



ΠΕΡΙΛΗΨΕΙΣ ΕΛΕΥΘΕΡΩΝ ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΕΩΝ

ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ 17 ΙΟΥΝΙΟΥ 2022

ΕΑ01

ΚΑΙΝΟΤΟΜΕΣ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΕΙΣ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗΣ ΤΗΣ ΥΠΟΔΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΤΟΥ ΕΝΔΟΜΗΤΡΙΟΥ: ΣΥΣΤΗΜΑΤΙΚΗ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ ΤΗΣ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑΣ

Άννα Τρυπίδη¹, Ευάγγελος Μαζιώτης¹, Πολίνα Γιαννέλου², Σωκράτης Γρηγοριάδης^{1,3}, Άννα Ραπάνη¹, Μάριος Ανυφαντάκης¹, Αμαλία Κοτσιφάκη¹, Αγνή Πάντου², Θεόδωρος Καλαμπόκας³, Όλγα Τριανταφυλλίδου³, Δέσποινα Τζανακάκη³, Σπυριδούλα Νεοφύτου³, Παρασκευή Βογιατζή⁴, Αναστασία Μπέτα³, Παναγιώτης Βάκας³, Μάρα Σιμοπούλου^{1,3}, Νικόλαος Βλάχος³

¹Εργαστήριο Φυσιολογίας, Ιατρική Σχολή Αθηνών, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα, Ελλάδα

²Μονάδα Αναπαραγωγικής Ιατρικής, Ιδιωτική Κλινική "Γένεσις Αθηνών, Αθήνα, Ελλάδα

³Β' Μαιευτική και Γυναικολογική Κλινική, Αρεταίειο Νοσοκομείο, Ιατρική Σχολή, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα, Ελλάδα

⁴Διαγνωστικό Κέντρο Andromed Υγεία & Αναπαραγωγή, Μονάδα Ανθρώπινης Γονιμότητας και Αναπαραγωγής, Αθήνα, Ελλάδα

Εισαγωγή: Παρά την σημαντική πρόοδο που έχει σημειωθεί στον τομέα της αναπαραγωγικής ιατρικής, η αποτυχία εμφύτευσης αποτελεί ακόμα πρόκληση, επηρεάζοντας το 10-30% των ασθενών που υποβάλλονται σε εξωσωματική γονιμοποίηση (IVF). Η επιστημονική έρευνα επικεντρώνεται στον εντοπισμό μορίων που καθορίζουν την υποδεκτικότητα του ενδομητρίου, προκειμένου να αναπτυχθούν διαγνωστικά εργαλεία με δυνατότητα ανίχνευσης του παραθύρου εμφύτευσης. Νέες μοριακές γονιδιωματικές προσεγγίσεις έχουν χρησιμοποιηθεί ως εργαλεία για την εξατομικευμένη προσέγγιση του χρόνου εμβρυομεταφοράς. Παρόλα αυτά, η κλινική αξία αυτών των μεθόδων δεν έχει ακόμα αποσαφηνιστεί. Η ανάπτυξη τέτοιων προγνωστικών εργαλείων είναι εφικτή μέσω της γενωμικής (genomic) αλλά και της μεταγραφικής (transcriptomic) ανάλυσης για την χαρτογράφηση του μοριακού μικροπεριβάλλοντος του ενδομητρίου.

Μέθοδοι: Η παρούσα μελέτη αποτελεί μία συστηματική ανασκόπηση της βιβλιογραφίας που σχετίζεται με τη χρήση εμπορικά διαθέσιμων γενωμικών μοριακών τεχνικών για την αξιολόγηση της υποδεκτικότητας του ενδομητρίου και τον εντοπισμό του παραθύρου εμφύτευσης. Πραγματοποιήθηκε συστηματική αναζήτηση της βιβλιογραφίας στις βάσεις δεδομένων Embase και PubMed/Medline έως την 1^η Φεβρουαρίου του 2022. Από τα 475 άρθρα που ανακτήθηκαν μόνο τα 27 συμπεριελήφθησαν και αναλύθηκαν στην παρούσα μελέτη. Το πρωτογενές αποτέλεσμα αφορά τα ποσοστά γέννησης ζώντων νεογνών, ενώ δευτερευόντως αναλύθηκαν τα ποσοστά κλινικής εγκυμοσύνης, η ακρίβεια, η ευαισθησία και η ειδικότητα των διαγνωστικών ελέγχων.

Αποτελέσματα: Στην παρούσα μελέτη βρέθηκε αυξημένη ετερογένεια μεταξύ των μελετών, που υποδεικνύει τη μοναδικότητα του παραθύρου εμφύτευσης. Συνεπώς, ο βέλτιστος χρόνος εμβρυομεταφοράς διαφέρει σημαντικά μεταξύ των γυναικών. Επιπρόσθετα, ένας σημαντικός περιορισμός των διαθέσιμων ελέγχων υποδεκτικότητας του ενδομητρίου, είναι ο μη προσδιορισμός των ομάδων των ασθενών που μπορούν να επωφεληθούν από την εφαρμογή αυτών των ελέγχων, όπως ασθενείς με επαναλαμβανόμενες αποτυχίες εμφύτευσης ή με σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών.

Συμπεράσματα: Η παρούσα μελέτη παρέχοντας πληροφορίες σχετικά με την τεχνολογία καινοτόμων μοριακών εργαλείων και αναλύοντας νέους πιθανούς βιοδείκτες για την υποδεκτικότητα του ενδομητρίου, παρέχει τη βάση για μελλοντική έρευνα στο πεδίο.

ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΗΣ ΥΠΟΔΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΤΟΥ ΕΝΔΟΜΗΤΡΙΟΥ ΜΕ ΤΗ ΧΡΗΣΗ ΤΡΙΣΔΙΑΣΤΑΤΟΥ ΥΠΕΡΗΧΟΥ ΣΤΑ ΠΛΑΙΣΙΑ ΤΗΣ ΥΠΟΒΟΗΘΟΥΜΕΝΗΣ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗΣ

Βασίλειος Εμμανουήλ¹, Βασιλική Ταγάρα², Εμμανουήλ Ξυδιάς³, Βασίλειος Στριάγκας², Μαρία Κουτίνη¹, Άννα Ντανικά⁴, Ηλίας Τσάκος⁵, Απόστολος Ζιώγας³

¹: Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης, Σχολές Επιστημών Υγείας, Τμήμα Ιατρικής

²: Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Σχολές Επιστημών Υγείας, Τμήμα Ιατρικής

³: Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Σχολές Επιστημών Υγείας, Τμήμα Ιατρικής

⁴: Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, Σχολές Επιστημών Υγείας, Τμήμα Ιατρικής

⁵: MD, FRCOG, Embryoclinic, Θεσσαλονίκη

Εισαγωγή

Η υπογονιμότητα επηρεάζει περίπου 1 στα 6 ζευγάρια αναπαραγωγικής ηλικίας, παγκοσμίως. Τα ποσοστά εμφάνισής της, είναι τα πλέον μεγαλύτερα σήμερα, σε σχέση με το παρελθόν. Η υποδεκτικότητα του ενδομητρίου είναι πολύ σημαντική παράμετρος για την επιτυχή εμφύτευση και ανάπτυξη του εμβρύου στα πλαίσια των διαδικασιών της υποβοηθούμενης αναπαραγωγής. Ο τρισδιάστατος υπέρηχος (3D-US) και το τρισδιάστατο Doppler (3D-PDA) αποτελεί ένα πολλά υποσχόμενο, μη επεμβατικό εργαλείο αξιολόγησης της υποδεκτικότητας του ενδομητρίου και τελικά της επιτυχούς έκβασης της θεραπείας.

Μέθοδοι

Σχετικά άρθρα αναζητήθηκαν στο MEDLINE/PubMed και άλλες έγκυρες βάσεις δεδομένων και κατόπιν αξιολόγησης εντάχθηκαν στη μελέτη μας.

Αποτελέσματα

Τα αποτελέσματα από την έρευνά μας, ήταν αντικρουόμενα. Η πλειονότητα των ερευνών που χρησιμοποίησε το 3D-US για την εκτίμηση της ενδομητρικής υποδεκτικότητας, αξιολόγησε δείκτες όπως το endometrial pattern, το endometrial thickness (ET), το endometrial volume (EV), το vascularity index (VI), το flow index (FI) και το vascularization flow index (VFI) και άλλους, λιγότερο συχνά χρησιμοποιούμενους. Από τα διαθέσιμα δεδομένα, δεν υπάρχει κοινή γραμμή για το ποιος δείκτης είναι πιο αξιόπιστος, με τους περισσότερους ερευνητές να τείνουν προς τους δείκτες υπο- ή/και ενδομητρικής αγγείωσης (VI, FI, VFI). Αντικρουόμενα είναι, επίσης, τα αποτελέσματα για το αν το 3D-US υπερέρχει των συμβατικών μεθόδων, στα πλαίσια αυτής της αξιολόγησης, με κάποιες έρευνες να το αμφισβητούν.

Συμπεράσματα

Τα πλεονεκτήματα του 3D-US είναι αδιαμφισβήτητα, καθώς είναι λιγότερο χρονοβόρος, αξιόπιστα επαναλήψιμος, επιτρέπει καλύτερες λήψεις του οργάνου, καθώς και τη δυνατότητα επαναξιολόγησης. Η ασυμφωνίες που παρατηρήσαμε κατά την ανασκόπηση της διαθέσιμης βιβλιογραφίας, ίσως οφείλονται στην έλλειψη κοινών πρωτοκόλλων σε ό,τι αφορά τη χρονική στιγμή της υπερηχογραφικής αξιολόγησης και το διαφορετικό σχεδιασμό των μελετών. Χρειάζεται, ωστόσο, περισσότερη έρευνα προκειμένου να τυποποιηθεί ο χρόνος που γίνονται οι διάφορες υπερηχογραφικές μετρήσεις κατά την IVF, η θέσπιση κοινών πρωτοκόλλων, καθώς και να συσχετιστούν οι αξιολογήσιμες παράμετροι με τα ποιοτικά χαρακτηριστικά του προς εμφύτευση εμβρύου.

ΜΕΛΕΤΗ ΤΟΥ ΡΟΛΟΥ ΤΩΝ ΙΝΤΕΡΛΕΥΚΙΝΩΝ ΣΤΗΝ ΠΑΘΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΗ ΒΑΣΗ ΤΟΥ ΦΑΙΝΟΜΕΝΟΥ ΤΩΝ ΕΠΑΝΑΛΑΜΒΑΝΟΜΕΝΩΝ ΑΠΟΤΥΧΙΩΝ ΕΜΦΥΤΕΥΣΗΣ: ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ ΚΑΙ ΚΡΙΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΗΣ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑΣ

Παρασκευή Ξύστρα¹, Σωκράτης Γρηγοριάδης¹, Ευάγγελος Μαζιώτης¹, Καλλιόπη Πιστόλα¹, Αγνή Πάντου², Γεωργία Κόκκαλη², Αθανάσιος Παππάς², Μαρία Λαμπροπούλου³, Κωνσταντίνος Πάντος², Κωνσταντίνος Σφακιανούδης², Μάρα Σιμοπούλου¹

¹Εργαστήριο Φυσιολογίας, Ιατρική Σχολή Αθηνών, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα, Ελλάδα

²Μονάδα Αναπαραγωγικής Ιατρικής, Ιδιωτική Κλινική "Γένεσις Αθηνών, Αθήνα, Ελλάδα

³Εργαστήριο Ιστολογίας-Εμβρυολογίας, Ιατρική Σχολή, Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης, Αλεξανδρούπολη, Ελλάδα

