



ΕΛΛΗΝΙΚΗ
ΕΤΑΙΡΕΙΑ
ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΙΚΗΣ
ΙΑΤΡΙΚΗΣ

ΤΕΤΡΑΜΗΝΙΑΙΟ ΠΕΡΙΟΔΙΚΟ
ΙΑΝΟΥΑΡΙΟΣ -
ΔΕΚΕΜΒΡΙΟΣ 2017
ISSN 2529-1475

02

ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗ

ΝΕΑ: ΕΡΕΥΝΑ / ΑΝΟΣΟΛΟΓΙΑ / ΕΝΔΟΚΡΙΝΟΛΟΓΙΑ / ΓΕΝΕΤΙΚΗ



Σωρανός ο Εφέσιος

Καθηγητής Ευγένιος Κουμαντάκης
Πρόεδρος της Ελληνικής Εταιρείας Αναπαραγωγικής Ιατρικής

Ενας από τους σπουδαιότερους ιατρούς της ρωμαϊκής εποχής ήταν ο Σωρανός ο Εφέσιος, οπαδός της μεθοδικής σχολής, που σπούδασε στην Έφεσο και στην Αλεξάνδρεια και άσκησε το επάγγελμα στη Ρώμη την εποχή του Τραϊανού (αρχές 2ου μ.Χ. αιώνα). Θεωρείται ο πιο σημαντικός εκπρόσωπος της προγαληνικής περιόδου της αρχαίας ιατρικής και συνέταξε τόσα πολλά ιατρικά και άλλα συγγράμματα ώστε να αποτελούν ολόκληρη βιβλιογραφία, τα οποία διασώθηκαν αποσπασματικά μέχρι σήμερα, τόσο στο πρωτότυπο όσο και σε λατινική μετάφραση.

Στα κείμενα αυτά διαπραγματεύεται γυναικολογικές ασθένειες, ιατρικά θέματα της αναπαραγωγής, χρόνιες παθήσεις, θέματα της υγιεινής και της χειρουργικής και φαρμακολογίας. Τα φάρμακα που επέλεγε ήταν απλά, εύκολα παρασκευάσιμα και αποτελεσματικά, ενώ απέρριπτε και σχολίαζε αρνητικά αυτά που δε σέβονταν τον ασθενή και την κατάσταση του. Αντίθετα με τους άλλους μεθοδικούς έδινε ιδιαίτερη σημασία στην ανατομία.

Άλλα έργα του που διασώθηκαν είναι μια βιογραφία του Ιπποκράτη, ένα ετυμολογικό λεξιλόγιο των μερών του σώματος, καθώς και φιλοσοφικά δοκίμια περί της ψυχής, το οποίο χρησιμοποίησε και ο Τερτυλλιανός στο έργο του *De anima*. Δυο έργα του γνώρισαν δόξα κι εκτίμηση που απέμεινε μνημειώδης: το «Περί επιδέσμων» και το «Περί γυναικείων νοσημάτων». Είναι φανερό ότι ο Σωρανός «ασχολήθηκε με τρόπο επιστημονικό με τη γυναικολογία.» Δίκαια λοιπόν τον χαρακτήρισαν «ως τον μεγαλύτερο γυναικολόγο της αρχαιότητας».

Στο έργο του «Περί γυναικείων παθών», ένα κλασικό σύγγραμμα και εγχειρίδιο Γυναικολογίας - Μαιευτικής και Βρεφοκομίας μέχρι το 1.400 μ.Χ., σε 4 βιβλία, το οποίο παρέμεινε θεμελιώδες και ασχολείται με την περιγραφή του γεννητικού συστήματος, τις συζυγικές σχέσεις, μελετά τη γενετήσια ζωή στις διά-

φορες φάσεις της, προχωράει στη μελέτη της εγκυμοσύνης και των θέσεων του εμβρύου στη μήτρα και καταλήγει σε πρακτικές υποδείξεις για την αντιμετώπιση του ομαλού και ανώμαλου τοκετού. Ασχολείται επίσης με την καθυστέρηση της υστεροτοκίας και τη λοχεία και τελειώνει το σύγγραμμά του με 23 κεφάλαια, αφιερωμένα στην περιποίηση του νεογέννητου τους πρώτους μήνες της ζωής του.

Ακόμη ο Σωρανός για την αμηνόρροια παρατηρεί στο *Γυναικείων Α 23* ότι συμβαίνει σε εκείνες τις κοπέλες που έχουν αρρενωπό σώμα και σε περιπτώσεις εξαντλητικής εργασίας. Επί πλέον ασχολείται με την ετυμολογική ερμηνεία των ιατρικών όρων: «μήτρα» - «μήτηρ εστί πάντων των εξ αυτής γεννωμένων εμβρύων, ή ότι τας εκούσας αυτήν μητέρας ποιεί ή ότι μέτρον έχει χρόνου προς κάθαρσιν και απότεξιν». «σύλληψις» - «ωνόμασαι από του συγκράτησις είναι του σπέρματος» και για τον όρο «κύησις» σημειώνει ότι «καλείται παρά το κεύθις είναι, ταυτ' έστιν απόκρυψις, το γαρ κεύθειν εστί το κρύπτειν και το εν τη μήτρα δε συνειλημμένον κρύπτεται», (*Γυναικείων Α 43*).

Στο έργο του «Περί της του βρέφους επιμελείας», καταγράφει μερικούς κανόνες-οδηγίες για τις μαίες. Οι παρατηρήσεις αυτές του Σωρανού για την επιβίωση του νεογέννητου συγκρίθηκαν με εκείνες της αναισθησιολόγου Virginia Argar και εκ των πέντε κριτηρίων, εκτός εκείνου των καρδιακών κτύπων, τα τέσσερα βρίσκονται χονδρικά στις οδηγίες του Σωρανού, ο οποίος όμως προσθέτει τις δυσμορφίες του νεογνού, την ωριμότητά του νεογέννητου και την κατάσταση της εγκυμοσύνης. Στο κεφάλαιο «Πώς σπαργανωτέον» περιγράφει διεξοδικά το σπαργάνωμα του βρέφους, ενώ στο «Περί τροφής» διατυπώνει την άποψη ότι το νεογέννητο δε θα πρέπει να θηλάζει αμέσως μετά τον τοκετό, αλλά μετά τη δεύτερη ημέρα, και για τη θηλάζουσα προτείνει ένα συγκεκριμένο πρόγραμμα διατροφής με ποικιλία, απο-

φεύγοντας τον οίνο και να έχει βαθύ ύπνο.

Φανατικός μελετητής της ιστορίας της ιατρικής, ο Σωρανός γράφει και το βιβλίο «Βίοι ιατρών», που απέκτησε μεγάλη φήμη. Το βιβλίο για τη ζωή του Ιπποκράτη, που έφτασε μέχρι των ημερών μας, ενώ φέρεται υπό το όνομά του, δεν αποτελεί παρά περιληψη ενός μέρους από προηγούμενο βιβλίο του Σωρανού. Ο γιατρός Σωρανός ο Εφέσιος στο έργο του «Ιπποκράτους γένος και βίος» συνοψίζει τα πιο σημαντικά γεγονότα της ζωής και της δράσης του πατέρα της ιατρικής.

Ο Σωρανός δεν περιορίστηκε στην ιδεολογία της σχολής των Μεθοδικών. Πνεύμα ανήσυχο, με ευρεία παιδεία και εκπαίδευση, διαφοροποιήθηκε τόσο στη

θεωρία που διατύπωσε όσο και στις θεραπείες που πρότεινε. Το έργο του παράλληλα αντανάκλα τις έντονες διαφωνίες και συζητήσεις σχετικά με τις ιατρικές μεθόδους της Ρωμαϊκής εποχής. Οι κάθε είδους θεραπευτές κάλυπταν ευρύ φάσμα κοινωνικών θέσεων και μορφωτικού επιπέδου. Οι προσφερόμενες θεραπείες ποίκιλλαν, από τη χειρουργική και τα φάρμακα έως τη θαυματουργία και την ιατρομαντεία.

Μέσα σε αυτό το κλίμα, ο Σωρανός προβάλλει ως ολοκληρωμένη προσωπικότητα επιστήμονα, με διεισδυτικό και ανήσυχο πνεύμα. Απέκτησε τη φήμη, τόσο στον αρχαίο κόσμο όσο και μεταγενέστερα, του κορυφαίου γυναικολόγου, μαιευτήρα και παιδίατρου.

Βιβλιογραφικές παραπομπές

1. Emile Littr, «Άπαντα του Ιπποκράτη»
2. Αριστοτέλης Π. Κούζης, Ιστορία της Ιατρικής [χωρίς εκδότη], Αθήνα, 1929, σ. 105-147.
3. «Οι Έλληνες», των εκδόσεων Ζήτρος.
4. Σωρανός, Ιπποκράτους γένος και βίος, Άπαντα, 2, Κάκτος, Αθήνα, 1996, σ. 214-221.
5. Λεξικόν Σουίδα (Σουίδα). Suidae Lexicon. Ex recognitione Imm. Bekkeri, Berolini, Typis et Impensis Georgii Reimeri A[nn]o 1854, 1, Γεωργιάδης, Αθήναι [x.x.], σ. 537-538.
6. Γ.Κ. Πουρναρόπουλος, Εισαγωγή εις τον Ιπποκράτη, Αθήναι 1967-1970
7. Ιπποκρατική Συλλογή: Όρκος. Νόμος. Περί Τέχνης. Περί αρχαίας ιατρικής. Περί ιητρού. Περί ευσημοσύνης, μετάφραση-σχόλια Ι.Α. Βάρτσος, Διαχρονικές Εκδόσεις, Αθήνα 1996, σ. 17-23, 167-193, 195-221.
8. Γεωργακόπουλος, Κ., Αρχαίοι Έλληνες ιατροί (Αθήνα 1998), σελ. 431-432.
9. Γαληνός Ι. 26 Κ. Σωρανού, Μονόβιβλος Φαρμακευτικός, Γαλ. XII 493. Για αναλυτική συζήτηση βλ. Der Neue Pauly 3, A1, στήλες 1118-1129, βλ. λ. "Soranos aus Ephesos".
10. Albert L., Les medecins grecs à Rome, Paris 1894
11. Allbut I., Greek Medicine in Rome, London 1921
12. Brock A., Greek Medicine. Extracts of medical writers from Hippocrates to Galen, London – Toronto 1929
13. Diehls H., Die Handschriften der antiken: Ärzte, II, Berlin 1906
14. Jackson R., Doctors and Diseases in the Roman Empire, London 1998
15. Phillips E.D., Greek medicine, London 1973
16. Pohlmeier H., Zahnärztliches bei Rufos, Soranos und Aretaeos, Leipzig 1922
17. Sarton G., Introduction to the History of Science, Malabar Fa 1975
18. Scheele L., De Sorano Ephesio medico etymologico, Strassburg 1884, Dissertationes philologicae argentoratenses
19. W. Smith (ed.), Dictionary of Greek and Roman Biography and Mythology I, London 1849
20. Temkin O., Soranus' Gynecology, Baltimore 1956
21. Temkin, O. – Temkin, C.L., Selected Papers of Ludwig Edelstein, Baltimore 1967
22. Barbour A., "Soranos on gynecological anatomy", XVII International Congress of Medicine, historical section, London 1914, 269-283
23. Drabkin E., "Soranos and his system of Medicine", Bull. of Hist. Med., 25, 1951, 503-518
24. "Soranos aus Ephesos", RE 3, A1, στήλες 1113-1130
25. Nutton V., "Medicine", CAH XI, 943-965
26. Ilberg I., Sorani Cynaeciorum libri IV. De signis fracturarum. De fasciis. Vita Hippocratis secundum
27. Sorarum, SMG 4, Ilberg, I., Berlin 1927



ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗ

ΝΕΑ: ΕΡΕΥΝΑ / ΑΝΟΣΟΛΟΓΙΑ / ΕΝΔΟΚΡΙΝΟΛΟΓΙΑ / ΓΕΝΕΤΙΚΗ

ΕΚΔΟΤΗΣ	ΣΥΝΤΑΞΗ	
Ελληνική Εταιρεία Αναπαραγωγικής Ιατρικής Παπανικολή 6-10, Χαλάνδρι Αθήνα, 152 32	Διευθυντής Σύνταξης: Κουμαντάκης Ευγένιος, (Αθήνα) Μ/Γ	
	Αναπληρωτής Δ/ντής Σύνταξης: Μπαθρέλλος Νικόλαος, (Αθήνα) Μ/Γ- Αναπαραγωγή	
	Υπεύθυνοι Σύνταξης	Καλπίνη-Μαύρου Αριάδνη, (Αθήνα) Γενετική
		Σφακιανούδης Κωνσταντίνος, (Αθήνα) Μ/Γ- Αναπαραγωγή
Δανιηλίδης Μιχαήλ, (Θεσσαλονίκη) Ανοσολογία - Παθολογία		

Στοιχεία Επικοινωνίας: Τηλ.: +30 210 6800525, Fax: +30 210 6800521, E-mail: info@eeai.gr, www.eeai.gr

Διοικητικό Συμβούλιο

Πρόεδρος	Ευγένιος Κουμαντάκης	Επίτιμοι Πρόεδροι	Μιχαήλ Γραμμάτης
Αντιπρόεδρος	Μιχαήλ Δανιηλίδης		Σπυρίδων Παύλου
Γεν.Γραμματέας	Κωνσταντίνος Πάντος		
Ταμίας	Δημήτριος Στάθης		
Μέλη	Γεώργιος Κρεατσάς	Αναπληρωματικά Μέλη	Γεώργιος Κουμαντάκης
	Μιχαήλ Κουτσιλιέρης		Ιωάννης Μωυσίδης
	Γεώργιος Μαρούλης		Αχιλλέας Πλουμίδης
	Εμμανουήλ Καναβάκης		
	Κωνσταντίνος Σφακιανούδης		
	Νικόλαος Μπαθρέλλος		
	Βασίλης Κελλάρης		
	Νικόλαος Νίτσος		
	Τέρψη Βαξεβάνογλου		

ΣΥΝΤΑΚΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Αλεξάνδρου Κωνσταντίνος, (Αθήνα) Πλαστική Χειρουργική	Μαρούλης Γεώργιος, (Αθήνα) Μ/Γ - Γυναικολογική Ενδοκρινολογία - Αναπαραγωγή
Ανδρίτσος Κωνσταντίνος, (Αθήνα) Ουρολογία	Μιχαλόπουλος Αριστοτέλης, (Αθήνα) Ακτινολογία
Αρμελίδου Ελίνα, (Αθήνα) Μ/Γ Εμβρυομητρική	Μπότσης Δημήτριος, (Αθήνα) Μ/Γ- Εμβρυομητρική
Αρταβάνη Μάρω, (Αθήνα) Μαιευτική	Μωυσίδης Ιωάννης, (Αθήνα) Παιδιατρική-Αλλεργιολογία
Βαξεβάνογλου Τέρψη, (Αθήνα) Εμβρυολογία	Νίτσος Νικόλαος, (Αθήνα) Βιοπαθολογία
Βάρλα-Λευθεριώτη Γιούλα, (Αθήνα) Ανοσοβιολογία	Πάντος Κωνσταντίνος, (Αθήνα) Μ/Γ - Αναπαραγωγή
Βρεττός Αναστάσιος, (Αθήνα) Μαιευτική Γυναικολογία	Πάντου Αμέλια, (Αθήνα) Βιολογία-Γενετική
Γεωργίου Ιωάννης, (Ιωάννινα) Γενετική	Παπάζογλου Γεώργιος, (Αθήνα) Χειρουργική Μαστού
Γιαννουκάκος Κούλης, (Αθήνα) Γενετική-Έρευνα	Παπακωνσταντίνου Λάζαρος, (Αθήνα) Γαστρεντερολογία
Γιαπιτζάκης Χρήστος, (Αθήνα) Βιολογία-Γενετική	Παπαλόης Απόστολος, (Αθήνα) Βιολογία-Έρευνα
Γκάγκος Σαράντης, (Αθήνα) Κυτταρογενετική-Έρευνα	Παππά Αικατερίνη, (Αθήνα) Οδοντιατρική
Γλεντής Σταύρος, (Αθήνα) Γενετική	Παρασύρης Βασίλειος, (Αθήνα) Χειρουργική
Γουρουντή Κλεάνθη, (Αθήνα) Μαιευτική	Παύλου Σπυρίδων, (Αθήνα) Ενδοκρινολογία Αναπαραγωγής
Δάϊκος Γεώργιος, (Αθήνα) Λοιμώξεις	Πλεύρης Αθανάσιος, (Αθήνα) Νομική
Δεμπεγιώτη Αναστασία, (Αθήνα) Ενδοκρινολογία Αναπαραγωγής	Προμπονά Μαρία, (Αθήνα) Μαιευτική
Ζωγράφος Γεώργιος, (Αθήνα) Χειρουργική	Σοφικίτης Νικόλαος, (Ιωάννινα) Ανδρολογία
Καλοκαιρινού Αθηνά, (Αθήνα) Νοσηλευτική	Σοφράς Φραγκίσκος, (Αθήνα) Ουρολογία
Καναβάκης Εμμανουήλ, (Αθήνα) Παιδιατρική-Γενετική	Σταυροπούλου-Γκιόκα Αικατερίνη, (Αθήνα) Αιματολογία - Ομφαλοπλακουντιακό Αίμα
Καρακίτσος Πέτρος, (Αθήνα) Κυτταρολογία	Σταύρου Δημήτριος, (Αθήνα) Μ/Γ - Αναπαραγωγή
Κελλάρης Βασίλειος, (Αθήνα) Μ/Γ - Αναπαραγωγή	Στεφανίδου Ιλόνα (Αθήνα) Μαιευτική
Κόκκαλη Γεωργία, (Αθήνα) Εμβρυολογία-Γενετική	Συριοπούλου Βασιλική, (Αθήνα) Παιδιατρική - Λοιμωξιολογία
Κολοβάκη Βασιλική, (Αθήνα) Ψυχολογία	Σύρκος Στέφανος, (Αθήνα) Μ/Γ - Ενδοσκοπική Χειρουργική
Κουμαντάκης Γεώργιος, (Αθήνα) Μ/Γ - Μαστολογία - Αναπαραγωγή	Σφακιανούδη Ευαγγελία, (Αθήνα) Νομική
Κουμπάρου Μαρία, (Αθήνα), Ψυχολογία	Τσαπάκη Έλσα, (Αθήνα) Παιδοκαρδιολογία – Εμβρυϊκή Υπερηχοκαρδιογραφία
Κρεατσάς Γεώργιος, (Αθήνα) Μ/Γ - Εφηβική Γυναικολογία	Χρονοπούλου Μαργαρίτα, (Αθήνα) Εμβρυολογία
Κριάρη Ισμήνη, (Αθήνα) Συνταγματικό Δίκαιο - Βιοηθική & Δίκαιο	Vladareanu Radu, (Βουκουρέστι) Μ/Γ- Εμβρυομητρική
Κωνσταντινίδου Αναστασία, (Αθήνα) Παθολογοανατομία	Haimon-Kochman Ronit, (Tel-Aviv) Μ/Γ-Αναπαραγωγή
Κωνσταντόπουλος Αναστάσιος, (Αθήνα) Μ/Γ - Αναπαραγωγή	Labas Peter, (Bratislava) Ενδοσκοπική Χειρουργική
Λαγκώνα Ευαγγελία, (Αθήνα) Παιδιατρική	Bernstein Joel, (Sydney) Μ/Γ- Αναπαραγωγή
Μαμουλή Μερόπη, (Αθήνα) Μαιευτική	Veronesi Paolo, (Μιλάνο), Μ/Γ – Μαστολογία
Λάζαρος Λεάνδρος, (Αθήνα) Βιολογία-Γενετική	Fiorentino Francesco, (Ρώμη) Γενετική
Λινού Αθηνά, (Αθήνα) Υγιεινή Επιδημιολογία	Jones Gayle, (Μελβούρνη) Εμβρυολογία
Λυκερίδου Αικατερίνη, (Αθήνα) Μαιευτική	



ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ
Εθνικό και Καποδιστριακό
Πανεπιστήμιο Αθηνών

elearning

ΚΕΝΤΡΟ ΣΥΝΕΧΙΖΟΜΕΝΗΣ
ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗΣ ΚΑΙ ΕΠΙΜΟΡΦΩΣΗΣ
ΚΕΚ του ΕΚΠΑ

Εξ Αποστάσεως
Συμπληρωματική Εκπαίδευση



ΣΥΣΤΗΜΑ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ
ΑΠΟ ΤΗΝ DQS ΚΑΤΑ
DIN EN ISO 9001:2008 502736 QM08



Για περισσότερες πληροφορίες μπορείτε να επικοινωνείτε με τη Γραμματεία E-Learning του Πανεπιστημίου Αθηνών στα τηλέφωνα 210.368.93.54 & 210.368.93.81 ή μέσω του site <http://elearn.elke.uoa.gr>. Πληροφορίες μπορείτε να λάβετε επίσης μέσω της Ελληνικής Εταιρείας Αναπαραγωγικής Ιατρικής στο τηλέφωνο: 210.680.05.25 και στο email: info@eeai.gr καθώς και μέσω της Κλινικής ΓΕΝΕΣΙΣ Αθηνών στο email: infokek@genesisathens.gr



ΙΔΙΩΤΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ
ΓΕΝΕΣΙΣ
ΑΘΗΝΩΝ
ΙΑΤΡΙΚΗ ΜΕΡΙΜΝΑ ΓΥΝΑΙΚΟΛΟΓΙΑ
ΚΑΙ ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ ΑΝΩΝΥΜΗ ΕΤΑΙΡΕΙΑ

ΥΠΟΥΡΓΕΙΟ ΠΑΙΔΕΙΑΣ ΚΑΙ ΘΡΗΣΚΕΥΜΑΤΩΝ



Λεωφόρος Εθνικής Αντιστάσεως 41, 142 34 Νέα Ιωνία
www.eopper.gr

Εξ' αποστάσεως εκπαίδευση ιατρών, βιολόγων, μαιών, νοσηλευτικού προσωπικού, φοιτητών στον τομέα της ιατρικής υποβοηθούμενης αναπαραγωγής. Η εταιρεία ήδη έχει υπογράψει με το Εθνικό Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών (ΕΚΠΑ) και υλοποιεί σύμβαση για πραγματοποίηση ενός τριετούς προγράμματος (Ιούνιος 2013-Ιούνιος 2016) για συμπληρωματική εξ' αποστάσεως (E-LEARNING) εκπαίδευση με πραγματοποίηση των μαθημάτων μέσω του κέντρου Συνεχιζόμενης Εκπαίδευσης και Επιμόρφωσης του ΚΕΚ του ΕΚΠΑ. Με βάση την αποκτηθείσα εμπειρία από την υλοποίηση του ανωτέρω προγράμματος, η εταιρεία προγραμματίζει την υλοποίηση νέων κύκλων προγραμμάτων συμπληρωματικής εξ' αποστάσεως εκπαίδευση στον τομέα της ιατρικών υποβοηθούμενης ανθρώπινης αναπαραγωγής και σε συνεργασία εκ νέου με το Πανεπιστήμιο Αθηνών καθώς και με άλλους επιστημονικούς φορείς που θα απευθύνεται σε γιατρούς, βιολόγους, μαιευτικό -νοσηλευτικό προσωπικό, φοιτητές, μεταπτυχιακούς φοιτητές και το πρόγραμμα θα είναι διάρκειας ενενήντα διδακτικών ωρών ανά εξάμηνο.

Επιμορφωτικό Πρόγραμμα στην «Ανθρώπινη Αναπαραγωγή»

Το E-learning του Κέντρου Συνεχιζόμενης Εκπαίδευσης και Επιμόρφωσης του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών (ΕΚΠΑ) διαθέτει σε συνεργασία με την κλινική ΓΕΝΕΣΙΣ ΑΘΗΝΩΝ Α.Ε. τη δυνατότητα παρακολούθησης του Προγράμματος Συμπληρωματικής εξ' Αποστάσεως Εκπαίδευσης (e-learning) με τη χρήση Καινοτόμων Μεθόδων, στο εκπαιδευτικό αντικείμενο:

«Ανθρώπινη Αναπαραγωγή»

Σκοπός του εξ' αποστάσεως (μέσω διαδικτύου) Προγράμματος είναι η παροχή υψηλού επιπέδου εξειδικευμένης εκπαίδευσης στη Βιολογία, Γενετική και Ενδοκρινολογία της Αναπαραγωγής. Το Πρόγραμμα απευθύνεται σε επαγγελματίες υγείας (ιατρούς, Γυναικολόγους, Βιολόγους, Μαιές, αποφοίτους ΑΕΙ/ΑΤΕΙ/ΙΕΚ) και στόχος του είναι όσο το δυνατόν περισσότεροι πτυχιούχοι ιατρικών και νοσηλευτικών σχολών να γίνουν κοινωνοί των αρχών και των μεθόδων διερεύνησης και αντιμετώπισης των υπογόνιμων ζευγαριών.

Η παρακολούθηση γίνεται μέσω διαδικτυακής εκπαιδευτικής πλατφόρμας και περιλαμβάνει καθημερινή εκπαιδευτική υποστήριξη προσαρμοσμένη στις Αρχές Εκπαίδευσης Ενηλίκων **συνδυάζοντας την εξ' αποστάσεως εκπαίδευση με τη δια ζώσης πρακτική άσκηση σε χώρους της κλινικής ΓΕΝΕΣΙΣ ΑΘΗΝΩΝ.**

Κατά την 9μηνη διάρκεια του Προγράμματος παρέχεται **συνεχής εκπαιδευτική υποστήριξη**, βασιζόμενη στις **Αρχές Εκπαίδευσης Ενηλίκων**, από έμπειρο διδακτικό προσωπικό, διασφαλίζοντας την αποτελεσματικότητα της εκπαιδευτικής μεθοδολογίας, ενώ η επιτυχής παρακολούθηση των μαθημάτων οδηγεί στη χορήγηση **Πιστοποιητικού Εξειδικευμένης Επιμόρφωσης.**

Την επιστημονική ευθύνη εκ μέρους της Κλινικής ΓΕΝΕΣΙΣ ΑΘΗΝΩΝ Α.Ε. αναλαμβάνει ο Καθηγητής Μ/Γ κ. Ευγένιος Κουμαντάκης ενώ από την πλευρά του Πανεπιστημίου Αθηνών την ακαδημαϊκή ευθύνη του προγράμματος εξ' αποστάσεως εκπαίδευσης αναλαμβάνει ο Καθηγητής Πειραματικής Φυσιολογίας κ. Μιχάλης Κουτσιλιέρης και την επιστημονική ευθύνη ο Καθηγητής Οικονομικών Επιστημών κ. Παναγιώτης Πετράκης.

Περιεχόμενα

ΣΤΗΛΗ ΕΚΔΟΤΗ

2-3

ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΟ ΑΡΘΡΟ

Η σημασία της συμπύκνωσης της πυρηνικής χρωματίνης και του πλοειδικού προφίλ των σπερματοζωαρίων στην Ιατρικώς Υποβοηθούμενη Αναπαραγωγή
Λέανδρος Λάζαρος, Γεώργιος Βαρθολομάτος, Χρυσούλα Κίτσου, Κωνσταντίνος Ζηκόπουλος, Ελισσάβητ Χατζή, Ιωάννης Γεωργίου

8-20

ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΕΙΣ

Χρωμοσωμικά αίτια υπογονιμότητας
Αριάδνη Καλπίνη Μαύρου

21-26

Μη επεμβατικός προγεννητικός έλεγχος του συστήματος Rhesus D του εμβρύου
Αγγελική Κολιαλέξη, Γεωργία Τούντα, Αλεξάνδρα Λυκούδη, Αριάδνη Μαύρου

27-32

Δικαίωμα τεκνοποίησης με τη μέθοδο της παρένθετης μητρότητας για τον άγαμο και μοναχικό άνδρα
Πηνελόπη Αγαλλοπούλου

33-39

Επιπτώσεις της ενδοοικογενειακής βίας στα παιδιά
Αλίκη Γ. Γρηγοριάδου

40-44

ΓΕΝΙΚΟ ΑΡΘΡΟ

Ποιός φοβάται ποιόν μέσα στην τάξη;
Γιάννης Πανούσης

45-49

ΟΔΗΓΙΕΣ ΠΡΟΣ ΣΥΓΓΡΑΦΕΙΣ

50-51

Η σημασία της συμπύκνωσης της πυρηνικής χρωματίνης και του πλοειδικού προφίλ των σπερματοζωαρίων στην Ιατρικώς Υποβοηθούμενη Αναπαραγωγή

Λέανδρος Λάζαρος^{1,2}, Ph.D, Γεώργιος Βαρθολομάτος³, Ph.D, Χρυσούλα Κίτσου¹, Ph.D,
Κωνσταντίνος Ζηκόπουλος¹, MD, Prof, Ελισσάβετ Χατζή¹, Ph.D, Ιωάννης Γεωργίου¹, Prof.

1. Μονάδα Ιατρικής Γενετικής και Υποβοηθούμενης Αναπαραγωγής, Μαιευτική και Γυναικολογική Κλινική, Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο Ιωαννίνων, Ιωάννινα
2. Genesis Genoma Lab, 'Γενετική διάγνωση- Κλινική Γενετική- Έρευνα', Χαλάνδρι, Αθήνα
3. Μονάδα Μοριακής Βιολογίας, Εργαστήριο Αιματολογίας, Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο Ιωαννίνων, Ιωάννινα

Ελληνική περίληψη

Εισαγωγή: Η συγκέντρωση, η κινητικότητα και η μορφολογία του σπέρματος αποτελούν τις κύριες παραμέτρους αξιολόγησης της ποιότητας του σπέρματος και επιλογής της κατάλληλης μεθόδου υποβοηθούμενης αναπαραγωγής. Η αποτυχία των ανωτέρω μεθόδων σε ένα αξιοσημείωτο ποσοστό ζευγαριών υποδεικνύει την ανάγκη επιπρόσθετων παραμέτρων αξιολόγησης της ποιότητας του σπέρματος.

Σκοπός: Η επίδραση της συμπύκνωσης της πυρηνικής χρωματίνης και των πλοειδίων των σπερματοζωαρίων στις μεθόδους Ιατρικώς Υποβοηθούμενης Αναπαραγωγής διερευνήθηκαν στην παρούσα μελέτη.

Υλικό και μέθοδοι: Μελετήθηκαν 130 ζευγάρια που ακολούθησαν κύκλους συμβατικής υποβοηθούμενης αναπαραγωγής (IVF) και 150 ζευγάρια που ακολούθησαν κύκλους ενδοκυτταροπλασματικής έγχυσης σπερματοζωαρίου (ICSI) λόγω ανδρικού παράγοντα υπογονιμότητας. Σε όλους τους συμμετέχοντες πραγματοποιήθηκε ανάλυση σπέρματος σε συνδυασμό με κυτταρομετρία ροής σπέρματος, μετά από χρώση με Πορτοκαλί της Ακριδίνης και Ιωδιούχο Προπίδιο, για την αξιολόγηση της συμπύκνωσης της πυρηνικής χρωματίνης και των πλοειδίων, αντίστοιχα.

Αποτελέσματα: Και στις δύο υπό μελέτη ομάδες παρατηρήθηκαν υψηλότερα ποσοστά γονιμοποιήσεων, καλύτερη μορφολογία των εμβρύων και υψηλότερα ποσοστά κυήσεων στα ζευγάρια με υψηλότερα ποσοστά σπερματοζωαρίων με φυσιολογική συμπύκνωση χρωματίνης. Επίσης, τα ζευγάρια με χαμηλότερα ποσοστά ανευπλοειδικών σπερματοζωαρίων παρουσίασαν υψηλότερα ποσοστά γονιμοποιήσεων, εμβρύων καλής μορφολογίας και κυήσεων, σε σύγκριση με τα ζευγάρια με υψηλά ποσοστά ανευπλοειδικών σπερματοζωαρίων.

Συμπεράσματα: Οι ανωτέρω συσχετίσεις αποδεικνύουν ότι η συμπύκνωση της πυρηνικής χρωματίνης και το πλοειδικό προφίλ των σπερματοζωαρίων αποτελούν σημαντικές παραμέτρους που πρέπει να λαμβάνονται υπόψη κατά την αξιολόγηση της ποιότητας του σπέρματος και υποστηρίζουν τη χρήση της κυτταρομετρίας ροής σπέρματος ως μέσο πρόγνωσης της πιθανής έκβασης της Ιατρικώς Υποβοηθούμενης Αναπαραγωγής.



Υπεύθυνος αλληλογραφίας:

Λέανδρος Λάζαρος, Μοριακός Γενετιστής-Κλινικός Εμβρυολόγος, Ph.D,
Genesis Genoma Lab, «Γενετική διάγνωση-Κλινική Γενετική-Έρευνα», Χαλάνδρι, Αθήνα,
Τηλ.: 210 6803130, Fax: 210 6894778, E-mail: llazaros@genlab.gr

1. Εισαγωγή

Ο ανδρικός παράγοντας υπογονιμότητας ευθύνεται για το πενήντα τοις εκατό των προβλημάτων γονιμότητας που αντιμετωπίζουν τα ζευγάρια παγκοσμίως. Η ανάπτυξη της ιατρικώς υποβοηθούμενης αναπαραγωγής (ΙΥΑ), επέτρεψε στους υπογόνιμους άνδρες να αποκτήσουν βιολογικούς απογόνους. Η συγκέντρωση, η κινητικότητα και η μορφολογία του σπέρματος αποτελούν τις κύριες παραμέτρους αξιολόγησης της ποιότητας του σπέρματος και το βασικό κριτήριο για την επιλογή της κατάλληλης μεθόδου υποβοηθούμενης αναπαραγωγής. Παρόλα αυτά, ένα αξιοσημείωτο ποσοστό ζευγαριών που υποβάλλεται σε ΙΥΑ αποτυγχάνει, υποδεικνύοντας την ανάγκη στρατολόγησης επιπρόσθετων παραμέτρων για την αξιολόγηση της ποιότητας του σπέρματος, όπως η συμπύκνωση της πυρηνικής χρωματίνης και το πλοειδικό προφίλ των σπερματοζωαρίων.

