικά σημαντικά αυξημένη περιγεννητική θνησιμότητα - προσδιορισμένη ως ο ενδομήτριος θάνατος του εμβρύου (*death in utero*) ή του νεογνού σε διάστημα 7 ημερών από τον τοκετό- στις ομάδες του προεμφυτευτικού ελέγχου σε σχέση με την ομάδα ICSI. Βρέθηκε ότι η περιγεννητική θνησιμότητα ανερχόταν στην ομάδα PGD/PGS σε 4.6% και ήταν πραγματικά υψηλή δεδομένου ότι στην περιοχή το αντίστοιχο ποσοστό για φυσικές συλλήψεις κυμαίνεται από 0.54% - 0.84% ανάλογα με το αν η κύηση είναι μονήρης ή πολύδυμη. Μετά από εξομάλυνση των δεδομένων ως προς την πολυδυμία, φάνηκε ότι το συγκεκριμένο εύρημα δεν αφορούσε τις μονήρεις αλλά μόνο τις πολύδυμες κυήσεις (Liebaers et al 2010). Η διαφορά στην περιγεννητική θνησιμότητα μεταξύ των δυο ομάδων, σύμφωνα με τους ίδιους μελετητές, δεν μπορεί να ερμηνευτεί απόλυτα και ίσως να σχετίζεται με σφάλμα λόγω του αριθμού του δείγματος (*bias*).

6.2. ΠΟΛΥΔΥΜΕΣ ΚΥΗΣΕΙΣ

Οι Velproest et al (2009) συνέκριναν την συχνότητα μονοζυγωτικών διδύμων μετά από PGD και αυτή των παιδιών από ICSI, δεδομένου ότι η παράμετρος αυτή σχετίζεται με την αυξημένη περιγεννητική θνησιμότητα και τις μείζονες συγγενείς ανωμαλίες. Οι ερευνητές συγκρίνοντας το ποσοστό μονοζυγωτικών διδύμων ανά εμβρυομεταφορά και ανά κλινικά διαπιστωμένη εγκυμοσύνη, ανάμεσα στις ομάδες PGD (ομάδα A: 1992 κύκλοι και εμβρυομεταφορά στην 5^η μέρα) και απλής ICSI (ομάδα B: 2429 κύκλοι, κατά την

ίδια χρονική περίοδο, και εμβρυομεταφορά στην 5^η μέρα), δεν διαπίστωσαν στατιστική διαφορά.

Στη προαναφερθείσα μελέτη των Liebaers et al (2010) τα ποσοστά πολύδυμων κυήσεων σε κυήσεις μετά από προεμφυτευτικό έλεγχο ήταν υψηλά. Αναλυτικότερα, στην ομάδα των PGD, 202 παιδιά προέρχονταν από μονήρεις κυήσεις (67%), 93 από δίδυμες κυήσεις (31%) και 5 από τρίδυμες (1%). Οι αντίστοιχοι αριθμοί στην ομάδα των PGS ήταν 179 (69%), 78 (29%) και 6 (3%).

6.3. ΝΟΣΗΡΟΤΗΤΑ

Η PGD δεν φαίνεται να συνδέεται με αυξημένη νοσηρότητα από σοβαρές παθήσεις μέχρι την ηλικία των 18 μηνών, όπως δείχνει η μελέτη των Banerjee et al, σε μικρό δείγμα 49 παιδιών PGD και 66 παιδιών από φυσική σύλληψη. Αυτό το πρόβλημα επισημαίνεται και από τους ίδιους τους επιστήμονες στην δημοσίευση των πρώτων εξαγωγικών συμπερασμάτων (Banerjee et al 2008).

Η σωματική ανάπτυξη και η νοσηρότητα των παιδιών ηλικίας έως 33 μηνών που γεννήθηκαν μετά από προεμφυτευτική γενετική διάγνωση αποτέλεσε επίσης το αντικείμενο της μελέτης των Desmyttere et al τα αποτελέσματα της οποίας δημοσιεύθηκαν πρόσφατα (2009a). Στόχος της ήταν η αξιολόγηση του κατά πόσο η βιοψία του εμβρύου στα πλαίσια PGD/PGS επηρεάζει την μετέπειτα ανάπτυξη και υγεία των παιδιών που θα γεννηθούν. Δείγμα της μελέτης αποτέλεσαν συνολικά 102 παιδιά (45 αγόρια και 47 κορίτσια) που γεννήθηκαν μετά από PGD/PGS καθώς και 102 παιδιά από ICSI που επιλέγηκαν ως ομάδα ελέγχου και έτσι ώστε να ταιριάζουν ως προς τις επιμέρους παραμέτρους με την πρώτη ομάδα. Η προσέγγιση των γονέων για τη συμμετοχή των παιδιών τους σε αυτή τη μελέτη είχε γίνει πριν ολοκληρωθεί η κύηση. Οι ηλικίες των εξεταζόμενων παιδιών ήταν μεταξύ 21 και 33 μηνών και το ποσοστό συμμετοχής στην ομάδα PGD/PGS ήταν υψηλό (88.7%). Δεν διαπιστώθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά ως προς την παραπομπή στο νοσοκομείο, τη διάρκεια της νοσηλείας σε παιδιατρικά τμήματα, την παραπομπή

για χειρουργικές επεμβάσεις και τα επεισόδια χρόνιων νοσημάτων μεταξύ των δυο ομάδων. Ως χρόνια πάθηση ορίστηκε η παρουσία μιας διαταραχής για τουλάχιστον 3 μήνες σε διάστημα ενός έτους.

6.4. ΜΕΙΖΟΝΕΣ ΣΥΓΓΕΝΕΙΣ ΑΝΩΜΑΛΙΕΣ

Η μελέτη των Liebaers et al (2010) που πραγματοποιήθηκε στο Βέλγιο κατά το διάστημα 1992-2005, αφορούσε σε ένα σύνολο 581 παιδιών που γεννήθηκαν την περίοδο αυτή μετά από προεμφυτευτική γενετική διάγνωση (βιοψία βλαστομεριδίου την 3^η ημέρα από τη γονιμοποίηση) από 1443 και 1310 κύκλους PGD και PGS αντιστοίχως. Τα δεδομένα για τα παραπάνω παιδιά προέρχονταν από καταγραφές των κυήσεων ενώ τα στοιχεία για τα παιδιά ICSI προέρχονταν από την προηγούμενη μελέτη των Bonduelle et al (2002) σε σύνολο 2889 παιδιών ICSI που γεννήθηκαν στο Βέλγιο την περίοδο 1991-1999. Σύμφωνα με τους ερευνητές, τα ποσοστά των μειζόνων ανωμαλιών, ήταν 2.13% σε ζώντα νεογνά από το σύνολο των μονήρων και πολύδυμων κυήσεων PGD/PGS και 3.38% στις αντίστοιχες κυήσεις από ICSI, στατιστικά μη σημαντική διαφορά ως προς τη συγκεκριμένη παράμετρο (βλ. Πίνακες). Στη συγκεκριμένη μελέτη, ο όρος «μείζονες ανωμαλίες» αφορούσε σε εκείνες τις ανωμαλίες που προκαλούσαν είτε λειτουργική ανικανότητα ή έχρηζαν χειρουργικής παρέμβασης (Πίνακας 14 και Πίνακας 15).

Σε μη στατιστική διαφορά ως προς τη συχνότητα των συγγενών ανωμαλιών παιδιών που γεννιούνται μετά από προεμφυτευτικό γενετικό έλεγχο και αυτών που γεννιούνται μετά από ICSI κατέληξαν και οι Desmyttere et al (2009b) οι οποίοι όμως εκτίμησαν τα παιδιά αυτά στην ηλικία των 2 ετών περίπου.

Πίνακας 14. Μείζονες ανωμαλίες σε γεννημένα ζωντανά παιδιά PGD/PGS και σύγκριση με παιδιά ICSI

PGD/PGS (n)				ICSI (n)			OR (95% CI)
	ΠΑΙΔΙΑ	ΣΥΓΓΕΝΕΙΣ	%	ΠΑΙΔΙΑ	ΣΥΓΓΕΝΕΙΣ	%	
	ΑΝΩΜΑΛΙΕΣ			ΑΝΩΜΑΛΙΕΣ			
ΜΟΝΟΔΥΜΑ	381	8	2.09	1499	46	3.06	0.68 (0.27;1.47)
ΠΟΛΥΔΥΜΑ	182	4	2.19	1341	50	3.65	
Δίδυμα	171	4	2.33	1288	45	3.49	0.58 (0.15;1.61)
Τρίδυμα	11	0	0	113	5	4.42	
ΣΥΝΟΛΟ	563	12	2.13	2840	96	3.38	0.62 (0.31;1.15)

Liebaers et al 2010;Hum Reprod 25:275-282

Πίνακας 15. Μείζονες ανωμαλίες

ΜΕΙΖΟΝΕΣ ΣΥΓΓΕΝΕΙΣ ΑΝΩΜΑΛΙΕΣ			
Ανωμαλίες	n	ΕΙΔΟΣ ΑΝΩΜΑΛΙΑΣ	ΤΥΠΟΣ ΚΥΗΣΕΩΣ
Σύνολο	17		
De novo	16		
Έμβρυα από διακοπή κύησης	3	Τετραλογία Fallot	Μονήρης
		Κρανιοσυνόστωση/ ανωμαλίες άκρων	Μονήρης
		Κρανιόσχιση	Μονήρης
Αποβολές	2	Ακαρδία	Τρίδυμη (μονοζυγωτικά δίδυμα και ένα μονήρες κύημα)
Γεννημένα ζώντα νεογνά	11		
Νεογνικός	2	Χυλοθώρακας	Διζυγωτικά δίδυμα

θάνατος		Υπογλωττ. στένωση τραχείας	Διζυγωτικά δίδυμα
Νεογνά που επέζησαν	9	Καρδιοπάθεια	Μονήρης
		Συστροφή όρχεος	Μονήρης
		Μεσοκοιλιακή επικοινωνία	Μονήρης
		Lamellar Ichthyosis *	Μονήρης
		Υποσπαδίας	Μονήρης
		Περινεϊκό λίπωμα	Μονήρης
		Βουβωνοκήλη	Μονήρης
		Ατρησία οισοφάγου	Διζυγωτικά δίδυμα
		Καταρράκτης	Διζυγωτικά δίδυμα
Κληρονομικές	1	Συνδακτυλία 4 ^{ου} -5 ^{ου} δακτύλου	Μονήρης
* Η Lamellar Ichthyosis ήταν αυτοσωματική υπολειπόμενη και δεν ήταν γνωστή στην οικογένεια πριν από την εφαρμογή PGD που έγινε για κυστική ίνωση			

Liebaers et al 2010; Hum Reprod 25:275-282

6.5. ΑΝΑΠΤΥΞΙΟΛΟΓΙΚΗ ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΠΑΙΔΙΩΝ PGD/PGS

Η βιβλιογραφία μέχρι σήμερα παιδιών PGD/PGS ως προς την ψυχοκινητική τους ανάπτυξη περιορίζεται στις ακόλουθες μελέτες. Οι Nekkebroek et al 2008 σχεδίασαν τη μελέτη παιδιών PGD/PGS ως προς την νοητική τους αλλά και την ψυχοκινητική ανάπτυξη. Στην μελέτη αυτή συμμετείχαν 70 παιδιά PGD/PGS και ομάδες ελέγχου αποτέλεσαν 70 παιδιά από ICSI καθώς και 70 παιδιά από φυσική σύλληψη. Οι δυο πρώτες ομάδες προήλθαν από το Κέντρο Ιατρικής Γενετικής στις Βρυξέλλες και η ομάδα της φυσικής σύλληψης από τα τακτικά ιατρεία Παιδιατρικής του Πανεπιστημίου όπως και από ιδιώτες παιδίατρους. Τα παιδιά που συμμετείχαν στη μελέτη κατά τα έτη 2005-2007 ήταν ηλικίας 21 έως 33 μηνών κατά την ημέρα της προσέλευσής τους και προέρχονταν όλα από μονήρεις κυήσεις. Αποκλείστηκαν παιδιά από πολύδυμες κυήσεις προκειμένου να εξαλειφθούν κατά το δυνατό παράγοντες όπως το χαμηλό βάρος γέννησης και προωρότητα, οι οποίοι θα

μπορούσαν να επηρεάσουν την ψυχοκινητική εξέλιξη και κατ' επέκταση τα αποτελέσματα της μελέτης. Τα παιδιά PGD/PGS ανήκαν στην Καυκάσια φυλή και οι μητέρες τους μιλούσαν Ολλανδικά, Γαλλικά ή Αγγλικά και ζούσαν στο Βέλγιο. Αντίστοιχα οι δυο ομάδες ελέγχου συγκροτήθηκαν ώστε να ταιριάζουν ως προς τις εξής επιμέρους παραμέτρους με τα παιδιά PGD/PGS: ηλικία, φύλο, μορφωτικό επίπεδο της μητέρας (ανάλογα με την κατοχή πτυχίου, απολυτηρίου δευτεροβάθμιας εκπαίδευσης ή τίποτα από τα δυο) και τη σειρά τους στην οικογένεια (αν ήταν πρωτότοκα ή όχι). Για το σκοπό αυτό οι μελετητές ήρθαν σε επαφή με 74 γονείς παιδιών ICSI και 79 γονείς παιδιών από φυσική σύλληψη και το ποσοστό συμμετοχής ήταν 94.5% και 88.6% αντιστοίχως. Μια ακόμα παράμετρος που λήφθηκε υπόψη ήταν η τεχνική της βιοψίας του εμβρύου η οποία είτε επρόκειτο για PGD ή για PGS, ήταν βιοψία βλαστομεριδίου στο στάδιο της αυλάκωσης όταν το έμβρυο αποτελείτο από 8 κύτταρα.

Στη μελέτη, και οι 3 ομάδες παιδιών αξιολογήθηκαν αναπτυξιολογικά στην ηλικία των 2 ετών με την χρήση του Bayley Scales of Infant Development προσαρμοσμένου στην Ολλανδική (BSID-II-NL). Η εξέταση έγινε παρουσία πάντα τουλάχιστον του ενός γονέα (κατά προτίμηση της μητέρας) ή της τροφού. Παράλληλα, τα παιδιά εξετάστηκαν κλινικά από παιδίατρο που επιπλέον συμπλήρωνε στοιχεία σχετικά με τα δημογραφικά δεδομένα, την κύηση, τον τοκετό και την περιγεννητική περίοδο. Τα παιδιά όλων των ομάδων αξιολογήθηκαν από τον ίδιο ψυχολόγο και παιδίατρο εφόσον το παιδί δεν ήταν κουρασμένο ή αντίθετα εξαιρετικά ζωηρό.

Την ίδια χρονιά, δημοσιεύθηκαν τα αποτελέσματα ακόμα μιας μελέτης που αφορούσε στην ψυχοκινητική ανάπτυξη παιδιών PGD συγκριτικά με παιδιών από φυσική σύλληψη. Η ψυχοκινητική ανάπτυξη ήταν αντίστοιχη στις δυο ομάδες 49 παιδιών από PGD και 66 παιδιών από φυσική σύλληψη με το μέσο όρο γενικού πηλίκου (General Quotient-GQ) της κλίμακας Griffith να είναι 102.7 (± 13.1) και 103.3 (± 12.8) αντιστοίχως (Banerjee et al 2008).

6.6 ΑΓΧΟΣ ΓΟΝΕΩΝ (PARENTAL STRESS) ΠΑΙΔΙΩΝ ΠΟΥ ΓΕΝΝΗΘΗΚΑΝ ΜΕΤΑ ΑΠΟ PGD/PGS

Το γονεϊκό άγχος έχει μελετηθεί μέχρι σήμερα από δυο μόνο ερευνητικές ομάδες. Οι Banerjee et al (2008), σε μελέτη, που διεξήχθη στο Λονδίνο, 45 παιδιών από PGD και 66 παιδιών από φυσική σύλληψη δεν διαπιστώσαν αυξημένο άγχος στους γονείς παιδιών από PGD συγκριτικά με γονείς που είχαν αποκτήσει παιδί με φυσική σύλληψη. Αντιθέτως μάλιστα βρέθηκε ότι εμφάνιζαν εντονότερη σχέση φροντίδας και συναισθηματικού δεσμού (warmth-affection subscale) και μειωμένα συναισθήματα επιθετικότητας-αντιπάθειας και απόρριψης (aggression-hostility, rejection subscales) στο σχετικό ερωτηματολόγιο (Banerjee et al 2008).

Στο ίδιο συμπέρασμα οδηγήθηκαν και οι Nekkebroek et al (2008), στις Βρυξέλλες, εκτιμώντας 41 γονείς παιδιών PGD/PGS ηλικίας 2 ετών, 35 γονείς παιδιών από ICSI και 53 γονείς με παιδιά από φυσική σύλληψη. Η αξιολόγηση του άγχους βασίστηκε στο ερωτηματολόγιο Γονεϊκού άγχους (Parental Index Score) ενώ χρησιμοποιήθηκε και το General Health Questionnaire για την εκτίμηση της γενικότερης υγείας και ευημερίας των γονέων. Ούτε και ως προς τη δεύτερη παράμετρο προέκυψαν διαφορές μεταξύ των εξεταζόμενων ομάδων.

ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Η Προεμφυτευτική Γενετική Διάγνωση είναι απόλυτα συνδεδεμένη με την Υποβοηθούμενη Αναπαραγωγή και συγκεκριμένα με τη μέθοδο της ενδοωαριακής σπερματέγχυσης (ICSI).

Τα συμπεράσματα από τις μέχρι τώρα συγκριτικές μελέτες μεταξύ παιδιών από IVF/ICSI και παιδιών από φυσική σύλληψη είναι ενίοτε αντικρουόμενα και αυτό οφείλεται ως επί το πλείστον σε μεθοδολογικά προβλήματα των διαφόρων μελετών ή στο μικρό δείγμα.

Πολύ περισσότερο, τα παιδιά που έχουν γεννηθεί με τη βοήθεια PGD/PGS ελάχιστα έχουν μελετηθεί κλινικά ως προς τη σωματική και ψυχοκινητική τους ανάπτυξη. Χαρακτηριστικά αναφέρεται ότι από τις μελέτες που αφορούν σε παιδιά PGD/PGS (Bonduelle et al 2002, Keymolen et al 2003, Banerjee et al 2008, Goossens et al 2008, Nekkebroeck et al 2008, Desmyttere et al 2009a & 2009b, Harper et al 2010, Liebaers et al 2010) μόνο 5 βασίζονται στην κλινική παρακολούθηση των παιδιών αυτών (Banerjee et al 2008, Nekkebroeck et al 2008, Desmyttere et al 2009a & b, Liebaers et al 2010) 3 αφορούν στην ψυχοκινητική εξέλιξη (Keymolen et al 2003, Banerjee et al 2008, Nekkebroeck et al 2008) και 2 στην αξιολόγηση του άγχους των γονέων τους (Banerjee et al 2008, Nekkebroeck et al 2008) αντιστοίχως.

Οι στόχοι της μελέτης διατυπώθηκαν ως εξής:

1. Η κλινική γενετική εξέταση παιδιών ηλικίας 6 μηνών έως και 8 ετών που γεννήθηκαν ύστερα από εφαρμογή προεμφυτευτικής γενετικής διάγνωσης (PGD). Αυτή συνίσταται στην:

- Καταγραφή του είδους και της συχνότητας των μειζόνων και ελασσόνων συγγενών ανωμαλιών στα παιδιά που γεννήθηκαν μετά από PGD.
- Σύγκριση της επίπτωσης των συγγενών ανωμαλιών ως προς τις ήδη γνωστές και καταγεγραμμένες συχνότητες συγγενών ανωμαλιών στο γενικό πληθυσμό, σε παιδιά από IVF/ICSI, καθώς και σε παιδιά από PGD/PGS, όπως αυτά τα δεδομένα προκύπτουν από τη διεθνή βιβλιογραφία. Επιπλέον,

- Η αναζήτηση πιθανών επιβαρυντικών παραγόντων στην εμφάνιση συγγενών ανωμαλιών.

2. Η αναπτυξιολογική εξέταση των παιδιών ηλικίας 6 μηνών έως 8 ετών με την χρήση των Bayley και Griffiths Scales (ανάλογα με την ηλικία του παιδιού) για να ποσοτικοποιηθεί το νοητικό, κινητικό και γενικό πηλίκο και συνεπώς να αξιολογηθεί αντικειμενικά η ψυχοκινητική τους εξέλιξη.

Η επίπτωση εμφάνισης ψυχοκινητικής υστέρησης (κινητικό, νοητικό και γενικό πηλίκο) στα παιδιά που γεννήθηκαν μετά από PGD, συγκρίνεται με το γενικό πληθυσμό και των πληθυσμό παιδιών από IVF/ICSI, σύμφωνα με δεδομένα από τη διεθνή βιβλιογραφία.

3. Η αξιολόγηση του επιπέδου άγχους που βιώνουν οι γονείς των παιδιών αυτών. Συγκεκριμένα,

- η εκτίμηση της κατανομής του άγχους των γονέων που τεκνοποίησαν με τη βοήθεια PGD, με κλίμακες “υψηλό”, “φυσιολογικό”, “χαμηλό”
- η σύγκριση του βαθμού άγχους μεταξύ μητέρων και πατέρων παιδιών από PGD
- η αναζήτηση πιθανών συσχετίσεων με παράγοντες όπως η ηλικία ή το επίπεδο εκπαίδευσης του γονέα που μπορεί να επηρεάζουν τον τελικό βαθμό άγχους. Τέλος,
- η σύγκριση του συνολικού γονεϊκού άγχους αλλά και των επιμέρους παραμέτρων που το συνιστούν, γίνεται μεταξύ των γονέων παιδιών από PGD και γονέων της ομάδας μαρτύρων, την οποία αποτελούν γονείς παιδιών (του γενικού πληθυσμού) από φυσική σύλληψη και αντίστοιχου ηλικιακού εύρους με την ομάδα ελέγχου.

Πρόκειται για την τρίτη κατά σειρά μελέτη με αυτό το αντικείμενο στη διεθνή βιβλιογραφία (Banerjee et al 2008, Nekkebroek et al 2008) και την πρώτη που μελετά το γονεϊκό άγχος γονέων παιδιών που γεννήθηκαν μετά από PGD στον ελληνικό πληθυσμό.

Γενικότερος στόχος της μελέτης είναι η αξιολόγηση της ασφάλειας της προεμφυτευτικής γενετικής διάγνωσης, ως μεθόδου τεκνοποίησης, για την ψυχοκινητική ανάπτυξη, τη σωματική διάπλαση και την υγεία των παιδιών που γεννιούνται με τη βοήθειά της. Οποιοδήποτε εύρημα, ωστόσο, δεν μπορεί να αναιρέσει την πολύτιμη αξία της μεθόδου για ζευγάρια τα οποία προσπαθούν να αποκτήσουν παιδιά ελεύθερα του γενετικού νοσήματος που φέρουν οι γονείς.

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

A. ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

1. ΠΛΗΘΥΣΜΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Η προεμφυτευτική γενετική διάγνωση (PGD) διενεργείται στο Εργαστήριο Ιατρικής Γενετικής του Πανεπιστημίου Αθηνών, τα τελευταία 10 και πλέον έτη, και συγκεκριμένα από το 1997. Καταγράφονται λεπτομερώς τόσο τα στοιχεία που αφορούν στη μέθοδο αυτή καθαυτή όσο και στοιχεία των ζευγαριών που υποβλήθηκαν σε προεμφυτευτική γενετική διάγνωση. Επιπλέον, ανευρίσκονται στα αρχεία του εργαστηρίου οι ενδείξεις για την εφαρμογή της PGD καθώς και τα δεδομένα των κυήσεων που προκύπτουν. Η έκβαση της όλης προσπάθειας καταχωρείται με λεπτομέρεια. Όλα τα ανωτέρω στοιχεία καταγράφονται ανώνυμα και αποστέλλονται στην ESHRE PGD Consortium (European Society of Human Reproduction and Embryology) μέλος της οποίας είναι το Εργαστήριο Ιατρικής Γενετικής του Πανεπιστημίου Αθηνών. Όμως, τα στοιχεία μπορούν να χρησιμοποιηθούν από το ίδιο το Εργαστήριο για τη βελτίωση παραμέτρων που αφορούν στην τεχνική της μεθόδου και κατά συνέπεια στην αύξηση της αποτελεσματικότητάς της.

Το υλικό της μελέτης προήλθε από αυτά τα αρχεία των κυήσεων που ολοκληρώθηκαν μετά από PGD ανάλυση στο Εργαστήριο Ιατρικής Γενετικής του Πανεπιστημίου Αθηνών, κατά τη χρονική περίοδο 1996 έως και 2010).

Στο διάστημα αυτό, πραγματοποιήθηκαν συνολικά 548 κύκλοι προεμφυτευτικής γενετικής διάγνωσης για αποκλεισμό μονογονιδιακών νοσημάτων σε 309 ζευγάρια φορέων (συνηθέστερα μεσογειακών συνδρόμων)

που επιθυμούσαν να αποκτήσουν παιδί απαλλαγμένο μονογονιδιακού νοσήματος. Οι γονείς είχαν υποβληθεί ήδη σε πολλαπλές διακοπές φυσικών κυήσεων ύστερα από προγεννητική διάγνωση του νοσήματος στο έμβρυο ή είχαν αποκτήσει ήδη πάσχοντα απόγονο. Μετά από διενέργεια PGD στα 309 ζευγάρια, ολοκληρώθηκαν 136 κυήσεις από τις οποίες γεννήθηκαν 186 παιδιά (Πίνακας 16).

Πίνακας 16. Δεδομένα εφαρμογής Προεμφυτευτικής Γενετικής Διάγνωσης (PGD) του Εργαστηρίου Ιατρικής Γενετικής Πανεπιστημίου Αθηνών για την περίοδο 1996 έως και 2010.

	Κύκλοι PGD	Ζευγάρια	Ολοκληρωμένες Κυήσεις	Παιδιά που γεννήθηκαν
Μεσογειακά σύνδρομα	497	271	122	166
Κυστική ίνωση	32	22	9	14
Σπανια μονογονιδιακά νοσήματα	19	16	5	6
ΣΥΝΟΛΟ	548	309	136	186

Μετά από τηλεφωνική επικοινωνία με τους γονείς, που είχε κυρίως στόχο την κατανόηση από μέρους τους του σκοπού της μελέτης, εφόσον φυσικά οι ίδιοι το επιθυμούσαν, τα παιδιά προσέρχονταν για κλινική γενετική και αναπτυξιολογική εκτίμηση μαζί με τους γονείς τους. Προηγείτο ενυπόγραφη συγκατάθεση των γονέων και διαβεβαίωση για την ανώνυμη χρήση των ευρημάτων για τους σκοπούς της μελέτης.

Τον πληθυσμό της μελέτης συνιστούσαν:

- α) τα παιδιά που γεννήθηκαν μετά από διενέργεια PGD
- β) οι αντίστοιχες κυήσεις μετά από διενέργεια προεμφυτευτικής γενετικής διάγνωσης που οδήγησαν στη γέννηση των παιδιών αυτών και
- γ) οι γονείς των παιδιών.

Για τον τελικό στόχο της μελέτης, δηλαδή τη σύγκριση του βαθμού άγχους των γονέων παιδιών προερχόμενων από PGD κυήσεις και αυτών από φυσική σύλληψη, συγκροτήθηκε η ομάδα μαρτύρων. Την ομάδα αυτή αποτελούσαν παιδιά (ηλικίας αντίστοιχης με αυτή των παιδιών PGD) που προέρχονταν από φυσική σύλληψη και ο ένας από τους γονείς τους. Η ομάδα αυτή επιλέχθηκε από το γενικό πληθυσμό (βρεφονηπιακοί σταθμοί/ σχολεία διαφόρων περιοχών της Αττικής) και ήταν παιδιά βρεφονηπιακής, νηπιακής και παιδικής ηλικίας, ποικίλης κοινωνικο-οικονομικής διαστρωμάτωσης. Στην ομάδα μαρτύρων, καταγράφηκε μόνο το φύλο και η ακριβής ηλικία σε μήνες του παιδιού ενώ ο γονέας που το συνόδευε, συναίνεσε και συμπλήρωσε το ερωτηματολόγιο του γονεϊκού άγχους Parental Stress Index-Short Form (PSI-SF).

Τα ευρήματα τόσο της κλινικής γενετικής εξέτασης όσο και της αναπτυξιολογικής εκτίμησης των παιδιών, συγκρίθηκαν με εκείνα της διεθνούς βιβλιογραφίας για παιδιά που γεννήθηκαν με εξωσωματική γονιμοποίηση χωρίς PGD και για εκείνα που γεννήθηκαν μετά από PGD/PGS.

2. ΔΗΜΟΓΡΑΦΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ

2.1. ΠΛΗΘΥΣΜΟΣ “ΠΑΙΔΙΑ”

Περιλαμβάνονται συνολικά 53 παιδιά που γεννήθηκαν μετά από διενέργεια PGD, εκ των οποίων 27 ήταν άρρενα και 26 θήλεα. Τα παιδιά αυτά γεννήθηκαν από 39 ζευγάρια και ισάριθμες κυήσεις. Η τηλεφωνική επικοινωνία κατέστη εφικτή με τις οικογένειες 125 παιδιών. Από αυτά τα 72, όπως ήδη αναφέρθηκε, δεν προσήλθαν για εκτίμηση. Οι γονείς τους, αιτιώμενοι κυρίως την μεγάλη απόσταση και την ταλαιπωρία των παιδιών, διαβεβαίωσαν ότι δεν συνέτρεχε λόγος ανησυχίας. Εντούτοις, δεν συμπεριελήφθησαν στη μελέτη. (Ποσοστό συμμετοχής 42.4%.

Στον ανωτέρω πληθυσμό περιλαμβάνονται 2 νεογνά (1 από δίδυμη και 1 από τρίδυμη κύηση) που απεβίωσαν κατά την περιγεννητική περίοδο και για τα οποία υπήρξαν μόνο πληροφορίες σχετικές με την κύηση, τις περιγεννητικές

επιπλοκές, το φύλο και την αιτία θανάτου. Και τα δυο ήταν θήλεα, πρόωρα 28 εβδομάδων και η αιτία θανάτου απεδόθη σε σηψαιμία.

Στον Πίνακα 17 φαίνεται η κατανομή των παιδιών ανά φύλο, πολυδυμία και διάρκεια κύησης.

Πίνακας 17. Κατανομή των παιδιών PGD της μελέτης ανά φύλο, πολυδυμία και διάρκεια κύησης.

	Θήλεα n=26	Άρρενα n=27
Πρόωρα	15	10
Τελειόμηνα	11	17
Από απλή κύηση	13	15
Από πολύδυμη κύηση	13	12

Το ηλικιακό εύρος των παιδιών που γεννήθηκαν μετά από PGD και προσήλθαν για εξέταση ήταν 6 μηνών έως και 7.5 ετών. Στον Πίνακα 18, φαίνεται ότι τα περισσότερα παιδιά από PGD όταν εξετάστηκαν ήταν στην ηλικία των 6-36 μηνών. Αντίστοιχα, τα παιδιά από φυσική σύλληψη (ομάδα μαρτύρων για την αξιολόγηση του γονεϊκού άγχους) ήταν μεγαλύτερης ηλικίας (Πίνακας 18).

Πίνακας 18. Κατανομή ανά ηλικιακή ομάδα εξέτασης παιδιών PGD (ομάδα ελέγχου) και παιδιών ομάδας μαρτύρων.

Ηλικιακή ομάδα (μήνες)	6-12	13-36	37-60	≥61	Σύνολο
Παιδιά PGD- Ομάδα ελέγχου	26	17	3	5	51
Παιδιά από φυσική σύλληψη- Ομάδα μαρτύρων	2	17	24	9	52

2.2. ΠΛΗΘΥΣΜΟΣ “ΚΥΗΣΕΙΣ”

Στο σύνολο 39 κυήσεων που προηγήθηκε PGD (38 με αναλυτικά καταγεγραμμένα όλα τα δεδομένα) και από τις οποίες γεννήθηκαν 53 νεογνά, οι 12 ήταν πρόωρες και οι 36 τελειόμηνες. Στην συγκεκριμένη μελέτη, ως **προωρότητα** ορίστηκε η γέννηση παιδιού με ηλικία κύησης μικρότερη ή ίση των 36 εβδομάδων. Η κατανομή τους ως προς τη διάρκεια, τον αριθμό των κυημάτων καθώς και τη μέθοδο τοκετού φαίνεται στους Πίνακες 19-22.

Πίνακας 19. Διάρκεια κυήσεων PGD

Διάρκεια κυήσεων	n=38
Πρόωρες(≤36 εβδ)	12
Τελειόμηνες (>36 εβδ)	26

Πίνακας 20. Πρόωρες κυήσεις PGD – κατανομή με βάση τη διάρκεια της κύησης

Διάρκεια κύησης PGD	28 εβδ	33 εβδ	34 εβδ	35 εβδ	36 εβδ
Σύνολο n=12	2	1	1	2	6

Πίνακας 21. Είδος κυήσεων PGD βάσει του αριθμού των κυημάτων

Είδος κυήσεων	n=39
Μονήρης	28
Δίδυμη	8
Τρίδυμη	3

Πίνακας 22. Είδος τοκετού στις κυήσεις PGD

Κυήσεις (n=39)	Φυσιολογικός τοκετός (n=5)	Καισαρική τομή (n=34)
Μονήρης	5	23
Δίδυμη	0	8
Τρίδυμη	0	3

Ο αριθμός των μεταφερόμενων προς εμφύτευση εμβρύων καταγράφηκε σε 35 κυήσεις. Στις 12 μεταφέρθηκαν μέχρι και 2 έμβρυα στη μήτρα ενώ στις υπόλοιπες πάνω από 2, αλλά σε καμιά πάνω από 4 (Πίνακας 23). Η εξέλιξη των κυήσεων σε μονήρεις ή πολύδυμες, στη συνέχεια, έγινε είτε μετά από μείωση ή με αυτόματη υποστροφή ενός ή περισσοτέρων εμβρύων. Σε μια μόνο περίπτωση καταγράφηκε το φαινόμενο του εξαφανιζόμενου διδύμου σε ηλικία κύησης 8 εβδομάδων και η κύηση εξελίχθηκε τελικά σε μονήρη.

Πίνακας 23. Κατανομή κυήσεων σε σχέση με τον αριθμό των μεταφερόμενων εμβρύων

	Αριθμός μεταφερόμενων εμβρύων	
	≤2	>2
Κυήσεις (n=36)	12	33

Τα αναλυτικά αίτια διενέργειας PGD στα ζευγάρια που συμμετείχαν στην μελέτη, κατηγοριοποιήθηκαν και απεικονίζονται στον Πίνακα 24. Το μονογονιδιακό νόσημα που συχνότερα αποτελούσε ένδειξη για PGD ήταν τα μεσογειακά σύνδρομα (β-μεσογειακή, βδ μεσογειακή και δρεπανοκυτταρική αναιμία) και ακολουθούσε η κυστική ίνωση, η μυοτονική δυστροφία και η αμαύρωση Leber.

Πίνακας 24. Κατηγοριοποίηση αιτιών διενέργειας PGD στις κυήσεις της μελέτης.

Αίτια PGD σε σύνολο 39 κυήσεων	n=39
Ετεροζυγωτία μεσογειακού συνδρόμου	30
Ετεροζυγωτία μεσογειακού συνδρόμου και ολιγοασθενοσπερμία	2
Ετεροζυγωτία μεσογειακού συνδρόμου και απόφραξη σαλπίγγων	2
Ετεροζυγωτία μεσογειακού συνδρόμου και καρδιοπάθεια	1
Κυστική ίνωση και αζωοσπερμία	1
Μυοτονική δυστροφία	1
Αμαύρωση Leber	1
Άλλα	1

2.3. ΠΛΗΘΥΣΜΟΣ “ΓΟΝΕΙΣ”: ΔΗΜΟΓΡΑΦΙΚΟΙ ΚΑΙ ΚΟΙΝΩΝΙΚΟ-ΟΙΚΟΝΟΜΙΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ

Οι γονείς των παιδιών που γεννήθηκαν μετά από PGD ήταν ελληνικής καταγωγής, φορείς σοβαρού μονογονιδιακού νοσήματος, με πολλαπλές αποτυχίες τεκνοποίησης υγιούς παιδιού, ως προς το ελεγχόμενο νόσημα, ή με ήδη πάσχον παιδί στην οικογένεια. Το κοινωνικο-οικονομικό τους επίπεδο ήταν ποικίλο, όπως άλλωστε και η ηλικιακή τους κατανομή και το επίπεδο εκπαίδευσής τους.

Για τους 78 γονείς (39 ζεύγη) των 53 παιδιών που γεννήθηκαν μετά από PGD, υπάρχουν δεδομένα για την ηλικία τους και το μορφωτικό τους επίπεδο, καθώς και την ύπαρξη ετεροζυγωτίας ή ομοζυγωτίας για το ελεγχόμενο μονογονιδιακό νόσημα. Στους Πίνακες 25 και 26 φαίνεται η κατανομή των 78 γονέων (39 ζεύγη) των παιδιών που γεννήθηκαν μετά από PGD ως προς την ηλικία και το μορφωτικό επίπεδο.

Στην τελική μελέτη του γονεϊκού άγχους συμμετείχαν συνολικά 49 γονείς παιδιών PGD, εκ των οποίων οι 10 ήταν ζευγάρι, με αποτέλεσμα να αναλυθούν 39 μόνο ερωτηματολόγια γονέων παιδιών PGD.

Την ομάδα μαρτύρων αποτέλεσαν οι 52 γονείς παιδιών από φυσική σύλληψη που επιλέχθηκαν από το γενικό πληθυσμό και ήταν ποικίλου κοινωνικο-οικονομικού επιπέδου. Όπως έχει ήδη αναφερθεί, για τους γονείς αυτούς δεν συγκεντρώθηκαν στοιχεία σχετικά με την ηλικία τους ή το μορφωτικό τους επίπεδο.

Πίνακας 25. Κατανομή γονέων παιδιών PGD ανά ηλικιακή ομάδα.

Ηλικία γονέα παιδιών PGD	Μητέρες n=39	Πατέρες n=39
≤30 ετών	0	0
31-35 ετών	19	2
36-40 ετών	13	20
≥41 ετών	7	17

Πίνακας 26. Κατανομή γονέων παιδιών από PGD ανά διάρκεια εκπαίδευσης.

Κατηγορία εκπαίδευσης γονέων παιδιών PGD	Μητέρες n=39	Πατέρες n=39
≤15 έτη (βασική- ανώτερη)	24	19
>15 έτη (ανωτάτη)	15	20

3. ΕΡΩΤΗΜΑΤΟΛΟΓΙΑ

3.1. ΕΡΩΤΗΜΑΤΟΛΟΓΙΟ ΚΛΙΝΙΚΗΣ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΕΚΤΙΜΗΣΗΣ

Για τον καλύτερο και ενιαίο τρόπο γενετικής εκτίμησης των παιδιών της μελέτης, χρησιμοποιήθηκε ερωτηματολόγιο (βλ. Παράρτημα) στο οποίο καταγράφονταν αναλυτικά δεδομένα που αφορούσαν στον λόγο διενέργειας προεμφυτευτικής γενετικής διάγνωσης, τον αριθμό των μεταφερόμενων εμβρύων και επιπλέον, στοιχεία που αφορούσαν:

- στην παρούσα κύηση (διάρκεια, φαρμακευτική αγωγή, επιπλοκές, προγεννητικός έλεγχος και παρακολούθηση)
- στοιχεία που αφορούσαν στο νεογνό (επιπλοκές κατά την άμεση περιγεννητική περίοδο και μείζονες ανωμαλίες, σωματομετρικά κατά τη γέννηση και εκατοστιαίες θέσεις αυτών, APGAR score) και
- αναλυτικά δεδομένα από την παρούσα κλινική εξέταση και το ατομικό ιστορικό (σωματομετρικά και εκατοστιαίες θέσεις αυτών κατά την εξέταση, μείζονες και ελάσσονες συγγενείς ανωμαλίες και περιγραφή τους, αδρή ψυχοκινητική εξέλιξη-στάδια ορόσημα).

Σύμφωνα με τη “Διεθνή Στατιστική Ταξινόμηση των παθήσεων και των συναφών προβλημάτων υγείας” International statistical classification of diseases and related health problems, tenth revision (ICD-10) οι **συγγενείς ανωμαλίες** (αποκαλούμενες ως “birth defects” στο ICD-10) είναι ανατομικές ή λειτουργικές ανωμαλίες, συμπεριλαμβανομένων μεταβολικών διαταραχών, που εμφανίζονται ήδη από τη γέννηση. Αφορούν σε μια ετερογενή ως προς την αιτιολογία τους κατηγορία, αφού μπορεί να αποδίδονται σε μονογονιδιακές ανωμαλίες ή χρωμοσωμικές ανωμαλίες, σε πολυπαραγοντική κληρονομικότητα, τερατογόνους παράγοντες του περιβάλλοντος και έλλειψη θρεπτικών συστατικών π.χ. ιχνοστοιχείων, βιταμινών κ.ά (World Health Organization assembly April 2010).

Στην παρούσα έρευνα, ως **μείζονες** χαρακτηρίζονται εκείνες οι συγγενείς ανωμαλίες που δημιουργούν σοβαρό ανατομικό ή λειτουργικό πρόβλημα στο άτομο και για αυτό άλλωστε και χρήζουν χειρουργικής αποκατάστασης ή άλλης ιατρικής παρέμβασης. Αντιθέτως, οι **ελάσσονες** συγγενείς ανωμαλίες είναι φαινοτυπικά χαρακτηριστικά που δεν διαταράσσουν την υγεία ή την λειτουργικότητα του ατόμου (Bonduelle et al 2002).

3.2. ΚΛΙΜΑΚΕΣ ΑΝΑΠΤΥΞΙΟΛΟΓΙΚΗΣ ΕΚΤΙΜΗΣΗΣ

Η αναπτυξιολογική εκτίμηση των παιδιών του δείγματος έγινε με την χρήση των κλιμάκων Bayley και Griffiths (Griffiths 1996, Bayley 2006). Στην παρούσα μελέτη, επιλέχθηκε για παιδιά μέχρι 3.5 ετών η κλίμακα Bayley, και για παιδιά μεγαλύτερης ηλικίας η κλίμακα Griffiths. Έγινε η απαραίτητη διόρθωση της ηλικίας βάσει της προωρότητας μέχρι την ηλικία των 2 ετών.