Εισαγωγή: Οι επαναλαμβανόμενες αποτυχίες εμφύτευσης (RIF) είναι ένα πολυπαραγοντικό φαινόμενο που επηρεάζει το 10-15% των ζευγαριών που υποβάλλονται σε εξωσωματική γονιμοποίηση. Ένας από τους βασικούς παθοφυσιολογικούς μηχανισμούς που οδηγεί σε RIF σχετίζεται με τη λειτουργική απορρύθμιση του ανοσοποιητικού συστήματος του ενδομητρίου. Σκοπός της μελέτης είναι η διεξοδική παρουσίαση και αξιολόγηση του ρόλου των ιντερλευκινών στην παθογένεση του RIF. **Μέθοδος:** Πραγματοποιήθηκε βιβλιογραφική ανασκόπηση στις βάσεις δεδομένων PubMed/Medline, Embase, και Cochrane Central έως το Νοέμβριο του 2021. Μοναδικό κριτήριο ένταξης ήταν η σαφής περιγραφή των αποτελεσμάτων και η μεθοδολογία που χρησιμοποιήθηκε. **Αποτελέσματα:** Κατά την εμφύτευση, συγκεκριμένες ομάδες ιντερλευκινών εκκρίνονται στο ενδομήτριο από τα επιθηλιακά κύτταρα και τα κύτταρα του στρώματος. Αυτές δημιουργούν ένα περίπλοκο μοριακό δίκτυο που ενορχηστρώνει τον πολλαπλασιασμό και την ωρίμανση των φυσικών φονικών κυττάρων της μήτρας. Επιπλέον, ελέγχουν τη λειτουργία των ρυθμιστικών T και B κυττάρων και αναστέλλουν την έκκριση αντιεμβρυϊκών αντισωμάτων. Επιπρόσθετα, οι ιντερλευκίνες υποστηρίζουν την εισβολή της τροφοβλάστης στο ενδομήτριο και τον σχηματισμό του φθαρτού. Οι αλλαγές στα πρότυπα έκφρασης των ιντερλευκινών κατά την έμβρυο-μητρική διεπαφή επηρεάζουν αρνητικά πολλές βιολογικές διεργασίες που απαιτούνται για τη σωστή εμφύτευση εμβρύου και την επίτευξη της εγκυμοσύνης. Μεταξύ άλλων, επηρεάζουν την φθαρτοποίηση, την ανοσολογική αποδοχή της ημι-αλλογενούς βλαστοκύστης, την εμβρυομητρική επικοινωνία, την προσκόλληση του εμβρύου στο ενδομήτριο, την εισβολή των τροφοβλαστικών κυττάρων στο ενδομήτριο, την αναδιαμόρφωση των σπειροειδών αρτηριών, καθώς και την ανάπτυξη του ίδιου του εμβρύου. **Συμπεράσματα:** Ο ρόλος των ιντερλευκινών στη δημιουργία ενός ισορροπημένου μικροπεριβάλλοντος Th1/Th2/Th17 και Treg κατά την περι-εμφυτευτική περίοδο είναι καθοριστικός. Απαιτούνται πρόσθετες μελέτες προκειμένου οι απλές συσχετίσεις να εξελιχθούν σε ισχυρά μοριακά μοντέλα που θα επιτρέψουν τον ακριβή προσδιορισμό των προτύπων έκφρασης των ιντερλευκινών κατά την εμφύτευση. Τα μοντέλα αυτά θα επιτρέψουν την παροχή εξατομικευμένης συμβουλευτικής βάσει στοιχείων και θα διευκολύνουν την λήψη αποφάσεων για την επιτυχή διαχείριση ασθενών με RIF.

ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ ΕΜΒΡΥΩΝ ΣΕ ΧΑΜΗΛΕΣ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΕΙΣ ΟΞΥΓΟΝΟΥ: 5% VS 3%. ΥΠΑΡΧΕΙ ΔΙΑΦΟΡΑ ΣΤΗΝ ΕΜΒΡΥΟΛΟΓΙΚΗ ΕΞΕΛΙΞΗ, ΤΗΝ ΠΟΙΟΤΗΤΑ ΚΑΙ ΤΗ ΧΡΩΜΟΣΩΜΙΚΗ ΣΥΣΤΑΣΗ;

Μ.Ι. Παπαδοπούλου, Α. Παπαθεοδώρου, Α. Βορνωτάκη, Μ. Καραγιάννη, Χ. Ωραιοπούλου, Α. Χατζηπαρασίδου, Ν. Χριστοφορίδης

Ερευνητικό ερώτημα:

Μπορεί η καλλιέργεια εμβρύων σε συγκέντρωση 3% να βελτιώσει τα ποσοστά γονιμοποίησης και σχηματισμού βλαστοκύστεων, καθώς επίσης και τα ποσοστά ευπλοειδικών εμβρύων σε σχέση με την καλλιέργεια σε 5% συγκέντρωση οξυγόνου;

Περίληπτική απάντηση:

Πολύ χαμηλή συγκέντρωση οξυγόνου (3%) δε φαίνεται να βελτιώνει τα ποσοστά γονιμοποίησης, σχηματισμού βλαστοκύστης και ευπλοειδίας, ούτε την ποιότητα εμβρύων.

Τι είναι ήδη γνώστο:

Η καλλιέργεια εμβρύων σε συγκέντρωση χαμηλού οξυγόνου φαίνεται ότι έχει καλύτερα αποτελέσματα σε σύγκριση με την καλλιέργεια σε συγκέντρωση ατμοσφαιρικού οξυγόνου (20%). Φυσιολογικά, η συγκέντρωση του οξυγόνου μειώνεται από ~5% στη σάλπιγγα σε ~2,5% στο ενδομήτριο με τα έμβρυα να φτάνουν στο ενδομήτριο γύρω στην 4η μέρα ανάπτυξης, στο στάδιο που ξεκινούν το σχηματισμό του μοριδίου. Επιπλέον, προηγούμενη μελέτη μας έδειξε ότι το ποσοστό ευπλοειδικών εμβρύων ήταν σημαντικά υψηλότερο σε έμβρυα που καλλιεργήθηκαν σε 5% συγκέντρωση οξυγόνου σε σχέση με 20% συγκέντρωση. Με βάση τα παραπάνω, στόχος της παρούσας μελέτης ήταν να αξιολογηθεί εάν η καλλιέργεια εμβρύων έως και το στάδιο της βλαστοκύστης μπορεί να επωφεληθεί από μια επιπλέον μείωση της συγκέντρωσης του οξυγόνου, από το 5% στο 3%.

Σχεδιασμός μελέτης, μέγεθος δείγματος, διάρκεια:

Στην παρούσα αναδρομική μελέτη, συμπεριλήφθηκαν 176 κύκλοι εξωσωματικής στους οποίους πραγματοποιήθηκε ΠΓΔ για ανευπλοειδίες (PGT-A), οι οποίοι πραγματοποιήθηκαν στη Μ.Ι.Υ.Α Embryolab από τον Μάιο του 2017 έως τον Νοέμβριο του 2021. Σχηματίστηκαν δυο ομάδες μελέτης, στις οποίες ο μόνος παράγοντας καλλιέργειας που διέφεραν ήταν η συγκέντρωση του οξυγόνου. Η Ομάδα 5% αποτελούνταν από 114 PGT-A κύκλους και συνολικά 832 έμβρυα και η Ομάδα 3% αποτελούνταν από 62 PGT-A κύκλους και 479 έμβρυα. Μεταξύ των δύο ομάδων συγκρίθηκαν τα ποσοστά γονιμοποίησης, σχηματισμού βλαστοκύστεων και ευπλοειδίας.

Συμμετέχοντες και μεθοδολογία:

Σε όλους τους κύκλους που συμπεριλήφθηκαν στη μελέτη, τα ωάρια στα οποία πραγματοποιήθηκε μικρογονιμοποίηση καλλιεργήθηκαν σε 3% O₂ είτε σε 5% O₂ απευθείας μετά τη γονιμοποίηση και μέχρι την 6^η μέρα ανάπτυξης. Η συγκέντρωση του CO₂ ήταν 6% και στις δύο ομάδες. Στις βλαστοκύστες καλής ποιότητας (expansion>3, ICM: A/B, TE: A/B σύμφωνα με το σύστημα αξιολόγησης κατά Gardner), πραγματοποιήθηκε βιοψία τροφεκτοδέρματος την 5^η/6^η μέρα ανάπτυξης και τα έμβρυα ελέγχθηκαν γενετικά για την ύπαρξη ανευπλοειδιών. Όλα τα έμβρυα κρυοσυντηρήθηκαν με υαλοποίηση μετά τη βιοψία. Η στατιστική ανάλυση πραγματοποιήθηκε με τη χρήση του Mann-Whitney test.

Αποτελέσματα:

Ο Μ.Ο. ηλικίας των γυναικών βρέθηκε παρόμοιος μεταξύ των δύο ομάδων 5% και 3% (37,76±4.7y vs 38,35±4.19y, p=0.2263).

Τα ποσοστά γονιμοποίησης ήταν επίσης παρόμοια μεταξύ των δύο ομάδων (81,04% στην Ομάδα 5% VS 81,77 στην Ομάδα 3%, p=0.9718). Στην Ομάδα 5%, το ποσοστό εμβρύων που διαιρέθηκαν τη 2^η μέρα ανάπτυξης (cleavage) (98,86%) ήταν σημαντικά υψηλότερο σε σχέση με την Ομάδα 3% (96,86%) (p=0.003). Το ποσοστό σχηματισμού βλαστοκύστεων (εκφρασμένο ανά γονιμοποιημένο ωάριο) βρέθηκε να είναι σημαντικά υψηλότερο στην Ομάδα 5% (76,56 στην Ομάδα 5% VS 67,22 στην Ομάδα 3%) (p=0.029), καθώς

επίσης και το ποσοστό βλαστοκύστεων που ήταν κατάλληλες για βιοψία (91,9% στην Ομάδα 5% VS 82.29% στην Ομάδα 3%) ($p=0.0056$).

Τα ποσοστά ευπλοειδικών εμβρύων ήταν παρόμοια μεταξύ των δύο ομάδων, 26,7 στην Ομάδα 5% και 26,76 στην Ομάδα 3% ($p=0.9272$). Ωστόσο, περισσότερες βλαστοκύστες ήταν διαθέσιμες για βιοψία κατά την 5^η ή την 6^η μέρα ανάπτυξης στην Ομάδα 5%, όπως φαίνεται από τα παραπάνω.

Στην Ομάδα 5%, 101 εμβρυομεταφορές πραγματοποιήθηκαν, 54 με +βHCG και σε 42 κύκλους κανένα έμβρυο δε βρέθηκε ευπλοειδικό μετά το PGT-A. Στην Ομάδα 3%, 28 εμβρυομεταφορές πραγματοποιήθηκαν, 18 με +βHCG σε 7 κύκλους εκκρεμούν οι εμβρυομεταφορές και σε 24 κύκλους δε βρέθηκαν ευπλοειδικά έμβρυα. Η συγκεκριμένη μελέτη βρίσκεται ακόμη σε εξέλιξη και τα κλινικά αποτελέσματα πρέπει να καταγραφούν και να αναλυθούν για να εξαχθούν συμπεράσματα από τη σύγκριση.

Περιορισμοί μελέτης:

Η παρούσα μελέτη είναι αναδρομική και οι κύκλοι από την κάθε ομάδα δεν πραγματοποιήθηκαν στον ίδιο χρόνο, αλλά σε διαφορετικές χρονικές περιόδους στο ίδιο εργαστήριο. Επιπλέον, στη μελέτη συμπεριλήφθηκαν όλοι οι κύκλοι στους οποίους πραγματοποιήθηκε PGT-A ανεξαρτήτως του τύπου υπογονιμότητας.

Εφαρμογή των ευρημάτων:

Με βάση τα αποτελέσματα της μελέτης, δε συστήνεται η μείωση της συγκέντρωσης του O₂ κάτω από 5% κατά τη διάρκεια της καλλιέργειας, διότι δε φαίνεται να βελτιώνει τα ποσοστά γονιμοποίησης ή ευπλοειδικών εμβρύων. Εκτός αυτού, η ποιότητα εμβρύων βρέθηκε να είναι καλύτερη στην Ομάδα 5%, όπως επίσης και το ποσοστό σχηματισμού βλαστοκύστεων. Τα ευρήματα μας πρέπει ωστόσο να επιβεβαιωθούν σε ένα μεγαλύτερο δείγμα πληθυσμού.

ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΗΣ ΔΟΜΗΣ ΤΩΝ ΚΥΤΤΑΡΙΚΩΝ ΟΡΓΑΝΙΔΙΩΝ ΑΝΘΡΩΠΙΝΩΝ, ΥΑΛΟΠΟΙΗΜΕΝΩΝ ΕΜΒΡΥΩΝ ΣΕ ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΟ ΜΙΚΡΟΣΚΟΠΙΟ 4, 10 ΚΑΙ 24 ΩΡΕΣ ΜΕΤΑ ΤΗΝ ΑΠΟΨΥΞΗ

Παππά Κ.¹, Χατζημελετίου Κ.¹, Παναγιωτίδης Ι.², Χατζή-Μουλά Α.³, Λαμπριανίδης Χ.², Κολυμπιανάκης Ε.¹, Γκριμπίζης Γ.¹, Σιόγκα Α.³

¹Μονάδα Ανθρώπινης Αναπαραγωγής, Α Μαιευτική-Γυναικολογική Κλινική, Τμήμα Ιατρικής, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Θεσσαλονίκη 56403, Ελλάδα

²Μονάδα Ιατρικώς Υποβοηθούμενης Αναπαραγωγής ΙΑΚΕΝΤΡΟ, Θεσσαλονίκη 56403, Ελλάδα

³Εργαστήριο Ιστολογίας-Εμβρυολογίας, Τμήμα Ιατρικής, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Θεσσαλονίκη 56403, Ελλάδα

Σκοπός: Η υαλοποίηση είναι μία ταχεία μέθοδος κατάψυξης η οποία αποφεύγει τη δημιουργία κρυστάλλων πάγου χρησιμοποιώντας υψηλές συγκεντρώσεις κρυσπροστατευτικών μέσων και ταχύτατη έκθεση στο υγρό άζωτο. Ο σκοπός της μελέτης είναι η διερεύνηση των πιθανών επιπτώσεων της υαλοποίησης στη δομή κυτταρικών οργανιδίων ανθρώπινων εμβρύων σε διαφορετικές χρονικές στιγμές μετά την απόψυξη τους.

Υλικό και μέθοδος: Ανθρώπινα έμβρυα στο στάδιο της βλαστοκύστης (Ημέρα 5 μετά τη γονιμοποίηση) που είχαν κρυσοσυντηρηθεί με τη χρήση κλειστού συστήματος υαλοποίησης (n=30), μονιμοποιήθηκαν σε 3% γλουταραδεΰδη 4 ώρες (n=10) ή 10 ώρες (n=10) ή 24 ώρες (n=10) μετά την απόψυξή και καλλιέργειά τους σε θρεπτικό υλικό. Μετά από πλύσεις σε ρυθμιστικό διάλυμα μεταφέρθηκαν σε 1% όσμιο, επώαστηκαν σε 1% ουρανίλιο και αφυδατώθηκαν σε διαδοχικές συγκεντρώσεις αιθανόλης. Ακολούθησε σκλήνωση των εμβρύων σε επόν, λήψη λεπτών τομών σε μικροτόμο (Reichert Ultramicrotome EM UC6) και ανάλυση στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο (JEOL TEM 2000 FXII microscope).

Αποτελέσματα: Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι όλα τα υαλοποιημένα έμβρυα επιβίωσαν μετά την απόψυξη και η πλειοψηφία των κυττάρων τους παρουσίαζαν φυσιολογική δομή. Ωστόσο παρατηρήθηκαν λιποφουσκίνες (αντιπροσωπευτικές της απόπτωσης) και αυτοφαγικά κενοτόπια τα οποία εμφανίζονται σε μεγαλύτερο ποσοστό σε έμβρυα που μονιμοποιήθηκαν 24 ώρες μετά την απόψυξη σε σχέση με αυτά που μονιμοποιήθηκαν στις 4 ώρες.

Συμπέρασμα: Η μελέτη αυτή αναλύει για πρώτη φορά τη δομή των κυτταρικών οργανιδίων ανθρώπινων υαλοποιημένων εμβρύων 4, 10 και 24 ώρες μετά την απόψυξή τους. Η πλειοψηφία των κυττάρων και στα 3 χρονικά διαστήματα παρουσιάζει φυσιολογική δομή οργανιδίων όμως η αυξανόμενη συγκέντρωση λιποφουσκίνων και αυτοφαγικών κυττάρων υποδηλώνει πιθανούς μηχανισμούς αυτοπροστασίας και επιδιόρθωσης, τους οποίους διαθέτουν τα ανθρώπινα έμβρυα και επιστρατεύουν όσο περνάει η ώρα μετά την απόψυξή τους, προκειμένου να καταπολεμήσουν τις βλάβες που έχουν επέλθει μετά απο κρυστραυματισμό.

ΥΠΟΒΟΗΘΟΥΜΕΝΗ ΕΚΚΟΛΑΨΗ (ASSISTED HATCHING - ΑΗΑ) ΠΡΙΝ ΤΗ ΜΕΤΑΦΟΡΑ ΚΡΥΟΣΥΝΤΗΡΗΜΕΝΩΝ ΒΛΑΣΤΟΚΥΣΤΕΩΝ: Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΣΤΟ ΚΛΙΝΙΚΟ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑ.

Καραγιάννη Μ., Παπαδοπούλου Μ.Ι., Ωραιοπούλου Χ., Χριστοφορίδης Ν., Παπαθεοδώρου Α., Χατζηπαρασίδου Α.

Επιστημονικό ερώτημα: Μπορεί η υποβοηθούμενη εκκόλαψη (ΑΗΑ) πριν τη μεταφορά κρυοσυντηρημένων βλαστοκύστεων να αυξήσει το ποσοστό εγκυμοσύνης;

Περίληπτική απάντηση: Η υποβοηθούμενη εκκόλαψη (ΑΗΑ) πριν τη μεταφορά κρυοσυντηρημένων βλαστοκύστεων μολονότι δείχνει μια τάση να αυξάνει τα ποσοστά εγκυμοσύνης, η διαφορά δεν είναι στατιστικά σημαντική.

Τι είναι ήδη γνωστό : Είναι γνωστό ότι η υαλοποίηση μπορεί να αλλάξει τις βιοχημικές ιδιότητες της διαφανούς ζώνης και πιθανώς να προκαλέσει αποτυχία εκκόλαψης και τελικά αποτυχία εμφύτευσης. Ένας προτεινόμενος τρόπος για να ξεπεραστεί αυτό το μειονέκτημα είναι η εφαρμογή της υποβοηθούμενης εκκόλαψης με τη χρήση λέιζερ. Κατά τη διάρκεια της υποβοηθούμενης εκκόλαψης, πραγματοποιούνται πολλαπλά χτυπήματα με το λέιζερ στον ενδιάμεσο χώρο ανάμεσα στο έμβρυο και τη ζώνη του δημιουργώντας ένα άνοιγμα στη διαφανή ζώνη του εμβρύου που διευκολύνει τη διαδικασία εκκόλαψης της βλαστοκύστης. Ωστόσο, η αποτελεσματικότητα αυτής της μεθόδου όσον αφορά τα αποτελέσματα της εγκυμοσύνης παραμένει αμφιλεγόμενη. Ορισμένες μελέτες αναφέρουν μια σημαντικά θετική επίδραση στα ποσοστά εγκυμοσύνης χρησιμοποιώντας την υποβοηθούμενη εκκόλαψη με τη βοήθεια λέιζερ, ενώ άλλες δεν αναφέρουν σημαντική διαφορά.

Σχεδιασμός μελέτης, μέγεθος και διάρκεια: Η παρούσα τυχαιοποιημένη προοπτική μελέτη περιλαμβάνει 2439 εμβρυομεταφορές με κρυοσυντηρημένα έμβρυα και έλαβαν χώρα στη Μ.Ι.Υ.Α. Embryolab, στην Θεσσαλονίκη κατά το διάστημα Ιανουάριος 2020 έως Οκτώβριος 2020. Οι ασθενείς κατανεμήθηκαν τυχαιοποιημένα είτε στην ομάδα μελέτης είτε στην ομάδα ελέγχου.

Συμμετέχοντες/ υλικά και μέθοδοι: Οι ασθενείς χωρίστηκαν σε δύο ομάδες : Η ομάδα μελέτης (ΑΗΑ group, n=1799) στα περιστατικά της οποίας εφαρμόστηκε υποβοηθούμενη εκκόλαψη την ημέρα της εμβρυομεταφοράς (3^{ης} ή 5^{ης} μέρας) στη ζώνη των εμβρύων μετά την απόψυξη, και η ομάδα ελέγχου (control group, NO ΑΗΑ group, n=640) όπου δεν εφαρμόστηκε υποβοηθούμενη εκκόλαψη στα έμβρυα. Οι δύο ομάδες χωρίστηκαν περαιτέρω σε 3 υποομάδες ανάλογα με την ηλικία των γυναικών (≤ 35 , 36-40, ≥ 41) και σε 2 υποομάδες ανάλογα με τη μέρα της εμβρυομεταφοράς.

Αποτελέσματα: Το ποσοστό εγκυμοσύνης σε όλα τα περιστατικά για την ομάδα ΑΗΑ ήταν 60,03% ενώ για την ομάδα NO ΑΗΑ ήταν 58,28% ($p=0,4385$). Στην ηλικιακή υποομάδα ≤ 35 ετών, το ποσοστό εγκυμοσύνης ήταν 70,23% και 66,49% στις δύο ομάδες αντίστοιχα ($p=0,3363$). Στην υποομάδα 36-40 ετών, τα ποσοστά ήταν 58,24% και 60,09% αντίστοιχα ($p=0,6418$). Και τέλος, στην υποομάδα ≥ 41 ετών, τα ποσοστά εγκυμοσύνης ήταν 54,26% και 49,79% αντίστοιχα ($p=0,2331$).

Στην κατηγορία όπου τα έμβρυα βρισκόταν στο στάδιο κυτταρικής διαίρεσης το συνολικό ποσοστό εγκυμοσύνης για την ομάδα ΑΗΑ ήταν 27,46 και για την ομάδα NO ΑΗΑ ήταν 35,42% ($p=0,2957$). Στην υποομάδα των ≤ 35 ετών, τα ποσοστά εγκυμοσύνης ήταν 44,44% και 58,33% αντίστοιχα ($p=0,4231$). Στην υποομάδα 36-40 ετών, τα ποσοστά ήταν 33,33% και 42,86% αντίστοιχα ($p=0,5236$). Και τέλος, στην υποομάδα ≥ 41 ετών, τα ποσοστά εγκυμοσύνης ήταν 18,42% και 18,18% αντίστοιχα ($p=0,9796$).

Στην κατηγορία όπου τα έμβρυα βρισκόταν στο στάδιο της βλαστοκύστης, το συνολικό ποσοστό εγκυμοσύνης για την ομάδα ΑΗΑ ήταν 62,82% και για την ομάδα NO ΑΗΑ ήταν 60,14% ($p=0,2486$). Στην υποομάδα των ≤ 35 ετών, τα ποσοστά εγκυμοσύνης ήταν 71,66% και 67,03% αντίστοιχα ($p=0,2430$). Στην υποομάδα 36-40 ετών, τα ποσοστά ήταν 60,16% και 61,31% αντίστοιχα ($p=0,7786$). Και τέλος, στην

υποομάδα ≥ 41 ετών, τα ποσοστά εγκυμοσύνης ήταν 58,37% και 53,08% αντίστοιχα ($p=0,1763$).

Περιορισμοί: Τα ποσοστά των κλινικών εγκυμοσυνών και των γεννήσεων δεν ήταν διαθέσιμα ώστε να εξαχθεί ένα ασφαλέστερο συμπέρασμα σχετικά με την αποτελεσματικότητα της μεθόδου. Τα περιστατικά που συμμετείχαν στην μελέτη ήταν τόσο από ομόλογους όσο και ετερόλογους κύκλους, και ένας κατάλληλος διαχωρισμός ως προς το είδος του περιστατικού θα ήταν η βέλτιστη προσέγγιση.