Η δομική οργάνωση του DNA του σπερματοζωαρίου έχει αποδειχθεί να είναι ζωτικής σημασίας για την λειτουργικότητα των σπερματοζωαρίων, καθιστώντας απαραίτητη την αξιολόγηση της συμπύκνωσης της πυρηνικής χρωματίνης των σπερματοζωαρίων πριν από την εφαρμογή των τεχνικών της ΙΥΑ. Μια αλληλουχία διαδικασιών, όπως οι μεταγραφικές τροποποιήσεις, οι τοπολογικές αναδιατάξεις, η απώλειες της νουκλεοσωμικής δομής και η αντικατάσταση των ιστονών από πρωταμίνες, οδηγεί σε σπερματοζωάρια με σχεδόν πλήρη συμπύκνωση της πυρηνικής τους χρωματίνης [1]. Η παρουσία λαθών στους μηχανισμούς πακεταρίσματος και προστασίας της χρωματίνης κατά τη διάρκεια της σπερμιόγένεσης προκαλεί διαταραχές στη συμπύκνωση της χρωματίνης [2], η οποία έχει προταθεί ως αξιόπιστος δείκτης της ωριμότητας των σπερματοζωαρίων [3]. Πράγματι, η χρωματίνη των σπερματοζωαρίων που απομονώνονται από την ουρά της επιδιδυμίδας είναι πολύ πιο συμπυκνωμένη από την χρωματίνη των σπερματοζωαρίων που απομονώνονται από την κεφαλή της επιδιδυμίδας [4].

Οι ανευπλοειδίες των χρωμοσωμάτων είναι πιο συχνές σε άνδρες που χαρακτηρίζονται από διαταραχές της σπερματογένεσης, όπως σοβαρή ολιγοσπερμία ή αζωοσπερμία [5]. Η ανάπτυξη του *in situ* φθορίζοντος υβριδισμού (FISH), που έκανε εφικτή την κυτταρογενετική ανάλυση μεγάλου αριθμού σπερματοζωαρίων, αποκάλυψε σημαντικά αυξημένα ποσοστά ανευπλοειδιών στους αζωοσπερμικούς άνδρες σε σύγκριση με τους νορμοζωοσπερμικούς άνδρες [6]. Εκτός από

τους άνδρες με μη φυσιολογικό καρυότυπο (δομικές ή αριθμητικές ανωμαλίες), οι οποίοι αναμένεται να έχουν σπερματοζωάρια με χρωμοσωμικές ανωμαλίες, οι άνδρες με φυσιολογικό καρυότυπο στα σωματικά τους κύτταρα παρουσιάζουν συχνά ανευπλοειδικά σπερματοζωάρια [5]. Οι ανευπλοειδίες των σπερματοζωαρίων αυτών μπορεί να αποδοθούν σε αλλαγές του ενδοορμικού περιβάλλοντος, ικανές να προκαλέσουν διαταραχές στο μηχανισμό διαχωρισμού των χρωμοσωμάτων [7]. Πολλές μελέτες έχουν αναφέρει την αντιστρόφως ανάλογη συσχέτιση των ανευπλοειδιών των σπερματοζωαρίων με τις συμβατικές παραμέτρους του σπέρματος [8], επιβεβαιώνοντας την άμεση συσχέτιση των χρωμοσωμικών ανωμαλιών με τη πτωχή ποιότητα σπέρματος.

Η κυτταρομετρία ροής σπέρματος (ΚΡΣ) μετά από χρώση με Πορτοκαλί της Ακριδίνης και Ιωδιούχο Προπίδιο έχει προταθεί ως μια αξιόπιστη μέθοδος για την αξιολόγηση της ωριμότητας [9] και της πλοειδίας [10] των σπερματοζωαρίων, αντίστοιχα. Οι ανωτέρω παράμετροι του σπέρματος έχουν συσχετισθεί με τη μορφολογία και την κινητικότητα των σπερματοζωαρίων, καθώς και με την επιτυχία της σπερματέγχυσης [11]. Στην παρούσα μελέτη, χρησιμοποιήθηκε η ΚΡΣ με σκοπό τη διερεύνηση της πιθανής επίδρασης της συμπύκνωσης της πυρηνικής χρωματίνης και της πλοειδίας των σπερματοζωαρίων στη γονιμοποιητική τους ικανότητα, στην ποιότητα των εμβρύων που προκύπτουν μετά από συμβατική υποβοηθούμενη αναπαραγωγή (IVF) και ενδοκυτταροπλασματική έγχυση σπερματοζωαρίου (ICSI), καθώς στα αντίστοιχα ποσοστά κλινικών κυήσεων.

2. Υλικά και Μέθοδοι

2.1 Υλικό της μελέτης

Στην μελέτη συμμετείχαν 280 ζευγάρια που ακολούθησαν κύκλους Ιατρικώς Υποβοηθούμενης Αναπαραγωγής (ΙΥΑ) στη Μονάδα Ιατρικής Γενετικής και Υποβοηθούμενης Αναπαραγωγής της Μαιευτικής και Γυναικολογικής Κλινικής του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Ιωαννίνων, λόγω ανδρικού παράγοντα υπογονιμότητας. Συγκεκριμένα, 130 ζευγάρια υποβλήθηκαν σε συμβατική IVF και 150 σε ενδοκυτταροπλασματική έγχυση σπερματοζωαρίου (ICSI).

Σε όλα τα ζευγάρια πραγματοποιήθηκε φυσική εξέταση και ελήφθη λεπτομερές ιατρικό ιστορικό. Από την παρούσα μελέτη εξαιρέθηκαν άνδρες με καρυοτυπικές



ανωμαλίες, μικροελλείμματα του χρωμοσώματος Y, κρισοκήλη, υδροκήλη, λευκοσπερμία, υπογοναδοτροπικό υπογοναδισμό ή με απόφραξη της εκφορητικής οδού του σπέρματος, άνδρες που λάμβαναν φαρμακευτική αγωγή για τη βελτίωση της σπερματογένεσης, καθώς και άνδρες με διαταραχές που μπορεί να συνδέονται με την ποιότητα του σπέρματος, όπως η υπέρταση, το μεταβολικό σύνδρομο και ο σακχαρώδης διαβήτης. Αποκλείστηκαν επίσης οι περιπτώσεις γυναικών με ενδομητρίωση, σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών, διαταραχές της ωοθυλακιορρηξίας και συγγενείς δυσπλασίες των αναπαραγωγικών οργάνων, καθώς και όσες είχαν ηλικία μεγαλύτερη των 37 ετών, ώστε να αναλυθεί η πραγματική συσχέτιση του ανδρικού παράγοντα υπογονιμότητας με το αποτέλεσμα της ΙΥΑ.

Η Επιτροπή Δεοντολογίας του ιδρύματος ενέκρινε το πρωτόκολλο της μελέτης, το οποίο διεκπεραιώθηκε σύμφωνα με την διακήρυξη του Ελσίνκι. Όλοι οι συμμετέχοντες έλαβαν πλήρη ενημέρωση για το αντικείμενο της μελέτης και έδωσαν έγγραφη συναίνεση.

2.2 Ανάλυση σπέρματος

Η ανάλυση του σπέρματος πραγματοποιήθηκε σύμφωνα με τις κατευθυντήριες γραμμές του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας μία εβδομάδα πριν από την ωοληψία. Όλοι οι συμμετέχοντες είχαν αποχή τριών ημερών πριν από την ανάλυση. Η αξιολόγηση του κάθε δείγματος σπέρματος πραγματοποιήθηκε από δύο ανεξάρτητους ερευνητές και υπολογίστηκαν οι μέσες τιμές. Σε περίπτωση διαφοράς πάνω από 10% σε κάποια παράμετρο του σπέρματος, έλαβε χώρα και τρίτη αξιολόγηση. Η μορφολογία των σπερματοζωαρίων αναλύθηκε μετά από χρώση Παπανικολάου.

Η ανάλυση της συμπύκνωσης της πυρηνικής χρωματίνης και του πλοειδικού προφίλ των σπερματοζωαρίων πραγματοποιήθηκε με τη βοήθεια της κυτταρομετρίας ροής, μετά από χρώση με Πορτοκαλί της Ακριδίνης και Ιωδιούχο Προπίδιο, αντίστοιχα [12]. Η ανάλυση πραγματοποιήθηκε εις διπλούν για κάθε δείγμα, έτσι ώστε να διασφαλιστεί η ακρίβεια των αποτελεσμάτων. Το κυτταρόμετρο ροής FACScalibur και ο αναλυτής Consort 40 (Becton Dickinson, San Jose, CA, USA) χρησιμοποιήθηκαν για την ανάλυση των ανωτέρω παραμέτρων του σπέρματος. Για το Πορτοκαλί της Ακριδίνης, μετρήθηκαν οι πράσινες (BP 530/30 filter) και ερυθρές (BP 650LP filter) φθορίζουσες εκπομπές μετά από διέγερση με 488 nm argon laser για 30.000 σπερματοζωάρια ανά δείγμα. Για το Ιωδιούχο Προπίδιο, καταγράφηκαν οι ερυθρές φθορίζουσες εκπομπές (BP 650LP filter) μετά από διέγερση με

488 nm argon laser για 10.000 κύτταρα ανά δείγμα.

Όλα τα δείγματα σπέρματος υποβλήθηκαν σε καθαρισμό και επεξεργασία για τη διαδικασία της υποβοηθούμενης αναπαραγωγής με τη χρήση κατάλληλων αντιδραστηρίων (Origio, Malov, Denmark).

2.3 Ορμονικός έλεγχος

Σε όλες τις γυναίκες που συμμετείχαν στη μελέτη πραγματοποιήθηκε αιμοληψία την τρίτη ημέρα του εμμηνοκύκλου για την ποσοτικοποίηση της ωχρινοτρόπου ορμόνης (LH), της ωοθυλακιοτρόπου ορμόνης (FSH) και της οιστραδιόλης (E_2). Τα επίπεδα των ορμονών στον ορό προσδιορίστηκαν με τη μέθοδο της χημειοφωταύγειας (Chemiluminescent Microparticle Immunoassay) σε αναλυτή Abbott-ARCHITECT (Abbott Laboratories, Abbott Park, Illinois).

2.4 Έκβαση των κύκλων υποβοηθούμενης αναπαραγωγής

Στα 280 ζευγάρια της μελέτης ακολουθήθηκε ένα τυπικό πρωτόκολλο πρόκλησης πολλαπλής ωοθυλακιορρηξίας με GnRH-αγωνιστή [13]. Το ποσοστό γονιμοποίησης, η ποιότητα των προκυπτόντων εμβρύων και το ποσοστό κλινικών κύσεων ανά κύκλο/ωοληψία αποτέλεσαν τις κύριες παραμέτρους της μελέτης. Τα ποσοστά γονιμοποίησης εκτιμήθηκαν 24 ώρες μετά την ωοληψία, ενώ η ανάπτυξη και η ποιότητα των εμβρύων αξιολογήθηκαν 3 ημέρες μετά την ωοληψία. Ο αριθμός των βλαστομεριδίων και το ποσοστό του εμβρυϊκού όγκου που καταλαμβάνεται από θραύσματα ελήφθησαν υπόψη κατά την αξιολόγηση. Έμβρυα με ποσοστά θραυσμάτων <10%, <10-20%, <20-30% και >30% καταγράφηκαν ως βαθμού A, B, C και D, αντίστοιχα. Τρία έμβρυα με το μεγαλύτερο αριθμό βλαστομεριδίων και την καλύτερη μορφολογία μεταφέρθηκαν την τρίτη ημέρα του κάθε κύκλου, ενώ τα εναπομείναντα καλής μορφολογίας έμβρυα κρυοσυντηρήθηκαν. Η κλινική κύηση διαγνώστηκε με ποσοτικοποίηση της β-χοριακής γοναδοτροπίνης (β-hCG) και επιβεβαιώθηκε με την ανίχνευση εμβρυϊκού καρδιακού παλμού στο διακολπικό υπερηχογράφημα τέσσερις εβδομάδες μετά το θετικό τεστ εγκυμοσύνης.

2.5 Στατιστική ανάλυση

Η στατιστική ανάλυση πραγματοποιήθηκε χρησιμοποιώντας το τεστ χ^2 . Η κανονική κατανομή των συνεχών παραμέτρων ελέγχθηκε με την ανάλυση Kolmogorov-Smirnov. Οι διαφορές στις συνεχείς παραμέτρους αξιολογήθηκαν με τη χρήση του t-test για τις ανεξάρτητες μεταβλητές ή των μη παραμετρικών μεθόδων Kruskal-Wallis και Mann-Whitney U, κατά περίπτωση.

Πίνακας 1.

Επίδραση της συμπύκνωσης της πυρηνικής χρωματίνης και του πλοειδικού προφίλ των σπερματοζωαρίων στο ποσοστό γονιμοποίησης, στο ποσοστό κυήσεων, καθώς και στην ποιότητα των εμβρύων μετά την εφαρμογή συμβατικής IVF

	Ομάδα A1	Ομάδα A2	p	Ομάδα B1	Ομάδα B2	p
Αριθμός ζευγαριών	73	57		79	51	
Ηλικία ανδρών (χρόνια)	35,1 ± 6,8	34,9 ± 6,6	ns	34,7 ± 7,1	34,6 ± 6,9	ns
Συγκέντρωση σπερματοζωαρίων (x 10 ⁶ σπερματοζωάρια/ml)	71,6 ± 30,1	73,2 ± 29,8	ns	69,3 ± 34,9	74,4 ± 31,1	ns
Κινητικότητα σπερματοζωαρίων (%)	49,4 ± 8,8	52,9 ± 9,2	ns	50,7 ± 8,9	52,5 ± 9,4	ns
Φυσιολογική μορφολογία σπερματοζωαρίων (%)	29,6 ± 7,9	27,1 ± 7,2	ns	30,2 ± 5,6	25,2 ± 4,8	ns
Αριθμός ωαρίων	12,7 ± 5,8	13,4 ± 5,4	ns	13,2 ± 6,2	13,1 ± 5,8	ns
Ποσοστό γονιμοποίησης (%)	78,4 ± 19,1	60,7 ± 20,9	0,006	76,9 ± 19,8	59,8 ± 19,2	0,008
Έμβρυα μορφολογίας A (%)	35,1 ± 9,9	21,7 ± 8,3	0,008	33,2 ± 11,1	19,2 ± 8,7	0,01
Έμβρυα μορφολογίας B (%)	29,2 ± 9,1	23,3 ± 8,8	ns	29,1 ± 10	23,2 ± 9,7	ns
Έμβρυα μορφολογίας C (%)	19,8 ± 9,5	37,7 ± 10,9	0,004	19,6 ± 9,9	38,2 ± 11,1	0,005
Έμβρυα μορφολογίας D (%)	10,7 ± 6,2	17,1 ± 7,5	ns	10,2 ± 5,2	18,2 ± 7,6	ns
Ποσοστό κυήσεων (%)	42,5	22,8	0,019	41,8	27,5	0,017

Ομάδα A1: ποσοστό σπερματοζωαρίων με πλήρη συμπύκνωση της πυρηνικής χρωματίνης ≥ 70%

Ομάδα A2: ποσοστό σπερματοζωαρίων με πλήρη συμπύκνωση της πυρηνικής χρωματίνης < 70%

Ομάδα B1: ποσοστό ανευπλοειδικών σπερματοζωαρίων < 16,3%

Ομάδα B2: ποσοστό ανευπλοειδικών σπερματοζωαρίων ≥ 16,3%

Το $p < 0,05$ θεωρήθηκε ως στατιστικά σημαντικό. Όλες οι αναλύσεις βασίστηκαν στο στατιστικό πακέτο SPSS (version 14.0, SPSS Inc, Chicago, IL, USA).

3. Αποτελέσματα

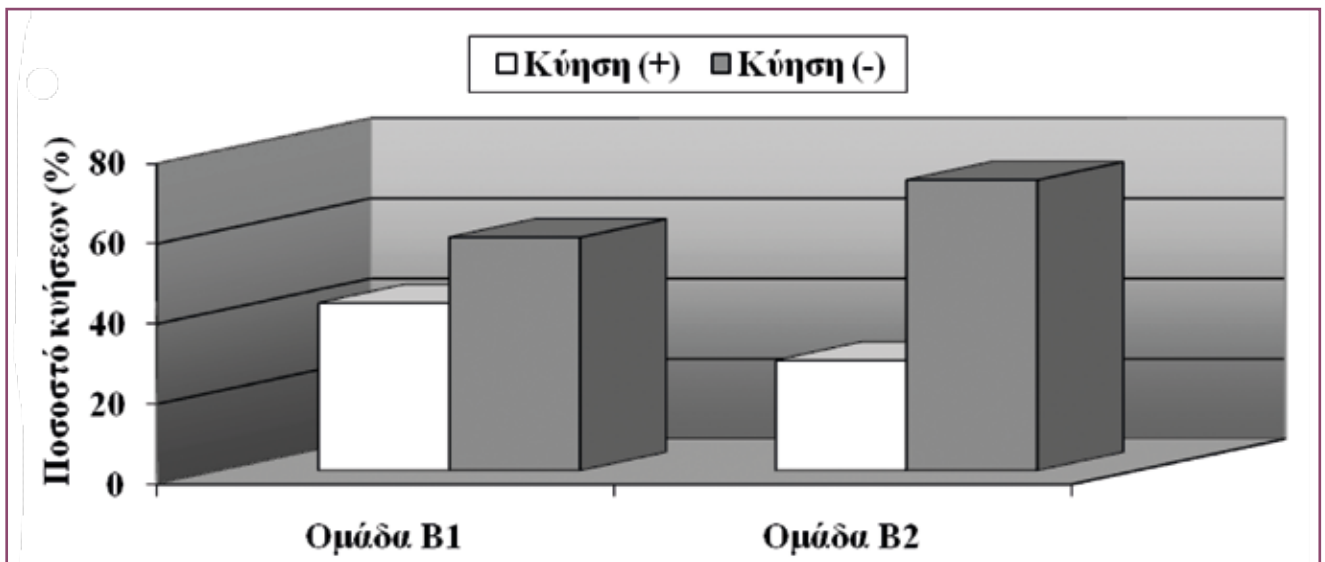
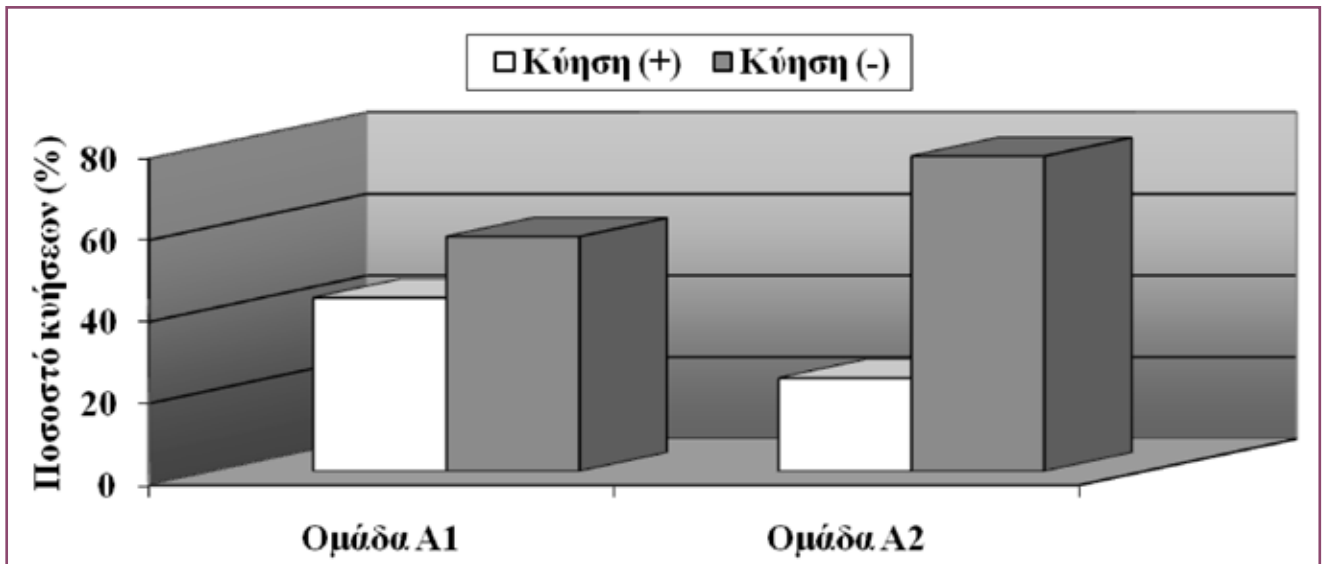
3.1 Κλινικά χαρακτηριστικά

Τα κλινικά χαρακτηριστικά των 130 ανδρών της ομάδας της συμβατικής IVF παραθέτονται στον **Πίνακα 1**, ενώ των 150 ανδρών της ομάδας του ICSI στον **Πίνακα 2**. Τα κλινικά χαρακτηριστικά των γυναικών που

συμμετείχαν στις δύο υπό μελέτη ομάδες δεν παρουσίασαν στατιστικά σημαντικές διαφορές, για τα λόγια αυτό δεν περιελήφθησαν στους ανωτέρω πίνακες. Ενδεικτικά, οι συμμετέχουσες είχαν ηλικία $32,5 \pm 4,4$ έτη, ενώ το ορμονικό τους προφίλ την τρίτη ημέρα του εμμηνοκύκλου ήταν το ακόλουθο: $6,6 \pm 1,3$ mIU/ml LH, $6,2 \pm 1,6$ mIU/ml FSH και 119 ± 23 pg/ml E₂.

3.2 Ανάλυση της συμπύκνωσης της πυρηνικής χρωματίνης

Όλα τα δείγματα σπέρματος της μελέτης παρουσίασαν πράσινες και ερυθρές φθορίζουσες εκπομπές κατά



Εικόνα 1. Συσχέτιση α) του ποσοστού των σπερματοζωαρίων με πλήρη συμπύκνωση της πυρηνικής χρωματίνης και β) του ποσοστού ανευπλοειδικών σπερματοζωαρίων με το ποσοστό των κύσεων μετά από συμβατική IVF. Η ανάλυση χ^2 απέδειξε τη στατιστική σημαντικότητα των ευρημάτων ($p=0,019$ και $p=0,017$, αντίστοιχα)

- Ομάδα A1:** ποσοστό σπερματοζωαρίων με πλήρη συμπύκνωση της πυρηνικής χρωματίνης $\geq 70\%$
Ομάδα A2: ποσοστό σπερματοζωαρίων με πλήρη συμπύκνωση της πυρηνικής χρωματίνης $< 70\%$
Ομάδα B1: ποσοστό ανευπλοειδικών σπερματοζωαρίων $< 16,3\%$
Ομάδα B2: ποσοστό ανευπλοειδικών σπερματοζωαρίων $\geq 16,3\%$

την ανάλυση κυτταρομετρία ροής μετά από χρώση με Πορτοκαλί της Ακριδίνης. Η προοδευτική συμπύκνωση της πυρηνικής χρωματίνης προκαλεί σημαντική μείωση της πρόσδεσης του Πορτοκαλί της Ακριδίνης στο DNA [4], η οποία παράγει πράσινες φθορίζουσες εκπομπές όταν προσδένεται σε νουκλεϊκά

οξέα διπλής έλικας και ερυθρές όταν προσδένεται σε νουκλεϊκά οξέα μονής έλικας [9]. Οι ανωτέρω εκπομπές ήταν ιδιαίτερα αυξημένες σε δείγματα σπέρματος με αυξημένα ποσοστά ανώμαλης μορφολογίας, πιθανώς λόγω της ανώμαλης αντικατάστασης των ιστονών από πρωταμίνας. Αντίθετα, δεν παρου-

Πίνακας 2.

Επίδραση της συμπύκνωσης της πυρηνικής χρωματίνης και του πλοειδικού προφίλ των σπερματοζωαρίων στο ποσοστό γονιμοποίησης, στο ποσοστό κυήσεων, καθώς και στην ποιότητα των εμβρύων μετά από μικρογονιμοποίηση (ICSI)

	Ομάδα Γ1	Ομάδα Γ2	p	Ομάδα Δ1	Ομάδα Δ2	p
Αριθμός ζευγαριών	82	68		77	73	
Ηλικία ανδρών (χρόνια)	34,9 ± 6,3	34,4 ± 7,1	ns	35,1 ± 6,8	34,8 ± 6,6	ns
Συγκέντρωση σπερματοζωαρίων (x 10 ⁶ σπερματοζωάρια/ml)	15,6 ± 6,2	12,3 ± 9,5	ns	14,9 ± 5,2	11,7 ± 8,9	ns
Κινητικότητα σπερματοζωαρίων (%)	43,4 ± 13,8	36,5 ± 14,8	ns	45,5 ± 14,4	35,9 ± 15,2	ns
Φυσιολογική μορφολογία σπερματοζωαρίων (%)	18,3 ± 3,7	16,5 ± 7,3	ns	17,9 ± 3,2	16 ± 7,1	ns
Αριθμός ωαρίων	12,5 ± 4,9	13,1 ± 5,2	ns	12,8 ± 5,2	13,4 ± 5,7	ns
Ποσοστό γονιμοποίησης (%)	91,5 ± 6,2	79,1 ± 12,2	0,008	90,3 ± 5,7	78,7 ± 12,8	0,01
Έμβρυα μορφολογίας A (%)	41,6 ± 17,8	32,2 ± 13,1	0,009	40,9 ± 17,1	31,8 ± 12,6	0,01
Έμβρυα μορφολογίας B (%)	37,3 ± 14,6	36,6 ± 13,8	ns	37,5 ± 13,9	37 ± 14,1	ns
Έμβρυα μορφολογίας C (%)	16,9 ± 9,3	24,8 ± 13,7	0,03	17,1 ± 9	25,1 ± 14,2	0,02
Έμβρυα μορφολογίας D (%)	8,8 ± 6,1	9,6 ± 7,2	ns	8,6 ± 5,9	9,2 ± 7,6	ns
Ποσοστό κυήσεων (%)	47,6	26,5	0,008	46,8	28,8	0,02

Ομάδα Γ1: ποσοστό σπερματοζωαρίων με πλήρη συμπύκνωση της πυρηνικής χρωματίνης ≥ 61,3%

Ομάδα Γ2: ποσοστό σπερματοζωαρίων με πλήρη συμπύκνωση της πυρηνικής χρωματίνης < 61,3%

Ομάδα Δ1: ποσοστό ανευπλοειδικών σπερματοζωαρίων < 18,5%

Ομάδα Δ2: ποσοστό ανευπλοειδικών σπερματοζωαρίων ≥ 18,5%

σίασαν κάποια συσχέτιση με τη συγκέντρωση ή την κινητικότητα των σπερματοζωαρίων. Δεδομένου ότι η ένταση των πράσινων και ερυθρών εκπομπών παρουσιάζει αντιστρόφως ανάλογη συσχέτιση με την συμπύκνωση της πυρηνικής χρωματίνης [12], εκτιμήθηκε για κάθε δείγμα το ποσοστό των σπερματοζωαρίων που διέθετε πλήρη συμπύκνωσης της χρωματίνης. Η ανωτέρω εκτίμηση, που βασίστηκε σε ένα ήδη δημοσιευμένο πρωτόκολλο [11,12], έδειξε ότι το 70 ± 20,3% των σπερματοζωαρίων του πληθυσμού που ακολούθησε κύκλους IVF και το 61,3 ± 19,9% των σπερματοζωαρίων του πληθυσμού που ακολούθησε

κύκλους ICSI είχαν πλήρη συμπύκνωση της πυρηνικής χρωματίνης.

3.3 Ανάλυση της πλοειδίας των σπερματοζωαρίων

Τα ιστογράμματα όλων των δειγμάτων σπέρματος της μελέτης παρουσίασαν κορυφές υποαπλοειδών, φυσιολογικών απλοειδών, ανώριμων απλοειδών, υπεραπλοειδών, διπλοειδών και τετραπλοειδών κυττάρων. Το ποσοστό των ανευπλοειδικών σπερματοζωαρίων ήταν 16,3 ± 12,2% στον πληθυσμό που ακολούθησε κύκλους IVF και 18,5 ± 16,7% στον πληθυσμό που ακολούθησε κύκλους ICSI.

3.4 Συσχέτιση της συμπύκνωσης της πυρηνικής χρωματινής των σπερματοζωαρίων με την έκβαση των κύκλων υποβοηθούμενης αναπαραγωγής

Για την ανάλυση των επιπτώσεων της συμπύκνωσης της πυρηνικής χρωματινής των σπερματοζωαρίων στην έκβαση της συμβατικής IVF, ο πληθυσμός των 130 ανδρών χωρίστηκε σε 2 υποομάδες με βάση τη μέση τιμή του αντίστοιχου ποσοστού, δηλαδή: άνδρες με ποσοστό σπερματοζωαρίων με πλήρη συμπύκνωση της πυρηνικής χρωματινής $\geq 70\%$ (ομάδα A1) και άνδρες με ποσοστό σπερματοζωαρίων με πλήρη συμπύκνωση της πυρηνικής χρωματινής $< 70\%$ (ομάδα A2). Τα ζευγάρια της ομάδας A1 παρουσίασαν υψηλότερα ποσοστά γονιμοποιήσεων και κλινικών κυήσεων σε σύγκριση με τα ζευγάρια της ομάδας A2 (ομάδα A1: $78,4 \pm 19,1\%$ vs. ομάδα A2: $60,7 \pm 20,9$, $p=0,006$ και ομάδα A1: $42,5\%$ vs. ομάδα A2: $22,8\%$, $p=0,019$, αντίστοιχα) (**Πίνακας 1, Εικόνα 1**). Επιπλέον, τα ζευγάρια της ομάδας A1 παρουσίασαν υψηλότερης ποιότητας έμβρυα σε σύγκριση με τα ζευγάρια της ομάδας A2 (**Πίνακας 1**). Συγκεκριμένα, η ομάδα A1 χαρακτηρίστηκε από υψηλότερα ποσοστά εμβρύων μορφολογίας A (ομάδα A1: $35,1 \pm 9,9\%$ vs. ομάδα A2: $21,7 \pm 8,3\%$; $p=0,008$) και από χαμηλότερα ποσοστά εμβρύων μορφολογίας C (ομάδα A1: $19,8 \pm 9,5\%$ vs. ομάδα A2: $37,7 \pm 10,9\%$; $p=0,004$) σε σύγκριση την ομάδα A2.

Για την ανάλυση των επιπτώσεων της συμπύκνωσης της πυρηνικής χρωματινής των σπερματοζωαρίων στην έκβαση της μικρογονιμοποίησης (ICSI), ο πληθυσμός των 150 ανδρών χωρίστηκε σε 2 υποομάδες με βάση τη μέση τιμή του αντίστοιχου ποσοστού, δηλαδή: άνδρες με ποσοστό σπερματοζωαρίων με πλήρη συμπύκνωση της πυρηνικής χρωματινής $\geq 61,3\%$ (ομάδα Γ1) και άνδρες με ποσοστό σπερματοζωαρίων με πλήρη συμπύκνωση της πυρηνικής χρωματινής $< 61,3\%$ (ομάδα Γ2). Τα ζευγάρια της ομάδας Γ1 παρουσίασαν υψηλότερα ποσοστά γονιμοποιήσεων και κλινικών κυήσεων σε σύγκριση με τα ζευγάρια της ομάδας Γ2 (ομάδα Γ1: $91,5 \pm 6,2\%$ vs. ομάδα Γ2: $79,1 \pm 12,2\%$, $p=0,008$ και ομάδα Γ1: $47,6\%$ vs. ομάδα Γ2: $26,5\%$, $p=0,008$, αντίστοιχα) (**Πίνακας 2, Εικόνα 2**). Επιπλέον, τα ζευγάρια της ομάδας Γ1 παρουσίασαν υψηλότερης ποιότητας έμβρυα σε σύγκριση με τα ζευγάρια της ομάδας Γ2 (**Πίνακας 2**). Συγκεκριμένα, η ομάδα Γ1 χαρακτηρίστηκε από υψηλότερα ποσοστά εμβρύων μορφολογίας A (ομάδα Γ1: $41,6 \pm 17,8\%$ vs. ομάδα Γ2: $32,2 \pm 13,1\%$; $p=0,009$) και από χαμηλότερα ποσοστά εμβρύων μορφολογίας C (ομάδα Γ1: $16,9 \pm 9,3\%$ vs. ομάδα Γ2: $24,8 \pm 13,7\%$; $p=0,03$) σε σύγκριση την ομάδα Γ2.