Η κλίμακα Bayley, η οποία και χρησιμοποιήθηκε στην πλειονότητα των παιδιών της μελέτης, δημοσιεύθηκε για πρώτη φορά από την Nancy Bayley (1993) και έκτοτε εφαρμόζεται παγκοσμίως για την αναπτυξιολογική εκτίμηση παιδιών ηλικίας έως και 3 ετών με δοκιμασίες που διαρκούν περί τα 45-60 λεπτά. Η κλίμακα Bayley (3^η έκδοση) χρησιμοποιείται για να υπολογίσει το αναπτυξιακό επίπεδο των νηπίων ηλικίας έως και 3.5 ετών (42 μηνών) και να βοηθήσει στην έγκαιρη διάγνωση τυχόν υστέρησης (κινητικής ή νοητικής) και στο σχεδιασμό της θεραπείας για παιδιά που υπολείπονται στον ένα ή και στους δυο τομείς. Η δοκιμασία, με χρήση υλικοτεχνικής υποδομής (Εικόνα 7) κατάλληλης ως προς την ηλικία του εξεταζομένου και τα αναμενόμενα στάδια/ορόσημα της ψυχοκινητικής του ανάπτυξης, αξιολογώντας τις δυνατότητες του παιδιού σε γνωστικό, λεκτικό (αντίληψη και εκφορά του λόγου), κινητικό (αδρή και λεπτή κινητικότητα) και συμπεριφορικό επίπεδο, υπολογίζει το γνωστικό (mental score), κινητικό (motor score) και γενικό πηλίκο ανάπτυξης (general quotient).

Εικόνα 7. Υλικό για αξιολόγηση με την Κλίμακα Bayley



Θα πρέπει ωστόσο να τονιστεί ότι η κλίμακα αυτή δεν είναι σχεδιασμένη για να προσδιορίσει με ακρίβεια το αναπτυξιακό επίπεδο του εξεταζόμενου τα δε “ηλικιακά ισοδύναμα” (developmental age equivalents) ή οι προκύπτουσες βαθμολογίες ανάπτυξης (growth scores) δεν μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τον υπολογισμό του Νοητικού πηλίκου (IQ) ή του αναπτυξιακού αντιστοίχως. Αντιθέτως, η κλίμακα εμπεριέχει μια σειρά Δεικτών Κινδύνου υπολειπόμενης ανάπτυξης που μπορεί να αποβούν χρήσιμοι στο σχεδιασμό και προγραμματισμό έγκαιρης και κατάλληλης παρέμβασης.

Με την κλίμακα Griffiths αξιολογούνται παιδιά **και** μεγαλύτερης ηλικίας, (η κλίμακα έχει εφαρμογή σε παιδιά ηλικίας 0-8 ετών) αφού με τη δοκιμασία αυτή εκτιμάται λεπτομερέστερα η ανάπτυξη του παιδιού στις εξής υποκατηγορίες:

- αδρή κινητική ικανότητα (locomotor): ισορροπία, συντονισμός και έλεγχος κινήσεων.
- προσωπικό και κοινωνικό επίπεδο (social skills): δραστηριότητες της καθημερινότητας, επίπεδο ανεξαρτησίας και αλληλεπίδρασης με άλλα παιδιά.
- λεκτική ικανότητα (hearing and speech): αντίληψη και εκφορά λόγου

- συντονισμός ματιών και χειρών (hand and eye co-ordination): λεπτή κινητικότητα, κυρίαρχο χέρι και ικανότητα οπτικής παρακολούθησης.
- επίδοση (performance): δεξιότητες όραση-αντίληψης χώρου συμπεριλαμβανομένης της ταχύτητας και της εκτέλεσης με ακρίβεια
- κριτική σκέψη (practical reasoning)

Τόσο με την κλίμακα Bayley όσο και με την Griffiths καθίσταται εφικτή η ποσοτικοποίηση του Γενικού Πηλίκου (General Developmental Quotient/GeQ), το οποίο ειδικά στην Bayley ορίζεται ως μέσος όρος Νοητικού (Mental Quotient/MeQ) και του Κινητικού πηλίκου (Motor Quotient/MoQ).

Η διαβάθμιση και των τριών αυτών μεγεθών, βάσει της οποίας προσδιορίζεται το φυσιολογικό ή μη του αποτελέσματος της εξέτασης, φαίνεται στον Πίνακα 27.

Πίνακα 27. Ταξινόμηση αναπτυξιακών πηλίκων ως προς την αξιολόγησή τους ως φυσιολογικά ή μη.

Χαρακτηρισμός /Normality	Τιμή Γενικού πηλίκου (General Developmental Quotient/ General quotient)
Σοβαρή υστέρηση	≤69
Υστέρηση/υπολειπόμενη ανάπτυξη	70-85
Φυσιολογικό	86-115
Υψηλότερο του φυσιολογικού	≥116

3.3. ΕΡΩΤΗΜΑΤΟΛΟΓΙΟ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗΣ ΓΟΝΕΪΚΟΥ ΑΓΧΟΥΣ

Η εκτίμηση του Γονεϊκού Άγχους έγινε με τη βοήθεια ειδικού ερωτηματολογίου γνωστού και ως **Parental Stress Index/ Short Form (PSI-SF)** τροποποιημένου για τα ελληνικά δεδομένα. Το ερωτηματολόγιο PSI έχει διαπιστωθεί ότι έχει πολύ υψηλή αξιοπιστία στην εξέταση-επανεξέταση σε διάστημα 6 μηνών. Η εγκυρότητα δε της μεθόδου έχει επίσης εγκριθεί για την εκτεταμένη μορφή του ερωτηματολογίου ενώ η συνοπτική μορφή του (PSI-SF) προσεγγίζει σε εξαιρετικό βαθμό αυτές τις παραμέτρους του εκτεταμένου ερωτηματολογίου (McMahon et al 2003).

Το ερωτηματολόγιο αποτελείται από 36 ερωτήσεις στις οποίες ο γονέας απαντά σε μια κλίμακα 1-5 (1: Διαφωνώ πολύ 2: Διαφωνώ 3: Δεν είμαι σίγουρος 4: Συμφωνώ και 5: Συμφωνώ πολύ). Τα συμπληρωμένα νούμερα αθροίζονται κατά καθορισμένες ομάδες ερωτήσεων και αξιολογούνται οι 5 υποκατηγορίες γονεϊκού άγχους. Αυτές είναι:

I) Βαθμολογία Αμυντικής Απάντησης - Defensive Responding Score (DR)

(άθροισμα των ερωτήσεων 1,2,3,7,8,9,11) εκτιμά κατά πόσο οι γονείς προσεγγίζουν το ερωτηματολόγιο με ισχυρό στατιστικό σφάλμα, δηλαδή να προβάλουν την πιο επιθυμητή εικόνα για τον εαυτό τους και έτσι να ελαττώνουν στοιχεία που δείχνουν κάποιο άγχος ή προβλήματα στη σχέση με το παιδί τους

II) Βαθμολογία Φόρτισης Γονέα- Parental Distress Score (PD) (ερωτήσεις 1-12) προσδιορίζει το άγχος που προκύπτει στο γονέα από το γονεϊκό του ρόλο

III) Βαθμολογία Δυσλειτουργικής αλληλεπίδρασης Γονέα-Παιδιού - Parent-Child Dysfunctional Interaction Score (RCDI) (ερωτήσεις 13-24), δείχνει πόσο επαρκώς εγκατεστημένη είναι η σχέση γονέα-παιδιού

IV) Βαθμολογία Δύσκολου Παιδιού - Difficult Child Score (DC) (ερωτήσεις 25-36), εστιάζει σε κάποια βασικά στοιχεία συμπεριφοράς του παιδιού που μπορεί να δυσκολέψουν το γονέα στο χειρισμό του παιδιού και

V) Βαθμολογία Συνολικού Άγχους - Total Stress Score (PSI) (άθροισμα του PD, PCDI και του DC αλλά όχι του DR), απεικονίζει το επίπεδο του γονεϊκού άγχους, συνολικά.

Οι υπολογιζόμενες τιμές του PD, PCDI, DC, PSI τοποθετούνται σε ειδικούς πίνακες εκατοστιαίων θέσεων και η αξιολόγηση στη συνέχεια γίνεται σύμφωνα με τους ορισμούς που φαίνονται Πίνακα 28.

Πίνακα 28. Ταξινόμηση παραμέτρων ερωτηματολογίου PSI-SF*

Χαρακτηρισμός/Normality για τα PD, PCDI, DC, PSI	Εκατοστιαία θέση μέτρησης για τα PD, PCDI, DC, PSI
Χαμηλό	$\leq 15^{\text{ης}}$
Φυσιολογικό	16-84
Υψηλό	$\geq 85^{\text{ης}}$

*PSI-SF: Parental Stress Index-Short Form

Μόνη εξαίρεση αποτελεί το DR στο οποίο η τιμή (και όχι η εκατοστιαία θέση) που μας ενδιαφέρει είναι το 10. **DR $\leq$ 10** ερμηνεύεται ως εξής:

1) ότι ο γονέας προσεγγίζει το ερωτηματολόγιο με αμυντική στάση και επιθυμία να προβάλει την εικόνα ενός επαρκούς γονέα που είναι ελεύθερος άγχους σχετικά με το ρόλο του ή

2) δεν έχει ταυτιστεί με το ρόλο του ως γονέα άρα δεν εμφανίζει και το σχετικό άγχος ή τέλος

3) είναι πραγματικά ένας πολύ ικανός γονέας, που αντιμετωπίζει εξαιρετικά τις υποχρεώσεις που απορρέουν από το ρόλο του και επιπλέον έχει εξαιρετική σχέση με τους άλλους, συμπεριλαμβανομένου φυσικά του/της συζύγου.

B. ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Οι ποσοτικές μεταβλητές παρουσιάζονται ως μέσες τιμές $\pm$ τυπικές αποκλίσεις (ΤΑ), εάν ακολουθούν την κανονική κατανομή, ενώ οι μεταβλητές που δεν κατανέμονται κανονικά, παρουσιάζονται ως διάμεσος και 2,5ό – 97,5ό εκατοστημόριο (εκατοστιαία θέση). Οι κατηγορικές τιμές παρουσιάζονται ως απόλυτες τιμές και σχετικές συχνότητες (%).

Για τη διερεύνηση της ύπαρξης συσχέτισης μεταξύ δύο κατηγορικών μεταβλητών εφαρμόστηκε ο έλεγχος χ^2 και ο έλεγχος Fisher's exact test (όπου δεν ίσχυαν οι προϋποθέσεις εφαρμογής του ελέγχου χ^2).

Ο στατιστικός έλεγχος Student's t-test και η Ανάλυση Διακύμανσης (Analysis of Variance-ANOVA) εφαρμόστηκε για τον έλεγχο της διαφοράς στις μέσες τιμές μεταξύ ποσοτικών και κατηγορικών μεταβλητών με 2 ή περισσότερες κατηγορίες. Προϋπόθεση για την εφαρμογή της, είναι η κανονική κατανομή των τιμών ενώ, για τις μεταβλητές που δεν ακολουθούν κανονική κατανομή, χρησιμοποιήθηκε ο στατιστικός έλεγχος των Mann-Whitney και των Kruskal-Wallis.

Επίσης εφαρμόστηκε ανάλυση πολλαπλής λογαριθμιστικής παλινδρόμησης για τη διερεύνηση της επίδρασης διαφόρων χαρακτηριστικών των υπό μελέτη παιδιών στην παρουσία μείζονος γενετικής ανωμαλίας καθώς και στην παρουσία νοητικής, κινητικής και γενικής υστέρησης, λαμβάνοντας υπ' όψιν την επίδραση διαφόρων συγχυτικών παραγόντων.

Σε κάθε λογαριθμιστικό υπόδειγμα, ως επίπεδο σημαντικότητας ελήφθη $P < 0,05$.

Για όλες τις αναλύσεις των δεδομένων της παρούσας εργασίας, χρησιμοποιήθηκε το στατιστικό πρόγραμμα STATA (STATA Corp., College Station, Texas, USA) χρησιμοποιήθηκε.

Γ. ΤΗΡΗΣΗ ΚΑΝΟΝΩΝ ΗΘΙΚΗΣ-ΔΕΟΝΤΟΛΟΓΙΑΣ

Η ερευνητική μελέτη εγκρίθηκε, μετά την υποβολή των απαιτούμενων δικαιολογητικών και την τήρηση κανόνων ηθικής και δεοντολογίας, από το Επιστημονικό Συμβούλιο του Νοσοκομείου Παιδών “Η Αγία Σοφία”.

Η συμμετοχή στην μελέτη έγινε ύστερα από ενημέρωση των γονέων, τόσο των παιδιών που γεννήθηκαν μετά από προεμφυτευτική γενετική διάγνωση όσο και των παιδιών της ομάδας ελέγχου, σχετικά με το σκοπό της μελέτης. Δεν απαιτήθηκε νοσηλεία, αιμοληψία ή οποιαδήποτε επεμβατική ιατρική πράξη στους συμμετέχοντες. Η χρήση των στοιχείων που προέκυψαν από την κλινική γενετική και αναπτυξιολογική εξέταση καθώς και από τη συμπλήρωση των ερωτηματολογίων έγινε με την έγγραφη συγκατάθεση του γονέα. Η ανωνυμία και το απόρρητο διασφαλίστηκε τόσο για τη στατιστική ανάλυση όσο και την παρουσίαση των αποτελεσμάτων της μελέτης.

Η παρούσα έρευνα δεν εξυπηρετεί κανένα οικονομικό συμφέρον.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Α. ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΠΑΙΔΙΩΝ ΠΟΥ ΓΕΝΝΗΘΗΚΑΝ ΜΕΤΑ ΑΠΟ PGD-ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

1. ΣΥΓΓΕΝΕΙΣ ΑΝΩΜΑΛΙΕΣ

Στην παρούσα μελέτη η γενετική εκτίμηση επικεντρώθηκε στα αποτελέσματα της κλινικής γενετικής εξέτασης σχετικά με την ύπαρξη, τη συχνότητα και το είδος των συγγενών ανωμαλιών σε παιδιά από PGD, ακολουθώντας πάντα τον ορισμό-παραδοχή της μείζονος και ελάσσονος συγγενούς ανωμαλίας (βλ Ενότητα 2.1.).

1.1. ΛΕΠΤΟΜΕΡΗΣ ΚΑΤΑΓΡΑΦΗ ΣΥΓΓΕΝΩΝ ΑΝΩΜΑΛΙΩΝ ΚΑΙ ΣΥΧΝΟΤΗΤΑ

Ελάσσονες συγγενείς ανωμαλίες εμφάνισαν 37 παιδιά σε σύνολο 51 (72.6%) ενώ μείζονες εμφάνισαν τα 8/51 παιδιά της μελέτης (15.7%) (Πίνακας 29. Η μακροκεφαλία συμπεριελήφθη στις μείζονες (χωρίς αυτή η παραδοχή να ακολουθεί πιστά τον ορισμό ICD-10) γιατί μπορεί να υπέκρυπτε υποκείμενη παθολογία του εγκεφάλου, μη εμφανή ακόμα και στον απεικονιστικό έλεγχο. Συνολικά, 4 παιδιά είχαν μακροκεφαλία, στα 3 εκ των οποίων αποτελούσε και τη μοναδική μείζονα ανωμαλία. Η επίπτωση των μειζόνων και ελασσόνων συγγενών ανωμαλιών στα παιδιά της μελέτης φαίνονται στους Πίνακες 29 και 30.

Πίνακας 29. Συχνότητα ελασσόνων συγγενών ανωμαλιών στα παιδιά PGD

Ελάσσονες συγγενείς ανωμαλίες	n=51(%)
Όχι	14 (27,4)
Ναι	37 (72,6)

Πίνακας 30. Συχνότητα μειζόνων συγγενών ανωμαλιών στα παιδιά PGD

Μείζονες συγγενείς ανωμαλίες	n=51 (%)
Όχι	43 (84,3)
Ναι	8 (15,7)

Κάποια από τα παιδιά μπορεί να είχαν περισσότερες της μιας ανωμαλίες (είτε ελάσσονες ή μείζονες) και για το λόγο αυτό έγινε επιπλέον ανάλυση ανάλογα με τον αριθμό των συγγενών ανωμαλιών ανά κατηγορία, στο ίδιο άτομο. Από τον Πίνακα 31, διαπιστώνεται ότι η πλειονότητα των παιδιών του δείγματος (31/51) είχε έως και 4 ελάσσονες συγγενείς ανωμαλίες και μόνο 3 παιδιά συνολικά έφεραν περισσότερες. Αντίστοιχα, σχετικά με τις μείζονες ανωμαλίες, τα 6 στα 8 (75%) παιδιά, είχαν μόνο μια μείζονα συγγενή ανωμαλία και μόνο 2 παιδιά περισσότερες (Πίνακας 32).

Πίνακας 31. Συχνότητα εμφάνισης αριθμού ελασσόνων συγγενών ανωμαλιών/παιδί PGD

Ελάσσονες συγγενείς ανωμαλίες (αριθμός/παιδί)	n=51(%)
0	14 (27,4)
1	10 (19,6)

2	7 (13,7)
3	10 (19,6)
4	7 (13,7)
5	1 (2,0)
6	1 (2,0)
7	1 (2,0)

Πίνακας 32. Συχνότητα εμφάνισης αριθμού μειζόνων συγγενών ανωμαλιών/παιδί PGD.

Μείζονες συγγενείς ανωμαλίες (αριθμός/παιδί)	n=51(%)
0	43 (84,2)
1	6 (11,8)
2	1 (2,0)
3	1 (2,0)

Οι Πίνακες 33 και 34 παρουσιάζουν αναλυτικά το είδος των συγγενών ανωμαλιών (ελασσόνων και μειζόνων) που καταγράφηκαν κατά την κλινική εξέταση. Στη δεξιά στήλη αναγράφεται ο αριθμός και το ποσοστό (επί του συνόλου του δείγματος) των παιδιών PGD που φέρουν την εκάστοτε ανωμαλία και για αυτό η άθροιση των ποσοστών δεν αντιστοιχεί με 100%, αφού μερικά παιδιά είχαν περισσότερες της μιας ανωμαλίες.

Όπως διαπιστώνεται από τον Πίνακα 33, οι ελάσσονες ανωμαλίες είναι στην ουσία φαινοτυπικά χαρακτηριστικά/κλινικά ευρήματα που μπορεί να εντοπίζονται σε φυσιολογικά κατά τα άλλα άτομα, αλλά είναι αυτές που λαμβάνονται υπόψιν όταν υπάρχει οποιαδήποτε διαταραχή που να συνηγορεί υπέρ γενετικού συνδρόμου. Η υψηλή συνεπώς συχνότητά τους στα παιδιά της μελέτης δεν είναι υποχρεωτικώς ενδεικτική οποιασδήποτε διαταραχής και για αυτό και η παρουσία τους δεν αξιολογείται μεμονωμένα.

Ταξινομώντας τις ελάσσονες συγγενείς ανωμαλίες κατά συστήματα/όργανα, διαπιστώθηκε ότι αριθμητικά υπερτερούν αυτές του

προσώπου/κρανίου (74 συνολικά καταγεγραμμένες), ακολουθούν του δέρματος όπως αιμαγγειώματα, σπίλοι, κηλίδες (11 συνολικά), του μυοσκελετικού (7 καταγεγραμμένες) και πολύ λιγότερες της καρδιάς και άλλων συστημάτων.

Πίνακας 33. Καταγραφή είδους και συχνότητας εμφανιζόμενων συγγενών ανωμαλιών στα 51 παιδιά PGD.

ΕΛΑΣΣΟΝΕΣ ΣΥΓΓΕΝΕΙΣ ΑΝΩΜΑΛΙΕΣ (n=51)		
ΕΝΤΟΠΙΣΗ ΚΑΙ ΕΙΔΟΣ ΑΝΩΜΑΛΙΑΣ	ΥΠΑΡΞΗ	ΑΡΙΘΜΟΣ ΠΑΙΔΙΩΝ PGD
ΠΡΟΣΩΠΟ/ΚΡΑΝΙΟ		
Υπερτελορισμός	Ναι	6 (11,8)
Μογγο-/αντιμογγολοιδής φορά βλεφαρικών σχισμών	Ναι	6 (11,8)
Επίκανθος	Ναι	15 (29,4)
Μακρίες βλεφαρίδες	Ναι	1 (2,0)
Καθίζηση βάσης ρινός	Ναι	9 (17,7)
Ευρεία βάση ρινός	Ναι	5 (9,8)
Ανασηκωμένοι ρώθωνες	Ναι	1
Αφεστώτα ώτα	Ναι	4 (7,8)
Θολωτή υπερώα	Ναι	7 (13,7)
Μακρογλωσσία	Ναι	2 (3,9)
Οπισθομικρογναθία	Ναι	1 (2,0)
Τριγωνικός πώγωνας	Ναι	5 (9,8)
Προέχον μέτωπο	Ναι	9 (17,6)
Προέχον ινιακό οστό	Ναι	1 (2,0)
Ήπια πλαγιοκεφαλία	Ναι	1 (2,0)
Μ πρόσφυση τριχωτού κεφαλής	Ναι	1 (2,0)
ΚΑΡΔΙΑΓΓΕΙΑΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ		
ASD/VSD*	Ναι	1 (2,0)
Καρδιακό φύσημα	Ναι	2 (3,9)
ΔΕΡΜΑ		
Αιμαγγείωμα	Ναι	8 (16,0)
Σπίλος/αχρωματικός σπίλος	Ναι	2 (3,9)
Café eau lait κηλίδα	Ναι	1 (2,0)
ΜΥΟΣΚΕΛΕΤΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ		
Κλινοδακτυλία	Ναι	1 (2,0)
Ευρύς μέγας δάκτυλος	Ναι	3 (5,8)

Εφίππευση δακτύλων ποδιών	Ναι	2 (3,9)
Ευρύ 1 ^ο μεσοδακτύλιο διάστημα άκρου ποδός	Ναι	1 (2,0)
ΛΟΙΠΑ		
Ομφαλοκήλη	Ναι	1
Φίμωση	Ναι	1

*ASD/VSD: Atrial Septal Defect/Ventricular Septal Defect: έλλειμμα κοιλιακού ή κοιλιακού διαφράγματος καρδιακών κοιλοτήτων

Πίνακας 34. Είδος και συχνότητα των εμφανιζόμενων μειζόνων συγγενών ανωμαλιών στα 51 παιδιά PGD.

ΜΕΙΖΟΝΕΣ ΣΥΓΓΕΝΕΙΣ ΑΝΩΜΑΛΙΕΣ (n=51)		
ΕΙΔΟΣ ΑΝΩΜΑΛΙΑΣ	ΥΠΑΡΞΗ	ΑΡΙΘΜΟΣ ΠΑΙΔΙΩΝ PGD
Μακροκεφαλία (n=51)	Ναι	4 (7.8)
Ασυμμετρία θώρακος (n=51)	Ναι	1 (2,0)
Πρόωρη σύγκλιση κρανιακών ραφών (n=49)	Ναι	1 (2,0)
Κοιλιοκήλη (n=51)	Ναι	1 (2,0)
Υπερωϊοσχιστία (n=51)	Ναι	1 (2,0)
Μονήρης νεφρός (n=51)	Ναι	1 (2,0)
PDA* (χειρ/κή αποκατάσταση) (n=51)	Ναι	1 (2,0)
Ανωμαλία νεφρικής πυέλου (n=51)	Ναι	1 (2,0)
Κρυφορχία (n=51)	Ναι	1 (2,0)

*PDA: patent ductus arteriosus, ανοιχτός αρτηριακός πόρος

Η συχνότερη μείζων ανωμαλία ήταν η μακροκεφαλία (4/51 ή 7.8%), ενώ οι υπόλοιπες αντιστοιχούσαν σε ποσοστό 2% επί του πληθυσμού του δείγματος. Ως προς τα συστήματα που εντοπίζονταν, σε 5 παιδιά (9,8%) η μείζων ανωμαλία αφορούσε στο σκελετικό (κρανίο/θώρακας), και σε 3 παιδιά στο ουροποιογεννητικό (5,8%).

1.2. ΜΟΝΟΠΑΡΑΓΟΝΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΣΥΓΓΕΝΩΝ ΑΝΩΜΑΛΙΩΝ

Η παρουσία συγγενών ανωμαλιών μειζόνων και ελασσόνων εκτιμήθηκε σε σχέση με δυνητικά επιβαρυντικούς παράγοντες όπως ο αριθμός των μεταφερόμενων εμβρύων, η προωρότητα, η πολυδυμία της κύησης, η ύπαρξη επιπλοκών σε αυτή και επίσης σε σχέση με το φύλο του παιδιού και το βάρος γέννησης.

Δεν διαπιστώθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση της προωρότητας ή της πολύδυμης κύησης με την εμφάνιση συγγενών ανωμαλιών γενικά (πίνακες 35 και 36). Υπαρκτή αλλά όχι στατιστικά σημαντική ήταν ωστόσο η συσχέτιση των ελασσόνων ανωμαλιών με την πολυδυμία της κύησης ($P=0,09$). Όσο αφορά στον αριθμό των μεταφερόμενων PGD εμβρύων προς εμφύτευση (που έμμεσα συνδέεται τόσο με την πολυδυμία όσο και με φαινόμενα όπως υποστροφή ή “εξαφάνιση έτερου διδύμου”) δεν διαπιστώθηκε ότι αν αυτός υπερβαίνει το 2 επηρεάζει την εμφάνιση οποιωνδήποτε συγγενών ανωμαλιών στα παιδιά που θα γεννηθούν (Πίνακας 37).

Πίνακας 35. Συσχέτιση προωρότητα με την εμφάνιση συγγενών ανωμαλιών στα παιδιά PGD.

	Προωρότητα		p value
	Πρόωρο νεογνό (n=23)	Τελειόμηνο νεογνό (n=28)	
Μείζων συγγενής ανωμαλία (Ναι)	5 (21,7)	3 (10,7)	0,281
Ελάσσων συγγενής ανωμαλία (Ναι)	15 (65,2)	22 (78,6)	0,353

Πίνακας 36. Συσχέτιση πολυδυμίας της κύησης με την εμφάνιση συγγενών ανωμαλιών σε παιδιά PGD

	Πολυδυμία κύησης (παιδιά)		p value
	Μονήρης κύηση (n=28)	Πολύδυμη κύηση (n=23)	
Μείζων συγγενής ανωμαλία	3 (10,7)	5 (21,7)	0,281
Ελάσσων συγγενής ανωμαλία	23 (82,1)	14 (60,9)	0,09

Πίνακας 37. Συσχέτιση αριθμού μεταφερόμενων εμβρύων με την εμφάνιση συγγενών ανωμαλιών στα παιδιά PGD.

	Αριθμός μεταφερόμενων εμβρύων		p value
	≤2	>2	
Μείζων συγγενής ανωμαλία	2 (15,4)	6 (15,8)	0,972
Ελάσσων συγγενής ανωμαλία	10 (76,9)	27 (71,1)	0,682

Στην μελέτη αυτή, 3/8 (37,5%) παιδιά PGD που είχαν μείζονες ανωμαλίες και 11/37 (29,7%) που είχαν ελάσσονες είχαν βάρος γέννησης $\leq 10^{\text{η}}$ ΕΘ. Ωστόσο, μόνο η παρουσία ελασσόνων ανωμαλιών φάνηκε να σχετίζεται στατιστικώς σημαντικά ($P=0,051$) με την $\leq 10^{\text{η}}$ ΕΘ του βάρους γέννησης (Πίνακας 38).

Πίνακας 38. Συσχέτιση βάρους γέννησης (εκατοστιαία Θέση) με την εμφάνιση συγγενών ανωμαλιών στα παιδιά PGD.

	Εκατοστιαία θέση (ΕΘ) Βάρους Γέννησης		p value
	$\leq 10^{\text{η}}$ ΕΘ (n=20)	> 10 ^η ΕΘ (n=31)	
Μείζων συγγενής ανωμαλία	3 (15,0)	5 (16,2)	0,914
Ελάσσων συγγενής ανωμαλία	11(55,0)	26 (83,8)	0,051

Αν και σχεδόν είναι ισάριθμα τα παιδιά PGD που γεννήθηκαν από κύηση με κάποιου είδους επιπλοκή (n=23) με εκείνα (n=28) που προέρχονταν από ανεπίπλεκτη κύηση, δεν βρέθηκε να σχετίζεται η ύπαρξη συγγενών ανωμαλιών με την εμφάνιση επιπλοκών στη διάρκεια της κύησης (Πίνακας 39).

Πίνακας 39. Συσχέτιση επιπλοκών κυήσεως με την εμφάνιση συγγενών ανωμαλιών στα παιδιά PGD.

	Επιπλοκές Κυήσεως		p value
Ύπαρξη Μείζονος συγγενούς ανωμαλίας	Όχι (n=28)	Ναι (n=23)	
Όχι	25 (89,3)	18 (78,3)	0,281
Ναι	3 (10,7)	5 (21,7)	
Ύπαρξη Ελάσσονος συγγενούς ανωμαλίας	Όχι (n=28)	Ναι (n=23)	
Όχι	5 (17,9)	9 (39,1)	0,09
Ναι	23 (82,1)	14 (60,9)	

Σημαντικό εύρημα ήταν η σημαντική συσχέτιση του φύλου του παιδιού που γεννήθηκε μετά από PGD με την παρουσία μειζόνων αλλά όχι ελασσόνων συγγενών ανωμαλιών. Συγκεκριμένα, σε σύνολο 27 αρρένων και 26 θηλέων παιδιών PGD το 25,9% των αρρένων (7/27) έναντι ενός μόλις 3,8% (1/26) των θηλέων εμφάνισε τουλάχιστον μία μείζονα συγγενή ανωμαλία. Αντίθετα, ελάσσονες ανωμαλίες έφεραν σχεδόν ισάριθμα άρρενα και θήλεα παιδιά PGD (19 και 18 αντιστοίχως) (Πίνακας 40).

Πίνακας 40. Συσχέτιση φύλου παιδιού PGD με την εμφάνιση συγγενών ανωμαλιών

Συγγενής ανωμαλία	Φύλο παιδιού		p value
	Άρρενα n=27(%)	Θήλεα n=26(%)	
Ελάσσων συγγενής	19 (79,2)	18 (69,2)	0,363
Μείζων συγγενή	7 (25,9)	1 (3,8)	0,05

1.3. ΠΟΛΥΠΑΡΑΓΟΝΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΣΥΓΓΕΝΩΝ ΑΝΩΜΑΛΙΩΝ ΠΑΙΔΙΩΝ PGD

Η ύπαρξη μειζόνων και ελασσόνων συγγενών ανωμαλιών στα παιδιά που γεννήθηκαν μετά από προεμφυτευτική γενετική διάγνωση αναλύθηκε με τη χρήση πολλαπλής λογαριθμιστικής παλινδρόμησης για το φύλο, το βάρος γέννησης (σε Kg και όχι βάσει εκατοστιαίας θέσης) και τον αριθμό των μεταφερόμενων εμβρύων προς εμφύτευση.

Για μια ακόμα φορά βρέθηκε ότι η παρουσία μειζόνων συγγενών ανωμαλιών στα παιδιά PGD επηρεάζεται από το φύλο του παιδιού όταν λαμβάνονται υπόψη και άλλοι δυο παράγοντες (φύλο/έμβρυα). Χαρακτηριστικά, διαπιστώθηκε ότι τα αρρενα παιδιά PGD έχουν *κατά 9 περίπου φορές πιο αυξημένο κίνδυνο* να εμφανίσουν τουλάχιστον μία μείζονα συγγενή ανωμαλία (C.I. 0,96-82,94) (Πίνακας 41).

Πίνακας 41. Αποτελέσματα πολλαπλής λογαριθμιστικής παλινδρόμησης για την επίδραση διαφόρων παραγόντων στην εμφάνιση μείζονων συγγενών ανωμαλιών παιδιών που γεννήθηκαν με προεμφυτευτικό έλεγχο (PGD)

	Μείζων γενετική ανωμαλία		
	Σχετικός λόγος πιθανοτήτων	95% Διάστημα Εμπιστοσύνης	p value
Βάρος γέννησης (kg)	0,999	0,997-1,001	0,231
Αγόρι vs. Κορίτσι	8,91	0,96-82,94	0,055
>2 έμβρυα μεταφερόμενα vs. ≤2 εμβρύα	0,85	0,12-6,19	0,872

B. ΑΝΑΠΤΥΞΙΟΛΟΓΙΚΗ ΕΞΕΤΑΣΗ - ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

1. ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΒΑΣΕΙ ΚΛΙΜΑΚΩΝ ΤΩΝ BAYLEY ΚΑΙ GRIFFITHS.

Ο προσδιορισμός της υστέρησης σε οποιοδήποτε επιμέρους αναπτυξιακό πηλίκο (νοητικό, κινητικό, γενικό) για τα 46 παιδιά της παρούσας μελέτης που εκτιμήθηκαν με την κλίμακα Bayley, στηρίχθηκε στην εξής διαβάθμιση:

≤69 σοβαρή υστέρηση

70-85 υστέρηση/μειωμένη ανάπτυξη

86-115 φυσιολογική και

≥116 υψηλότερη του φυσιολογικού.

Για τα 5 παιδιά που αξιολογήθηκαν με την κλίμακα Griffiths χρησιμοποιήθηκε επίσης η παραπάνω διαβάθμιση με την διαφορά ότι αφορά μόνο στο Γενικό Πηλίκο ανάπτυξης (General Developmental Quotient/General Quotient/GeQ).

1.1. ΚΑΤΑΓΡΑΦΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ ΑΝΑΠΤΥΞΙΟΛΟΓΙΚΗΣ ΕΞΕΛΙΞΗΣ ΠΑΙΔΙΩΝ PGD

Στο σύνολο των 51 παιδιών που εξετάστηκαν αναπτυξιολογικά (2 από τα 53 αρχικά παιδιά της μελέτης απεβίωσαν στην περιγεννητική περίοδο) υπολογίστηκε ο μέσος όρος ηλικίας επίτευξης των σταδίων-οροσήμων της ανάπτυξης (κατά Denver). Διαπιστώθηκε ότι στα παιδιά PGD η αδρή ψυχοκινητική ανάπτυξη ήταν εντός των φυσιολογικών ορίων όπως φαίνεται στον Πίνακα 42.

Πίνακας 42. Μέση τιμή ηλικίας επίτευξης σταδίων-οροσήμων κατά Denver στα παιδιά PGD.

Στάδια-ορόσημα ανάπτυξης	Μήνες
Αδρής κινητικότητα	
Στήριξη κεφαλής (n=49)	2,9 (1,7)
Κάθισμα (n=44)	7,4 (1,9)
Όρθια στήριξη (n=37)	9,9 (2,1)
Βάδιση (n=26)	12.8 (2.6)
Τρέξιμο (n=19)	16.3 (2.9)
Ομιλίας	
Μπαμπάλισμα (n=30)	9.7 (2.7)
Λέξεις (n=27)	14.7 (4.8)
Φράσεις (n=14)	23.8 (6.1)

Επιπλέον, καμιά διαφορά δεν διαπιστώθηκε ως προς την επίτευξη των σταδίων ανάπτυξης μεταξύ θηλέων και αρρένων παιδιών της μελέτης, αλλά ούτε και μεταξύ προώρων και τελειόμηνων παιδιών PGD (Πίνακας 43). Διευκρινίζεται για τους Πίνακες 42 και 43, ότι η διαφορά στον αριθμό του δείγματος κάθε φορά οφείλεται στο γεγονός ότι η ηλικία αναπτυξιολογικής εξέτασης ήταν διαφορετική για τα παιδιά της μελέτης και όπως είναι αναμενόμενο μερικά στάδια ήταν φυσιολογικό να μην έχουν επιτευχθεί από τον/την εξεταζόμενο/η κατά τη χρονική στιγμή της εξέτασης.

Πίνακας 43. Σύγκριση μέσης τιμής ηλικίας επίτευξης σταδίων-οροσήμων κατά Denver μεταξύ θηλέων και αρρένων παιδιών PGD.

Στάδια-ορόσημα ανάπτυξης			
Θήλεα	Μήνες	Άρρενα	Μήνες
Αδρής κινητικότητα			
Στήριξη κεφαλής (n=23)	2,9 (0,7)	Στήριξη κεφαλής (n=26)	2,9 (2,3)
Κάθισμα (n=19)	7,5 (1,5)	Κάθισμα (n=25)	7,5 (2,2)

Όρθια στήριξη (n=17)	9,6 (1,5)	Όρθια στήριξη (n=20)	10,3 (2,5)
Βάδιση (n=10)	12,1 (1,4)	Βάδιση (n=16)	13,3 (3,3)
Τρέξιμο (n=8)	15,8 (2,7)	Τρέξιμο (n=11)	16,6 (3,1)
Ομιλίας			
Μπαμπάλισμα (n=15)	10,1 (3,6)	Μπαμπάλισμα (n=15)	9,3 (1,5)
Λέξεις (n=11)	13,3 (3,3)	Λέξεις (n=16)	15,6 (5,6)
Φράσεις (n=4)	20,3 (2,9)	Φράσεις (n=10)	25,2 (6,6)

Τα αποτελέσματα της μελέτης όσο αφορά στην αξιολόγηση της παρουσίας ή όχι αναπτυξιακής υστέρησης διαμορφώθηκαν ως εξής:

Φυσιολογική ανάπτυξη (τιμή πηλίκου 85-115) διαπιστώθηκε στην πλειονότητα των παιδιών που γεννήθηκαν μετά από PGD. Αναλυτικότερα, ως προς το γενικό πηλίκο (General Developmental Quotient/GeQ), όπως υπολογίστηκε με την κλίμακα Bayley ή Griffiths, το 74,6% (38 στα 51 παιδιά της μελέτης) είχαν φυσιολογική τιμή πηλίκου. Επιπλέον, από τα 46 παιδιά που ελέγχθηκαν λόγω ηλικίας με την κλίμακα Bayley, το 80,5% (37/46) και το 67,5% (31/46) είχαν φυσιολογική τιμή Νοητικού και Κινητικού πηλίκου αντίστοιχα.

Σοβαρή υστέρηση (τιμή πηλίκου ≤69) παρουσίασαν ως προς:

- το γενικό πηλίκο (General Developmental Quotient/GeQ) 3 παιδιά στα 51 (5,9%)

Για τα 46 παιδιά που εξετάστηκαν με την κλίμακα Bayley διαπιστώθηκε σοβαρή υστέρηση

- ως προς το νοητικό πηλίκο (Mental Quotient/MeQ) σε 2 (4,3%)
- ως προς το κινητικό πηλίκο (Motor Quotient/MoQ) 3 (6,5%)

Όσο αφορά στην **ήπια υστέρηση (τιμή πηλίκου 70-85)**, διαπιστώθηκε στο:

- 11,7% (6/51) για το γενικό πηλίκο (General Developmental Quotient/GeQ)
- 8,7% (4 στα 46 παιδιά) για το νοητικό πηλίκο (Mental Quotient/MeQ)
- 17,3% (8 στα 46 παιδιά) για το κινητικό πηλίκο (Motor Quotient/MoQ).

Τέλος, *υψηλότερο του φυσιολογικού* ήταν το νοητικό σε 3/46 (6,5 %) παιδιά, το κινητικό σε 4/46 (8,7%) και το γενικό πηλίκο σε 4/51 (7,8%) (Πίνακας 44).

Πίνακας 44. Κατανομή συχνοτήτων ανά κατηγορία και χαρακτηρισμό αναπτυξιακών πηλίκων στα παιδιά PGD.

	Νοητικό Πηλίκο (MeQ) n=46* (%)		Κινητικό Πηλίκο (MoQ) n=46* (%)		Γενικό Πηλίκο (GeQ) n=51** (%)	
Σοβαρή υστέρηση ≤69	2	(4,3)	3	(6,5)	3	(5,9)
Ήπια Υστέρηση (70-85)	4	(8,7)	8	(17,3)	6	(11,7)
Φυσιολογικό (86-115)	37	(80,5)	31	(67,5)	38	(74,6)
Υψηλό (≥116)	3	(6,5)	4	(8,7)	4	(7,8)

MeQ: Mental Quotient, **MoQ:** Motor Quotient, **GeQ:** General Quotient

*Η αναπτυξιολογική εκτίμηση έγινε με την κλίμακα Bayley

** Η αναπτυξιολογική εκτίμηση έγινε με την κλίμακα Bayley ή Griffiths

Στη συνέχεια παρατίθενται τα στοιχεία για τα παιδιά που εμφάνισαν τουλάχιστον σε ένα από τα πηλίκια ανάπτυξης σοβαρή υστέρηση. Στην πραγματικότητα πρόκειται για 5 διαφορετικά παιδιά (9,8% επί του συνόλου του δείγματος) και στον Πίνακα 45 συνοψίζονται δεδομένα που αφορούν στην κύηση, στην περιγεννητική περίοδο και στην ύπαρξη μειζόνων συγγενών ανωμαλιών.

Πίνακας 45. Συγκεντρωτικός πίνακας στοιχείων των 5 παιδιών PGD που εμφάνισαν σοβαρή υστέρηση σε ένα τουλάχιστον πηλίκιο.

