



ΕΛΛΗΝΙΚΗ
ΕΤΑΙΡΕΙΑ
ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΙΚΗΣ
ΙΑΤΡΙΚΗΣ

ΤΕΤΡΑΜΗΝΙΑΙΟ ΠΕΡΙΟΔΙΚΟ
ΙΑΝΟΥΑΡΙΟΣ -
ΔΕΚΕΜΒΡΙΟΣ 2019
ISSN 2529-1475

04

ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗ

ΝΕΑ: ΕΡΕΥΝΑ / ΑΝΟΣΟΛΟΓΙΑ / ΕΝΔΟΚΡΙΝΟΛΟΓΙΑ / ΓΕΝΕΤΙΚΗ





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.

Νέες μορφές οικογένειας και η κοινωνική τους ενσωμάτωση

Καθηγητής Ευγένιος Κουμαντάκης
Πρόεδρος της Ελληνικής Εταιρείας Αναπαραγωγικής Ιατρικής

Η οικογένεια αποτελεί το βασικό κύτταρο της οργανωμένης κοινωνικής συμβίωσης. Η οικογένεια άσχετα από τις δυσκολίες που αντιμετωπισε κατά καιρούς, σαν θεσμός έχει αναγνωριστεί και λειτουργεί με τη μία ή την άλλη μορφή σε όλες τις χώρες του κόσμου, είτε αυτές είναι πολιτισμένες είτε είναι απολίτιστες. Ο κυριότερος προορισμός της οικογένειας είναι η διαίωσιση του είδους. Ο σημαντικός ρόλος που έχει ανατεθεί στην οικογένεια είναι η ανατροφή των παιδιών τους. Σήμερα οι όροι διαβίωσης, ανατροφής, υγιεινής, ενδυμασίας, μόρφωσης, ψυχαγωγίας και συμπεριφοράς έχουν αλλάξει ριζικά.

Οι ραγδαίες αλλαγές της μεταβιομηχανικής εποχής, ανά τον κόσμο τα τελευταία χρόνια, δεν θα μπορούσαν να αφήσουν ανεπηρέαστη την ελληνική κοινωνική πραγματικότητα επηρεάζοντας σε βάθος, το βασικό κύτταρο της ελληνικής κοινωνίας, που δεν είναι άλλο από την ελληνική οικογένεια. Μερικές από αυτές τις αλλαγές, είναι: Η αύξηση του αριθμού των διαζυγίων, η μείωση του σεξουαλικού πουριτανισμού, η συγκατοίκηση ζευγαριών πριν τον γάμο, η πρόσβαση των γυναικών στην εκπαίδευση και στην εργασία και η αύξηση της οικονομικής ανεξαρτησίας της γυναίκας, η καθυστέρηση των γάμων λόγω της μεγαλύτερης διάρκειας οικονομικής εξάρτησης των νέων από τους γονείς, η ακρίβεια της ανατροφής του παιδιού, η χρήση της βιοτεχνολογίας (αντισύλληψη, στείρωτικές τεχνικές, τεχνητή γονιμοποίηση κ.λπ.), η αύξηση των γεννήσεων από ελεύθερες γυναίκες και μάλιστα εφήβους, και βέβαια τα καταγιστικά μεικτά μηνύματα που δέχονται σήμερα οι νέοι από τα ΜΜΕ, σχετικά με τη συμβίωση και το θεσμό του γάμου. Τέλος, πρόσφατα, το κίνημα για τα δικαιώματα των ομοφυλοφίλων, έχει ανοίξει το δρόμο για την κατοχύρωση της δυνατότητας των ατόμων του ίδιου φύλου, να δημιουργούν πλέον οικογένεια.

Ως αποτέλεσμα των αλλαγών αυτών, νέες μορφές συμβίωσης αρχίζουν και ξεπροβάλλουν, στην ελληνική κοινωνία, εγκαθιστώντας και αναπαράγοντας νέες μορφές οικογένειας, όπως: Οι μονογονεϊκές (οι οικογένειες με έναν γονέα διαζευγμένο, χήρο, ή γονέα που

δεν παντρεύτηκε ποτέ), οι ανασυγκροτημένες (οι οικογένειες με γονείς, οι οποίοι ξαναπαντρεύονται), οι θετές (οι οικογένειες με γονείς που υιοθέτησαν παιδιά), οι οικογένειες που έχουν αποκτήσει παιδί, με τη χρήση της βιοτεχνολογίας (τράπεζα σπέρματος, τεχνητή γονιμοποίηση, κατοχύρωση του θεσμού της παρένθετης μητέρας), ενώ αρχίζουν τελευταία και πληθαίνουν οι ομοφυλοφιλικές οικογένειες (οι οικογένειες με έναν ή δύο ομοφυλόφιλους γονείς). Η χρήση της βιοτεχνολογίας, άλλαξε δραματικά τα δεδομένα στην οικογένεια.