Εφαρμογές αποτελεσμάτων: Η υποβοηθούμενη εκκόλαψη (ΑΗΑ) πριν τη μεταφορά κρυοσυντηρημένων βλαστοκύστεων δεν βελτιώνει τα ποσοστά εγκυμοσύνης ανεξαρτήτως ηλικιακής ομάδας της γυναίκας και σταδίου ανάπτυξης κατά την εμβρυομεταφορά. Παρά την τάση βελτίωσης των ποσοστών εγκυμοσύνης, η διαφορά δεν είναι στατιστικά σημαντική. Είναι απαραίτητο να υπάρξουν μελέτες μεγάλης κλίμακας, καλά σχεδιασμένες και κατάλληλα υποομαδοποιημένες, προκειμένου να διερευνηθεί εάν αυτή η τάση μπορεί να γίνει στατιστικά σημαντική.

Ο ΡΟΛΟΣ ΤΩΝ ΦΥΣΙΚΩΝ ΦΟΝΙΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΤΟΥ ΕΝΔΟΜΗΤΡΙΟΥ ΣΤΗΝ ΠΡΟΚΛΗΣΗ ΕΠΑΝΑΛΑΜΒΑΝΟΜΕΝΩΝ ΑΠΟΒΟΛΩΝ ΚΑΙ ΑΠΟΤΥΧΙΩΝ ΕΜΦΥΤΕΥΣΗΣ: ΑΠΟ ΤΗΝ ΠΑΘΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΣΤΙΣ ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΕΣ ΕΠΙΛΟΓΕΣ

Γεωργία Κοκκίνη¹, Κωνσταντίνος Σφακιανούδης², Άννα Ραπάνη¹, Σωκράτης Γρηγοριάδης¹, Αγνή Πάντου^{1,2}, Ευάγγελος Μαζιώτης¹, Χρυσάνθη Τσιρλιγκάνη¹, Σταμάτης Μπόλαρης³, Κωνσταντίνος Νικολέττος⁴, Μαργαρίτα Χρονοπούλου², Κωνσταντίνος Πάντος², Μάρα Σιμοπούλου¹

¹Εργαστήριο Φυσιολογίας, Ιατρική Σχολή, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα, Ελλάδα

²Μονάδα Αναπαραγωγικής Ιατρικής, Ιδιωτική Κλινική "Γένεσις Αθηνών, Αθήνα, Ελλάδα

³Μονάδα Υποβοηθούμενης Αναπαραγωγής, Γενικό Μαιευτήριο Περιφερειακό Νοσοκομείο «Ελενα Βενιζέλου», Αθήνα, Ελλάδα

⁴Μονάδα Υποβοηθούμενης Αναπαραγωγής «Εμβρυοκοσμογένεση», Αλεξανδρούπολη, Ελλάδα

Εισαγωγή: Τα φυσικά φονικά κύτταρα της μήτρας (uNK) αποτελούν έναν μοναδικό υποπληθυσμό λευκοκυττάρων της μήτρας και έχουν βασικό ρυθμιστικό ρόλο στην επίτευξη εμφύτευσης και εγκυμοσύνης, καθώς εμπλέκονται σε πληθώρα κρίσιμων φυσιολογικών λειτουργιών. Ωστόσο, η αύξηση του πληθυσμού τους κατά την περι-εμφυτευτική περίοδο έχει συσχετιστεί με τα φαινόμενα των επαναλαμβανόμενων αποτυχιών εμφύτευσης (RIF) και των αλλεπάλληλων αποβολών (RM). Σκοπός της μελέτης ήταν η ανασκόπηση και η κριτική ανάλυση των μοριακών μηχανισμών που συνδέουν τα uNK με τους παθοφυσιολογικούς μηχανισμούς πρόκλησης RIF και RM, δίνοντας έμφαση στην ανάδειξη νέων στοχευμένων θεραπευτικών προσεγγίσεων με απώτερο στόχο την εξατομικευμένη διαχείριση και την αποφυγή της υπερβολικής χρήσης της IVF σε ασθενείς με RIF και RM. **Μέθοδοι:** Πραγματοποιήθηκε εμπειριστατωμένη ανασκόπηση της βιβλιογραφίας στις βάσεις δεδομένων PubMed/Medline, Embase και Cochrane Central έως τον Αύγουστο του 2021. Χρησιμοποιήθηκε συνδυασμός όρων και λέξεων-κλειδιών για την βιβλιογραφική αναζήτηση και εντάχθηκαν μόνο πρωτότυπες μελέτες με αντικείμενο έρευνας τον άνθρωπο. **Αποτελέσματα:** Τα δεδομένα της ανασκόπησης καταδεικνύουν αντικρουόμενα συμπεράσματα μεταξύ των μελετών αναφορικά με τον ρόλο των uNK στην πρόκληση RIF και RM. Ωστόσο, φαίνεται πως η μελέτη της λειτουργικότητας των κυττάρων αυτών είναι μεγαλύτερης βαρύτητας σε σχέση με τη μελέτη του πληθυσμού τους σε απόλυτους αριθμούς. Κυτταροτοξικές κλάσεις uNK κυττάρων φαίνεται πως βρίσκονται στην βάση των παθοφυσιολογικών μηχανισμών πρόκλησης RIF και RM. Για τον λόγο αυτό, η χορήγηση ανοσορρυθμιστικών θεραπευτικών σχημάτων, όπως είναι τα γλυκοκορτικοειδή, τα intralipids και η ενδοφλέβια χορήγηση ανοσοσφαιρίνης, πρέπει να γίνεται μετά από ενδελεχή και εξατομικευμένη ανάλυση τόσο του πληθυσμού, όσο και της λειτουργικότητας των uNKs. **Συμπεράσματα:** Η απορρύθμιση τόσο της δράσης, όσο και του πληθυσμού των uNK κυττάρων μπορεί να προκαλέσει διέγερση των παθοφυσιολογικών μηχανισμών πρόκλησης RIF και RM. Ωστόσο, απαιτούνται πρόσθετες μελέτες τόσο για την ανάδειξη του ρόλου των uNKs ως βιοδείκτες πρόκλησης RIF και RM, όσο και για την ανάδειξη νέων στοχευμένων ανοσορρυθμιστικών θεραπευτικών προσεγγίσεων.

Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΕΠΑΝΑΚΡΥΟΣΥΝΤΗΡΗΣΗΣ ΤΩΝ ΕΜΒΡΥΩΝ ΣΤΟ ΚΛΙΝΙΚΟ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑ

Χ.Ωραιοπούλου, Μ.Καραγιάννη, Ο.Τούμπα, Δ.Ιωαννίδου, Μ.Ι.Παπαδοπούλου, Ν.Χριστοφορίδης, Α.Παπαθεοδώρου, Α.Χατζηπαρασίδου.

Επιστημονικό ερώτημα: Επηρεάζεται η εμφυτευτική ικανότητα των εμβρύων που έχουν επανακρυσυντηρηθεί με υαλοποίηση σε σχέση με τα έμβρυα που έχουν κρυσυντηρηθεί με υαλοποίηση μία φορά;

Περιληπτική απάντηση: Τα ποσοστά θετικής β-χοριακής, κλινικών κυήσεων και γεννήσεων των επανακρυσυντηρημένων εμβρύων είναι σημαντικά χαμηλότερα σε σχέση με τα αντίστοιχα ποσοστά των εμβρύων που έχουν κρυσυντηρηθεί μία φορά.

Τι είναι ήδη γνωστό: Από τότε που η υαλοποίηση συμπεριλήφθηκε στις βασικές τεχνικές της υποβοηθούμενης αναπαραγωγής, πολλές κλινικές έχουν υιοθετήσει μία στρατηγική κρυσυντήρησης του συνόλου των αξιοποιήσιμων εμβρύων, όπου συχνά κρυσυντηρούνται περισσότερα του ενός εμβρύου ανά φορέα υαλοποίησης. Πλέον, οι επίσημες οδηγίες συστήνουν την εμβρυομεταφορά ενός εμβρύου (SET), γεγονός το οποίο συχνά οδηγεί σε πλεόνασμα καλής ποιότητας εμβρύων μετά από απόψυξη, τα οποία επανακρυσυντηρούνται ώστε να αποφευχθεί η απόρριψή τους. Κατά συνέπεια, έχει πραγματοποιηθεί ένας σημαντικός αριθμός εμβρυομεταφορών επανακρυσυντηρημένων εμβρύων παγκοσμίως, οδηγώντας σε υγιείς γεννήσεις. Το ερώτημα που παραμένει είναι εάν τα έμβρυα μετά από διπλή υαλοποίηση έχουν την ίδια εμφυτευτική δυναμική με τα έμβρυα που έχουν υποβληθεί σε υαλοποίηση μία μόνο φορά. Εως τώρα, έχει δημοσιευθεί περιορισμένος αριθμός μελετών, οι οποίες συμπεριλαμβάνουν διαφορετικές τεχνικές κρυσυντήρησης (υαλοποίηση, αργή κρυσυντήρηση) και καταλήγουν σε σχετικά αντιφατικά αποτελέσματα.

Σχεδιασμός μελέτης, μέγεθος και διάρκεια: Η παρούσα αναδρομική μελέτη πραγματοποιήθηκε στη ΜΙΥΑ Embryolab και συμπεριλήφθηκαν περιστατικά από τον Ιανουάριο 2015 έως τον Δεκέμβριο 2020. Οι κύκλοι με κρυσυντηρημένα ωάρια και οι κύκλοι PGT εξαιρέθηκαν της μελέτης. Ο μέσος όρος ηλικίας των γυναικών ήταν 32.8 ετών (± 5.9) στην ομάδα μελέτης και 33 ετών (± 5.9) στην ομάδα ελέγχου. Δεν υπήρχε διαφοροποίηση στη μέθοδο κρυσυντήρησης, αφού όλα τα έμβρυα κρυσυντηρήθηκαν σύμφωνα με το ίδιο πρωτόκολλο υαλοποίησης.

Συμμετέχοντες, υλικά και μέθοδοι: Για τη μελέτη της επίδρασης της διπλής υαλοποίησης στα ποσοστά θετικής β-χοριακής, κλινικών κυήσεων, γεννήσεων και αποβολών αναλύθηκαν 233 εμβρυομεταφορές 334 επανακρυσυντηρημένων εμβρύων (309 βλαστοκύστεων και 25 εμβρύων στο στάδιο της κυτταρικής διαίρεσης) και 172 εμβρυομεταφορές 260 εμβρύων που κρυσυντηρήθηκαν μία φορά (246 βλαστοκύστεων και 14 εμβρύων στο στάδιο της κυτταρικής διαίρεσης). Επιπρόσθετα, μελετήθηκε η δυναμική των εμβρύων που καλλιεργήθηκαν για τουλάχιστον 24 ώρες πριν την επανακρυσυντήρησή τους, σε σχέση με τα έμβρυα που αποψύχθηκαν και επανακρυσυντηρήθηκαν την ίδια μέρα, για τις παραμέτρους που αναφέρθηκαν παραπάνω.

Αποτελέσματα: Όλα τα έμβρυα επιβίωσαν κατά 100% μετά την απόψυξη, τόσο στην ομάδα μελέτης όσο και στην ομάδα ελέγχου. Οι διαφορές στα ποσοστά θεωρήθηκαν στατιστικά σημαντικές όταν το p-value ήταν μικρότερο του 0.05. Το ποσοστό θετικής β-χοριακής ήταν σημαντικά χαμηλότερο στην ομάδα επανακρυσυντηρημένων εμβρύων (45.1% στην ομάδα μελέτης, 57% στην ομάδα ελέγχου, $p=0.02$), καθώς και το ποσοστό κλινικών κυήσεων (28.3% στην ομάδα μελέτης, 42.4% στην ομάδα ελέγχου, $p=0.003$), αλλά και το ποσοστό γεννήσεων (26.6% στην ομάδα μελέτης, 40.4% στην ομάδα ελέγχου, $p=0.004$). Το ποσοστό αποβολών δε διέφερε σημαντικά στις δύο ομάδες (16.7% στην ομάδα μελέτης, 14.5% στην ομάδα ελέγχου, $p=0.549$).