	Παιδιά PGD με σοβαρή υστέρηση (n=5)				
Δεδομένα	Παιδί 1	Παιδί 2	Παιδί 3	Παιδί 4	Παιδί 5
MeQ*	0 (50)	2 (104)	-	0 (50)	2 (90)
MoQ*	1 (73)	0 (60)	-	0 (67)	0 (50)
GeQ*	0 (62)	1 (82)	0 (68)	0 (59)	1 (70)
Φύλο	θήλυ	θήλυ	άρρεν	άρρεν	θήλυ
Διάρκεια κύησης	34 εβδ.	36 εβδ.	39 εβδ.	28 εβδ.	33 εβδ.
Περιγεν- νητικές επιπλοκές	+	+ καθυστέρηση αποβολής μηκωνείου, αναπν/κή δυσχέρεια	όχι	+ πνευμοθώ- ρακας RDS- διασωλήνωση	+ RDS- διασωλήνωση
Apgar score	>9	5-8	>9	<5	5-8
Επιπλοκές κυήσεως	όχι	υπέρταση κυήσεως	αιμορρα- γία περίδεση τραχήλου	αιμορραγία- προεκλαμψία	ΣΔ κυήσεως- προεκλαμψία
Μείζονες ανωμαλίες	Μακροκεφα- λία Πρόωρη σύγκλιση ραφών	όχι	όχι	Μονήρης νεφρός Κοιλιοκήλη Κρυπορχία	όχι
Είδος κύησης	δίδυμη	μονήρης	μονήρης	δίδυμη	τρίδυμη
Αριθμός μεταφερό- μενων εμβρύων	3	4	3	4	3
Κλίμακα	Bayley	Bayley	Griffiths	Bayley	Bayley

***Νοητικό (MeQ), Κινητικό (MoQ) και Γενικό Πηλίο (GeQ)**

0: σοβαρή υστέρηση, **1:** υστέρηση, **2:** φυσιολογικό και εντός παρενθέσεως η ακριβής τιμή του εκάστοτε πηλίκου

Όπως διαπιστώνεται, 4 στα 5 παιδιά ήταν πρόωρα, όλα πλην ενός εμφάνισαν περιγεννητικές επιπλοκές, σε όλες τις περιπτώσεις δε, ο αριθμός των μεταφερόμενων εμβρύων ήταν περισσότερα από 2, ενώ 2/5 είχαν τουλάχιστον μια μείζονα ανωμαλία.

Στον Πίνακα 46, αντιπαραβάλλονται τα στοιχεία που αφορούν στα 6 παιδιά PGD που είχαν τουλάχιστον ένα πηλίο υψηλότερο του φυσιολογικού. Σε αντίθεση με την προηγούμενη ομάδα των παιδιών που εμφάνισαν σοβαρή υστέρηση, διαπιστώνουμε ότι στην πλειονότητά τους (4/6) τα παιδιά με υψηλότερο πηλίο/πηλίκια ήταν τελειόμηνα, ενώ είναι αξιοσημείωτη η απουσία τόσο μειζόνων συγγενών ανωμαλιών όσο και οποιασδήποτε επιπλοκής κατά τη διάρκεια της κύησης. Μόνο 1 παιδί εμφάνισε ως νεογνό σοβαρή περιγεννητική επιπλοκή. Επίσης, 4 παιδιά προέρχονταν από μονήρεις κυήσεις αλλά και 2 από τρίδυμες, ενώ ο αριθμός των μεταφερόμενων εμβρύων κυμαινόταν από 1-4.

Πίνακας 46. Συγκεντρωτικός πίνακας στοιχείων των 6 παιδιών PGD που εμφάνισαν υψηλότερο του φυσιολογικού ένα τουλάχιστον πηλίο.

	Παιδιά PGD με πηλίο υψηλότερο του φυσιολογικού (n=6)					
Δεδομένα	Παιδί 1	Παιδί 2	Παιδί 3	Παιδί 4	Παιδί 5	Παιδί 6
MeQ*	3 (118)	3 (133)	-	2 (115)	3 (117)	2 (98)
MoQ*	2 (108)	3 (135)	-	3 (116)	3 (118)	3 (125)
GeQ*	2 (113)	3 (134)	3 (119)	3 (116)	3 (118)	2 (112)
Φύλο	θήλυ	θήλυ	άρρεν	θήλυ	θήλυ	άρρεν
Διάρκεια κύησης	28 εβδ.	40 εβδ.	38 εβδ.	39 εβδ.	38 εβδ.	36 εβδ.
Περιγεννητικές επιπλοκές	σηψαιμία α RDS	ίκτερος	ήπια λοίμωξη	όχι	όχι	όχι

	Ίκτερος					
Apgar score	5-8	>9	>9	>9	>9	>9
Επιπλοκές κυήσεως	όχι	όχι	όχι	όχι	όχι	όχι
Μειζονες ανωμαλίες	όχι	όχι	όχι	όχι	όχι	όχι
Είδος κύησης	τρίδυμη	μονήρης	μονήρης	μονήρης	μονήρης	τρίδυμη
Αριθμός μεταφερό- μενων εμβρύων	4	2	4	1	1	3
Κλίμακα αξιολόγησης	Bayley	Bayley	Griffiths	Bayley	Bayley	Bayley

***Νοητικό (MeQ), Κινητικό (MoQ) και Γενικό Πηλίο (GeQ)**

2: φυσιολογικό **3:** υψηλότερο του φυσιολογικού και εντός παρενθέσεως η ακριβής τιμή του εκάστοτε πηλίκου

Στο σύνολο των 51 παιδιών που εκτιμήθηκαν ως προς την ψυχοκινητική τους εξέλιξη, μόνο 5 παιδιά είχαν ηλικίες άνω των 42 μηνών (συγκεκριμένα 72, 78, 84, 90 και 90 μηνών αντιστοίχως) και για αυτά χρησιμοποιήθηκε η κλίμακα Griffiths. Η ηλικία (κατά την εξέταση) των παιδιών που εμφάνισαν τουλάχιστον σοβαρή υστέρηση τουλάχιστον ως προς μια από τις τρεις παραμέτρους, σύμφωνα με τις κλίμακες Bayley ή Griffiths, φαίνεται στον Πίνακα 47. Η αξιολόγηση της ψυχοκινητικής ανάπτυξης στα 4/5 παιδιά έγινε με τη χρήση της κλίμακας Bayley αφού ήταν μέχρι ηλικίας 42 μηνών (τα 2 είχαν ηλικία ≤12 μηνών και 1 ήταν 24 μηνών).

Επιπλέον, όσο αφορά στην ήπια υστέρηση, διαπιστώθηκε αντίστοιχα, ότι 11 διαφορετικά παιδιά της μελέτης εμφάνισαν ήπια υστέρηση σε ένα τουλάχιστον από τα εκτιμώμενα πηλίκια ανάπτυξης, όπως δείχνει αναλυτικά και ο Πίνακας 48.

Πίνακας 47. Ηλικία των 5 παιδιών PGD κατά την εξέταση που εμφάνισαν σοβαρή υστέρηση σύμφωνα με τις κλίμακες Bayley, Griffiths.

παιδιά PGD με σοβαρή υστέρηση	Ηλικία (μήνες)	Κλίμακα αναπτυξιολογικής αξιολόγησης	MeQ	MoQ	GeQ
παιδί 1	24	Bayley	50	73	62
παιδί 2	12	Bayley	104	60	82
παιδί 3	84	Griffiths	-	-	68
παιδί 4	41	Bayley	50	67	59
παιδί 5	10	Bayley	90	50	70

Πίνακας 48. Συγκεντρωτικός πίνακας των 11 παιδιών PGD που εμφάνισαν ήπια υστέρηση σε κάποιο από τα πηλικά ανάπτυξης*

Παιδιά PGD με ήπια αναπτυξιακή υστέρηση	MeQ	MoQ	GeQ
Παιδί 1	70	80	75
Παιδί 2	50	73	62
Παιδί 3	107	81	94
Παιδί 4	98	78	88
Παιδί 5	104	60	82
Παιδί 6	88	85	87
Παιδί 7	80	79	80
Παιδί 8	50	67	59
Παιδί 9	90	50	70
Παιδί 10	82	79	81
Παιδί 11	81	71	76
ΣΥΝΟΛΟ	4	8	6

*Όσα παιδιά εμφάνισαν ήπια υστέρηση εκτιμήθηκαν με την κλίμακα Bayley, σύμφωνα με την ηλικία τους.

Έτσι, συνολικά, η συχνότητα εμφάνισης κάποιας μορφής ήπιας υστέρησης ανέρχεται σε ποσοστό 21,5%, αλλά στην πλειονότητα των περιπτώσεων αφορούσε στον κινητικό τομέα. Συγκεκριμένα, μόνο 4/46 (8,7%) παρουσίασε ήπια νοητική υστέρηση. Αντιθέτως, το 17,3% (8/46) των παιδιών PGD που εκτιμήθηκαν αναπτυξιολογικά με την κλίμακα Bayley υστερούσαν ήπια στον κινητικό τομέα. Τέλος, 6/51 παιδιά της μελέτης (11,7%) παρουσίασαν ήπια υστέρηση ως προς το γενικό πηλίκο.

1.2. ΜΟΝΟΠΑΡΑΓΟΝΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Η ανάλυση των αποτελεσμάτων της αναπτυξιολογικής εξέτασης έγινε σε σχέση με παράγοντες που τυχόν επηρεάζουν την ομαλή ανάπτυξη του παιδιού και διακρίνονται σε παραμέτρους κύησης και προγεννητικούς παράγοντες, σε περιγεννητικούς και άλλους (π.χ. φύλο, ηλικία προσέλευσης κατά την εξέταση).

1.2.1. ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ ΚΥΗΣΕΩΣ ΚΑΙ ΠΡΟΓΕΝΝΗΤΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ

- Η πολυδυμία ή όχι της κύησης εξετάστηκε κατά πόσο επηρεάζει καθένα από τα πηλικά ανάπτυξης ξεχωριστά . Όλα τα παιδιά που είχαν υψηλότερο του φυσιολογικού νοητικό, κινητικό ή γενικό πηλίκο προέρχονταν από μονήρεις κυήσεις. Ως προς την υστέρηση, για καθένα πηλίκο ξεχωριστά, δεν διαπιστώθηκε διαφορά σε σχέση με το αν η κύηση ήταν μονήρης ή πολύδυμη (Πίνακας 49).

Πίνακας 49. Σύγκριση αναπτυξιακών ηλικίων μεταξύ παιδιών PGD από μονήρεις και πολύδυμες κυήσεις.

	MeDQ normality (n=46)**				MoDQ normality (n=46)**				GeDQ normality (n=51)			
	Μονήρης n=23		Πολύδυμη n=23		Μονήρης n=23		Πολύδυμη n=23		Μονήρης n=28		Πολύδυμη n=23	
Τιμή Πηλίκου*	n	%	n	%	n	%	n	%	N	%	N	%
≤ 69	0	0	2	8,7	1	4,3	2	8,7	1	3,6	2	8,7
70-85	2	8,7	2	8,7	4	17,4	4	17,4	3	10,7	3	13,0
86-115	19	82,6	18	78,3	15	65,3	16	69,6	20	71,4	18	78,3
≥116	2	8,7	1	4,3	3	13	1	4,3	4	14,3	0	0,0

* ≤69: σοβαρή υστέρηση **70-85:** ήπια υστέρηση **86-115:** φυσιολογικό ≥116: ανώτερο του φυσιολογικού

** Στα 46 από τα 51 παιδιά PGD χρησιμοποιήθηκε η κλίμακα Bayley βάσει της ηλικίας του εξεταζόμενου.

• Η **προωρότητα** ως ανεξάρτητος επιβαρυντικός παράγοντας υστέρησης, αξιολογήθηκε ξεχωριστά. Ο Πίνακας 50 δείχνει επιπλέον τον μέσο όρο και το εύρος τιμών των επιμέρους ηλικίων στα πρόωρα και τελειόμηνα παιδιά PGD που εξετάστηκαν. Αν και το στα πρόωρα παιδιά εύρος των τιμών των επιμέρους ηλικίων είναι μεγαλύτερο και συμπεριλαμβάνει και παθολογικές τιμές σε σχέση με τα τελειόμηνα, δεν φάνηκε η προωρότητα να επηρεάζει αρνητικά την ψυχοκινητική εξέλιξη των παιδιών PGD (Πίνακας 51).

Πίνακας 50. Σύγκριση αναπτυξιακών ηλικίων (μέσος όρος και εύρος τιμών) παιδιών PGD σε σχέση με την προωρότητα.

	Κατηγορία προωρότητας				
	Πρόωρα (≤36w) (n=25)		Τελειόμηνα (n=28)		
	Μέσος όρος	Εύρος τιμών	Μέσος όρος	Εύρος τιμών	p value
MeQ normality	96	(50-118)	98	(61-133)	0,442
MoQ normality	95	(50-125)	95	(75-135)	0,569

GeQ normality	97	(59-113)	95,5	(68-134)	0,582
----------------------	----	----------	------	----------	-------

Επιπλέον, παρά το ότι όλα τα παιδιά που εμφάνισαν σοβαρή υστέρηση γεννήθηκαν πρόωρα, υπήρχε και 1 πρόωρο παιδί με νοητικό πηλίκο υψηλότερο του φυσιολογικού καθώς και 1 πρόωρο με κινητικό πηλίκο υψηλότερο του φυσιολογικού.

Πίνακας 51. Σύγκριση αναπτυξιακών πηλίκων παιδιών PGD σε σχέση με την προωρότητα.

	MeDQ normality (n=46)		MoDQ normality (n=46)		GeDQ normality (n=51)	
	Πρόωρα	TMN*	Πρόωρα	TMN*	Πρόωρα	TMN*
Τιμή πηλίκου **	n=22	N=24	n=22	n=24	n=23	n=28
≤69	2 (9,1%)	0 (0%)	3 (13,6%)	0 (0%)	2 (8,7%)	1 (3,6%)
70-85	2 (9,1%)	2 (8,3%)	3 (13,6%)	5(20,8%)	4 (17,4%)	2 (7,1%)
86-115	17 (77,3%)	20 (83,4%)	15(68,3%)	16 (66,7%)	17 (73,9%)	21 (75,0%)
≥116	1 (4,5%)	2(8,3%)	1 (4,5%)	3(12,5%)	0 (0%)	4 (14,3%)

*TMN: τελειόμηνια

** ≤69: σοβαρή υστέρηση **70-85:** ήπια υστέρηση **86-115:** φυσιολογικό ≥116: ανώτερο του φυσιολογικού

- Το **Βάρος γέννησης** ήταν άλλη μια παράμετρος που διερευνήθηκε, αφού δυνητικά μπορεί να σχετίζεται με επιπλοκές κατά τη διάρκεια της κύησης, περιγεννητικές επιπλοκές και προωρότητα που θα μπορούσαν να επηρεάσουν την μελλοντική ανάπτυξη των παιδιών PGD. Ωστόσο, ούτε στην περίπτωση αυτή αποδείχθηκε ότι επηρεάζει την ανάπτυξη αρνητικά, σε στατιστικά σημαντικό βαθμό, αφού παθολογικά αναπτυξιακά πηλικά είχαν τόσο παιδιά με χαμηλό βάρος γέννησης όσο και εκείνα με βάρος >10^{ns} ΕΘ (Πίνακας 52).

Πίνακας 52. Σύγκριση αναπτυξιακών ηλικίων (μέσος όρος και εύρος τιμών) παιδιών PGD σε σχέση με την βάρος γέννησης.

	Βάρος Γέννησης νεογνών PGD				P value
	ΒΓ≤ 10 ^η ΕΘ		ΒΓ> 10 ^η ΕΘ		
Χαρακτηρισμός	Μέσος όρος	Εύρος τιμών	Μέσος όρος	Εύρος τιμών	
MeQ normality	95	(81-133)	98	(50-118)	0,699
MoQ normality	94	(50-135)	97	(60-120)	0,877
GeQ normality	96	(70-134)	96	(59-119)	0,846

Όταν, όμως, το ερώτημα σχετικά με το αν το βάρος γέννησης επηρεάζει ή όχι την μελλοντική ανάπτυξη των παιδιών PGD επικεντρώθηκε σε βάρος γέννησης μικρότερο ή μεγαλύτερο των 1500gr, διαπιστώθηκε μια μικρή αλλά υπαρκτή συσχέτιση μεταξύ του γενικού μόνο ηλικίου με βάρος ≤1500 gr (P=0.07) (Πίνακας 53).

Πίνακας 53. Συσχέτιση αναπτυξιακών ηλικίων παιδιών PGD σε σχέση με χαμηλό βάρος γέννησης (≤1500gr).

Χαρακτηρισμός	Βάρος γέννησης νεογνών PGD		P value
	≤1500 gr	> 1500 gr	
MeQ normality	1.8 (1.1)	1.9 (0.6)	0.758
MoQ normality	1.4 (0.9)	1.9 (0.6)	0.129
GeQ normality	1.4 (0.9)	1.9 (0.6)	0.070

- Η εμφάνιση επιπλοκών κατά τη διάρκεια της κύησης δεν βρέθηκε να αποτελεί ανεξάρτητο επιβαρυντικό παράγοντα για την εμφάνιση οποιουδήποτε βαθμού ψυχοκινητικής υστέρησης στα παιδιά που γεννήθηκαν μετά από προεμφυτευτική γενετική διάγνωση (Πίνακας 54).

Πίνακας 54. Συσχέτιση αναπτυξιακών ηλικίων παιδιών PGD με την παρουσία επιπλοκών στην κύηση.

	Παρουσία επιπλοκών στην κύηση		p value
	Όχι	Ναι	
MeQ normality (n=46)	97.5 (50-133)	96 (50-104)	0,615
MoQ normality (n=46)	96 (71-135)	94 (50-104)	0,488
GeQ normality (n=51)	96,5 (62-134)	95 (59-103)	0,488

1.2.2. ΠΕΡΙΓΕΝΝΗΤΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ

- Το είδος του τοκετού στις PGD κυήσεις και η τιμή **Apgar score** των παιδιών που γεννήθηκαν από αυτές επίσης ελέγχθηκαν για πιθανή συσχέτιση με την φυσιολογική ή όχι ανάπτυξη των παιδιών PGD, αλλά σε καμία από τις δυο περιπτώσεις δεν αναδείχθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση (Πίνακες 55 και 56). Παρατηρήθηκε, ωστόσο, ότι όλα τα παιδιά που είχαν κάποιου βαθμού υστέρηση σε οποιοδήποτε από τα τρία ηλίκια ανάπτυξης γεννήθηκαν με καισαρική τομή.

Πίνακας 55. Σύγκριση αναπτυξιακών ηλικίων (μέσος όρος και εύρος τιμών) παιδιών PGD με το είδος του τοκετού.

	Είδος τοκετού		p value
	Φυσιολογικός τοκετός	Καισαρική τομή	
MeQ normality	98 (88-102)	96.5 (50-130.375)	0.924
MoQ normality	92 (85-104)	92 (50-117.8)	0.787
GeQ normality	97 (87-103)	95.5 (59.52-131.375)	0.987

Πίνακας 56. Συσχέτιση αναπτυξιακών ηλικίων (μέσος όρος και εύρος τιμών) παιδιών PGD με το Apgar score.

	Τιμή Apgar Score		p value
	≤8	>9	
MeQ normality	104 (50-118)	96.5 (51.375-131)	0.297
MoQ normality	93 (50-108)	96.5 (71.25-133.75)	0.272
GeQ normality	94 (59-113)	96.5 (62.75-132.125)	0.763

1.2.3. ΔΙΑΦΟΡΕΣ ΑΛΛΕΣ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ

Η ανάλυση συμπεριέλαβε επίσης την εκτίμηση του νοητικού, κινητικού και γενικού ηλικίου σε σχέση με το φύλο του παιδιού που γεννήθηκε μετά από PGD. Τόσο τα άρρενα όσο και τα θήλεα παιδιά της μελέτης είχαν παρόμοια διακύμανση του εύρους των επιμέρους ηλικίων. Ελαφρά χαμηλότερος ήταν ο μέσος όρος και των τριών ηλικίων στα άρρενα, αλλά δεν βρέθηκε καμιά στατιστική ένδειξη ότι το φύλο σχετίζεται με την ομαλή ή όχι ανάπτυξη στα παιδιά PGD (πίνακας 57). Η αναλυτικότερη καταγραφή των αναπτυξιακών ηλικίων ως προς την αξιολόγησή τους και ως προς το φύλο φαίνεται στο Πίνακα 58.

Πίνακας 57. Συσχέτιση αναπτυξιακών ηλικίων (μέσος όρος και εύρος τιμών) παιδιών PGD σε σχέση με την φύλο.

	Θήλεα	Άρρενα	p value
MeQ normality (μέση τιμή)	98 (50-133)	94 (50-117)	0,167
MoQ normality (μέση τιμή)	97 (50-135)	93 (67-125)	0,629
GeQ normality (μέση τιμή)	97 (62-134)	95 (59-119)	0,564

Πίνακας 58. Σύγκριση κατηγορίας αναπτυξιακών πηλίκων παιδιών PGD σε σχέση με το φύλο.

	MeDQ normality (n=46) **		MoDQ normality (n=46) **		GeDQ normality (n=51)	
	Θήλεα	Άρρενα	Θήλεα	Άρρενα	Θήλεα	Άρρενα
Τιμή πηλίκου*	(n=23)	(n=23)	(n=23)	(n=23)	(n=24)	(n=27)
≤69	1 (4,3%)	1 (4,3%)	2 (8,7%)	1 (4,3%)	1 (4,2%)	2 (7,4%)
70-85	2 (8,7%)	2 (8,7%)	4 (17,4%)	4 (17,4%)	4 (16,7%)	2 (7,4%)
86-115	17 (74,0%)	20 (87,0%)	14 (60,9%)	17 (74,0%)	16 (66,7%)	22 (81,5%)
≥116	3 (13,0%)	0 (0%)	3 (13,0%)	1 (4,3%)	3 (12,5%)	1 (3,7%)

* ≤69: σοβαρή υστέρηση 70-85: ήπια υστέρηση 86-115: φυσιολογικό ≥116: ανώτερο του φυσιολογικού

**Στα 46 από τα 51 παιδιά PGD εφαρμόστηκε η κλίμακα Bayley βάσει της ηλικίας τους.

1.3. ΠΟΛΥΠΑΡΑΓΟΝΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Το Γενικό, Νοητικό και Κινητικό πηλίκο εκτιμήθηκε στη συνέχεια με τη χρήση *πολλαπλής λογαριθμιστικής παλινδρόμησης* για να διαπιστωθεί τυχόν επίδραση των ακόλουθων παραγόντων στην ανάπτυξη των παιδιών PGD:

• Παράγοντες που αφορούν στην κύηση:

1. ο αριθμός των μεταφερόμενων εμβρύων (που οδηγεί σε πολύδυμες κυήσεις ή σε φαινόμενα υποστροφής/ενδομήτριας απώλειας ετέρου εμβρύου τα οποία έχουν συσχετισθεί με νευρολογικές διαταραχές).

2. Η πολυδυμία της κύησης

3. Η προωρότητα (≤36 εβδομάδων διάρκεια κύησης)

• Παράγοντες που αφορούν στο νεογνό:

Η ύπαρξη επιπλοκών στην άμεση περιγεννητική περίοδο

• Παράγοντες που αφορούν στους γονείς:

1. Η ηλικία της μητέρας

2. Το επίπεδο εκπαίδευσης της μητέρας και του πατέρα.

Επισημαίνεται ότι σε όλες τις παραπάνω στατιστικές αναλύσεις, οι επιμέρους παράγοντες αναλύθηκαν συνεκτιμώντας ταυτόχρονα το **βάρος γέννησης και το φύλο των παιδιών PGD**.

Όπως προκύπτει από τους Πίνακες 59-65 η ύπαρξη προωρότητας, πολυδυμίας, αυξημένου αριθμού μεταφερόμενων εμβρύων αλλά και η μεγάλη ηλικία της μητέρας δεν είχαν αρνητική επίπτωση στην ψυχοκινητική εξέλιξη των παιδιών που γεννήθηκαν μετά από PGD. Ομοίως, η παρουσία επιπλοκών στην άμεση περιγεννητική περίοδο δεν επηρέασε δυσμενώς την ανάπτυξη των παιδιών. Όσο για το επίπεδο εκπαίδευσης των γονέων δεν διαπιστώθηκε η ανωτάτη εκπαίδευση του καθενός γονέα ξεχωριστά να διαδραματίζει οποιοδήποτε ρόλο στην ψυχοκινητική ανάπτυξη του παιδιού (Πίνακες 59-65).

Αποτελέσματα τα οποία ενδεχομένως χρήζουν προσοχής, αν και στατιστικώς μη σημαντικά είναι τα εξής:

Όσο αφορά στον αριθμό των μεταφερόμενων εμβρύων, σχεδόν διπλάσια ήταν η πιθανότητα να εμφανιστεί γενική, νοητική ή κινητική υστέρηση όταν ο αριθμός εμβρύων ήταν πάνω από 2 (Πίνακας 59). Επιπλέον, σχεδόν τετραπλάσιος ήταν ο κίνδυνος κινητικής υστέρησης και τριπλάσιος ο κίνδυνος εμφάνισης γενικής υστέρησης σε παιδιά που προέρχονταν από πολύδυμη κύηση και όχι μονήρη. Ο αντίστοιχος σχετικός λόγος πιθανοτήτων για το νοητικό πηλίκο στις πολύδυμες κυήσεις ανερχόταν στο 5,60 (Πίνακας 60).

Πίνακας 59. Αποτελέσματα πολλαπλής λογαριθμιστικής παλινδρόμησης για την επίδραση του αριθμού των μεταφερόμενων εμβρύων στην παρουσία νοητικής, κινητικής και γενικής υστέρησης παιδιών που γεννήθηκαν με προεμφυτευτικό έλεγχο (PGD)

	Αριθμός μεταφερόμενων εμβρύων		
	Σχετικός λόγος πιθανοτήτων	95% Διάστημα Εμπιστοσύνης	p value
Νοητική υστέρηση (Ναι vs. Όχι)	1,86	0,64-5,49	0,256
Βάρος γέννησης (kgr)	1.16	0.22-5.99	0.520
Αγόρι vs. Κορίτσι	1.01	0.99-1.01	0.855

Κινητική υστέρηση (Ναι vs. Όχι)*	1,76	0,71-4,34	0,220
Γενική υστέρηση (Ναι vs. όχι)*	2,23	0,75-6,57	0,145

*λαμβάνοντας υπόψη το βάρος και το φύλο

Πίνακας 60. Αποτελέσματα πολλαπλής λογαριθμιστικής παλινδρόμησης για την επίδραση του είδους κύησης (πολύδυμη vs. απλή) στην παρουσία νοητικής, κινητικής και γενικής υστέρησης παιδιών που γεννήθηκαν με προεμφυτευτικό έλεγχο (PGD)

	είδος κύησης (πολύδυμη vs. απλή)		
	Σχετικός λόγος πιθανοτήτων	95% Διάστημα Εμπιστοσύνης	p value
Νοητική υστέρηση (Ναι vs. Όχι)	5,60	0,41-75,38	0,194
Βάρος γέννησης (kgr)	1.01	0.99-1.01	0.27
Αγόρι vs. Κορίτσι	1.18	0.22-6.12	0.83

Κινητική υστέρηση (Ναι vs. Όχι)*	3,76	0,43-32,57	0,229
Γενική υστέρηση (Ναι vs. όχι)*	2,57	0,26-26,07	0,416

*λαμβάνοντας υπόψη το βάρος και το φύλο

Πίνακας 61. Αποτελέσματα πολλαπλής λογαριθμιστικής παλινδρόμησης για την επίδραση της προωρότητας στην παρουσία νοητικής, κινητικής και γενικής υστέρησης παιδιών που γεννήθηκαν με προεμφυτευτικό έλεγχο (PGD)

	Προωρότητα (ναι vs. όχι)		
	Σχετικός λόγος πιθανοτήτων	95% Διάστημα Εμπιστοσύνης	p value
Νοητική υστέρηση (Ναι vs. όχι)	0,30	0,04-2,42	0,259
Βάρος γέννησης (kgr)	1,01	0,99-1,01	0,389
Αγόρι vs. Κορίτσι	1.44	0,27-7,63	0,665

Κινητική υστέρηση (Ναι vs. όχι) *	0,44	0,07-2,61	0,364
Γενική υστέρηση (Ναι vs. όχι) *	0,82	0,18-3,70	0,795

* λαμβάνοντας υπόψη το βάρος και το φύλο

Πίνακας 62. Αποτελέσματα πολλαπλής λογαριθμιστικής παλινδρόμησης για την επίδραση της παρουσίας επιπλοκών κατά την διάρκεια της κύησης στην παρουσία νοητικής, κινητικής και γενικής υστέρησης παιδιών που γεννήθηκαν με προεμφυτευτικό έλεγχο (PGD)

	Παρουσία επιπλοκών (ναι vs. όχι)		
	Σχετικός λόγος πιθανοτήτων	95% Διάστημα Εμπιστοσύνης	p value
Νοητική υστέρηση (Ναι vs. όχι)	0,97	0,78-1,21	0,785
Βάρος γέννησης (kgr)	1,00	0,99-1,01	0,863
Αγόρι vs. Κορίτσι	1,28	0,24-6,70	0,770

Κινητική υστέρηση (Ναι vs. όχι)*	1,01	0,84-1,21	0,911
Γενική στέρηση (Ναι vs. όχι)*	1,06	0,88-1,29	0,499

* λαμβάνοντας υπόψη το βάρος και το φύλο

Πίνακας 63. Αποτελέσματα πολλαπλής λογαριθμιστικής παλινδρόμησης για την επίδραση της ηλικίας μητέρας στην παρουσία νοητικής, κινητικής και γενικής υστέρησης παιδιών που γεννήθηκαν με προεμφυτευτικό έλεγχο (PGD)

	Ηλικία μητέρας (έτη)		
	Σχετικός λόγος πιθανοτήτων	95% Διάστημα Εμπιστοσύνης	p value
Νοητική υστέρηση (Ναι vs. Όχι)	0,94	0,73-1,21	0,616
Βάρος γέννησης (kgr)	1.30	0.25-6.74	0.751
Αγόρι vs. Κορίτσι	1.01	0.72-1.20	0.616

Κινητική υστέρηση (Ναι vs. όχι)*	0,94	0,76-1,15	0,543
Γενική υστέρηση (Ναι vs. όχι)*	0,93	0,74-1,17	0,548

*λαμβάνοντας υπόψη το βάρος και το φύλο

Πίνακας 64. Αποτελέσματα πολλαπλής λογαριθμιστικής παλινδρόμησης για την επίδραση του εκπαιδευτικού επιπέδου της μητέρας στην παρουσία νοητικής, κινητικής και γενικής υστέρησης παιδιών που γεννήθηκαν με προεμφυτευτικό έλεγχο (PGD)

	Εκπαιδευτικό επίπεδο μητέρας >15 έτη		
	Σχετικός λόγος πιθανοτήτων	95% Διάστημα Εμπιστοσύνης	p value
Νοητική υστέρηση (Ναι vs. Όχι)	0,64	0,11-3,70	0,620
Βάρος γέννησης (kgr)	1,00	0,99-1,01	0,882
Αγόρι vs. Κορίτσι	1,21	0,24-6,07	0,82

Κινητική υστέρηση (Ναι vs. Όχι)*	0,56	0,12-2,45	0,442
Γενική υστέρηση (Ναι vs. Όχι)*	0,80	0,17-3,69	0,779

- λαμβάνοντας υπόψη το βάρος και το φύλο

Πίνακας 65. Αποτελέσματα πολλαπλής λογαριθμιστικής παλινδρόμησης για την επίδραση του εκπαιδευτικού επιπέδου του πατέρα στην παρουσία νοητικής, κινητικής και γενικής υστέρησης παιδιών που γεννήθηκαν με προεμφυτευτικό έλεγχο (PGD)

	Εκπαιδευτικό επίπεδο πατέρα >15 έτη		
	Σχετικός λόγος πιθανοτήτων	95% Διάστημα Εμπιστοσύνης	p value
Νοητική υστέρηση (Ναι vs. όχι)	1,23	0,24-6,12	0,640
Βάρος γέννησης (kg)	1,00	0,99-1,00	0,85
Αγόρι vs. Κορίτσι	1,21	0,24-6,12	0,81

Κινητική υστέρηση (Ναι vs. όχι)*	0,47	0,16-2,86	0,280
Γενική υστέρηση (Ναι vs. όχι)*	0,73	0,17-3,14	0,679

* λαμβάνοντας υπόψη το βάρος και το φύλο

Γ. ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΑΓΧΟΥΣ ΓΟΝΕΩΝ -PSI SCORE-ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Το άγχος των γονέων των παιδιών που γεννήθηκαν μετά από προεμφυτευτική γενετική διάγνωση εκτιμήθηκε με βάση ο ερωτηματολόγιο PSI-score και αναλύθηκαν ξεχωριστά οι επιμέρους παράμετροι που συνιστούν το συνολικό άγχος.

1. ΜΟΝΟΠΑΡΑΓΟΝΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΟΥ ΑΓΧΟΥΣ ΚΑΙ ΤΩΝ ΕΠΙΜΕΡΟΥΣ ΠΑΡΑΜΕΤΡΩΝ ΣΤΟΥΣ ΓΟΝΕΙΣ ΠΑΙΔΙΩΝ PGD

Στην παρούσα διδακτορική διατριβή, 49 γονείς παιδιών που γεννήθηκαν μετά από PGD συμπλήρωσαν το ερωτηματολόγιο του γονεϊκού άγχους και αναλύσαμε τα αποτελέσματα των απαντήσεων. Από τους 49 αυτούς γονείς οι 10 πατέρες και 10 μητέρες ήταν ζευγάρια μεταξύ τους, αλλά συμπλήρωσαν ξεχωριστά το ερωτηματολόγιο για το παιδί που απέκτησαν με τη βοήθεια της PGD. Στον Πίνακα 66, φαίνεται η κατανομή των στοιχείων που συνιστούν το

άγχος των γονέων στο σύνολο των 49 παρατηρήσεων. Σε κάποιες περιπτώσεις δεν είχαν συμπληρωθεί όλες οι ερωτήσεις στο ερωτηματολόγιο (της τελευταίας σελίδας συγκεκριμένα προφανώς εκ παραδρομής) με αποτέλεσμα το PSI centile ή κάποια άλλη παράμετρος μεμονωμένα να μην μπορεί να υπολογιστεί· ήταν όμως εφικτή η αξιολόγηση για τις υπόλοιπες, χωρίς αυτό να επηρεάζει την αξιοπιστία των υπολοίπων αποτελεσμάτων. Συνεπώς το ελάχιστο σύνολο των παρατηρήσεων του δείγματος ήταν 47 και το μέγιστο 49.

Πίνακας 6. Κατανομή συχνοτήτων ανά βαθμό και κατηγορία άγχους γονέων παιδιών PGD.

Παράμετρος	Χαρακτηρισμός	n(%)
PSI centile*		
	Χαμηλή	13 (27,1)
	Φυσιολογική	33 (68,8)
	Υψηλή	2 (4,2)
PD centile*		
	Χαμηλή	13 (26,5)
	Φυσιολογική	30 (61,2)
	Υψηλή	6 (12,2)
PCDI centile*		
	Χαμηλή	9 (18,8)
	Φυσιολογική	38 (79,2)
	Υψηλή	1 (2,0)
DC centile*		
	Χαμηλή	11 (22,9)
	Φυσιολογική	33 (68,8)
	Υψηλή	4 (8,3)
DR*		
	≤10	9 (18,4)
	>10	40 (81,6)

***PSI:** Parental Stress Index score, **PD:** Parental Distress,
PCDI: Parental Child Disfunctional Interaction, **DR:** Defensive Response

Διαπιστώθηκε ότι η πλειονότητα των γονέων παιδιών PGD (68,8%) είχαν άγχος εντός του φυσιολογικού και το ίδιο ίσχυε και για τις επιμέρους μεταβλητές. Γενικά, το άγχος των γονέων παιδιών PGD δεν διαπιστώθηκε αυξημένο. Ειδικότερα, χαμηλό ήταν το συνολικό άγχος σε 13/49 γονείς (23,7%) ενώ υψηλό επίπεδο συνολικού άγχους είχαν οι μόνο 2/49 γονείς. Σχεδόν αντίστοιχη ήταν και η κατανομή για τις παραμέτρους PD, PCDI και DC, οι οποίες εστιάζουν σε αλληλεπιδράσεις γονέα-παιδιού και χαρακτήρα του παιδιού που μπορεί να δυσχεράνουν το γονεϊκό ρόλο.

Επιπλέον, 9/49 (18,4%) γονείς παιδιών PGD είχαν $DR \leq 10$ που ερμηνεύεται ποικιλοτρόπως αλλά δεν είναι εύκολο να εξακριβωθεί εάν α) ο γονέας προσεγγίζει το ερωτηματολόγιο με αμυντική στάση και επιθυμία να προβάλει την εικόνα ενός επαρκούς γονέα που είναι ελεύθερος άγχους σχετικά με το ρόλο του ή β) δεν έχει ταυτιστεί με το ρόλο του ως γονέα άρα δεν εμφανίζει και το σχετικό άγχος ή γ) τέλος είναι πραγματικά ένας πολύ ικανός γονέας/σύζυγος.

Κατά τη μονοπαραγοντική ανάλυση για τις παραμέτρους PSI centile, PCDI centile, PD centile, DC centile και DR, που προέκυψαν από τα ερωτηματολόγια, συμπεριελήφθησαν παράγοντες που πιθανά να επιβαρύνουν την ψυχολογική φόρτιση του γονέα. Αυτές ήταν:

1. Η ηλικία του γονέα, κατηγοριοποιημένη στις ακόλουθες ομάδες: ηλικία ≤ 30 έτη, $31 \leq$ ηλικία ≤ 35 έτη, $36 \leq$ ηλικία ≤ 40 έτη και ηλικία ≥ 41 έτη (η ίδια κατηγοριοποίηση ίσχυε και για τους δυο γονείς). Η μεταβλητή αυτή επιλέχθηκε γιατί η προχωρημένη ηλικία του γονέα παιδιού PGD θεωρητικά προσαυξάνει το γονεϊκό άγχος, αν μάλιστα συνυπολογιστεί η ψυχολογική του επιβάρυνση από το άγχος μεταβίβασης σοβαρού μονογονιδιακού νοσήματος στους απογόνους ή εκείνου που απορρέει από τις αποτυχημένες προσπάθειες απόκτησης υγιούς (για το νόσημα αυτό) παιδιού με φυσική σύλληψη.

2. Το μορφωτικό επίπεδο του γονέα που προσδιορίστηκε ως διάρκεια εκπαίδευσης ≤ 15 έτη (βασική και ανώτερη) ή >15 ετών (ανωτάτη). Διερευνήθηκε δηλαδή κατά πόσο η ανωτάτη μόρφωση παρέχει τα εφόδια σε

έναν γονέα που έχει υποβληθεί σε μια τόσο πολύπλοκη και επίπονη διαδικασία όπως η προεμφυτευτική γενετική διάγνωση/εξωσωματική γονιμοποίηση να αναλάβει το γονεϊκό του ρόλο με μεγαλύτερη επάρκεια και λιγότερο άγχος.

Ως προς το πρώτο ερώτημα, το αποτέλεσμα ήταν ότι καμία από τις μεταβλητές του γονεϊκού άγχους δεν έδειξε να επηρεάζεται στατιστικά σημαντικά από την ηλικία του γονέα που συμπλήρωνε το ερωτηματολόγιο.

Μια μόλις υποσημαινόμενη συσχέτιση ($P=0.09$) διαπιστώθηκε μεταξύ του DC και της ηλικίας του γονέα. Σύμφωνα δε με τον Πίνακα 67, είναι χαρακτηριστικό ότι 6/16 γονείς ηλικίας 36-40 ετών είχαν χαμηλό αντί για υψηλό επίπεδο του γονεϊκού άγχους που αποδίδεται στον χαρακτήρα του παιδιού (DC centile) και μόνο 2 είχαν υψηλό.

Πίνακας 67. Συσχέτιση DC centile με την ηλικία του γονέα παιδιού PGD.

DC centile	31-35	36-40	≥41
Χαμηλή	0 (0,0)	6 (37,5)	1 (10,0)
Φυσιολογική	10 (90,9)	8 (50,0)	8 (80,0)
Υψηλή	1 (9,1)	2 (12,5)	1 (10,0)

P=0,099

Σχετικά με το δεύτερο ερώτημα, το κατά πόσο η διάρκεια εκπαίδευσης του γονέα, που ως ένα βαθμό αντικατοπτρίζει το μορφωτικό επίπεδό του, επηρεάζει το άγχος του σχετικά με το γονεϊκό ρόλο, δεν διαπιστώθηκε οι γονείς ανωτάτης εκπαίδευσης να έχουν χαμηλότερο PSI centile σε σχέση με αυτούς που έτυχαν βασικής ή ανώτερης εκπαίδευσης. Γενικά, καμιά διαφορά δεν παρατηρήθηκε ούτε και ως προς τις παραμέτρους του γονεϊκού άγχους σε σχέση με την διάρκεια της εκπαίδευσης.

Στη συνέχεια, έγινε σύγκριση μεταξύ του άγχους των πατέρων και των μητέρων. Η ανάλυση αυτή περιορίστηκε στο δείγμα των 10 ζευγαριών (ο κάθε γονέας είχε συμπληρώσει ξεχωριστά/ανεξάρτητα από τον άλλο το

ερωτηματολόγιο που αφορούσε στο εξεταζόμενο παιδί) για να διαπιστωθούν τυχόν διαφορές. Το δείγμα αυτό προτιμήθηκε, αν και μικρό, γιατί αφορούσε στους γονείς του ίδιου παιδιού και η σύγκριση θα αναδείκνυε διαφορές άγχους μέσα στην ίδια οικογένεια. Η ανάλυση έδειξε ότι το άγχος του ενός γονέα σε γενικές γραμμές σχετίζεται, όπως ήταν αναμενόμενο, με του έτερου γονέα. Η συσχέτιση αυτή ήταν οριακά στατιστικά σημαντική, με P της τάξεως του 0,059 για τις εκατοστιαίες θέσεις των DC, PCDI και $P=0,067$ για αυτές των PD, PSI (Πίνακες 68- 71).

Το εύρημα αυτό χρησιμοποιήθηκε στη συνέχεια για να γίνει η παραδοχή να χρησιμοποιηθεί στην συγκριτική μελέτη της ομάδας του δείγματος και της ομάδας μαρτύρων (γονείς παιδιών από φυσική σύλληψη), μόνο η μια καταγραφή (αυτή του γονέα παιδιού PGD που παρουσίαζε γενικά την μεγαλύτερη, φυσιολογική ή υψηλή, τιμή PSI centile).