3.5 Συσχέτιση του πλοειδικού προφίλ των σπερματοζωαρίων με την έκβαση των κύκλων υποβοηθούμενης αναπαραγωγής

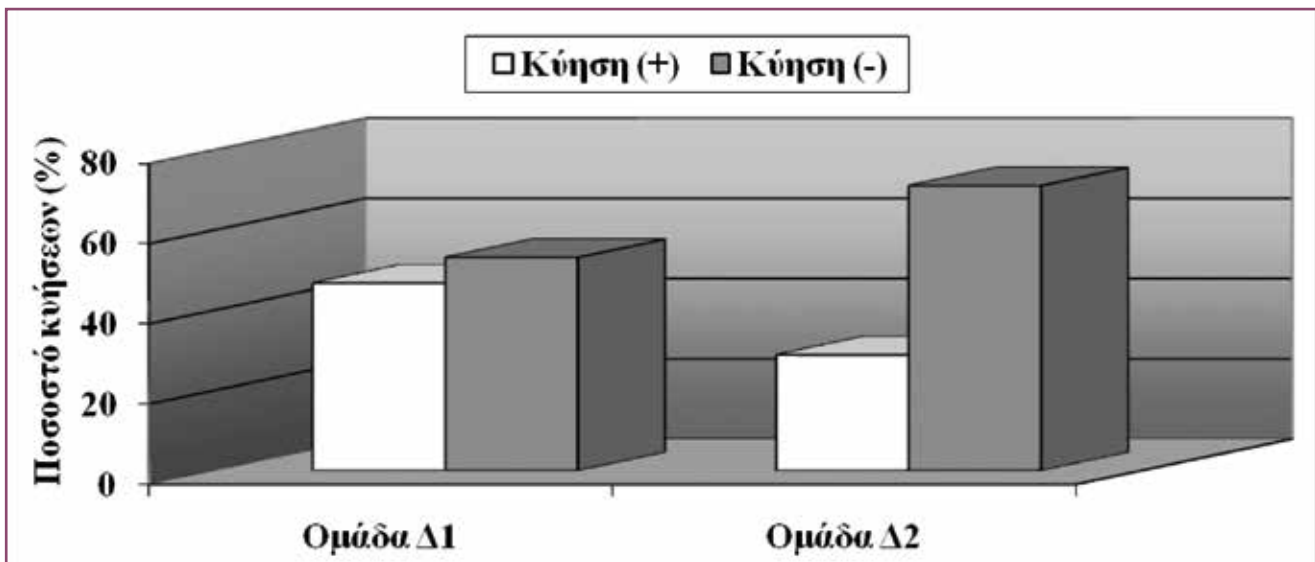
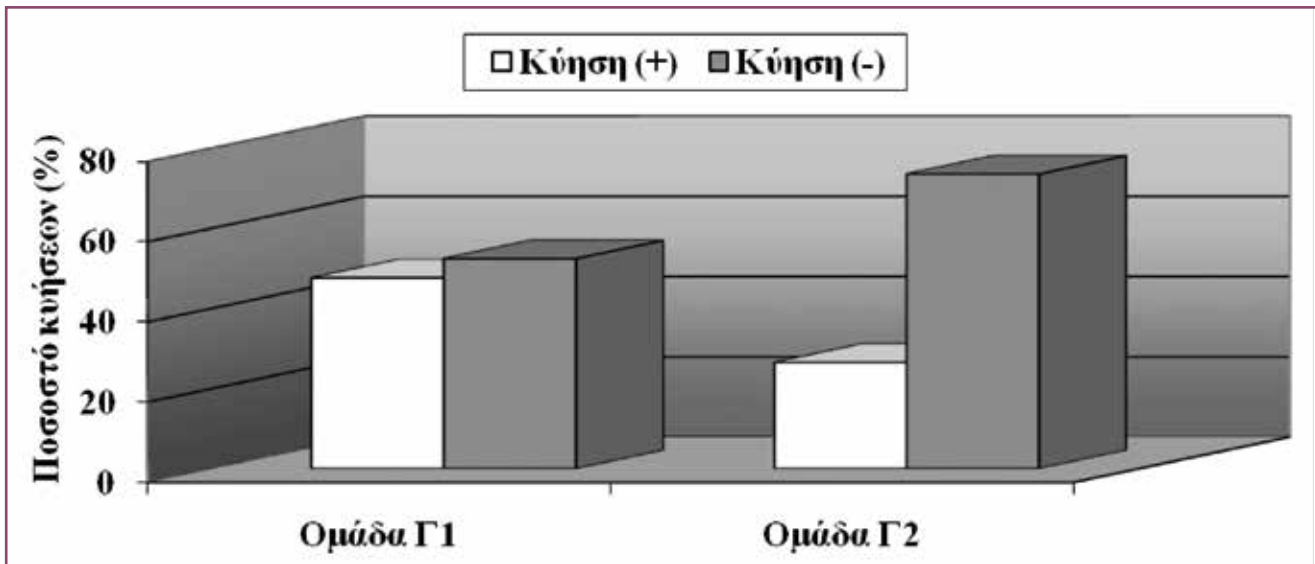
Για την ανάλυση των επιπτώσεων του πλοειδικού προφίλ των σπερματοζωαρίων στην έκβαση της συμβατικής IVF, ο πληθυσμός των 130 ανδρών χωρίστηκε σε 2 υποομάδες με βάση τη μέση τιμή του αντίστοιχου ποσοστού, δηλαδή: άνδρες με ποσοστό ανευπλοειδικών σπερματοζωαρίων $< 16,3\%$ (ομάδα B1) και άνδρες με ποσοστό ανευπλοειδικών σπερματοζωαρίων $\geq 16,3\%$ (ομάδα B2).

Τα ζευγάρια της ομάδας B1 παρουσίασαν υψηλότερα ποσοστά γονιμοποιήσεων και κλινικών κυήσεων σε σύγκριση με τα ζευγάρια της ομάδας B2 (ομάδα B1: $76,9 \pm 19,8\%$ vs. ομάδα B2: $59,8 \pm 19,2\%$, $p=0,008$ και ομάδα B1: $41,8\%$ vs. ομάδα B2: $27,5\%$, $p=0,017$, αντίστοιχα) (**Πίνακας 1, Εικόνα 1**). Επιπλέον, τα ζευγάρια της ομάδας B1 παρουσίασαν υψηλότερης ποιότητας έμβρυα σε σύγκριση με τα ζευγάρια της ομάδας B2 (**Πίνακας 1**). Συγκεκριμένα, η ομάδα B1 χαρακτηρίστηκε από υψηλότερα ποσοστά εμβρύων μορφολογίας A (ομάδα B1: $33,2 \pm 11,1\%$ vs. ομάδα B2: $19,2 \pm 8,7\%$; $p=0,01$) και από χαμηλότερα ποσοστά εμβρύων μορφολογίας C (ομάδα B1: $19,6 \pm 9,9\%$ vs. ομάδα B2: $38,2 \pm 11,1\%$; $p=0,005$) σε σύγκριση την ομάδα B2.

Για την ανάλυση των επιπτώσεων του πλοειδικού προφίλ των σπερματοζωαρίων στην έκβαση της μικρογονιμοποίησης (ICSI), ο πληθυσμός των 150 ανδρών χωρίστηκε σε υποομάδες με βάση τη μέση τιμή του αντίστοιχου ποσοστού, δηλαδή: άνδρες με ποσοστό ανευπλοειδικών σπερματοζωαρίων $< 18,5\%$ (ομάδα Δ1) και άνδρες με ποσοστό ανευπλοειδικών σπερματοζωαρίων $\geq 18,5\%$ (ομάδα Δ2). Τα ζευγάρια της ομάδας Δ1 παρουσίασαν υψηλότερα ποσοστά γονιμοποιήσεων και κλινικών κυήσεων σε σύγκριση με τα ζευγάρια της ομάδας Δ2 (ομάδα Δ1: $90,3 \pm 5,7\%$ vs. ομάδα Δ2: $78,7 \pm 12,8\%$, $p=0,01$ και ομάδα Δ1: $46,8\%$ vs. ομάδα Δ2: $28,8\%$, $p=0,02$, αντίστοιχα) (**Πίνακας 2, Εικόνα 2**). Επιπλέον, τα ζευγάρια της ομάδας Δ1 παρουσίασαν υψηλότερης ποιότητας έμβρυα σε σύγκριση με τα ζευγάρια της ομάδας Δ2 (**Πίνακας 2**). Συγκεκριμένα, η ομάδα Δ1 χαρακτηρίστηκε από υψηλότερα ποσοστά εμβρύων μορφολογίας A (ομάδα Δ1: $40,9 \pm 17,1\%$ vs. ομάδα Δ2: $31,8 \pm 12,6\%$; $p=0,01$) και από χαμηλότερα ποσοστά εμβρύων μορφολογίας C (ομάδα Δ1: $17,1 \pm 9\%$ vs. ομάδα Δ2: $25,1 \pm 14,2\%$; $p=0,02$) σε σύγκριση την ομάδα Δ2.

4. Συζήτηση

Η ένωση των θηλέων και αρρένων γαμετών και η επακόλουθη ενσωμάτωση των γονιδιωμάτων τους σε έναν



Εικόνα 2. Συσχέτιση α) του ποσοστού των σπερματοζωαρίων με πλήρη συμπύκνωση της πυρηνικής χρωματίνης και β) του ποσοστού ανευπλοειδικών σπερματοζωαρίων με το ποσοστό των κήσεων μετά από μικρογονιμοποίηση (ICSI). Η ανάλυση χ^2 απέδειξε τη στατιστική σημαντικότητα των ευρημάτων ($p=0,008$ και $p=0,02$, αντίστοιχα)

Ομάδα Γ1: ποσοστό σπερματοζωαρίων με πλήρη συμπύκνωση της πυρηνικής χρωματίνης $\geq 61,3\%$

Ομάδα Γ2: ποσοστό σπερματοζωαρίων με πλήρη συμπύκνωση της πυρηνικής χρωματίνης $< 61,3\%$

Ομάδα Δ1: ποσοστό ανευπλοειδικών σπερματοζωαρίων $< 18,5\%$

Ομάδα Δ2: ποσοστό ανευπλοειδικών σπερματοζωαρίων $\geq 18,5\%$

διπλοειδή πυρήνα είναι θεμελιώδους σημασίας για την εμβρυογένεση και την εμφύτευση. Παρότι τα σπερματοζωάρια που φέρουν γενετικές ή επιγενετικές βλάβες, όπως ελαττωματική συμπύκνωση της πυρηνικής χρωματίνης, κατακερματισμό του DNA, διαταραχές της μεθύλιωσης και ανευπλοειδίες, είναι σε θέση να γονι-

μοποιήσουν ένα ωάριο [14], η ανάπτυξη του εμβρύου εξαρτάται από τους μηχανισμούς επιδιόρθωσης που διαθέτουν τα ωάρια [15]. Η παρουσία των ανωτέρω ανωμαλιών, οι οποίες είναι πιο συχνές στους υπογόνιμους άνδρες με μειωμένες παραμέτρους του σπέρματος [16], πάνω από ένα κρίσιμο όριο μπορεί να θέσει

σε κίνδυνο τη γονιμοποιητική ικανότητα των σπερματοζωαρίων καθώς επίσης και την ανάπτυξη του εμβρύου τόσο πριν όσο και μετά την εμφύτευση του [17,18].

Για να διερευνηθεί η επίδραση της συμπύκνωσης της πυρηνικής χρωματίνης και του πλοειδικού προφίλ των σπερματοζωαρίων στην έκβαση των προσπαθειών με τεχνικές IVF και ICSI, πραγματοποιήθηκε έλεγχος των παραπάνω παραμέτρων με ΚΡΣ, μετά από χρώση με Πορτοκαλί της Ακριδίνης και Ιωδιούχο Προπίδιο αντίστοιχα, σε 280 δείγματα σπέρματος ζευγαριών που υποβάλλονται σε ΙΥΑ. Τα ποσοστά γονιμοποίησης, η ποιότητα των εμβρύων και τα ποσοστά κλινικών κυήσεων, ενώ παρουσίασαν άμεση συσχέτιση με τις κυτταρομετρικές παραμέτρους του σπέρματος, δεν φάνηκε να επηρεάζονται από τη συγκέντρωση, την κινητικότητα και τη μορφολογία των σπερματοζωαρίων. Η μειωμένη μορφολογική ποιότητα των εμβρύων και τα χαμηλότερα ποσοστά κλινικών κυήσεων αποδεικνύουν τις βλαβερές επιπτώσεις της ελαττωματικής δομής της χρωματίνης και των ανευπλοειδιών των σπερματοζωαρίων στην εμβρυϊκή ανάπτυξη. Παρόμοιες συσχετίσεις παρατηρήθηκαν σε μια προηγούμενη μελέτη της ομάδας μας που διερευνούσε την επίδραση των κυτταρομετρικών παραμέτρων του σπέρματος κατά την εφαρμογή της μεθόδου της σπερματέγχυσης [11]. Συγκεκριμένα, η χρήση δειγμάτων σπέρματος με αυξημένες μορφολογικές ανωμαλίες σπερματοζωαρίων, με χαμηλό ποσοστό συμπύκνωσης της πυρηνικής χρωματίνης και αυξημένη ανευπλοειδία, οδήγησε σε μειωμένα ποσοστά κυήσεων μετά από σπερματέγχυση [11]. Τα παραπάνω ευρήματα υποδεικνύουν την άμεση επίπτωση των κυτταρομετρικών παραμέτρων του σπέρματος στην επιτυχή έκβαση των προσπαθειών κατά την υποβοηθούμενη αναπαραγωγή, ανεξαρτήτως της τεχνικής που χρησιμοποιήθηκε.

Η διαδικασία συμπύκνωσης της πυρηνικής χρωματίνης περιλαμβάνει την αντικατάσταση των ιστονών από πρωταμίνες που προκαλεί μείωση του μεγέθους της κεφαλής του σπερματοζωαρίου, με αποτέλεσμα να απαιτείται λιγότερη ενέργεια για την κίνησή του [12]. Η ανώμαλη αντικατάσταση των ιστονών από πρωταμίνες, η οποία αποτελεί ένδειξη ανωριμότητας των σπερματοζωαρίων, οδηγεί σε παραγωγή σπερματοζωαρίων με διαταραχές στη μορφολογία, στην κινητικότητα και στην γονιμοποιητική ικανότητα [19]. Έχει προταθεί ότι τα χαμηλότερα ποσοστά γονιμοποίησης μετά από ICSI, που παρατηρούνται σε άνδρες με μειωμένα ποσοστά ώριμων σπερματοζωαρίων, οφείλονται στη φυσική ή μηχανική αδυναμία της ελαττωματικής χρωματίνης των σπερματοζωαρίων τους να αποσυμπυκνωθεί [20]. Επίσης, μειωμένα ποσοστά γονιμοποίησης μετά

από IVF ή ICSI έχουν αναφερθεί σε ζευγάρια με αυξημένα επίπεδα κατακερματισμού του DNA των σπερματοζωαρίων ή με ανώμαλη αντικατάσταση των ιστονών από πρωταμίνες στην πυρηνική χρωματίνη [21, 22]. Θα πρέπει ωστόσο να αναφέρουμε ότι υπάρχουν μελέτες οι οποίες υποστηρίζουν την αρνητική συσχέτιση του κατακερματισμού του DNA των σπερματοζωαρίων με τα ποσοστά γονιμοποίησης μόνο σε κύκλους συμβατικής IVF [23] ή την απουσία συσχέτισης ανάμεσα στον κατακερματισμό του DNA των σπερματοζωαρίων και στα ποσοστά γονιμοποίησης μετά από IVF ή ICSI [24]. Στον υπό μελέτη πληθυσμό μας, η ελαττωματική συμπύκνωση της πυρηνικής χρωματίνης των σπερματοζωαρίων προκάλεσε αξιοσημείωτη μείωση των ποσοστών γονιμοποίησης, φτωχή εμβρυϊκή μορφολογία και μειωμένα ποσοστά κλινικών κυήσεων. Η ανώμαλη αντικατάσταση των ιστονών από πρωταμίνες και ο αυξημένος κατακερματισμός του σπερματικού DNA έχουν συσχετισθεί με μορφολογικά χαμηλής ποιότητας έμβρυα [22] και με μειωμένα ποσοστά κυήσεων [22]. Επιπλέον, η μειωμένη επιδιδυμική ωρίμανση των σπερματοζωαρίων έχει συσχετισθεί με μειωμένα ποσοστά κυήσεων μετά από σπερματέγχυση, συμβατική IVF και ICSI [20, 25, 26], ενώ η μελέτη του κατακερματισμού του DNA των σπερματοζωαρίων σε ζευγάρια που υποβάλλονται σε μικρογονιμοποίηση έχει δείξει ότι στα ζευγάρια που δεν επετεύχθη κύηση τα ποσοστά κατακερματισμού του DNA ήταν αξιοσημείωτα υψηλότερα από ότι στα ζευγάρια που επετεύχθη κύηση [27]. Λαμβάνοντας υπόψη τα ανωτέρω ευρήματα, θα μπορούσαμε να υποθέσουμε ότι η ανώμαλη δομή της πυρηνικής χρωματίνης κάποιων σπερματοζωαρίων ευθύνεται για την ελαττωματική ενεργοποίηση του εμβρυϊκού γονιδιώματος, η οποία με τη σειρά της επηρεάζει αρνητικά την εμβρυϊκή ανάπτυξη και εμφύτευση.

Οι χρωμοσωμικές ανωμαλίες των σπερματοζωαρίων οφείλονται στον ανώμαλο διαχωρισμό των χρωμοσωμάτων και σε ανασυνδιασμούς κατά τη διάρκεια της σπερματογένεσης. Στην περίπτωση των υπογονίμων ανδρών, οι οποίοι παρουσιάζουν διαταραχές της σπερματογένεσης, οι ανευπλοειδίες των σπερματοζωαρίων αναμένονται να είναι πιο συχνές. Πράγματι, ο *in situ* φθορίζων υβριδισμός (FISH) αποκάλυψε αυξημένα ποσοστά χρωμοσωμικών ανωμαλιών στα σπερματοζωάρια των oligo-άσθενο-τερατοζωοσπερμικών ανδρών σε σύγκριση με τα σπερματοζωάρια των νορμοζωοσπερμικών ανδρών [8, 28]. Επιπλέον, το γεγονός ότι οι αζωοσπερμικοί άνδρες χωρίς ανδρολογικό ιστορικό χαρακτηρίζονται από υψηλότερες συχνότητες χρωμοσωμικών ανωμαλιών από ότι οι αζωοσπερμικοί άντρες

με θετικό ιστορικό, όπως χημειοθεραπεία, βαζεκτομή, κίρσοκήλη ή λοιμώξεις των γεννητικών οργάνων, είναι ενδεικτικό της συσχέτισης των χρωμοσωμικών ανωμαλιών με τις διαταραχές της σπερματογένεσης. Για το λόγο αυτό, ο έλεγχος των χρωμοσωμικών ανωμαλιών του σπέρματος έχει προταθεί μόνο στην περίπτωση των αζωοσπερμικών ανδρών, ενώ στους υπογόνιμους άνδρες συστήνεται μόνο όταν υπάρχει ένας επιπλέον παράγοντας κινδύνου [29]. Ωστόσο, η παρουσία φυσιολογικού καρυοτύπου στα σωματικά κύτταρα, δεν αποκλείει την παρουσία ανευπλοειδικών σπερματοζωαρίων λόγω μειωτικών λαθών κατά τη σπερματογένεση [5]. Η χρήση των ανευπλοειδικών σπερματοζωαρίων στην ΙΥΑ προφανώς οδηγεί σε έμβρυα με αλλοιωμένη γενετική σύσταση [30]. Ακόμη και στην περίπτωση της ICSI, όπου επιλέγονται τα σπερματοζωάρια με την καλύτερη δυνατή μορφολογία για την έγχυση, η μεταβίβαση των χρωμοσωμικών ανωμαλιών και η αποτυχία γονιμοποίησης είναι πιθανές [8, 31]. Πράγματι, η χρήση σπερματοζωαρίων με μεγάλο μέγεθος πυρήνων, τα οποία χαρακτηρίζονται από υψηλή συχνότητα χρωμοσωμικών ανωμαλιών [32], στη διαδικασία της μικρογονιμοποίησης έχει οδηγήσει σε αξιοσημείωτη μείωση των ποσοστών γονιμοποίησης [33].

Αλλά και γενικότερα, οι χρωμοσωμικές ανωμαλίες των σπερματοζωαρίων μπορεί να επηρεάσουν τη γονιμοποίηση και την εμβρυογένεση μετά τη μικρογονιμοποίηση [34]. Πράγματι, όσα δείγματα σπέρματος του υπό μελέτη πληθυσμού μας χαρακτηρίζονταν από αυξημένα ποσοστά ανευπλοειδίων οδήγησαν σε μειωμένα ποσοστά γονιμοποίησης σε σύγκριση με τα δείγματα που είχαν αυξημένο βαθμό ευπλοειδικών σπερματοζωαρίων. Επιπλέον, η παρουσία χρωμοσωμικών ανωμαλιών στο πατρικής προέλευσης γενετικό υλικό του εμβρύου θα μπορούσε να θέσει σε κίνδυνο την ανάπτυξή του και κατά συνέπεια την έκβαση της ΙΥΑ. Η χαμηλότερη ποιότητα των εμβρύων και τα μειωμένα ποσοστά κύησης των ομάδων B2 και Γ2 της μελέτης μας θα μπορούσαν να οφείλονται στην ανώμαλη γενετική σύσταση των εμβρύων. Τα ευρήματά μας είναι σύμφωνα με προηγούμενες μελέτες που υποστήριζαν ότι η χρήση δειγμάτων σπέρματος με αυξημένα ποσοστά ανευπλοειδίων στην υποβοηθούμενη αναπαραγωγή (IVF/ICSI) οδηγεί σε αξιοσημείωτη μείωση των ποσοστών εμφύτευσης [33, 35] και κύησης [8, 33, 36, 37], παρά τη μεταφορά εμβρύων με την καλύτερη δυνατή μορφολογία. Επομένως, θα μπορούσαμε να συμπεράνουμε ότι οι ανευπλοειδίες των σπερματοζωαρίων, επηρεάζοντας την ποιότητα και την ανάπτυξη των εμβρύων, μειώνουν την

πιθανότητα εμφύτευσης και κλινικής κύησης.

Λαμβάνοντας υπόψη τα αποτελέσματα της έρευνας μας καθώς και τη διεθνή βιβλιογραφία μπορούμε να συμπεράνουμε ότι η μη φυσιολογική συμπύκνωση της πυρηνικής χρωματίνης και οι ανευπλοειδίες των σπερματοζωαρίων είναι ιδιαίτερα επιβλαβείς για την ανάπτυξη του εμβρύου μετά την συγγαμία. Μία πιθανή λύση για την ανεπαρκή συμπύκνωση της χρωματίνης θα ήταν η χρήση σπερματοζωαρίων από ορλικές βιοψίες αντί για σπερματοζωάρια που λαμβάνονται από το σπερματικό πλάσμα. Πράγματι, η χρήση σπερματοζωαρίων από βιοψία στη μικρογονιμοποίηση σε ασθενείς που είχαν προηγούμενες αποτυχημένες προσπάθειες ICSI, οδήγησε σε αυξημένα ποσοστά κλινικών κυήσεων και μειωμένα ποσοστά αποβολών [38]. Το υψηλότερο ποσοστό κατακερματισμού του DNA στα σπερματοζωάρια του ουραίου τμήματος της επιδιδυμίδας ή του σπερματικού πλάσματος [39] σε σύγκριση με τα σπερματοζωάρια βιοψίας είναι πιθανώς η αιτία των ανωτέρω ευρημάτων. Έχει τεκμηριωθεί ότι ο κατακερματισμός του DNA συνδέεται άμεσα με τη συμπύκνωση της πυρηνικής χρωματίνης. Το πακετάρισμα της χρωματίνης μπορεί να απαιτεί τη δράση ενδογενών νουκλεασών για τη δημιουργία και σύνδεση των θραύσεων που βοηθούν την αντικατάσταση των ιστονών από πρωταμίνες [40]. Ανωμαλίες στη διαδικασία αυτή μπορεί να οδηγήσουν σε ελλιπή συμπύκνωση της χρωματίνης και ελλιπή επιδιόρθωση θραυσμάτων του DNA [38], τα οποία με τη σειρά τους θα μπορούσαν να επηρεάσουν αρνητικά το αποτέλεσμα της ΙΥΑ.

5. Συμπεράσματα

Επομένως, η συμπύκνωση της πυρηνικής χρωματίνης και το πλοειδικό προφίλ των σπερματοζωαρίων αποτελούν κρίσιμες παραμέτρους για την επιτυχή έκβαση της IVF και της ICSI. Μετά την επιβεβαίωση των ευρημάτων μας σε μεγαλύτερες πληθυσμιακές ομάδες, η ΚΡΣ θα μπορούσε να βοηθήσει στην καλύτερη αξιολόγηση των δειγμάτων σπέρματος καταδεικνύοντας σε ποια δείγματα είναι απαραίτητη η εφαρμογή μικρογονιμοποίησης, καθώς και σε ποιες περιπτώσεις είναι ίσως προτιμότερη η χρήση σπερματοζωαρίων από ορλικές βιοψίες. Τέλος, ο συνδυασμός της ΚΡΣ με μεθόδους επιλογής σπερματοζωαρίων θα μπορούσε να βοηθήσει στον διαχωρισμό και στην απομόνωση σπερματοζωαρίων με φυσιολογική απλοειδική γενετική σύσταση και πλήρη συμπύκνωση της πυρηνικής χρωματίνης από «χαμηλής ποιότητας» δείγματα σπέρματος. ●

Σύγκρουση συμφερόντων: Καμία

Abstract

Introduction: Sperm concentration, motility and morphology constitute the major conventional parameters, which are taken into account for the selection of the appropriate assisted reproduction technique. However, a remarkable rate of these couples fails to achieve a pregnancy, suggesting the need of additional parameters for the evaluation of semen quality.

Purpose: In the current study, we sought to investigate the impact of sperm nuclear chromatin condensation and ploidy on assisted reproduction techniques.

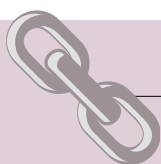
Material & Methods: 130 couples undergoing *in vitro* fertilization (IVF) and 150 couples undergoing intracytoplasmic sperm injection (ICSI) due to male factor infertility were studied. Conventional semen analysis was performed in all participants, accompanied by sperm flow cytometry (SFC), after Acridine Orange and Propidium Iodide staining, for the evaluation of sperm nuclear chromatin condensation and ploidy, respectively.

Results: In both study populations, significantly increased fertilization rates, embryo quality and clinical pregnancy rates were observed in couples with high levels of sperm nuclear chromatin condensation. Furthermore, couples with low aneuploidy rates presented with higher fertilization rates, embryo quality and clinical pregnancy rates, compared to couples with high aneuploidy rates.

Conclusions The above findings show that sperm nuclear chromatin condensation and ploidy constitute critical parameters for the evaluation of sperm quality and strongly support the use of SFC as a potential prognostic tool of IVF and ICSI outcome.

KEY WORDS

aneuploidy;
assisted
reproduction; flow
cytometry; male
infertility; nuclear
chromatin;
spermatozoa



Βιβλιογραφική παραπομπή άρθρου

Λάζαρος Λ, Βαρθολομάτος Γ, Κίτσου Χ, Ζηκόπουλος Κ, Χατζή Ε, Γεωργίου Ι. Η σημασία της συμπύκνωσης της πυρηνικής χρωματίνης και του πλοειδικού προφίλ των σπερματοζωαρίων στην Ιατρικώς Υποβοηθούμενη Αναπαραγωγή. *Αναπαραγωγή* 2017; 2: 8-20.

Βιβλιογραφικές παραπομπές

1. Kramer JA, Krawetz SA. Determining the potentiative state of a chromatin domain. *Biotechniques* 1997; 22: 879-82.
2. Sakkas D, Manicardi G, Bianchi PG, Bizzaro D, Bianchi U. Relationship between the presence of endogenous nicks and sperm chromatin packaging in maturing and fertilizing mouse spermatozoa. *Biol Reprod* 1995; 52(5): 1149-55.
3. Roux C, Dadoune JP. Use of acridine orange staining on smears of human spermatozoa after heat-treatment: Evaluation of the chromatin condensation. *Andrologia* 1989; 21: 275-81.
4. Golan R, Cooper TG, Oschry Y, Oberpenning F, Schulze H, Shochat L. Changes in chromatin condensation of human spermatozoa during epididymal transit as determined by flow cytometry. *Hum Reprod* 1996; 11: 1457-62.
5. De Braekeleer M, Dao TN. Cytogenetic studies in couples experiencing repeated pregnancy losses. *Hum Reprod* 1990;5 : 519-28.
6. Mateizel I, Verheyen G, Van Assche E, Tournaye H, Liebaers I, Van Steirteghem A. FISH analysis of chromosome X, Y and 18 abnormalities in testicular sperm from azoospermic patients. *Hum Reprod* 2002; 17: 2249-57.
7. Calogero AE, Burrello N, De Palma A, Barone N, D'Agata R, Vicari E. Sperm aneuploidy in infertile men. *Reprod Biomed Online* 2003; 6: 310-7.
8. Pang MG, Kim YJ, Lee SH, Kim CK. The high incidence of meiotic errors increases with decreased sperm count in severe male factor infertilities. *Hum Reprod* 2005; 20: 1688-94.
9. Evenson D, Darzynkiewicz Z, Jost L, Janca F, Ballachey B. Changes in accessibility of DNA to various fluorochromes during spermatogenesis. *Cytometry* 1986; 7: 45-53.
10. Spanò M, Evenson DP. Flow cytometric analysis for reproductive biology. *Biol Cell* 1993; 78: 53-62.
11. Lazaros L, Kaponis A, Vartholomatos G, Hatzi E, Botsari St, Plachouras N, et al. Using semen flow cytometry to evaluate association of ploidy status and chromatin condensation of spermatozoa with conventional semen parameters. Clinical application in intrauterin insemination. *Fertil Steril* 2011; 95: 110-5.
12. Golan R, Shochat L, Weissenberg R, Soffer Y, Marcus Z, Oschry Y, et al. Evaluation of chromatin condensation in human spermatozoa: A flow cytometric assay using Acridine Orange staining. *Mol Hum Reprod* 1997; 3: 47-54.
13. Lazaros L, Fotaki A, Pamporaki C, Hatzi E, Kitsou C, Zikopoulos A, et al. The ovarian response to standard gonadotrophin stimulation is influenced by AMHRII genotypes. *Gynecol Endocrinol* 2016; 2: 1-5.
14. Gandini L, Lombardo F, Paoli D, Caruso F, Eleuteri P, Leter G, et al. Full-term pregnancies achieved with ICSI despite high levels of sperm chromatin damage. *Hum Reprod* 2004; 19: 1409-17.
15. Fatehi AN, Bevers MM, Schoevers E, Roelen BA, Colenbrander B, Gadella BM. DNA damage in bovine sperm does not block fertilization and early embryonic development but induces apoptosis after the first cleavages. *J Androl* 2006; 27: 176-88.
16. Spanò M, Bonde JP, Hjøllund HI, Kolstad HA, Cordelli E, Leter G. Sperm chromatin damage impairs human fertility. The Danish First Pregnancy Planner Study Team. *Fertil Steril* 2000; 73: 43-50.
17. Seli E, Gardner DK, Schoolcraft WB, Moffatt O, Sakkas D. Extent of nuclear DNA damage in ejaculated spermatozoa impacts on blastocyst development after in vitro fertilization. *Fertil Steril* 2004; 82: 378-83.
18. Zini A, Boman JM, Belzile E, Ciampi A. Sperm DNA damage is associated with an increased risk of pregnancy loss after IVF and ICSI: Systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod* 2008; 23: 2663-8.
19. Aoki VW, Liu L, Carrell DT. Identification and evaluation of a novel sperm protamine abnormality in a population of infertile males. *Hum Reprod* 2005; 20: 1298-306.
20. Sakkas D, Urner F, Bianchi PG, Bizzaro D, Wagner I, Jaquenoud N, et al. Sperm chromatin anomalies can influence decondensation after intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod* 1996; 11: 837-43.
21. Cebesoy FB, Aydos K, Unlu C. Effect of sperm chromatin damage on fertilization ratio and embryo quality post-ICSI. *Arch Androl* 2006;52: 397-402.
22. Simon L, Castillo J, Oliva R, Lewis SE. Relationships



- between human sperm protamines, DNA damage and assisted reproduction outcomes. *Reprod Biomed Online*. 2011; 23: 724-34.
23. Pregl Breznik B, Kovacic B, Vlasisavljevic V. Are sperm DNA fragmentation, hyperactivation, and hyaluronan-binding ability predictive for fertilization and embryo development in in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection? *Fertil Steril* 2013; 99: 1233-41.
 24. Esbert M, Pacheco A, Vidal F, Florensa M, Riqueros M, Ballesteros A, et al. Impact of sperm DNA fragmentation on the outcome of IVF with own or donated oocytes. *Reprod Biomed Online* 2011;23: 704-10.
 25. Larson KL, DeJonge CJ, Barnes AM, Jost LK, Evenson DP. Sperm chromatin structure assay parameters as predictors of failed pregnancy following assisted reproductive techniques. *Hum Reprod* 2000; 15: 1717-22.
 26. Bungum M, Humaidan P, Spanó M, Jepson K, Bungum L, Giwercman A. The predictive value of sperm chromatin structure assay (SCSA) parameters for the outcome of intrauterine insemination, IVF and ICSI. *Hum Reprod* 2004; 19: 1401-8.
 27. Nuñez-Calonge R, Caballero P, López-Fernández C, Guijarro JA, Fernández JL, Johnston S, et al. An improved experimental model for understanding the impact of sperm DNA fragmentation on human pregnancy following ICSI. *Reprod Sci* 2012; 19: 1163-8.
 28. Tang SS, Gao H, Zhao Y, Ma S. Aneuploidy and DNA fragmentation in morphologically abnormal sperm. *Int J Androl* 2010; 33: e163-79.
 29. Dul EC, van Echten-Arends J, Groen H, Dijkhuizen T, Land JA, van Ravenswaaij-Arts CM. Chromosomal abnormalities in azoospermic and non-azoospermic infertile men: Numbers needed to be screened to prevent adverse pregnancy outcomes. *Hum Reprod* 2012; 27: 2850-6.
 30. Durakbasi-Dursun HG, Zamani AG, Kutlu R, Görkemli H, Bahce M, Acar A. A new approach to chromosomal abnormalities in sperm from patients with oligoasthenoteratozoospermia: Detection of double aneuploidy in addition to single aneuploidy and diploidy by five-color fluorescence in situ hybridization using one probe set. *Fertil Steril* 2008; 89: 1709-17.
 31. Figueira Rde C, Braga DP, Setti AS, Iaconelli A Jr, Borges E Jr. Morphological nuclear integrity of sperm cells is associated with preimplantation genetic aneuploidy screening cycle outcomes. *Fertil Steril* 2011; 95: 990-3.
 32. Vicari E, de Palma A, Burrello N, Longo G, Grazioso C, Barone N, et al. Absolute polymorphic teratozoospermia in patients with oligo-asthenozoospermia is associated with an elevated sperm aneuploidy rate. *J Androl* 2003; 24: 598-603.
 33. Kahraman S, Akarsu C, Cengiz G, Dirican K, Sözen E, Can B, et al. Fertility of ejaculated and testicular megalohed spermatozoa with intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod* 1999; 14: 726-30.
 34. Ghoraiean P, Mozdarani H, Aleyasin A, Alizadeh-Nili H. Frequency of sex chromosomal disomy in spermatozoa of normal and oligozoospermic Iranian patients and its effects on fertilisation and implantation rates after ICSI. *Andrologia* 2013; 45: 46-55.
 35. Rubio C, Gil-Salom M, Simon C, Vidal F, Rodrigo L, Minguez Y, et al. Incidence of sperm chromosomal abnormalities in a risk population: Relationship with sperm quality and ICSI outcome. *Hum Reprod* 2001;16: 2084-2092.
 36. Calogero AE, De Palma A, Grazioso C, Barone N, Burrello N, Palermo I, et al. High sperm aneuploidy rate in unselected infertile patients and its relationship with intracytoplasmic sperm injection outcome. *Hum Reprod* 2001; 16: 1433-9.
 37. Burrello N, Vicari E, Shin P, Agarwal A, De Palma A, Grazioso C, et al. Lower sperm aneuploidy frequency is associated with high pregnancy rates in ICSI programmes. *Hum Reprod* 2003; 18: 1371-6.
 38. Sakkas D, Alvarez JG. Sperm DNA fragmentation: Mechanisms of origin, impact on reproductive outcome, and analysis. *Fertil Steril* 2010;93: 1027-36.
 39. Suganuma R, Yanagimachi R, Meistrich ML. Decline in fertility of mouse sperm with abnormal chromatin during epididymal passage as revealed by ICSI. *Hum Reprod* 2005; 20: 3101-8.
 40. Marcon L, Boissonneault G. Transient DNA strand breaks during mouse and human spermiogenesis new insights in stage specificity and link to chromatin remodeling. *Biol Reprod* 2004; 70: 910-8.