Επιπλέον, το ποσοστό β-χοριακής ήταν σημαντικά υψηλότερο στις εμβρυομεταφορές εμβρύων που καλλιεργήθηκαν για τουλάχιστον 24 ώρες πριν την επανακρυσυντήρησή τους (ομάδα Α: 48.9%), σε σχέση με τα έμβρυα που επανακρυσυντηρήθηκαν την ίδια μέρα με την απόψυξή τους (ομάδα Β: 30.6%, $p=0.02$). Επιπρόσθετα, παρόλο που τα ποσοστά κλινικών κυήσεων (31% στην ομάδα Α, 18.4% στην ομάδα Β, $p=.08$),

γεννήσεων (29.4% στην ομάδα A, 16.3% στην ομάδα B, $p=.06$) και αποβολών (17.9% στην ομάδα A, 12.2% στην ομάδα B, $p=.33$) δεν είχαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στις δύο αυτές ομάδες, διαπιστώθηκε μια τάση για υψηλότερα ποσοστά στην ομάδα A σε σχέση με την ομάδα B.

Περιορισμοί: Η παρούσα είναι μία αναδρομική μελέτη που περιλαμβάνει εμβρυομεταφορά έμβρυων διαφορετικών σταδίων (δεύτερης έως πέμπτης ημέρας). Παρόλ'αυτά, τα περιστατικά της ομάδας μελέτης αντιστοιχήθηκαν με αυτά της ομάδας ελέγχου, ως προς την ποιότητα και το στάδιο ανάπτυξης των εμβρύων που μεταφέρθηκαν. Ο αριθμός προηγούμενων κύκλων ανά ζευγάρι δεν έχει συυπολογιστεί στη μελέτη.

Εφαρμογές αποτελεσμάτων: Παρόλο που τα έμβρυα μετά από διπλή επανακρυσυντήρηση οδηγούν σε επιτυχείς εγκυμοσύνες, τα αποτελέσματα της μελέτης δείχνουν ότι υπάρχει αρνητική επίδραση την επανακρυσυντήρησης στην εμφυτευτική ικανότητα των εμβρύων. Για να αποφευχθούν τα χαμηλότερα ποσοστά κύησης, συστήνεται η καλλιέργεια των εμβρύων μέχρι το στάδιο της βλαστοκύστης και η κρυσυντήρηση ενός εμβρύου ανά φορέα υαλοποίησης.

PRELIMINARY STUDY FOR ESTABLISHING A RAPID VITRIFICATION PROTOCOL OF HUMAN EMBRYOS

Χρήστος Λαμπριανίδης

Η υαλοποίηση αποτελεί ένα σημαντικό εργαλείο στην καθημερινότητα του εμβρυολογικού εργαστηρίου για την κρυοσυντήρηση των ανθρώπινων εμβρύων. Εξαιτίας του πολύ υψηλού ποσοστού επιβίωσης, μεγάλο μέρος των εμβρυομεταφορών σε παγκόσμια κλίμακα γίνεται με υαλοποιημένα έμβρυα. Ωστόσο, δεν είναι σπάνιο το φαινόμενο να παρατηρηθεί μια πτώση στην ποιότητα μετά την κρυοσυντήρηση ακόμα και σε έμβρυα με υψηλό δυναμικό. Η τεχνητή συρρίκνωση (artificial collapse - AC) των ανθρώπινων διατεταγμένων βλαστοκύστεων αν και ελαχιστοποιεί το υγρό στο εσωτερικό του βλαστοκόκκου γεγονός που με την σειρά του αυξάνει την πιθανότητα επιτυχούς κρυοσυντήρησης, δεν έχει φανεί ότι βοηθάει σημαντικά στην διατήρηση της ποιότητας των εμβρύων μετά την κρυοσυντήρηση.

Βασιζόμενοι στην λογική της τεχνικής AC, ελέγξαμε κατά πόσο μια μικρότερης διάρκειας έκθεση σε κρυοπροστατευτικά (cryoprotectants – CPOs) με ή χωρίς αύξηση της θερμοκρασίας (θερμοκρασία δωματίου ή 37°C), θα ήταν αρκετή για να βελτιώσουμε την εικόνα των εμβρύων μετά την κρυοσυντήρηση. Για να μπορούσαμε να αξιολογήσουμε τα δεδομένα, δημιουργήσαμε έναν μηχανισμό μετατροπής της ποιοτικής αξιολόγησης των ανθρώπινων βλαστοκύστεων, κατά Garner, σε ποσοτική βαθμολόγηση (με εύρος 0-1). Για την παρούσα μελέτη χρησιμοποιήθηκαν έμβρυα τα οποία κατά τον έλεγχο γονιμοποίησης χαρακτηρίστηκαν ως 1PN ή 3PN.

Σε καμία ομάδα εμβρύων δεν παρατηρήθηκε μείωση του ποσοστού επιβίωσης μετά την απόψυξη. Επίσης, δεν φάνηκε στατιστικά σημαντική διαφορά της ομάδας ελέγχου (συμβατικό πρωτόκολλο) με την ομάδα εμβρύων που εφαρμόστηκε το πρωτόκολλο μικρής διάρκειας έκθεσης σε CPOs, στους 37°C. Αντίθετα, στα έμβρυα που εφαρμόστηκε το πρωτόκολλο μικρής διάρκειας έκθεσης σε CPOs, σε θερμοκρασία δωματίου (RT), φάνηκε να επηρεάζεται η τελική βαθμολογία τους σε σχέση και με τις άλλες 2 ομάδες.

Σύμφωνα με την παρούσα μελέτη, μικρότερη έκθεση σε CPOs, με ταυτόχρονη χρήση της AC, μπορεί να οδηγήσει σε εξίσου καλά αποτελέσματα με το συμβατικό πρωτόκολλο. Επόμενο βήμα είναι η δοκιμή του νέου πρωτοκόλλου σε έμβρυα που προορίζονται για κρυοσυντήρηση με σκοπό τον έλεγχο της δυναμικής τους για την επίτευξη εγκυμοσύνης.

A PATERNAL INFLUENCE ON THE EMBRYONIC CAPACITY FOR IMPLANTATION OBSERVED IN A SURROGATE MOTHERHOOD PROGRAM

D. Daphnis¹, I. Giakoumakis¹, M. Livaniou¹, A. Kandaraki¹, I. Giannakis³, N. Sofikitis²

1. *Mediterranean Fertility Institute, Chania, Crete, Greece*

2. *Department of Urology, Ioannina University School of Medicine, Ioannina, Greece*

3. *Department of Urology, Marburg University School of Medicine, Marburg, Germany*

Background: We evaluated the influence of semen quality on the outcome of a surrogate motherhood program (SMP).

Methods: Forty two couples (group A) with normal semen parameters of semen analysis participated in our SMP. Another group of 58 couples (group B) with an abnormal value in at least two semen parameters was also included in this SMP-study. One surrogate woman underwent transfer of two embryos generated from each couple of groups A and B. Thus 42 surrogate women received embryos from the group A and 58 surrogate women received embryos from the group B. In addition, 31 couples (group C) with normal semen parameters participated in our SMP asking additionally for donor oocytes. Another group of 26 couples (group D) with an abnormal value in at least two parameters of semen analysis was also included in this SMP-study asking additionally for donor oocytes.

Results: The % fertilized oocytes, the % cleaved oocytes, and the % blastocyst stage embryos were significantly lower ($P < 0.05$; Chi square test) in group B than in group A and in group D than in group C. The proportion of [the pregnant surrogate women] to [the total number of the surrogate women who underwent embryo transfer] was significantly lower in group B (18/28) than in group A (24/42) ($P < 0.05$; Chi square test) and in group D (8/26) than in group C (14/31).

Conclusions: Couples requesting to participate in an SMP with at least two abnormal semen parameters have worse prognosis to achieve pregnancy suggesting that paternal factors affect detrimentally the outcome of SMP. Paternal factors affecting the last events of the fertilization process (such as oocyte activating factor, reproducing element of the centrosome, among others) and early embryonic development or embryonic capacity for implantation may be the connective links between decreased semen quality and less optimal outcome in an SMP.



ΠΕΡΙΛΗΨΕΙΣ ΕΛΕΥΘΕΡΩΝ ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΕΩΝ

ΣΑΒΒΑΤΟ 18 ΙΟΥΝΙΟΥ 2022

EA11

ΙΣΘΜΟΚΗΛΗ ΚΑΙ ΥΠΟΓΟΝΙΜΟΤΗΤΑ: ΠΑΘΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΟΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΚΑΙ ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΕΣ ΕΠΙΛΟΓΕΣ

Ιωάννα Κούτρα¹, Εμμανουήλ Ξυδιάς¹, Κωνσταντίνα Παπαγεωργίου¹, Αθηνά Δρακάκη¹, Εύη Αγαθοκλέους¹, Απόστολος Ζιώγας¹, Ηλίας Τσάκος²

¹: Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Σχολές Επιστημών Υγείας, Τμήμα Ιατρικής

²: MD, FRCOG, Embryoclinic, Θεσσαλονίκη

Εισαγωγή

Η ισθμοκήλη είναι ένα έλλειμμα με μορφή ανηχοϊκού τριγώνου στον υπέρηχο, μεγέθους 1-2mm στη θέση προηγούμενης καισαρικής τομής. Προκαλεί συμπτώματα όπως χρόνιο πυελικό άλγος, μηνομητρορραγία, δυσπαρεύνια και δευτεροπαθή υπογονιμότητα, με την τελευταία να αυξάνει σε σημασία όσο αυξάνεται το ποσοστό των καισαρικών τομών, άρα και ο επιπολασμός της ισθμοκήλης (19,4-88%). Στόχος της ανασκόπησης είναι ο προσδιορισμός του μηχανισμού της δευτεροπαθούς υπογονιμότητας μετά από την παρουσία ισθμοκήλης και οι προτεινόμενες θεραπευτικές προσεγγίσεις.

Μέθοδος

Πραγματοποιήθηκε αναζήτηση σχετικής βιβλιογραφίας στις διαδικτυακές βάσεις δεδομένων MEDLINE/PubMed, Scopus και Web of Science και τα αποτελέσματα αξιολογήθηκαν και εντάχθηκαν στην ανασκόπηση.

Αποτελέσματα

Υπάρχουν δύο θεωρίες για τον μηχανισμό της υπογονιμότητας: η παγίδευση του αίματος της περιόδου ή αιμορραγία από την ουλή, με τη δεύτερη να είναι επικρατέστερη. Το αίμα μπορεί να είναι εμβρυοτοξικό, να μειώνει την ενδομήτρια δεκτικότητα στην εμφύτευση μέσω της διαταραχής του καταρράκτη των κυτοκινών, να εμποδίζει μηχανικά την εμφύτευση και να περιορίζει την κινητικότητα του σπέρματος. Η θεραπεία είναι χειρουργική, με την υστεροσκοπική, κοιλική, λαπαροσκοπική και λαπαροτομική προσέγγιση. Η επιλογή εξαρτάται από τις διαστάσεις της ισθμοκήλης και τη μελλοντική επιθυμία εγκυμοσύνης, με το υπολειπόμενο πάχος μυομητρίου (RMT) πάνω από την κορυφή της ισθμοκήλης να είναι σημαντικός παράγοντας. Η λαπαροσκοπική προτείνεται για συμπτωματικές ασθενείς που επιθυμούν να συλλάβουν και έχουν RMT < 3 mm. Η υστεροσκοπική και κοιλική προσέγγιση είναι προτιμώμενες ως ελάχιστα επεμβατικές, με την υστεροσκοπική ισθμοπλαστική να είναι μια ασφαλής και αποτελεσματική τεχνική σε ασθενείς που παρουσιάζουν RMT > 3 mm.