Πίνακας 68. Σύγκριση βαθμού συνολικού άγχους μεταξύ των 20 γονέων παιδιών PGD (ζευγάρια)

PSI centile (n(%))			
	Μητέρα		
Πατέρας	Χαμηλό	Φυσιολογικό	Υψηλό
Χαμηλό	1 (100)	2 (25,0)	0 (0,0)
Φυσιολογικό	0 (0,0)	6 (75,0)	0 (0,0)
Υψηλό	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (100)

$P=0,067$

Πίνακας 69. Σύγκριση βαθμού PD centile μεταξύ των 20 γονέων παιδιών PGD (10 ζευγάρια)

PD centile (n(%))			
	Μητέρα		
Πατέρας	Χαμηλό	Φυσιολογικό	Υψηλό
Χαμηλό	1 (50,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
Φυσιολογικό	1 (50,0)	7 (100)	0 (0,0)
Υψηλό	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (0,0)

P= 0,067

Πίνακας 70. Σύγκριση βαθμού PCDI centile μεταξύ των 20 γονέων παιδιών PGD (10 ζευγάρια)

PCDI centile (n(%))			
	Μητέρα		
Πατέρας	Χαμηλό	Φυσιολογικό	Υψηλό
Χαμηλό	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
Φυσιολογικό	0 (0,0)	16 (100,0)	0 (0,0)
Υψηλό	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (0,0)

P= 0,059

Πίνακας 71. Σύγκριση βαθμού DC centile μεταξύ των 20 γονέων παιδιών PGD (10 ζευγάρια)

DC centile (n(%))			
	Μητέρα		
Πατέρας	Χαμηλό	Φυσιολογικό	Υψηλό
Χαμηλό	2 (100,0)	1 (16,67)	0 (0,0)
Φυσιολογικό	0 (0,0)	5 (83,33)	1 (50,0)
Υψηλό	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (50,0)

P= 0,059

2. ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΓΟΝΕΩΝ ΠΑΙΔΙΩΝ PGD ΚΑΙ ΓΟΝΕΩΝ ΠΑΙΔΙΩΝ ΑΠΟ ΦΥΣΙΚΗ ΣΥΛΛΗΨΗ (ΟΜΑΔΑ ΜΑΡΤΥΡΩΝ-CONTROL GROUP)

Την ομάδα ελέγχου, από το αρχικό δείγμα των 49 γονέων παιδιών PGD που συμπλήρωσαν το ερωτηματολόγιο PSI-SF, αποτέλεσαν 39 γονείς (38 όταν κάποιες καταγραφές ήταν ελλιπείς). Η μείωση αυτή στο δείγμα οφείλεται στο ότι μεταξύ των γονέων υπήρχαν 10 ζευγάρια. Επειδή και οι δυο γονείς σε αυτές τις 10 περιπτώσεις ζευγαριών συμπλήρωσαν 2 ξεχωριστά ερωτηματολόγια PSI-SF για το ίδιο παιδί και δεδομένου ότι για κάθε παιδί PGD έπρεπε να συμπεριληφθεί στη συγκριτική μελέτη μόνο μια καταγραφή, περιελήφθησαν τελικά οι απαντήσεις του γονέα με την υψηλότερη τιμή PSI centile.

Την ομάδα μαρτύρων αποτέλεσαν 52 γονείς παιδιών από φυσική σύλληψη, από το γενικό πληθυσμό. Επειδή στα περισσότερα ερωτηματολόγια της ομάδας μαρτύρων δεν ήταν σαφές αν συμπληρώθηκαν από τον πατέρα ή την μητέρα, στην τελική ανάλυση δεν χρησιμοποιήθηκε ως ξεχωριστή παράμετρος το φύλο του γονέα. Για τον ίδιο λόγο απουσιάζουν άλλα στοιχεία, όπως το επίπεδο εκπαίδευσης και η ηλικία των γονέων της ομάδας ελέγχου. Συνεπώς, η μελέτη των δυο ομάδων περιορίστηκε στη σύγκριση των PSI, DC, PCDI, PD centiles και DR.

Στον Πίνακα 72, φαίνεται ότι ένα αρκετά υψηλότερο ποσοστό (9/51 ή 17,3%) γονέων παιδιών από φυσική σύλληψη αντιμετωπίζουν υψηλότερο συνολικό άγχος ως προς το γονεϊκό τους ρόλο έναντι των γονέων παιδιών PGD (1/38 ή 2,6%) και το 71,1% των γονέων της ομάδας ελέγχου έναντι του 53,9% της ομάδας μαρτύρων έχουν άγχος εντός φυσιολογικών ορίων. Η στατιστική σημαντικότητα του παραπάνω ευρήματος ήταν μεν οριακή αλλά φάνηκε συσχέτιση του μειωμένου συνολικού άγχους του γονέα με την διαδικασία τεκνοποίησης με τη βοήθεια PGD ($P=0,061$). Είναι σημαντικό (όχι όμως στατιστικά) ότι τελικά δεν βρέθηκαν αυξημένα επίπεδα άγχους σε καμιά και από τις υπόλοιπες συνιστώσες του ερωτηματολογίου στους γονείς των παιδιών που γεννήθηκαν με τη βοήθεια PGD συγκριτικά με την ομάδα μαρτύρων.

Πίνακας 72. Σύγκριση συνολικού άγχους μεταξύ γονέων παιδιών PGD και γονέων παιδιών από φυσική σύλληψη.

	Ομάδα μελέτης	
PSIcentile	Ελέγχου n=38(%)	Μάρτυρων n=52(%)
Χαμηλή	10 (26,3)	15 (28,9)
Φυσιολογική	27 (71,1)	28 (53,9)
Υψηλή	1 (2,6)	9 (17,3)

P=0,061

Επιπλέον εξετάστηκε κατά πόσο το φύλο του παιδιού επηρεάζει το άγχος των γονέων και των δυο ομάδων. Σε καμιά από τις δυο ομάδες δεν παρουσιάστηκε οποιαδήποτε συσχέτιση με το επίπεδο του γονεϊκού άγχους (πίνακας 73).

Πίνακας 73. Σύγκριση συνολικού άγχους μεταξύ γονέων παιδιών PGD και γονέων παιδιών από φυσική σύλληψη, σε σχέση με το φύλο του παιδιού.

	Φύλο παιδιού			
	Παιδιά ομάδας ελέγχου (PGD)		Παιδιά ομάδας μαρτύρων	
PSIcentile	Θήλεα n=17(%)	Άρρενα n=21(%)	Θήλεα n=18(%)	Άρρενα n=21(%)
Χαμηλή	4 (23,5)	6 (28,6)	6 (33,3)	7 (33,3)
Φυσιολογική	13 (76,5)	14 (66,7)	9 (50,0)	12 (57,1)
Υψηλή	0 (0,0)	1 (4,7)	3 (16,7)	2 (9,6)
P value	P=0,848		P=0,903	

Δ. ΛΟΙΠΑ ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ - ΓΕΝΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΟΥ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ

Κατά την στατιστική ανάλυση των γενικών χαρακτηριστικών του δείγματος μελέτης, διαπιστώθηκε υψηλό ποσοστό πολύδυμων κυήσεων 11/39 (28%) εκ των οποίων 3 ήταν τρίδυμες. Το ποσοστό προωρότητας, επίσης ήταν υψηλό 12/38 (31,6%) (Πίνακες 74 και 75).

Πίνακας 74. Συχνότητες/ποσοστά μονήρων και πολύδυμων κυήσεων μετά από διενέργεια PGD.

Είδος κυήσεων	(n=39)
Μονήρης	28 (71,8)
Δίδυμη	8 (20,5)
Τρίδυμη	3 (7,7)

Πίνακας 75. Συχνότητες/ποσοστά προώρων και τελειόμηνων κυήσεων μετά από διενέργεια PGD.

Διάρκεια κυήσεων	(n=38)
Προωρότητα (<36 εβδ)	12 (31.6)
Τελειόμηνες (>36 εβδ)	26 (68.4)

Όπως ήταν αναμενόμενο, διαπιστώθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση του Apgar score και της προωρότητας ($P=0,002$), αφού όλα τα νεογνά από PGD που είχαν χαμηλότερο του 9 Apgar score ήταν πρόωρα. Το ίδιο ισχυρή ήταν η συσχέτιση των σωματομετρικών του νεογνού (βάρος, μήκος, περίμετρος κεφαλής) με τη διάρκεια της κύησης (Πίνακες 76 και 77). Κάποιου είδους συσχέτιση, όχι όμως σημαντική ($P=0,077$), φάνηκε και μεταξύ του βάρους γέννησης και της ηλικίας της μητέρας.

Πίνακας 76. Συσχέτιση Apgar score νεογνών PGD με την προωρότητα

Apgar score	Πρόωρη κύηση	Τελειόμηνη κύηση	p
5-8	7 (30.4)	0 (0.0)	0.002
>9	16 (69.6)	28 (100.0)	

Πίνακας 77. Συντελεστής συσχέτισης Spearman των σωματομετρικών μεγεθών νεογνών PGD με τη διάρκεια κυήσεως και την ηλικία της μητέρας.

	Συντελεστής συσχέτισης Spearman	P
Διάρκεια κυήσεως - Βάρος Γέννησης	0,751	<0.001
Ηλικία μητέρας - Βάρος Γέννησης	0,249	0,077
Διάρκεια κυήσεως - Μήκος Γέννησης	0,739	<0.001
Ηλικία μητέρας - Μήκος Γέννησης	0,22	0,119
Διάρκεια κυήσεως - Περίμετρος κεφαλής	0,673	<0.001
Ηλικία μητέρας - Περίμετρος κεφαλής	0,145	0,309

Στο δείγμα της μελέτης καταγράφηκαν λεπτομερώς οι περιγεννητικές επιπλοκές που παρουσίασαν τα παιδιά PGD. Στο σύνολο των 53 παιδιών, σημαντικό ποσοστό (43,4%) παρουσίασε κάποιου είδους περιγεννητική επιπλοκή και μερικά νεογνά περισσότερες της μιας (Πίνακας 78). Το είδος και η συχνότητες των επιπλοκών αυτών φαίνονται στον Πίνακα 79.

Πίνακας 78. Συχνότητα εμφάνισης περιγεννητικών επιπλοκών στα νεογνά PGD.

Περιγεννητικές επιπλοκές	n(%)
Όχι	30 (56,6)
Ναι	23 (43,4)

Πίνακας 79. Συχνότητα και είδος εμφανιζόμενων περιγεννητικών επιπλοκών στα νεογνά PGD.

Επιπλοκή	n=53 (%)
RDS*- διασωλήνωση	4 (7,8)
Σηψαιμία	2 (3,9)
ΔΕΠ**	1 (1,9)
Πνευμοθώρακας	2 (3,9)
Αμφιβληστροειδοπάθεια προωρότητας	1 (2,0)
Αναπνευστική δυσχέρεια	2 (3,9)
Ενδοκράνια αιμορραγία	1 (1,9)
Καθυστερημένη αποβολή μηκωνίου	1 (1,9)

Ίκτερος	16 (31,4)
Εντεροκολίτιδα	1 (1,9)
Σιτιστικά προβλήματα	1 (1,9)
Ηπία λοίμωξη	2 (3,8)
Θάνατος	2 (3,8)
Περιγεννητικές επιπλοκές (σύνολο)	23 (43,4)

*RDS: Respiratory Distress Syndrome **ΔΕΠ: Διάχυτη Ενδοαγγειακή Πήξη

Η συχνότητα των περιγεννητικών επιπλοκών ήταν σημαντικά πιο αυξημένη στα θήλεα νεογνά σε σχέση με τα αρρένα ($P=0,009$) καθώς και στα πρόωρα, ανεξαρτήτως φύλου ($P=0,002$), όπως φαίνεται στον Πίνακα 80.

Πίνακας 80. Συσχέτιση εμφάνισης περιγεννητικών επιπλοκών σε νεογνά PGD με το φύλο και τη διάρκεια της κύησης.

ΦΥΛΟ			
Περιγεννητικές επιπλοκές	Θήλεα (n=26)	Άρρενα (n=27)	P
Όχι	10 (38,5)	20 (74,1)	0,009
Ναι	16 (61,5)	7 (25,9)	
ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΚΥΗΣΗΣ			
Περιγεννητικές επιπλοκές	Πρωωρότητα (n=30)	Τελειόμνη (n=23)	P
Όχι	10 (38,5)	20 (74,1)	0.002
Ναι	16 (61,5)	7 (25,9)	

ΣΥΖΗΤΗΣΗ-ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

1. ΚΥΗΣΕΙΣ PGD

Τα αποτελέσματα της στατιστικής ανάλυσης του δείγματος των 39 κυήσεων που επιτεύχθηκαν με τη βοήθεια PGD συνηγορούν υπέρ αυξημένης συχνότητας προώρων και πολύδυμων κυήσεων αλλά και καισαρικών τομών στις κυήσεις από PGD.

Το ποσοστό των προώρων κυήσεων στο δείγμα της μελέτης ήταν υψηλό. Συγκεκριμένα, οι 12/38 (31,6%) κυήσεις που επιτεύχθηκαν με τη βοήθεια PGD είχαν διάρκεια ≤ 36 εβδομάδων με την κατανομή που φαίνεται στον (Πίνακας 20).

Αντίστοιχα, οι πολύδυμες κυήσεις στη μελέτη αυτή ανερχόταν σε 11 στις 39 (28,2%) εκ των οποίων 3 κυήσεις (7,7% επί του συνόλου) ήταν τρίδυμες. Η καισαρική, δε, τομή ήταν η μέθοδος τοκετού σε 34 από τις 39 κυήσεις (σε ποσοστό δηλαδή ιδιαίτερα υψηλό της τάξης του 87%).

1.1.ΠΟΛΥΔΥΜΙΑ

Το εύρημα του αυξημένου ποσοστού πολύδυμων κυήσεων στην παρούσα μελέτη συνάδει με συμπεράσματα που έχουν εξαχθεί από προηγούμενες σχετικές μελέτες σε κυήσεις που επιτυγχάνονται με την βοήθεια τεχνικών υποβοηθούμενης αναπαραγωγής και PGD/PGS. Τα ποσοστά πολύδυμων κυήσεων στις διάφορες δημοσιεύσεις κυμαίνονται από 22.7% έως και 37.1% μετά από τεχνική IVF/ICSI ενώ στο γενικό πληθυσμό η συχνότητά τους δεν υπερβαίνει το 1-2% (Basatemur & Sutcliffe 2008).

Σε μια από τις πιο καλά σχεδιασμένες μελέτες στην Ευρώπη κυήσεων και παιδιών από IVF/ICSI οι Pinborg et al μελέτησαν στη Δανία, το σύνολο των κυήσεων και των παιδιών που γεννήθηκαν το χρονικό διάστημα 1995-2000. Από τα 8602 παιδιά από IVF/ICSI, τα 3438 (40%) ήταν δίδυμα και τα 5164 (60%) από

μονήρεις κυήσεις, ενώ το ποσοστό των πολύδυμων κυήσεων στον γενικό πληθυσμό της Δανίας υπολογίζεται στο 1-2% (Pinborg et al 2004a).

Οι Liebaers et al (2009), διεξήγαγαν μελέτη στο Βέλγιο, σε σύνολο 481 κυήσεων που επιτεύχθηκαν και ολοκληρώθηκαν μετά από διενέργεια PGD, και διαπίστωσαν ότι οι 385 (80%) ήταν μονήρεις, 91(19%) ήταν δίδυμες και 5 (1%) ήταν τρίδυμες. Το ποσοστό των πολύδυμων κυήσεων (20%) αν και σχετικά μικρότερο συγκρινόμενο με το 28,2% της μελέτης μας, είναι συγκρίσιμο και δείχνει ότι ακόμα και σε σειρές με ικανό αριθμό δείγματος, η τεχνική PGD συνοδεύεται από υψηλό ποσοστό πολύδυμων κυήσεων, συγκριτικά με το γενικό πληθυσμό.

Στο ίδιο συμπέρασμα καταλήγει η ESHRE PGD Consortium το 2012 στη δημοσίευσή της με τα συνολικά δεδομένα κυήσεων PGD για τη δεκαετία 1997-2007. Σύμφωνα με τη μελέτη αυτή, κατά την ανωτέρω περίοδο, γεννήθηκαν 5135 παιδιά από 4140 κυήσεις. Τα 3182 ήταν από μονήρεις κυήσεις (77%), τα 921 δίδυμα (22%) και τα 37 (1%) ήταν τρίδυμα. Επομένως, η ανευρεθείσα συχνότητα πολυδυμίας στη δική μας μελέτη (28,2%) προσεγγίζει αρκετά τα διεθνή αυτά δεδομένα.

1.2. ΠΡΩΩΡΟΤΗΤΑ

Στην παρούσα μελέτη ως προωρότητα ορίστηκε διάρκεια κύησης ≤ 36 εβδομάδων και γεννήθηκαν 23 πρόωρα παιδιά από 12 διαφορετικές κυήσεις. Από αυτές, οι 4 ήταν μονήρεις, οι 5 δίδυμες και οι 3 τρίδυμες.

Η συνολική συχνότητα της προωρότητας στα παιδιά PGD ήταν 23/53 (43,3%). Από μονήρεις κυήσεις ήταν 4 στα 53 παιδιά (7,5%) και δίδυμα/τρίδυμα τα 19 στα 53 (35,8%). Συνολικά, το ποσοστό προωρότητας στα 25 παιδιά από πολύδυμες PGD κυήσεις της μελέτης είναι 76% (19/25) εκ των οποίων τα 10 είναι δίδυμα και τα 9 τρίδυμα. Το αντίστοιχο ποσοστό για τα 28 παιδιά από μονήρεις κυήσεις, ισούται με 14,3% (4/28).

Οι προαναφερθείσες συχνότητες προσεγγίζουν σε μεγάλο βαθμό τις προκύπτουσες από τη μελέτη των Liebaers et al (2009), όπου ως προωρότητα

ορίστηκε η διάρκεια κύησης <37 εβδομάδων. Μελετήθηκαν 481 κυήσεις PGD/PGS από τις οποίες γεννήθηκαν 581 παιδιά και διαπιστώθηκε ότι 11,5% των μονόδυμων και το 65,7% των πολύδυμων παιδιών που γεννήθηκαν μετά από PGD ήταν πρόωρα, με συνολική συχνότητα προωρότητας στα παιδιά αυτά ίση με 28,9%.

Οι μεγαλύτερες συχνότητες προωρότητας για τα παιδιά από μονήρεις και πολύδυμες κυήσεις, στην παρούσα μελέτη, θα μπορούσαν αφενός να αποδοθούν στο σαφώς μικρότερο δείγμα και στα χαρακτηριστικά του, αλλά και στο διαφορετικό ορισμό της “προωρότητας”. Είναι απαραίτητη, ωστόσο, η συνέχιση τέτοιου είδους μελετών ή η καταγραφή του συνόλου των κυήσεων/γεννήσεων παιδιών PGD στην Ελλάδα, για την εξαγωγή σαφών συμπερασμάτων.

1.3. ΧΑΜΗΛΟ ΚΑΙ ΠΟΛΥ ΧΑΜΗΛΟ ΒΑΡΟΣ ΓΕΝΝΗΣΗΣ

Στην παρούσα μελέτη, το μέσο βάρος γέννησης ήταν 2560gr για τα θήλεα και 2613gr για τα αρρένα. Χαμηλό βάρος γέννησης οριζόμενο ως εκείνο που αντιστοιχεί σε <10^η εκατοστιαία θέση (βάσει ειδικών καμπυλών ανάπτυξης για πρόωρα και τελειόμηνα νεογνά) παρουσίασαν 13/51 παιδιά, ποσοστό δηλαδή 25,4%. Ειδικότερα, βάρος γέννησης ≤2500gr στη μελέτη είχαν 15/51 παιδιά (ποσοστό 29,4%) ενώ πολύ χαμηλό βάρος γέννησης οριζόμενο, ως ≤1500gr, είχαν 5/51 (περίπου το 10%).

Τα αποτελέσματα μπορούν να συγκριθούν με την μελέτη των Liebaers et al (2009) σε 553 παιδιά PGD, όπου ως χαμηλό βάρος γέννησης ορίστηκαν τα 2500gr και ως πολύ χαμηλό τα 1500gr. Διαπιστώθηκε ότι σε σύνολο παιδιών που γεννήθηκαν μετά από προεμφυτευτική γενετική διάγνωση, το 7,4% των παιδιών από μονήρεις κυήσεις και το 62,5% των διδύμων/τριδύμων είχαν χαμηλό βάρος γέννησης ενώ τα ποσοστά για το πολύ χαμηλό βάρος ήταν στις παραπάνω ομάδες 0,8% και 10,8% αντιστοίχως. Η συνολική συχνότητα για βάρος γέννησης <2500gr ήταν 24,9% και 4% για το βάρος γέννησης <1500gr.

Τόσο η παρούσα μελέτη όσο και αυτή των Liebaers et al δείχνουν συγκρίσιμα υψηλές συχνότητες βάρους γέννησης $\leq 2500\text{gr}$ και πολύ χαμηλού βάρους γέννησης (1500gr) των παιδιών PGD.

Εξάλλου, όπως πρόέκυψε από προηγούμενη μελέτη των Pinborg et al στη Δανία, τα αποτελέσματα της οποίας δημοσιεύθηκαν το 2004, σε 8602 παιδιά γεννημένα μετά από IVF/ICSI, η συχνότητα βάρους γέννησης $<1500\text{gr}$ ήταν 7,5% για τα πολύδυμα και 1,5% για τα παιδιά από μονήρεις κυήσεις. Βάσει των δεδομένων στους δημοσιευμένους πίνακες της μελέτης, υπολογίζεται ότι η συχνότητα χαμηλού βάρους γέννησης ($<2500\text{gr}$) και πολύ χαμηλού βάρους γέννησης ($<1500\text{gr}$) είναι περίπου 16,5% και 3,9%. Όπως τονίζουν οι Pinborg et al, τόσο η PGD/PGS μέθοδος όσο και η IVF/ICSI συνδέονται με υψηλά ποσοστά πολύχαμηλού και χαμηλού βάρους γέννησης, τα δε παιδιά από πολύδυμες κυήσεις γεννιούνται ολιγοβαρή με στατιστικά σημαντική διαφορά σε σχέση με τα παιδιά από μονήρεις κυήσεις (Pinborg et al 2004a).

1.4. ΚΑΙΣΑΡΙΚΗ ΤΟΜΗ

Η συχνότητα της καισαρικής τομής ως τρόπου τοκετού στην παρούσα μελέτη, στο σύνολο των 39 (μονήρων και πολύδυμων) κυήσεων είναι ιδιαίτερα υψηλή (87,2%). Χαρακτηριστικά αναφέρουμε ότι μόνο 5 μονήρεις στο σύνολο των 39 κυήσεων ολοκληρώθηκαν με φυσιολογικό τοκετό.

Η εξαιρετικά υψηλή συχνότητα της διενέργειας καισαρικής τομής μπορεί να αποδοθεί στο γεγονός ότι οι 11 στις 39 κυήσεις PGD (28,2%) της μελέτης ήταν πολύδυμες, που εξ ορισμού σχεδόν θεωρούνται “πολύτιμες” αλλά και στην ούτως ή άλλως αυξημένη συχνότητα καισαρικών τομών στην Ελλάδα, χωρίς σαφή πάντα ιατρική ένδειξη. Ενδεικτικά της τακτικής αυτής στη χώρα μας είναι τα αποτελέσματα μελέτης των Papaligoura et al στην Ελλάδα, σε παιδιά IVF, ICSI και από φυσική σύλληψη, όπου η συχνότητα καισαρικών τομών ήταν 92,3%, 85,3% και 44,8% αντιστοίχως (Papaligoura et al 2004). Αλλά ακόμα και στο γενικό πληθυσμό, τα ποσοστά καισαρικών τομών είναι υψηλά. Σε μελέτη των Μπακούλα και συν (2000), στο σύνολο 14,250 τοκετών που

καταγράφηκαν στο χρονικό διάστημα 01/10/1998 έως και 30/11/1998, το ποσοστό των καισαρικών τομών ήταν 31% και φάνηκε να επηρεάζεται από ποικίλους παράγοντες όχι απαραίτητως ιατρικής φύσης (π.χ. ιδιωτικό ή δημόσιο μαιευτήριο, εθνικότητα, ημέρα).

Το υψηλό ποσοστό καισαρικών τομών σε κυήσεις μετά από IVF/ICSI είναι ήδη επιβεβαιωμένο και από άλλες μελέτες. Οι Pinborg et al (2004) στη Δανία διαπίστωσαν ότι σε σύνολο κυήσεων από IVF/ICSI κατά τα έτη 1995-2000, αυτές στις οποίες η καισαρική τομή ήταν η μέθοδος τοκετού συνιστούσαν ένα ποσοστό της τάξης του 52,9% για τις πολύδυμες και 20% για τις μονήρεις κυήσεις. Όταν επιπλέον έγινε σύγκριση μεταξύ των πολύδυμων κυήσεων από εξωσωματική γονιμοποίηση και εκείνων από φυσική σύλληψη, διαπιστώθηκε ότι η συχνότητα καισαρικής είναι 1,5 φορά συχνότερη στην πρώτη ομάδα (52,9% έναντι 42,7%).

Όπως όσες επιτυγχάνονται με μεθόδους υποβοηθούμενης αναπαραγωγής έτσι και οι κυήσεις PGD/PGS είναι συνυφασμένες με υψηλό ποσοστό καισαρικών τομών. Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης προστίθενται σε προηγούμενα άλλων μελετών.

Έτσι, στο Βέλγιο, είχε διαπιστωθεί ότι η συχνότητα της καισαρικής τομής σε 70 κυήσεις PGD ήταν 35,7% (Desmyttere et al 2009). Το ποσοστό αυτό ήδη είναι υψηλό, αν αναλογιστούμε ότι από το δείγμα αποκλείστηκαν για σκοπούς της μελέτης δίδυμα και τρίδυμα παιδιά ώστε να μην υπεισέλθουν συγχυτικοί παράγοντες στην περαιτέρω ανάλυση (Desmyttere et al 2009).

Εξάλλου, η ESHRE PGD Consortium στην τελευταία δημοσίευση το 2012, ανακοίνωσε ότι κατά τη δεκαετία 1997-2007, από το σύνολο 4140 κυήσεων PGD, στις 1986 (48%) ο τρόπος τοκετού ήταν η καισαρική τομή (Harper et al 2012). Επιπλέον, επισημάνθηκε αύξηση του ποσοστού των καισαρικών από 39% στις ετήσιες δημοσιεύσεις του οργανισμού με αύξοντα αριθμό I-III σε 54,2% στις μεταγενέστερες IV-X (Goosens et al 2008, Harper et al 2012).

1.5. ΕΠΙΠΛΟΚΕΣ ΚΥΗΣΕΩΣ

Κατά τη στατιστική ανάλυση των δεδομένων των κυήσεων PGD, στην παρούσα μελέτη διαπιστώθηκε ότι η συχνότητα εμφάνισης επιπλοκών κατά τη διάρκειά τους ήταν ίση με 46% (18/39). Συχνότερη επιπλοκή ήταν ο σακχαρώδης διαβήτης κυήσεως, ακολουθούσε η αιμορραγία/αποκόλληση πλακούντα και σε μικρότερη συχνότητα η προεκλαμψία και η υπέρταση κυήσεως.

Τα αποτελέσματα αυτά συνάδουν με τα ευρήματα της μελέτης των Desmyttere et al (2010) οι οποίοι διαπίστωσαν αυξημένη συχνότητα επιπλοκών στις κυήσεις PGD/PGS συγκριτικά με τις φυσικές κυήσεις ($P=0,000$), με συχνότερες τον διαβήτη κυήσεως, την θυρεοειδοπάθεια, την υπέρταση της κυήσεως, την παθολογία πλακούντα και τις πρόωρες συσπάσεις.

1.6. ΠΕΡΙΓΕΝΝΗΤΙΚΕΣ ΕΠΙΠΛΟΚΕΣ

Στατιστική σημαντική ήταν η εμφάνιση περιγεννητικών επιπλοκών στα πρόωρα παιδιά PGD της παρούσας μελέτης ($P=0,002$). Η τόσο ισχυρή συσχέτιση δεν μπορεί να θεωρηθεί τυχαία, ακόμα και σε ένα τόσο μικρό δείγμα. Επιπλέον, συμφωνεί με δημοσιευμένα αποτελέσματα άλλων μελετών σε παιδιά που γεννήθηκαν μετά από IVF/ICSI.

Συγκεκριμένα, οι Bonduelle et al (2005) δημοσίευσαν τα αποτελέσματα 5/ετούς μελέτης παρακολούθησης 540 παιδιών ICSI, 437 παιδιών IVF και 538 παιδιών από φυσική σύλληψη. Διαπίστωσαν στατιστικά σημαντική διαφορά (της τάξεως του $P=0,001$) στην ανάγκη νοσηλείας κατά τη νεογνική περίοδο και μάλιστα διάρκειας >7 ημερών συγκριτικά με τα παιδιά από φυσική σύλληψη. Αυτό που δεν αποσαφηνίζεται στη δημοσίευση είναι η συχνότητα των επιπλοκών κατά την άμεση περιγεννητική περίοδο.

Ένα ιδιαίτερο, αλλά μη αναμενόμενο εύρημα, στην παρούσα μελέτη, ήταν η συσχέτιση των περιγεννητικών επιπλοκών με το θήλυ φύλο. Δεδομένου του ίσου σχεδόν αριθμού θηλέων ($n=26$) και αρρένων ($n=27$) παιδιών στη μελέτη, η στατιστική σημαντικότητα ήταν ιδιαίτερα σοβαρή παρά το μικρό του

δείγματος ($P=0,009$). Δεδομένου, ότι στη μέχρι στιγμής σχετική βιβλιογραφία ανάλογο εύρημα δεν εντοπίζεται, η παρατήρηση αυτή χρήζει περαιτέρω ελέγχου σε μεγαλύτερες μελέτες.

2. ΣΥΓΓΕΝΕΙΣ ΑΝΩΜΑΛΙΕΣ

Μελέτες, εξαιρουμένων των δημοσιεύσεων της ESHRE PGD Consortium, που αφορούν σε συγγενείς ανωμαλίες στα παιδιά που γεννιούνται με τη βοήθεια PGD είναι περιορισμένες (Goossens et al 2008, Desmyttere et al 2009a & 2009b, Liebaers et al 2009, Desmyttere et al 2012) και επιπλέον όλες προέρχονται ουσιαστικά από το ίδιο κέντρο (Κέντρο Ιατρικής Γενετικής, Βρυξέλλες, Βέλγιο). Για το λόγο αυτό, στην αξιολόγηση των συμπερασμάτων της παρούσας μελέτης γίνεται αναφορά συμπληρωματικά σε όσα δεδομένα για κυήσεις PGD έχει δημοσιεύσει η ESHRE PGD Consortium καθώς και σε μελέτες παιδιών που γεννήθηκαν με τη βοήθεια IVF/ICSI και οι οποίες είναι σαφώς περισσότερες.

2.1. ΣΥΧΝΟΤΗΤΑ ΜΕΙΖΟΝΩΝ ΚΑΙ ΕΛΑΣΣΟΝΩΝ ΣΥΓΓΕΝΩΝ ΑΝΩΜΑΛΙΩΝ

Στην παρούσα μελέτη ο ορισμός που χρησιμοποιήθηκε για τη διάκριση των ανωμαλιών σε μείζονες και ελάσσονες ήταν ο εξής:

“Ως *μείζονες* χαρακτηρίζονται εκείνες οι συγγενείς ανωμαλίες που δημιουργούν σοβαρό ανατομικό ή λειτουργικό πρόβλημα στο άτομο και για αυτό άλλωστε και χρήζουν χειρουργικής αποκατάστασης ή άλλης ιατρικής παρέμβασης. Αντιθέτως, οι *ελάσσονες* συγγενείς ανωμαλίες είναι φαινοτυπικά χαρακτηριστικά που δεν διαταράσσουν την υγεία ή την λειτουργικότητα του ατόμου δηλαδή πρόκειται για ασυνήθη μορφολογικά χαρακτηριστικά που δεν προκαλούν ιατρικά ή σοβαρά αισθητικά προβλήματα στο άτομο” (Bowen et al 1998, Bonduelle et al 2002, Pinborg et al 2004a, Smith's 2006).

Μείζονες συγγενείς ανωμαλίες διαπιστώθηκαν σε 8 από τα 51 παιδιά του δείγματος δηλαδή σε ποσοστό 15,7%, με τα περισσότερα παιδιά (6/8) να έχουν μία μόνο μείζονα συγγενή ανωμαλία. Σημειώνεται ότι στην παρούσα μελέτη,

στις μείζονες ανωμαλίες συμπεριελήφθη και η μακροκεφαλία που διαπιστώθηκε σε 4 από τα 8 παιδιά με μείζονες συγγενείς ανωμαλίες. Παρουσία ελασσόνων ανωμαλιών βρέθηκε στο 72,6% των 51 παιδιών της μελέτης με 10 παιδιά (19,6%) να έχουν μόνο μία ανωμαλία αυτού του τύπου και 24 παιδιά (47%) να εμφανίζουν ταυτόχρονα 2 έως και 4 ελάσσονες ανωμαλίες.

2.2. ΕΝΤΟΠΙΣΗ ΜΕΙΖΟΝΩΝ ΣΥΓΓΕΝΩΝ ΑΝΩΜΑΛΙΩΝ ΑΝΑ ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

Όπως φαίνεται στον Πίνακα 34, οι μείζονες ανωμαλίες στα παιδιά της μελέτης αφορούσαν στα εξής συστήματα/όργανα: εγκέφαλος/κρανίο, σκελετικό, πεπτικό, ουροποιογεννητικό και καρδιαγγειακό, με συχνότερη ανωμαλία όλων την μακροκεφαλία που παρατηρήθηκε σε ποσοστό 50% (4 παιδιά στο σύνολο των 8 που εμφάνισαν μείζονα συγγενή ανωμαλία). Σημειώνεται ότι στην παρούσα μελέτη, στις μείζονες ανωμαλίες συμπεριελήφθη η μακροκεφαλία. Αν και αυτή καθ' εαυτή η μακροκεφαλία μπορεί να μην χρήζει ιατρικής παρέμβασης, πάντα λαμβάνεται υπόψιν η πιθανότητα να σχετίζεται με υποκείμενη παθολογία του αναπτυσσόμενου εγκεφάλου- ακόμα κι αν ο απεικονιστικός έλεγχος είναι αρνητικός - για αυτό και χρήζει συστηματικής παρακολούθησης. Ακόμα και στην περίπτωση που η μακροκεφαλία εξαιρεθεί από τις μείζονες συγγενείς ανωμαλίες, το ποσοστό των ανωμαλιών αυτών στα παιδιά PGD ανέρχεται σε 7,8% (4/51).

Τα αποτελέσματα που αφορούν στα προσβαλλόμενα συστήματα/όργανα με συγγενείς ανωμαλίες συμφωνούν με αντίστοιχες αναλύσεις σε σειρές παιδιών που γεννήθηκαν τόσο μετά από τεχνικές εξωσωματικής γονιμοποίησης όσο και σε παιδιά γεννημένα μετά από διενέργεια προεμφυτευτικής γενετικής διάγνωσης.

Στην μελέτη 92 παιδιών ICSI από τους Bowen et al (1998), οι μείζονες συγγενείς ανωμαλίες στα παιδιά αυτά αφορούσαν στο καρδιαγγειακό, σκελετικό και ουροποιογεννητικό σύστημα.

Σε μεταγενέστερη επίσης πολυπληθής μελέτη που πραγματοποιήθηκε στη Δανία, καταγράφηκε μεταξύ άλλων και το είδος των μειζόνων συγγενών ανωμαλιών σε όλα τα παιδιά IVF/ICSI που γεννήθηκαν κατά το διάστημα 1995-2000 (Pinborg et al 2004a). Κατά σειρά συχνότητας, οι ανωμαλίες αυτές εντοπίζονταν στο καρδιαγγειακό, στο ουροποιογεννητικό, στο μυοσκελετικό, στο πεπτικό και στο νευρικό σύστημα καθώς και σε άλλα όργανα ή συστήματα σε μικρότερο ποσοστό (Pinborg et al 2004a). Η μακροκεφαλία ως ξεχωριστή οντότητα δεν επισημαίνεται στη συγκεκριμένη μελέτη.

Σε άλλη μελέτη που έγινε στο Βέλγιο σε σειρά 563 γεννημένων ζωντανών παιδιών PGD/PGS, οι 11 μείζονες ανωμαλίες που καταγράφηκαν αφορούσαν την καρδιά, το ουροποιογεννητικό, το πεπτικό και το αναπνευστικό σύστημα, καθώς και το δέρμα και τους οφθαλμούς (Liebaers et al 2010).

2.3. ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΜΕ ΜΕΛΕΤΕΣ ΣΕ ΠΑΙΔΙΑ PGD/PGS

Τα αποτελέσματα όπως άλλωστε και αρκετά σημεία στο σχεδιασμό της παρούσας μελέτης που αφορούν στις συγγενείς ανωμαλίες, διαφοροποιούνται σε σχέση με ήδη δημοσιευμένες πολυπληθείς έρευνες του εξωτερικού πάνω στο συγκεκριμένο αντικείμενο, αλλά συνάδουν με τα αποτελέσματα κάποιων εξ αυτών συμβατά με αυξημένο κίνδυνο συγγενών ανωμαλιών σε παιδιά από γεννημένα μετά από PGD ή ICSI.

Οι μέχρι τώρα δημοσιευμένες μελέτες που αφορούν σε παιδιά που γεννιούνται με τη βοήθεια PGD/PGS καταλήγουν ότι τα παιδιά αυτά δεν εμφανίζουν αυξημένη συχνότητα συγγενών ανωμαλιών ούτε σε σχέση με παιδιά από εξωσωματική γονιμοποίηση αλλά ούτε και με παιδιά από φυσικές συλλήψεις.

Οι Keymolen et al σε μελέτη 25 παιδιών που γεννήθηκαν ζωντανά μετά από διενέργεια PGD για αποκλεισμό κυστικής ίνωσης, δεν διαπιστώσαν καμία μείζονα συγγενή ανωμαλία (Keymolen et al 2003).

Αντίστοιχα, οι Goossens et al συγκρίνοντας στοιχεία κυήσεων και παιδιών γεννημένων μετά από βιοψία ενός κυττάρου (n=68) και δύο κυττάρων (n=61) κατά την εφαρμογή PGD, δεν διαπίστωσαν γενικά αυξημένη συχνότητα συγγενών ανωμαλιών (Goossens et al 2008). Ωστόσο, το γεγονός ότι η μελέτη πραγματοποιήθηκε με συμπλήρωση ερωτηματολογίου από τους γονείς και τους προσωπικούς τους ιατρούς, η μη διευκρίνηση του ορισμού των συγγενών ανωμαλιών, η μη δημοσίευση των συχνοτήτων ανωμαλιών στις δυο ομάδες και η απουσία στατιστικής ανάλυσης μεταξύ τους, δεν οδηγεί σε εξαγωγή σαφέστερων συμπερασμάτων.

Το ποσοστό των παιδιών PGD/PGS με μείζονα συγγενή ανωμαλία ήταν 1,9% (2/102) αλλά το δείγμα κρίνεται από τους ίδιους τους συγγραφείς ως εξαιρετικά μικρό (Desmyttere et al 2009a).

Στη μελέτη των Banerjee et al 2008, το 4% των 49 παιδιών PGD (ηλικίας έως και 4 ετών) που συμπεριελήφθησαν, είχαν μείζονες συγγενείς ανωμαλίες κατά την κλινική εξέταση, αλλά η μελέτη δεν συνέκρινε το αποτέλεσμα με την ομάδα παιδιών από φυσική σύλληψη.

Οι Desmyttere et al σε συγκριτική μελέτη 70 παιδιών PGD/PGS, 70 παιδιών ICSI και 70 παιδιών από φυσική σύλληψη, δεν διαπίστωσαν αυξημένο κίνδυνο συγγενών ανωμαλιών στα παιδιά της πρώτης ομάδας, η δε συχνότητα των μειζόνων ανωμαλιών υπολογίστηκε σε 2,8% (2/70). Η διαφορά με τη δική μας μελέτη έγκειται στο ότι δεν συμπεριελήφθησαν παιδιά από πολύδυμες κυήσεις ή από εξαιρετικά πρόωρες κυήσεις (διάρκειας <32 εβδομάδων) (Desmyttere et al 2009b).

Οι Liebaers et al (2010) δημοσίευσαν τα αποτελέσματα της μελέτης σε σειρά 581 εμβρύων και παιδιών PGD/PGS. Στην καταγραφή των συγγενών ανωμαλιών υπήρξαν δεδομένα και από τις αποβολές/διακοπές κυήσεως λόγω παθολογίας του εμβρύου και τους περιγεννητικούς θανάτους. Διαπιστώθηκε ότι 11 από τα παιδιά που γεννήθηκαν ζωντανά είχαν μείζονα συγγενή ανωμαλία (de novo), 1 είχε οικογενή συνδακτυλία (IV-V βαθμού) και 2 εξ αυτών τελικά απεβίωσαν στην άμεση περιγεννητική περίοδο. Συνεπώς, το ποσοστό εμφάνισης

μειζόνων συγγενών ανωμαλιών στα ζωντανά νεογνά από PGD/PGS ήταν 2,13% (12/563) . Οι συγγραφείς τονίζουν ότι το ποσοστό των μειζόνων ανωμαλιών ήταν 2,9% στο σύνολο των 584 ζωντανών και αγέννητων παιδιών (Liebaers et al 2010).

Οι Desmyttere et al (2012) σε μελέτη 995 παιδιών από PGD, τα οποία εξετάστηκαν σε ηλικία 2 μηνών, διαπίστωσαν ανάλογα χαμηλό ποσοστό (2,3%) μειζόνων συγγενών ανωμαλιών, που μάλιστα αφορούσαν στο ουροποιογεννητικό σύστημα.

Τέλος, σύμφωνα με την τελευταία δημοσίευση της ESHRE PGD Consortium στα 4021 παιδιά που γεννήθηκαν μετά από PGD κατά τη δεκαετία 1997-2007, ανιχνεύθηκαν 157 συγγενείς ανωμαλίες, καταγεγραμμένες ήδη από τη γέννηση. Οι μισές σχεδόν εξ αυτών ήταν μείζονες και η συχνότητά τους ήταν 2% (84/4021) γεγονός που επιβεβαιώνει το εύρημα των Bonduelle et al (2002) ότι τα παιδιά PGD δεν διαφοροποιούνται από τα παιδιά ICSI (Harper et al 2012).