Χρωμοσωμικά αίτια υπογονιμότητας

Αριάδνη Καλπίνη Μαύρου

Καθηγήτρια Γενετικής

Ελληνική περίληψη

Περίληψη: Το πρόβλημα της υπογονιμότητας απασχολεί το 15% περίπου των ζευγαριών και πρέπει να εξετάζεται στο πλαίσιο του συγκεκριμένου ζεύγους και όχι των δύο συντρόφων ξεχωριστά.

Επιδημιολογικές μελέτες αποκαλύπτουν ότι σε ζευγάρια με υπογονιμότητα οι χρωμοσωμικές ανωμαλίες ανευρίσκονται συχνότερα στους άνδρες από ότι στις γυναίκες, αλλά και στους δύο οι ανωμαλίες των χρωμοσωμάτων του φύλου είναι οι συχνότερες. Το συχνότερο αίτιο υπογονιμότητας στη γυναίκα είναι το σ. Turner ή άλλες ανακατατάξεις του χρωμοσώματος X και σπανιότερα ισοζυγισμένες μεταθέσεις των αυτοσωματικών χρωμοσωμάτων. Στις περιπτώσεις ισοζυγισμένων μεταθέσεων του χρωμοσώματος X με αυτοσωματικό χρωμόσωμα η γονιμότητα εξαρτάται από το σημείο θραύσης του χρωμοσώματος X. Πρώιμη εμμηνόπαυση παρατηρείται επίσης σε γυναίκες φορείς του συνδρόμου εύθραυστου X.

Στον άνδρα, οι περισσότερες γνωστές γονιδιακές και χρωμοσωμικές ανωμαλίες επηρεάζουν τον αριθμό και την κινητικότητα των σπερματοζωαρίων. Σαν αίτιο υπογονιμότητας είναι κυρίως το σ. Klinefelter, και σπανιότερα οι αμοιβαίες μεταθέσεις και οι μεταθέσεις ακροκεντρικών χρωμοσωμάτων. Οι μικροελλείψεις στα μακρά σκέλη του Y χρωμοσώματος που ανιχνεύονται με μοριακές τεχνικές θεωρούνται η δεύτερη πιο συχνή αιτία στειρότητας στον άνδρα μετά το σύνδρομο Klinefelter, ενώ η πιθανή σημασία των πολυμορφισμών των χρωμοσωμάτων αξιολογείται σε μεγάλες πολυκεντρικές μελέτες.



Υπεύθυνος αλληλογραφίας:

Αριάδνη Καλπίνη-Μαύρου, Καθηγήτρια Γενετικής, Genesis Genoma Lab, Αθήνα 15232,
Τηλ.: 210 6803130, E-mail: amavrou@genlab.gr

Υπογονιμότητα θεωρείται η αδυναμία σύλληψης, ή η αδυναμία ολοκλήρωσης εγκυμοσύνης και γέννησης ζωντανού παιδιού. Το πρόβλημα είναι αρκετά συχνό αφού απασχολεί το 15% των ζευγαριών και πρέπει να εξετάζεται στο πλαίσιο του συγκεκριμένου ζεύγους και όχι των δύο συντρόφων ξεχωριστά.

Από τις διάφορες αιτίες υπογονιμότητας που αναφέρονται και αφορούν τον άνδρα ή τη γυναίκα ένα μέρος είναι γενετικής αιτιολογίας. Ο γενετικός έλεγχος του υπογόνιμου ζεύγους έχει ιδιαίτερη σημασία και πρέπει να περιλαμβάνει μελέτη για χρωμοσωμικές ανωμαλίες, μονογονιδιακά ή πολυπαραγοντικά σύνδρομα.



Χρωμοσωμικές ανωμαλίες

Ως ανευπλοειδία των χρωμοσωμάτων ορίζεται η αλλαγή στον αριθμό τους από το φυσιολογικό διπλοειδές και μπορεί να αφορά την πλήρη ή μερική αύξηση ή ελάττωση ολόκληρου ή τμήματος ενός χρωμοσώματος. Οι δομικές ανωμαλίες μπορεί επίσης να οδηγήσουν σε αύξηση ή ελάττωση τμήματος χρωμοσώματος.

Είναι γνωστό ότι οι χρωμοσωμικές ανωμαλίες είναι συχνές κατά τη σύλληψη και αποτελούν ένα από τα κύρια αίτια αποβολής κατά το πρώτο κυρίως τρίμηνο της εγκυμοσύνης, επειδή τα ανευπλοειδικά έμβρυα αποβάλλονται αυτομάτως, συχνά πριν ακόμη γίνει κλινικά αντιληπτή η εγκυ-

μοσύνη. Έχει παρατηρηθεί ότι η απώλεια χρωμοσώματος (μονοσωμία) είναι πιο επιβλαβής από την τρισωμία. Μόνο η μονοσωμία για το χρωμόσωμα του φύλου X είναι συμβατή με τη ζωή, κυρίως λόγω της φυσιολογικής αδρανοποίησης στις γυναίκες του ενός χρωμοσώματος X. Επίσης, ορισμένα έμβρυα με τρισωμίες των χρωμοσωμάτων 13, 18, 21, μπορεί να φτάσουν μέχρι το τέλος της κύησης, στην πλειοψηφία τους όμως αποβάλλονται. Στο σύνολο τους, σε ζευγάρια με υπογονιμότητα οι χρωμοσωμικές ανωμαλίες ανευρίσκονται πιο συχνά στους άνδρες απ' ό,τι στις γυναίκες, ενώ και στις δύο περιπτώσεις οι ανωμαλίες των χρωμοσωμάτων του φύλου είναι οι συχνότερες.

Όσον αφορά τα αυτοσωματικά χρωμοσώματα, οι ισοζυγισμένες μεταθέσεις ακροκεντρικών χρωμοσωμάτων και οι αναστροφές αναφέρονται σπανίως σαν αίτια σοβαρής υποσπερματογένεσης και ολιγοσπερμίας, ενώ οι μεταθέσεις ακροκεντρικών χρωμοσωμάτων θεωρούνται συχνότερο αίτιο υπογονιμότητας στον άνδρα παρά στην γυναίκα (**Εικόνα 1**). Επίσης, οι μεταθέσεις μεταξύ φυλετικού χρωμοσώματος και αυτοσωματικού θεωρούνται σπάνια αίτια υπογονιμότητας, ενώ πολύπλοκες χρωμοσωμικές ανακατατάξεις και δακτυλιοειδή χρωμοσώματα δυσκολεύουν την κυτταρική διαίρεση και συχνά οδηγούν σε αζωοσπερμία στον άνδρα με μικρότερες επιπτώσεις στην γυναίκα.

Η συχνότητα ανίχνευσης ανωμαλιών του καρυοτύπου σε ζευγάρια με υπογονιμότητα εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από τον τρόπο αποκάλυψης και στη βιβλιογραφία αναφέρονται διαφορετικές συχνότητες.

Στη Γαλλία, π.χ., σε μελέτη καρυοτύπου ζευγαριών που προσήλθαν για τεχνητή γονιμοποίηση με τη μέθοδο ICSI σε διάφορα κέντρα υποβοηθούμενης αναπαραγωγής παρατηρήθηκε ότι 6,1% των ανδρών και 2,1% των γυναικών είχαν χρωμοσωμικές ανωμαλίες. Το γεγονός αυτό έχει ιδιαίτερη σημασία επειδή αφορά μία ομάδα όπου ήταν ήδη τεκμηριωμένο ότι το πρόβλημα της στειρότητας οφείλετο στον άνδρα. Αντίστοιχα ποσοστά αναφέρονται και σε άλλες παρόμοιες μελέτες. Υπάρχει διαφορά μόνο στους άνδρες, ανάλογα με τη σοβαρότητα της αζωοσπερμίας.

Αίτια υπογονιμότητας στην γυναίκα

Είναι γνωστό ότι η γονιμότητα στη φυσιολογική γυναίκα μειώνεται σταδιακά μετά την ηλικία των 35 ετών, όταν αρχίζει και η παράλληλη αύξηση του κινδύνου για σύλληψη τρισωμικού εμβρύου και η πιθανότητα αποτυχίας στην εξωσωματική γονιμοποίηση. Ως πιθανός παράγοντας θεωρείται η μείωση, λόγω ηλικίας, της λειτουργικής ικανότητας της ατράκτου που ελέγχει τον φυσιολογικό διαχωρισμό των χρωμοσωμάτων και οδηγεί στη δημιουργία ανευλοειδών γαμετών.

Στις γυναίκες, οι χρωμοσωμικές ανωμαλίες του φύλου, κυρίως η μονοσωμία X (σ. Turner) και διάφορες παραλλαγές του ευθύνονται για ορισμένες περιπτώσεις υπογονιμότητας, η οποία μπορεί να είναι είτε πρωτοπαθής, δηλαδή η γυναίκα δεν ήταν ποτέ γόνιμη, είτε δευτεροπαθής.

Οι περιπτώσεις πρωτοπαθούς αμηνόρροιας μπορεί να οφείλονται σε ανευλοειδίες του χρωμοσώματος X (8%), δομικές ανωμαλίες του X (7%), παρουσία Y χρωμοσώματος (14%) ή παρουσία υπεράριθμου χρωμοσωμικού θραύσματος (2%).

Μεταθέσεις μεταξύ του χρωμοσώματος X και αυτοσωματικών χρωμοσωμάτων, παρ' όλων ό,τι είναι πολύ σπάνιες, μπορεί να επηρεάσουν τη γονιμότητα ανάλογα με τα σημεία θραύσης στο χρωμόσωμα X. Είναι σημαντικό να παραμένει ακέραια η κρίσιμη περιοχή στα μακρά σκέλη του χρωμοσώματος X (Xq23-q26) η οποία είναι απαραίτητη για τη φυσιολογική ωοθηκική λειτουργία.

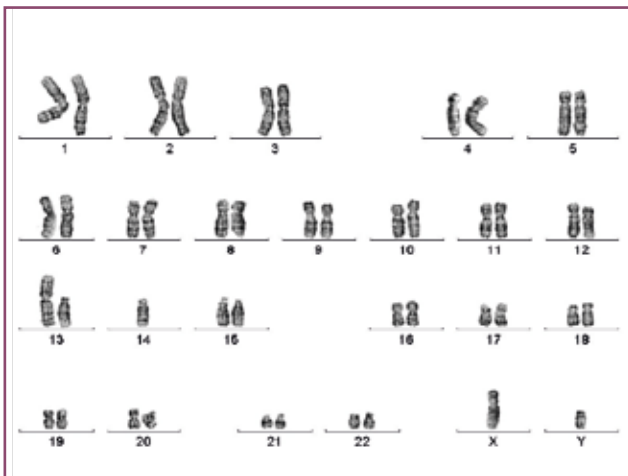
Στις ισοζυγισμένες μεταθέσεις, ο φαινότυπος εξαρτάται από το σημείο θραύσης και τη λειτουργικότητα του χρωμοσώματος X με τη μετάθεση. Η αδρανοποίηση δεν είναι τυχαία, αλλά αδρανοποιείται συνήθως το φυσιολογικό X, επειδή αν αδρανοποιηθεί το εν μεταθέσει χρωμόσωμα θα παρέσυρε στην αδρανοποίηση και το τμήμα του αυτοσωματικού. Επειδή η μονοσωμία για αυτοσωματικά χρωμοσώματα δεν είναι συμβατή με τη ζωή, αδρανοποιείται αναγκαστικά το φυσιολογικό X. Εάν η μετάθεση X; αυτοσωματικού δεν είναι ισοζυγισμένη τότε κατά κανόνα παραμένει ενεργό το φυσιολογικό X, ενώ το εν μεταθέσει αδρανοποιείται σε μερικά κύτταρα.

Γόνιμες γυναίκες με σημεία θραύσης έξω από την κρίσιμη περιοχή Xq13-q26 μπορεί να έχουν φυσιολογικό φαινότυπο και να μεταφέρουν την μετάθεση στους απογόνους τους.

Τα αυτοσωματικά χρωμοσώματα που εμπλέκονται συχνότερα σε μεταθέσεις με το X είναι τα ακροκεντρικά 15, 21 και 22. Πιθανολογείται ότι το *DIAPH2* στο Xq22 είναι ένα από τα γονίδια που καθορίζουν την ωοθηκική λειτουργία.

Άλλο αίτιο δευτεροπαθούς υπογονιμότητας μπορεί να είναι η πρόωρη εμμηνόπαυση. Αναφέρεται ότι 13% γυναικών με πρόωρη εμμηνόπαυση έχουν ανωμαλίες που αφορούν το χρωμόσωμα X.

Πρώιμη εμμηνόπαυση παρατηρείται επίσης σε γυναίκες φορείς του συνδρόμου εύθραυστου X. Το σύνδρομο αυτό είναι ένα φυλοσύνδετο μονογονιδιακό νόσημα που προκαλεί διαφόρου βαθμού νοητική υστέρηση και



Εικόνα 1. Καρυότυπος άνδρα φορέα ισοζυγισμένης μετάθεσης (45,XY,t(13;14))

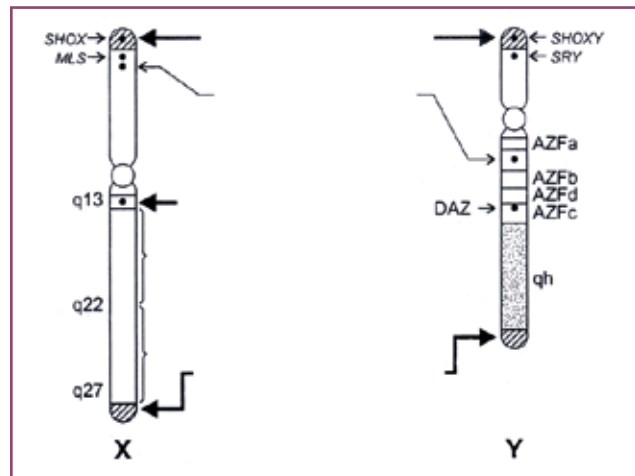
χαρακτηριστικό προσώπειο στους άνδρες. Το γονίδιο FMR1 βρίσκεται στη χρωμοσωμική θέση Xq27 και περιέχει την ασταθή επαναλαμβανόμενη CGG αλληλουχία, που επαναλαμβάνεται από 6-60 φορές. Επέκταση της τριπλέτας από 60-200 φορές ονομάζεται προμετάλλαξη και πάνω από 200 επαναλήψεις πλήρους μετάλλαξη, η οποία οδηγεί στην εμφάνιση του συνδρόμου Ευθραύστου X. Η προμετάλλαξη, στις γυναίκες φορείς προκαλεί πρόωρη εμμηνόπαυση στο περίπου 20% των περιπτώσεων. Αναφέρεται ότι 3% των σποραδικών και 12-15% των οικογενών περιπτώσεων πρόωρης εμμηνόπαυσης σχετίζονται με την προμετάλλαξη του σ. Ευθραύστου X. Παρ' όσον ότι η παθοφυσιολογία της προμετάλλαξης στις γυναίκες φορείς παραμένει άγνωστη, το εύρημα αυτό θεωρείται σαν θετικό βήμα στην εντόπιση γενετικού τύπου που σχετίζεται με την πρόωρη εμμηνόπαυση.

Αίτια υπογονιμότητας στον άνδρα

Στον άνδρα, οι περισσότερες γνωστές γονιδιακές και χρωμοσωμικές ανωμαλίες επηρεάζουν τον αριθμό και την κινητικότητα των σπερματοζωαρίων, πιθανολογείται όμως ότι υπάρχουν και γονιδιακές μεταλλάξεις που αφορούν τη μορφολογία τους.

Ενώ η συχνότητα των χρωμοσωμικών ανωμαλιών στο γενικό πληθυσμό είναι περίπου 0,6%, ανωμαλίες του καρυότυπου αναφέρονται στο 2%-14% των ανδρών με υπογονιμότητα, και η συχνότητα αυτή αυξάνεται αναλογικά με την βαρύτητα της υπογονιμότητας.

Άνδρες με καρυότυπο 47,XXY ή άλλες παραλλαγές που προκαλούν την εμφάνιση συνδρόμου Klinefelter, έχουν αζωοσπερμία, χωρίς να είναι γνωστή η παθοφυσιολογία. Έχει διαπιστωθεί η θεωρία ότι η παρουσία του



Εικόνα 2. Διάγραμμα χρωμοσωμάτων X (2A) και Y (2B). Σημειώνονται οι θέσεις χαρακτηριστικών γονιδίων

υπεράριθμου χρωμοσώματος X παρεμποδίζει τη φυσιολογική σπερματογένεση.

Ισοζυγισμένες μεταθέσεις των χρωμοσωμάτων αναφέρονται στο 1-2% των ανδρών με σοβαρή ολιγοσπερμία και αζωοσπερμία, χωρίς να είναι γνωστό εάν είναι το αίτιο της αζωοσπερμίας, ενώ σε περίπου 3% των περιπτώσεων αναφέρεται μετάθεση μεταξύ των ακροκεντρικών 13 και 14 (**εικόνα 1**). Ισοζυγισμένες μεταθέσεις μεταξύ X και αυτοσωμικού χρωμοσώματος στον άνδρα προκαλούν αζωοσπερμία.

Όσον αφορά τη σχέση των χρωμοσωμικών ανωμαλιών με την υπογονιμότητα, πρέπει να τονιστεί ότι τόσο στην ωογένεση όσο και στη σπερματογένεση είναι σημαντικό να διατηρηθεί κατά τη μείωση η ακεραιότητα της σύναψης του X και του Y και ο ανασυνδυασμός στις ψευδοαυτοσωματικές περιοχές των άκρων του Xp και του Yp. Η κύρια ψευδοαυτοσωματική περιοχή των βραχέων σκελών του Y περιέχει ομόλογες γονιδιακές θέσεις με του X, ενώ η δευτερεύουσα ψευδοαυτοσωματική περιοχή στα άκρα των Xq και Yq, και η απώλεια της από τα μακρά σκέλη του Y φαίνεται ότι δεν έχει φαινοτυπικές επιπτώσεις.

Σε περιπτώσεις ανδρών με ολιγοσπερμία και φυσιολογικό καρυότυπο έχει παρατηρηθεί αύξηση σε ανευπλοειδία και διπλοειδείς στο σπέρμα και οι δισωμίες αφορούν κυρίως τα χρωμοσώματα του φύλου. Το φαινόμενο αυτό είναι πιο έκδηλο στους άνδρες με σοβαρή ολιγοσπερμία και σε άνδρες άνω των 40 ετών. Σε μελέτη των Vegetti και συν υπήρχε συσχέτιση μεταξύ του αριθμού και της κινητικότητας των σπερματοζωαρίων και της αύξησης της ανευπλοειδίας για τα χρωμοσώματα 13, 18, 21, X και Y.

Άλλες μελέτες δείχνουν επίσης την ύπαρξη ανευπλοειδίας στα σπερματοζώαρια μη γόνιμων ανδρών με κακή ποιότητα σπέρματος. Άνδρες με σοβαρή τετατοζωοσπερμία έχουν αυξημένη συχνότητα δισωμίας στο σπέρμα που αφορά κυρίως τα χρωμοσώματα 8, 18, X και Y, και επομένως αυξημένο κίνδυνο να αποκτήσουν παιδί με ανευπλοειδεία.

Μικροελλείψεις του χρωμοσώματος Y

Ένας βασικός παράγοντας της ανδρικής γονιμότητας βρίσκεται στο χρωμόσωμα Y και κυρίως στην περιοχή του παράγοντα αζωοσπερμίας AZF (**Εικόνα 2**). Εάν αποκλεισθούν άλλοι παράγοντες αζωοσπερμίας ή ολιγοσπερμίας, το ποσοστό υπογονιμότητας που οφείλεται σε ελλείψεις του παράγοντα AZF κυμαίνεται μεταξύ 10-20%.

Μικροελλείψεις του Y χρωμοσώματος θεωρούνται η δεύτερη πιο συχνή αιτία στειρότητας στον άνδρα μετά το σύνδρομο Klinefelter.

Ο σκοπός ύπαρξης του Y χρωμοσώματος είναι να οδηγή στην εξέλιξη του εμβρύου σε αρσενικό. Το γονίδιο που ρυθμίζει τον καθορισμό των γονάδων είναι το SRY και βρίσκεται στην ευχρωματινική περιοχή των βραχέων σκελών του, 5 kb από το όριο της ψευδοαυτοσωματικής περιοχής. Όσον αφορά την αναπαραγωγική ικανότητα, 3 περιοχές με παράγοντες αζωοσπερμίας βρίσκονται στο Yq, στην περιοχή του παράγοντα αζωοσπερμίας AZF στα μακρά σκέλη, όπου υπάρχουν γονιδιακές θέσεις για την σπερματογένεση. Το μισό περίπου Y χρωμόσωμα αποτελείται από γενετικά αδρανή ετεροχρωματίνη η οποία αποτελείται από επαναλαμβανόμενες DNA αλληλουχίες.

Η αρχική αποκάλυψη των μικροελλείψεων του Y έγινε το 1976 από τους κυτταρογενετιστές Tierolo και Zufardí, οι οποίοι περιέγραψαν 6 αζωοσπερμικούς άνδρες με ελλείψεις ορατές στο μικροσκόπιο και πρότειναν ότι η σπερματογένεση κωδικοποιείται από γονίδια στο Yq. Οι ελλείψεις δεν είναι συνήθως ορατές κυτταρογενετικά και η αποκάλυψη τους γίνεται με μοριακές τεχνικές. Πιθανολογείται ότι συμβαίνουν κατά το διπλασιασμό του DNA και προκύπτουν από άνιση ανταλλαγή υλικού αδελφών χρωματίδων. Υπάρχουν 3 κύριες περιοχές στην περιοχή AZF οι a,b, και c, η d θεωρείται μέρος της c και ελλείψεις σε μία ή περισσότερες παρεμποδίζουν τη σπερματογένεση ή τη διακόπτουν οριστικά. Το μέγεθος της περιοχής AZFa υπολογίζεται σε 1Mb, του AZFb σε 1,5 Mb και του AZFc σε 3 Mb. Κάθε περιοχή επομένως είναι αρκετά μεγάλη για να περιέχει διάφορα υποψήφια γονίδια που μπορεί να διαταράσσονται με τις ελλείψεις στους άνδρες με υπογονιμότητα.

Η συχνότερη έλλειψη αφορά την περιοχή AZFc, η οποία περιέχει την DAZ οικογένεια γονιδίων και φαίνεται ότι προϊόντα των διπλασιασμένων αυτών γονιδιακών θέσεων είναι απαραίτητα για τη σπερματογένεση. Ενώ αρχικά θεωρήθηκε ότι επρόκειτο για ένα μόνο γονίδιο, σήμερα γνωρίζουμε ότι πρόκειται για οικογένεια γονιδίων με πολλαπλά αντίγραφα. Τα DAZ γονίδια εκφράζονται αποκλειστικά στον ορχικό ιστό και κωδικοποιούν για πρωτεΐνες που ρυθμίζουν τον μεταβολισμό του RNA. Βρίσκονται στις σπερματίδες και στις ουρές των ώριμων σπερματοζωαρίων, παρουσιάζουν μεγάλου βαθμού ομολογία με γονίδια του ποντικού και της Δροσόφιλλας και πιθανολογείται ότι έχουν διατηρηθεί κατά την εξέλιξη και ελέγχουν την μειωτική διαίρεση.

Σύμφωνα με τη θεωρία αυτή άνδρες με ελλείψεις στο γονίδιο DAZ δεν μπορούν να παράγουν ώριμο σπέρμα.

Το πρώτο AZF γονίδιο που ταυτοποιήθηκε ήταν το RP-MY1A1. Πρόκειται για οικογένεια 20 με 50 γονιδίων για τα οποία δεν αναφέρεται συγκεκριμένος ρόλος στην σπερματογένεση, ανοσοιστοχημικές μελέτες όμως δείχνουν ότι η πρωτεΐνη που παράγουν βρίσκεται στον πυρήνα των σπερματοζωαρίων. Πιθανολογείται ότι συμβάλλει στο πακετάρισμα του RNA, τη μεταφορά του στο κυτταρόπλασμα και την αποκοπή του. Είναι γνωστό ότι η πρωτεΐνη που παράγει το γονίδιο USP9Y δεν περιορίζεται στους όρχεις.

Τα ελλείμματα στις περιοχές του AZF παρουσιάζουν διαφορετική συχνότητα και κατά κανόνα ελλείψεις στο a και b είναι πιο σοβαρές από τις ελλείψεις στο c. Ελλείψεις στο AZFc είναι οι συχνότερες, φτάνουν το 79%, και ακολουθούν οι ελλείψεις στο AZFb (9%), στο AZFbc (6%), AZFa (3%) και στο AZFabc (3%).

Από το 1999, η ευρωπαϊκή ακαδημία ανδρολογίας και το ευρωπαϊκό δίκτυο μοριακής γενετικής υποστηρίζουν τη βελτίωση των διαγνωστικών μεθόδων με τη δημοσίευση οδηγιών για τον ορθό εργαστηριακό έλεγχο. Το πρωτόκολλο που συστήνουν να εφαρμόζεται για ανίχνευση των μικροελλείψεων και θεωρείται ακριβές και αξιόπιστο βασίζεται σε multiplex PCR αντιδράσεις για τον πολλαπλασιασμό των περιοχών ZFX στο βραχύ σκέλος του X, ZFY, SRY και θέσεις που καλύπτουν τρεις περιοχές του παράγοντα αζωοσπερμίας, SY84 και SY86 στην AZFa, SY127 και SY134 στην AZFb και SY254 και SY255 στην AZFc. Ο συνδυασμός αυτός επιτρέπει την ταυτοποίηση > 95% των ελλειμμάτων που αναφέρονται στη βιβλιογραφία για τις τρεις περιοχές του παράγοντα αζωοσπερμίας. Οι θέσεις SY 254 και SY255 αφορούν το DAZ που βρίσκεται σε 4 αντίγραφα και απουσία προϊόντος στην περιοχή αυτή σημαίνει έλλειψη.

Το ποσοστό ανίχνευσης ελλειμμάτων ποικίλει ανάλο-

γα με τον τρόπο επιλογής των ανδρών. Εάν αποκλεισθούν άλλοι παράγοντες αζωοσπερμίας ή ολιγοσπερμίας, το ποσοστό που οφείλεται σε ελλείψεις του παράγοντα AZF μπορεί να φτάνει το 10-20%.

Ανδρες με αζωοσπερμία έχουν υψηλότερο ποσοστό μικροελλείψεων από αυτούς με ολιγοσπερμία και όπως αναμένεται, ο γιός άνδρα με μικροέλλειψη στο Y χρωμόσωμα θα έχει επίσης πρόβλημα υπογονιμότητας, εφόσον θα μεταφέρει τη έλλειψη στο σπέρμα του. Η ελάττωση στη γονιμότητα μπορεί να είναι σχετική μόνο, ιδίως για τις ελλείψεις στο AZFc, δηλαδή σε νεαρή ηλικία οι άνδρες αυτοί μπορεί να είναι γόνιμοι, ή με μία πολύ γόνιμη γυναίκα να μπορέσουν να αποκτήσουν παιδιά.

Άλλα πιθανά αίτια υπογονιμότητας

Ετερομορφισμοί των χρωμοσωμάτων, όπως οι πολυμορφισμοί και οι δευτερογενείς περισφιξεις της ετεροχρωματικής περιοχής των χρωμοσωμάτων 1, 9, 16 και οι περικεντρικές αναστροφές, κυρίως του χρωμοσώματος 9, αναφέρονται σε ορισμένες μελέτες ως αίτια υπογονιμότητας στους άνδρες, επειδή πιθανολογείται ότι μπορεί να τροποποιήσουν τη σύναψη των ομολόγων χρωμοσωμάτων κατά τη μείωση. Επίσης, πιθανολογείται ότι η περικεντρική αναστροφή του Y χρωμοσώμα-

τος να προκαλέσει διαταραχή στην περιοχική αζωοσπερμίας σε υπογόνιμους άνδρες. Άλλες μελέτες συσχετίζουν την παρουσία υπεράριθμων χρωμοσωμικών θραυσμάτων στον καρυότυπο με την υπογονιμότητα, επειδή αναφέρονται συχνότερα μεταξύ υπογόνιμων ατόμων σε σχέση με τον φυσιολογικό πληθυσμό. Με τα σημερινά δεδομένα όμως η παρουσία τους δεν θεωρείται επαρκής αιτία για πρόκληση υπογονιμότητας και η σημασία τους αξιολογείται σε μεγάλες μελέτες.

Μέχρι σήμερα, τη διάγνωση της υπογονιμότητας δυσκόλευε το γεγονός ότι δεν ήταν κατανοητοί οι μηχανισμοί που την προκαλούσαν. Παρόλο ότι οι ερευνητές προσπάθησαν να μεταφράσουν τις γνώσεις τους από πειραματικά μοντέλα στον άνθρωπο, αναζητώντας μεταλλάξεις ή ελλείψεις γονιδίων που σχετίζονται με ιδιοπαθή υπογονιμότητα, οι έρευνες δεν έχουν ακόμη πλήρως αποδώσει, κυρίως λόγω του μεγάλου αριθμού των γονιδίων που εμπλέκονται και της πολυπλοκότητας του αναπαραγωγικού συστήματος. Πιστεύεται όμως ότι σύντομα η αντιμετώπιση των ασθενών αυτών με τη εφαρμογή πιο εξειδικευμένων μεθόδων ανίχνευσης και τεχνολογίας θα φέρει θετικά αποτελέσματα. ●

Σύγκρουση συμφερόντων: Καμία

Abstract

Infertility in man, which is estimated to affect approximately 15% of couples is a presently a major health problem. Epidemiological studies have revealed that the incidence of chromosome abnormalities is higher among men, but in both partners sex chromosome abnormalities are more frequent. In women various forms of Turner syndrome are often identified and rarely balanced translocations between an X chromosome and an autosome. The possibility of premature ovarian failure due to a premutation of Fragile X should also be tested.

In man, genetic causes of infertility affect the number and motility of sperm. Klinefelter syndrome is the main cause of infertility, while acrocentric and balanced chromosome translocation are less frequently identified. Microdeletions of the Y chromosome, detected by molecular techniques, is the second cause of male infertility. The role of chromosome polymorphisms and their significance in infertility in man is currently investigated.

KEY WORDS

infertility;
azoospermia;
chromosome
abnormalities;
Klinefelter syndrome;
Turner syndrome;
Y chromosome
microdeletions

Βιβλιογραφική παραπομπή άρθρου

Καλπίνη-Μαύρου Α. Χρωμοσωμικά αίτια υπογονιμότητας. *Αναπαραγωγή* 2017; 2: 21-26.

Βιβλιογραφικές παραπομπές

1. Anton E, Vidal F, Egozcue J, et al. Genetic reproductive risk in inversion carriers. *Fertil Steril* 2006; 85(3): 661-666.
2. Armanet N, Tosca L, Brisset S, et al. Small Supernumerary Marker Chromosomes in Human Infertility. *Cytogenet Genome Res* 2015; 146(2): 100-108.
3. Christofolini DM, Mafra FA, Neto RP, et al. Correlation between Chromosomal Variants and Male Infertility in a Population of Brazilian Infertile Men *Reproductive System & Sexual Disorders* 2011;1:1.
4. Clementini E, Palka C, Iezzi I, et al. Prevalence of chromosomal abnormalities in 2078 infertile couples referred for assisted reproductive techniques. *Hum Reprod* 2005; 20(2): 437-442.
5. Gekas J, Thepot F, Turleau C, et al. Association des Cytogeneticiens de Langue Francaise. Chromosomal factors of infertility in candidate couples for ICSI: An equal risk of constitutional aberrations in women and men. *Hum Reprod* 2001; 16(1): 82-90.
6. Madan K. Balanced complex chromosome rearrangements: reproductive aspects. A review. *Am J Med Genet A* 2012; 158A(4): 947-963.
7. Metaxotou C, Kalpini-Mavrou A, Panagou M, et al. Polymorphism of chromosome 9 in 600 Greek subjects. *Am J Hum Genet* 1978; 30(1): 85-89.
8. Neto FT, Bach PV, Najari BB, et al. Genetics of Male Infertility. *Curr Urol Rep* 2016; 17(10): 7.
9. O'Flynn O'Brien KL, Varghese AC, Agarwal A. The genetic causes of male factor infertility: A review. *Fertil Steril* 2010; 93(1): 1-12.
10. Sahin FI, Yilmaz Z, Yuregir OO, et al. Chromosome heteromorphisms: An impact on infertility. *J Assist Reprod Genet* 2008; 25(5): 191-195.
11. Tiepolo L, Zuffardi O. Localization of factors controlling spermatogenesis in the nonfluorescent portion of the human Y chromosome long arm. *Hum Genet* 1976; 34(2): 119-124.
12. Vegetti W, Van Assche E, Frias A, et al. Correlation between semen parameters and sperm aneuploidy rates investigated by fluorescence *in situ* hybridization in infertile men. *Hum Reprod* 2000; 15(2): 351-365.
13. Wosnitzer MS Genetic evaluation of male infertility. *Transl Androl Urol* 2014; 3(1): 17-26.
14. Yakin K, Balaban B, Urman B. Is there a possible correlation between chromosomal variants and spermatogenesis? *Int J Urol* 2005; 12(11): 984-989.

Μη επεμβατικός προγεννητικός έλεγχος του συστήματος Rhesus D του εμβρύου

Αγγελική Κολιαλέξη, Γεωργία Τούντα, Αλεξάνδρα Λυκούδη, Αριάδνη Μαύρου

Εργαστήριο Ιατρικής Γενετικής Πανεπιστημίου Αθηνών

Ελληνική περίληψη

Ανοσοποίηση λόγω ασυμβατότητας του συστήματος Rhesus D (RhD) σε κυήσεις RhD-αρνητικών γυναικών που κυοφορούν RhD-θετικό έμβρυο θεωρείται η συχνότερη αιτία αιμολυτικής νόσου του εμβρύου και του νεογνού. Πρόληψη της ευαισθητοποίησης μπορεί να πραγματοποιηθεί με χορήγηση υπεράνοσης γ-σφαιρίνης (αντί-D) σε όλες τις RhD-αρνητικές εγκύους που πιθανώς κυοφορούν RhD-θετικό έμβρυο. Η αντί-D όμως προέρχεται από ανθρώπινο ορό και θεωρητικά υπάρχει κίνδυνος μετάδοσης λοιμώδους νοσήματος. Επιπλέον τα αποθέματα αντί-D παγκοσμίως δεν είναι απεριόριστα και η οικονομική επιβάρυνση είναι σημαντική. Υπολογίζεται ότι 40% περίπου των RhD-αρνητικών εγκύων λαμβάνουν άσκοπα ανοσοπροφύλαξη αφού κυοφορούν RhD-αρνητικό έμβρυο.