Συμπεράσματα

Η ισθμοκήλη είναι ένα σημαντικό αίτιο υπογονιμότητας, του οποίου ο επιπολασμός αυξάνεται. Η αντιμετώπιση γίνεται χειρουργικά και σε γυναίκες που επιθυμούν εγκυμοσύνη επικρατεί η λαπαροσκοπική προσέγγιση, ωστόσο η υστεροσκόπηση και άλλες ελάχιστα επεμβατικές προσεγγίσεις μελετώνται ως εναλλακτικές, με περισσότερες έρευνες να χρειάζονται για να αναδείξουν τη βέλτιστη μέθοδο.

ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΤΩΝ ΕΠΙΠΕΔΩΝ ΤΗΣ ΛΙΠΟΦΟΥΣΚΙΝΗΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΚΥΤΤΑΡΙΚΗΣ ΓΗΡΑΝΣΗΣ ΣΤΟ ΩΘΥΛΑΚΙΚΟ ΥΓΡΟ ΠΤΩΧΩΝ ΑΠΑΝΤΗΤΡΙΩΝ: ΠΡΟΟΠΤΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΗΣ

Ευάγγελος Μαζιώτης¹, Κωνσταντίνος Σφακιανούδης², Δημήτρης Βερούτης³, Σωκράτης Γρηγοριάδης¹, Πολίνα Γιαννέλου², Μαργαρίτα Χρονοπούλου², Κωνσταντίνος Πάντος², Κωνσταντίνος Ευαγγέλου³, Βασίλης Γοργούλης³, Μάρα Σιμοπούλου¹

¹Εργαστήριο Φυσιολογίας, Ιατρική Σχολή Αθηνών, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα, Ελλάδα

²Μονάδα Αναπαραγωγικής Ιατρικής, Ιδιωτική Κλινική "Γένεσις Αθηνών, Αθήνα, Ελλάδα

³Ομάδα Μοριακής Καρκινογένεσης, Εργαστήριο Ιστολογίας-Εμβρυολογίας, Ιατρική Σχολή Αθηνών, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα, Ελλάδα

Εισαγωγή: Τα επίπεδα λιποφουσκίνης έχουν συσχετιστεί με χαμηλό δυναμικό των ωαρίων και με υπογονιμότητα εξαρτώμενη της ηλικίας. Ωστόσο, δεν έχουν δημοσιευθεί δεδομένα που να διερευνούν τα επίπεδα λιποφουσκίνης στο ωοθυλακικό υγρό (FF) ως βιοδείκτη για την ακριβή πρόβλεψη της ωοθηκικής εφεδρείας και ανταπόκρισης. Στόχος της παρούσας προοπτικής μελέτης παρατήρησης είναι η διερεύνηση της χρήσης των επίπεδων λιποφουσκίνης FF ως ευαίσθητου βιοδείκτη για την πρόβλεψη της πτωχής ωοθηκικής απόκρισης (POR). **Μέθοδος:** Στη μελέτη εντάχθηκαν 32 συμμετέχοντες που υποβλήθηκαν σε κύκλο IVF, 16 εκ των οποίων στην κατηγορία των POR σύμφωνα με τα κριτήρια της Μπολόνια και 16 στην κατηγορία των φυσιολογικών απαντητριών. Μετά την ανάκτηση των ωαρίων, τα λιπιδικά και πρωτεϊνικά τμήματα της λιποφουσκίνης απομονώθηκαν από τα δείγματα FF, σημάνθηκαν με GL13 και με anti-biotin HRP αντίσωμα και η συγκέντρωση της λιποφουσκίνης προσδιορίστηκε με τη μέθοδο της χημειοφωταύγειας. **Αποτελέσματα:** Οι POR παρουσίασαν στατιστικώς σημαντικά επταπλάσια επίπεδα λιποφουσκίνης σε σύγκριση με τις φυσιολογικές απαντήτριες ($869,21 \pm 501,87$ vs $146,6 \pm 107,64$ RLU). Τα επίπεδα λιποφουσκίνης συσχετίστηκαν αρνητικά με το AFC ($P < 0,0001$), τα επίπεδα της AMH ($P = 0,0002$), τον αριθμό των ωοκυττάρων που ανακτήθηκαν ($P = 0,001$), τον αριθμό των ωοκυττάρων μετάφασης II (MII) ($P = 0,0008$), τον αριθμό φυσιολογικά γονιμοποιημένων ζυγών ($P = 0,003$), τον αριθμό εμβρύων σταδίου αυλάκωσης ($P = 0,005$) και σταδίου βλαστοκύστης ($P = 0,02$). Τα επίπεδα της λιποφουσκίνης, με όριο διαγνωστικής ακριβείας 294, μπορούν να προβλέψουν την ωοθηκική ανταπόκριση με AUC 0,96. Η ευαισθησία υπολογίστηκε 0,875, η ειδικότητα 0,938 και η ακρίβεια 0,906. Η θετική και αρνητική προγνωστική αξία υπολογίστηκαν 88,24% και 93,33%, αντίστοιχα. **Συμπεράσματα:** Για πρώτη φορά στη βιβλιογραφία καταδεικνύεται ότι τα επίπεδα της λιποφουσκίνης, που καθορίζονται μέσω της μεθόδου GL13, μπορεί να αποτελέσουν έναν σημαντικό βιοδείκτη για την πρόβλεψη της ωοθηκικής ανταπόκρισης. Επιπρόσθετα, η λιποφουσκίνη θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί ως βιοδείκτης για την αξιολόγηση της ωοθηκικής γήρανσης, του ωοθηκικού αποθέματος και της δυναμικής των ωαρίων.

ΜΕΛΕΤΗ ΤΟΥ ΡΟΛΟΥ ΤΩΝ MICRORNAS ΣΤΟ ΣΠΕΡΜΑΤΙΚΟ ΥΓΡΟ ΣΤΗΝ ΕΞΑΤΟΜΙΚΕΥΜΕΝΗ ΔΙΑΓΝΩΣΗ ΠΕΡΙΣΤΑΤΙΚΩΝ ΙΔΙΟΠΑΘΟΥΣ ΜΗ ΑΠΟΦΡΑΚΤΙΚΗΣ ΑΖΩΟΣΠΕΡΜΙΑΣ: ΣΥΣΤΗΜΑΤΙΚΗ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ ΚΑΙ IN SILICO ΜΕΤΑ-ΑΝΑΛΥΣΗ

Αμαλία Κοτσιφάκη¹, Κωνσταντίνος Σφακιανούδης², Σωκράτης Γρηγοριάδης¹, Πηνελόπη Τομαρά¹, Δήμητρα Καραγκούνη³, Ευάγγελος Μαζιώτης¹, Γεωργία Κόκκαλη², Αμέλια Πάντου⁴, Άρτεμις Χατζηγεωργίου³, Ashok Agarwal⁵, Μάρα Σιμοπούλου¹, Κωνσταντίνος Πάντος²

¹Εργαστήριο Φυσιολογίας, Ιατρική Σχολή Αθηνών, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα, Ελλάδα

²Μονάδα Αναπαραγωγικής Ιατρικής, Ιδιωτική Κλινική "Γένεσις Αθηνών, Αθήνα, Ελλάδα

³Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Εργαστήριο DIANA, Τμήμα Επιστήμης Υπολογιστών και Βιοϊατρικής Πληροφορικής, Λαμία, Ελλάδα

⁴Genesis Genoma Lab, Τμήμα Γενετικής Διάγνωσης, Κλινική Γενετική & Έρευνα, Αθήνα, Ελλάδα

⁵Cleveland Clinic, Αμερικανικό Κέντρο Αναπαραγωγικής Ιατρικής, Cleveland, USA

Εισαγωγή: Παρά τη πρόοδο στον τομέα της Αναπαραγωγικής Ιατρικής, τα ακριβή αίτια υπογονιμότητας παραμένουν αδιευκρίνιστα στο 30-40% των υπογόνιμων αντρών. Συνεπώς, είναι αναγκαία η ανάπτυξη νέων ευαίσθητων διαγνωστικών εργαλείων, ειδικά όσον αφορά τις πιο σοβαρές εκφάνσεις ανδρικής υπογονιμότητας, όπως είναι η ιδιοπαθής μη αποφρακτική αζωοσπερμία (NOA). Στόχος της παρούσας μελέτης ήταν η ποιοτική και ποσοτική διερεύνηση των επιπέδων έκφρασης microRNAs στο σπερματικό πλάσμα και σε δείγματα ορχικού ιστού ασθενών με ιδιοπαθή NOA. **Μέθοδος:** Πραγματοποιήθηκε συστηματική ανασκόπηση της βιβλιογραφίας στις βάσεις δεδομένων PubMed/Medline, Embase και Cochrane Database. Ο πληθυσμός που μελετήθηκε αποτελούνταν από ασθενείς με ιδιοπαθή NOA, ενώ η ομάδα ελέγχου από γόνιμους ή με φυσιολογικό σπερμοδιάγραμμα άνδρες. Τα πρωτογενή δεδομένα αναλύθηκαν προκειμένου να διευκρινιστούν ποιοτικές και ποσοτικές διαφορές μεταξύ των επιπέδων έκφρασης microRNAs σε δείγματα σπερματικού πλάσματος και ορχικού ιστού. Έπειτα, πραγματοποιήθηκε in-silico ανάλυση για την ανίχνευση κοινών διαταραγμένων μονοπατιών έκφρασης, χρησιμοποιώντας συνδυασμό βιοπληροφορικών εργαλείων, συγκεκριμένα το DIANA-TarBase, το microT-CDS, το GTEX και τη βάση δεδομένων KEGG. Η στατιστική ανάλυση πραγματοποιήθηκε χρησιμοποιώντας το R-package-limma. **Αποτελέσματα:** Πέντε μελέτες συμπεριλήφθηκαν στην ανασκόπηση, συμπεριλαμβανομένων 382 περιπτώσεων NOA και 412 μαρτύρων. Δύο μελέτες συν-αξιολόγησαν τα επίπεδα έκφρασης των microRNAs σε δείγματα σπερματικού πλάσματος και ορχικού ιστού, μια μελέτη αξιολόγησε μόνο δείγματα ορχικού ιστού και δύο μόνο σπερματικού πλάσματος. Συνολικά, καταγράφηκαν 14 microRNAs με διαφορετική έκφραση μεταξύ NOA ασθενών και μαρτύρων. Η in-silico ανάλυση ανέδειξε 34 στατιστικά σημαντικά μη ρυθμισμένα γονιδιακά μονοπάτια, τόσο στο σπερματικό πλάσμα όσο και στον ορχικό ιστό, υποδεικνύοντας ότι οι ασθενείς με ιδιοπαθή NOA μοιράζονται αρκετούς μοριακούς μηχανισμούς. **Συμπεράσματα:** Αρκετές κοινές αλλαγές εντοπίστηκαν στα επίπεδα έκφρασης των microRNAs και στα πρότυπα γονιδιακής έκφρασης μεταξύ του σπερματικού πλάσματος και ορχικού ιστού σε ασθενείς με NOA. Τα ευρήματα αυτά καταδεικνύουν πως τα microRNAs στο σπερματικό πλάσμα θα μπορούσαν να αναδειχθούν ως μη επεμβατικοί βιοδείκτες για την καλύτερη κατανόηση και διάγνωση της ιδιοπαθούς NOA.

ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΤΩΝ ΕΠΙΠΕΔΩΝ ΤΗΣ PROKINETICIN-1 ΣΤΟ ΩΘΟΥΛΑΚΙΚΟ ΥΓΡΟ ΠΤΩΧΩΝ ΑΠΑΝΤΗΤΡΙΩΝ: ΠΡΟΟΠΤΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΗΣ

Πηνελόπη Τομαρά¹, Κωνσταντίνος Πάντος², Σωκράτης Γρηγοριάδης¹, Ευάγγελος Μαζιώτης¹, Τερψιθέα Βαξεβάνογλου², Ειρήνη Αγγελή², Παναγιώτης Τζόνης², Αγνή Πάντου², Γεώργιος Μαστοράκος³, Μάρα Σιμποπούλου¹, Κωνσταντίνος Σφακιανούδης²

¹Εργαστήριο Φυσιολογίας, Ιατρική Σχολή, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα, Ελλάδα

²Μονάδα Αναπαραγωγικής Ιατρικής, Ιδιωτική Κλινική "Γένεσις Αθηνών, Αθήνα, Ελλάδα

³Τμήμα Ενδοκρινολογίας, Σακχαρώδους Διαβήτη και Μεταβολισμού, Β' Μαιευτική-Γυναικολογική Κλινική, Αρεταίειο Νοσοκομείο, Ιατρική Σχολή, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα, Ελλάδα

Εισαγωγή: Η Prokineticin-1 (PROK1) είναι μια πρωτεΐνη με αγγειογενετική δράση σε διάφορους ιστούς. Πρόσφατες μελέτες έχουν συσχετίσει την PROK1 με την ωθητική λειτουργία και το αναπτυξιακό δυναμικό των ωαρίων. Ωστόσο, δεν υπάρχουν δεδομένα που να συσχετίζουν την PROK1 με το φαινόμενο της πτωχής ωθητικής ανταπόκρισης (POR). Σκοπός της παρούσας προοπτικής μελέτης είναι η διερεύνηση των πιθανών συσχετίσεων μεταξύ των επιπέδων της PROK1 στο ωθυλακικό υγρό POR ασθενών με την έκβαση της διέγερσης, καθώς και με τα επίπεδα πρωτεϊνών που σχετίζονται με την ωθητική λειτουργία, όπως είναι ο VEGF, ο BMP-15 και ο PEDF. **Μέθοδος:** Στην μελέτη εντάχθηκαν 32 φυσιολογικές απαντήτριες και 32 POR ασθενείς σύμφωνα με τα κριτήρια της Bologna. Τα επίπεδα των πρωτεϊνών προσδιορίστηκαν με την μέθοδο ELISA. **Αποτελέσματα:** Στις POR ασθενείς καταγράφηκαν στατιστικά σημαντικά υψηλότερα επίπεδα PROK1 (P-value<0.0001) και VEGF (P-value=0.006) και χαμηλότερα επίπεδα BMP-15 (P-value=0.001). Ο PEDF δεν παρουσίασε διαφορές στις δυο ομάδες. Επιπλέον, η POR ομάδα παρουσίασε μειωμένο λόγο PEDF/VEGF (P-value=0.02), υποδεικνύοντας μειωμένη αντιοξειδωτική ικανότητα. Τα επίπεδα της PROK1 συσχετίστηκαν αρνητικά με τα επίπεδα της AMH (P-value=0.04), τον αριθμό των ληφθέντων ωαρίων (P-value=0.001) και τον αριθμό των MII ωαρίων (P-value=0.005). Η PROK1 με cut-off τιμή 2854.25 pg/ml ήταν ικανή να προβλέψει την ωθητική απάντηση. Η ευαισθησία και η ειδικότητα του μοντέλου υπολογίστηκε 0.55 και 0.88, αντίστοιχα, ενώ η ακρίβεια προσδιορίστηκε στο 0.71. Η θετική και αρνητική προβλεπτική αξία ήταν 82% και 66.67%, αντίστοιχα. **Συμπεράσματα:** Τα επίπεδα της PROK1 στο ωθυλακικό υγρό μπορούν να αποτελέσουν έναν υψηλής ειδικότητας βιοδείκτη για την πρόβλεψη της έκβασης της διέγερσης, ενώ σχετίζονται ισχυρά με τους δείκτες που καταδεικνύουν POR. Επιπρόσθετα, παρουσιάζουν κοινά πρότυπα έκφρασης με άλλους αγγειογενετικούς παράγοντες, όπου από κοινού καταδεικνύουν μειωμένη αγγειογένεση στις ωθήκες των POR ασθενών, η οποία, πιθανόν μέσω αρνητικής παλίνδρομης ρύθμισης, οδηγεί σε αύξηση της συγκέντρωσης αγγειογενετικών παραγόντων στο ωθυλακικό υγρό.

THE IMPACT OF COVID-19 PANDEMIC ON FEMALE PATIENTS SEEKING OR UNDERGOING FERTILITY TREATMENT IN A SINGLE IVF CLINIC IN GREECE; RESULTS OF AN INTERNATIONAL, CROSS-SECTIONAL STUDY.

Pappa K.¹, Xydias E², Ziogas A. ², Elias Tsakos¹

¹ Embryoclinic IVF Unit, Thessaloniki Greece

² University of Thessaly, School of Health Sciences, Department of Medicine

What is known already: The World Health Organization (WHO) declared the pandemic in early March 2020. A few days later, the European Society for Human Reproduction and Embryology (ESHRE) recommended the suspension of the majority of fertility treatment cycles. The temporary delay in treatment, in combination with the imposed lockdowns, created psychological distress and anxiety among infertile patients, as reported in recently published data. As data became available, it was evident that patients' management needed to be adjusted continuously. Thus more data is required from different time points of the pandemic crisis, with the ultimate goal being the improvement of fertility treatments, in Greece.

Materials and methods: This is a cross-sectional, anonymous, online survey. The survey included 17 questions in total. Four questions concerned the access to fertility treatment, six appraisal items concerned the psychological impact of COVID-19 on the participants, four questions were about their future plans and three questions were of communicative interest. Demographic information was also collected. The questionnaire was prepared in four languages (Greek, English, Italian, Serbian) and distributed via email to

409 people. Among them, 106 people gave their consent and completed the questionnaire. Eligibility criteria included female patients of the unit, 18 years old or older, who have undergone or intended to proceed with fertility treatment during the COVID-19 era. Analysis was carried out using IBM Corp. Released 2020. IBM SPSS Statistics for Macintosh, Version 27.0. Armonk, NY: IBM Corp. Descriptive statistics were used for quantitative data evaluation.

Main results: The response rate was 26% and the mean age 41.22 years. The 37.7% of patients postponed their fertility treatment for up to 6 months, mostly due to access restrictions (49.2%). Cross border reproductive care patients faced limited traveling options due to COVID-19 lockdowns. However, most patients are willing to have a child (67%) and have no fear to undergo IVF during COVID-19 pandemic (54.7%). Also, most of them were aware of the protective measures taken by IVF centres (80.2%) and this was a determinant factor (71.7%) for their decision to restart their fertility treatment.

Conclusion: The COVID-19 pandemic lockdowns restricted many patients seeking or undergoing fertility treatment and mostly cross-border patients. Nevertheless, the adherence to precautionary measures taken by IVF centres encourage patients to resume treatment. To that end, continued communication between centres and patients facilitate the safe continuation of IVF protocols.

ΕΜΒΡΥΟΜΕΤΑΦΟΡΑ ΜΕ ΦΡΕΣΚΑ Η ΥΑΛΟΠΟΙΗΜΕΝΑ ΕΜΒΡΥΑ ΣΕ ΚΥΚΛΟΥΣ ΔΩΡΕΑΣ ΩΑΡΙΩΝ;

Μ. Σακελλαρίου, Γ. Πανάγου, Δ. Μαυρογιάννη, Αικ. Αθανασίου, Αντ. Αθανασίου, Δ. Αθανασίου, Η.Ν. Πρίφτη, Θ. Τσεβά, Κ. Δευτεραίου, Ν. Σοιχάν, Μ. Ψαρρά, Β. Αθανασίου

ΚΕΝΤΡΟ ΕΞΩΣΩΜΑΤΙΚΗΣ ΑΘΗΝΩΝ

Τα τελευταία έτη, στα περισσότερα εργαστήρια εξωσωματικής γονιμοποίησης σε κύκλους δωρεάς ωαρίων προτιμάται η εμβρυομεταφορά υαλοποιημένων βλαστοκύστεων. Η χρήση αυτής της μεθόδου είναι απαραίτητη σε κάποιες περιπτώσεις, όπως για παράδειγμα στα περιστατικά που πρόκειται να γίνει προεμφυτευτική διάγνωση, ή ακόμα και στις περιπτώσεις που έχουμε πλεονάζοντα αριθμό εμβρύων, τα οποία κρυσσυντηρούνται με σκοπό τη μελλοντική τους χρήση, αλλά και την αποφυγή πολύδυμων κήσεων. Εκτός από τις προαναφερόμενες περιπτώσεις, επιλέγεται επίσης καθώς δεν απαιτεί τον συγχρονισμό του εμμηνορρυσιακού κύκλου μεταξύ λήπτριας και δότριας, αλλά και για ψυχολογικούς παράγοντες που θέλουν την ύπαρξη ικανοποιητικού αριθμού εμβρύων καλής ποιότητας.

Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι η συγκριτική μελέτη του ποσοστού κλινικής εγκυμοσύνης (με τον όρο αυτό νοούνται έμβρυα με καρδιακή λειτουργία) μεταξύ ληπτριών στις οποίες έχει γίνει εμβρυομεταφορά δύο βλαστοκύστεων κρυσσυντηρημένων με τη μέθοδο της υαλοποίησης έναντι των ληπτριών στις οποίες έγινε εμβρυομεταφορά δύο φρέσκων βλαστοκύστεων.

Από το 2016 έως και τον Μάρτιο του 2022 προσήλθαν στη μονάδα μας 377 γυναίκες, οι οποίες υποβλήθηκαν σε εξωσωματική γονιμοποίηση σε κύκλους δωρεάς ωαρίων και στις οποίες ακολούθησε εμβρυομεταφορά 2 βλαστοκύστεων. Οι 355 εξ αυτών προχώρησαν σε εμβρυομεταφορά έπειτα από κρυσσυντήρηση των εμβρύων στο στάδιο της βλαστοκύστης με τη μέθοδο της υαλοποίησης, ενώ οι υπόλοιπες 22 προχώρησαν σε εμβρυομεταφορά φρέσκων βλαστοκύστεων.

Στο σύνολο των γυναικών στις οποίες έγινε εμβρυομεταφορά με υαλοποιημένα έμβρυα το 69,8% είχε κλινική εγκυμοσύνη. Αντίστοιχα, στις λήπτριες όπου έγινε εμβρυομεταφορά φρέσκων βλαστοκύστεων, το 68% παρουσίασε κλινική εγκυμοσύνη.

Συμπερασματικά, παρόλο που στην οργάνωση του εργαστηρίου εξυπηρετεί η χρήση υαλοποιημένων εμβρύων, παρατηρούμε πως το ποσοστό επίτευξης κλινικής εγκυμοσύνης δεν διαφέρει σημαντικά μεταξύ των δύο ομάδων. Συνεπώς, η επιλογή της μίας έναντι της άλλης μεθόδου θα πρέπει να γίνεται εκλεκτικά και εξατομικευμένα.

ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΑΥΤΟΜΑΤΗΣ ΚΑΙ ΜΗ ΑΥΤΟΜΑΤΗΣ ΜΕΤΡΗΣΗΣ ΩΘΟΥΛΑΚΙΩΝ ΚΑΤΑ ΤΗ ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΤΩΝ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΩΝ ΤΗΣ ΥΠΟΒΟΗΘΟΥΜΕΝΗΣ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗΣ

Βασίλειος Στριάγκας¹, Μαρία Κουτίνη², Βασίλειος Εμμανουήλ², Βασιλική Ταγάρα¹, Εμμανουήλ Ξυδιάς³, Άννα Ντανικά⁴, Απόστολος Ζιώγας³, Ηλίας Τσάκος⁵

¹: Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Σχολές Επιστημών Υγείας, Τμήμα Ιατρικής

²: Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης, Σχολές Επιστημών Υγείας, Τμήμα Ιατρικής

³: Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Σχολές Επιστημών Υγείας, Τμήμα Ιατρικής

⁴: Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, Σχολές Επιστημών Υγείας, Τμήμα Ιατρικής

⁵: MD, FRCOG, Embryoclinic, Θεσσαλονίκη

Εισαγωγή

Κατά τη διάρκεια ενός κύκλου υποβοηθούμενης αναπαραγωγής είναι απαραίτητη η υπερηχογραφική παρακολούθηση τόσο για την μέτρηση του αριθμού όσο και του μεγέθους των ωοθυλακίων, δεδομένου ότι η πιθανότητα ένα ωοθυλάκιο να περιέχει ένα ώριμο ωοκύτταρο εξαρτάται από το μέγεθος του. Παραδοσιακά, η μέτρηση αυτή πραγματοποιούνταν χειροκίνητα με δισδιάστατη (2D) υπερηχογραφική εξέταση ωστόσο νέες μέθοδοι όπως η αυτόματη καταμέτρηση ωοθυλακίων με χρήση υπερήχων προσφέρουν μια ενδιαφέρουσα εναλλακτική. Η τελευταία δύναται να διενεργηθεί με την χρήση του SonoAVC, ενός λογισμικού που εντοπίζει τα ωοθυλάκια αυτόματα σε ένα δεσμευμένο όγκο ωοθηκών και παρέχει εκτιμήσεις των διαστάσεων τους.