2.4. ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΜΕ ΜΕΛΕΤΕΣ ΣΕ ΠΑΙΔΙΑ ΑΠΟ IVF/ICSI

Σε μια από τις πρώτες μελέτες για παιδιά που γεννήθηκαν μετά από ICSI, οι Bowen et al, 1998 διαπίστωσαν ότι σε σύνολο 92 παιδιών ICSI (συμπεριλαμβανομένων πολύδυμων και προώρων) το ποσοστό των μειζόνων συγγενών ανωμαλιών (οριζόμενων όπως στη δική μας μελέτη) ήταν 4,5% .

Πολυπληθής μελέτη στη Σουηδία από τους Ericson & Källén σε σύνολο 9111 παιδιών που γεννήθηκαν μετά από IVF/ICSI έδειξε ότι 516 είχαν κάποια μείζονα συγγενή ανωμαλία (5,6%) που αφορούσε πρακτικά σε όλα τα συστήματα/όργανα. Οι συγγραφείς εντόπισαν σχετικό κίνδυνο εμφάνισης ανωμαλιών στην ομάδα της εξωσωματικής αυξημένο κατά 50%, που αποδόθηκε όμως περισσότερο σε παράγοντες των μητέρων που υποβάλλονται σε τεχνικές υποβοηθούμενης αναπαραγωγής (Ericson & Källén, 2001).

Στην μελέτη 8523 παιδιών από IVF/ICSI στον πληθυσμό της Δανίας, 137 (4,04%) παιδιά από πολύδυμες κυήσεις και 189 (3,68%) παιδιά μονόδυμα

εμφάνισαν μείζονες ανωμαλίες. Συνολικά, το 3,8% των παιδιών από εξωσωματική είχαν κάποιου είδους μείζονα συγγενή ανωμαλία. Το αντίστοιχο ποσοστό για τις ελάσσονες ανωμαλίες ήταν 6,2% (532/8523 παιδιά). Στη συγκεκριμένη μελέτη, τα δεδομένα για τις συγγενείς ανωμαλίες (μείζονες και ελάσσονες) συγκεντρώθηκαν με τη βοήθεια καταγραφών από Εθνικές βάσεις δεδομένων κυήσεων/γεννήσεων της Δανίας. Επιπλέον, μελετήθηκαν οι καταγραφές για τις συγγενείς ανωμαλίες για τουλάχιστον ένα έτος για τα παιδιά που τελευταία συμπεριελήφθησαν στη μελέτη. Οι ερευνητές διαπίστωσαν στατιστικά σημαντική αυξημένη συχνότητα εμφάνισης γενικά συγγενών ανωμαλιών στα πολύδυμα παιδιά από IVF/ICSI έναντι των μονόδυμων ($P=0,001$), που σε μεγάλο βαθμό αποδόθηκε στον ανοιχτό βοττάλειο πόρο, ο οποίος σχετίζεται με την προωρότητα (Pinborg et al 2004a).

Υπέρ αυξημένης συχνότητας μειζόνων συγγενών ανωμαλιών είναι και τα αποτελέσματα της μελέτης των Bonduelle et al (2005) που συμπεριελάμβανε 540 παιδιά γεννημένα μετά από ICSI, 437 παιδιά από κλασική IVF και 538 παιδιά από φυσική κύηση. Η αξιολόγηση έγινε στην ηλικία των 5 ετών με κλινική εξέταση. Η συχνότητα των μειζόνων συγγενών ανωμαλιών στην ομάδα ICSI ήταν 6%, των ελασσόνων 29% και των ανωμαλιών συνολικά 33%. Τα παιδιά ICSI εμφάνιζαν μείζονες και ελάσσονες συγγενείς ανωμαλίες συχνότερα από τα παιδιά φυσικής σύλληψης ($P=0,006$ και $P<0,001$ αντιστοίχως) και η διαφορά ήταν στατιστικά σημαντική ακόμα και για τις ανωμαλίες που διαπιστώθηκαν ήδη κατά τη νεογνική περίοδο (Bonduelle et al 2005).

Οι Hansen et al το 2005 δημοσίευσαν τα αποτελέσματα συστηματικής ανάλυσης όλων των μελετών που αφορούσαν σε συγγενείς ανωμαλίες σε παιδιά ICSI/IVF και παιδιά από φυσική σύλληψη. Με μετα-ανάλυση των 7 επιλεγμένων τελικά καλύτερων μελετών (σε σύνολο 25 μη αλληλοεπικαλυπτόμενων δημοσιεύσεων), οι συγγραφείς κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι υπάρχει στατιστικά σημαντικά αυξημένος κίνδυνος στην πρώτη ομάδα παιδιών κατά 30-40%.

Οι Olson et al (2005) σε σύνολο παιδιών από IVF διέγνωσαν εντός του 1^{ου} έτους ζωής τους ύπαρξη μείζονος συγγενούς ανωμαλίας σε ποσοστό 6,2% έναντι του 4,4% στην ομάδα ελέγχου (φυσική σύλληψη). Στην μελέτη αυτή, συμπεριελήφθησαν 1462 παιδιά IVF και 8422 παιδιά από φυσική σύλληψη που γεννήθηκαν κατά το διάστημα 1989-2002 στην Αϊόβα και για τα οποία υπήρχαν πλήρη δεδομένα στην εθνική βάση δεδομένων. Ο κίνδυνος ήταν αυξημένος ακόμα και στα μονόδυμα παιδιά IVF συγκριτικά με την ομάδα ελέγχου.

Αντίστοιχα, 125 (4,27%) από τα 2930 IVF παιδιά που γεννήθηκαν μεταξύ 1996-1999 στην Φιλανδία και συμπεριελήφθησαν στη μελέτη των Klemetti et al (2005), εμφάνισαν μείζονα συγγενή ανωμαλία έναντι 2,85% (756/26489 παιδιά της ομάδας ελέγχου-φυσική σύλληψη). Υψηλότερη συχνότητα προκύπτει σύμφωνα με τους Koivurova et al (2005) 6,6% αλλά αφορά από κοινού σε μείζονες και ελάσσονες ανωμαλίες.

Αντίθετα, στην μελέτη των Anthony et al στις Κάτω Χώρες, τα αποτελέσματα ήταν μάλλον καθυστερημένα. Τα δεδομένα αντλήθηκαν από την ίδια εθνική πηγή πληροφοριών για 4224 παιδιά που γεννήθηκαν μετά από IVF και 314605 παιδιά από φυσική σύλληψη. Συγγενείς ανωμαλίες διαγνώστηκαν σε 137 παιδιά από IVF (3,2%) και σε 8526 παιδιά της ομάδας ελέγχου (2,7%). Η συχνότητα των μειζόνων συγγενών ανωμαλιών ήταν 0,66% (28/4224) και για τις ελάσσονες 1,2% (54/4224) στα παιδιά IVF αντιστοίχως ενώ στην ομάδα ελέγχου οι συχνότητες ήταν για τις μείζονες ανωμαλίες 0,54% και για τις ελάσσονες 1,0%. Τα δεδομένα αυτά αφορούσαν νεογνά και των δυο ομάδων. Όταν όμως η μελέτη επικεντρώθηκε σε 1716 παιδιά IVF για τα οποία υπήρχαν όχι μόνο πληροφορίες στην εθνική βάση δεδομένων, αλλά και συμπληρωμένο ειδικό ερωτηματολόγιο αργότερα, διαπιστώθηκε ότι 95 παιδιά (5,0%) είχαν κάποια συγγενή ανωμαλία (δεν έγινε διάκριση μειζόνων και ελασσόνων). Αυτό αποδόθηκε στο ότι κάποιες από τις συγγενείς ανωμαλίες ή δεν καταγράφηκαν στα αρχεία των γεννήσεων ή ήταν εμφανέστερες στη συνέχεια. Σύμφωνα με τους συγγραφείς, το μεγάλο δείγμα και για τις δυο ομάδες, η κοινή εθνική πηγή δεδομένων για αυτές και η δυνατότητα ανάλυσης με διόρθωση για παράγοντες

όπως η ηλικία, η εθνικότητα και ο αριθμός τόκων της μητέρας προσδίδει μεγάλη ισχύ στην μελέτη αυτή (Anthony et al 2002).

Διαπιστώνουμε ότι η συχνότητα των συγγενών ανωμαλιών στα παιδιά από εξωσωματική γονιμοποίηση ποικίλει σημαντικά στις διάφορες μελέτες (2,1%-6,0%) και τα αποτελέσματα των δημοσιευμένων μελετών περί πιθανής επιβάρυνσης των παιδιών PGD/PGS και IVF/ICSI εξακολουθούν να είναι αντικρουόμενα.

Στη παρούσα μελέτη τόσο το ποσοστό των μειζόνων συγγενών ανωμαλιών (15,7% ή 7,8% εξαιρουμένης της μακροκεφαλίας, σύμφωνα με τον ορισμό του ICD-10) όσο και των ελασσόνων (72,6% ή 76,5% συμπεριλαμβανομένης της μακροκεφαλίας) (Πίνακες 29 και 30), είναι ιδιαίτερα υψηλό και υπερβαίνει το αναφερόμενο ακόμα και σε μελέτες που συνηγορούν υπέρ αυξημένου κινδύνου συγγενών ανωμαλιών στα παιδιά ICSI . Μια πρώτη ερμηνεία ενδεχομένως είναι ο μικρός αριθμός του δείγματος. Επιπλέον, η πιθανότητα εισαγωγής συστηματικού σφάλματος, εφόσον οι γονείς προσήλθαν με δική τους πρωτοβουλία (self-referred), ενδεχομένως υπερκέρασε το πλεονέκτημα της μελέτης μας οι πληροφορίες να προέρχονται αποκλειστικά από την κλινική εξέταση (από το ίδιο πάντα εξειδικευμένο προσωπικό) και το ατομικό ιστορικό του εξεταζόμενου.

Αναμφισβήτητα, η κλινική εξέταση σαφώς υπερτερεί στην αξιολόγηση των συγγενών ανωμαλιών, ιδίως όταν κάποιες από αυτές γίνονται αντιληπτές με την πρόοδο της ηλικίας του παιδιού. Υπάρχει όμως η αντικειμενική δυσκολία στη συλλογή και συστηματική εξέταση μεγάλου αριθμού παιδιών με τον τρόπο αυτό για την άντληση των επιθυμητών πληροφοριών. Δεδομένου ότι μόνο σημαντική αύξηση του δείγματος θα μπορούσε να αμβλύνει τη διαφορά στο ποσοστό των συγγενών ανωμαλιών που προσδιορίστηκε κατά την παρούσα μελέτη, η έλλειψη εθνικής βάσης δεδομένων για κυήσεις φυσικές ή μετά από IVF/ICSI/PGD και των παιδιών που γεννιούνται από αυτές στη χώρα μας δυσχεραίνει την διενέργεια έρευνας σε μεγάλο δείγμα.

Ανεξαρτήτως πάντως της διαφοροποίησής των αποτελεσμάτων μας από προηγούμενες μελέτες, ως προς την ακριβή συχνότητα των συγγενών ανωμαλιών στα παιδιά από PGD, συμπεραίνεται ότι η μέθοδος PGD, ως μια διεύρυνση της εφαρμογής της μεθόδου ICSI, ενδεχομένως να είναι συνυφασμένη (όπως και οι τεχνικές IVF/ICSI) με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης μειζόνων ανωμαλιών στα παιδιά που γεννιούνται. Είναι σημαντικό, να ακολουθήσουν περισσότερες, καλά σχεδιασμένες μελέτες που να επικεντρώνονται σε παιδιά από PGD, συμπεριλαμβανομένων των προώρων και των διδύμων/τριδύμων να διεξαχθούν για να δοθεί οριστική απάντηση στους σκεπτικισμούς και στους προβληματισμούς για την υγεία αυτής της ιδιαίτερης ομάδας παιδιών. Ουσιαστική είναι και η εντατική παρακολούθηση των παιδιών αυτών, τουλάχιστον μέχρι την ηλικία των 5 ετών ώστε να καταγραφεί η ακριβής συχνότητα συγγενών ανωμαλιών που τυχόν διαφεύγουν της διάγνωσης κατά τη γέννηση ή τα πρώτα έτη ζωής.

2.5. ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΜΕΙΖΟΝΩΝ ΣΥΓΓΕΝΩΝ ΑΝΩΜΑΛΙΩΝ ΜΕ ΤΟ ΑΡΡΕΝ ΦΥΛΟ

Χαρακτηριστικό εύρημα ήταν η συσχέτιση του άρρενος φύλου με την ύπαρξη μειζόνων συγγενών ανωμαλιών τόσο κατά την μονοπαραγοντική όσο και κατά την πολυπαραγοντική ανάλυση (λαμβάνοντας υπόψη το βάρος γέννησης και των αριθμό των μεταφερόμενων εμβρύων). Και στις δυο περιπτώσεις η στατιστική σημαντικότητα ήταν της τάξης $P=0,05$ (9/πλάσιος σχεδόν κίνδυνος εμφάνισης σε σχέση με τα θήλεα, C.I. 0,96-82,94). Αντιθέτως δεν διαπιστώθηκε θετική συσχέτιση των μειζόνων ανωμαλιών με τον αριθμό των μεταφερόμενων εμβρύων, τις επιπλοκές της κύησης, το χαμηλό βάρος γέννησης ($\leq 10^{\text{η}}$ ΕΘ), την προωρότητα και την πολυδυμία.

Το εύρημα αυτό υποστηρίζεται και από τα αποτελέσματα άλλης μεγάλης μελέτης που διεξήχθη στη Florida των Η.Π.Α το 2005 από τους Cui et al. Συγκεντρώνοντας στοιχεία από αρχεία κυήσεων σε διαφορετικά κέντρα της πολιτείας της Florida, στο σύνολο 4768 διζυγωτικών διδύμων διαφορετικού φύλου, διαπίστωσαν ότι 225 άρρενα έναντι 175 θηλέων εμφάνισαν μείζονες

συγγενείς ανωμαλίες σύμφωνα με το ICD-9. Τα αντίστοιχα ποσοστά συγγενών ανωμαλιών ήταν 4,72% και 3,67% (έναντι 1% στο γενικό πληθυσμό της Florida), με τα άρρενα νεογνά να έχουν κατά 29% αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης αυτών των ανωμαλιών σε σχέση με τη δίδυμη αδερφή τους, κίνδυνο πυλωρικής στένωσης 5,4 φορές μεγαλύτερο και κίνδυνο αποφρακτικού τύπου ανωμαλία του ουροποιογεννητικού 2,4 φορές μεγαλύτερο επίσης (Cui et al 2005).

Επιπλέον, και οι Bonduelle et al (2005) σε πολυκεντρική μελέτη παιδιών IVF/ICSI ηλικίας 5 ετών, διαπίστωσαν την υπεροχή του ποσοστού συγγενών ανωμαλιών στα άρρενα παιδιά, κάτι που όμως αποδόθηκε στον αυξημένο αριθμό ουρογεννητικών ανωμαλιών σε αυτά.

Οι διαφορές στις συγγενείς ανωμαλίες μεταξύ των δυο φύλων αποδίδεται σε διάφορα αίτια προ και μετά τη διαφοροποίηση των ανδρικών γονάδων κατά την εμβρυογένεση. Οι επακόλουθες ορμονικές και φυσιολογικές διαφορές μπορούν ως ένα βαθμό να ερμηνεύσουν τις διαφορές συγγενών ανωμαλιών μεταξύ των δυο φύλων (Cui et al 2005).

3. ΑΝΑΠΤΥΞΙΟΛΟΓΙΚΗ ΕΞΕΤΑΣΗ

3.1 ΣΥΧΝΟΤΗΤΑ ΨΥΧΟΚΙΝΗΤΙΚΗΣ ΥΣΤΕΡΗΣΗΣ ΣΤΟ ΓΕΝΙΚΟ ΠΛΗΘΥΣΜΟ

Το ποσοστό της ψυχοκινητικής υστέρησης υπολογιζόμενο στο γενικό πληθυσμό ανέρχεται σε 1.1 % σε παιδιά σχολικής ηλικίας και στο 30-50% των περιπτώσεων δεν ανευρίσκεται ακριβής αιτία (Croen et al 2001, Nelson Textbook of Pediatrics). Στο γενικό πληθυσμό η συχνότητά της υπολογίζεται στο 2,5% με το 85% να εμπίπτει στην κατηγορία της ήπιας υστέρησης . Η συχνότητα της σοβαρής νοητικής υστέρησης δεν φαίνεται να μεταβάλλεται αφού από το 1940 μέχρι τις μέρες μας απαντάται σε συχνότητα 0,3-0,5% του γενικού πληθυσμού Η συχνότητα είναι διπλάσια στους άρρενες για την ήπια υστέρηση και 1,5 φορές πολλαπλάσια για τη βαρεία νοητική υστέρηση (Nelson textbook of pediatrics).

Βασική διαφορά είναι ότι στο γενικό πληθυσμό, η νοητική υστέρηση προσδιορίζεται με τη βοήθεια του IQ και διακρίνεται σύμφωνα με το ICD-10 στις ακόλουθες κατηγορίες: ήπια (IQ 50-69) μέτρια (35-49) σοβαρή (20-34) και βαρειά (<20). Οι συχνότητες σοβαρής υστέρησης στη μελέτη μας, σύμφωνα πάντα με την κλίμακα Bayleys/Griffiths, είναι 3/51 (5,9%) για το γενικό πληλίκo, 2/46(4,3%) για το νοητικό πληλίκo και 4/46 (8,7%) για το κινητικό πληλίκo και είναι σαφές ότι δεν μπορούν να συγκριθούν ως προς τα ποσοστά του γενικού πληθυσμού, παρά μόνο με αντίστοιχα ευρήματα σε σχετικές μελέτες.

3.1. ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΥΣΤΕΡΗΣΗΣ (ΣΟΒΑΡΗΣ Η ΜΕΤΡΙΑΣ) ΜΕ ΔΙΑΦΟΡΟΥΣ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ

Λόγω του μικρού αριθμού του δείγματος και του ακόμα μικρότερου των παιδιών με υστέρηση, κατά την μονοπαραγοντική ανάλυση της υστέρησης δεν διαπιστώθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση με την πολυδυμία, την προωρότητα, την παρουσία επιπλοκών στην κύηση, το βάρος γέννησης <10^{ης} εκατοστιαίας θέσης, την τιμή του Apgar score, που ως ένα βαθμό αντικατοπτρίζει τις περιγεννητικές επιπλοκές, και το φύλο του παιδιού. Μια ασθενής συσχέτιση φάνηκε μεταξύ βάρους γέννησης ≤1500g (P=0,07) και του γενικού πληλίκου.

Το γεγονός, όμως, ότι και τα 5 παιδιά με κάποιου είδους σοβαρή υστέρηση προέρχονταν από πολύδυμες κυήσεις, ήταν πρόωρα, εμφάνισαν περιγεννητικές επιπλοκές (σε όλες τις περιπτώσεις πλην ενός), ίσως δείχνει ότι σε μεγαλύτερες σειρές δείγματος, κάποια μορφής συσχέτιση θα μπορούσε να φανεί μεταξύ αυτών των παραμέτρων και της ψυχοκινητικής εξέλιξης των παιδιών που γεννιούνται με τη βοήθεια PGD (Πίνακας 45). Στην ίδια υπόθεση οδηγεί η διαπίστωση ότι το εύρος των τιμών και των τριών πληλίκων (νοητικό, κινητικό και γενικό) και παρά τη διόρθωση για την ηλικία, στα πρόωρα παιδιά περιλαμβάνει τιμές που αντιστοιχούν σε σοβαρή υστέρηση (50-59) σε αντίθεση με τα τελειόμηνα, όπου μόνο για το νοητικό πληλίκo υπάρχει τιμή <65.

Αντίστοιχα είναι και τα ευρήματα όταν εξετάζεται η παρουσία επιπλοκών στην κύηση και η τιμή του Apgar score (≤ 8) (Πίνακας 56).

Επιπλέον, κατά την πολυπαραγοντική ανάλυση των αναπτυξιακών πηλίκων (λαμβάνοντας υπόψη το βάρος γέννησης και το φύλο) ενώ δεν βρίσκεται στατιστικά σημαντική συσχέτιση, διαφαίνεται σχετικός κίνδυνος γενικής υστέρησης σχεδόν 2/πλάσιος όταν υπάρχει αριθμός μεταφερόμενων εμβρύων >2 , πολύδυμη κύηση, ενώ σχεδόν 4/πλάσιος είναι ο σχετικός κίνδυνος (3,76) εμφάνισης κινητικής υστέρησης σε παιδιά που γεννιούνται από πολύδυμες κυήσεις (Πίνακες 59 και 60). Όλα αυτά τα ευρήματα, αν και στατιστικώς μη σημαντικά, δείχνουν ενδεχομένως μία τάση και χρήζουν περαιτέρω διερεύνησης.

Στην υπόθεσή μας ότι η προωρότητα και η πολυδυμία μπορεί να επιβαρύνει την μελλοντική ανάπτυξη των παιδιών PGD δείχνει να συγκλίνει και η παραδοχή που έκαναν οι Nekkebroeck et al (2008) στη σχετική μελέτη, όπου απέκλεισαν παιδιά από πολύδυμες και πολύ πρόωρες (<32 εβδομάδων) PGD/PGS κυήσεις και παιδιά με βάρος γέννησης <1500 gr ακριβώς για να αποφύγουν αυτούς τους επιβαρυντικούς παράγοντες. Για τον ίδιο λόγο, η πολυδυμία έχει αποκλειστεί και σε μελέτες ψυχοκινητικής εξέλιξης των παιδιών που γεννιούνται μετά από ICSI (Knoesrter et al 2007).

Οι Middelburg et al (2008) σε ανασκόπηση μελετών για την εξέλιξη των παιδιών IVF/ICSI επισημαίνουν ως πιθανούς επιβαρυντικούς παράγοντες για την ψυχοκινητική ανάπτυξη την πολυδυμία, τη διάρκεια κύησης, το χαμηλό βάρος γέννησης, τον τόκο, την ηλικία της μητέρας, το μορφωτικό επίπεδο των γονέων και το επάγγελμά τους και προτείνουν οι σχετικές μελέτες να σχεδιάζονται βάσει αυτών των παραμέτρων.

3.3. ΣΥΧΝΟΤΗΤΑ ΨΥΧΟΚΙΝΗΤΙΚΗΣ ΥΣΤΕΡΗΣΗΣ

3.3.1. ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΜΕ ΜΕΛΕΤΕΣ ΣΕ ΠΑΙΔΙΑ ΑΠΟ PGD/PGS

Στο σύνολο των 51 παιδιών από PGD που εξετάστηκαν αναπτυξιολογικά, 5 διαφορετικά παιδιά (9,8%) εμφάνισαν σοβαρή υστέρηση (δηλαδή τιμή <65) σε ένα από τα πηλικά που υπολογίζονται με τη βοήθεια της κλίμακας Bayley (κινητικό, νοητικό ή γενικό) ή ως προς το γενικό πηλίκο Griffiths scales.

Αναλυτικότερα, **σοβαρή υστέρηση (τιμή πηλίκου ≤69)** παρουσίασαν (Πίνακας 44):

- ως προς το γενικό πηλίκο (General Developmental Quotient/GeQ)
3 παιδιά στα 51 (5,9%)

Για τα 46 παιδιά που εξετάστηκαν με την κλίμακα Bayley διαπιστώθηκε σοβαρή υστέρηση

- ως προς το νοητικό πηλίκο (Mental Quotient/MeQ) σε 2 (4,3%)
- ως προς το κινητικό πηλίκο (Motor Quotient/MoQ) 3 (6,5%)

Όσο αφορά στην **ήπια υστέρηση (τιμή πηλίκου 70-85)**, τα αντίστοιχα ποσοστά ήταν (Πίνακας 44):

- 11,7% για το γενικό πηλίκο (6/51 παιδιά PGD) (κλίμακες Bayley/Griffiths)

Για τα 46 παιδιά που εξετάστηκαν με την κλίμακα Bayley διαπιστώθηκε ήπια υστέρηση στο:

- 8,7% (4 στα 46 παιδιά) για το νοητικό πηλίκο (Mental Quotient/MeQ)
- 17,3% (8 στα 46 παιδιά) για το κινητικό πηλίκο (Motor Quotient/MoQ)

Συνολικά, 11 διαφορετικά παιδιά εμφάνισαν ήπια υστέρηση *τουλάχιστον* σε ένα πηλίκο ανάπτυξης (Πίνακας 48).

Τέλος, **υψηλότερο του φυσιολογικού** ήταν το Γενικό Πηλίκο σε 4/51 (7,8%) παιδιά της παρούσας μελέτης, ενώ σύμφωνα με την κλίμακα Bayley, 3/46 παιδιά (6,5%) και 4/46 (8,7%) παρουσίασαν τιμές Νοητικού και Κινητικού Πηλίκου αντίστοιχα, υψηλότερες του φυσιολογικού.

Στο σημείο αυτό, διευκρινίζεται ότι τα “πηλικά” που υπολογίστηκαν με τις κλίμακες Bayleys/Griffiths δεν ταυτίζονται με το επίσημο οριζόμενο νοητικό πηλίκο Intelligence Quotient, γνωστό και ως IQ, αλλά πρόκειται για τιμές που αντιστοιχούν στη νοητική και ψυχοκινητική/εκτελεστική επίδοση του εξεταζόμενου. Σε κάποιες μελέτες, συμβολίζονται και ως mental developmental index (MDI) και psychomotor developmental index (PDI), ενώ σε άλλες, ως mental και psychomotor/performance index αντιστοίχως. Οι τιμές αυτές προκύπτουν αξιολογώντας τα raw scores και την ηλικία του εξεταζομένου, με τη χρήση ειδικών πινάκων της εφαρμοζόμενης κλίμακας αναπτυξιολογικής αξιολόγησης. Συγκρίσιμες μεταξύ των δυο κλιμάκων αξιολόγησης (Bayley και Griffiths) θεωρούνται μόνο οι τιμές του Γενικού Πηλίκου.

Μελέτες της ψυχοκινητικής ανάπτυξης παιδιών που γεννήθηκαν μετά από προεμφυτευτική γενετική διάγνωση είναι δημοσιευμένες ελάχιστες.

Το 2003 οι Keymolen et al, δημοσίευσαν τα αποτελέσματα της παρακολούθησης 25 παιδιών από PGD κυήσεις (για αποκλεισμό του νοσήματος της κυστικής ίνωσης) με τη χρήση ερωτηματολογίου ή/και κλινικής εξέτασης. Σε αυτό το μικρό δείγμα, 1 θήλυ είχε νοητική υστέρηση αδιευκρίνιστης αιτιολογίας (4%).

Αντίθετα στην μελέτη των Banerjee et al (2008) 49 παιδιών PGD ηλικίας έως 4 ετών και 66 παιδιών αντίστοιχης ηλικίας από φυσική σύλληψη, ο μέσος όρος πηλίκων σύμφωνα με τη Griffiths scale ήταν εντός του φυσιολογικού. Τα PGD παιδιά ωστόσο φαίνονταν να υπολείπονταν της ομάδας μαρτύρων κινητικά ($P=0,0001$) αλλά υπερτερούσαν στην ακοή- αντίληψη του λόγου ($P=0,03$). Banerjee et al (2008). Σημειώνεται ότι στη συγκεκριμένη μελέτη, όπως και στην παρούσα, συμπεριελήφθησαν και παιδιά από πολύδυμες κυήσεις, η δε μεθοδολογία ως προς την συλλογή του δείγματος και για τις δυο ομάδες παιδιών ήταν συγκρίσιμη με την παρούσα. Σε αντίθεση, όμως με την παρούσα μελέτη, οι Banerjee et al δεν διαπίστωσαν πηλίκο που να αντιστοιχεί σε μέτρια ή σοβαρή νοητική υστέρηση στην ομάδα ελέγχου (mean Griffith's quotient $102,7 \pm 13,1$ για την ομάδα PGD) (Banerjee et al 2008).

Στις Βρυξέλλες, συγκρίθηκαν 70 παιδιά από PGD/PGS ηλικίας 21-33 μηνών ως προς την ανάπτυξή τους με ισάριθμα παιδιά γεννημένα με τη βοήθεια ICSI και παιδιά από φυσική σύλληψη, επιλεγμένα ώστε οι ομάδες να έχουν αντίστοιχα χαρακτηριστικά (φύλο, εκπαίδευση μητέρας, μητρική γλώσσα και αριθμός τόκου, διάρκεια κύησης) (Nekkebroeck et al 2008). Η ψυχοκινητική αξιολόγηση έγινε όπως και στην παρούσα μελέτη με τη χρήση της κλίμακας Bayley και στις τρεις ομάδες. Η στατιστική ανάλυση δεν έδειξε διαφορές στην ηλικία των 2 ετών μεταξύ των παιδιών και των τριών κατηγοριών, αλλά ούτε και σε σχέση με το φύλο. Στην μελέτη εκείνη ωστόσο, αποκλείστηκαν εξ αρχής τα δίδυμα/τρίδυμα ώστε να μην υπεισέλθουν συγχυτικοί παράγοντες, αλλά συμπεριελήφθησαν 10 παιδιά γεννημένα σε ηλικία κύησης 33-37 εβδομάδων και με βάρος γέννησης >1500 gr. Οι συγγραφείς έδωσαν τους εξής ορισμούς για την ψυχοκινητική αξιολόγηση: >115 υψηλό, 85-114 φυσιολογικό, 70-84 ήπια υστέρηση και ≤69 σοβαρή υστέρηση (Nekkebroeck et al 2008).

Σε αντίθεση με τη δική μας μελέτη, οι Nekkebroeck et al διαπίστωσαν ήπια μόνο υστέρηση στην κινητική ανάπτυξη σε 2/58 (3,5%) παιδιά και σε κανένα ως προς το νοητικό, ενώ υψηλότερη του φυσιολογικού σε 10/69 (14,5%) παιδιά ως προς το νοητικό πηλίκο και σε 5/58 (8,6%) ως προς το ψυχοκινητικό πηλίκο. Και στην παρούσα μελέτη, σημαντικό ποσοστό των παιδιών PGD είχαν τιμές πηλίκων ανώτερες του φυσιολογικού (Πίνακας 46). Σχετικά συγκρίσιμα ήταν τα αποτελέσματα της μελέτης μας ως προς τα παιδιά με τιμές υψηλότερες του φυσιολογικού, με την πλειονότητα των παιδιών και στις δυο μελέτες να ανήκουν σε αυτή την κατηγορία. Η αντιπαραβολή των αποτελεσμάτων των δύο μελετών συνοψίζονται στον Πίνακα 81.

Πίνακας 81. Σύγκριση αποτελεσμάτων ψυχοκινητικής εξέλιξης παιδιών PGD Nekkebroeck et al (2008) και παρούσας μελέτης

	Nekkebroeck et al *	παρούσα μελέτη **	Nekkebroeck et al*	παρούσα μελέτη **
	Νοητικό Πηλίκο	Νοητικό Πηλίκο MeQ	Ψυχοκινητικό Πηλίκο	Κινητικό Πηλίκο MoQ
Σοβαρή υστέρηση	0%	4,3% (2/46)	0%	6,5% (3/46)
Ήπια υστέρηση	0%	8,7% (4/46)	3,5% (2/58)	17,3% (8/46)
Φυσιολογικό	85,5% (59/69)	80,5% (37/46)	91,4% (53/58)	67,5% (31/46)
Ανώτερο	14,5% (10/69)	6,5% (3/46)	8,6% (5/58)	8,7% (4/46)

* ≤69: σοβαρή υστέρηση **70-84:** ήπια υστέρηση **85-115:** φυσιολογικό ≥115: ανώτερο του φυσιολογικού ** ≤69: σοβαρή υστέρηση **70-85:** ήπια υστέρηση **86-115:** φυσιολογικό ≥116: ανώτερο του φυσιολογικού

Η αναπτυξιολογική εκτίμηση με τη χρήση της κλίμακας Bayley και Griffiths ανέδειξε υψηλό ποσοστό ήπιας υστέρησης σε κάποιο από τα πηλικά ανάπτυξης (11/51 παιδιά ή 21,5%). Για τα 46 παιδιά που εξετάστηκαν με την κλίμακα Bayley η ήπια υστέρηση ήταν στην πλειονότητά της κινητική (17,3%) και μόνο στο 8,7% ως προς τη νοητική ανάπτυξη. Ακόμα και στην περίπτωση που θα είχε χρησιμοποιηθεί ως ορισμός “ήπιας υστέρησης” τιμή πηλίκου ίση με 70-84, η συχνότητα δεν θα είχε σημαντική διαφοροποίηση: 9 αντί για 11 παιδιά, δηλαδή ποσοστό 17,6% θα εμφάνιζε αυτού του βαθμού την υστέρηση. Ωστόσο, το Γενικό πηλίκο (General Developmental Quotient) παρουσίαζε τιμή που αντιστοιχούσε σε ήπια υστέρηση μόνο σε 4/51 παιδιά της μελέτης (7,8%). Το πηλίκο αυτό αποτελεί το γενικό δείκτη ψυχοκινητικής ανάπτυξης και επιπλέον είναι απόλυτα συγκρίσιμο μεταξύ των δυο κλιμάκων αξιολόγησης (Bayley και Griffiths). Η μεγάλη διαφορά με την αντίστοιχη τιμή των Nekkebroeck et al (2008) μπορεί να αποδοθεί αφενός σε διαφορές σχεδιασμού

και χαρακτηριστικών του δείγματος μεταξύ των δυο μελετών αφετέρου δε στην πιθανότητα να έχει υπεισέλθει στατιστικό συστηματικό σφάλμα (bias) λόγω της προσέλευσης των γονέων κατόπιν δικής τους επιθυμίας. Στη μελέτη των Nekkebroeck et al (2008), το ποσοστό συμμετοχής και για τις 3 ομάδες ήταν υψηλό, συμπεριελήφθησαν παιδιά από PGD ή PGS, αλλά ο αποκλεισμός των διδύμων/τριδύμων παιδιών είναι μια ακόμα βασική διαφορά από την παρούσα έρευνα.

Το συμπέρασμα αυτό έρχεται σε σαφή αντίθεση με τις μέχρι τώρα δημοσιευμένες μελέτες σε παιδιά PGD/PGS, συγκλίνει όμως με τη στατιστική ανάλυση των πρώτων αποτελεσμάτων της μελέτης μας σε δείγμα 31 παιδιών PGD (Thomaidou et al 2012) (Πίνακας 82).

Πίνακας 82. Συχνότητα ήπιας και σοβαρής υστέρησης ανά ηλικίο ανάπτυξης-Αντιπαραβολή των αρχικών και τελικών αποτελεσμάτων της μελέτης

	Ήπια υστέρηση			Σοβαρή υστέρηση		
	MeQ	MoQ	GeQ	MeQ	MoQ	GeQ
Δημοσιευμένα Αποτελέσματα της μελέτης (αρχικά) n=31	6,4%	22,4%	12%	9,7%	6,4%	6,4%
Αποτελέσματα της μελέτης (Τελικά) n=51*	8,7%	17,3%	11,7%	4,3%	6,5%	5,9%

*Για τα ηλίκια MeQ και MoQ που υπολογίστηκαν με την κλίμακα Bayley, το δείγμα παιδιών είναι 46

Διαπιστώνεται ότι παρά την αύξηση του δείγματος κατά 20 παιδιά, το ποσοστό της ήπιας υστέρησης και στα τρία ηλίκια παρέμεινε πρακτικά

αμετάβλητο, ενώ υπήρξε εξομάλυνση ως προς τις συχνότητες της σοβαρής υστέρησης, ιδιαίτερα δε της νοητικής.

3.3.2. ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΜΕ ΜΕΛΕΤΕΣ ΠΑΙΔΙΩΝ ΑΠΟ IVF/ICSI

Παρά το ότι οι μελέτες σε παιδιά PGD/PGS είναι ελάχιστες, υπάρχει αξιόλογη βιβλιογραφία σχετικά με την ψυχοκινητική εξέλιξη των παιδιών από ICSI και πλήθος μελετών και ανασκοπήσεων που συνηγορούν υπέρ της ομαλής ψυχοκινητικής εξέλιξης των παιδιών αυτών σε σχέση με παιδιά από φυσική σύλληψη (Sutcliffe et al 2001, Koivurova et al 2003, Leslie et al 2003, Ponjaert-Kristoffersen et al 2004 & 2005, Leunens et al 2006, Velproest & Tournaye 2006, Knoester et al 2007, Middelburg et al 2008) .

Αντιθέτως, κάποιες μελέτες μιλούν για αυξημένο κίνδυνο ήπιας υστέρησης ή πιθανής αναπτυξιακής υστέρησης (Bowen et al 1998, Strömberg et al 2002). Σε αυτή των Bowen et al (1998) το συμπέρασμα ήταν ότι τα παιδιά από ICSI έχουν, στον 1^ο χρόνο ζωής, αυξημένη συχνότητα ήπιας υστέρησης (μνήμη, ικανότητα επίλυσης προβλημάτων και λεκτική ικανότητα) χωρίς όμως υπολειπόμενη κινητική ανάπτυξη συγκριτικά με τα παιδιά από IVF ή από φυσική σύλληψη. Ο μέσος όρος του νοητικού και του κινητικού πηλίκου ήταν επίσης χαμηλότερος σε σχέση με τις δυο ομάδες μαρτύρων, το δε ποσοστό ήπιας υστέρησης νοητικής ήταν 15% και 2% για σοβαρή υστέρηση, με τα αντίστοιχα ποσοστά στην ομάδα IVF να αντιστοιχούν σε μόλις 2% και 1%. Ο έλεγχος έγινε και εδώ με τη χρήση της κλίμακας Bayley και συμπεριελήφθησαν στη μελέτη παιδιά από πρόωρες και πολύδυμες κυήσεις. Παρά τα ευρήματα αυτά, οι συγγραφείς τονίζουν ότι η παρουσία ήπιας ψυχοκινητικής υστέρησης στον 1^ο χρόνο ζωής δεν προδικάζει υποχρεωτικά τη δυσμενή πρόγνωση, πόσο μάλλον αν χρησιμοποιούνται για την εκτίμηση μέθοδοι που αξιολογούν περισσότερο τις κινητικές δεξιότητες και λιγότερο τις γνωσιακές ή νοητικές. Δίνουν όμως έμφαση στη σημασία παρακολούθησης των παιδιών που γεννιούνται μετά από ICSI (Bowen et al 1998).

Σύμφωνα με τους Basatemur & Sutcliffe (2008) η ανωτέρω μελέτη είχε μια σειρά από μεθοδολογικά προβλήματα, συμπεριλαμβανομένου του μικρού δείγματος και της αδυναμίας αξιολόγησης του μορφωτικού επιπέδου της μητέρας, η δε συνέχισή της με επανεξέταση των παιδιών στην ηλικία των 5 ετών (Leslie et al 2003) είχε φυσιολογικά αποτελέσματα ως προς την εξέλιξη των παιδιών αυτών (Basatemur & Sutcliffe 2008).

Οι Strömberg et al σε αναδρομική μελέτη με εξαιρετικά μεγάλο δείγμα παιδιών από IVF (5680 εκ των οποίων 3228 μονόδυμα) και παιδιών από φυσική σύλληψη (11360 εκ των οποίων 11070 ήταν μονόδυμα) ως προς τη νευρολογική τους έκβαση, συμπέραναν ότι στην ομάδα IVF ο κίνδυνος αναπτυξιακής καθυστέρησης ήταν τετραπλάσιος συγκριτικά με την ομάδα μαρτύρων. Επιπλέον ο κίνδυνος εξακολουθούσε να υπάρχει, αν και μειωμένος, όταν η σύγκριση αφορούσε στα μονόδυμα παιδιά της μελέτης. Επισημαίνεται ότι στη μελέτη αυτή, η αξιολόγηση της νευροαναπτυξιακής παθολογίας βασίστηκε στο ICD-10 και περιελάμβανε μεγάλο αριθμό (138) αναπτυξιακών ή νευρολογικών διαταραχών (Strömberg et al 2002).

Η πιθανότητα επιβάρυνσης παιδιών από ICSI ως προς τη νοητική τους εξέλιξη αναιρείται από τη μελέτη των Leslie et al (2003) σε 97 παιδιά ICSI, 80 IVF και 110 από φυσική σύλληψη στην ηλικία των 5 ετών. Η αξιολόγηση του IQ έγινε με την εφαρμογή της Weschler Preschool and Primary Scales of Intelligence, μιας διεθνώς αποδεκτής και ευρέως χρησιμοποιούμενης μεθόδου. Ωστόσο και σε αυτή τη μελέτη, ποσοστό 5,2% των παιδιών ICSI εμφάνισαν τιμές υστέρησης (IQ<85) έναντι του 2,5% των IVF και του 0,9% των φυσικά συλληφθέντων, χωρίς όμως αυτή η διαφοροποίηση να είναι στατιστικά σημαντική. Ένα σημείο άξιο προσοχής είναι ότι στα παιδιά που εκτιμήθηκαν στην ηλικία και του 1 έτους και των 5 ετών, η κλίμακα Bayley έδωσε γενικά χαμηλότερες τιμές μέσης τιμής ως προς το νοητικό πηλίκο και αντίστοιχα υψηλότερο ποσοστό υστέρησης σε σχέση με το IQ (full scale IQ) (Leslie et al 2003). Αυτό θα μπορούσε να δικαιολογήσει τα ποσοστά σοβαρής και ήπιας

υστέρησης στην παρούσα μελέτη και ενδεχομένως υποδεικνύει ότι με άλλη μέθοδο αξιολόγησης μπορεί να είναι σημαντικά χαμηλότερα.