Προγεννητικός έλεγχος του συστήματος RhD του εμβρύου είναι εφικτός με μελέτη γενετικού υλικού του εμβρύου που λαμβάνεται με αμνιοπαρακέντηση ή βιοψία τροφοβλάστης, οι τεχνικές αυτές όμως είναι επεμβατικές και έχουν 0,5-1,0% κίνδυνο αποβολής. Επιπλέον, στις RhD-αρνητικές εγκύους, αυξάνουν τον κίνδυνο ευαισθητοποίησης της μητέρας.

Η ύπαρξη ελεύθερου εμβρυϊκού DNA (cffDNA) στο περιφερικό αίμα της εγκύου έδωσε νέες δυνατότητες ανάπτυξης μη επεμβατικών τεχνικών προγεννητικού ελέγχου που χρησιμοποιούνται ευρέως για τη διαχείριση RhD-αρνητικών εγκύων με ακρίβεια διάγνωσης 100%. Σήμερα, στις περισσότερες Ευρωπαϊκές χώρες, όπως και στην Ελλάδα, εφαρμόζεται στην κλινική πράξη ο μη επεμβατικός προγεννητικός προσδιορισμός του RhD του εμβρύου.



Υπεύθυνος αλληλογραφίας:

Αγγελική Κολιαλέξη, Εργαστήριο Ιατρικής Γενετικής Πανεπιστημίου Αθηνών,
Χωρέμιο Ερευνητικό Εργαστήριο, Νοσοκομείο Παίδων Αγία Σοφία, Αθήνα 11527
Τηλ.: 210 7467462, Fax: 210 7795553. E-mail: akolial@med.uoa.gr

Το σύστημα Rhesus

Το σύστημα Rhesus (Rh) θεωρείται ένα από τα σημαντικότερα και πιο περίπλοκα συστήματα ομάδων αίματος, κυρίως λόγω του μεγάλου αριθμού αντιγόνων που περιλαμβάνει και των σοβαρών επιπλοκών που δημιουργεί στην κλινική πράξη.

Γενετική του συστήματος Rh

Οι σημαντικότερες πρωτεΐνες του συστήματος Rh είναι η RhD, που εκφράζει το D αντιγόνο, η RhCE που εκφρά-

ζει το C/c αντιγόνο, ταυτόχρονα με το E/e και η RhAG η οποία συνεκφράζεται στην μεμβράνη των ερυθροκυττάρων. Η σύνθεση των πρωτεϊνών του συστήματος Rh κωδικοποιείται από δύο ομόλογα γονίδια, τα RHD και RHCE, τα οποία βρίσκονται σε ένα σύμπλεγμα στην άκρη των βραχέων σκελών του χρωμοσώματος 1 (1p34-p36) και το RHAG που βρίσκεται στο χρωμόσωμα 6 (6p11-21.1). Τα RHD και RHCE έχουν παρόμοια δομή, το κάθε ένα αποτελείται από 10 εξόνια και παρουσιάζουν 96% ταύτιση στην αλληλουχία των αμινοξέων των πεπτιδί-

ων που κωδικοποιούν. Ομόζυγη έλλειψη του *RHD* γονιδίου είναι η κυριότερη αιτία του RhD-αρνητικού φαινοτύπου, ενώ τα άτομα με RhD-θετικό φαινότυπο φέρουν ένα ή δύο αντίγραφα του γονιδίου.

Η διάταξη των γονιδίων στην περιοχή έχει αντίθετο προσανατολισμό (tail-to-tail orientation), ενώ διαχωρίζονται από ένα τρίτο γονίδιο, το *SMP1*, που αποτελείται από 7 εξόνια. Εκατέρωθεν του *RHD* γονιδίου βρίσκονται δύο ομόλογες περιοχές μεγέθους 9-kb, γνωστές ως Rhesus boxes, με 98.6% ομοιότητα, πιθανώς ως αποτέλεσμα άνισου επικιασμού ανάμεσα στις δύο ομόλογες περιοχές.

Μοριακή βάση του RhD φαινοτύπου

Η κατάταξη ενός ατόμου σε Rh-θετικό ή αρνητικό καθορίζεται από την παρουσία ή απουσία της RhD πρωτεΐνης στη μεμβράνη των ερυθροκυττάρων. Η RhD πρωτεΐνη απουσιάζει πλήρως στα RhD-αρνητικά άτομα. Αντίθετα η RhCE ανιχνεύεται σχεδόν σε όλους τους φαινοτύπους. Η συχνότητα του RhD-αρνητικού φαινοτύπου στην Καυκάσια φυλή είναι 15-17%, στον Αφρικανικό πληθυσμό 3-5% και στους Ασιάτες ~ 0,1%. Στους Αφρικανούς, σε αντίθεση με την Καυκάσια φυλή, μόνο 18% των RhD-αρνητικών ατόμων έχουν ομόζυγη έλλειψη του *RHD* γονιδίου. Η συχνότερη αιτία αρνητικού φαινοτύπου στους Αφρικανούς είναι η ύπαρξη ενός δυσλειτουργικού ή σιωπηλού *RHD* γονιδίου. Σε ποσοστό 66% των ατόμων αυτών έχει παρατηρηθεί παρουσία ενός *RHD* ψευδογονιδίου (*RHDψ*) το οποίο περιέχει έναν διπλασιασμό μεγέθους 37bp στο τέλος του εσονίου 3 και στην αρχή του εξονίου 4, μια παρερμηνεύσιμη μετάλλαξη στο εξόνιο 5 και μία ανερμηνεύσιμη στο εξόνιο 6. Σε ποσοστό 15% των Αφρικανών με RhD αρνητικό φαινότυπο ανιχνεύεται ένα υβριδικό *RHD-CE-Ds* γονίδιο το οποίο περιέχει τα εξόνια 1 και 2, μέρος των εξονίων 3, 9 και 10 του *RHD* γονιδίου καθώς και μέρος του εξονίου 3 και τα εξόνια 4, 8 του *RHCE* γονιδίου. Τα γονίδια *RHDψ* και *RHD-CE-Ds* δεν κωδικοποιούν για λειτουργικές RhD πρωτεΐνες.

Πολυμορφίες του *RHD* γονιδίου

Αναφέρεται ένας μεγάλος αριθμός πολυμορφισμών του *RHD* γονιδίου με ποικίλη κλινική σημασία, γνωστά ως *RHD* πολυμορφίες (variants), οι οποίοι χαρακτηρίζονται από απουσία ορισμένων RhD επιτόπων ή/και ασθενή έκφραση της RhD πρωτεΐνης. Σε αυτή την κατηγορία ανήκουν αλληλόμορφα που προκύπτουν από

σημειακές μεταλλάξεις στο γονίδιο *RHD* με αποτέλεσμα τροποποίηση της ποιότητας και της ποσότητας των επιτόπων στη μεμβράνη των ερυθροκυττάρων. Ο φαινότυπος που προκύπτει είναι γνωστός ως weak D και ανιχνεύεται σε ποσοστό 0.2-1% των ατόμων της Καυκάσιας φυλής. Στα άτομα αυτά δεν προκαλείται συνήθως ανοσολογική αντίδραση μετά από έκθεση σε RhD-θετικά ερυθροκύτταρα. Έχουν διαπιστωθεί περισσότερες από 50 διαφορετικές μεταλλάξεις στο *RHD* γονίδιο που προκαλούν ασθενή έκφραση, με συχνότερη την Val270Gly (Τύπος 1).

Μία ακόμη κατηγορία πολυμορφισμών του *RHD* γονιδίου είναι οι partial D πολυμορφίες οι οποίες σε αντίθεση

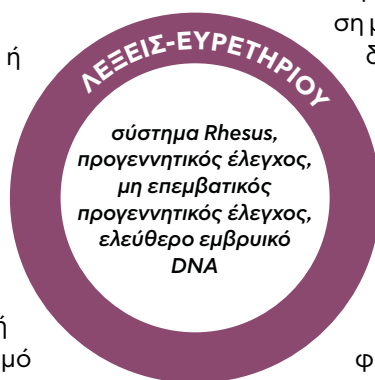
με τις weak D είναι αποτέλεσμα αλλαγής ή δημιουργίας νέων επιτόπων. Πολλά partial D πολυμορφισμοί προκαλούνται επίσης από υβριδικά γονίδια στα οποία περιλαμβάνονται οι περιοχές του *RHD* γονιδίου έχουν αντικατασταθεί από τις αντίστοιχες περιοχές του *RHCE* με αποτέλεσμα οι αλληλουχίες αμινοξέων που προκύπτουν να δημιουργούν νέα αντιγόνα (DAK, Goa, Evans, Dw, BARC, FPTT, Rh32, κ.ά.). Ο partial D φαινότυπος έχει κλινική σημασία γιατί ενώ

τα άτομα αυτά κατατάσσονται με ορολογικές μεθόδους ως RhD-θετικά, υπάρχει σοβαρή πιθανότητα να παράγουν αντί-D αντισώματα όταν εκτεθούν σε RhD-θετικά ερυθροκύτταρα (π.χ. φαινότυποι DVI, DVa). Στη ίδια κατηγορία (*RHD* variant) ανήκει και ο φαινότυπος Del. Τα Del ερυθροκύτταρα διαθέτουν πολύ χαμηλά επίπεδα D αντιγόνων αλλά προσροφούν και εκλύουν αντί-D αντισώματα.

Κλινική σημασία του συστήματος RhD

Η έκθεση ενός RhD-αρνητικού ατόμου σε RhD-θετικά ερυθροκύτταρα προκαλεί ανοσολογική αντίδραση και παραγωγή αντί-D αντισωμάτων έναντι ποικιλίας επιτόπων του RhD αντιγόνου. Ανοσοποίηση λόγω ασυμβατότητας του συστήματος Rh σε κύσεις RhD-αρνητικών γυναικών που κυοφορούν RhD-θετικό έμβρυο θεωρείται η συχνότερη αιτία αιμολυτικής νόσου του εμβρύου και του νεογνού. Στην περίπτωση αυτή το νεογνό αντιμετωπίζει προβλήματα προωρότητας, βαρείας αιμολυτικής αναιμίας, υπερχολερυθριναιμίας και ηπατικής ανεπάρκειας με αποτέλεσμα πυρηνικό ίκτερο.

Η αιμολυτική νόσος σπάνια παρουσιάζεται στην πρώτη κύηση, γιατί η εμβρυομητρική μετάγγιση RhD-θετικών εμβρυϊκών ερυθροκυττάρων στην RhD-αρνητική μητέρα γίνεται κυρίως κατά τον τοκετό και δεν υπάρχει ο χρόνος που απαιτείται για την ευαίσθητοποίηση της



εγκύου και την παραγωγή ειδικών IgG αντισωμάτων.

Από το 1960 για την πρόληψη της ευαισθητοποίησης των RhD-αρνητικών εγκύων χορηγείται υπεράνοση γ-σφαιρίνη (αντί-D) σε όλες τις ασυμπτωματικές RhD-αρνητικές εγκύους που πιθανώς κυοφορούν RhD-θετικό έμβρυο σε δύο δόσεις κατά τη διάρκεια της κύησης, την 28η και την 35η εβδομάδα και σε χρονικό διάστημα <72 ωρών μετά τον τοκετό καθώς και σε όλες τις εγκύους που πιθανολογείται εμβρυομητρική μετάγγιση. Η προφυλακτική χορήγηση αντί-D, σύμφωνα με το σχήμα που αναφέρεται, έχει τη δυνατότητα να αποτρέψει την ανοσοποίηση σε ποσοστό 96% των κυήσεων υψηλού κινδύνου, ελαττώνοντας τον κίνδυνο ευαισθητοποίησης από 13% σε 0,16%.

Ορισμένα ερωτήματα όμως που σχετίζονται με τη χρήση αντί-D σφαιρίνης δεν έχουν πλήρως διευκρινιστεί. Η αντί-D προέρχεται από ανθρώπινο ορό και παρά τους ενδεδεδειγμένους και ενδεδεχείς ελέγχους, υπάρχει πάντα θεωρητικός κίνδυνος μετάδοσης σοβαρού νοσήματος. Επίσης, πρέπει να λαμβάνεται υπόψη ότι τα αποθέματα αντί-D παγκοσμίως δεν είναι απεριόριστα καθώς και η οικονομική επιβάρυνση που προκύπτει από τη χορήγησή της. Υπολογίζεται ότι 40% περίπου των RhD-αρνητικών εγκύων λαμβάνει άσκοπα ανοσοπροφύλαξη αφού κυοφορούν RhD-αρνητικό έμβρυο. Είναι συνεπώς προφανής η σημασία της γνώσης του συστήματος RhD του εμβρύου για τη σωστή διαχείριση της κύησης, την ελάττωση του κόστους και την αποφυγή χορήγησης ανθρώπινης αντί-D στη μητέρα και στο έμβρυο.

Προγεννητικός έλεγχος του συστήματος RhD του εμβρύου

Μετά την αποσαφήνιση της μοριακής βάσης του συστήματος RhD η διαπίστωση του RhD φαινοτύπου του εμβρύου πραγματοποιείται με μοριακές τεχνικές στις οποίες, ως γενετικό υπόστρωμα χρησιμοποιείται εμβρυϊκό γενετικό υλικό που λαμβάνεται με αμνιοπαρακέντηση ή βιοψία τροφοβλάστης. Με τη χρήση των τεχνικών αυτών η ακρίβεια της διάγνωσης είναι > 98%. Η λήψη όμως εμβρυϊκού υλικού που απαιτείται για τον προγεννητικό έλεγχο είναι επεμβατική και έχει 0.5-1.0% κίνδυνο για το έμβρυο και την κύηση. Επιπλέον, στις RhD-αρνητικές εγκύους η αμνιοπαρακέντηση ή/και η βιοψία τροφοβλάστης αυξάνουν τον κίνδυνο ευαισθητοποίησης της μητέρας, λόγω πιθανής εμβρυομητρικής μετάγγισης κατά τη λήψη του δείγματος. Για τους λόγους αυτούς ο προγεννητικός έλεγχος του συστήματος RhD του εμβρύου είναι περιορισμένος σε κλινικό επίπεδο και πραγματοποιείται μόνο όταν υπάρχει

και άλλη ένδειξη για προγεννητικό έλεγχο.

Προκειμένου να ξεπεραστούν τα προβλήματα που σχετίζονται με τη χρησιμοποίηση επεμβατικών τεχνικών προγεννητικού ελέγχου οι προσπάθειες επικεντρώθηκαν στην ανάπτυξη μεθόδων μη επεμβατικής προγεννητικής διάγνωσης του συστήματος RhD του εμβρύου με τη χρήση ελεύθερου εμβρυϊκού DNA (cell free fetal DNA-cffDNA) που απομονώνεται από το πλάσμα της εγκύου.

Η παρουσία cffDNA στο πλάσμα και τον ορό εγκύων αναφέρθηκε για πρώτη φορά, το 1997 από τους Lo και συν., οι οποίοι ανίχνευσαν αλληλουχίες του χρωμοσώματος Y στο περιφερικό αίμα εγκύων που κυοφορούσαν έμβρυο αγόρι. Η παρατήρηση αυτή επιβεβαιώθηκε από διάφορες επιστημονικές ομάδες και έδωσε νέες δυνατότητες ανάπτυξης μη επεμβατικών τεχνικών προγεννητικού ελέγχου. Το cffDNA ανιχνεύεται στη μητρική κυκλοφορία πολύ νωρίς κατά την κύηση, ήδη από την 7η εβδομάδα, προέρχεται από απόπτωση και νέκρωση εμβρυϊκών συνκυτιοτροφοβλαστικών κυττάρων του πλακούντα και αποτελείται κυρίως από μικρά θραύσματα DNA μεγέθους <300 bp. Το 1ο τρίμηνο της κύησης αποτελεί το 10% του ολικού ελεύθερου DNA (cfDNA) στο πλάσμα της εγκύου αλλά η συγκέντρωσή του αυξάνει με τη πρόοδο της κύησης και το 3ο τρίμηνο αποτελεί περίπου το 20% του cfDNA. Ο χρόνος ημιζωής του cffDNA στην μητρική κυκλοφορία μετά τον τοκετό είναι μόλις 16.3 min και για το λόγο αυτό αφορά πάντα την παρούσα κύηση.

Μη επεμβατικός προγεννητικός έλεγχος του συστήματος RhD του εμβρύου από cffDNA

Η δυνατότητα μη επεμβατικής προγεννητικής διάγνωσης του συστήματος RhD του εμβρύου από cffDNA που απομονώνεται από το πλάσμα της εγκύου περιγράφηκε για πρώτη φορά το 1998, σχεδόν ταυτόχρονα από δύο διαφορετικές ερευνητικές ομάδες. Οι Lo et al. μελέτησαν 57 δείγματα από RhD-αρνητικές εγκύους στο 1ο, 2ο και 3ο τρίμηνο της κύησης. Ο προσδιορισμός του συστήματος RhD του εμβρύου ήταν επιτυχής σε όλα τα δείγματα 2ου και 3ου τριμήνου, ενώ η ακρίβεια της διάγνωσης ήταν μόνο 78% για τα δείγματα που ελήφθησαν το 1ο τρίμηνο της κύησης. Στη δεύτερη μελέτη οι Faas, et al. αναφέρουν ακριβή διάγνωση του συστήματος RhD σε 31 έμβρυα από τα οποία 18 ήταν RhD-θετικά. Και στις δύο μελέτες η διάγνωση βασίστηκε στην ανίχνευση αλληλουχιών του γονιδίου *RHD* στο περιφερικό αίμα της εγκύου δεδομένου ότι απουσιάζει πλήρως από το γονιδίωμα της πλειονότητας των RhD-αρνητικών γυναικών. Από τότε πραγματοποιήθηκε ένας

μεγάλος αριθμός μελετών εκτίμησης της αξιοπιστίας και της ειδικότητας της μεθόδου και σε μετά-ανάλυση των ευρημάτων των μελετών αυτών η ακρίβεια της διάγνωσης ήταν 95%. Το 2001 ξεκίνησε στη Μεγάλη Βρετανία η παροχή υπηρεσιών μη επεμβατικού προγεννητικού ελέγχου του συστήματος RhD του εμβρύου σε ευαίσθητοποιημένες RhD-αρνητικές εγκύους βασιζόμενη στα ευρήματα ευρείας κλίμακας μελέτης του International Blood Group Reference Laboratory στην οποία διαπιστώθηκε 100% ακρίβεια στη διάγνωση του συστήματος RhD του εμβρύου από το πλάσμα της εγκύου. Ανάλογες μελέτες σε άλλες Ευρωπαϊκές χώρες οδήγησαν σταδιακά στη χρησιμοποίηση της τεχνικής για πληθυσμιακό έλεγχο όλων των RhD με προφανή οφέλη.

Εργαστηριακή Διάγνωση

Η χαμηλή συγκέντρωση του cfDNA στη μητρική κυκλοφορία απαιτεί για την ανίχνευσή των αλληλουχιών του *RHD* γονιδίου τη χρησιμοποίηση τεχνικών υψηλής ευαισθησίας για αυτό και το ποσοτικό PCR πραγματικού χρόνου (RTQ-PCR) έχει υιοθετηθεί ως μέθοδος επιλογής. Η τεχνική παρουσιάζει μεγάλη ακρίβεια, και συνδυάζει ταχύτητα και ευαισθησία στην ανάλυση ακόμη και σε περιπτώσεις όπου ο αριθμός των αντίγραφων της αλληλουχίας-στόχου είναι πολύ μικρός. Επιπλέον, το γεγονός ότι το σύστημα είναι κλειστό βοηθά στην αποφυγή τυχόν επιμολύνσεων. Στα περισσότερα εργαστήρια, ελέγχονται περισσότερα από ένα εξόνια. Η μελέτη περιλαμβάνει συνήθως εκκινήτες για τον πολλαπλασιασμό του εξονίου 7 του *RHD*, το οποίο διαφέρει σε αρκετές βάσεις από το *RHCE* αυξάνοντας την ειδικότητα καθώς και την ευαισθησία της μεθόδου αφού μπορεί να ανιχνεύσει εμβρυϊκές αλληλουχίες από την 7η εβδομάδα της κύησης. Με ταυτόχρονη χρήση εκκινήτων για τα εξόνια 6 και/ή 4 και 5 μπορούν να προληφθούν ψευδώς θετικά αποτελέσματα που οφείλονται στη παρουσία του μη λειτουργικού *RHDψ*. Το Ευρωπαϊκό Δίκτυο Αριστείας για την ανάπτυξη τεχνικών μη επεμβατικού προγεννητικού ελέγχου (SAFE NoE) έχει προτείνει τη χρησιμοποίηση δύο διαφορετικών ζευγών εκκινήτων, ένα ζεύγος για το εξόνιο 7 και ένα δεύτερο για το εξόνιο 5 που έχει σχεδιαστεί με τέτοιο τρόπο ώστε να δίνει προϊόν μόνο όταν υπάρχει το *RHDψ*. Η μεθοδολογία αυτή αποκλείει ψευδώς θετικά αποτελέσματα σε κυήσεις εμβρύων με *RHDψ* ή υβριδικό *RHD-CE-D^s* γονίδιο. Πρέπει να σημειωθεί ότι σπάνιες ποικιλομορφίες του γονιδίου *RHD* δεν είναι δυνατό να ανιχνευθούν.

Ψευδώς θετικά αποτελέσματα οφείλονται συνήθως

σε επιμόλυνση του δείγματος ή συχνότερα στην ύπαρξη πολυμορφικού *RHD* αλληλομόρφου. Επίσης, ψευδώς αρνητικά αποτελέσματα μπορεί να οφείλονται σε ποσότητα εμβρυϊκού υλικού στο υπό μελέτη δείγμα μικρότερη από αυτή που μπορεί να ανιχνευθεί με τις τεχνικές PCR. Η μικρή ποσότητα εμβρυϊκού υλικού στο δείγμα, ειδικά το 1ο τρίμηνο της κύησης, σε συνδυασμό με το γεγονός ότι η διάγνωση των RhD-αρνητικών εμβρύων είναι έμμεση και γίνεται όταν δεν ανιχνεύονται στο πλάσμα της εγκύου RhD αλληλουχίες, δυσκολεύει την ερμηνεία των αρνητικών αποτελεσμάτων και αυξάνει τον κίνδυνο ψευδώς αρνητικών. Για το λόγο αυτό προτείνεται η χρησιμοποίηση εμβρυϊκών δεικτών, η ανίχνευση των οποίων θα επιβεβαιώνει τη παρουσία cfDNA στο δείγμα.

Η αλληλουχία *SRY* έχει επανειλημμένως χρησιμοποιηθεί στη διεθνή βιβλιογραφία για το σκοπό αυτό.

Το γεγονός ότι η συμβολή της αλληλουχίας *SRY* για την επιβεβαίωση της παρουσίας εμβρυϊκού υλικού στο πλάσμα της εγκύου περιορίζεται στο 50% των κυήσεων, αυτών με έμβρυο αγόρι, οδήγησε στην αναζήτηση γενετικών δεικτών ανεξάρτητων του φύλου του εμβρύου, δηλαδή δεικτών που βρίσκονται σε αυτοσωμικά χρωμοσώματα. Νουκλεοτιδικοί πολυμορφισμοί μιας βάσης (SNPs), σημειακές μεταλλάξεις και πολυμορφισμοί τμημάτων του DNA όπως αλληλουχίες STR πατρικής προέλευσης που απουσιάζουν από τη μητέρα, έχουν χρησιμοποιηθεί με επιτυχία για την επιβεβαίωση της παρουσίας εμβρυϊκού υλικού στο υπό μελέτη δείγμα. Οι δείκτες αυτοί όμως είναι πληροφοριακοί σε ποσοστό 65% και η διαδικασία ανίχνευσής τους είναι πολύπλοκη και χρονοβόρα.

Τα τελευταία χρόνια το ενδιαφέρον των ερευνητών επικεντρώνεται στη χρησιμοποίηση για την επιβεβαίωση της παρουσίας εμβρυϊκού υλικού στο υπό μελέτη δείγμα γονιδίων που παρουσιάζουν διαφορετικό πρότυπο μεθυλίωσης στον πλακούντα από το περιφερικό αίμα της μητέρας, δεδομένου ότι κύρια πηγή του cfDNA είναι ο πλακούντας ενώ του μητρικού cfDNA τα αιμοποιητικά κύτταρα. Ένας τέτοιος επιγενετικός δείκτης είναι ο υποκινητής του ογκοκατασταλτικού γονιδίου *RASSF1A* που είναι μεθυλιωμένος στον πλακούντα και μη μεθυλιωμένος στα κύτταρα της μητέρας. Αυτό το πρότυπο μεθυλίωσης επιτρέπει την απομάκρυνση των μη μεθυλιωμένων αλληλουχιών *RASSF1A* με τη χρήση περιοριστικού ενζύμου ευαίσθητου στη μεθυλίωση.

Στην Ελλάδα, στο Εργαστήριο Ιατρικής Γενετικής του Πανεπιστημίου Αθηνών έχει σχεδιαστεί και χρησιμοποιείται σε κλινικό επίπεδο μεθοδολογία για μη επεμβατικό προγεννητικό έλεγχο του συστήματος RhD του

εμβρύου από cffDNA που ταυτόχρονα επιβεβαιώνει την παρουσία εμβρυϊκού υλικού στο δείγμα με δείκτη ανεξάρτητο του φύλου ή πολυμορφισμών του εμβρύου. Η μέθοδος βασίζεται στο πολλαπλό PCR μετά από ενζυμική πέψη με περιοριστική ενδονουκλεάση ευαίσθητη στη μεθυλίωση. Το πολλαπλό PCR περιλαμβάνει 5 ζεύγη εκκινητών για τον ταυτόχρονο πολλαπλασιασμό των εξονίων 7 και 10 του *RHD* γονιδίου (καθορισμός του συστήματος RhD του εμβρύου), του γονιδίου

SRY (δείκτης παρουσίας cffDNA σε κύψεις με έμβρυο αγόρι), του υποκινητή του ογκοκατασταλτικού γονιδίου *RASSF1A* (δείκτης παρουσίας cffDNA) και του υποκινητή του γονιδίου *ACTB* (εσωτερικός μάρτυρας επιτυχούς ενζυμικής πέψης).

Μέχρι σήμερα έχουν μελετηθεί 176 έμβρυα και η ακρίβεια της διάγνωσης είναι 100%. ●

Σύγκρουση συμφερόντων: Καμία

Abstract

Rhesus D (RhD) system incompatibility between a pregnant woman and her fetus can result in maternal alloimmunization and hemolytic disease of the fetus /newborn (HDFN) in subsequent pregnancies. Routine antenatal anti-D administration to all RhD-negative pregnant women significantly prevents the occurrence of HDFN. Based on this prophylactic approach, however, anti-D is unnecessarily given to approximately 40% of RhD-negative women carrying RhD-negative fetuses, thus wasting time, money and valuable anti-D. In addition, since anti-D is produced from pooled plasma obtained from immunized RhD-negative donors its use is related to risks associated with administration of human blood products.

Prenatal determination of fetal RhD status can be performed using fetal genetic material obtained through amniocentesis or CVS sampling. These invasive procedures, however, carry an approximately 0.5-1% risk of miscarriage and most importantly, they may lead to immunization due to feto-maternal hemorrhage.

The development of safer methods using cell-free fetal DNA (cffDNA) for obtaining fetal genetic material for RhD prenatal detection, offers significant potential for the management of RhD-negative pregnant women with 100% accuracy. Presently in most European countries, as well as in Greece, fetal RhD is determined non invasively.

KEY WORDS

Rhesus D (RhD) system; prenatal detection; non invasively; prenatal cell-free fetal DNA

Βιβλιογραφική παραπομπή άρθρου

Κολιαλέξη Α, Τούντα Γ, Λυκούδη Α, Μαύρου Α. Μη επεμβατικός προγεννητικός έλεγχος του συστήματος Rhesus D του εμβρύου. *Αναπαραγωγή* 2017; 2: 27-32.

Βιβλιογραφικές παραπομπές

1. Avent ND. RHD genotyping from maternal plasma: Guidelines and technical challenges. *Methods Mol Biol* 2008; 444: 185-201.
2. Chan K C, Zhang J, Hui A B, Wong N, Lau T K, Leung T N, et al. Size distributions of maternal and fetal DNA in maternal plasma. *Clin Chem* 2004; 50(1): 88-92.
3. Daniels G. Human Blood Groups, Ed Second. Blackwell Science, Cambridge, Mass, 2002.
4. Daniels G, Finning K, Martin P, Soothill P. Fetal blood group genotyping from DNA from maternal plasma: An important advance in the management and prevention of haemolytic disease of the fetus and newborn. *Vox Sang* 2004; 87(4): 225-232.
5. Faas B H, Beuling E A, Christiaens G C, von dem Borne A E, van der Schoot C E. Detection of fetal RHD-specific sequences in maternal plasma. *Lancet* 1998; 352(9135): 1196.
6. Finning K M, Martin P G, Soothill P W, Avent N D. Prediction of fetal D status from maternal plasma: Introduction of a new noninvasive fetal RHD genotyping service. *Transfusion* 2002; 42(8): 1079-1085.
7. Geifman-Holtzman O, Grotegut CA, Gaughan JP. Diagnostic accuracy of noninvasive fetal Rh genotyping from maternal blood - a meta-analysis. *Am J Obstet Gynecol* 2006; 195(4): 1163-1173.
8. Kolialexi A, Tounta G, Mavrou A. Noninvasive fetal RhD genotyping from maternal blood. *Expert Rev Mol Diagn* 2010; 10(3): 285-296.
9. Legler T J, Liu Z, Mavrou A, Finning K, Hromadnikova I, Galbiati S, et al. Workshop report on the extraction of foetal DNA from maternal plasma. *Prenat Diagn* 2007; 27(9): 824-829.
10. Lo Y M, Corbetta N, Chamberlain P F, Rai V, Sargent I L, Redman C W, et al. Presence of fetal DNA in maternal plasma and serum. *Lancet* 1997; 350(9076): 485-748.
11. Lo Y M, Hjelm N M, Fidler C, Sargent I L, Murphy M F, Chamberlain P F, et al. Prenatal diagnosis of fetal RhD status by molecular analysis of maternal plasma. *N Engl J Med* 1998; 339(24): 1734-1738.
12. Ng E K, Tsui N B, Lau T K, Leung T N, Chiu R W, Panesar N S, et al. mRNA of placental origin is readily detectable in maternal plasma. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003; 100(8): 4748-4753.
13. Page-Christiaens G C, Bossers B, CE V D S, M D E H. Use of bi-allelic insertion/deletion polymorphisms as a positive control for fetal genotyping in maternal blood: first clinical experience. *Ann N Y Acad Sci* 2006; 1075: 123-129.
14. Tounta G, Vrettou C, Kolialexi A, Papantoniou N, Destouni A, Tsangaris GT, et al. A multiplex PCR for non-invasive fetal RHD genotyping using cell-free fetal DNA. *In Vivo* 2011; 25(3): 411-417.

Δικαίωμα τεκνοποίησης με τη μέθοδο της παρένθετης μητρότητας για τον άγαμο και μοναχικό άνδρα

Πηνελόπη Αγαλλοπούλου

Ομότιμη Καθηγήτρια Πανεπιστημίου Πειραιώς

Ελληνική περίληψη

Η μελέτη αυτή αναφέρεται στο αμφισβητούμενο θέμα αν και άγαμοι μοναχικοί άνδρες μπορούν να αποκτήσουν παιδί προσφεύγοντας στη μέθοδο της παρένθετης μητρότητας, εφόσον βέβαια συντρέχουν στο πρόσωπό τους οι προϋποθέσεις που απαιτούνται, κατά νόμο, για απόκτηση παιδιού με τη μέθοδο αυτή από άγαμη μοναχική γυναίκα. Η συγγραφέας, στηριζόμενη σε επιχειρήματα και αναφερομένη στη σχετική νομολογία, θεωρεί ότι πρέπει να γίνεται για τον άγαμο μοναχικό άνδρα αναλογική εφαρμογή των διατάξεων που αφορούν την άγαμη μοναχική γυναίκα. Εκφράζει όμως την ευχή να ρυθμιστεί νομοθετικά η δυνατότητα του άγαμου και μοναχικού άνδρα να αποκτήσει παιδί με τη μέθοδο της παρένθετης μητέρας, θεωρώντας ότι δεν πρέπει το θέμα αυτό να αφηθεί στην κρίση των δικαστηρίων, που ανάλογα με την εκάστοτε ερμηνεία του νόμου στην όποια θα προβαίνουν, άλλες φορές θα χορηγούν άδεια και άλλες όχι.



Υπεύθυνος αλληλογραφίας:

Πηνελόπη Αγαλλοπούλου, Κύπρου 4, Παλαιό Ψυχικό 15452
Τηλ.: 210 6775404, Κινητό: 6944553774, E-mail: agal@otenet.gr

1. Εισαγωγή

Πέρασαν ήδη δέκα πέντε χρόνια από τη θέσπιση του πρώτου και θεμελιώδους νόμου, του 3089/2002, για την ιατρικώς υποβοηθούμενη αναπαραγωγή που τροποποίησε τον Αστικό μας Κώδικα. Ο νόμος αυτός, με τον οποίο προβλέφθηκαν και πολύπλοκες μορφές τεχνητής γονιμοποίησης, όπως η μεταθανάτια και η της παρένθετης μητρότητας, έχει πολύ συμβάλει στον εκμοντερνισμό του Οικογενειακού μας Κώδικα, γιατί αφενός εισήγαγε στον Αστικό μας Κώδικα ένα ειδικό κεφάλαιο που αναφέρεται στις προϋποθέσεις που πρέπει να συντρέχουν για να επιτραπεί μια ιατρικώς υποβοηθούμενη

μη ανθρώπινη αναπαραγωγή και αφετέρου τροποποίησε τις διατάξεις του Αστικού Κώδικα που αναφέρονται στη συγγένεια.