Μέθοδοι

Πραγματοποιήθηκαν αναζητήσεις σε αξιόπιστες βάσεις δεδομένων όπως το MEDLINE/PubMed για άρθρα σχετικά με την έρευνά μας.

Αποτελέσματα

Οι διαθέσιμες έρευνες αναδεικνύουν καλή συμφωνία των δύο μεθόδων στην μέτρηση του MFD (Mean Follicular Diameter), στην dV (volume based diameter) καθώς και στην διάμετρο του προπορευόμενου ωοθυλακίου (leading follicle). Βέβαια, παρατηρείται λιγότερος απαιτούμενος χρόνος μετρήσεων και μεγαλύτερος μέσος αριθμός ωοθυλακίων στην αυτόματη καταμέτρηση (ικανότητα αναγνώρισης ακόμη και μικρής διαμέτρου ωοθυλάκια (<10mm)), ενώ η μέση διάμετρος του προπορευόμενου ωοθυλακίου είναι παρόμοια και με τις δύο μεθόδους. Τέλος, η αυτοματοποιημένη μέθοδος δίνει την δυνατότητα χρωματικής κωδικοποίησης των ωοθυλακίων που διασφαλίζει ότι δεν θα μετρηθούν πάνω από μια φορά και πως θα αναγνωρισθούν όλα.

Συμπεράσματα

Συμπερασματικά, και οι δύο τεχνικές εμφανίζουν αρκετά κοινά σημεία, με την αυτοματοποιημένη μέθοδο μέτρησης ωοθυλακίων να είναι πολλά υποσχόμενη καθώς φαίνεται ότι μπορεί να αντικαταστήσει ή να χρησιμοποιηθεί σαν εναλλακτική της χειροκίνητης. Ωστόσο, παρά την αξιοπιστία, την εξοικονόμηση χρόνου, την δυνατότητα επανάληψης, καταγραφής δεδομένων και αντικειμενικής αξιολόγησης τους, η μέθοδος αυτή απαιτεί μετεπεξεργασία για την διόρθωση πιθανών τεχνικών σφαλμάτων, ένα μειονέκτημα που όμως επιδέχεται αντιμετώπισης αφού υπάρχουν ακόμη πολλά περιθώρια ερευνών και βελτίωσης της τεχνολογίας.

ΜΕΛΕΤΗ ΤΟΥ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟΥ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑ ΣΕ ΥΠΟΓΟΝΙΜΑ ΖΕΥΓΑΡΙΑ

Η.Ν Πρίφτη, Μ. Ψαρρά, Κ. Δευτεραίου, Θ. Τσεβά, Ν. Σοϊχάν, Γ. Πανάγου, Αικ. Αθανασίου, Αντ. Αθανασίου, Δ. Αθανασίου, Μ. Σακελλαρίου
ΚΕΝΤΡΟ ΕΞΩΣΩΜΑΤΙΚΗΣ ΑΘΗΝΩΝ

Σύμφωνα με μελέτες, ο αντρικός παράγοντας ευθύνεται για το 45-50% των υπογόνιμων ζευγαριών. Αν και τα αίτια της ανδρικής υπογονιμότητας είναι πολυπαραγοντικά, η σημασία του οξειδωτικού παράγοντα στην παθοφυσιολογία της, φαίνεται να είναι μεγάλη.

Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι η μελέτη του οξειδωτικού παράγοντα, η συσχέτισή του με την ηλικία καθώς και η πιθανή επίπτωση των αυξημένων επιπέδων ROS στην συγκέντρωση, στην κινητικότητα και στη μορφολογία των σπερματοζωαρίων καθώς και στον κατακερματισμό του DNA (DFI).

Στη μελέτη συμπεριλήφθηκαν 638 άνδρες (Δεκέμβριος 2019 έως και Απρίλιο 2022) που προσήλθαν στην Μονάδα μας στα πλαίσια ανδρολογικού ελέγχου και πραγματοποίησαν τις εξετάσεις: σπερμοδιάγραμμα, μέτρηση οξειδωτικού στρες και ποσοστού κατακερματισμού του DNA.

Το σύνολο των ανδρών χωρίστηκε σε τέσσερις ηλικιακές ομάδες: Α) κάτω των 30 ετών, Β) 30-34, Γ) 35-39, Δ) 40-44 και Ε) 45 ετών και άνω. Συνολικά, 303 άνδρες (47%) είχαν φυσιολογικό οξειδωτικό δυναμικό ($sORP \leq 1.38 \text{ mV} / 10^6 \text{ σπερμ/ρίων/ml}$), ποσοστό που μειωνόταν σταδιακά με την αύξηση της ηλικίας: 67%, 52%, 49%, 46%, και 43% στις αντίστοιχες ηλικιακές ομάδες.

Το 93% (N=282) των ανδρών με φυσιολογικό οξειδωτικό δυναμικό (ΟΑΔ) είχαν φυσιολογική συγκέντρωση (Φ.Τ. $\geq 16 \text{ mil/ml}$, WHO 2021), ενώ αντίθετα το 59% (N=183) των ανδρών με παθολογικό ΟΑΔ είχαν συγκέντρωση $<16 \text{ mil/ml}$. Επιπλέον, το 73% (N=220) των ανδρών με φυσιολογικό ΟΑΔ είχαν προωθητική κινητικότητα $\geq 30\%$ (Φ.Τ. $\geq 30\%$, WHO 2021) με το αντίστοιχο ποσοστό των παθολογικών να είναι στο 48% (N=149). Σχετικά με τη μορφολογία, βρέθηκαν αυξημένα τα ποσοστά των παθολογικών μορφών ($<4\%$, με Φ.Τ. $\geq 4\%$ κατά Kruger) και στις δύο ομάδες ανδρών (83% (N=252) και 90% (N=279) αντίστοιχα). Τέλος, το 42% (N=86) των παθολογικών δειγμάτων είχαν υψηλό βαθμό κατακερματισμού, σε αντίθεση με το αντίστοιχο 10% (N=26) των φυσιολογικών.

Συνεπώς, επιβεβαιώνεται ότι ο οξειδωτικός παράγοντας επηρεάζεται από την ηλικία και επιδρά αρνητικά κυρίως στην συγκέντρωση και την κινητικότητα. Τέλος, για τον κατακερματισμό του DNA, είναι ξεκάθαρη η επίπτωση του οξειδωτικού αφού δρα προκαλώντας θραύση στη διπλή έλικα του DNA, γεγονός που έχει δυσμενείς επιπτώσεις στις παραμέτρους του σπέρματος.

Η ΕΜΠΕΙΡΙΑ ΤΗΣ ΧΡΗΣΗΣ ΤΗΣ ΤΕΧΝΗΤΗΣ ΝΟΗΜΟΣΥΝΗΣ ΣΤΟ ΕΜΒΡΥΟΛΟΓΙΚΟ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ

Θ. Τσεβά, Η.Ν. Πρίφτη, Κ. Δευτεραίου, Ν.Σοιχάν, Αικ. Αθανασίου, Αντ. Αθανασίου, Αδ. Αθανασίου, Γ. Πανάγου, Μ. Ψαρρά, Μ. Σακελλαρίου.

ΚΕΝΤΡΟ ΕΞΩΣΩΜΑΤΙΚΗΣ ΑΘΗΝΩΝ

Η τεχνητή νοημοσύνη (Α.Ι.), δημιουργεί νέα εποχή στο εμβρυολογικό εργαστήριο και δίνει τη δυνατότητα της αυτόματης ανάλυσης της εξέλιξης των εμβρύων. Σε συνδυασμό με τους επωαστές συνεχούς παρακολούθησης (Embryoscope+), αναλύει τα δεδομένα της ανάπτυξης των εμβρύων και αποδίδει σε αυτά μια βαθμολογία από 0 ως 9.9 (iDAScore). Η ανάλυση αυτή γίνεται αυτόματα και φαίνεται να προσδιορίζει την πιθανότητα εμφύτευσης και εγκυμοσύνης.

Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι να συσχετίσουμε με βάση τη βαθμολογία του iDAScore τα ποσοστά θετικής έκβασης, κλινικής εγκυμοσύνης και εμφύτευσης.

Μελετήθηκαν 53 περιστατικά που έδωσαν τουλάχιστον 2 βλαστοκύστες και η εμβρυομεταφορά έγινε με δυο έμβρυα. Εστίασαμε σε κρυσυντηρημένους κύκλους γυναικών με δικά τους ωάρια με τις παρακάτω ηλικιακές ομάδες. Ομάδα 1: ≤35, ομάδα 2: 36-40 και ομάδα 3: >40 ετών. Επίσης μελετήσαμε κρυσυντηρημένους κύκλους δωρεάς ωαρίων όπου όλες οι λήπτριες ήταν >40 ετών.

Η βαθμολογία του iDAScore χωρίστηκε σε τρεις ομάδες: ομάδα Α: 3,4-7,0, ομάδα Β: 7,1-9,9 και ομάδα Γ: 3,7-9,4 όπου μεταφέρθηκαν 2 βλαστοκύστες, μια με iDAScore≤5 και μια με iDAScore>5.

Στις γυναίκες με δικά τους ωάρια, σε ηλικίες ≤35, όταν η βαθμολογία ήταν 7,1-9,9 (ομάδα Β) είχαμε 87.5% θετική έκβαση, 100% κλινική εγκυμοσύνη και 100% ποσοστό εμφύτευσης. Σε ηλικίες 36-40 ετών, όταν η βαθμολογία ήταν 7,1-9,9 (ομάδα Β) είχαμε 75% θετική έκβαση, 50% κλινική εγκυμοσύνη και 100% ποσοστό εμφύτευσης. Όταν μεταφέραμε 2 βλαστοκύστες με διαφορά μεταξύ 3,7-9,4 (ομάδα Γ) είχαμε 60% θετική έκβαση, 66 % κλινική εγκυμοσύνη και 100% ποσοστό εμφύτευσης. Σε ηλικίες >40, όταν η βαθμολογία ήταν 7,1-9,9 (ομάδα Β) είχαμε 71.4% θετική έκβαση, 40% κλινική εγκυμοσύνη και 100% ποσοστό εμφύτευσης. Όταν μεταφέραμε 2 βλαστοκύστες με διαφορά μεταξύ 3,7-9,4 (ομάδα Γ) είχαμε 50% θετική έκβαση, 66 % κλινική εγκυμοσύνη και 100% ποσοστό εμφύτευσης. Στους κύκλους δωρεάς ωαρίων όταν η βαθμολογία ήταν 7,1-9,9 (ομάδα Β) είχαμε 92.3% θετική έκβαση, 83.3% κλινική εγκυμοσύνη και 100% ποσοστό εμφύτευσης. Ενώ όταν μεταφέραμε 2 βλαστοκύστες με διαφορά μεταξύ 3,7-9,4 (ομάδα Γ) είχαμε 50% θετική έκβαση, 100% κλινική εγκυμοσύνη και 100% ποσοστό εμφύτευσης.

Συμπέρασμα, σε βλαστοκύστες με υψηλή βαθμολογία (ομάδα Β: 7,1-9,9) σε όλες τις ηλικίες τα ποσοστά θετικής έκβασης είναι υψηλά όπως και κλινικής εγκυμοσύνης και εμφύτευσης. Άρα το iDAScore μας βοηθάει στην επιλογή των εμβρύων με υψηλό δυναμικό εμφύτευσης και κύησης.