Σε εξακολούθηση της ίδιας μελέτης μέχρι την ηλικία των 8 ετών, (συμπεριλαμβανομένων παιδιών από κυήσεις διάρκειας >32 εβδομάδων) με τη χρήση της Weschler Intelligence Scale for Children-Revised (WISC-R) και της Movement Assessment Battery for Children (ABC), οι Leunens et al (2006) διαπίστωσαν επιπλέον ότι τα παιδιά στην ομάδα ICSI όχι μόνο δεν υστερούσαν κινητικά συγκριτικά με τα παιδιά από φυσική σύλληψη, αλλά πλεονεκτούσαν ως προς τη διανοητική ικανότητα με στατιστική σημαντικότητα ($P < 0,01$ για τη συνολική ικανότητα, και τη λεκτική και $P < 0,05$ για την επίδοση/εκτέλεση). Επιπλέον, οι ερευνητές διαπίστωσαν ότι ακόμα και τα παιδιά ICSI που γεννήθηκαν μετά από κύηση ≥ 32 εβδομάδων ή προέρχονταν από πολύδυμη κύηση, παρά τις όποιες συγγενείς ανωμαλίες ή το χαμηλό βάρος γέννησης, είχαν φυσιολογικό ή άνω του φυσιολογικού IQ υπολογιζόμενο με τη χρήση του WISC-R (Leunens et al 2006).

Η ίδια επιστημονική ομάδα στο Βέλγιο, δημοσίευσε σχετικά πρόσφατα τα αποτελέσματα της πρώτης μελέτης γνωστικής, ψυχολογικής και ψυχοκινητικής ανάπτυξης παιδιών που γεννήθηκαν από ICSI, σε ηλικία 10 ετών. Η μέθοδος WISC-R χρησιμοποιήθηκε για την αντικειμενική αναπτυξιολογική εκτίμηση των 109 παιδιών από μονήρεις κυήσεις ICSI, διάρκειας >32 εβδομάδων και 90 παιδιών από φυσικές κυήσεις με σχεδόν παρόμοια χαρακτηριστικά, επιλεγμένα από τα σχολεία της περιοχής. Τα παιδιά ICSI δεν διαπιστώθηκε να εμφανίζουν σημαντική υστέρηση σε κινητικό ή γνωστικό επίπεδο. Το δε εύρημα, μάλιστα, της προηγούμενης ανάλυσης ότι πλεονεκτούσαν τα παιδιά ICSI (ηλικίας 8 ετών) εξομαλύνθηκε όταν επανελέγχθηκαν στην ηλικία των 10 ετών. Ωστόσο, οι συγγραφείς δεν θεωρούν το αρχικό εύρημα κλινικά σημαντικό, αφού το απέδωσαν στην μεγαλύτερη ηλικία των μητέρων παιδιών ICSI και στο καλύτερο μορφωτικό τους επίπεδο (Leunens et al 2008).

Εξαιρετικά μεγάλου δείγματος ήταν η πολυκεντρική μελέτη των Ponjaert-Kristoffersen (2005) σε 5 χώρες, όπου εκτιμήθηκαν ως προς την ψυχοκινητική

τους εξέλιξη 511 παιδιά ICSI συγκριτικά με 424 παιδιά IVF και 488 από φυσική σύλληψη, με τη χρήση της Weschler Preschool and Primary Scale of Intelligence-Revised (WPPSI-R) και της McCarthy Scales of Children's Abilities (MSCA) Motor Scale. Και στην μελέτη αυτή τα αποτελέσματα συνηγορούν υπέρ της ομαλής ανάπτυξης των παιδιών αυτών. Και στην περίπτωση όμως αυτή, δεν συμπεριελήφθησαν παιδιά από κυήσεις πολύδυμες ή διάρκειας <32 εβδομάδων ή τριτοτόκα.

Μια από τις πιο αξιόλογες μελέτες είναι αυτή των Knoester et al (2007) στο Leiden (Κάτω Χώρες). Εκτιμήθηκε η νευρολογική εξέλιξη σε 81 *μονόδυμα* παιδιά ηλικίας 5-8 ετών ICSI σε σύγκριση με 81 παιδιά από IVF και 85 από φυσική σύλληψη. Δεν βρέθηκε κατά την στατιστική ανάλυση ότι η ICSI είναι επιβαρυντικός παράγοντας. Η εξέταση στην περίπτωση αυτή βασίστηκε σε προτυπωμένη νευρολογική αξιολόγηση κατά Touwen που εστιάζει σε ήπια νευρολογική δυσλειτουργία και μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε παιδιά ηλικίας 4-18 ετών. Ποσοστό 4% των παιδιών ICSI εμφάνισε σύνθετη νευρολογική διαταραχή και απλή νευρολογική διαταραχή το 63%. Η αρχική επιβάρυνση στα παιδιά ICSI/IVF αμβλύθηκε μετά από διόρθωση για την ηλικία της μητέρας, τον τόκο (πρωτοτόκα, δευτεροτόκα κ.ο.κ) και το χαμηλό βάρος γέννησης. Ο περιορισμός της μελέτης ήταν ότι εξήγαγε συμπεράσματα μόνο για παιδιά τελειόμνηνα.

Και στις δυο μελέτες των Leunens et al (2003, 2008) το επίπεδο εκπαίδευσης της μητέρας φάνηκε να είναι ο καθοριστικός παράγοντας στην γνωστική και κινητική εξέλιξη των παιδιών ICSI. Αυτό το αποτέλεσμα έρχεται σε αντίθεση με την απουσία τέτοιου είδους συσχέτισης στην παρούσα μελέτη, αλλά ως ένα βαθμό θα μπορούσε να αποδοθεί στη διαφορετική μέθοδο ψυχοκινητικής αξιολόγησης και την μικρότερη ηλικία των παιδιών την παρούσα μελέτη. Επιπλέον, η διάκριση του επιπέδου εκπαίδευσης διαφοροποιείται από την παρούσα μελέτη, αφού είχε μεγαλύτερη διασπρωμάτωση και διακρίνεται σε “ανωτάτη”, “μέση”, “χαμηλή” και “άγνωστη” χωρίς αναφορά στα έτη σπουδών. Αντίθετα, στην παρούσα έρευνα, ο απλός διαχωρισμός του επιπέδου

μόρφωσης με σημείο αναφοράς τα 15 έτη, οδηγεί στο να συμπεριληφθούν στην ίδια ομάδα, γονείς που έχουν σπουδές σε κάποιο τεχνολογικό ίδρυμα ή σχολή διετούς φοίτησης (ανώτερη εκπαίδευση) και αυτοί που έχουν παρακολουθήσει μόνο τη βασική 12ετή σχολική εκπαίδευση.

Παρά το μικρό δείγμα της μελέτης μας και την ύπαρξη πολυδυμίας, τα υψηλά ποσοστά της σοβαρής και ιδίως της ήπιας υστέρησης σε κάποιο από τα πηλικά που υπολογίζονται με την κλίμακα Bayley ή Griffiths δείχνουν πιθανή επιβάρυνση των παιδιών PGD. Εξάλλου, όπως τονίζουν οι Bowen et al (1998), η υστέρηση που υπολογίζεται με την κλίμακα Bayley δεν προδικάζει απαραίτητα αρνητική αναπτυξιολογική εξέλιξη των παιδιών ειδικά αν εφαρμόζεται σε ηλικία μικρότερη του έτους, χρήζει όμως τακτικής παιδιατρικής παρακολούθησης.

Ωστόσο, εφόσον η PGD είναι εξ ορισμού συνυφασμένη με αυξημένο ποσοστό πολυδυμίας και τα επακόλουθά αυτής, όπως η σοβαρή προωρότητα, το χαμηλό βάρος γέννησης ή οι περιγεννητικές επιπλοκές, οι μελέτες που αφορούν στην ψυχοκινητική εξέλιξη των παιδιών που γεννιούνται θα πρέπει να περιλαμβάνουν και τα πολύδυμα. Με αυτό τον τρόπο τα συμπεράσματα θα είναι απολύτως ακριβή και αξιόπιστα. Το ίδιο ακριβώς προτείνεται από τους Middelburg et al (2008) που έκαναν συστηματική ανασκόπηση των μελετών που αφορούν στην ψυχοκινητική, γλωσσική και συμπεριφορική εξέλιξη παιδιών που γεννήθηκαν από ICSI/IVF. Επισημαίνουν ότι αυτού του είδους οι μελέτες θα πρέπει να λαμβάνουν υπόψη τους πιθανούς επιβαρυντικούς παράγοντες είτε χρησιμοποιώντας ομάδες μαρτύρων με τα ίδια χαρακτηριστικά ή συμπεριλαμβάνοντας τους παράγοντες αυτούς σε πολυπαραγοντική στατιστική ανάλυση, αλλά όχι αγνοώντας τους (Middelburg et al 2008).

Τέλος, ένα ακόμα εύρημα της παρούσας μελέτης ήταν ότι τα άρρενα παιδιά PGD της μελέτης μας είχαν ελαφρά αλλά όχι στατιστικά σημαντικά χαμηλότερο μέσο όρο σε όλα τα υπολογιζόμενα πηλικά με την κλίμακα Bayley. Ανάλογο ήταν το συμπέρασμα σε μελέτη των Bonduelle et al 2001 σε παιδιά από ICSI που εκτιμήθηκαν στην ηλικία 24-28 μηνών με την ίδια κλίμακα αξιολόγησης. Στη συγκεκριμένη μελέτη η διαφορά ήταν μικρή αλλά στατιστικά

σημαντική που ίσως αντικατοπτρίζει γενικά τις μικρές διαφοροποιήσεις στην ανάπτυξη των δύο φύλων σε αυτή την ηλικιακή ομάδα όπως αυτή επισημαίνεται σε ψυχολογικές μελέτες (Nagy et al 1999) αλλά και στο ότι η κλίμακα Bayley δεν λαμβάνει υπόψιν το φύλο του εξεταζόμενου (Bonduelle et al 2001). Εξάλλου, είναι ήδη γνωστό ότι, ακόμα και στο γενικό πληθυσμό, οι νευροαναπτυξιακές διαταραχές είναι συχνότερες στα άρρενα σε σχέση με τα θήλεα (Hadders-Algra et al 1998a,b).

4. ΓΟΝΕΪΚΟ ΑΓΧΟΣ ΟΜΑΔΑΣ ΕΛΕΓΧΟΥ ΚΑΙ ΜΑΡΤΥΡΩΝ

4.1. ΕΠΙΠΕΔΑ ΑΓΧΟΥΣ ΓΟΝΕΩΝ ΠΑΙΔΙΩΝ PGD (ΟΜΑΔΑ ΕΛΕΓΧΟΥ)

Σε σύνολο 48 γονέων παιδιών PGD μόνο 2 εμφάνισαν αυξημένο ολικό άγχος (ποσοστό 4,2%) ενώ χαμηλό άγχος διαπιστώθηκε στους 13/48 γονείς (27,1%). Επίσης σε ένα ποσοστό της τάξης του 18,4%, οι γονείς των παιδιών PGD είχαν $DR \leq 10$ που σημαίνει ή “αμυντική στάση έναντι του ερωτηματολογίου” ή αυτοπεποίθηση και πραγματική ικανότητα του γονέα σχετικά με το ρόλο του.

Η ηλικία των γονέων της ομάδας ελέγχου ελάχιστα ενδεχομένως να σχετίζεται με το συνολικό άγχος τους ($P=0,099$) (Πίνακας 67). Επιπλέον, το άγχος του ενός γονέα φάνηκε να επηρεάζει και τον άλλο, όπως δείχνει η οριακή στατιστική σημαντικότητα κατά τη σύγκριση όλων των επιμέρους παραμέτρων του PSI-SF μεταξύ των γονέων παιδιών PGD, που ήταν ζευγάρι και συμπλήρωσαν το ερωτηματολόγιο ανεξάρτητα μεταξύ τους (Πίνακες 68-71).

4.2. ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΑΓΧΟΥΣ ΓΟΝΕΩΝ ΠΑΙΔΙΩΝ PGD (ΟΜΑΔΑ ΕΛΕΓΧΟΥ) ΚΑΙ ΓΟΝΕΩΝ ΠΑΙΔΙΩΝ ΑΠΟ ΦΥΣΙΚΗ ΣΥΛΛΗΨΗ (ΟΜΑΔΑ ΜΑΡΤΥΡΩΝ)

Στην συγκριτική μελέτη μεταξύ των ομάδων των γονέων της ομάδας ελέγχου και αυτής των μαρτύρων, υπήρχε μια οριακά σημαντική διαφορά ως προς την παράμετρο του συνολικού γονεϊκού άγχους ($P=0,065$). Σύμφωνα με αυτό το εύρημα, οι γονείς των παιδιών PGD όχι μόνο έχουν στην πλειονότητά

τους (71,1%) άγχος εντός του φυσιολογικού αλλά αντιμετωπίζουν λιγότερο συχνά υψηλά επίπεδα ψυχολογικής φόρτισης σχετικά με το γονεϊκό τους ρόλο 2,6% έναντι 17,3% της ομάδας μαρτύρων).

Η αντιπαράθεση των αποτελεσμάτων της παρούσας μελέτης θα γίνει με τις λιγοστές δημοσιευμένες μελέτες σε γονείς που τεκνοποίησαν με τη βοήθεια PGD/PGS (Banerjee et al 2008, Nekkebroeck et al 2008) καθώς και με τα πρώτα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης, που έχουν γίνει αποδεκτά για δημοσίευση στο World Journal of Pediatrics. Επιπλέον, η αναφορά στη βιβλιογραφία θα συμπεριλάβει και αντίστοιχου αντικειμένου μελέτες σε γονείς παιδιών από IVF/ICSI.

Οι Banerjee et al (2008) σε μελέτη 49 παιδιών PGD και 66 παιδιών από φυσική σύλληψη, εκτίμησαν με τη βοήθεια του ερωτηματολογίου PSI-SF το άγχος των γονέων τους. Αν και οι συγγραφείς δεν αναφέρονται αναλυτικά στα χαρακτηριστικά του δείγματος των γονέων, η μελέτη δεν ανέδειξε διαφορές ως προς το συνολικό άγχος που βιώνουν οι γονείς των δυο ομάδων, αλλά ούτε και ως προς τις επιμέρους παραμέτρους που το συνιστούν (Parental Distress, Parent-Child Difficult interaction, Difficult Child). Τα αποτελέσματα αυτά συμφωνούν με τα συμπεράσματα που προέκυψαν από την παρούσα μελέτη.

Το εύρημά μας ότι οι γονείς παιδιών από PGD δεν βιώνουν αυξημένα επίπεδα άγχους ως προς το γονεϊκό τους ρόλο επιπλέον ταυτίζεται με τα συμπεράσματα της μελέτης των Nekkebroeck et al (2008). Η εκτίμηση του γονεϊκού άγχους έγινε, όπως και στη διατριβή αυτή, με τη χρήση του ερωτηματολογίου PSI-SF και συμμετείχαν 41 γονείς παιδιών PGD/PGS, 35 γονείς παιδιών ICSI και 53 γονείς παιδιών από φυσική σύλληψη, επιλεγμένοι βάσει συγκεκριμένων δημογραφικών κριτηρίων. Από τη μελέτη αποκλείστηκαν οι γονείς και στις τρεις ομάδες, με δίδυμα/τρίδυμα ή εξαιρετικά πρόωρα παιδιά <33 εβδομάδων ή πολύ χαμηλού βάρους γέννησης <1500 gr.

Τονίζεται ότι η εκτίμηση του γονεϊκού άγχους στις τρεις ομάδες έγινε με τη χρήση της σύντομης μορφής του PSI για την Ολλανδία γνωστής και ως Nijmeegse Ouderlijke Stress Index-Korte vorm (NOSIK), η οποία διαφοροποιείται

από τη Ελληνική PSI-SF στο ότι απαρτίζεται από 25 ερωτήματα αντί 36 με κλιμάκωση απαντήσεων από 1-6 και όχι 0-5. Παρά τις όποιες μικρές διαφοροποιήσεις των δυο ερωτηματολογίων, οι Nekkebroeck et al διαπίστωσαν υψηλή τιμή συνολικού άγχους σε 11/39 (28%) μόνο γονείς παιδιών PGD/PGS, φυσιολογικό στους υπόλοιπους 28 (72%) και χαμηλό σε κανέναν. Το γονεϊκό άγχος δεν διέφερε σημαντικά μεταξύ των τριών ομάδων. Οι ίδιοι οι συγγραφείς διευκρινίζουν ότι παρά την επιλογή των τριών ομάδων γονέων βάσει κοινών κριτηρίων και το υψηλό ποσοστό συμμετοχής, ο αποκλεισμός των γονέων διδύμων, πολύ χαμηλού βάρους γέννησης και σημαντικά προώρων από τη μελέτη, περιορίζει τα όποια συμπεράσματα από το να γενικευθούν (Nekkebroeck et al 2008).

Στην παρούσα μελέτη, το δείγμα των γονέων παιδιών PGD και των γονέων παιδιών από φυσική σύλληψη, είναι απολύτως συγκρίσιμο αριθμητικά με αυτό της μελέτης των Nekkebroeck et al, με τη διαφορά ότι συμπεριελήφθησαν γονείς διδύμων και τριδύμων παιδιών PGD, γονείς παιδιών με πολύ χαμηλό βάρος γέννησης ή και περιγεννητικά προβλήματα/ μείζονες ανωμαλίες, καθώς και γονείς των οποίων ένα από τα παιδιά PGD απεβίωσαν στην περιγεννητική περίοδο. Θα αναμενόταν όλοι αυτοί οι παράγοντες να επιβαρύνουν το άγχος των γονέων, και τα ποσοστά υψηλού συνολικού άγχους να είναι ακόμα μεγαλύτερα από αυτά των Nekkebroeck et al. Παραδόξως, ακόμα και οι γονείς των παιδιών αυτών είχαν άγχος εντός του φυσιολογικού. Επιπροσθέτως, το συνολικό άγχος ήταν αυξημένο σε μόλις 4,2 % των γονέων ενώ διαπιστώθηκε και ένα 27,1% γονέων με χαμηλά επίπεδα άγχους.

Αυτές οι διαφοροποιήσεις θα μπορούσαν να αποδοθούν στο σχεδιασμό των δυο μελετών, στις μικρές διαφορές των χρησιμοποιούμενων PSI-SF και σε στοιχεία ψυχοσύνθεσης των δύο λαών.

Το κοινό ωστόσο εύρημα των δυο εργασιών ότι οι γονείς παιδιών PGD δεν βιώνουν αυξημένο άγχος, θα μπορούσε να ερμηνευτεί από τη μεγάλη επιθυμία των γονέων αυτών να αποκτήσουν παιδί υγιές ως προς το μονογονιδιακό νόσημα της οικογένειας. Επιπλέον, οι γονείς αυτοί σε ένα

μεγάλο βαθμό έχουν ήδη βιώσει έντονα στρεσογόνες καταστάσεις όπως αυτόματες αποβολές, διακοπές παθολογικών κυήσεων, απόκτηση ήδη ενός παιδιού που να πάσχει, οπότε η γέννηση ενός υγιούς παιδιού αξιολογείται περισσότερο θετικά και “λυτρωτικά” μετά από όλη αυτή την επίπονη και ψυχοφθόρα διαδικασία.

Η υπόθεση ότι η ίδια η διαδικασία της εξωσωματικής είναι “ψυχοφθόρος” και η απόκτηση παιδιού δρα ανακουφιστικά στην ψυχολογία των γονέων, εν μέρει υποστηρίζεται από τα αποτελέσματα της μελέτης των Papaligoura et al (2004). Σύμφωνα με τους συγγραφείς, οι γονείς που υποβλήθηκαν σε ICSI/IVF δηλώνουν ως πιο “απαιτητική” ψυχικά περίοδο αυτή που ακολουθεί το στάδιο της εμφύτευσης, κάτι που επιβεβαιώνεται και από το στατιστικά υψηλότερο ποσοστό κλινοστατισμού στις εγκύους αυτές κατά το πρώτο τρίμηνο, χωρίς απαραίτητα συνυπάρχοντες ιατρικούς λόγους, σε σχέση με τις εγκύους από φυσική σύλληψη (Papaligoura et al 2004).

Το εύρημα της στατιστικής ανάλυσης των πρώτων αποτελεσμάτων της παρούσας μελέτης ότι οι γονείς παιδιών PGD έχουν σημαντικά χαμηλότερα επίπεδα συνολικού άγχους σε σχέση με τους γονείς παιδιών από φυσική σύλληψη επαληθεύθηκε ως ένα βαθμό στη συνέχεια της μελέτης (Thomaidis et al 2012) (Πίνακες 72 και 83). Στα τελικά αποτελέσματα, οι γονείς παιδιών PGD έχουν λιγότερο συχνά άγχος υψηλότερο του φυσιολογικού σε σχέση με τους γονείς της ομάδας μαρτύρων, με οριακή σημαντικότητα ($P=0,067$).

Η αλλαγή στη στατιστική σημαντικότητα, θα μπορούσε να αποδοθεί στην αύξηση του αριθμού του δείγματος και στις δύο ομάδες, πολύ δε περισσότερο στην ομάδα των μαρτύρων (38 γονείς παιδιών PGD αντί 31 και 52 αντί 31 γονείς ομάδας μαρτύρων). Εξάλλου, κατά την εξέλιξη της μελέτης, διαπιστώθηκε ότι στην ομάδα των γονέων παιδιών PGD, υπάρχει μια μικρή “μετακίνηση” προς την κατηγορία του φυσιολογικού άγχους, με μείωση κυρίως στο ποσοστό του υψηλού άγχους. Όσο αφορά στην ομάδα των μαρτύρων, αυξήθηκε το ποσοστό των γονέων που έχουν χαμηλά επίπεδα άγχους (Πίνακας 83).

Πίνακας 83. Συνολικό άγχος γονέων παιδιών από PGD και γονέων παιδιών από φυσική σύλληψη : αντιπαραβολή αρχικών και τελικών αποτελεσμάτων της μελέτης

ΣΥΝΟΛΙΚΟ ΓΟΝΕΪΚΟ ΑΓΧΟΣ							
	Γονείς παιδιών γεννημένων μετά από PGD (n=32)			Γονείς παιδιών από φυσική σύλληψη (n=35)			
PSI * centile	Low	Normal	High	Low	Normal	High	P
%	31,2%	62,5%	6,25%	17,1%	60,0%	22,8%	0,01
	Γονείς παιδιών γεννημένων μετά από PGD (n=38)			Γονείς παιδιών από φυσική σύλληψη (n=52)			
PSI ** centile	Low	Normal	High	Low	Normal	High	P
%	26,3%	71,1%	2,6%	28,9%	53,9%	17,3%	0,061

PSI centile: συνολικό γονεϊκό άγχος (εκατοστιαία θέση).

(**Low:** χαμηλό <15^η ΕΘ **Normal:** φυσιολογικό 15^η-85^η ΕΘ **High:** υψηλό >85^η ΕΘ)

* Αρχικά αποτελέσματα της μελέτης δημοσιευμένα στο World Journal of Pediatrics (Thomaidis et al 2012).

** Τελικά αποτελέσματα της μελέτης.

Υπέρ της ομαλής ψυχολογικής προσαρμογής των γονέων που τεκνοποιούν με τη βοήθεια τεχνικών εξωσωματικής γονιμοποίησης είναι και η δημοσίευση των McMahon et al (2003), οι οποίοι μελέτησαν την ψυχολογική προσαρμογή και το άγχος γονέων που υποβλήθηκαν σε IVF. Η αρχική υπόθεση ήταν πως η όλη διαδικασία, όπως άλλωστε και η παρατεταμένη αποτυχημένη προσπάθεια γονιμοποίησης με φυσικό τρόπο, επηρεάζει το σώμα και τον ψυχισμό έχοντας ως συνέπεια η κύηση και η μητρότητα να συνιστούν ιδιαίτερη πρόκληση.

Βασιζόμενοι σε αυτή την υπόθεση, οι McMahon et al μελέτησαν το άγχος 66 τελικά γονέων που απέκτησαν παιδί από IVF, όταν αυτό ήταν ηλικίας 5

ετών, και διαπίστωσαν ότι είχαν χαμηλότερο άγχος σε σχέση με τους 46 γονείς που τεκνοποίησαν φυσικά. Τόσο οικογένειες διδύμων όσο και μονοδύμων συμπεριελήφθησαν στη μελέτη, με εξαίρεση εκείνους που απέκτησαν παιδί ηλικίας κυήσεως <28 εβδομάδων. Καμιά διαφορά δεν διαπιστώθηκε ως προς το συνολικό άγχος ή τις υποκατηγορίες του μεταξύ των δυο ομάδων αλλά ούτε και μεταξύ πατέρων και μητέρων της ομάδας IVF. Ο μεγαλύτερος αριθμός των προσπαθειών υποβοηθούμενης αναπαραγωγής φάνηκε ότι ενώ μειώνει το συνολικό άγχος, αυξάνει την αμυντική απάντηση (Defensive Response) στο ερωτηματολόγιο PSI-SF (McMahon et al 2003).

Σε μεταγενέστερη μελέτη στη Γαλλία, δεν βρέθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στο άγχος μεταξύ των 10 μητέρων τρίδυμων παιδιών, μητέρων διδύμων (n=15) και μονόδυμων παιδιών (n=30) από IVF/ICS, αλλά στην στατιστική ανάλυση αντίθεσης (contrast analysis) οι μητέρες των διδύμων/τριδύμων είχαν σημαντικά υψηλότερο γονεϊκό άγχος ($P<0,05$). Οι μητέρες αυτές συμπλήρωσαν το ερωτηματολόγιο PSI-SF, για το σύνολο των παιδιών τους και όχι για το κάθε παιδί ξεχωριστά. Παρά το μικρό αριθμό του δείγματος, που οφείλεται στον μικρό αριθμό τριδύμων γεννηθέντων κατά την περίοδο της μελέτης (13 οικογένειες έναντι 367 με δίδυμα και 958 με τρίδυμα), η παρουσία στατιστικά σημαντικής συσχέτισης του άγχους με την πολυδυμία έδειξε ότι η επίδραση της στον ψυχισμό του γονέα είναι μάλλον σημαντική (Golombok et al 2007). Στην παρούσα μελέτη, λόγω του μικρού δείγματος που θα προέκυπτε εάν γινόταν διαστρωμάτωση βάσει της πολυδυμίας, δεν αναλύθηκε η επίδρασή της στο άγχος των γονέων των διδύμων, τριδύμων παιδιών και παιδιών από μονήρεις κυήσεις.

Με βάση τις ανωτέρω μελέτες, θα μπορούσε να γίνει με ασφάλεια η υπόθεση ότι, εφόσον πριν από 10 χρόνια τα ζευγάρια που κατόρθωναν να τεκνοποιήσουν με τη βοήθεια της εξωσωματικής γονιμοποίησης δεν βίωναν αυξημένο άγχος, οι εξελίξεις, η εντατική ιατρική παρακολούθηση σε όλα τα στάδια της εξωσωματικής και η εξοικείωση μεγαλύτερου τμήματος του πληθυσμού με τη μέθοδο στις μέρες μας, δρα ακόμα περισσότερο

καθησυχαστικά για τους γονείς αυτούς. Με τον ίδιο τρόπο, η αυξανόμενη εφαρμογή των κυήσεων με τη βοήθεια PGD (όπως δείχνουν οι συνεχώς αυξανόμενοι κύκλοι και κυήσεις στο Εργαστήριο Ιατρικής Γενετικής του Πανεπιστημίου Αθηνών και τα δεδομένα από την ESHRE PGD Consortium), θα μπορούσε να έχει αντίστοιχη ευνοϊκή επίδραση στο συνολικό άγχος της συγκεκριμένης ομάδας γονέων.

5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

5.1. ΚΥΗΣΕΙΣ-ΠΕΡΙΓΕΝΝΗΤΙΚΗ ΠΕΡΙΟΔΟΣ

Στην παρούσα μελέτη των 39 κυήσεων που επιτεύχθηκαν μετά από PGD, διαπιστώθηκε αυξημένη συχνότητα προώρων (31,6%) και πολύδυμων κυήσεων (28,2%). Στην πλειονότητα των περιπτώσεων (87%), η μέθοδος τοκετού ήταν η καισαρική τομή. Σημαντικό ποσοστό (29,4%) των παιδιών που γεννήθηκαν μετά από προεμφυτευτική γενετική διάγνωση είχαν χαμηλό βάρος γέννησης ($\leq 2500\text{gr}$) ενώ το 10% γεννήθηκαν με πολύ χαμηλό βάρος ($\leq 1500\text{gr}$). Στατιστική σημαντική διαπιστώθηκε η συσχέτιση περιγεννητικών επιπλοκών με την προωρότητα ($P=0,002$). Τα παραπάνω συμπεράσματα συνάδουν με αντίστοιχα αποτελέσματα μελετών σε παιδιά από ICSI/IVF και PGD/PGS.

Ένα μη αναμενόμενο εύρημα, που δεν αναφέρεται στην μέχρι τώρα βιβλιογραφία, και για το λόγο αυτό χρήζει περαιτέρω ελέγχου, ήταν η συσχέτιση των περιγεννητικών επιπλοκών με το θήλυ φύλο.

5.2. ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΕΚΤΙΜΗΣΗ: ΜΕΙΖΟΝΕΣ ΚΑΙ ΕΛΑΣΣΟΝΕΣ ΣΥΓΓΕΝΕΙΣ ΑΝΩΜΑΛΙΕΣ

Σε αντίθεση με την μέχρι τώρα βιβλιογραφία που αφορά σε παιδιά από ICSI/IVF και PGD/PGS, στην παρούσα μελέτη διαπιστώθηκε αυξημένος κίνδυνος μειζόνων συγγενών ανωμαλιών 15,7%, αλλά μόνο σε 2/51 παιδιά είχαν περισσότερες της μιας. Από τα παιδιά που εμφάνισαν κάποια μείζονα ανωμαλία, η συχνότερη και μάλιστα σε ποσοστό 50% ήταν η μακροκεφαλία. Οι υπόλοιπες

αφορούσαν στα εξής συστήματα/όργανα: εγκέφαλος/κρανίο, σκελετικό, πεπτικό, ουροποιογεννητικό και καρδιαγγειακό. Σχετικά με την ύπαρξη ελασσόνων ανωμαλιών, αυτές εντοπίστηκαν στο 72,6% των 51 παιδιών της μελέτης, με 10 παιδιά (19,6%) να έχουν μόνο μία ανωμαλία αυτού του τύπου και 24 παιδιά (47%) να εμφανίζουν ταυτόχρονα 2 έως και 4 ελάσσονες ανωμαλίες.

Χαρακτηριστικό εύρημα, που έχει ήδη καταγραφεί στην διεθνή βιβλιογραφία, ήταν η συσχέτιση του άρρενος φύλου με την ύπαρξη μειζόνων συγγενών ανωμαλιών τόσο κατά την μονοπαραγοντική όσο και κατά την πολυπαραγοντική ανάλυση (λαμβάνοντας υπόψη το βάρος γέννησης και τον αριθμό των μεταφερόμενων εμβρύων). Και στις δυο περιπτώσεις η στατιστική σημαντικότητα ήταν της τάξης $P=0,05$ (9/πλάσιος σχεδόν κίνδυνος εμφάνισης σε σχέση με τα θήλεα, C.I. 0,96-82,94). Αντιθέτως δεν διαπιστώθηκε θετική συσχέτιση των μειζόνων ανωμαλιών με τον αριθμό των μεταφερόμενων εμβρύων, τις επιπλοκές της κύησης, το χαμηλό βάρος γέννησης ($\leq 10^{\text{η}}$ ΕΘ), την προωρότητα και την πολυδυμία.

Ελάσσονες ανωμαλίες βρέθηκαν κατά την κλινική γενετική εξέταση σε μεγάλο ποσοστό παιδιών 72,6% διαπιστώνεται ότι η πλειονότητα των παιδιών του δείγματος (31/51 με την πλειονότητα να έχεις έως και 4 ελάσσονες συγγενείς ανωμαλίες και μόνο 3 (6%) παιδιά συνολικά έφεραν περισσότερες. Παρά την εξαιρετικά αυξημένη συχνότητα, θα πρέπει να συνεκτιμηθεί το γεγονός ότι οι ελάσσονες ανωμαλίες δεν υποδηλώνουν απαραίτητα κάποια παθολογία ή σύνδρομο, αφού αποτελούν εξ ορισμού φαινοτυπικά χαρακτηριστικά που δεν οδηγούν σε διαταραχή της λειτουργίας του οργανισμού ή δεν δημιουργούν σοβαρά αισθητικά προβλήματα.

5.3. ΑΝΑΠΤΥΞΙΟΛΙΚΗ ΕΚΤΙΜΗΣΗ: ΨΥΧΟΚΙΝΗΤΙΚΗ ΕΞΕΛΙΞΗ

Σύμφωνα με τις κλίμακες Bayley και Griffiths με τις οποίες εκτιμήθηκαν τα παιδιά της παρούσας μελέτης, *σοβαρή υστέρηση* διαπιστώθηκε ως προς το Γενικό Πηλίκο στο 3%, ως προς το Νοητικό Πηλίκο στο 5,9% και ως προς το

Κινητικό Πηλίκο στο 6,5%. Τα αντίστοιχα ποσοστά για την ήπια υστέρηση ήταν 11,7%, 8,7% και 17,3%.

Παρά το ότι τα ποσοστά αυτά, και ιδίως της ήπιας υστέρησης, δείχνουν πολύ επιβαρυντικά για την ψυχοκινητική πρόγνωση των παιδιών που γεννιούνται με τη βοήθεια PGD, θα πρέπει να τονίσουμε ότι η πλειονότητα των παιδιών για το Κινητικό Πηλίκο (67,5%), ως προς το Νοητικό (80,5%) και ως προς το Γενικό (74,6%), είχαν φυσιολογική τιμή.

Εξάλλου, τα στάδια-ορόσημα κατά Denver επιτεύχθηκαν από όλα σχεδόν τα παιδιά (με εξαίρεση, ως αναμενόμενο, αυτών που είχαν μείζονα ιατρικά προβλήματα) σε φυσιολογικό χρονικό διάστημα. Αναμφίβολα ενθαρρυντικό είναι και το γεγονός ότι ένα εξίσου υψηλό ποσοστό παιδιών της μελέτης (ακόμα και προώρων ή από πολύδυμες κυήσεις) είχαν υψηλότερο του φυσιολογικού Γενικό (7,8%), Νοητικό (6,5%) ή Κινητικό Πηλίκο (8,7%).

Δεδομένων των χαρακτηριστικών του πληθυσμού της μελέτης και κυρίως εξαιτίας της προσέλευσης των παιδιών όχι τυχαία αλλά με πρωτοβουλία των γονέων, καθίσταται σαφές ότι δεν είναι επιστημονικά ορθή η γενίκευση των αρνητικών συμπερασμάτων ως προς τη ψυχοκινητική εξέλιξη των παιδιών PGD. Αντιθέτως, υποδεικνύεται η ανάγκη τυχαιοποιημένων μεγάλων μελετών στα παιδιά αυτά.

Λόγω του μικρού αριθμού του δείγματος και του ακόμα μικρότερου των παιδιών με υστέρηση, κατά την μονοπαραγοντική ανάλυση της υστέρησης δεν διαπιστώθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση με την πολυδυμία, την προωρότητα, την παρουσία επιπλοκών στην κύηση, το βάρος γέννησης $<10^{th}$ εκατοστιαίας θέσης, την τιμή του Apgar score, που ως ένα βαθμό αντικατοπτρίζει τις περιγεννητικές επιπλοκές, και το φύλο του παιδιού. Μια ασθενής συσχέτιση φάνηκε μεταξύ βάρους γέννησης $\leq 1500g$ ($P=0,07$) και του γενικού πηλίκου.

Ωστόσο, διαφάνηκε ότι ο σχετικός κίνδυνος γενικής υστέρησης είναι σχεδόν 2/πλάσιος όταν υπάρχει αριθμός μεταφερόμενων εμβρύων >2 , πολύδυμη

κύηση, ενώ σχεδόν 4/πλάσιος είναι ο σχετικός κίνδυνος (3,76) εμφάνισης κινητικής υστέρησης σε παιδιά που γεννιούνται από πολύδυμες κυήσεις.

5.4. ΑΓΧΟΣ ΓΟΝΕΩΝ ΠΑΙΔΙΩΝ PGD ΚΑΙ ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΜΕ ΓΟΝΕΙΣ ΠΑΙΔΙΩΝ ΑΠΟ ΦΥΣΙΚΗ ΣΥΛΛΗΨΗ

Οι γονείς των παιδιών PGD βρέθηκε όχι μόνο να έχουν στην πλειονότητά τους (71,1%) άγχος εντός του φυσιολογικού αλλά και να αντιμετωπίζουν λιγότερο συχνά υψηλά επίπεδα ψυχολογικής φόρτισης σχετικά με το γονεϊκό τους ρόλο (2,6% έναντι 17,3% της ομάδας μαρτύρων). Μολονότι, η στατιστική σημαντικότητα του παραπάνω ευρήματος είναι οριακή ($P=0,065$), αντίστοιχες μελέτες έχουν επίσης καταλήξει ότι οι γονείς παιδιών PGD δεν βιώνουν αυξημένα επίπεδα άγχους ως προς το ρόλο τους.

5.5. ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Η μελέτη που διενεργήθηκε εμφανίζει τους ακόλουθους περιορισμούς:

I) Το δείγμα είναι μικρό και ο βαθμός ανταπόκρισης (response rate) σαφώς μικρότερος από το προσδοκώμενο. Από το σύνολο των 186 παιδιών που γεννήθηκαν τη χρονική περίοδο 1996-2010, μετά από διενέργεια προεμφυτευτικής γενετικής διάγνωσης στο Εργαστήριο Ιατρικής Γενετικής του Πανεπιστημίου Αθηνών, τελικά μόνο για 53 δέχθηκαν οι γονείς τους να περιεληφθούν στη μελέτη. Αν και τηλεφωνική επικοινωνία επετεύχθη στην πλειονότητα των περιπτώσεων (οικογένειες 125 παιδιών) ποικίλοι λόγοι μπορεί να επηρέασαν τον τελικό αριθμό του δείγματος. Αναλυτικότερα:

- Πολλοί γονείς ήταν επιφυλακτικοί ως προς τη συμμετοχή σε οποιαδήποτε μελέτη.
- Η πλειονότητα των οικογενειών διέμενε σε περιοχές εκτός Αθηνών, ανά την Ελλάδα, απομακρυσμένες ή νησιωτικές και η πρόσβαση ειδικά για συμμετοχή στη μελέτη δεν ήταν εφικτή έστω και αν ήταν επιθυμητή. Ειδικά αυτή η παράμετρος ήταν καθοριστική για το τελικό σύνολο των συμμετεχόντων.

- Αρκετοί γονείς θεωρούσαν περιττή τη συμμετοχή τους, εφόσον υπήρχε η διαβεβαίωση από τον προσωπικό τους παιδίατρο ότι το παιδί τους αναπτύσσεται απολύτως φυσιολογικά και δεν παρουσιάζει οποιοδήποτε ιατρικό πρόβλημα. Αυτό κατ' επέκταση θα μπορούσε επιπλέον να οδηγήσει σε εσφαλμένα συμπεράσματα (bias), αφού θεωρητικά τα παιδιά που προσήλθαν είτε ήταν τα πιο "υγιή" ή αντιθέτως αυτά που ήδη παρουσίαζαν κάποιο πρόβλημα υγείας. Δεδομένου ότι οι γονείς προσήλθαν με δική τους πρωτοβουλία (self-referred) μετά την τηλεφωνική επικοινωνία, το συγκεκριμένο πρόβλημα δεν μπορούσε να ελεγχθεί.

II) Η διαστρωμάτωση σε κάποιες παραμέτρους ήταν πολλαπλή και αυτό μείωσε, σε κάποιες περιπτώσεις, ακόμα περισσότερο τον αριθμό του δείγματος κατά τη στατιστική ανάλυση. Στο ίδιο αποτέλεσμα οδήγησε και η απουσία κάποιων εκ των δεδομένων σε μερικές καταγραφές (π.χ. σε κάποιο παιδί μπορεί να μην ολοκληρώθηκε η αναπτυξιολογική εξέταση αλλά μόνο η γενετική, ή δεν καταγράφηκαν οι επιπλοκές της κύησης, ή ηλικία του γονέα κ.ο.κ)

III) Οι γονείς της ομάδας μαρτύρων, που συγκροτήθηκε για τη σύγκριση του γονεϊκού άγχους, ζούσαν στην Αττική σε αντίθεση με τις οικογένειες της ομάδας μελέτης που ζούσαν σε διάφορες περιοχές της Ελλάδας. Δεδομένου όμως του μεγέθους του πληθυσμού της Αθήνας και της διαφορετικής καταγωγής των κατοίκων της, η ανομοιογένεια των δυο ομάδων στο θέμα αυτό δεν θεωρείται ότι επηρεάζει τα τελικά συμπεράσματα.

IV) Δεν είναι πλήρης η αντιστοιχία στις ηλικίες των παιδιών της ομάδας μελέτης και αυτών της ομάδας μαρτύρων. Οι ηλικίες <12 μηνών στη δεύτερη ομάδα απουσιάζουν και αντίθετα υπερτερούν, αριθμητικά, ηλικίες μεγαλύτερες των 24 μηνών.

Στην ομάδα μελέτης πολλά παιδιά προσήλθαν κατά τη βρεφική και νηπιακή ηλικία και παρατηρήθηκε πώς όσο πιο κοντά στην γέννηση ήταν η τηλεφωνική επικοινωνία, τόσο πιο θετικοί ήταν οι γονείς ώστε να συμμετάσχουν στην έρευνα. Αντίθετα, στις μεγαλύτερες ηλικίες, η ομαλή

πορεία της όλης υγείας των παιδιών, η έναρξη δραστηριοτήτων και παρακολούθησης παιδικού σταθμού/σχολείου δυσχέραινε τη συμμετοχή, αν λάβουμε υπόψη ότι η εξέταση γινόταν πάντα στα τακτικά ιατρεία του Νοσοκομείου και πρωινές ώρες.

V) Στην έρευνα αυτή, δεν συγκροτήθηκε ομάδα μαρτύρων σχετικά με τις συγγενείς ανωμαλίες που να προέρχεται είτε από το γενικό πληθυσμό ή από παιδιά που γεννήθηκαν μετά από εξωσωματική γονιμοποίηση. Ως προς την πρώτη περίπτωση, αυτό αποδίδεται στην αντικειμενική δυσκολία να δεχθούν οι γονείς που απέκτησαν παιδιά με φυσική σύλληψη να συμμετάσχουν σε διπλή κλινική εξέταση (γενετική και αναπτυξιολογική) που θα απαιτούσε προγραμματισμό συνάντησης στα αντίστοιχα τακτικά ιατρεία την ίδια ή και διαφορετικές ημέρες.