Ο ν. 3089/2002 συμπληρώθηκε με τον ν. 3305/2005, ο οποίος προσδιορίζει τις αναγκαίες προϋποθέσεις για να επιτευχθεί μια ιατρικώς υποβοηθούμενη αναπαραγωγή, θέτει το πλαίσιο των ερευνών σε γαμέτες και γονιμοποιημένα ωάρια, προβλέπει τις προϋποθέσεις για δημιουργία Ειδικών Μονάδων Ιατρικώς Υποβοηθούμενης Αναπαραγωγής καθώς και για Τράπεζες Κρυσσυντήρησης, προβλέπει τη δημιουργία Ανεξάρτητης Αρχής Ιατρικώς Υποβοηθούμενης Αναπαραγωγής



για έλεγχο της εφαρμογής των νόμων 3089/2002 και 3305/2005 και, τέλος, επιβάλλει διοικητικές και ποινικές κυρώσεις για τις περιπτώσεις που δεν τηρούνται οι προϋποθέσεις των παραπάνω νόμων.

Ακολούθησε ο ν. 4272/2014 που επέφερε ορισμένες τροποποιήσεις στους νόμους 3089/2002 και 3305/2005.

Πρόσφατα, στις 7.2.2017, δημοσιεύθηκε στην Εφημερίδα της Κυβέρνησης η απόφαση της Εθνικής Αρχής Ιατρικώς Υποβοηθούμενης αναπαραγωγής που αποτελεί τον Κώδικα Ιατρικώς Υποβοηθούμενης Αναπαραγωγής¹.

Στην περίπτωση της παρένθετης μητρότητας, μεταφέρεται στο σώμα τρίτης γυναίκας για κυοφορία γονιμοποιημένο ωάριο ξένο προς την ίδια, το οποίο είναι δυνατόν να έχει προέλθει ή από γεννητικό υλικό του άτεκνου ζευγαριού που επιθυμεί απόκτηση παιδιού ή από σπέρμα του συζύγου ή συντρόφου της επιθυμούσας το παιδί και ωάριο άλλης γυναίκας ή από ωάριο της γυναίκας που επιθυμεί το παιδί και σπέρμα τρίτου δότη ή ακόμη και από γεννητικό υλικό τρίτων προσώπων. Οπωσδήποτε όμως το γονιμοποιημένο ωάριο δεν πρέπει να ανήκει στη γυναίκα που αναλαμβάνει να κυοφορήσει και να γεννήσει για χάρη της γυναίκας που επιθυμεί το παιδί.

Πρέπει να τονιστεί ότι η μέθοδος αυτή επιτρέπει, κατά τον Αστικό Κώδικα, απόκτηση παιδιών όχι μόνο σε έγγαμα ζευγάρια ή σε ζευγάρια που έχουν καταρτίσει σύμφωνο συμβίωσης, αλλά και σε ζευγάρια που ζουν σε ελεύθερη συμβίωση, καθώς και σε άγαμες μοναχικές γυναίκες².

Η παρένθετη μητρότητα διαφέρει της υποκατάστατης μητρότητας. Υποκατάστατη μητρότητα υπάρχει όταν υποκαθίσταται τρίτη γυναίκα σε όλη τη διαδικασία της μητρότητας, δηλαδή τόσο της χορήγησης του ωαρίου, όσο και της κυοφορίας³. Η υποκατάστατη μητρότητα δεν επιτρέπεται στη χώρα μας.

1. Βλ. Απόφ. Εθνικής Αρχής Υποβοηθούμενης Αναπαραγωγής 73/24.1.2017 (ΦΕΚ 1234/τ.Β/7.2.2017).

2. Η κυοφόρος κυοφορεί το γονιμοποιημένο ωάριο που δημιουργήθηκε από γεννητικό υλικό της μοναχικής γυναίκας και σπέρμα τρίτου ή από γεννητικό υλικό τρίτων προσώπων. Βλ. άρθρ. 1456 ΑΚ και Εισηγητική Έκθεση ν. 3089/2002, ΙΙ, 1.

3. Για λόγους ιστορικούς πρέπει να ληφθεί πως υπάρχουν μαρτυρίες για τη χρησιμοποίηση ξένης γυναίκας για τεκνοποίηση λόγω στειρότητας της συζύγου ήδη στην Παλαιά Διαθήκη, όπου χαρακτηριστικά αναφέρεται ότι η Σάρα που δεν μπορούσε να τεκνοποιήσει πρότρεψε τον Αβραάμ, για να αποκτήσουν παιδί να τεκνοποιήσει με τη δούλη τους Αγαρ (βλ. Γένεσις, Κεφ. Ιστ, 1-2). Στην παλαιά Διαθήκη αναφέρονται και άλλες παρόμοιες περιπτώσεις, όπως της Ραχήλ και της Λέας (βλ. Γένεσις, Κεφ. λ, 3-13).

Ι. Οι προϋποθέσεις απόκτησης τέκνου με τη μέθοδο της παρένθετης μητρότητας στην περίπτωση άγαμης μοναχικής γυναίκας ή άγαμου μοναχικού άνδρα

Η εισήγηση μου αναφέρεται στη δυνατότητα απόκτησης παιδιού με τη μέθοδο της παρένθετης μητρότητας από άγαμο μοναχικό άνδρα, που δεν ορίζεται στον ΑΚ Πρέπει, κατά συνέπεια, πρώτα να αναφερθούν οι προϋποθέσεις απόκτησης παιδιού με τη μέθοδο αυτή από άγαμη μοναχική γυναίκα και στη συνέχεια να εξεταστεί αν οι διατάξεις αυτές μπορούν ανάλογα να εφαρμοστούν και στην περίπτωση του άγαμου μοναχικού άνδρα.

Άγαμη μοναχική γυναίκα

Οι απαραίτητες, αυστηρές προϋποθέσεις, που πρέπει να συντρέχουν για απόκτηση παιδιού με τη μέθοδο της παρένθετης μητρότητας είναι οι εξής⁴:

α. Ιατρική αδυναμία κυοφορίας της γυναίκας που επιθυμεί το παιδί. Η αδυναμία αυτή πρέπει βεβαίως να προκύπτει από ιατρική βεβαίωση.

β. Ηλικιακός περιορισμός της γυναίκας που επιθυμεί το παιδί. Συγκεκριμένα, δεν επιτρέπεται η ηλικία της ενδιαφερόμενης να υπερβαίνει το 50ο έτος⁵.

γ. Καταλληλότητα για κυοφορία της γυναίκας που προσφέρεται να γίνει παρένθετη. Δεν προβλέπεται στο νόμο μέχρι ποια ηλικία επιτρέπεται μια γυναίκα να γίνει παρένθετη, με αποτέλεσμα να έχουμε περιπτώσεις παρένθετων μητέρων ηλικίας και άνω των 60-65 ετών. Ο πολύ πρόσφατος όμως Κώδικας Δεοντολογίας της Ιατρικώς Υποβοηθούμενης Αναπαραγωγής ορίζει ότι η ηλικία της παρένθετης πρέπει να είναι μεταξύ 25-45 ετών, να έχει αποκτήσει τουλάχιστον ένα τέκνο και να μην έχει υποβληθεί σε περισσότερες από δυο καισαρικές τομές⁶.

δ. Τα μεταφερόμενα στη μήτρα της κυοφόρου γυναίκας γονιμοποιημένα ωάρια να μην ανήκουν στην ίδια. Στην περίπτωση που τα μεταφερόμενα γονιμοποιημένα ωάρια ανήκουν στην κυοφόρο, τότε δεν πρόκειται για παρένθετη μητρότητα, αλλά για υποκατάστατη, η οποία, όπως ήδη αναφέρθηκε, δεν επιτρέπεται στη χώρα μας.

ε. Έγγραφη συμφωνία χωρίς αντάλλαγμα μεταξύ της άγαμης μοναχικής γυναίκας και της γυναίκας που θα

4. Βλ. άρθρ. 1458 ΑΚ σε συνδυασμό με άρθρα 1455, 1456 ΑΚ, άρθρ. 13 ν. 3305/2005 και άρθρ. 8 ν. 3089/2002, όπως τροποποιήθηκε με άρθρ. 15 ν. 4272/2014.

5. Βλ. άρθρ. 4§ 1 ν. 3305/2005.

6. Βλ. άρθρ. 9 Κώδικα Δεοντολογίας ΙΥΑ

κυοφορήσει και του συζύγου ή του συντρόφου της, αν αντίστοιχα είναι έγγαμη ή έχει καταρτίσει σύμφωνο συμβίωσης. Σχετικά με την έγγραφη συμφωνία είναι αναγκαίες οι εξής διευκρινήσεις:

- Προκειμένου για άγαμη μοναχική γυναίκα, χρειάζεται συμβολαιο-γραφική συναίνεση.
- Αναφορικά με τους όρους τους περιεχόμενους στην καταρτιζόμενη συμφωνία πρέπει να τονιστεί ότι, είναι μεν δυνατόν να περιληφθούν σε αυτήν ειδικοί όροι που να αναφέρονται σε προφυλάξεις που πρέπει να λάβει η κυοφόρος κατά τη διάρκεια της κύησης, δεν πρέπει όμως οι όροι αυτοί να δεσμεύουν υπερβολικά την ελευθερία της ίδιας. Σε αντίθετη περίπτωση, οι όροι αυτοί είναι δυνατόν να θεωρηθούν άκυροι, σύμφωνα με το άρθρο 179 ΑΚ⁷. Άκυρη θα μπορούσε επίσης να θεωρηθεί ρήτρα που απαγορεύει στην κυοφόρο να προβεί σε άμβλωση, δεδομένου ότι το δικαίωμα αυτό της ανήκει αποκλειστικά.
- Η διατύπωση στο νόμο της φράσης «χωρίς αντάλλαγμα» σημαίνει ότι δεν είναι δυνατόν να εξαρτηθεί από οικονομικό αντάλλαγμα η διαδικασία της υποβοηθούμενης αναπαραγωγής με παρένθετη μητέρα. Δεν θεωρούνται, κατά νόμον, αμοιβή⁸:
- Οι δαπάνες εγκυμοσύνης, κυοφορίας, τοκετού και λοχείας
- Κάθε θετική ζημιά της παρένθετης μητέρας λόγω αποχής από την εργασία της. Το ποσό των δαπανών αυτών προσδιορίζεται από την Εθνική Αρχή Ιατρικώς Υποβοηθούμενης Αναπαραγωγής⁹.

στ. Η αιτούσα ή εκείνη που θα κυοφορήσει να έχει την κατοικία ή την προσωρινή της διαμονή στην Ελλάδα¹⁰.

ζ. Αίτηση της επιθυμούσας το παιδί στο αρμόδιο δικαστήριο για χορήγηση άδειας κυοφορίας τέκνου από άλλη γυναίκα¹¹. Αρμόδιο είναι το Πολυμελές Πρωτοδικείο της συνήθους διαμονής της αιτούσας ή της κυοφόρου¹².

7. Οι συμφωνίες αυτές, εφόσον είναι άνευ ανταλλάγματος και δεν ανευπάρχουν παραίτηση της κυοφόρου από θεμελιώδη δικαιώματα, δεν αντιβαίνουν στη συνταγματική τάξη. Βλ. σχετ. Βιδαλη, Ζωή χωρίς πρόσωπο, Αντ.Ν.Σάκκουλας, Αθήνα 2003, σ. 118επ.

8. Βλ. άρθρ. 135 § 4 ν. 3305/2005.

9. Βλ. Αποφ. 36/2008 της Εθνικής Αρχής Ιατρικώς Υποβοηθούμενης Αναπαραγωγής (ΦΕΚ 670/τ. Β/16.4.2008), όπως συμπληρώθηκε με την Αποφ. 54/2014 της ίδιας Αρχής (ΦΕΚ 2683/τ. Β/9.10.2014).

10. Βλ. άρθρ. 8 ν.3089/2002, όπως τροποποιήθηκε με άρθρ. 17 ν. 4272/2014.

11. Βλ. άρθρ.799 § 1 ΚΠολΔ. Εισάγεται διπλή ελαστικότητα στον προσδιορισμό της τοπικής αρμοδιότητας, που κρίνεται χρήσιμη εν όψει της λεπτής φύσης της εκδικαζόμενης υπόθεσης (βλ. Εισηγητική Έκθεση ν. 3089/2002, II, 6).

12. Βλ. άρθρ. 740 §1 ΚΠολΔ, όπως τροποποιήθηκε με άρθρ.1 ν. 4335/2015.

η. Δικαστική άδεια. Για τη χορήγηση της άδειας το δικαστήριο πρέπει να διαπιστώσει ότι συντρέχουν οι όροι του άρθρου 1458 ΑΚ, ότι δηλαδή υπάρχει ιατρική αδυναμία της αιτούσας να κυοφορήσει, καταλληλότητα της κυοφόρου για κυοφορία και έγγραφη συμφωνία χωρίς αντάλλαγμα μεταξύ αυτών και του συζύγου ή συντρόφου της παρένθετης, αν, αντίστοιχα, είναι έγγαμη ή έχει καταρτίσει σύμφωνο συμβίωσης.

Το δικαστήριο παρέχει την άδεια κατά την εκούσια δικαιοδοσία και έχει τη δυνατότητα να αποφασίσει να γίνει η συζήτηση κεκλεισμένων των θυρών, αν κρίνει ότι η δημοσιότητα πρόκειται να είναι επιβλαβής στα χρηστά ήθη ή αν συντρέχουν ειδικοί λόγοι προστασίας της ιδιωτικής ή οικογενειακής ζωής των διαδίκων¹³.

Στην περίπτωση που το δικαστήριο διαπιστώσει ακυρότητα της συμφωνίας, γιατί π.χ. έχει συμφωνηθεί αντάλλαγμα ή δεν υπάρχει ικανότητα για δικαιопραξία μιας ή ενός εκ των καταρτισάντων τη συμφωνία, τότε δεν χορηγεί την άδεια.

Τέλος, πρέπει να λεχθεί ότι από τον ν. 3305/2005 προβλέπονται ποινές αν δεν τηρηθούν οι από το νόμο οριζόμενες προϋποθέσεις¹⁴.

Με τον ν. 3089/2002, σε συνδυασμό με τον ν. 3305/2005, ρυθμίστηκε κατά τον καλύτερο δυνατό τρόπο η απόκτηση παιδιού μέσω τρίτης γυναίκας. Αυτό εξάλλου προκύπτει και από αρκετές δικαστικές αποφάσεις, που έχουν ήδη δημοσιευθεί¹⁵.

Άγαμος μοναχικός άνδρας

Σχετικά με το ερώτημα που έχει τεθεί τα τελευταία χρόνια αν και άγαμοι μοναχικοί άνδρες, εφόσον βεβαίως συντρέχουν στο πρόσωπό τους οι προϋποθέσεις που απατούνται κατά νόμο για την άγαμη μοναχική γυναίκα, μπορούν να αποκτήσουν παιδί προσφεύγοντας στη μέθοδο της παρένθετης μητρότητας έχουν

13. Βλ. άρθρ. 799 § 2 ΚΠολΔ.

14. Βλ. άρθρ. 26 § 8 ν. 3305/2005.

15. Βλ. ΠΠρΗρακλ. 678/2003, ΝοΒ 2004, 274 · ΜΠρΑθ 4392/2003 και 4733/2003, ΚριτΕ, 2003, 248 · ΜΠρΘεσ 27035/2003, Αρμ 2004, 225 · ΠΠρΑθ 1320/2004, Αρμ 2004, 374 · ΜΠρΝαξου 678/2003, ΤΝΠ «ΙΣΟΚΡΑΤΗΣ» · ΜΠρΑθ 1320/2004, Αρμ 2004, 374 · ΜΠρΚαβ 125/2004, ΤΝΠ «ΝΟΜΟΣ» · ΜΠρΑθ 1166/2005 και ΜΠρΚορ 224/2006, ΤΝΠ «ΙΣΟΚΡΑΤΗΣ» · ΜΠρΚατερ 408/2006, Αρμ 2007, 863 · ΜΠρΡοδ 400/2007, Αρμ 2008, 1046 · ΜΠρΑθ 4175/2007, ΕφΑΔ 2009,1357 · ΜΠρΧαν 122/2008, ΤΝΠ «ΝΟΜΟΣ». ΜΠρΘεσσ 33558/2008 και 25790/2009, ΤΝΠ «ΙΣΟΚΡΑΤΗΣ» · ΜΠρΑθ 395/2009 και 16574/2009, ΤΝΠ «ΙΣΟΚΡΑΤΗΣ». ΜΠρΘεσσ 10351/2010, 18968/2011 και 23713/2011, ΤΝΠ «ΙΣΟΚΡΑΤΗΣ». ΕιρΧαν 218/2013 ΤΝΠ «ΝΟΜΟΣ» ΕιρΧαν 243/2013 ΤΝΠ «ΝΟΜΟΣ» ΠΠρΠειρ 431/2013 ΤΝΠ «ΝΟΜΟΣ» ΠΠρΠατρ 248/2016 ΤΝΠ «ΝΟΜΟΣ».

υποστηρικτεί και οι δυο απόψεις.

α. Κατά τη γνώμη μου η απάντηση στο ερώτημα αυτό πρέπει να είναι καταφατική¹⁶, γιατί θεωρώ ότι στις περιπτώσεις αυτές πρέπει να γίνεται συνολική αναλογία αφενός των διατάξεων των σχετικών με τις προϋποθέσεις χορήγησης της δικαστικής άδειας¹⁷ και αφετέρου των διατάξεων του ΕισΝ¹⁸ και του ΚΠολΔ που καθορίζουν τη διαδικασία που πρέπει να ακολουθηθεί στο αρμόδιο δικαστήριο για τη χορήγηση της σχετικής άδειας¹⁹. Τούτο θεμελιώνεται στα εξής δυο επιχειρήματα:

α. Στην Εισηγητική Εκθεση του ν. 3089/2002 ορίζεται ότι «η ρύθμιση για μεταθανάτια τεχνητή γονιμοποίηση -που είναι προσανατολισμένη στη συνηθέστερη περίπτωση της επιθυμίας για μεταθανάτια γονιμοποίηση στην περίπτωση που πεθαίνει ο άνδρας- μπορεί να καλύψει, αναλογικά εφαρμοζόμενη, και την περίπτωση που πεθαίνει η γυναίκα, οπότε ο άνδρας μπορεί να χρησιμοποιήσει αργότερα τα κρυσυντηρημένα ωάρια της ή τα κρυσυντηρημένα γονιμοποιημένα ωάρια τους για να τεκνοποιήσει με αυτά μέσω παρένθετης μητέρας²⁰. Κατά συνέπεια, όπως σαφώς προκύπτει

16. Θετική θέση υποστηρίζουν: Ι.Σπυριδάκης, *Η νέα ρύθμιση της τεχνητής γονιμοποίησης και της συγγένειας*, εκδ. Αντ. Ν. Σάκκουλα, Αθήνα 2003, σ.29-Ι.Σπυριδάκης, *Οικογενειακό δίκαιο*, εκδ. Αντ. Ν. Σάκκουλα, Αθήνα 2006, σ.414-Ν. Κουμουτζής, Άρθρα 1457-1458

σε: Απ. Γεωργιάδη / Μ. Σταθοπούλου (επιμ.), *Αστικός Κώδικας*, τ. VII, εκδ. Δίκαιο και Οικονομία, Π.Ν. Σάκκουλας, 2η έκδ., Αθήνα 2007, αρ. 77- Ν.Κουμουτζής, *Η τεχνητή αναπαραγωγή του άγαμου μόνου άνδρα* σε: ΧρϊΔ 2011, 316 Π.Αγαλλοπούλου, *Παρένθετη μητρότητα* σε: Μ.ου- ΜΠΟΤΗ / Φ.Παναγοπούλου- Κουτνατζή (επιμ.), *Ιατρική ευθύνη και Βιοηθική*, εκδ. Π.Χ.Πασχαλίδης, 2014, σ.173 επ. Ν.ΚΟΥΜΟΥΤΖΗΣ, *Η τεχνητή αναπαραγωγή των άγαμων μόνων προσώπων και η Ευρωπαϊκή Σύμβαση των Δικαιωμάτων του Ανθρώπου* σε: Μ.Καϊαφα- Γκμπάντι/Ε.Κουνουγέρη- Μανωλεδάκη/Ε. Συμεωνίδου- Καστανιδού (επιμ.) *Υποβοηθούμενη αναπαραγωγή και εναλλακτικά οικογενειακά σχήματα*, εκδ. Σάκκουλα, 2014, σ.25 επ. Ε.Κουνουγέρη -Μανωλεδάκη, *Οικογενειακό δίκαιο*, τ. II, εκδ. Σάκκουλα, Αθήνα -Θεσσαλονίκη, 6η έκδ., 2016, σ. 57επ. ., σ.455 Μ. Vassiliou, *Single man and his access to medically assisted reproduction in Greece and in the United Kingdom*, Ηλεκτρονικό περιοδικό ΒΙΟΗΘΙΚΑ Σεπτέμβριος 2016 Απ.ΓΕΩΡΓΙΑΔΗΣ, *Οικογενειακό Δίκαιο* εκδ. Σάκκουλα, Αθήνα- Θεσσαλονίκη 2η έκδ., 2017, σ.455. Αρνητική θέση υποστηρίζουν: Δ. Παπαδοπούλου- Κλαμαρή, *Η συγγένεια*, εκδ. Αντ.Ν.Σάκκουλα, Αθήνα 2010, σ. 214 επ- Κ.Παντελίδου, *Ιση μεταχείριση και ιατρική υποβοήθηση στην ανθρώπινη αναπαραγωγή στον Τιμητικό τόμο Πηνελόπης Αγαλλοπούλου*, τ. II, εκδ. Αντ.Ν. Σάκκουλα, Αθήνα 2011, σ.1095 επ. Σ.Βλαχόπουλος, *Δικαίωμα τεκνοποιίας μέσω παρένθετης μητρότητας και για τον άγαμο και μοναχικό άνδρα* σε: Μ. Κανελλοπούλου- Μποτη/Φ.Παναγοπούλου- Κουτνατζή, *Ιατρική ευθύνη και Βιοηθική*, εκδ. Π.Χ.Πασχαλίδης, 2014, σ.187 επ.

17. Βλ. άρθρ. 1458 ΑΚ και άρθρ. 8 ν. 3089/2002, όπως τροποποιήθηκε με άρθρ. 17 ν. 4272/2014.

18. Βλ. άρθρ. 121 ΕισΝΑΚ.

19. Βλ. άρθρα 740 §1 και 799 §1 ΚΠολΔ.

20. Βλ. Εισηγητική Εκθεση ν. 3089/2002, II, 1-Ε.Κουνουγέρη -Μανωλεδάκη, *Μεταθανάτια γονιμοποίηση και οικογενειακό δίκαιο* σε: Σύμ-

από την ίδια την Εισηγητική Εκθεση του νόμου, και ο άνδρας που επέζησε της γυναίκας του μπορεί να αποκτήσει παιδί με τη μέθοδο της παρένθετης μητέρας.

Δεδομένης της συνταγματικά κατοχυρωμένης ισότητας των φύλων²¹, σε συνδυασμό με το άρθρο 5 του Συντάγματος, με το οποίο κατοχυρώνεται το δικαίωμα στην αναπαραγωγή με τη βοήθεια μεθόδων τεχνητής γονιμοποίησης²², γιατί να μην μπορεί και ο άγαμος μοναχικός άνδρας που έχει σοβαρό πρόβλημα γονιμότητας να τύχει της ίδιας μεταχείρισης με την άγαμη μοναχική γυναίκα; Στην προκειμένη περίπτωση η διακριτική μεταχείριση μεταξύ άγαμης μόνης γυναίκας και άγαμου μόνου άνδρα αποτελεί παραβίαση του άρθρου 4 § 2 του Συντάγματος, που ορίζει ότι Έλληνες και Ελληνίδες έχουν ίσα δικαιώματα και υποχρεώσεις

β. Ένα σοβαρό επιχείρημα των πολεμιών της ανάλογης εφαρμογής της παρένθετης μητρότητας και στην περίπτωση του μοναχικού άνδρα είναι το εξής: Στηριζόμενοι στο γράμμα του νόμου, δηλαδή στο άρθρο 1458 ΑΚ, που ορίζει ότι η δικαστική άδεια για απόκτηση παιδιού μέσω παρένθετης μητέρας παρέχεται μόνο σε γυναίκα που είναι αδύνατον να κυοφορήσει, θεωρούν πως δεν είναι δυνατόν να εφαρμοστεί η διάταξη αυτή σε άνδρες, εφόσον μόνο μια γυναίκα είναι δυνατόν να κυοφορήσει. Κατά τη γνώμη μου πρέπει, για λόγους ισότητας των φύλων, να γίνει διασταλτική ερμηνεία και να επιτρέπεται η ανάλογη εφαρμογή των διατάξεων περί παρένθετης μητρότητας και σε άγαμους μοναχικούς άνδρες, που λόγω σοβαρού προβλήματος γονιμότητας δεν μπορούν να αποκτήσουν παιδιά με φυσιολογικό τρόπο.

Ένα άλλο επιχείρημα που προβάλλεται από τους μη δεχόμενους την ανάλογη εφαρμογή της παρένθετης μητρότητας σε άνδρες είναι ότι κατ'αυτόν τον τρόπο αφενός αυξάνονται οι μονογονεϊκές οικογένειες και αφετέρου βοηθούνται να αποκτήσουν παιδιά ζευγάρια αποτελούμενα από πρόσωπα του ίδιου φύλου. Σε αυτό το επιχείρημα, που μπορεί να προβληθεί και αναφορικά με άγαμες μοναχικές γυναί-

μεικτα Γεωργίου Κουμάντου, εκδ. Αντ.Ν.Σάκκουλα, Αθήνα, 2004, σ. 589-Κουμουτζή, Άρθρα 1457-1458 σε: Απ. Γεωργιάδη / Μ. Σταθοπούλου (επιμ.), *ό.π.*, αρ. 77- Ε.Κουνουγέρη -Μανωλεδάκη, *Οικογενειακό δίκαιο*, τ. II, *ό.π.*, σ. 57.

21. Βλ. άρθρ. 4§2 Συντ.

22. Το δικαίωμα στην αναπαραγωγή με τη βοήθεια μεθόδων τεχνητής γονιμοποίησης κατοχυρώνεται στο άρθρο 5 §1 του Συντάγματος, το οποίο ορίζει ότι «καθένας έχει δικαίωμα να αναπτύσσει ελεύθερα την προσωπικότητά του εφόσον δεν προσβάλλει τα δικαιώματα των άλλων και δεν παραβιάζει το Σύνταγμα ή τα χρηστά ήθη».

κες, που σύμφωνα με το νόμο έχουν δικαίωμα να ζητήσουν τη χορήγηση άδειας για απόκτηση παιδιού με παρένθετη μητέρα, πρέπει να λεχθεί ότι, σύμφωνα με τον Αστικό Κώδικα, και υιοθεσία μπορεί να γίνει από ένα μόνο άτομο. Κατά συνέπεια, η απαγόρευση της ανάλογης εφαρμογής της παρένθετης μητρότητας και σε μοναχικούς άνδρες δεν βοηθάει σε τίποτα.

Μέχρι σήμερα στην Ελλάδα είχαμε δυο περιπτώσεις αιτήσεων μοναχικών ανδρών στους οποίους χορηγήθηκε η σχετική δικαστική άδεια²³. Στο σημείο αυτό βέβαια πρέπει να λεχθεί ότι στη μια περίπτωση ασκήθηκε έφεση από τον Εισαγγελέα Πρωτοδικών και εξαφανίστηκε η πρωτόδικη απόφαση με το αιτιολογικό ότι «ο νομοθέτης γενικά δεν επιτρέπει την προσφυγή στην τεχνητή γονιμοποίηση του άγαμου και μοναχικού άνδρα. Μόνο η γυναίκα κυοφορεί και γεννά και άρα μόνο αυτή μπορεί να έχει σχετική ιατρική αδυναμία ώστε να επιτρέπεται να προσφύγει στην παρένθετη μητέρα»²⁴.

II. Συνέπειες της παρένθετης μητρότητας στη συγγένεια

Σχετικά με τις συνέπειες της απόκτησης παιδιού με τη μέθοδο της παρένθετης μητρότητας και πάλι πρέπει, πριν αναφερθώ στην περίπτωση του άγαμου μοναχικού άνδρα, να αναφερθώ σύντομα, στην περίπτωση της άγαμης μοναχικής γυναίκας.

Άγαμη μοναχική γυναίκα

α. Τεκμήριο μητρότητας. Εφόσον το δικαστήριο χορηγήσει τη σχετική άδεια, παραμερίζεται ο κανόνας της ίδρυσης της συγγένειας με τη μητέρα μέσω της γέννησης και καθιερώνεται τεκμήριο, σύμφωνα με το οποίο μητέρα τεκμαίρεται η γυναίκα στην οποία δόθηκε η σχετική άδεια, δηλαδή η γυναίκα που επιθυμεί το παιδί²⁵. Το παιδί εγγράφεται στο Ληξιαρχείο ως παιδί εκείνης στην οποία χορηγήθηκε η σχετική δικαστική άδεια²⁶.

23. Βλ. ΜΠρΑθ 2827/2008, ΧρΔ 2009, 817 με σύμφωνες παρατηρήσεις Θ. Παπαχρίστου. Βλ. και Ε.Κουνουγερη-μανωλεδακη, Παρατηρήσεις στην ΜΠρΑθ 2827/2008, Ιατρικό Δίκαιο και Βιοηθική, τ. 9 (Ιανουάριος- Μάρτιος 2010), σ. 2. Βλ. επίσης ΜΠρΘεας 13707/2009, ΤΝΠ «ΙΣΟΚΡΑΤΗΣ».

24. Βλ. ΕφΑθ 3357/2010 που εξαφάνισε την ΜΠρΑθ 2827/2008, ΝοΒ 2012, 1437, με σύμφωνο σχόλιο Π. Νικολοπούλου.

25. Βλ. άρθρ. 1464§ 1 ΑΚ.

26. Βλ. άρθρ. 20§1 ν.344/1976 περί ληξιαρχικών πράξεων. Με το άρθρ. 7 ν. 3089/2002 προστέθηκε νέο εδάφιο στην πρώτη παράγραφο του άρθρου 20 ν. 344/1976 «Περί ληξιαρχικών πράξεων», σύμφωνα με το οποίο στην περίπτωση τέκνων που γεννήθηκαν από παρένθετη κυοφόρο γυναίκα στο ληξιαρχείο προσάγεται και η δικαστική άδεια που δόθηκε στη γυναίκα που επιθυμεί το παιδί, έτσι ώστε να την εγγράψει ως μητέρα σύμφωνα με το άρθρ. 1464 §1 ΑΚ

Μπορεί όμως να του δοθεί όνομα πατέρα από τον Νομάρχη που δίνει πατρώνυμο στα εκτός γάμου παιδιά²⁷.

Αν δεν χορηγήθηκε άδεια από το δικαστήριο είτε γιατί δεν ζητήθηκε, είτε γιατί δεν συνέτρεχαν οι όροι του νόμου, ισχύει ο κανόνας ότι μητέρα είναι η κυοφόρος που γέννησε το παιδί²⁸.

β. Προσβολή του τεκμηρίου μητρότητας. Το τεκμήριο μητρότητας είναι μαχητό και, κατά συνέπεια, είναι δυνατόν να ανατραπεί με αγωγή προσβολής της μητρότητας, που ασκείται, μέσα σε προθεσμία έξι μηνών από τον τοκετό, είτε από την τεκμαιρόμενη μητέρα, είτε από την κυοφόρο, εφόσον αποδεικνύεται ότι το παιδί κατάγεται βιολογικά από αυτήν²⁹.

γ. Τεκμήριο πατρότητας. Στην περίπτωση άγαμης μοναχικής γυναίκας τεκμήριο πατρότητας δεν ισχύει, δηλαδή το παιδί δεν έχει πατέρα.

Άγαμος μοναχικός άνδρας

Αν η δικαστική άδεια δόθηκε σε άγαμο μοναχικό άνδρα τότε, σύμφωνα με το άρθρο 1464 §1 ΑΚ, κατ'αναλογία εφαρμοζόμενο, πατέρας τεκμαίρεται ο άνδρας στον οποίο δόθηκε η σχετική άδεια, δηλαδή ο άνδρας που επιθυμεί το παιδί. Το παιδί δεν έχει μητέρα (όπως αντίστοιχα στην περίπτωση της άγαμης μοναχικής γυναίκας δεν έχει πάτερα), μπορεί όμως να του δοθεί όνομα μητέρας από τον Νομάρχη που δίνει πατρώνυμο στα εκτός γάμου παιδιά.

Στο σημείο αυτό αξίζει να σημειωθεί ότι επί του θέματος θέση έλαβε και το Νομικό Συμβούλιο του Κράτους με Γνωμοδότησή του³⁰. Το Νομικό Συμβούλιο κλήθηκε να απαντήσει στο ερώτημα πώς ιδρύεται η συγγένεια στην περίπτωση κατά την οποία άγαμος μόνος άνδρας έλαβε, με δικαστική απόφαση, άδεια τεχνητής γονιμοποίησης με τη μέθοδο της παρένθετης μητρότητας.

Στη γνωμοδότηση του αυτή το Νομικό Συμβούλιο του Κράτους απεφάνθη ότι, εφόσον άγαμος μόνος άνδρας έλαβε δικαστική άδεια για τεχνητή αναπαραγωγή και εν συνεχεία γεννήθηκαν παιδιά, τότε πατέρας αυτών τεκμαίρεται ο λαβών την άδεια άνδρας. Σχετικά όμως με τα θεμελίωση της μητρότητας έσφαλε το Νομικό Συμβούλιο του Κράτους, θεωρώντας ότι μητέρα τους

27. Βλ. Υπουργική Απόφαση Φ 1400/2961/2001.

28. Βλ. άρθρ.1463 εδ.α ΑΚ.

29. Βλ. άρθρ. 1464§ 2 ΑΚ

30. Βλ. ΓνωμΝΣΚ 261/2010, ΕφΑΔ 2010, 1205 επ., η οποία εσφαλμένα αναφέρει ότι μητέρα των γεννηθέντων τέκνων είναι η κυοφόρος, δηλ. η παρένθετη. Σχετ. βλ. Δ.ΠΑΠΑΔΟΠΟΥΛΟΥ-ΚΛΑΜΑΡΗ, Παρατηρήσεις στην ΓνωμΝΣΚ 261/2010, ΕφΑΔ 2010, 1215 που επισημαίνει το σφάλμα της ΓνωμΝΣΚ 261/2010. Στο ίδιο πνεύμα και η Γνώμη της Εθνικής Επιτροπής Βιοηθικής από 21/6/2011. Βλ και Κ. ΠΑΝΑΓΟΠΟΥΛΟΥ, Γνωμοδότηση, Αρχ Ν2012, σ. 1 επ.