Τα μέλη των νέων αυτών μορφών οικογένειας, έρχονται συχνά αντιμέτωπα, με ποικίλα προβλήματα, κυρίως όμως ψυχολογικά, καθώς μεγαλωμένα με το πρότυπο της παραδοσιακής πυρηνικής οικογένειας (2 ετερόφυλοι γονείς δεσμευμένοι σε κοινό βίο), αντιμετωπίζουν, τόσο κοινωνική αποδοκιμασία, όσο και θέματα που σχετίζονται με τη δομή και τη σύσταση της οικογένειας στην οποία ανήκουν, όπως: Στη μεταβαλλόμενη διαρκώς κοινωνία μας η οικογένεια αγωνίζεται να προσαρμοστεί κατά τέτοιο τρόπο ώστε να συμβαδίσει με τις νέες συνθήκες και τα νέα ήθη. Είναι πλέον γεγονός, οι παραδοσιακές μορφές οικογένειας χάνουν έδαφος. Οι πολύτεκνες επίσης οικογένειες μειώνονται όλο και περισσότερο τα τελευταία χρόνια, ενώ τα μονομελή νοικοκυριά αυξάνονται συνεχώς. Παράλληλα ο μεγάλος αριθμός διαζυγίων και η δημιουργία νέων οικογενειών, μέσω ενός δεύτερου γάμου συνθέτουν ένα ολοένα διαφορετικό τοπίο μονογονεϊκών ή ανασυγκροτημένων οικογενειών. Οι επιστήμονες αρχίζουν να μιλούν για απομυθοποίηση του παραδοσιακού προτύπου και για σταδιακή αντικατάστασή του από διαφορετικές μορφές οικογένειας.

Η ελληνική οικογένεια δεν διαφέρει ουσιαστικά από την οικογένεια των χωρών της Ευρωπαϊκής Ένωσης. Όμως επειδή όλες αυτές οι ραγδαίες εξελίξεις, δεν έχουν αφομοιωθεί εξίσου από όλα τα κοινωνικά στρώματα και όλα τα γεωγραφικά διαμερίσματα, γι' αυτό και συναντά κανείς στην ελληνική οικογένεια όλα σχεδόν τα οικογενειακά χαρακτηριστικά, τα παραδοσιακά και τα σύγχρονα. Η ελληνική οικογένεια εξελίσσεται δυ-

ναμικά τόσο στη μορφή όσο και στο περιεχόμενο. Σήμερα, όπως προανέφερα, συνυπάρχουν πολλοί διαφορετικοί τύποι οικογένειας. Μία διάκριση που πρέπει όμως αρχικά να γίνει είναι δύο τύποι οικογένειας που συνυπάρχουν σε όλους τους τύπους που θα αναλυθούν παρακάτω.

Είναι η οικογένεια προσανατολισμού και η οικογένεια αναπαραγωγής. Η πρώτη είναι η οικογένεια μέσα στην οποία γεννιέται κανείς και αποτελείται από τον εαυτό του, τα αδέρφια του αν υπάρχουν και τους γονείς του. Η δεύτερη δημιουργείται όταν ένας άνθρωπος σχηματίσει μια νέα οικογένεια όπου ίσως παντρευτεί και κάνει και παιδιά.

Αναφορικά με τους διάφορους τύπους οικογένειας που δημιουργούνται με την αλλαγή των κοινωνικών δεδομένων ή αποτελούν ήδη παραδοσιακά πρότυπα πάνω στα οποία «πατούν» οι νεότεροι άνθρωποι έχουμε τους εξής:

1. Την παραδοσιακή πυρηνική οικογένεια, που δημιουργείται με γάμο και περιλαμβάνει γονείς και παιδιά
2. Την εκτεταμένη οικογένεια που αποτελείται όχι μόνο από τους γονείς και τα παιδιά αλλά και από άλλα συγγενικά πρόσωπα, παππούδες, γιαγιάδες, θείο, θείες, ξαδέλφια
3. Τις μονογονεϊκές οικογένειες που προκύπτουν από διαζύγιο ή χηρεία ή πρόκειται για ανύπαντρες μητέρες
4. Τις ανασυγκροτημένες οικογένειες που προκύπτουν μετά από διαζύγια ή περιπτώσεις χηρείας
5. Τέλος, τις «χωλές» οικογένειες όπου οι γονείς χωρίς να είναι διαζευγμένοι δεν μένουν μαζί για κοινωνικούς και οικονομικούς λόγους.