Ως προς τη δεύτερη περίπτωση, οι γονείς παιδιών από εξωσωματική που προσεγγίσαμε ήταν εξ αρχής σκεπτικιστικοί ως προς τη μελέτη. Επιπλέον, δεν υπάρχει Εθνική βάση καταγραφής δεδομένων κυήσεων από εξωσωματική στην χώρα μας, όπως συμβαίνει σε άλλα κράτη, μέσω της οποίας θα είχαμε άμεση πρόσβαση σε ανώνυμα στατιστικά δεδομένα για αυτές τις κυήσεις, την περιγεννητική περίοδο και τις συγγενείς ανωμαλίες στα παιδιά από εξωσωματική για απευθείας σύγκριση, όπως έχει γίνει σε σχετικές μελέτες στο εξωτερικό.

Για τους λόγους αυτούς, η σύγκριση των αποτελεσμάτων που αφορούν στις συγγενείς ανωμαλίες και στην αναπτυξιολογική εξέταση περιορίστηκε στα επιδημιολογικά δεδομένα που αφορούν στο γενικό πληθυσμό και σε καλά τεκμηριωμένες διεθνείς μελέτες.

VI) Η ίδια η PGD τεχνική δεν είναι συχνά εφαρμοζόμενη μέθοδος, οπότε και το δείγμα των παιδιών που γεννιούνται με τη βοήθειά της αντιστοιχεί σε μικρό ποσοστό του συνόλου των ζώντων νεογνών από φυσική ή εξωσωματική σύλληψη ετησίως.

5.6. ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ ΓΙΑ ΤΗ ΔΗΜΟΣΙΑ ΥΓΕΙΑ

Τα δεδομένα που προκύπτουν από μεγάλες, πολυκεντρικές και υψηλού σχεδιασμού μελέτες αλλά και από τις επίσημες ανακοινώσεις της ESHRE PGD Consortium διαχρονικά συγκλίνουν ότι ο κίνδυνος εμφάνισης συγγενών ανωμαλιών δεν είναι αυξημένος στα παιδιά που γεννιούνται είτε μετά από IVF/ICSI ή μετά από PGD/PGS. Όμως, οι λιγοστές δημοσιευμένες μελέτες της ψυχοκινητικής ανάπτυξης των παιδιών από PGD/PGS, σε συνδυασμό με το εξαιρετικά μικρό δείγμα δεν βοηθούν στην εξαγωγή σαφών ακόμα συμπερασμάτων. Θα μπορούσαμε, παρόλ' αυτά, να πούμε ότι, βάσει των αντίστοιχων μελετών σε παιδιά IVF/ICSI, τα αποτελέσματα είναι ενθαρρυντικά εφόσον στην πλειονότητά τους τα παιδιά αυτά εξελίσσονται φυσιολογικά.

Ωστόσο, είναι απαραίτητη η συνέχιση αυτού του είδους μελετών (αναδρομικών και προοπτικών) σε εθνικό και διεθνές επίπεδο. Για να επιτευχθεί αυτό στη χώρα μας είναι ουσιαστική η συγκρότηση εθνικής βάσης δεδομένων όλων των κυήσεων από δημόσια και ιδιωτικά μαιευτήρια/γυναικολογικές κλινικές που θα αφορούν σε:

I) στοιχεία της κύησης: αριθμός εμβρύων, χρησιμοποιούμενη μέθοδος, φάρμακα, επιπλοκές, διάρκεια και

II) στο νεογνό: σωματομετρικά, περιγεννητικές επιπλοκές, ευρήματα κλινικά κατά τη γέννηση και λεπτομερής καταγραφή των κύκλων, του αριθμού εμβρύων και του θεραπευτικού πρωτοκόλλου όλων των εξωσωματικών κυήσεων και των κυήσεων από PGD/PGS.

Η οργάνωση μελετών ιατρικής παρακολούθησης (follow-up) είναι πραγματικά δύσκολη στο σχεδιασμό, στην οργάνωση και στην ολοκλήρωση, ενώ τίθενται θέματα ως προς την απαιτούμενη διάρκεια για την εξαγωγή έγκυρων συμπερασμάτων. Συνεπώς, η ύπαρξη κέντρου αναφοράς μπορεί να βοηθήσει στην διεξαγωγή μελλοντικών μελετών (Olivennes et al 2002).

Πρωταρχικής σημασίας είναι το γεγονός ότι η πολυδυμία σε κυήσεις φυσικές ή μετά από τεχνικές υποβοηθούμενης αναπαραγωγής είναι διαχρονικά συνδεδεμένη με πολύ χαμηλό βάρος γέννησης, περιγεννητικές επιπλοκές και προβλήματα υγείας στα παιδιά που γεννιούνται, οπότε η αυστηρή τήρηση των κατευθυντήριων οδηγιών ως προς τον αριθμό των μεταφερόμενων εμβρύων είναι μείζονος σημασίας. Αυτό θα συντελέσει, ως αναμένεται, στην καλύτερη πρόγνωση και εξέλιξη των παιδιών.

Στα πλαίσια της προληπτικής ιατρικής, προτείνεται επιπλέον να γίνεται από εξειδικευμένους και έμπειρους επιστήμονες, γυναικολόγους και γενετιστές, λεπτομερής ενημέρωση των ζευγαριών που υποβάλλονται σε εξωσωματική ή/ και σε προεμφυτευτική γενετική διάγνωση.

Από το σύνολο της υπάρχουσας γνώσης, τα μέχρι τώρα συμπεράσματα είναι ευοίωνα σχετικά με την ασφάλεια της μεθόδου PGD. Αντικειμενικά, όμως, ο μικρός αριθμός των μελετών, το περιορισμένο δείγμα σε κάποιες εξ αυτών καθώς και ο μικρός χρόνος παρακολούθησης των παιδιών που γεννήθηκαν μετά από προεμφυτευτική γενετική διάγνωση θέτουν την αναγκαιότητα επέκτασης των μελετών σε βάθος χρόνου και σε μεγαλύτερες ομάδες για την εξαγωγή ακόμα πιο αξιόπιστων συμπερασμάτων.



BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Abou-Sleiman PM, Apessos A, Harper JC, Serhal P, Delhanty JDA. Pregnancy following genetic diagnosis for Crouzon syndrome. *Mol Hum Reprod* 2002; 8(3):304-309
2. Adusumalli J, Han CS, Beckham S, Bartholomew ML, Williams J. Chorionic villus sampling and risk for hypertensive disorders of pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 2007; 196: 591.e1-591.e7.
3. Adusumalli J, Han CS, Beckham S, Bartholomew ML, Williams J. Chorionic villus sampling and risk for hypertensive disorders of pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 2007; 196: 591.e1-591.e7
4. Altarescu G, Renbaum P, Brooks PB, Margalioth EJ, Ben Chetrit A, Munter G et al. Successful polar body preimplantation genetic diagnosis of achondroplasia. *Reprod Biomed Online* 2008;16(2):276-282
5. Altarescu G, Brooks B, Eldar-Geva T, Margalioth EJ, Singer A, Levy-Lehad E et al. Polar body-based preimplantation genetic diagnosis for N-acetylglutamate synthase deficiency. *Fetal Diagn Ther* 2008;24(3):170-176
6. Andersen AN, Goosens V, Feraretti AP, Bhattacharya S, Felberbaum , deMouzon J et al. Assisted reproductive technology in Europe, 2004. Results generated from European registers by ESHRE. *Hum Reprod* 2008;23:756-771
7. Anderson RA, Pickering S. The current status of preimplantation genetic screening: British Fertility Society Policy and Practice Guidelines. *Hum Fertil* 2008;11(2):71-75
8. Anthony S, Buitendijk SE, Dorrepaal CA, Linder K, Braat DD, Den Ouden AL. Congenital malformations in 4224 children conceived after IVF. *Hum Reprod* 2002;17:2089-2095

9. Baart EB, Martini E, van der Berg I, Macklon NS, Caljaard R-JH, Fauser BCJM et al, Preimplantation genetic screening reveals a high incidence of aneuploidy and mosaicism in embryos from young women undergoing IVF. *Hum Reprod* 2006; 21(1):223-233

10. Banerjee I, Shevlin M, Taranissi M, Thornhill A, Abdalla H, Ozturk O et al. Health of children conceived after preimplanation genetic diagnosis: a preliminary outcome study. *Reprod Biomed Online* 2008;16:376-381

11. Basatemur E, Sutcliffe A. Follow-up of children born after ART. *Placenta* 2008;29:S135-S140

12. Basille C, Frydman R, El Aly A, Hesters L, Fanchin R, Tachdjian G et al. Preimplantation genetic diagnosis: State of art. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2009;9-13

13. Belva F, Henriët S, Liebaers I, Van Steiteghem A, Celestin-Westreich S, Bonduelle M. Medical outcome of 8-year-old singleton ICSI children (born >or = 32 weeks' gestation) and a spontaneously conceived comparison group. *Hum Reprod* 2007;22:506-517

14. Belva F, Henriët S, Van der Abbeel, Camus M, Dervoeu P, Van der Elst J et al. Neonatal outcome of 937 children born after transfer of cryopreserved embryos obtained by ICSI and IVF and comparison with outcome data of fresh ICSI and IVF cycles. *Hum Reprod* 2008;23:2227-2238

15. Bergh C, Kjellberg AT, Karlstrom PO. Single-embryo fertilization in vitro. Maintained birth rate in spite of dramatically reduced multiple birth frequency. *Lakartidningen* 2005;102:3444-3447

16. Blik J, Snijder S, Maas SM, Polstra A, Van der Lip K, Alders M et al. Phenotypic discordance upon paternal or maternal transmission of duplications of the 11p15 imprinted regions. *Eur J Med Genet* 2009;52(6):404-408
17. Bonduelle M, Liebaers I, Deketelaere V, Derde MP, Camus M, Dervoe P, Van Steirteghem A. Neonatal data on a cohort of 2889 infants born after ICSI (1991-1999) and of 2995 infants born after IVF (1983-1999). *Hum Reprod* 2002;17:671-694
18. Bonduelle M, Bergh C, Niklasson A, Palermo GD, Wennerholm UB. Medical follow-up study of 5-year-old ICSI children. *Reprod Biomed Online* 2004;9:91-101
19. Bonduelle M, Wennerholm UB, Loft A, Tarlatzis BC, Peters C, Henriët S et al. A multi-center cohort study of the physical health of 5-year-old children conceived after intracytoplasmic sperm injection, in vitro fertilization and natural conception. *Hum Reprod* 2005;20:413-419
20. Bowdin S, Allen C, Kirby G, Brueton L, Afnan M, Barratt C et al. A survey of assisted reproductive technology births and imprinting defects. *Hum Reprod* 2007;22: 3237-3240
21. Bowen J, Gibson F, Leslie G, Saundres D. Medical and developmental outcome at 1 year for children conceived by intracytoplasmic sperm injection. *The Lancet* 1998;351: 1529-1533
22. Boyle MP. Strategies for identifying modifier genes in cystic fibrosis. *The Proceeding of American Thoracic Society* 2007; 4: 52-57
23. Boyle R and Savulsecu J. Ethics of using preimplantation genetic diagnosis to select a stem cell donor for an existing person. *BMJ* 2001;323:1240-1243

24. Bredenoord AL, Dondorp W, Pennings G, DeDie – Smulders CEM, De Wert G. PGD to reduce reproductive risk: the case of mitochondrial DNA disorders. *Hum Reprod* 2008; 23(11): 2392-2401
25. Buckett WM, Chian RC, Holzer H, Dean N, Usher R, Tan SL. Obsteric outcomes and congenital abnormalities after in vitro maturation, in vitro fertilization, and intracytoplasmic sperm injection. *Obstet Gynecol* 2007; 110:885-891
26. Buiting K, Gross S, Lich C, Gillessen-Kaesbach G, el-Maarri O, Horsthemke B. Epimutations in Prader-Willi and Angelman syndromes: a molecular study of 136 patients with an imprinting defect. *Am J Med Genet* 2003;72: 571-577
27. Butler MG, Henderson SC, Gordon RE, Dagan A, Gatt S, Schuchman EH. Preimplantation diagnosis of a lysosomal storage disorder by in situ enzymatic activity: “Proof of principle” in acid sphingomyelinase-deficient mice. *J Inherit Metab Dis* 2005;28:1-12
28. Butler MG. Genomic imprinting disorders in humans: a mini-review. *J Assist Reprod Genet* 2009;26: 477-486
29. Cohen J, wells D, Munné S. Removal of 2 cells from cleavage stage embryos is likely to reduce the efficacy of chromosomal tests that are used to enhance implantation rates. *Fertil Steril* 2007;87:496-503
30. Colls P, Escudero T, Cekleniak N, Sadowy S, Cohen J, Munné S. Increased efficiency of preimplantation genetic diagnosis for infertility using “no result rescue”. *Fertil Steril* 2007;88(1): 53-61
31. Constancia M, Hemberger M, Hughes J, Dean W, Ferguson-Smith A, Fundele A, et al. Placental-specific IGF-II is a major modulator of placental and fetal growth. *Nature* 2002;417: 945-948

32. Coutelle C, Williams C, Handyside A, Hardy K, Winston R, Williamson R. Genetic analysis of DNA from single human oocyte: a model of preimplantation genetic diagnosis of cystic fibrosis. *BMJ* 1989;299(6690): 22-24
33. Cox GF, Burger J, Lip V, Mau UA, Sperling K, Wu BL, Horsthemke B. Intracytoplasmic sperm injection may increase the risk of imprinting defects. *Am J Hum Genet* 2002;71: 162-164
34. Croen LA, Grether GK, Selvin S. The epidemiology of mental retardation of unknown cause. *Pediatrics* 2001;107:e86
35. Cui W, Ma CX, Tang Y, Chang V, Rao PV, Ariet M et al. Sex differences in birth defects: a study of opposite-sex twins. *Birth Defects Research (Part A)* 2005; 73: 876-880
36. DeBaun MR, Niemitz EL, Feinberg AP. Association of in vitro fertilization with Beckwith-Wiedemann Syndrome and epigenetic alterations of *LIT1* and *H19*. *Am J Hum Genet* 2003;72: 156-160
37. Denschlag D, Temper C, Kunze M, Wolff G, Keck C. Assisted reproductive techniques in patients with Klinefelter syndrome: a critical review. *Fertil Steril* 2004; 82(4): 775-779
38. De Rycke M, Georgiou I, Sermon K, Lissens W, Henderix P, Joris H, et al. PGD for autosomal dominant polycystic kidney disease type I. *Mol Hum Reprod* 2005; 11(1):65-71
39. De Rycke M, Liebaers I, Van Steirteghem A. Epigenetic risks related to assisted reproductive technologies. Risk analysis and epigenetic inheritance. *Hum Reprod* 2002;10: 2487-2494
40. Dervoe P, Van Steirteghem. A review of ten years experience of ICSI. *Hum Reprod* 2004;10(1): 19-28

41. Desmyttere S, Bonduelle M, Nekkebroeck J, Roelants M, Liebaers I, De Schepper. Growth and health outcome of the 102 2-year-old children conceived after preimplantation genetic diagnosis or screening. *Early Hum Develop* 2009a; 85:755-759
42. Desmyttere S, De Schepper J, Nekkebroeck J, De Vos A, De Rycke M, Staessen C et al. Two-year auxological and medical outcome of singletons born after embryo biopsy applied in preimplantation genetic diagnosis or preimplantation genetic screening. *Hum Reprod* 2009b; 24: 470-476
43. Desmyttere S, De Rycke M, Staessen C, Liebaers I, De Schrijver F, Velproest W et al. Neonatal follow-up of 995 consecutively born children after embryo biopsy for PGD. *Hum Reprod* 2012; 27: 288-293
44. DeUgarte CM, Li M, Surrey M, Danzer H, Hill D, DeCherney AH. Accuracy of FISH analysis in predicting chromosomal status in patients undergoing preimplantation genetic diagnosis. *Fertil Steril* 200;90(4): 1049-1054
45. Devolder K. Preimplantation HLA typing: having children to save our loved ones. *J Med Ethics* 2005; 31:582-586
46. De Vos A, Staessen C, De Rycke M, Velproest W, Haentjens P, Devroy P et al. Impact of cleavage-stage embryo biopsy in view of PGD on human blastocyst implantation: a prospective cohort of single embryo transfer. *Hum Reprod* 2009;24:2988-2996
47. De Wert G, Liebaers I, Van de Velde H. The future (r)evolution of preimplantation genetic diagnosis/Human Leucocyte Antigen testing: ethical reflections. *Stem Cells* 2007, 25(9):2167-2172
48. Donoso P, Staessen C, Fauser BCJM, Dervoey P. Current value of preimplantation genetic aneuploidy screening in IVF. *Hum Reprod* 2007; 13(1):15-25

49. Durban M, Benet J, Boada M, Fernández E, Calafell JM, lailla JM et al. PGD in female carriers of balanced Robertsonian and reciprocal translocations by first polar body analysis. *Hum Reprod Update* 2001;7(6):591-602
50. Eggermann T, Eggermann K, Schönherr N. Growth retardation versus overgrowth: Silver-Russell syndrome is genetically opposite to Beckwith-Wiedemann syndrome. *Trends in Genetics* 2008;24(4):195-204
51. Ericson A, Källen B. Congenital malformations in infants born after IVF: a population-based study. *Hum Reprod* 2001;16:504-509
52. Ericson A, Nygren KG, Otterblad Olausson P, Källen B. Hospital care utilization of infants born after IVF. *Hum Reprod* 2002;17:929-932
53. Findlay I. Pre-implantation genetic diagnosis. *British Medical Bulletin* 2000; 56(3):672-690
54. Fiorentino F, Biricik A, Nuccitelli A, De Palma R, Kahraman S, Iacobelli M et al. Strategies and clinical outcome of 250 cycles of preimplantation genetic diagnosis. *Hum Reprod* 2006;21(3):670-684
55. Friedler S, Raziel A, Strassburger D, Schachter M, Bern O, Ron-El R. Outcome of using fresh and cryopreserved -thawed testicular spermatozoa in patients with non-mosaic Klinefelter's syndrome. *Hum Reprod* 2001; 16(12): 2616-2620
56. Garrisi JG, Colls P, Ferry KM, Zheng X, Garrisi MG, Munné S. Effect of infertility, maternal age, and number of previous miscarriages on the outcome of preimplantation genetic diagnosis for idiopathic recurrent pregnancy loss. *Fertil Steril* 2009;92(1):288-295
57. Geraedts JPM, Harper J, Braude P, Sermon K, Veiga A, Giannaroli L, Agan N, Munné, Gitlin S, Blenow E, De Boer K, hussey N, Kanavakis E, Lee SH, Krey L, Ray P, Emiliani S, Liu YH, Vermeulen S. Preimplantation genetic diagnosis

- (PGD), a collaborative activity of clinical genetic departments and IVF centres. *Prenat Diagn* 2001;21: 1086-1092
58. Geraedts J, Collins J, Gianaroli L, Goossens V, Handyside A, Harper J et al. What is next for preimplantation genetic screening? A polar body approach! *Hum Reprod* 2010;25:575-577
 59. Gianaroli L, Magli MC, Lappi M, Capoti A, Robles F, Ferraretti AP. Preconception diagnosis. 9th International Conference on Preimplantation Genetics, Miami, Florida. April 23-25. *Reprod Biomed Online (Suppl)* 2009;28:S5
 60. Glinianaia SV, Pharoah POD, Wright C, Rankin JM. Fetal or infant death in twin pregnancy: neurodevelopmental consequence for the survivor. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2002;86:F9-F15
 61. Golombok S, Olivennes F, C. Ramogida C, J. Rust J, T. Freeman T, The Follow-Up Team. Parenting and the psychological development of a representative sample of triplets conceived by assisted reproduction. *Hum Reprod* 2007;22:2896-2902
 62. Goossens V, Harton G, Moutou C, Scriven PN, Traeger-Synodinos J, Sermon K et al. ESHRE PGD Consortium data collection VIII: cycles from January to December 2005 with pregnancy follow-up to October 2006. *Hum Reprod* 2008; 23:2629-2645
 63. Goossens V, DeRycke M, Staessen C, Michiels A, Verpoest W, Van Steirteghem A, et al. Diagnostic efficiency, embryonic development and clinical outcome after biopsy of one or two blastomeres for preimplantation genetic diagnosis. *Hum Reprod* 2008;23(3): 481-492
 64. Goossens V, Trager-Synodinos J, Coonen E, De Rycke M, Moutou C, Pehlivan T et al. ESHRE PGD Consortium data collection XI: cycles from January to December 2008 with pregnancy follow up to October 2009. *Hum Reprod* 2012;1-25

65. Griesinger G, Diedrich K, Dervoe P, Kolibianakis EM. GnRH agonist for triggering final oocyte maturation in the GnRH antagonist ovarian hyperstimulation protocol: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update* 2006;12:159-168
66. Hadders-Algra M. Two distinct forms of minor neurological dysfunction: perspectives emerging from a review data of Cröningen Perinatal Project. *Dev Med Child Neurol* 2002;44: 561-577
67. Hadders-Algra M. Developmental coordination disorder: is clumsy motor behavior caused by a lesion of the brain at early age? *Neurol Plast* 2003;10:39-50
68. Halliday J, Oke K, Breheny S, Algar E, Amor DJ. Beckwith-Wiedemann syndrome and IVF: a case-control study. *Am J Hum Genet* 2004;75: 526-528
69. Handyside AH, Pattinson JK, Penketh RJ, Delhanty JD, Winston RM, Tuddenham EG. Biopsy of human preimplantation embryos and sexing by DNA amplification. *Lancet* 1989;18:1(8634):347-349
70. Handyside AH, Kontogianni EH, Hardy K, and Winston RM. Pregnancies from biopsied human preimplantation embryos sexed by Y-specific DNA amplification. *Nature* 1990, 344: 768-770
71. Handyside AH, Lesko JG, Tarin JJ, Winston RM, and Hughes MR. Birth of a normal girl after in vitro fertilization and preimplantation diagnostic testing for cystic fibrosis. *N Engl J Med* 1992, 327: 905-909
72. Handyside AH, Robinson MD, Simpson RJ, Omar MB, Shaw MA, Grudzinski JG, Rutherford A. Isothermal whole genome amplification from single and small numbers of cells: a new era for preimplantation genetic diagnosis of inherited disease. *Mol Hum Reprod* 2004; 10:767-772.

73. Handyside AH, Harton GL, Mariani B, Thornhill AR, Affara N, Shaw MA et al. Karyomapping: a universal method for genome wide analysis of genetic disease based on mapping crossovers between parental haplotypes. *J Med Genet* 2010;47(10):651-658
74. Hansen M, Kurinczuk JJ, Bower C, Webb A. The risk of major birth defects after intracytoplasmic sperm injection and in vitro fertilization. *N Engl J Med* 2002;346:725-730
75. Hansen M, Bower C, Milne E, De Klerk N, Kurinczuk JJ. Assisted reproductive technologies and the risk of birth defects-a systematic review. *Hum Reprod* 2005;20:328-338
76. Harper JC, Wells D, Piyamongkol W, Akou-Sleiman P, Apessos A, Ioulianos A et al. Preimplantation genetic diagnosis for single gene disorders: experience with five single gene disorders. *Prenat Diagn* 2002; 22:525-533
77. Harper JC, Wilton L, Traeger-Synodinos J, Goosens V, Moutou C, SenGupta SB et al. The ESHRE PGD Consortium: 10 years of data collection. *Hum Reprod* 2012; 0:1-14
78. Harton G, De Rycke M, Fiorentino F, Moutou C, SenGupta S, Traeger-Synodinos J, Harper J. ESHRE PGD consortium best practise guidelines for amplification – based PGD. *Hum Reprod* 2011, 26(1):33-40
79. Hellani A, Abu-Amero K, Azouri J, El-Akoum S. Successful pregnancies after application of array-comparative genomic hybridization in PGS-aneuploidy screening. *Reprod BioMed Online* 2008;17(6):841-847
81. Helmerhorst FM, Perquin DA, Donker D, Keirse MJ. Perinatal outcome of singletons and twins after assisted conception: a systematic review of controlled studies. *BMJ* 2004; 328:261

82. Henkel RR, Schill WB. Sperm preparation for ART. *Reprod Biol Endocrinol* 2003;1: 108
83. Hovens CM, Kave AH. The tumour suppressor protein NF2/merlin: the puzzle continues. *J Clin Neurosci* 2001; 8(1):4-7
84. Hvidtjorn D, Schieve L, Schendel D, Jacobsson B, Svoerke C, Thorsen P. Cerebral palsy, autism spectrum disorders, and developmental delay in children born after assisted conception. A systematic review and meta-analysis. *Arch Pediatr Adolesc Med* 2009;163:72-83
85. Hu DG, Webb G, Hussey N. Aneuploidy detection in single cells using DNA array-based comparative genomic hybridization. *Mol Hum Reprod* 2004;10(4):283-289
86. Hu J, Gao JB, Cao Y, Bottinger E, Zhang W. Exploiting noise in array CGH data to improve detection of DNA copy number change. *Nucleic Acids Res* 2007;35(5):e5
87. Jackson RA, Gibson KA, Wu YW, Croughan MS. Perinatal outcomes of sinletons following in vitro fertilization: a meta-analysis. *Obstet Gynecol* 2004;103:551-563
88. Kallioniemi A, Kallioniemi OP, Sudar D, Rutovitz D, Gray JW, Waldman F et al. Comparative genomic hybridization for molecular cytogenetic analysis of solid tumors. *Science* 1992;258(5083):818-821
89. Kanavakis E, Efthymiadou A, Strofalis S, Doudounakis S, Traeger-Synodinos J, Tzetis M. Cystic fibrosis in Greece: molecular diagnosis, haplotypes, prenatal diagnosis and carrier identification amongst high-risk individuals. *Clin Genet* 2003;63(5): 400-409
90. Kanyó K, Konc J. A follow-up of children born aftrre diode laser assisted hatching. *Eur J Obstetr Reprod Biol* 2003;110: 176-180

91. Keymolen K, Goossens V, De Rycke M, Sermon K, Boelaert K, Bonduelle M et al. Clinical outcome of preimplantation genetic diagnosis for cystic fibrosis: the Brussels' experience. *Eur J Hum Genet* 2007;15: 752-758
92. Kimpton CP, Gill P, Walton A, Urguhart A, Millican ES, Adams M. Automated DNA profiling employing multiplex amplification of short tandem repeat loci. *PCR Methods Appl.* 1993;3:13-22
93. Kjellberg AT, Carlsson P, Bergh C. Randomized single embryo transfer: obstetric and paediatric outcome and a cost-effectiveness analysis. *Hum Reprod* 2006;21:210-216
94. Klemetti R, Gissler M, Sevón T, Koivurova S, Ritvanen A, Hemminki E. Children born after assisted fertilization have an increase rate of major congenital anomalies. *Fertil Steril* 2005;84:100-1307
95. Klemetti R, Sevón T, Gissler M, Hemminki E. Health of children children born as a result of in vitro fertilization. *Pediatrics* 2006;118:1819-1827
96. Kmietowicz Z. Couple asks permission to select an embryo to save son's life. *BMJ* 2001;323:767
97. Knoester M, Helmerhorst FM, Vanderbroucke JP, van der Westerlaken LA, Walther FJ, Veen S. Perinatal outcome, health, growth, and medical care utilization of 5- to 8-year-old intracytoplasmic sperm injection singletons. *Fertil Steril* 2008;89:1133-1146
98. Knoester M, Vanderbroucke JP, Helmerhorst FM, van der Westerlaken LA, Walther FJ, Veen S. Matched follow-up study of 5-8 year old ICSI -singletons: comparison of their neuromotor development to IVF and naturally conceived singletons. *Hum Reprod* 2007;22:1638-1649

99. Koivurova S, Hartikainen AL, Gissler M, Hemminki E, Sovio U, Järvelin MR. Neonatal outcome and congenital malformations in children born after in-vitro fertilization. *Hum Reprod* 2002;17:1391-1398
100. Koivurova S, Hartikainen AL, Sovio U, Gissler M, Hemminki E, Järvelin MR. Growth, psychomotor development and morbidity up to 3 years of age in children born after IVF. *Hum Reprod* 2003;18:2328-2336
101. Koivurova S, Hartikainen AL, Gissler M, Hemminki E, Järvelin MR. Post-neonatal hospitalization and health care costs among IVF children: a 7-year follow-up study. *Hum Reprod* 2007;22:2136-2141
102. Kuliev A, Rechitsky S, Tur-Kaspa I, Verlinsky Y. Preimplantation Genetics. Improving access to stem cell therapy. *Ann NY Acad Sci* 2005;1054:223-227
103. Kuliev A, Rechitsky S, Tur-Kaspa I, Verlinsky Y. Preimplantation genetics. Improving access to stem cell therapy. *Ann NY Acad Sci* 2005;1054:223-227
104. Lalioti MD. Can preimplantation genetic diagnosis overcome recurrent pregnancy failure? *Curr Opin Obstet Gynecol* 2008;20: 199-204
105. Lancaster PAL, Hurst T, Shafir E. Congenital malformations and other pregnancy outcome after microinsemination. *Reprod Toxicol* 2000;14:74 (abstract)
106. La Sala GB, Villani MT, Nicoli A, Gallinelli A, Nucera G, Blickstein I. Effect of mode of assisted reproductive technology conception on obstetric outcome for survivor of the vanishing twin syndrome. *Fertil Steril* 2006;80:247-249
107. Leslie GI, Gibson FL, McMahon C, Cohen J, Saunders DM, Tennant C. Children conceived using ICSI do not have an increased risk of delayed mental development at 5 years of age. *Hum Reprod* 2003;18:2067-2072

108. Leunens L, Celestin-Westreich S, Bonduelle M, Liebaers I, Ponjaert-Kristoffersen I. Follow-up of cognitive and motor development of 10-year-old singleton children born after ICSI compared with spontaneously conceived children. *Hum Reprod* 2008; 23: 105-111
109. Lewis S, Klonoff-Cohen H. What factors affect Intracytoplasmic Sperm Injection outcomes? *Obstet & Gynecol* 2005;60(2): 111-123
110. Liebaers I, Desmyttere S, Velproest W, De Rycke M, Staessen C, Sermons K et al. report on a consecutive series of 581 children born after blastomere biopsy for preimplantation genetic diagnosis. *Hum Reprod* 2009; 25: 275-282
111. Lie RT, Lyngstadaas, Ostavik KH, Bakketeig LS, Jacobsen G, Tanbo T. Birth defects in children conceived by ICSI compared with children conceived by other IVF-methods; a meta-analysis. *Inter J Epidemiol* 2005;34:696-701
112. Lim D, Bowdin SC, Tee L, Kirby GA, Blair E, Fryer A et al. Clinical and molecular genetic features of Beckwith-Wiedemann syndrome associated with assisted reproductive technologies. *Hum Reprod* 2009;3: 741-747
113. Liu C, Blair E. Predicted birthweight for singletons and twins. *Twin Res* 2002;5:529-37.
114. Loutradis D, Stefanidis K, Drakakis P, El Sheikh A, Lilingos S, Antsaklis et al. Comparison between "short" and "long" protocols in an ICSI programme. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2005; 120(1):69-72
115. Comparison between "short" and "long" protocols in an ICSI programme. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2005;120:69-72
116. Ludwig AK, Katalinic A, Thyen U, Sutcliffe AG, Diedrich K, Ludwig M. Physical health at 5.5 years of age of term-born singletons after intracytoplasmic sperm

- injection: results of a prospective, controlled, single-blinded study. *Fertil Steril* 2008;doi:10.1016/j.fertnstert.2007.11.037
117. Luedi PP, Dietrich FS, Weidman JR, Bosko JM, Jirtle RL, Hartemink AJ. Computational and experimental identification of novel human imprinted genes. *Genome Res* 2007;17(12): 1723-1730
 118. Magli MC, Gianaroli L, Ferraretti AP, Toschi M, Esposito F, Fasolino MC. The combination of polar body and embryo biopsy does not affect embryo viability. *Hum Reprod* 2004; 19(5): 1163-1169
 119. Maher ER, Brueton LA, Bowdin SC, Luharia A, Cooper W, Cole TR et al. Becwith-Wiedemann syndrome and assisted reproductive technology (ART). *J Med Genet* 2003;40: 62-64
 120. Malmgren H, White I, Johansson S, Levkov L, Iwarsson E, Fridström M et al. PGD for dystrophin gene deletions using fluorescence *in situ* hybridization. *Mol Hum Reprod* 2006; 12(5):353-356
 121. Manipalviratn S, DeCherney A, Segars J. Imprinting disorders and assisted reproductive technology. *Fertil Steril* 2009;91: 303-315
 122. Mateizel I, De Temmerman N, Ullman U, Cauffman G, Sermon K, Van de Velde H et al. Derivation of human embryonic stem cell lines from embryos obtained after IVF and after PGD for monogenic disorders. *Hum Reprod* 2006; 21(2):503-511
 123. Maimburg RD, Vaeth M. Do children born after assisted conception have less risk of developing infantile autism? *Hum reprod* 2007;22:1841-1843
 124. McArthur SJ, Leigh D, Marshall JT, de Boer KA, Jansen RPS. Pregnancies and live births after trophoctoderm biopsy and preimplantation genetic testing on human blastocysts. *Fertil Steril* 2005; 84(6): 1628-1636

125. McArthur SJ, Leigh D, Marshall JT, Gee AJ, De Boer KA, Jansen RP. Blastocyst trophectoderm biopsy and preimplantation genetic diagnosis for familial monogenic disorders and chromosomal translocations. *Prenat Diagn* 2008;28:434-442
126. McDonald SD, Murphy K, Beyene J, Ohlsson A. Perinatal outcomes of singleton pregnancies achieved by in vitro fertilization: a systematic review and meta-analysis. *J Obstet Gynaecol Can* 2005;27: 449-459
127. McMahon CA, Gibson F, Leslie G, Cohen J, Tennant C. Parents of 5-year-old in vitro fertilization children: psychological adjustment, parenting stress, and the influence of subsequent in vitro fertilization treatment. *J Fam Psychol* 2003;17:361-369.
128. Miles HL, Hofman PL, Peek J, Harris M, Wilson D, Robinson et al. In vitro fertilization improves childhood growth and metabolism. *J Clin Endocrinol Metab* 2007;92(9):3441-3445
129. Min JK, Claman P, Hughes E, Cheung AP, Claman P, Fluker M, Goodrow GJ, Graham J, Graves GR, Lapensee L, Min JK, Stewart S, Ward S, Chee-Man Wong B, Armson AB, Delisle MF, Farine D, Gagnon R, Keenan-Lindsay L, Morin V, Mundle W, Pressey T, Schneider C, Van Aerde J. Guidelines for the number of embryos to transfer following in vitro fertilization No.182, September 2006. *Int J Gynaecol Obstet* 2008;102(2): 203-216
130. Middelburg KJ, Heineman MJ, Bos AF, Hadders-Algra M. Neuromotor, cognitive, language and behavioural outcome in children born following IVF or ICSI- a systematic review. *Hum Reprod Update* 2008;14:219-231
131. Monk M. Preimplantation diagnosis of genetic disease. *Ann Med* 1993;25: 463-466
132. Munné S, Sultan KM, Weier HU, Grifo JA, Cohen J, Rosenwaks Z. Assessment of numeric abnormalities of X, Y, 18 and 16 chromosomes in preimplantation human embryos before transfer. *Am J Obstet Gynecol* 1995;172(4): 1191-1201

133. Munné S. Preimplantation genetic diagnosis and human implantation- a review. *Placenta* 2003; 24:0-76
134. Munné S, Chen S, Fischer J et al. Preimplantation genetic diagnosis reduces pregnancy loss in woman aged 35 years and older with history of recurrent miscarriages. *Fertil Steril* 2005;84: 331-335
135. Munné S. Preimplantation genetic diagnosis of structural abnormalities. *Molecular and Cellular Endocrinology* 2001; 183(1): 55-58
136. Munne S, Wells D. Questions concerning the suitability of comparative genomic hybridization for preimplantation genetic diagnosis. *Fertil Steril* 2003;80: 871-872; discussion 875.
137. Munné S, Márquez C, Magli C, Morton P, Morrison L. Scoring criteria for preimplantation genetic diagnosis of numerical abnormalities for chromosomes X, Y, 13, 16, 18 and 21. *Mol Hum Reprod* 1998;4(9): 863-870
138. Neelanjana M, Sabaratnam A. Malignant conditions in children born after assisted reproductive technology. *Obstetrical and Gynecological Survey* 2008;63: 669-676
139. Nekkebroeck J, Bonduelle M, Desmyttere S, Van den Broeck W, Ponjaert-Kristoffersen I. Socio-emotional and language development of 2-year-old children born after PGD/PGS, and parental well-being. *Hum Reprod* 2008;23:1849-1857.
140. Nicolaidis P, Petersen MB. Origin and mechanisms of non-disjunction in human autosomal trisomies. *Hum Reprod* 1998;13: 313-319.