είναι η κυοφορούσα γυναίκα και το όνομα αυτής θα πρέπει να αναγράφεται στα Ληξιαρχικά Βιβλία. Τούτο, γιατί σύμφωνα με το άρθρο 1458 ΑΚ, στην περίπτωση παρένθετης μητρότητας το γονιμοποιημένο ωάριο δεν πρέπει να ανήκει στη γυναίκα που αναλαμβάνει να κυοφορήσει και να γεννήσει, δηλαδή στην κρυσφόρο.

Τι θα συμβεί όμως στην περίπτωση που ανατραπεί η απόφαση του Πολυμελούς Πρωτοδικείου που χορήγησε την άδεια για τη χρησιμοποίηση της παρένθετης μητρότητας με εφετειακή δικαστική απόφαση, όπως συνέβη στη μια από τις περιπτώσεις χορήγησης άδειας σε άγαμο και μοναχικό άνδρα³¹;

Όταν η μετέπειτα σύζυγος του μοναχικού άνδρα, του οποίου εξαφανίστηκε με απόφαση του Εφετείου η χορηγήθηκε άδεια για απόκτηση παιδιού με παρένθετη μητέρα, ζήτησε να υιοθετήσει τα δίδυμα τέκνα του συζύγου της, που εν τω μεταξύ είχαν αποκτηθεί, σύμφωνα με τη χορηγήθηκε στον σύζυγό της δικαστική άδεια, το Πολυμελές Πρωτοδικείο, απεφάνθη πως «κατόπιν της εξαφάνισης της πρωτόδικης απόφασης, θεωρείται πλέον ότι η τεχνητή γονιμοποίηση έλαβε χώρα χωρίς την απαιτούμενη κατ' άρθρο 1458 ΑΚ δικαστική άδεια και ως εκ τούτου δεν παρήγαγε τα αποτελέσματά της ως προς το σκέλος της θεμελίωσης της πατρότητας κατ' αναλογική εφαρμογή του άρθρου 1464 ΑΚ στο πρόσωπο του συζύγου της αιτούσας»³².

Κατά συνέπεια παύει να υφίσταται ο συγγενικός δεσμός μεταξύ πατέρα και τέκνου. Το δικαστήριο, δηλαδή, αποφάνθηκε ότι εφόσον παύει να υφίσταται ο συγγενικός δεσμός μεταξύ πατέρα και τέκνου, τα παιδιά αυτά δεν είναι του συζύγου της και, κατά συνέπεια, δεν μπορεί να τα υιοθετήσει.

Η απόφαση όμως αυτή εφεσιβλήθηκε και η απόφαση του Εφετείου δέχθηκε ότι το τεκμήριο πατρότητας διατηρείται, δηλαδή δεν αλλάζει η προσωπική κατάσταση του παιδιού, διευρύνοντας τελεολογικά το πεδίο εφαρμογής της διάταξης του άρθρου 779 ΚΠολΔ, εφόσον κατά τη στιγμή της εμφύτευσης του γονιμοποιημένου ωαρίου στην παρένθετη μητέρα η δικαστική απόφαση ήταν ενεργή, γεγονός που συνέβη στη συγκεκριμένη περίπτωση. Στο αιτιολογικό της απόφασης αναφέρεται ότι αυτό επιβάλλει η ανάγκη προστασίας των ανηλίκων. Ορίζεται δε στην απόφαση ότι όχι μόνο αν εξαφανιστεί η απόφαση που παρέχει την άδεια λόγω άσκησης ενδίκου μέσου, αλλά και αν η απόφαση ανακληθεί

ή μεταρρυθμιστεί ή ανασταλεί η ισχύς της δεν επηρεάζονται όσοι ενήργησαν καλόπιστα κατά τη διάρκεια της ισχύος της, ακόμα και αν έχει αναδρομική ισχύ³³. Στην περίπτωση βέβαια που η εμφύτευση του γονιμοποιημένου ωαρίου από την οποία προέκυψε η εγκυμοσύνη και στη συνέχεια ο τοκετός στην παρένθετη έγινε μετά την έκδοση της απόφασης του δευτεροβάθμιου δικαστηρίου τότε θα συμβεί ό,τι και στην περίπτωση που προσέφυγε μια άγαμη μοναχική γυναίκα στη διαδικασία της παρένθετης μητρότητας χωρίς να έχει προηγηθεί σχετική δικαστική άδεια.

Επίλογος

Συμπερασματικά, θα ήθελα να επισημάνω πως με τους νόμους 3089/2002 και 3305/2005 ρυθμίστηκε σωστά η απόκτηση παιδιού μέσω τρίτης γυναίκας. Κανείς εξάλλου δεν μπορεί να αμφισβητήσει, ότι μόνο με το να αντιμετωπίζονται με νομοθετικούς κανόνες τα σοβαρά αυτά ζητήματα, όπως είναι και αυτό της παρένθετης μητρότητας, δημιουργούνται διαυγείς σχέσεις μεταξύ των πολιτών.

Θα ήθελα όμως να εκφράσω την ευχή να ρυθμιστεί νομοθετικά και η δυνατότητα του άγαμου και μοναχικού άνδρα να αποκτήσει παιδί με τη μέθοδο της παρένθετης μητέρας. Δεν πρέπει το θέμα αυτό να αφηθεί στην κρίση των δικαστηρίων, που ανάλογα με την εκάστοτε ερμηνεία του νόμου στην όποια θα προβαίνουν άλλες φορές θα χορηγούν άδεια και άλλες όχι. ●

31. Βλ. Π.ΠρωτΑθ 431/2013 με σύμφωνο σχόλιο Π.ΝΙΚΟΛΟΠΟΥΛΟΥ, ΝοΒ 2014, σ. 880.

32. Βλ. ΕφΑθ 7851/2014 στο περιοδικό "Digesta" on line, 2014, με σύμφωνο σχόλιο Κ.ΠΑΝΑΓΟΠΟΥΛΟΥ.

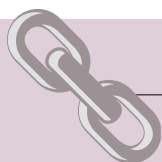
33. Βλ. άρθρ.758 § 2 ΚΠολΔ. Σχετ. Δ.ΠΑΠΑΔΟΠΟΥΛΟΥ- ΚΛΑΜΑΡΗ, Ανατροπή ή εξαφάνιση της αποφάσεως εκούσιας δικαιοδοσίας με την οποία παρέχεται άδεια για χρησιμοποίηση παρένθετης μητέρας, ιδίως όταν η άδεια παρέχεται σε μοναχικό άνδρα. Μια πρώτη προσεγγιση ΧρΔ2013,549 Ν.ΚΟΥΜΟΥΤΣΗΣ, Η ανατροπή της δικαστικής άδειας για την τεχνητή αναπαραγωγή ΧρΔ 2013,552 Από τη νομολογία βλ. ΕφΑθ. 7851/2014 "Digesta" on line, 2014.

*Abstract***THE RIGHT IN CHILDBIRTH WITH THE METHOD OF SURROGACY FOR THE SINGLE AND LONELY MEN***Penelope Agallopoulou, Professor Emeritus in Piraeus University*

This study refers to the controversial issue although single men can have a child through surrogacy method, as long as there are on their face the conditions required, by law, for obtaining the child with this method of single lonely woman. The author, based on arguments and referred to the relevant case law, considers that it should be for an unmarried lonely man proportionate application of the provisions concerning the single lonely woman. But she also expresses the hope that has been regulated the possibility of the single and lonely man to acquire child by surrogate mother, considering that this issue should not be left to the discretion of the courts, depending on the interpretation of the law in whatever will carry out other times will grant permission and others do not.

KEY WORDS

*childbirth;
surrogacy method;
single and lonely
men; law*

*Βιβλιογραφική παραπομπή άρθρου*

Πηνελόπη Αγαλλοπούλου. Δικαίωμα τεκνοποίησης με τη μέθοδο της παρένθετης μητρότητας για τον άγαμο και μοναχικό άνδρα. *Αναπαραγωγή* 2017; 2: 33-39.

Επιπτώσεις της ενδοοικογενειακής βίας στα παιδιά

Αλίκη Γ. Γρηγοριάδου

Παιδοψυχίατρος, Διδάκτωρ Πανεπιστημίου Αθηνών, Διευθύντρια Ιατροπαιδαγωγικής Υπηρεσίας Αθήνας-Μονάδας Εφήβων Ε.ΚΕ.Ψ.Υ.Ε., Επιστημονική Διευθύντρια Ελληνικού Κέντρου Ψυχικής Υγιεινής και Ερευνών

Ελληνική περίληψη

Η ενδοοικογενειακή βία έχει σοβαρές επιπτώσεις στην ψυχοσυναισθηματική εξέλιξη του παιδιού και μπορεί να επηρεάσει σημαντικά την αναπτυξιακή του πορεία και την ψυχική του υγεία. Η βία στην οικογένεια είναι ένα σύνθετο τραύμα (complex trauma) και συχνά συνυπάρχει με σοβαρά ψυχοκοινωνικά προβλήματα των γονέων. Τα παιδιά που έχουν εκτεθεί σε ενδοοικογενειακή βία παρουσιάζουν ένα ευρύ φάσμα ψυχοπαθολογικών συμπτωμάτων και προβληματικών συμπεριφορών. Οι παρεμβάσεις για την αντιμετώπιση της ενδοοικογενειακής βίας χρειάζεται να γίνουν σε πολλά επίπεδα, να περιλαμβάνουν ολόκληρη την οικογένεια και να αντιμετωπίζουν τα πολλαπλά της προβλήματα. Η αποτελεσματικότητα των παρεμβάσεων αυτών εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από τη συνεργασία μεταξύ διαφορετικών ειδικών και υπηρεσιών.

ΛΕΞΕΙΣ-ΕΥΡΕΤΗΡΙΟΥ

ενδοοικογενειακή βία, κακοποίηση παιδιού, PTSD, σύνθετο τραύμα, παιδική προστασία

Εισαγωγή

Η έκθεση του παιδιού σε ενδοοικογενειακή βία συνιστά ένα σύνθετο τραύμα, το οποίο επηρεάζει σημαντικά την αναπτυξιακή πορεία και την ψυχική του υγεία. Οι επιπτώσεις της εμπειρίας αυτής στα παιδιά είναι συγκρίσιμες με εκείνες της σωματικής κακοποίησης. Αρκετές φορές, οι δύο μορφές κακοποίησης συνυπάρχουν [1]. Τα παιδιά που έχουν εκτεθεί σε ενδοοικογενειακή βία παρουσιάζουν ένα ευρύ φάσμα ψυχοπαθολογικών συμπτωμάτων και προβληματικών συμπεριφορών. Το είδος και η βαρύτητα της εκδηλούμενης ψυχοπαθολογίας εξαρτώνται από τα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά της τραυματικής εμπειρίας, την ηλικία και το φύλο του παιδιού, την παρουσία πρόσθετων επιβαρυντικών ψυχοκοινωνικών παραγόντων στην οικογένεια (ψυχοπαθολογία γονέων, κα-

τάχρηση ουσιών, ανεργία κ.ά.) και την ύπαρξη υποστηρικτικών μηχανισμών, που ενισχύουν την ψυχική ανθεκτικότητα [2, 3, 4, 5].

Η βία στην οικογένεια παραμένει συχνά οικογενειακό «μυστικό». Η αποκάλυψη της αποτελεί στίγμα και προκαλεί αισθήματα ντροπής και φόβου για τις ενδεχόμενες συνέπειες. Φόβοι αντεκδίκησης από ένα βίαιο σύντροφο, όπως και φόβοι απομάκρυνσης των παιδιών από το δυσλειτουργικό οικογενειακό περιβάλλον συμβάλλουν στη μη αποκάλυψη της βίας [5, 6].

Η αντιμετώπιση της ενδοοικογενειακής βίας παρουσιάζει ιδιαίτερες δυσκολίες για τις υπηρεσίες υγείας, ψυχικής υγείας, κοινωνικής προστασίας και δικαιοσύνης, οι οποίες παρεμβαίνουν σε διαφορετικά επίπεδα για την πρόληψη, τη θεραπευτική αντιμετώπιση των επιπτώσε-



Υπεύθυνη αλληλογραφίας:

Αλίκη Γ. Γρηγοριάδου, Μετσόβου 33, 10683 Αθήνα, Τηλ.: 210 8213300
E-mail: alikigrigoriadou@gmail.com

ών της, την προστασία του παιδιού και την υποστήριξη της οικογένειας.

Ενώ οι γνώσεις μας για τις δυσμενείς συνέπειες της ενδοοικογενειακής βίας είναι επαρκώς τεκμηριωμένες, πολύ λιγότερα γνωρίζουμε για τους τρόπους, με τους οποίους μπορούμε να σταματήσουμε τη βία στην οικογένεια και να προστατέψουμε τα παιδιά. Ολοένα και περισσότερο αναγνωρίζουμε ότι οι παρεμβάσεις που απευθύνονται μόνο στα θύματα ή στις μητέρες και τα παιδιά, δεν είναι αποτελεσματικές όταν δεν συμπεριλαμβάνουν και τους πατέρες, που είναι εκείνοι που ασκούν τις πιο σοβαρές και συχνές μορφές βίας στην οικογένεια [4, 5]. Η έλλειψη συντονισμού και συνεργασίας μεταξύ των διαφορετικών υπηρεσιών που έρχονται σε επαφή με τις οικογένειες αυτές μειώνει την αποτελεσματικότητα των παρεμβάσεων που στοχεύουν στην πρόληψη της ενδοοικογενειακής βίας και την παιδική προστασία. Στο τομέα αυτό έχει σημειωθεί πρόοδος τα τελευταία χρόνια, αλλά χρειάζεται να γίνουν πολύ περισσότερα [6, 7, 8].

Επιδημιολογικά δεδομένα

Η έκθεση του παιδιού σε ενδοοικογενειακή βία αφορά κατά κύριο λόγο την έκθεσή του στην άσκηση βίας από τον πατέρα προς τη μητέρα και πολύ σπανιότερα από τη μητέρα προς τον πατέρα [9]. Η ενδοοικογενειακή βία εμφανίζεται σε όλες τις χώρες του κόσμου, και εκδηλώνεται σε οικογένειες κάθε κοινωνικής, οικονομικής, θρησκευτικής ή πολιτισμικής κατάστασης και προέλευσης.

Σύμφωνα με 48 επιδημιολογικές μελέτες από όλο τον κόσμο, ποσοστό 10% ως 69% των γυναικών έχουν εμπειρία κακοποίησης από τον σύντροφό τους, τουλάχιστον μια φορά στη ζωή τους [10].

Στη Μ. Βρετανία, ποσοστό 25% των νέων ενηλίκων αναφέρουν την εμπειρία τουλάχιστον ενός επεισοδίου ενδοοικογενειακής βίας στη διάρκεια της παιδικής και εφηβικής τους ηλικίας [1].

Στις ΗΠΑ, ποσοστό 20% ως 40% των ενηλίκων αναφέρουν έκθεση σε ενδοοικογενειακή βία κατά την παιδική ή εφηβική ηλικία [2].

Σε μελέτη που πραγματοποιήθηκε στις 28 χώρες της Ευρωπαϊκής Ένωσης το 2014, ποσοστό 22% των γυναικών αναφέρει κακοποίηση από τον σύντροφο-σύζυγο. Συνολικά, 13 εκατομμύρια γυναίκες υπέστησαν σωματική βία κατά το χρονικό διάστημα των 12 μηνών που προηγήθηκαν της έρευνας και 3,7 εκατομμύρια υπέστησαν σεξουαλική βία κατά το ίδιο χρονικό διάστημα [11].

Έκθεση σε ενδοοικογενειακή βία

Ορίζουμε ως έκθεση του παιδιού σε ενδοοικογενειακή βία, την κατάσταση, κατά την οποία το παιδί είναι «παρ-

τηρητής» ή «μάρτυρας» σε σωματικές ή σεξουαλικές συγκρούσεις μεταξύ των γονέων του. Το παιδί ακούει ή βλέπει ή εμπλέκεται άμεσα (π.χ. προσπαθεί να παρέμβει), ή βιώνει τα επακόλουθα της βίας μεταξύ των γονέων ή κηδεμόνων του [2, 10].

Το είδος και ο βαθμός της έκθεσης στη βία ποικίλλουν, όπως και τα χαρακτηριστικά των βίαιων συμπεριφορών (σοβαρότητα, συχνότητα, διάρκεια, ένταση) [15].

Οι έρευνες εστιάζουν κυρίως στη βία που ασκείται από άρρενες γονείς, η οποία είναι πολύ συχνότερη. Ωστόσο, είναι σημαντικό να αναγνωρίζεται ότι τα παιδιά μπορεί να εκτίθενται επίσης, σε αμφίδρομη βία μεταξύ των γονέων ή σε βία που ασκείται από την μητέρα προς τον πατέρα [9].

Επιπτώσεις της έκθεσης των παιδιών σε ενδοοικογενειακή βία

Η ερευνητική μελέτη των επιπτώσεων της ενδοοικογενειακής βίας στα παιδιά ξεκίνησε μόλις τη δεκαετία του 1970, παρά το γεγονός ότι η κακοποίηση των γυναικών από τους συζύγους ή τους συντρόφους τους ήταν ένα γνωστό φαινόμενο πολλές δεκαετίες νωρίτερα. Η πρώτη σχετική μελέτη δημοσιεύτηκε το 1975 από το Βρετανό γιατρό M. Levine, ο οποίος περιέγραψε ψυχοπαθολογικά συμπτώματα και προβλήματα συμπεριφοράς, όπως επιθετική συμπεριφορά, αγχώδεις διαταραχές, αϋπνία και φυγές, σε παιδιά που είχαν εκτεθεί σε συζυγική βία [4]. Στα μέσα της δεκαετίας του 1980 το ερευνητικό ενδιαφέρον εστιάστηκε στις εμπειρικές μελέτες παιδιών με εμπειρίες ενδοοικογενειακής βίας. Σήμερα, πλήθος ερευνητικών μελετών και ανασκοπήσεων τεκμηριώνουν τις δυσμενείς επιπτώσεις της τραυματικής αυτής συνθήκης στην ψυχοσυναισθηματική ευημερία και την ψυχική υγεία των παιδιών [1, 2, 5, 6, 8, 12, 13, 15, 16, 17].

Η ηλικία του παιδιού παίζει σημαντικό ρόλο και οι αναπτυξιακοί παράγοντες επηρεάζουν τις συνέπειες της έκθεσης σε ενδοοικογενειακή βία [12]. Ο τρόπος, με τον οποίο το παιδί επεξεργάζεται την εμπειρία του εξαρτάται από: α) το γνωστικό επίπεδο και τις αντιληπτικές του ικανότητες, β) την ψυχοσυναισθηματική του ανάπτυξη και γ) τους αμυντικούς μηχανισμούς, οι οποίοι γίνονται ωριμότεροι και πιο προσαρμοστικοί με την αύξηση της ηλικίας. Τα παιδιά μικρότερης ηλικίας είναι περισσότερο ευάλωτα ψυχικά [18].

Σε παιδιά προσχολικής ηλικίας συχνά συμπτώματα είναι τα παρακάτω [19, 20, 21]:

- Αναπτυξιακή παλινδρόμηση (πχ νυχτερινή ενούρηση)
- Σωματικά συμπτώματα, κυρίως κοιλιακοί πόνοι
- Προβλήματα ύπνου
- Διατροφικές διαταραχές

- Άγχος αποχώρισμού
- Συμπεριφορές προσκόλλησης
- Επιθετικότητα

Τα παιδιά σχολικής και εφηβικής ηλικίας που έχουν εκτεθεί σε ενδοοικογενειακή βία παρουσιάζουν ποικίλα ψυχοπαθολογικά συμπτώματα:

α) Εκδηλώνουν πιο συχνά συμπτώματα αγχώδους και καταθλιπτικής διαταραχής, συγκρινόμενα με τα παιδιά, που δεν έχουν εκτεθεί ποτέ σε ενδοοικογενειακή βία [2, 12, 15, 22, 23].

β) Έχουν περισσότερα προβλήματα συμπεριφοράς, κατά την αξιολόγηση τόσο από τους γονείς, όσο και από τους δασκάλους [4, 12, 17, 24].

γ) Είναι πιο επιρρεπή σε εκδηλώσεις φυσικής βίας [3, 25, 26, 27].

δ) Έχουν αυξημένες πιθανότητες να παρουσιάσουν μετατραυματική διαταραχή άγχους (Post Traumatic Stress Disorder) [12, 13, 14, 19].

Οι επιπτώσεις της έκθεσης σε ενδοοικογενειακή βία φαίνεται να διαφοροποιούνται σε σχέση με το φύλο του παιδιού. Στα αγόρια είναι συχνότερες οι διαταραχές της συμπεριφοράς (εξωτερικευμένες διαταραχές), ενώ στα κορίτσια είναι συχνότερες οι διαταραχές του συναισθήματος και η σωματοποίηση (εσωτερικευμένες διαταραχές) [2, 17, 24].

Μετατραυματική διαταραχή άγχους (PTSD) στα παιδιά

Η διαταραχή αυτή προκύπτει ως καθυστερημένη ή παρατεταμένη αντίδραση προς ψυχοπιεστικό γεγονός ή κατάσταση (μικρής ή μεγάλης διάρκειας) εξαιρετικά απειλητικής ή καταστροφικής φύσεως. Παραδείγματα ψυχοτραυματικών εμπειριών είναι:

Η απαγωγή/ομηρία του παιδιού, η έκθεση σε βία κάθε μορφής, η μαρτυρία βιασμού, φόνου, αυτοκτονίας, η σωματική ή σεξουαλική κακοποίηση, το σοβαρό ατύχημα κάθε είδους, οι απειλητικές καταστάσεις για τη ζωή, οι μείζονες φυσικές καταστροφές.

Η συμπτωματολογία της μετατραυματικής διαταραχής άγχους στα παιδιά περιλαμβάνει τρεις ομάδες συμπτωμάτων [28, 29]:

A. Φαινόμενα αναβίωσης της εμπειρίας:

- Διεισδυτικές ανακλήσεις/αναμνήσεις του γεγονότος
- Τραυματικά όνειρα
- Επαναλαμβανόμενο παιχνίδι
- Επανεκδραμάτιση της αρχικής αντίδρασης στον ψυχοτραυματισμό
- Έντονη ψυχική δυσφορία σε ερεθίσματα που προξενούν υπενθύμιση

B. Ψυχολογικά «μουδιάσματα» - αποφυγή

- Αποφυγή σκέψεων, συναισθημάτων, τοποθεσιών και καταστάσεων συνδεδεμένων με την τραυματική εμπειρία
- Μειωμένο ενδιαφέρον για τις συνήθεις δραστηριότητες
- Αισθήματα μοναξιάς/αποστασιοποίησης/αποξένωσης
- Αναστολή συναισθηματικής έκφρασης
- Διαταραχή μνήμης
- Απώλεια αποκτηθεισών δεξιοτήτων
- Αλλαγή προσανατολισμού προς το μέλλον

Γ. Κατάσταση αυξημένης διεγερσιμότητας

- Διαταραχή ύπνου
- Ευερεθιστότητα/θυμός
- Δυσκολία συγκέντρωσης
- Υπερεπαγρύπνηση
- Έντονη αντίδραση τρόμου
- Συμπτώματα από το αυτόνομο νευρικό σύστημα σε ερεθίσματα που υπενθυμίζουν την τραυματική εμπειρία.

Η κλινική εικόνα και η πορεία της μετατραυματικής διαταραχής επηρεάζονται από την ηλικία του παιδιού, από τα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά της βίας στην οικογένειά του, καθώς και από την παρουσία πρόσθετων επιβαρυντικών περιβαλλοντικών παραγόντων [10, 18, 25].

Βία στην οικογένεια: ένα σύνθετο τραύμα

Ο όρος σύνθετο τραύμα (complex trauma) χρησιμοποιείται για να περιγράψει το σύνολο των τραυματικών εμπειριών ενός παιδιού που εκτίθεται σε ενδοοικογενειακή βία και τις άμεσες, όπως και τις μακροχρόνιες επιπτώσεις αυτών των εμπειριών [30]. Το σύνθετο τραύμα αφορά τις πρωταρχικές σχέσεις του παιδιού, οι οποίες θέτουν τα θεμέλια της ασφάλειας και της εμπιστοσύνης και έχει επαναλαμβανόμενο και χρόνιο χαρακτήρα. Το παιδί ζει σε μια «εμπόλεμη ζώνη», όπου επικρατεί ατμόσφαιρα κινδύνου και αβεβαιότητας. Το σπίτι δεν είναι ασφαλές μέρος, οι απειλές επανάληψης της βίας είναι ρεαλιστικές και δεν υπάρχει δυνατότητα προστασίας ούτε διαφυγής. Οι επιπτώσεις του σύνθετου τραύματος στην ανάπτυξη είναι πολλαπλές και περιλαμβάνουν: καθυστέρηση στην αισθητηριοκινητική ανάπτυξη, διαταραχή προσοχής, δυσκολίες μάθησης, διαταραχή μνήμης, διαταραχή συναισθηματικής ρύθμισης (εκρήξεις θυμού, αυτοκαταστροφικότητα), αρνητική εικόνα εαυτού, διαταραχή αυτο-ελέγχου (επιθετικές, παρορμητικές και ριψοκίνδυνες συμπεριφορές) και σοβαρές διαταραχές στις διαπροσωπικές σχέσεις [8, 19, 31].

Προληπτικές και θεραπευτικές παρεμβάσεις

Η πρόληψη της ενδοοικογενειακής βίας στηρίζεται στις πρώιμες παρεμβάσεις, οι οποίες περιλαμβάνουν: α) προ-

γράμματα υποστήριξης της γονεϊκότητας, β) προληπτικά προγράμματα για παιδιά, στο χώρο του σχολείου, γ) προγράμματα ευαισθητοποίησης και εκπαίδευσης της κοινότητας με στόχο την αναγνώριση του φαινομένου και την καταπολέμηση του στίγματος και δ) υποστηρικτικές παρεμβάσεις σε οικογένειες υψηλού κινδύνου [6, 17].

Οι θεραπευτικές παρεμβάσεις απευθύνονται σε ολόκληρη την οικογένεια, εφ' όσον είναι εφικτό, και περιλαμβάνουν ψυχοθεραπεία γονέων και παιδιών, συμβουλευτική υποστήριξη γονέων, οικογενειακή θεραπεία καθώς

και θεραπευτικές παρεμβάσεις που ορίζονται από τη δικαιοσύνη [4, 5, 7, 8].

Η αποτελεσματικότητα των παρεμβάσεων για την αντιμετώπιση της ενδοοικογενειακής βίας και των επιπτώσεων της στην ψυχική υγεία των παιδιών που εκτίθενται σε αυτή εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από το συντονισμό και τη συνεργασία μεταξύ των υπηρεσιών ψυχικής υγείας, κοινωνικής προστασίας και δικαιοσύνης, οι οποίες παρεμβαίνουν σε διαφορετικά επίπεδα για την προστασία του παιδιού και την υποστήριξη της οικογένειας. ●

Abstract

Domestic violence has a significant and measurable negative effect on children's functioning. A wide range of children's developmental outcomes are compromised by exposure in domestic violence. This experience consists a complex trauma and often occurs in contexts of other disadvantage and interacts with other family problems to harm children's health and wellbeing. These negative effects pertain to emotional and behavioral functioning, psychopathology and general health. Responding effectively to children's experience of domestic violence is a major challenge for those planning and delivering child protection services. Although different types of interventions have been developed to help children, the service response is still fragmented. We need an integrative approach, which seeks to involve all family members, identifies appropriate pathways across full range of services and provides deep and sustained support.

KEY WORDS

domestic violence; child abuse; PTSD; complex trauma; child protection

Βιβλιογραφική παραπομπή άρθρου

Αλίκη Γ. Γρηγοριάδου. Επιπτώσεις της ενδοοικογενειακής βίας στα παιδιά. *Αναπαραγωγή* 2017; 2: 40-44.

Βιβλιογραφικές παραπομπές

1. Radford L, Corral S, Bradley C, et al. Child abused and neglect in the UK today. NSPCDC-National Society for Prevention of Cruelty to Children, 2011.
2. Evans SE, Davis C, Di Lillo D. Exposure to domestic violence: A meta-analysis of child and adolescent outcomes. *Aggression and Violent Behavior* 2008; 13 (2): 181-140.
3. Jones LP, Gross E, Becker I. The characteristics of domestic violent victims in a child protective service caseload. *Families in society. The Journal of Contemporary Social Services* 2002; 83 (4): 405-415.
4. Levine, MB. Interparental violence and its effects on the children: A study of 50 families in general practice. *Medical Science Law* 1975; 15: 172-176.
5. Strauss MA, Gelles RJ, Steinmetz SK. Behind closed doors: Violence in the American family. *Garden City, NY: Doubleday* 1980.
6. Stanley N. Children Experiencing Domestic Violence: A Research Review. *Dartington: Research in Practice* 2011.
7. Jaffe PG, Lemon N, Poisson S. Domestic violence and child custody disputes: Addressing the essential clinical and legal issues. Thousand Oaks, DA. *Sage*, 2003.

Βιβλιογραφικές παραπομπές

8. Briere J, Spinazolla J. Assessment of the sequelae of complex trauma. In C. Cortois and J. Ford (Eds): *Treating complex traumatic stress disorders: An evidence based guide*, 104-123. N.York: Guilford Press, 2009.
9. Strauss MA. Physical assaults by wives: A major social problem. In RJ Gelles , D.R. Loseke (Eds). *Current controversies on family violence 1993*, (67-87). Newbury Park, CA: Sage.
10. Krug EG, et al (Eds). *World Report on Violence and Health*, Geneva, World Health Organization, 2002.
11. FRA–European Union Agency for Fundamental Rights. *Violence against women: Au Eu–wide survey*, 2014.
12. Wolfe DA, Crooks CV, Lee V, et al. The Effects of Children Exposure to Domestic Violence: A Meta-Analysis and Critique. *Clinical Child and Family Psychology Review* 2008; 6(3).
13. Margolin G, Vickerman KA. Post-Traumatic Stress in Children and Adolescents Exposed to Family Violence. *Overview and practice* 2007; 38(6): 613-619.
14. Kilpatrick KL, Litt M, Williams M. Post-traumatic stress disorders in child witnesses to domestic violence. *American Journal of Orthopsychiatry* 1997; 67: 639-644.
15. Kitzmann KM, Gayord MK, Holt AR, Kenny ED. Child witnesses to domestic violence: A meta-analytic review. *Journal of Consulting and Clinical Psychology* 2003; 71: 339-352.
16. Lehmann P. The development of posttraumatic stress disorder (PTSD) in a sample of child witnesses to mother assault. *Journal of Family Violence* 1997; 12: 241-257.
17. Devaney J. Research Review: The Impact of Domestic Violence on Children. *Irish Probation Journal* 2015; 12: 79-94.
18. Berzenski SR, Yates TM. A Developmental Process Analysis of the Contribution of Childhood Emotional Abuse to Relationship Violence. *Journal of Aggression, Maltreatment & Trauma* 2010; 19(2): 180-203.
19. Levendosky, AA, Huth-Bocks AC, Semel MA, Shapiro DL. Trauma symptoms in preschool-age children exposed to domestic violence. *Journal of Interpersonal Violence* 2002; 17: 150-164.
20. Ingoldsby EM, Shaw DS, Owens EB, Winslow EB. A longitudinal study of interpersonal conflict, emotional and behavioral reactivity and preschoolers' adjustment problems among low-income families. *Journal of Abnormal Child Psychology* 1999; 27: 343-356.
21. Fantuzzo JW, DePaola LM, Lambert L, Martino T, Anderson G, Sutton S. Effects of interparent violence on the psychological adjustment and competencies of young children. *Journal of Consulting and Clinical Psychology* 1991; 59: 258-265.
22. Sternberg KJ, Lamb ME, Greenbaum C, Cicchetti D, Dawud S, Cortes RM, et al. Effects of domestic violence on children's behavior problems and depression. *Developmental Psychology* 1993; 29: 44-52.
23. Graham-Bermann SA. Family worries: Assessment of interpersonal anxiety in children from violent and non-violent families. *Journal of Clinical Child Psychology* 1996; 25: 280-287.
24. Jaffee SR, Moffitt TE, Caspi A, Taylor A, Arsenuault L. Influence of adult domestic violence on children's internalizing and externalizing problems: An environmentally informative twin study. *Journal of the American Academy of Child and Adolescent Psychiatry* 2002; 41: 1095-1103.
25. Litrownik A, Newton R, Hunter WM, English D, Everson MD. Exposure to family violence in young at-risk children: A longitudinal look at the effects of victimization and witnessed physical and psychological aggression. *Journal of Family Violence* 2003; 18: 59-73.
26. Edleson JL, Mbilinyi LF, Beeman SK, Hagemester AK. How children are involved in domestic violence: Results from a four city telephone survey. *Journal of Interpersonal Violence* 2003; 18: 18-32.
27. Grych JH, Jouriles EN, Swank PR, Mc Donald R, Norwood WD. Patterns of adjustment among children of battered women. *Journal of Consulting and Clinical Psychology* 2002; 68: 84-94.
28. American Psychiatric Association–APA. *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*. Washington DC, 1994.
29. World Health Organization ICD-10: *International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems*, 2009.
30. National Child Traumatic Stress Network Complex Trauma Taskforce *Complex Trauma in Children and Adolescents* Los Angeles, Ca & Durham, NC: National Center for Child Traumatic Stress, 2003.
31. Coyne JJ, Barrett PM, Duffy AL. Threat vigilance in child witnesses of domestic violence: A pilot study utilizing the ambiguous situations paradigm. *Journal of Child and Family Studies* 2000; 9: 377-388.

Ποιός φοβάται ποιόν μέσα στην τάξη;

Πώς είναι ο καιρός
ρώτησε ο ρινόκερος
το ένα δόντι του δάγκωνε το άλλο
το ένα αυτί του άκουγε το άλλο
το ένα μάτι του έβλεπε λοξά το άλλο

Ντ. Σιώτης, «Ο ρινόκερος»

Ιωάννης Πανούσης

Καθηγητής πανεπιστημίου στον κλάδο της εγκληματολογίας και πρώην Αναπληρωτής Υπουργός Εσωτερικών και Διοικητικής Ανασυγκρότησης αρμόδιος για θέματα Προστασίας του Πολίτη



Υπεύθυνος αλληλογραφίας:

Πανούσης Ιωάννης, Καθηγητής Εγκληματολογίας, Νομικής Σχολής ΕΚΠΑ
Τηλ.: 2103220820, E-mail: panousis@media.uoa.gr

Στο σχολείο ανέκαθεν συναντιόντουσαν πολλών ειδών κρίσεις=εφηβείας, αμφισβήτησης από τους νέους, διάψευσης, κόπωσης από τους δασκάλους, απαξίωσης, υποβάθμισης ρόλου από τους γονείς, αμφίσημης αντιμετώπισης από την Πολιτεία. Δεδομένου ότι κάθε είδους κρίση συνδέεται ευθέως ή έμμεσα με το αίσθημα ανασφάλειας αλλά και με το γενικότερο κλίμα ανομίας, η σχολική κρίση επηρεάζεται πολύ από το είδος των εκπαιδευτικών «μεταρρυθμίσεων» κι από το πολιτισμικό/οικολογικό περιβάλλον μέσα στο οποίο κινούνται όλοι οι παράγοντες της σχολικής κοινότητας.