Αναμφισβήτητα η οικογένεια βρίσκεται στο κέντρο του ευρύτερου συνόλου της ανθρωπότητας και πρέπει να αποτελεί μια ολοκληρωμένη μονάδα αυτοτελή για να ζήσει και να αναπτυχθεί το άτομο. Μια οικογένεια αν δεν λειτουργεί σωστά τότε το ίδιο το άτομο δέχεται αρνητικές επιπτώσεις και πρώτα απ' όλα τα παιδιά είναι αυτά που εισπράττουν όλες τις στρεβλώσεις. Έτσι ένα άτομο που ζει μέσα σε μια προβληματική οικογένεια υποφέρει και υποβαθμίζεται σε όλους τους τομείς, ενώ ταυτόχρονα προβληματικές οικογένειες συντελούν στη δημιουργία μιας προβληματικής κοινωνίας.

Οι αλλαγές στο οικονομικό πλαίσιο των αναπτυγμένων κοινωνιών στο δεύτερο μισό του αιώνα μας, οι οποίες σηματοδοτούνται από την επικράτηση της καταναλωτικής κοινωνίας και τις διαρθρωτικές αλλαγές στην αγορά εργασίας επέφεραν σημαντικές μεταβολές στη διαδικασία μετάβασης και πέρασματος των νέων από την νεανική στην ενήλικη φάση της ζωής τους. Έτσι, η χρονική περίοδος από την ενηλικίωση των νέων και μέ-

χρι την πραγματική ανεξαρτητοποίησή τους, που κατά μέσο όρο αντιστοιχούσε στην περίοδο ανάμεσα στα 18 και τα 24 χρόνια, αυξάνεται σταδιακά. Ήδη από τη δεκαετία του '70 οι νέοι αρχίζουν να καθυστερούν να αποχωρούν από την πατρική στέγη εξαιτίας της μεγαλύτερης διάρκειας των σπουδών, των δυσκολιών εξεύρεσης σταθερής εργασίας, της ανεργίας που πλήττει σε μεγαλύτερο βαθμό τους νέους. Όλα αυτά συμβάλλουν στην αύξηση του ποσοστού των νέων που μένουν πιο αργά με τους γονείς τους.

Οπωσδήποτε, οι διαφορές που παρατηρούνται έχουν σχέση με τον ρόλο και τη δομή της οικογένειας, αλλά και τις συνθήκες της αγοράς εργασίας και αντανakλούν τη γενικότερη τάση για καθυστέρηση πλέον ως προς την στεγαστική αλλά και γενικότερα ανεξαρτητοποίηση των νέων σε όλες τις χώρες της Ευρώπης εξαιτίας των οικονομικών συνθηκών αλλά και της μεγαλύτερης διάρκειας της περιόδου των σπουδών. Οι δομικές αλλαγές που παρατηρούνται στον θεσμό της οικογένειας, η ανάδυση νέων κοινωνικών καταστάσεων σε συνδυασμό με τις αλλαγές στις συμπεριφορές και στις αντιλήψεις των ατόμων για την συμβίωση, τη συντροφικότητα, διαφοροποιούν, όπως είδαμε και στη χώρα μας, τις μορφές της οικογένειας και τις ατομικές επιλογές στον ιδιωτικό βίο και συντελούν στην στη διαρκή αύξηση της παρουσίας νέων σχημάτων οικογενειακής ζωής (όπως συμβίωση χωρίς γάμο, μονογονεϊκές οικογένειες, μοναχικά άτομα στο ευκολότερο διαζύγιο, κ.λπ.).