141. Oatway C, Gundy J, Daya S. Day three versus day two embryo transfer following in vitro fertilization or intracytoplasmic sperm injection. *Cochrane Database Syst Rev* 2004;(2) CD004378
142. Ogilvie CM, Braude PR, Scriven PN. Preimplantation genetic diagnosis - an overview. *J Histochem Cytochem* 2005; 53(3):255-260
143. Ogilvie CM, Citty L, Waters J, Scriven P, Flinter F. The future of prenatal diagnosis: rapid testing or full karyotype? An audit of chromosome abnormalities and pregnancy outcomes for women referred for Down's syndrome testing. *Br J Obst Gynaecol*. (2005);112: 1369-1375
144. Oldereid NB, Abyholm T, Tanbo T, Engelund IE, Irgens LM. Congenital malformations in children born after assisted fertilization in Norway. *Tidsskr Nor Lægeforen* 2003;123:2696-2699 (Abstract)
145. Olivennes F, Fanchin R, Lédée N, Righini C, Kadoch IJ, Frydman R. Perinatal outcome and developmental studies on children born after IVF. *Hum Reprod* 2002;8:117-128
146. Olson CK, Keppler-Noreuil KM, Romitti PA, Budeleir WT, Ryan G, Sparks AE et al. In vitro fertilization is associated with increase in major birth defects. *Fertil Steril* 2005;84:1308-1315
147. Ong SSC, Zamora J, Khan KS, Kilby MD. Prognosis for the co-twin following single-twin death: a systematic review. *BJOG* 2006;113:992-998
148. Paasch U, Grunewald S, Glander HJ. Sperm selection in assisted reproductive techniques. *Soc Reprod Fertil Suppl* 2007;65: 515-525
149. Papaligoura Z, Panopoulou-Maratou O, Solman M, Arvaniti K, Sarafidou J. Cognitive development of 12 month old Greek infants conceived after ICSI and the effects of the method on their parents. *Hum Reprod* 2004;19:1488-1493

150. Pharoah POD, Adi Y. Consequences of in-utero death in a twin pregnancy. Lancet 2000;355:1597-1602
151. Pharoah POD, Price TS, Plomin R. Cerebral palsy in twins: a national study.
152. Pinborg A, Lidegaard O, La Cour Freiesleben N, Andersen AN. Consequences of vanishing twins in IVF/ICSI pregnancies. Hum Reprod 2005;20:2821-2829
153. Pinborg A, Lidegaard O, La Cour Freiesleben N, Andersen AN. Vanishing twins: a predictor of small-for-gestational age in IVF singletons. Hum Reprod 2007;22:2707-2714
154. Pinborg A, Loft A, Rasmussen S, Schmidt L, Langhoff-Roos J, Greisen G et al. Neonatal outcome in a Danish national cohort of 3438 IVF/ICSI and 10362 non-IVF/ICSI twins born between 1995 and 2000. Hum Reprod 2004a; 435-441
155. Pinborg A, Loft A, Schmidt L, Greisen G, Rasmussen S, Andersen AN. Neurological sequelae in twins born after assisted conception: controlled national cohort study. BMJ 2004b;329:311
156. Poikkeus P, Gissler M, Unkila-kallio L, Hyden-Granskog C, Tiitinen A. Obstetric and neonatal outcome after single embryo transfer. Hum reprod 2007;22(4): 1073-1079
157. Racowski C. high rates of embryonic loss, yet high incidence of multiple births I human ART: is this a paradoxical? Theriogenology 2001;57: 87-96
158. Raeburn JA. Genetic counselling issues and male infertility. Hum Fertil 1998;1:44-47
159. Raja K, Franken DR. The role of paternal chromosomes and sperm morphology of the outcome of intracytoplasmic sperm injection. Androl 2006;38(5):179-185

160. Ray F, Handyside A. Increasing the denaturation temperature during the first cycles of amplification reduces allele dropout from single cells for preimplantation genetic diagnosis. *Mol Hum Reprod* 1996;2(3):213-218
161. Reefhuis J, Honein MA, Schieve LA, Correa A, Hobbs CA, Rasmussen SA. Assisted reproductive technology and major structural birth defects in the United States. *Hum Reprod* 2009;24:360-366
162. Retchisky S, Verlinsky O, Chistokhina A, Shaparova T, Ozen S, Masciangelo C, Kuliev A, Verlinsky Y. Preimplantation genetic diagnosis for cancer predisposition. *Reprod Biomed Online* 2002; 5(2): 148-155
163. Reubinoff BE, Abeliovich D, Werner M, Schenker JG, Safran A, Lewin A. A birth in non-mosaic Klinefelter's syndrome after testicular fine needle aspiration, intracytoplasmic sperm injection and preimplantation genetic diagnosis. *Hum Reprod* 1998;13(7):1887-1892
164. Rivera RM, Stein P, Weaver JR, Mager J, Schultz RM, Bartolomei MS. manipulations of mouse embryos prior to implantation result in aberrant expression of imprinted genes on day 9.5 of development. *Hum Mol Genet* 2008;17: 1-14
165. Robertson J. Extending preimplantation genetic diagnosis: ethical debate. *Hum Reprod* 2003;18(3):465-471
166. Ruangvutilert P, Delhanty JDA, Serhal P, Simopoulou M, Rodeck CH, Harper JC. FISH analysis on a day 5 post-insemination of human arrested and blastocyst stage embryos. *Prenat Diagn* 2000;20(7):552-560
167. Saiki IZK, Gelfand DH, Stoffel S et al. Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. *Science* 1988;239: 487-491

168. Salvado CS, Trounson AO, Cram DS. Towards preimplantation diagnosis of cystic fibrosis using microarrays. *Reprod Biomed Online* 2004;8(1): 107-114
169. Sanchez-Garcia JF, Benet J, Gutierrez-Mateo C, Siculi JL, Monrós E, Navarro J. Multiple mutation analysis of cystic fibrosis gene in single cells. *Mol Hum Reprod* 2005; 11(6):463-468
170. Shebl O, Ebner T, Sommergruber M, Sir A, Tews G. Risk in twin pregnancies after the use of assisted reproductive techniques. *J Reprod Med* 2008;10:798-802
171. Sarkar NN. Intracytoplasmic sperm injection: An assisted reproductive technique and its outcome to overcome fertility. *J Obstetr Gynaecol* 2007;27(4): 347-353
172. Scher AI, Petterson B, Blair E, Ellenberg JH, Grether JK, Haan E et al. The risk of mortality or cerebral palsy in twins: a collaborative population-based study. *Pediatr Res* 2002;52:671-681
173. Schieve LA, Rasmussen SA, Reefhuis J. Risk of birth defects among children conceived with assisted reproductive technology: providing an epidemiologic context to the data. *Fertil Steril* 2005;84:1320-1324
174. Shiota K, Yamada S. Assisted reproductive technologies and birth defects. *Congenital anomalies* 2005;45(2): 39-43
175. Simpson JL. Changing indications for preimplantation genetic diagnosis (PGD). *Molecular and Cellular Endocrinology* 2001; 183(1): 69-75
176. Simpson JL. Preimplantation genetic diagnosis at 20 years. *Prenat Diagn* 2010;30:682-695

177. Spits C, De Rycke M, Van Ranst N, Joris H, Verpoest W, Lissens W et al. Preimplantation genetic diagnosis for neurofibromatosis type. *Mol Hum Reprod* 2005; 11(5):381-387
178. Spits C, Le Caignec C, De Rycke M, Van Haute L, Van Steirteghem A, Liebaers I, Sermon K. Whole-genome multiple displacement amplification from single cells. *Nat Protoc* 2006;1:1965-1970
179. Staessen C, Tournaye H, Van Asshe E, Michiels A, Van Landuyt L, Devroey P et al. PGD in 47,XXY Klinefelter's syndrome patients. *Hum Reprod Update* 2003; 9(4):319-330
180. Strömberg B, Dahlquist G, Ericson A, Finnström O, Köster M, Stjernqvist K. Neurological sequelae in children born after in-vitro fertilisation: a population-based study. *The Lancet* 2002;359(9305):461-465
181. Sutcliffe AG, Peters CJ, Bowdin S, Temple K, Reardon W, Wilson L, et al. Assisted reproductive therapies and imprinting disorders- a preliminary British survey. *Hum Reprod* 2006;4: 1009-1011
182. Tarlatzis BC, Bili H. Survey on intracytoplasmic sperm injection: report from the ESHRE ICSI Task Force. *Hum Reprod* 1998;13(1):165-177
183. The Practice Committee of the Society for Assisted Reproductive Technology and the Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Guidelines on number of embryos transferred. *Fertil Steril* 2008;90(3):163-164
184. Thomaidis L, Kitsiou-Tzeli S, Critselis E, Drandakis H, Touliatou V, Mantoudis S et al. Psychomotor development of children born after preimplantation genetic diagnosis and parental stress evaluation. *World J Pediatr* 2012;8(4):309-316

185. Thornhill AR, de Die- Smulders. ESHRE PGD Consortium “Best practice guidelines for clinical preimplantation genetic diagnosis (PGD) and preimplantation genetic screening (PGS)”. *Hum Reprod* 2005; 20(1):35-48
186. Traeger-Synodinos J. Real-time PCR for prenatal and preimplantation genetic diagnosis of monogenic diseases. *Molecular Aspects of Medicine* 2006;27: 176-191
187. Tarlatzis BC, Fauser BC, Kolibianakis EM , Diedrich K, Dervoeey P, On behalf of the Brussels GnRH Antagonist Consensus Workshop Group. GnRH antagonists in ovarian stimulation in IVF. *Hum Reprod Update* 2006;12:333-340
188. Tavmergen E, Tavmergen Göker EN, Sendag F, Sendag H, Levi R. Comparison of short and long ovulation induction protocols used in ART applications according to the ovarian response and outcome of pregnancy. *Arch Gynecol Obstet* 2002;266:5-11
189. Tsuchiya S, Sueoka K, Matsuda N, Tanigaki R, Asada H, Hashib T et al. The “spanning protocol”: a new DNA extraction method for efficient single-cell genetic diagnosis. *J Assist Reprod Genet* 2005;22(11-12):407-414
190. Tummers P, De Sutter P, Dhont M. Risk of spontaneous abortion in singleton and twin pregnancies after IVF/ICSI. *Hum Reprod* 2003;18:1720-1723
191. Ubaldi F, Rienzi L. Morphological selection of gametes. *Placenta* 2008; 29: 115-120
192. Van Steirteghem A. Twenty years of in vitro fertilization: realization and questions for the future. 2001;63(3):193-240
193. Vandervorst M, Liebaers I, Sermon K, Staessen C, De Vos A, Van de Velde H, Van Assche E, Joris H, Van Steirteghem A, Devroey P. Successful preimplantation

- genetic diagnosis is related to the number of available cumules-oocyte complexes. Hum Reprod 1998; 13(11): 3169-3176
194. Van Oppenraaij, Jauniaux E, Christiansen OB, Horcajadas JA, Farquharson RG, Exalto N. Predicting adverse obstetric outcome after early pregnancy events and complications: a review. Hum Reprod Update 2009;15:409-411
 195. Van de Velde H, De Rycke M, De Man C, De Hawere K, Fiorentino F, Kahraman S et al. The experience of two European preimplantation genetic diagnosis centres on human leucocyte antigen typing. Hum Reprod 2009;24(3): 732-740
 196. Verlpoest W, Tournaye H. ICSI: Hype or hazard? Hum Fertil 2006;992): 81-92
 197. Velproest W, Van Landuyt L, Desmytere S, Cremers A, Devroey P, Liebaers I. The incidence of monozygotic twinning following PGD is not increased. Hum Reprod 2009; 24:2945-2950
 198. Verlinsky Y, Ginsberg N, Lifchez A, Valle J, Moise J, Strom CM. Analysis of the first polar body : preconceptional genetic analysis. Hum Reprod 1990 ;5 :826-829
 199. Verlinsky Y, Kuliev A. Preimplantion polar body biopsy. Biochem Mol Med 1996; 58(1):13-17
 200. Verlinsky Y, Reckitsky S, Schoolcraft W, Strom C, Kuliev A. Preimplantation diagnosis for Fanconi anemia combined with HLA matching. JAMA 2001;285:3130-3133
 201. Verlinsky Y, Cieslak J, Freidline M, Ivakhnenko V, Wolf G, Kovalinskaya L, White M, Lifchez A, Kaplan B, Moise J et al. Pregnancies following pre-conception diagnosis of common aneuploidies by fluorescent in-situ hybridization. Hum Reprod 1995;10:1923-1927. matching. JAMA 2001;285:3130-3133

202. Verlinsky Y, Retchitsky S, Verlinsky O, Chistikhina A, Shaparova T, Masciangelo C, Levy M, Kaplan B, Lederer K, Kuliev A. Preimplantation genetic diagnosis for Neurofibrosis. *Reprod Biomed Online* 2002; 4(3):218-222
203. Verlinsky Y, Handyside A, Grifo J, Munné S, Cohen J, Liebers I et al. Preimplantation genetic diagnosis of genetic and chromosomal disorders. *J Assist Reprod Genet* 1994;11(5): 236-243
204. Voullaire L, Slater H, Williamson R, Wilton L. Chromosome analysis of blastomeres from human embryos by using comparative genomic hybridization. *Hum Genet* 2000;106:210-217.
205. Vrettou C, Tzetzis M, Traeger-Synodinos J, Palmer G, Kanavakis E. Multiplex sequence variation detection throughout CFTR gene appropriate for preimplantation genetic diagnosis for populations with heterogeneity of cystic fibrosis mutations. *Mol Hum Reprod* 2002; 8(9): 880-886
206. Wells D, Delhanty JD. Comprehensive chromosomal analysis of human preimplantation embryos using whole genome amplification and single cell comparative genomic hybridization. *Mol Hum Reprod* 2000; 6:1055-1062
207. Wells D, Levy B. Cytogenetics in reproductive medicine: the contribution of comparative genomic hybridization (CGH). *BioEssays* 2003;25:289-300
208. Wennerholm UB, Bergh C, Hamberger L, Lundin K, Nilsson L, Wikland M et al. Incidence of congenital malformations in children born after ICSI. *Hum Reprod* 2000;15:944-948
209. Wilton L. Preimplantation genetic diagnosis and chromosome analysis of blastomeres using comparative genomic hybridization. *Hum Reprod Update* 2005; 11(1):33-41

210. Wilton L. Preimplantation genetic diagnosis for aneuploidy screening in early human embryos: a review. *Prenat Diagn* 2002;22: 512-518
211. Wilton L, Williamson R, McBain J, Edgar D, Voullaire L. Birth of a healthy infant after preimplantation confirmation of euploidy by comparative genomic hybridization. *N Engl J Med* 2001;345:1537-1541
212. Wright VC, Chang J, Jeng G, Macaluso M. Assisted reproductive technology surveillance-United States, 2005. *MMWR Surveill Summ* 2008;57:1-23
213. Xiao GH, Chernoff J, Testa JR. NF2: the wizardry of merlin. *Genes Chromosomes Cancer* 2003;38(4): 389-399
214. Ye H, Huang G, Zeng P, Pei L. IVF/ICSI outcomes between cycles of luteal estradiol (E₂) pre-treatment before GnRH antagonist protocol and standard long GnRH agonist protocol: a prospective and randomized study. *J Assist Reprod Genet* 2009;26:105-111
215. Zhu JI, Basso O, Obel C, Bille C, Olsen J. Infertility, infertility treatment, and congenital malformations: a Danish cohort. *BMJ* 2006;333:679
216. Zhou Q, Cui YX. Intracytoplasmic sperm injection for Klinefelter patients and the risk of chromosome anomaly in patients' offspring. *Zhonghua Nan Ke Xue* 2005;11(2): 149-151
217. Zielenski Julian. Genotype and phenotype in cystic fibrosis. *Respiration* 2000;67(2):117-133

Ιστότοποι στο Διαδίκτυο

218. <http://www.genetics.edu.au> Prenatal testing- CVS and amniocentesis
219. The Royal Australian and New Zealand College of Obstetricians and Gynaecologists [online]. Available from: www.ranzcog.edu.au. [Accessed June 2007]
220. Online Mendelian Inheritance of Man available from:
www.ncbi.nlm.nih.gov/omim and www.omim.org
221. www.who.int/ncd/hgn/hgnethnic.htm
222. http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/63910/1/WHO_HGN_GL_ETH_98.1.pdf Proposed international guidelines on ethical issues in medical genetics and genetic services. Report of a WHO meeting on ethical issues in medical genetics. Geneva:World Health Organization1998. (WHO/HGN/GL/ETH/98.1)
223. http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/2378/1/A63_10-en.pdf
224. www.who.int/gb/ebwha/pdf_files/WHA63-REC1/WHA63_REC1-en.pdf
World Health Organization. Sixty-third World Health Assembly. Provision agenda item 11.7.1 April 2010 A63/10
225. <http://www.cdc.gov/reproductivehealth/ProductsPubs/DataToAction/pdf/birout5.pdf>
226. http://www.nbdpn.org/docs/Ch_4_Data CDC form data to action. Public health surveillance for women, infants and children. Lynberg MC and Edmonds LD. State use of birth defects surveillance.
227. http://www.who.int/classifications/icd/ICD-10_2nd_ed_volume2.pdf
World Health Organization. International classification of diseases; 10th revision.
228. <http://www.pgdis.org/>

Βιβλία και Λοιπά Επιστημονικά Έντυπα

229. Bayley N (2006). Bayley scales of infants and toddler development, third edition. San Antonio, TX: Pearson Education, Inc
230. Griffiths Ruth (1996). Griffith's Mental Developmental Scales: Extended-revised: children 2 to 8 years (GMD-ER 2-8).
231. Harper JC, Delhanty JDA, Handyside AH. Preimplantation Genetic Diagnosis. Edition: John Willey & Sons, Ltd, Baffins Lane, Chicester, England, Copyright 2001
232. Nagy P, Jacklin C, Martin L. Effects of gender on behaviour and development. In: Levine, M.D. Carey and Crocker A.C (eds) Developmental Behavioral Pediatrics. W.B. Saunders Co, Philadelphia, pp. 100-106
233. Shapiro BK and Batshaw ML. Chapter 33: Intellectual Disability. In: Kliegman, Stanton, St. Geme, Schor Behrman. Nelson Textbook of Pediatrics. 19th International Edition. Elsevier Saunders, Philadelphia, Copyright 2011
234. Jones KL. Chapter 5: Minor anomalies. Clues to more serious problems and to the recognition of malformation syndromes. In: Jones KL. Smith's recognizable patterns of human malformation. 6th ed. Elsevier Saunders, Philadelphia, Pennsylvania, Copyright 2006, pp 817
235. Τζουμάκα-Μπακούλα Χρ, Λεκέα Β, Καββαδία Γ, Μακρή Α, Κουτσοβίτη Π & ακαδημαϊκού Μαντανιώτη Ν. Η περιγεννητική φροντίδα στην Ελλάδα τα τελευταία 15 χρόνια. Συνεδρία της 20^{ης} Απριλίου 2000. Πρακτικά της Ακαδημίας Αθηνών 2000
236. Λαϊνός Γ. Τρύφων. Οικογενειακή Ιατρική Εγκυκλοπαίδεια. Α' Έκδοση. Ιατρικές Εκδόσεις Μανιατέα. Copyright 2006

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

Στις ακόλουθες σελίδες εμπεριέχονται:

- i. Ερωτηματολόγιο Κλινικής Γενετικής Εκτίμησης*
- ii. Ερωτηματολόγιο αξιολόγησης Γονεϊκού Άγχους (PSI-SF)*
- iii. Πρότυπα σωματικής ανάπτυξης για πρόωρα και τελειόμηνα νεογνά, βρέφη και παιδιά*

I. ΕΡΩΤΗΜΑΤΟΛΟΓΙΟ ΚΛΙΝΙΚΗΣ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΕΚΤΙΜΗΣΗΣ

Date of examination:

Surname:

Name:

Date of birth:

Address:

Tel:

A. DEMOGRAPHIC DATA

Parental age (M/F)	<30 years	(1)
	30-40 years	(2)
	>40 years	(3)
Educational status	<15 years	(1)
	>15 years	(2)
Occupational status	Manual	(1)
	Employment	(2)
	Academic	(3)

B. FAMILY HISTORY

No of siblings	None	(1)
	1	(2)
	2	(3)
	≥ (3)	(4)
Chronic disease of siblings	None	(1)
	TH/Trait	(2)
	CF	(3)
	Other	(4)
Psychomotor development of siblings	Normal	(1)
	Delayed	(2)
	Retarded	(3)
Chronic disease of the family	None	(1)
	TH/Trait	(2)
	CF	(3)
	Other	(4)

C. PRENATAL HISTORY

No of transferred embryos	1	(1)
	2	(2)
	3	(3)
	>(3)	(4)

Singleton pregnancy		(1)
Twin pregnancy		(2)
Triplet pregnancy		(3)
Quadruplet pregnancy		(4)
Complications during pregnancy	None	(1)
	Ectopic pregnancy	(2)
	Hemorrhage	(3)
	Placental detachment	(4)
	Miscarriage	(5)
	Diabetes	(6)
	Preeclampsia	(7)
Medications during pregnancy	Fe, Vitamins	(1)
	Follic	(2)
	Hormones	(3)
	Alcohol	(4)
	Tobacco	(5)
	Others	(6)
Biochemical markers/ultrasound evaluation	Normal	(1)
	Inclusive	(2)
	Abnormal	(3)
Second degree ultrasound evaluation	Normal	(1)
	Inclusive	(2)
	Abnormal	(3)
Prenatal chromosomal diagnosis	NO	(1)
	Chorionic villus	(2)
	Amniocentesis	(3)

D. POSTNATAL HISTORY

Pregnancy duration	weeks	<28 weeks	(1)
		29-32 weeks	(2)
		33-36 weeks	(3)
		>36 weeks	(4)
Mode of delivery		Vaginal	(1)
		Caesarean section	(2)
Birth weight	gr	<10 th centile	(1)
		10-50 th centile	(2)
		>50 th centile	(3)
Length	cm	<10 th centile	(1)
		10-50 th centile	(2)
		>50 th centile	(3)
Head circumference	cm	<10 th centile	(1)
		10-50 th centile	(2)
		>50 th centile	(3)

Apgar score	<5	(1)
	5-8	(2)
	>9	(3)
Perinatal complications	None	(1)
	RDS-intubation	(2)
	Apnea	(3)
	Infection-sepsis	(4)
	Seizures	(5)
	Asphyxia	(6)
	Metabolic disorders	(7)
	Jaundice	(8)
Brain MRI/US	Normal	(1)
	Abnormal (findings:	(2)
Major congenital malformations at birth	Craniosynostosis	(1)
	Hydrocephalus	(2)
	Microcephaly	(3)
	Macrocephaly	(4)
	Clefting	(5)
	Cardiopathy	(6)
	Oesophagus/intestinal stenosis/atresia	(7)
	Hirschsprung	(8)
	Imperforate anus	(9)
	Renal dysplasias	(10)
	Obstructive uropathy	(11)
	Hypospadias	(12)
	Ambiguous genitalia	(13)
	Skeletal dysplasias	(14)
	Spina bifida	(15)
	Dysmorphic features	(16)

E. GENETIC STUDIES

Karyotype	NO	(1)
	Normal	(2)
	Abnormal	(3)
Postnatal genetic diagnosis of the disease (TH.CF)	NO	(1)
	YES-normal	(2)
	YES-abnormal	(3)

F. CURRENT PHYSICAL EXAMINATION

Age:

Weight	gr	<10 th centile	(1)
		10-50 th centile	(2)
		>50 th centile	(3)
Length	cm	<10 th centile	(1)
		10-50 th centile	(2)
		>50 th centile	(3)
Head circumference	cm	<10 th centile	(1)
		10-50 th centile	(2)
		>50 th centile	(3)

Major defects

Craniosynostosis	(1)
Hydrocephalus	(2)
Microcephaly	(3)
Macrocephaly	(4)
Clefting	(5)
Cardiopathy	(6)
Oesophagus/intestinal stenosis/atresia	(7)
Hirschsprung	(8)
Imperforate anus	(9)
Renal dysplasias	(10)
Obstructive uropathy	(11)
Hypospadias	(12)
Ambiguous genitalia	(13)
Skeletal dysplasias	(14)
Spina bifida	(15)

Minor defects

Craniofacial

1. Flat occiput
2. Frontal bossing
3. Maxillary hypoplasia
4. Micrognathia (moderate)
5. Prominent occiput
6. Scalp defects

Eyes

1. Almond-shaped eyes
2. Blepharophimosis
3. Ectropion
4. Entropion
5. Epicanthal fold(s) after 2 years
6. Heterochromia iris
7. Hypertelorism
8. Lacrimal duct stenosis/atresia
9. Upward slanting palpebral fissures
10. Downward slanting palpebral fissures
11. Long eyelashes
12. Ptosis
13. Short palpebral fissures
14. Coloboma of iris
15. Synophrys

Nose

1. Bulbous nose
2. Anteverted nostrils

Ears

1. Asymmetrical size
2. Auricle abnormalities
3. Bilateral large ears
4. Low set ears
5. Microtia
6. Preauricular pig/tag
7. Prominent ears

Mouth

1. Ankyloglossia
2. Flat philtrum
3. Gum cleft
4. Hypodontia
5. Long philtrum
6. Macroglossia
7. Microglossia
8. Palatum gothic
9. Uvula bifid

Skin

1. Angiofibromas
2. Cafe-au-lait spots
3. Haemangioma
4. Discrete annular bands
5. Epidermal naevi
6. Hypopigmented macula
7. Lentigines
8. Mongolian spot
9. Skin dimple over acromion
10. Skin dimple over lateral elbows
11. Skin tag over other location

Chest and heart

1. ASD
2. VSD
3. Ductus arteriosus
4. Beaded ribs
5. Gynaecomasty
6. Murmur
7. Nipple supernumerary
8. Nipples widely spaced
9. Pectus carinatum
10. Pectus excavatum
11. Excessively curly hair
12. Low anterior hairline
13. Low posterior hairline
14. Widow's peak

Abdomen

1. Inguinal hernia if child born < 36 weeks
2. Umbilical hernia > 1cm
3. Unusual umbilical position

Genitalia

1. Abnormal penile length
2. Abnormal testis
3. Chordee
4. Clitoris hypertrophy
5. Cryptorchidism
6. Hydrocoele > 1 year
7. Hypospadias
8. Phimosis
9. Thelarche
10. Vaginal tag

Urinary

1. Vesico-ureteral reflux
2. Hydronephrosis

Back

1. Hair over lower midline
2. Scoliosis

Hands

1. Broad thumbs
2. Clinodactyly fingers
3. Cutaneous syndactyly
4. Fifth finger extra crease
5. Metacarpal shortening
6. Short ring finger
7. Single transverse palmar crease bilateral
8. Small accessory digit
9. Tapered fingers

Feet

1. Broad distal hallux
2. Clinodactyly of toes
3. Clubfoot
4. Increased space toes 1-2
5. Macroductyly 2-3
6. Metatarsus adductus
7. Equinovarus

- 8. Polydactyly
- 9. Syndactyly

G. NEUROLOGIC EXAMINATION

- Normal (1)
- Hypotonia (2)
- Hypertonia (3)
- Asymmetry (4)
- Ataxia (5)

H. PSYCHOMOTOR DEVELOPMENT

MOTOR

Steadiness of the head	months	Normal	(1)
		Delayed	(2)
		Severe retardation	(3)
Sitting without support	months	Normal	(1)
		Delayed	(2)
		Severe retardation	(3)
Standing	months	Normal	(1)
		Delayed	(2)
		Severe retardation	(3)
Walking without support	months	Normal	(1)
		Delayed	(2)
		Severe retardation	(3)
Running	months	Normal	(1)
		Delayed	(2)
		Severe retardation	(3)

LANGUAGE

Polysyllabic babbling	months	Normal	(1)
		Delayed	(2)
		Severe retardation	(3)
Words	months	Normal	(1)
		Delayed	(2)
		Severe retardation	(3)
Phrases	months	Normal	(1)
		Delayed	(2)
		Severe retardation	(3)

II. ΕΡΩΤΗΜΑΤΟΛΟΓΙΟ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗΣ ΓΟΝΕΪΚΟΥ ΑΓΧΟΥΣ PSI-SF

Παρακαλούμε συμπληρώστε τα εξής στοιχεία	ΦΥΛΟ ΠΑΙΔΙΟΥ : Άρρεν Θήλυ ΗΛΙΚΙΑ ΠΑΙΔΙΟΥ ΣΕ: έτη μήνες	
--	---	--

Κλίμακα του άγχους των γονιών λόγω του γονεϊκού τους ρόλου
(σύντομη μορφή)*
Richard R. Abidin, University of Virginia

Οδηγίες

Όταν απαντάτε τις ακόλουθες απαντήσεις, σας παρακαλούμε να έχετε στο νου σας το συγκεκριμένο παιδί.

Οι ερωτήσεις στις επόμενες σελίδες σας ζητάνε να σημειώσετε εκείνη την απάντηση που περιγράφει καλύτερα τα συναισθήματά σας. Μπορεί να μη βρείτε μια απάντηση που δηλώνει ακριβώς τα συναισθήματά σας, οπότε σας παρακαλούμε να σημειώσετε την απάντηση που πλησιάζει περισσότερο σας να περιγράψει πως αισθάνεστε.

Η ΑΠΑΝΤΗΣΗ ΣΑΣ ΘΑ ΠΡΕΠΕΙ ΝΑ ΕΙΝΑΙ Η ΠΡΩΤΗ ΣΑΣ ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ ΣΕ ΚΑΘΕ ΕΡΩΤΗΣΗ.

Σας παρακαλούμε να σημειώσετε το βαθμό στον οποίο συμφωνείτε ή διαφωνείτε με τις ακόλουθες διατυπώσεις βάζοντας κύκλο στον αριθμό που ταιριάζει καλύτερα με το πως αισθάνεστε. Αν δεν είστε σίγουροι, κυκλώστε παρακαλούμε το #3

5	4	3	2	1
Συμφωνώ πολύ	Συμφωνώ	Δεν είμαι σίγουρος	Διαφωνώ	Διαφωνώ πολύ

Παράδειγμα:
 Μου αρέσει να πηγαίνω στον κινηματογράφο (Αν σας αρέσει μερικές φορές να πηγαίνετε στον κινηματογράφο, θα κυκλώσετε το #4)

5 4 3 2 1

Ευχαριστούμε για τη
συνεργασία σας!

5 4 3 2 1
 Συμφωνώ πολύ Συμφωνώ Δεν είμαι σίγουρος Διαφωνώ Διαφωνώ πολύ

1. Συχνά νιώθω ότι δεν μπορώ να χειριστώ τα πράγματα πολύ καλά. 5 4 3 2 1
2. Βλέπω ότι για να ικανοποιήσω τις ανάγκες των παιδιών μου έχω απαρνηθεί περισσότερα πράγματα στη ζωή μου απ' ότι περίμενα. 5 4 3 2 1
3. Νιώθω παγιδευμένος από τις ευθύνες μου ως γονιός. 5 4 3 2 1
4. Από τότε που έκανα αυτό το παιδί δεν κατάφερα να κάνω καινούργια και διαφορετικά πράγματα. 5 4 3 2 1
5. Από τότε που έκανα παιδί νιώθω ότι σχεδόν ποτέ δεν μπορώ να κάνω πράγματα που μου αρέσουν. 5 4 3 2 1
6. Δε νιώθω ευχαριστημένη με τα ρούχα που ψώνισα την τελευταία φορά για μένα. 5 4 3 2 1
7. Υπάρχουν αρκετά πράγματα όσον αφορά τη ζωή μου που μ' ενοχλούν. 5 4 3 2 1
8. Το ότι αποκτήσαμε παιδί προκάλεσε περισσότερα προβλήματα απ' όσα περίμενα στη σχέση μου με το/τη σύζυγό μου (ή το/τη φίλο/η μου). 5 4 3 2 1
9. Νιώθω μόνος/η και χωρίς φίλους. 5 4 3 2 1
10. Όταν πηγαίνω σε πάρτυ συνήθως δεν περιμένω να διασκεδάσω. 5 4 3 2 1
11. Δε με ενδιαφέρουν πια οι άνθρωποι όσο παλιότερα. 5 4 3 2 1
12. Δεν ευχαριστιέμαι τα πράγματα όπως παλιά. 5 4 3 2 1
13. Σπάνια το παιδί μου κάνει κάτι για μένα που με κάνει να νιώθω καλά. 5 4 3 2 1
14. Τις περισσότερες φορές νιώθω ότι το παιδί μου δε με συμπαθεί και δε θέλει να είναι κοντά μου. 5 4 3 2 1
15. Το παιδί μου χαμογελά πολύ λιγότερο απ' όσο περίμενα. 5 4 3 2 1
16. Όταν κάνω πράγματα για το παιδί μου, έχω την εντύπωση ότι οι προσπάθειες μου δεν αναγνωρίζονται και πολύ. 5 4 3 2 1
17. Όταν παίζει το παιδί μου δε γελάει συχνά. 5 4 3 2 1
18. Το παιδί μου δε φαίνεται να μαθαίνει εξ' ίσου γρήγορα με τα περισσότερα παιδιά. 5 4 3 2 1

- | | 5 | 4 | 3 | 2 | 1 |
|---|---------------------|----------------|---------------------------|----------------|---------------------|
| | <i>Συμφωνώ πολύ</i> | <i>Συμφωνώ</i> | <i>Δεν είμαι σίγουρος</i> | <i>Διαφωνώ</i> | <i>Διαφωνώ πολύ</i> |
| 19. Το παιδί μου δε φαίνεται να χαμογελά όσο τα περισσότερα παιδιά. | 5 | 4 | 3 | 2 | 1 |
| | 5 | 4 | 3 | 2 | 1 |
| 20. Το παιδί μου δε μπορεί να κάνει όσα περίμενα. | 5 | 4 | 3 | 2 | 1 |
| 21. Παίρνει πολύ χρόνο και είναι δύσκολο για το παιδί μου να συνηθίσει σε νέα πράγματα. | 5 | 4 | 3 | 2 | 1 |
| 22. Νιώθω ότι είμαι : | | | | | |
| 5. όχι πολύ καλός σα γονιός | | | | | |
| 4. κάποιος που έχει μερικές δυσκολίες σα γονιός | | | | | |
| 3. ένα μέτριος γονιός | | | | | |
| 2. καλύτερος από μέτριος γονιός | | | | | |
| 1. ένας πολύ καλός γονιός. | | | | | |
| 23. Περίμενα ότι θα ένιωθα πιο κοντά και πιο ζεστά για το παιδί μου απ' όσο νιώθω κι αυτό με ενοχλεί. | 5 | 4 | 3 | 2 | 1 |
| 24. Μερικές φορές το παιδί μου κάνει πράγματα που μ' ενοχλούν μόνο και μόνο από κακία. | 5 | 4 | 3 | 2 | 1 |
| 25. Το παιδί μου φαίνεται ότι κλαίει ή ότι γκρινιάζει πιο συχνά από τα περισσότερα παιδιά. | 5 | 4 | 3 | 2 | 1 |
| 26. Το παιδί μου συνήθως ξυπνάει με κακή διάθεση. | 5 | 4 | 3 | 2 | 1 |
| 27. Νιώθω ότι το παιδί μου είναι πολύ κακοδιάθετο και αναστατώνεται εύκολα. | 5 | 4 | 3 | 2 | 1 |
| 28. Το παιδί μου κάνει κάποια πράγματα που μ' ενοχλούν παρά πολύ. | 5 | 4 | 3 | 2 | 1 |
| 29. Το παιδί μου αντιδρά πολύ έντονα όταν συμβαίνει κάτι που δεν του αρέσει. | 5 | 4 | 3 | 2 | 1 |
| 30. Το παιδί μου αναστατώνεται εύκολα με το παραμικρό. | 5 | 4 | 3 | 2 | 1 |
| 31. Στάθηκε πολύ πιο δύσκολο απ' όσο περίμενα αν σταθεροποιηθεί το πρόγραμμα του παιδιού μου όσον αφορά τον ύπνο και το φαγητό. | 5 | 4 | 3 | 2 | 1 |
| 32. Βρίσκω ότι το να καταφέρω το παιδί μου να κάνει κάτι ή να σταματήσει να κάνει κάτι είναι: | | | | | |
| 5. πολύ πιο δύσκολο απ' ότι περίμενα | | | | | |
| 4. κάπως πιο δύσκολο απ' ότι περίμενα | | | | | |
| 3. περίπου τόσο δύσκολο όσο περίμενα | | | | | |
| 2. κάπως πιο εύκολο απ' όσο περίμενα | | | | | |
| 1. πολύ πιο εύκολο απ' όσο περίμενα | | | | | |

5 4 3 2 1
Σομφωνώ πολύ Σομφωνώ Δεν είμαι σίγουρος Διαφωνώ Διαφωνώ πολύ

33. Σκεφτείτε προσεκτικά και μετρήστε τα πράγματα που κάνει το παιδί σας και που σας ενοχλούν. Για παράδειγμα: χαζεύει, καθυστερεί, αρνείται ν' ακούσει, είναι υπερδραστήριο, κλαίει, διακόπτει, τσακώνεται, κλαψουρίζει κλπ. Σας παρακαλούμε κυκλώστε τον αριθμό που αντιστοιχεί στα πράγματα που μετρήσατε.

5. 10+ 4. 8-9 3. 6-7 2. 4-5 1. 1-3 5 2 3 2 1

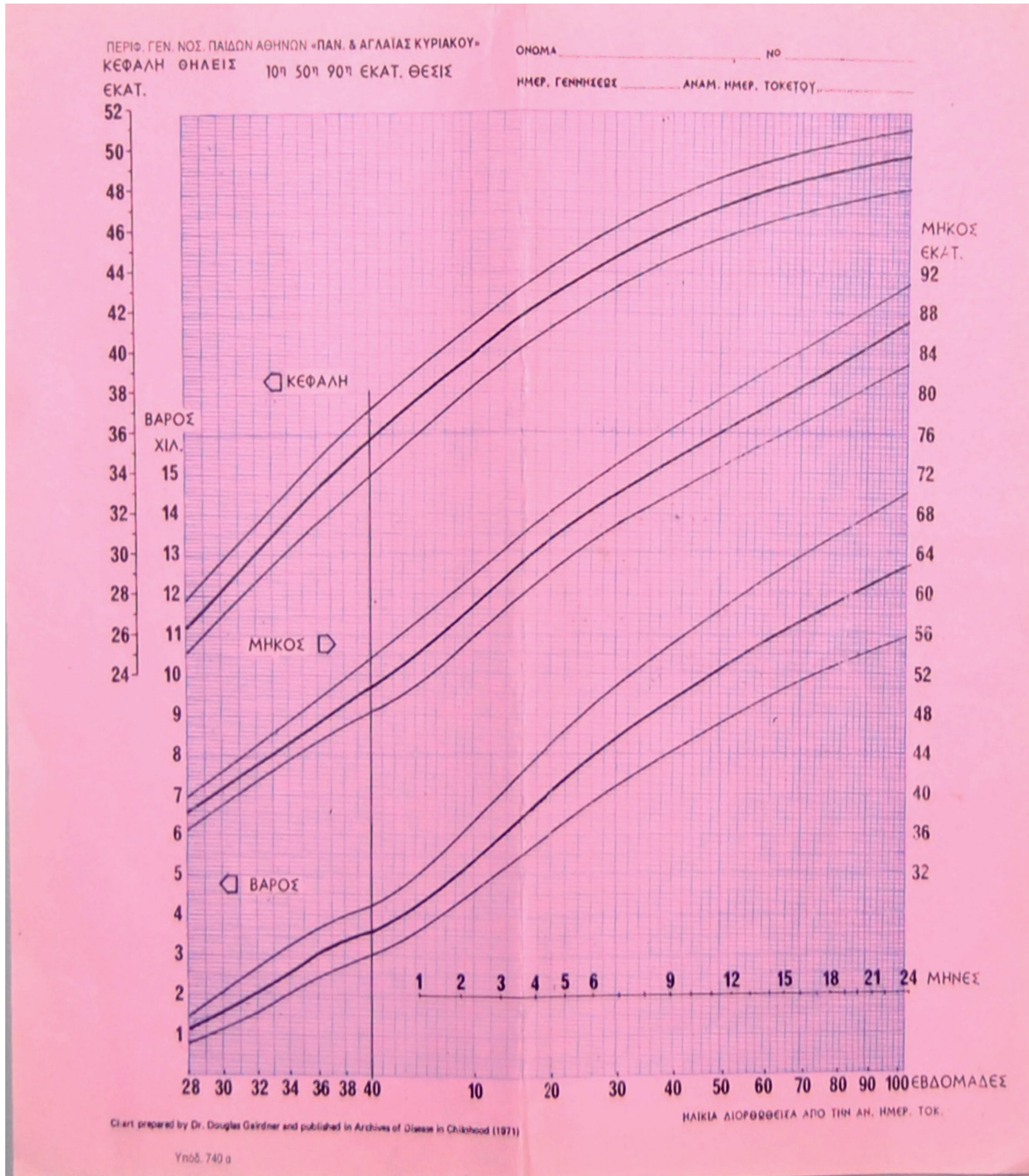
34. Υπάρχουν μερικά πράγματα που κάνει το παιδί μου και που μ' ενοχλούν πραγματικά πολύ. 5 4 3 2 1

35. Τελικά το παιδί μου είναι μεγαλύτερο πρόβλημα απ' όσο περίμενα. 5 4 3 2 1

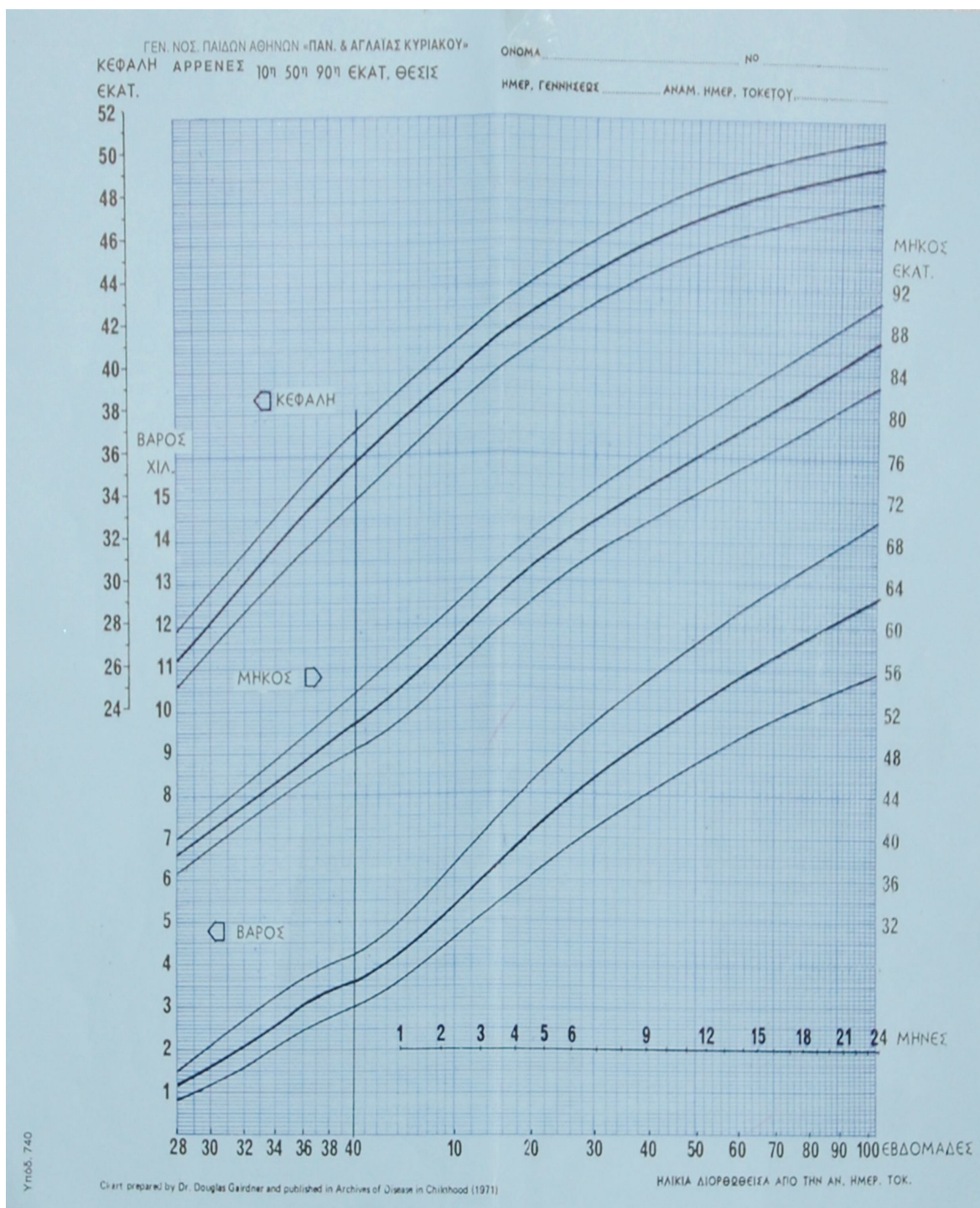
36. Το παιδί μου έχει περισσότερες απαιτήσεις από εμένα απ' ότι τα περισσότερα παιδιά. 5 4 3 2 1

III. ΠΡΟΤΥΠΑ ΣΩΜΑΤΙΚΗΣ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ ΓΙΑ ΠΡΟΩΡΑ ΚΑΙ ΤΕΛΕΙΟΜΗΝΑ ΝΕΟΓΝΑ, ΒΡΕΦΗ ΚΑΙ ΠΑΙΔΙΑ

A. ΠΡΟΤΥΠΑ ΣΩΜΑΤΙΚΗΣ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ ΓΙΑ ΠΡΟΩΡΑ ΘΗΛΕΑ ΝΕΟΓΝΑ



Β. ΠΡΟΤΥΠΑ ΣΩΜΑΤΙΚΗΣ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ ΓΙΑ ΠΡΩΩΡΑ ΑΡΡΕΝΑ ΝΕΟΓΝΑ



Α΄ ΠΑΙΔΙΑΤΡΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΑΘΗΝΩΝ
Διευθυντής: **Καθηγητής Γ. Χρούσος**

**ΠΡΟΤΥΠΑ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ
ΕΛΛΗΝΙΚΟΥ ΠΛΗΘΥΣΜΟΥ
(Αγόρια 0-18 ετών)**

Δ. Χιώτης, Γ. Τσίφτης, Μ. Χατζησυμεών,
Μ. Μανιάτη, Ξ. Κρίκος, Α. Δάκου-Βουτετάκη

ΑΘΗΝΑ 2002

Α΄ ΠΑΙΔΙΑΤΡΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΑΘΗΝΩΝ
Διευθυντής: Καθηγητής Γ. Χρούσος

**ΠΡΟΤΥΠΑ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ
ΕΛΛΗΝΙΚΟΥ ΠΛΗΘΥΣΜΟΥ
(Κορίτσια 0-18 ετών)**

Δ. Χιώτης, Γ. Τσίφτης, Μ. Χατζησυμεών,
Μ. Μανιάτη, Ξ. Κρίκος, Α. Δάκου-Βουτετάκη

ΑΘΗΝΑ 2002