Η εμφάνιση της, λεγόμενης, ενδοσχολικής βίας και του bullying φαίνεται να έχει διαταράξει τις όποιες ισορροπίες είχαν κρατηθεί μέσα στην τάξη και, παρά την ασάφεια των όρων, να τείνουν στην απαράδεκτη διεύρυνση του ποινικού πεδίου εφαρμογής επί πασίγνωστων και στο παρελθόν μαθητικών συμπεριφορών μαγκιάς κι επιβολής [1].

Η μία αοριστία ακολουθεί την άλλη. Ο σχολικός εκφοβισμός ασκείται μόνον εντός των χώρων του σχολείου ή επεκτείνεται σε συμπεριφορές μαθητών στην

πλατεία, στο γήπεδο, κ.λπ.; Αφορά ηλικίες 7-17 ετών ή ακουμπάει και μετέφηβους ή νεαρούς ενήλικες; Πώς και γιατί συνδέεται ο σχολικός εκφοβισμός με τον κοινωνικό αποκλεισμό, ο οποίος έχει άλλη αφετηρία και περιεχόμενο;

Επιμένω. Η σχολική βία είναι όρος ασαφής άρα επικίνδυνος, αφού «χωράει» την επιθετικότητα, την εξωτερική εμφάνιση, τη ρύπανση του περιβάλλοντος [2], τα ψυχικά τραύματα [3], τον ρατσισμό [4], τη φθορά στους τοίχους, μέχρι προφανώς, και το φόνο.

Καθώς δεν υπάρχει κοινά αποδεκτός ορισμός η ποινικοποίηση [5] (βλ. άρθρο 8 ν. 4322/15) συνιστά αμηνία και εντάσσεται στη λογική της κατάχρησης εξουσίας της Πολιτείας απέναντι στην κακή χρήση ελευθερίας του πολίτη [6].

Κατά τη γνώμη μου ο όρος, η έκταση και ο σχετικός πανικός των ΜΜΕ γύρω από το bullying συγκροτούν μία «κατασκευή» η οποία μπορεί ν'αποδοθεί σε διάφορα κίνητρα αλλά σίγουρα δεν αποτελεί το μεγαλύτερο και σοβαρότερο πρόβλημα του ελληνικού σχολείου (σε βαθμό που να εκδίδονται ειδικοί οδηγοί για τη στρατηγική αντιμετώπισης) [7].

Bullying στην πολιτική [8], στο στρατό, στην αστυνομία, στον τόπο εργασίας. Μία ακατανόητη bullying-κοκρατία που άλλοτε αναφέρεται σ'επιθετικές συμπεριφορές μεταξύ μαθητών κι άλλοτε περιλαμβάνει ως θύματα και διδάσκοντες [9].

Επειδή έχω πολλές φορές ασχοληθεί σε διάφορα επίπεδα με την ενδοσχολική βία [10] κι επειδή προλογίζω το βιβλίο ενός επιστήμονα/ακαδημαϊκού δασκάλου, ο οποίος έχει ερευνήσει όσο κανένας άλλος τις φανερές και τις κρυμμένες πτυχές του φαινομένου (συχνότητα, ποιότητα, κουλτούρα, ιδιότητες εκπαιδευτικών) θα επιχειρήσω να συμβάλλω στο διάλογο θέτοντας ορισμένα ερωτήματα.

1 Ποιός βάζει τις διαχωριστικές γραμμές ανάμεσα στην καζούρα, την πλάκα, τον τσαμπουκά της εφηβείας και τον τιμωρούμενο σχολικό εκφοβισμό; Ο συχνά φοβισμένος, ευθυνόφοβος ή αδιάφορος δάσκαλος; Το κλίμα της εποχής όπως διαμορφώνεται από τα ΜΜΕ; Οι γονείς των «ευάλωτων» παιδιών;

Σε ποιά σχέση βρίσκεται η ενδοσχολική βία με την αντικοινωνική, αντισυμβατική, αντικανονική απειθαρχία κι εντέλει με το έγκλημα;

Αν πάλι δεν πρόκειται για έγκλημα, οπότε επιλαμβάνονται τα αρμόδια όργανα της Πολιτείας, τότε ποιά είναι ακριβώς η «τιμωρούμενη» πράξη και ποιός την «τιμωρεί»; Προ-bullying δεν ετιμωρούντο παρόμοιες συμπεριφορές, ως απειλή, εκβίαση, σωματικές βλάβες με βάση τον ισχύοντα Π.Κ.;

Με ποιά μεζούρα μετριέται η μη-politically correct «αντί-δραση» των μαθητών στις συχνά αντιφατικές εντολές της διοίκησης;

Οι απαξιωματικοί χαρακτηρισμοί και οι λεκτικές ακρότητες πολλών ενηλίκων (γονιών ή δασκάλων) εμπίπτουν στο πεδίο του bullying;

2 Πώς ανεδείχθη ο -ΕΣΠΑ- εκφοβισμός σαν πρώτο πρόβλημα του ελληνικού σχολείου (πάνω κι από τα ναρκωτικά και την παιδοφιλία [11] ή τη διείσδυση της Χ.Α στις αίθουσες [12]);

3 Τί ακριβώς φοβόμαστε από τον εκφοβισμό; Την ασφάλεια των αδύναμων μαθητών, τη μετατροπή του σχολείου σ' εγκληματικό χώρο, την αδυναμία των καθηγητών να ελέγξουν τις μαθητικές εντάσεις, την ασυνεννοησία καθηγητών-γονιών ως προς τη διαχείριση σχέσεων δράστη-θύματος, την ποινικοποίηση της μαθητικής ζωής, την αστυνόμευση της τάξης, τη μη-αξιακή λειτουργία του σχολείου, την κατηγοριοποίηση των σχολικών μονάδων σε Α' και Β' ασφάλειας;

4 Αφιερώματα [13], συνέδρια [14], Εθνικό Παρατηρητήριο [15], εκδόσεις [16], έρευνες [17] τί έχουν μέχρι σήμερα καταγράψει ως σοβαρά περιστατικά «εγκληματικής» βίας;

5 Βαίνουμε προς θέσπιση «ιδιώνυμου» εγκλήματος σωματικής βλάβης ανηλίκων από σκληρή συμπεριφορά προερχόμενη από έλλειψη συναισθήματος για τα πάθη του θύματος; [18]

6 Πιστεύουμε ότι πρόκειται για εμφύλιους πολέμους στα σχολεία [19] (συσχετίζοντας την όποια ελληνική σχολική βία με τα αιματηρά φαινόμενα στις Η.Π.Α) [20] ή θεωρούμε αρκετό ν'αναλύουμε τα περιστατικά με βάση τα λεγόμενα από μετανοιωμένους νταήδες [21] ή «επαναστατημένους» νέους; [22]

7 Παρίσταται ανάγκη πρόσληψης σχολικών ένοπλων φρουρών [23] έχοντας την αίσθηση ότι η χώρα μας έχει ενταχθεί στην κουλτούρα της Άγριας Δύσης [24], όπου το σύνδρομο Τζόν Γουέιν επικρατεί αφού η βία είναι μία μορφή επιβίωσης;

8 Αντισυμβατικά σχολεία, εντοπισμός ομάδων υψηλού κινδύνου, έλεγχος/τιμωρία της απειθαρχίας, ομάδες φιλίας θα δώσουν λύση; [25]

9 Πρόκειται για ζήτημα προσωπικής ηθικής, εκπαιδευτικής πολιτικής ή κοινωνικών αξιών; Αντικείμενο της Παιδαγωγικής, της Εγκληματολογίας [26], της Ψυχολογίας; Ατομικές αποκλίσεις, οργανωμένο έγκλημα, κοινωνική ανομία;

Όπως και να προσεγγίσει κανείς το φαινόμενο θα συναντήσει ως κοινό παρονομαστή την αναζήτηση ταυτότητας [27] (σαν παιχνίδι, σαν πρόκληση, σαν αμφισβήτηση, σαν αντίσταση, σαν υπεροχή) [28].

Από το ορμονικό bullying [29] μέχρι το εφηβικό αμόκ [30], από το σοκ και το δέος των γονιών μέχρι τις συμμορίες βίας στα σχολεία, από την «εγκληματική» δράση μέχρι τ'απροστάτευτα θύματα και τους αδιάφορους τρίτους, είναι προφανές πως υπάρχει κάτι -αόριστο- που φοβίζει. Ατομικός τραμπουκισμός, διαπολιτισμικές συγκρούσεις, το τέλος της αθωότητας [30], δυσκολίες κοινωνικοποίησης κι ένταξης στο σχολείο, περιβάλλον απόρριψης, που χρεώνεται ακόμα και τις αυτοκτονίες μαθητών (bullycide) [31], πλημμυρίζουν τις σελίδες των ΜΜΕ.

Γ' άλλους κυριαρχεί το κυνήγι θυμάτων [32], γι' άλλους η απόλαυση της βίας [33], γι' άλλους οι σχέσεις

κυριαρχίας [34], γι' άλλους το cyberbullying (e-mails, websites, cellphones) αλλά, φαίνεται τελικά, η βασική αιτία να τους διαφεύγει.

Στον εκφοβισμό έφταιγε η σωματική δύναμη, στο cyber υπεύθυνη είναι η τεχνολογία και η ανωνυμία [35].

Προφανώς, η τεχνολογία έχει «σκοτεινές» πλευρές που πρέπει να προβληματίσουν Πολιτεία, γονείς, δασκάλους [36]. Καμία όμως σχέση δεν έχει αυτό με το school shooting [37]. Ο όποιος ναρκισσισμός ή ανδρισμός του «εκφοβιστή» δεν μετατρέπεται ευθέως σε όπλο που εκπυρσοκροτεί και σκοτώνει.

Η συσχέτιση του σχολικού εκφοβισμού με την ηλεκτρονική παρενόχληση, κυρίως μεταξύ φίλων [38], προσκρούει τόσο στις διαφορετικές εννοιολογήσεις που οι ίδιοι «δράστες» δίνουν στην πράξη τους, όσο και στην ειλικρίνεια της αυτο-ομολογούμενης θυματοποίησης [39].

Το καίριο, νέο πρόβλημα, είναι ότι το cyberbullying μπαίνει στο σπίτι μας [40] και δεν μένει μόνο μέσα στους σχολικούς τοίχους, με συνέπεια, να αυξάνονται οι ευ-

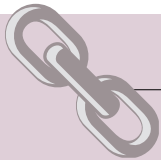
θύνες των γονέων, οι οποίοι συχνά αγνοούν αυτού του είδους τις νέες τεχνολογίες [41].

Όπως και να προσεγγίσουμε τις ηλεκτρονικές επιθετικές συμπεριφορές των μαθητών δεν ωφελεί ο ηθικός πανικός και χρειάζεται μελέτη με νέα επιστημονικά εργαλεία.

Εντέλει, η αναγκαία «συνείδηση του άλλου» [Ράμφος] [42] δεν έχει καμμία σχέση ούτε με τις καταλήψεις [43], ούτε με τα Μνημόνια [44], ούτε βέβαια με την ένοπλη αντί-δραση κατά της σχολικής βίας.

Από την άλλη, η πρόληψη αργεί και η σιωπή των τρίτων όλο και διευρύνεται [45], καθώς ουδείς αισθάνεται την υποχρέωση να σεβαστεί ή να υπερασπιστεί τα δικαιώματα των άλλων [46].

Για τη Διαμεσολάβηση δεν έχω να προσθέσω κάτι παραπάνω [47]. Απλώς θα υπενθυμίσω και πάλι, ότι η διαμεσολάβηση δεν υποκαθιστά το Νόμο και το κανονιστικό πλαίσιο του σχολείου, ούτε βέβαια ακυρώνει τον δάσκαλο. ●



Βιβλιογραφική παραπομπή άρθρου

Ιωάννης Πανούσης. Ποιός φοβάται ποιόν μέσα στην τάξη;. *Αναπαραγωγή* 2017; 2: 45-49.

Βιβλιογραφικές παραπομπές

1. Panousis Y. School crisis and in-school violence, in "Crisis in Education". *HM* 2014; 167-180.
2. Floro M. Questions de violences á l'école, ér és. *Ramonville* 1996.
3. Louwes Jose. Ψευτοπαλληκαρισμός στα σχολεία. *Ελευθεροτυπία* 11/09/09.
4. Μάστορας Ν. Στόπ στον ρατσισμό στα σχολεία. *ΝΕΑ* 15/11/12.
5. Συκιώτου Αθ. Η σχολική βία και οι ατυχείς νέες ρυθμίσεις για το bullying. *Ποιν Δικ* 2016; 196: 247-250.
6. Σπυρόπουλος Φ. Τραμπουκισμός στην ελληνική έννομη τάξη. *ΠοινΔικ* 2016; 196: 255-258.
7. Σιδέρης Ν. Bullying-Κι όμως νικιέται. *Μεταίχμιο* 2015 [και τις εκεί εμπειρίες και προγράμματα].
8. βλ. πολλά σχετικά δημοσιεύματα του Τύπου για προπηλακισμούς πολιτικών
9. Ζαμπούκας Α. Ποιός θα σώσει τους καθηγητές από το bullying, *Protagon* 5/4/16.
10. Η βία στα σχολεία. *Σύγχρονη Εκπαίδευση* 95; 85: 79-81. Ταξικοί αγώνες με ή χωρίς διαιτητή; Βία στα σχολεία, *ΠοινΔικ* 2006; 1: 75-84. Ενδοσχολική βία χωρίς όρια και όρου. *Συγκριτική και Διεθνής εκπαιδευτική επιθεώρηση* 2008; 10: 35-46 [και τις εκεί βιβλιογραφικές παραπομπές]
11. Τζαβάρα Λ. Η μεγάλη απειλή. *Ελευθεροτυπία* 5/12/13.
12. Παπαδόπουλος Γ. Η χρυσαυγίτικη διάπλωση των παιδων. *ΝΕΑ* 27/2/13 - Γ. Ανδρουλάκης. Σβάστικες στα σχολεία. *ΒΗΜΑ* 18/11/12.
13. βλ. Παρόν 2012; 53: 8-9, Ο παλμός του Λεοντείου 29/2013.
14. βλ. μ.ά συνέδριο ΠΑΜΑΚ [Μαρτ.2016], Παν/μιο Ιωαννίνων [Μάιος 2016].
15. Από το 2012
16. βλ. Φαινόμενα βίας στη σχολική ζωή, ΓΓΝΓ 1999-Παιδαγωγικό Ινστιτούτο ΥΠΕΠΘ, 2000.
17. βλ. τελευταία έρευνα Ιδρύματος Τσάτσου [parents.gr] και κυρίως 'Η Κοινωνιολογία της εκπαίδευσης στην Ελλάδα-Ερευνών απάνθισμα' [επιστ. επιμ. Θ. Θάνου], Gutenberg 2015, σ.361-425, Α. Συκιώτου, ο.π.π., σ.249-Φ. Σπυρόπουλος, ο.π.π., σ.255.
18. ΑΠ 819/2007, ΠοινΔικ4/2008, σ.406-βλ. και άρθρο 8 Ν.4322/15.
19. Θ.Τσίτσας, Αλεξίσφαιρα για μαθητές, *Ελευθεροτυπία* 3/5/12 - Λ. Βάρβογλη, Ο πόλεμος αρχίζει από τα σχολεία, *ΒΗΜΑ ΚΥΡΙΑΚΗΣ* 25/5/03.
20. Ξενάκη Κ. Σόκ από μακελειό σε σχολείο. *ΝΕΑ* 15-16/12/12.
21. Παπαδόπουλος Γ. Μετάνοιωσα που ήμουν νταής. *ΝΕΑ* 11-12/2/12.
22. Τσανίρα Ειρ. Γιατί ξεσηκώνονται οι νέοι. *Ελευθεροτυπία* 3/7/06.
23. Μπαστέα Νατ. Πρόταση για σχολικούς ...πιστολέρο. *ΝΕΑ* 24/12/12.
24. Πάνου Έλλη. Η Άγρια Δύση υπάρχει ακόμ. *Εφ-Συν* 17/12/12.
25. βλ. γενικότερα Le role de l'école dans la prevention de la delinquance juvenile. Conseil de l' Europe, Strasbourg 1972 - Prevention of juvenile delinquency. The role of institutions of socialization in a changing society, European Committee on crime problems, Council of Europe, Strasbourg 1982 - Γαλάνης Γ. Παραβατικότητα μαθητών και προληπτική εκπαίδευση. *Σύγχρονη Εκπαίδευση* 95; 82-83, 126-128.
26. Γιωτοπούλου-Μαραγκοπούλου Α. Η εγκληματολογική προσέγγιση της ενδοσχολικής βίας. *Εγκληματολογία* 2012; 2:6-8.
27. Erikson E H. Identity. Youth and Crisis. *Faber and Faber* 1968.
28. Πανούσης Γ. Το παιχνίδι και η πρόκληση. *Εγκληματολογικές Έρευνες* 1991; 1: 81.
29. βλ. 'Ορμόνες υπεύθυνες για το bullying', *Ελευθεροτυπία* 18/10/08.
30. βλ. συνέντευξη Σπ. Χατζηγιάννη. Μαθητές στο στόχαστρο. *Ε* 22/3/09, 43-56.
31. Κούρος Γ. Ανιχνεύστε τα σημάδια του bullying. *Ελεύθερος Τύπος Κυριακής* 14/10/07.
32. Χαλάτσης Π. Σχολικός εκφοβισμός-ψυχολογική προσέγγιση, σε 'Επικίνδυνα παιδιά ή παιδιά σε κίνδυνο' [επιμ. Γ. Πανούση], *Lector* 2008; 127.
33. Τσιάκαλος Γ. Σχολικός εκφοβισμός-παιδαγωγική προσέγγιση, ο.π.π., 133.
34. Παπαθεοδώρου Θ. Σχολικός εκφοβισμός-εγκληματολογική προσέγγιση, ο.π.π., 139.
35. Qing L. New bottle but old wine=a research of cyberbullying in schools, *Computers in human behavior xxx*[2005]3.
36. Campbell M. Cyber bullying=an old problem in a new guise; *Australian Journal of guidance and counseling* 15[1]: 68-76.
37. Augusto de Venanzi, School shooting in the US-A=popular culture as risk, teen marginality and vi-

- olence against peers, *Crime- Media- Culture* 2012; 8[3]: 261-278.
38. Beran T, Qing L. The relationship between cyberbullying and school bullying. *Journal of student wellbeing* 2007;1[2]: 15-33.
39. Sourander A, Luntamo T. Psychosocial risk factors associated with cyberbullying among adolescents. *Arch.Gen.Psychiatry* 2010; 67[7]: 721-727.
40. Tokunaga R S. Following you home from school=a critical review and synthesis of research on cyberbullying victimization. *Computers in human behavior* 2010; 26: 277-287.
41. Dehue F, Bolman C, Vollink Tr. Cyberbullying=Youngsters' experiences and parental perception. *Cyber Psychology and Behavior* 2008; 11[2]: 221.
42. Κατσουνάκη Μ. Ένα Κράτος ασυνάρτητων νηπίων. *Καθημερινή* 28/9/11.
43. Μάνδρου Ι. «Γαϊτανάκι» ευθυνών για τις καταλήψεις. *Καθημερινή Κυριακής* 2/10/11.
44. βλ. Τα σχολεία του Μνημονίου και της βίας. *Ποιντίκι* 3/1/13.
45. Κατσουνάκη Μ. Η βία στα σχολεία και η σιωπή που τη θρέφει. *Καθημερινή Κυριακής* 17/1/13.
46. Πανούσης Γ. Ποινικοί ναί, ηθικοί όμως; *Ηθικοί πανικοί, Εξουσία και Δικαιώματα* [επιμ. Β. Καρύδης, Αθ. Χουλιάρης], Σάκκουλας 2015, σ.53.
47. Θάνου Θ. [επιστ. επιμ.] Η διαμεσολάβηση στο σχολείο και στην κοινωνία - Επανορθωτική δικαιοσύνη - Σχολική διαμεσολάβηση - Ποινική συνδιαλλαγή, *Πεδίο* 2011; 29-37 - Συκιώτου Α., οπ.π., σ.252 - Σπυρόπουλος Φ., οπ.π., σ.257.

Οδηγίες προς τους συγγραφείς

ΓΕΝΙΚΕΣ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΕΣ

Το Περιοδικό «ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗ» δέχεται κείμενα που έχουν γραφεί σύμφωνα με τις παρακάτω οδηγίες για τους συγγραφείς. Στο Περιοδικό δημοσιεύονται άρθρα στην ελληνική γλώσσα.

ΕΙΔΗ ΔΗΜΟΣΙΕΥΜΑΤΩΝ

A. Άρθρα σύνταξης (opinion papers)

Απόψεις και κρίσεις για ερευνητικά θέματα ή αντιπαράθεσεις σε δημοσιευμένες εργασίες ή μετά από πρόσκληση για σχολιασμό από την Σύνταξη του Περιοδικού ή από άλλο περιοδικό, μετά από έγγραφη έγκριση της σύνταξης.

B. Ανασκοπήσεις / Μετα-αναλύσεις

Ολοκληρωμένες αναλύσεις κλινικών ή άλλων θεμάτων, βασισμένες σε σύγχρονες ελληνικές και διεθνείς βιβλιογραφικές πηγές. Ο αριθμός των συγγραφέων της Περιγραφικής Ανασκόπησης μπορεί να είναι μέχρι και 2, της Συστηματικής Ανασκόπησης μέχρι και 3 (τρία), ενώ για τη Μετα-ανάλυση μπορεί να είναι μέχρι 8 (οκτώ).

Γ. Ερευνητικά Άρθρα

Πρωτότυπες εργασίες, που πραγματοποιήθηκαν με βάση ερευνητικό πρωτόκολλο και παρουσιάζουν νέα και σημαντικά ευρήματα. Ο αριθμός των συγγραφέων μπορεί να είναι μέχρι και 8 (οκτώ). Η έκταση του κειμένου δεν πρέπει να υπερβαίνει τις 3.000 λέξεις στα είδη δημοσιεύσεων Α και Β.

Δ. Παρουσιάσεις περιστατικών (case reports)

Άρθρα, στα οποία περιγράφεται μία νέα ή σπάνια μέθοδος αντιμετώπισης προβλήματος υπογονιμότητας. Η έκταση του κειμένου δεν πρέπει να υπερβαίνει τις 1.500 λέξεις.

Ε. Γενικά / Ειδικά Άρθρα

Σύντομη περιγραφή των τελευταίων απόψεων σε ένα συγκεκριμένο θέμα υπογονιμότητας.

ΣΤ. Επιστολές προς τη Σύνταξη

Περιλαμβάνουν σχόλια και κρίσεις για ήδη δημοσιευμένα άρθρα, παρατηρήσεις σε επίκαιρα κλινικά θέματα, πρόδρομα ερευνητικά αποτελέσματα, κλινικές παρατηρήσεις κ.λπ. Δεν πρέπει να υπερβαίνουν τις 400 λέξεις.

Z. Βραχείες Δημοσιεύσεις

Σύντομα άρθρα πρώιμων ερευνητικών αποτελεσμάτων. Η έκταση του κειμένου δεν πρέπει να υπερβαίνει τις 1500 λέξεις. Η Άρθρα συνεχιζόμενης εκπαίδευσης. Περιγράφονται και αναλύονται θέματα υπογονιμότητας που παρουσιάζονται με βάση σύγχρονα τεκμηριωμένα ερευνητικά δεδομένα (evidence based practice). Θ. Επιστημονική ειδησιογραφία. Αποτελούν βιβλιοκρίσεις ή αποτελέσματα ερευνητικών μακροχρόνιων μελετών, αποτελέσματα συνεδρίων και σημαντικές ειδήσεις ιατρικών εταιρειών.

ΥΠΟΒΟΛΗ ΑΡΘΡΟΥ

Τα άρθρα υποβάλλονται με ηλεκτρονικό ταχυδρομείο στην ηλεκτρονική διεύθυνση της Ελληνικής Εταιρείας Αναπαραγωγικής Ιατρικής info@eeai.gr υπόψη του Διευθυντή Σύνταξης.

Κάθε άρθρο πρέπει να συνοδεύεται από επιστολή του συγγραφέα όπου θα αναφέρονται τα ακόλουθα: 1) Διαβεβαίωση ότι η εργασία δεν έχει δημοσιευθεί ολόκληρη ή μέρος αυτής σε άλλο περιοδικό. 2) Αναφορά του ρόλου κάθε μέλους της συγγραφικής ομάδας. 3) Δήλωση ότι το τελικό κείμενο της εργασίας αναγνώστηκε και εγκρίθηκε από όλους τους συγγραφείς. 4) Δήλωση ότι όλοι οι συγγραφείς αποδέχονται την αποκλειστική κυριότητα της εργασίας από το Περιοδικό «ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗ» μετά τη δημοσίευσή της σε αυτό. 5) Το όνομα, την ταχυδρομική και ηλεκτρονική διεύθυνση καθώς και το τηλέφωνο του συγγραφέα που είναι υπεύθυνος για την αλληλογραφία ο οποίος θα λαμβάνει άμεσα μέσω e-mail το αποτέλεσμα της υποβολής.

ΑΝΑΛΥΤΙΚΕΣ ΟΔΗΓΙΕΣ ΠΡΟΣ ΤΟΥΣ ΣΥΓΓΡΑΦΕΙΣ

Το κείμενο και οι πίνακες θα πρέπει να είναι γραμμένα με διπλό διάστιχο, με γραμματοσειρά Times New Roman ή Arial και μέγεθος 12, με περιθώρια τουλάχιστον 2,5 cm και στις 4 πλευρές της σελίδας μεγέθους Α4. Το κείμενο πρέπει να είναι γραμμένο με το πρόγραμμα «Microsoft Word» (υπό μορφή *.doc) και οι σελίδες να είναι αριθμημένες, στην κάτω δεξιά γωνία. Όλα τα άρθρα τα οποία υποβάλλονται υποχρεωτικά θα πρέπει να περιέχουν, κατά σειρά: Σελίδα Τίτλου, Ελληνική περίληψη, Λέξεις-ευρετηρίου, Κείμενο, Αγγλική περίληψη, Βιβλιογραφικές παραπομπές, Πίνακες, Εικόνες, Λεζάντες εικόνων.

Η σελίδα του τίτλου θα πρέπει να περιέχει: 1) Το είδος του άρθρου, 2) Τον πλήρη τίτλο του άρθρου (10-16 λέξεις, μέχρι 250 χαρακτήρες), 3) Το πλήρες ονοματεπώνυμο κάθε συγγραφέα, με τη σειρά που εμφανίζεται στο

άρθρο, γραμμένο με πεζά γράμματα και οι σημαντικότεροι ακαδημαϊκοί-επαγγελματικοί τίτλοι των συγγραφέων, 4) Την ημερομηνία υποβολής του άρθρου, 5) Το ίδρυμα, την κλινική, το εργαστήριο, τη σχολή ή το ερευνητικό κέντρο από τα οποία προέρχεται η εργασία, 6) Τυχόν διαφωνίες επιστημόνων της ερευνητικής ομάδας, χρηματοδοτήσεις ή ευχαριστίες, 7) Το όνομα, την ταχυδρομική και ηλεκτρονική (e-mail) διεύθυνση, το τηλέφωνο, τον αριθμό fax του υπεύθυνου για την αλληλογραφία συγγραφέα.

Περίληψη: Γράφεται στην ελληνική και αγγλική γλώσσα και η έκτασή της κυμαίνεται από 300 έως 400 λέξεις. Στη σελίδα της περίληψης θα πρέπει να περιλαμβάνεται 3-6 λέξεις ευρετηρίου. Η δομή της περίληψης είναι: Εισαγωγή, Σκοπός, Υλικό και Μέθοδος, Αποτελέσματα και Συμπεράσματα.

Κυρίως κείμενο: Οι Ανασκοπήσεις, οι Μετα-αναλύσεις, οι Ερευνητικές Εργασίες, οι Βραχείες Δημοσιεύσεις και τα άρθρα Συνεχιζόμενης Εκπαίδευσης κεφαλαιοποιούνται. Οι ανασκοπήσεις πρέπει απαραίτητα να περιλαμβάνουν: (α) Εισαγωγή, (β) Σκοπό, (γ) Υλικό και Μέθοδος, (δ) Αποτελέσματα, (ε) Συζήτηση, (στ) Συμπεράσματα, και να ακολουθούν την ανάπτυξη της περίληψης αλλά σε μεγαλύτερη έκταση. Τα άρθρα Συνεχιζόμενης Εκπαίδευσης πρέπει απαραίτητα να περιλαμβάνουν 3-5 εκπαιδευτικούς στόχους που αφορούν στην κλινική πρακτική της υποβοηθούμενης αναπαραγωγής ή την υπογονιμότητα γενικότερα. Οι Παρουσιάσεις Περιστατικών (case reports) διακρίνονται στα τμήματα: (α) Εισαγωγή, (β) Περιγραφή περίπτωσης, (γ) Συζήτηση, (δ) Συμπεράσματα.

ΚΑΝΟΝΕΣ ΗΘΙΚΗΣ & ΔΕΟΝΤΟΛΟΓΙΑΣ

Οι συγγραφείς θα πρέπει να επιβεβαιώσουν ότι τα αποτελέσματα των μελετών τους προέκυψαν από ερευνητικές εργασίες οι οποίες τήρησαν τον κώδικα των ανθρωπίνων δικαιωμάτων και τις αρχές δεοντολογίας για την έρευνα σε ανθρώπους και πειραματόζωα, όπως αυτές σαφώς διατυπώνονται από τη Διεθνή Επιτροπή Εκδοτών Ιατρικών Επιστημονικών Περιοδικών (International Committee of Medical Journal Editors, www.icmje.org) και την Διακήρυξη του Ελσίνκι (World Medical Association Declaration of Helsinki, 1975 αναθεώρηση 2008) (www.wma.net/en/30publications/10policies/b3/). Στο κεφάλαιο της Μεθόδου θα πρέπει να υπάρχει δήλωση των συγγραφέων ότι τηρήθηκε η ανωνυμία και ότι εξασφαλίστηκε η πληροφορημένη συναίνεση και συγκατάθεση των συμμετεχόντων και η ενυπόγραφη άδεια νοσοκομείων ή άλλων φορέων, καθώς και δημιουργών εργαλείων/ερωτηματολογίων κ.λ.π.

Οι μονάδες μέτρησης να αναφέρονται σύμφωνα με το σύστημα μονάδων SL, οι συντμήσεις λέξεων ή φράσεων επιτρέπονται αρκεί να αναφέρονται σε παρένθεση, καθώς επίσης απαραίτητη είναι η δήλωση αντικρουόμενων συμφερόντων, η δήλωση πηγών χρηματοδότησης και οι ευχαριστίες (απευθύνονται μόνο προς άτομα με ουσιαστική συμβολή στην πραγματοποίηση της έρευνας ή συγγραφής του άρθρου). Εάν χρησιμοποιούνται στοιχεία από δημοσιευμένο ή μη υλικό, εξασφαλίζεται η άδεια και αναφέρεται σαφώς στις ευχαριστίες. Οι βιβλιογραφικές παραπομπές δεν θα πρέπει να είναι περισσότερες από 40 σε ξεχωριστή σελίδα στο τέλος του κειμένου της εργασίας. Όλα τα γραφήματα, εικόνες και φωτογραφίες πρέπει να κατατίθενται και χωριστά σε αρχείο μορφής JPEG, όχι περισσότερες από 2-3. Οι τίτλοι και οι επεξηγήσεις πρέπει να γράφονται στη σελίδα τίτλων των εικόνων. Ο αριθμός των πινάκων πρέπει να περιορίζεται στους απολύτως απαραίτητους. Όλοι οι πίνακες αναφέρονται στα σημεία του κειμένου όπου αντιστοιχούν και αριθμούνται με συνεχόμενους αραβικούς αριθμούς. Οι πίνακες δακτυλογραφούνται σε διπλό διάστημα και σε ξεχωριστή σελίδα ο καθένας.

ΚΡΙΣΗ ΕΡΓΑΣΙΩΝ

Κάθε άρθρο κρίνεται ανεξάρτητα από την συντακτική επιτροπή. Ο Διευθυντής Σύνταξης διατηρεί το δικαίωμα της τελικής απόφασης της δημοσίευσης. Οι κριτές αποφαινόμενοι εάν το άρθρο είναι: (α) Αποδεκτό για δημοσίευση χωρίς τροποποιήσεις, (β) Αποδεκτό για δημοσίευση με μικρές τροποποιήσεις, (γ) Αποδεκτό για δημοσίευση κατόπιν σημαντικών τροποποιήσεων, (δ) Μη αποδεκτό για δημοσίευση στην παρούσα μορφή.

ΠΑΡΑΧΩΡΗΣΗ ΠΝΕΥΜΑΤΙΚΩΝ ΔΙΚΑΙΩΜΑΤΩΝ

Η κατάθεση εργασίας προς δημοσίευση συνεπάγεται ότι η εργασία δεν έχει δημοσιευθεί ή δεν είναι υπό κρίση σε κάποιο άλλο επιστημονικό περιοδικό. Ενυπόγραφη άδεια παραχώρησης πνευματικών δικαιωμάτων από όλους τους συγγραφείς θα πρέπει να αποστέλλεται στον Εκδότη του περιοδικού πριν από την δημοσίευση της εργασίας.

ΤΥΠΟΓΡΑΦΙΚΗ ΔΙΟΡΘΩΣΗ

Οι συγγραφείς υποχρεούνται σε μία τυπογραφική τελική διόρθωση, πριν από τη δημοσίευση του άρθρου.

ΑΠΟΣΤΟΛΗ ΑΝΑΤΥΠΩΝ

Ο υπεύθυνος για την αλληλογραφία συγγραφέας θα λάβει ένα ηλεκτρονικό αρχείο σε μορφή pdf με την τελική μορφή του υπό δημοσίευση άρθρου. Η αποστολή έντυπων ανατύπων γίνεται ύστερα από αίτηση των συγγραφέων.