Στην Ελλάδα κατά την διάρκεια των τελευταίων δεκαετιών η γαμηλιότητα υποχωρεί προοδευτικά, με την συρρίκνωση του αδρού δείκτη γαμηλιότητας ήδη από τα τέλη της δεκαετίας του 1960. Διαχρονικά μειώνεται η αναλογία πρώτων γάμων ως προς το σύνολο των γάμων με αύξηση του ποσοστού των διαζευγμένων που συνάπτουν νέο γάμο, ενώ από τη δεκαετία του 1990 καταγράφεται έντονη αύξηση των διαζυγίων.

Τα δεδομένα σε σχέση με τη σύνθεση και τη μορφή των οικογενειών μας δείχνουν τη μείωση του μέσου μεγέθους των νοικοκυριών, τη σημαντική αύξηση των μονομελών νοικοκυριών, την παρουσία αρκετών μονογονεϊκών οικογενειών αλλά πολύ λίγων ζευγαριών που συμβιώνουν. Επίσης, διαπιστώθηκε ότι πλέον σε αρκετές οικογένειες εργάζονται και οι δυο σύζυγοι/σύντροφοι. Όλες αυτές οι αλλαγές αν και πιο αργές στη χώρα μας συγκριτικά με τις παρατηρούμενες στις δυτικοευρωπαϊκές χώρες, εγγράφονται στη γενικότερη μεταβολή των αναπαραστάσεων και των πρακτικών όσον αφορά την οικογενειακή ζωή και τις διαπροσωπικές σχέσεις.

Όπως φάνηκε, η συζυγική ομάδα σήμερα γίνεται πιο αβέβαιη, πιο εύθραυστη και πιο ευάλωτη στο χωρισμό

και στη ρήξη. Οι μεταβολές αυτές αντανakλούν τη διαφοροποιημένη αντιμετώπιση πλέον της συμβίωσης (με ή χωρίς γάμο) και της συντροφικότητας από τις νεώτερες γενιές. Περνάμε, λοιπόν σε μια μετα-οικογενειακή οργάνωση της κοινωνίας όπου η οικογένεια δεν

θα λειτουργεί πλέον ως ενδιάμεσος φορέας ανάμεσα στο Κράτος και στο άτομο. Θα πρέπει, όμως, όλες οι μεριές να συμβάλουν για τη σταδιακή προσαρμογή στη νέα αυτή εξέλιξη ώστε να ξεπεραστούν τα σημερινά αδιέξοδα που εμφανίζει η σύγχρονη οικογένεια.

Βιβλιογραφικές παραπομπές

1. Βιτσιλάκη Χρ. και Φώκιαλη Π. (επιμ.): Φύλο και Απασχόληση. Ατραπός, Αθήνα 2008.
2. Charalambis D, Maratou-Alipranti L, Hadjiyanni A (editors): *Recent Social Trends in Greece*, Montreal: McGill Queens University Press, 2004.
3. Corijn M and Klijzing E. *Transitions to adulthood in Europe*. Dordrecht/ Boston/London: Kluwer Academic Press, 2000.
4. Dunkan S and Pfau-Effinger B (eds): *Gender, Economy and Culture in the European Union*. London: Routledge 2000.
5. European Commission: *Demographic Outlook - National Reports on the Demographic Developments in 2006*, Luxembourg 2007.
6. European Commission: *Household Patterns*, DWI, German Institute for Economic Research, Berlin 2007.
7. European Commission: *Demography Report 2008, Meeting Social Needs in an Ageing Society*. Brussels, DG Employment, Social Affairs and Equal Opportunities 2008.
8. Galland O. «L'allongement de la jeunesse». *Revue de l'OFCE* 2000; 187-192.
9. Galland O. *Les jeunes*. Paris: La Découverte 2002.
10. Gonzalez Lopez MJ and Solsona Pairo M. "Household and families: Living arrangements and gender relations". In Dunkan, S. and Pfau-Effinger, B. (eds). *Gender, Economy and Culture in the European Union*. London: Routledge 2000; 49-86.
11. Hakim C. *Models of the Family in Modern Societies*. Aldershot: Ashgate 2003.
12. Kalmijn M. "Explaining cross-national differences in marriage, cohabitation, and divorce in Europe, 1990-2000", *Population Studies*, 2007, 61(3), pp. 243-263.
13. Κορωναίου Αλ. *Ο ρόλος του πατέρα*. Αθήνα 2007: ΚΕΘΙ.
14. Κοτζαμάνης, Β.- Σοφianoπούλου Κ. «Η γαμηλιότητα των γυναικών στην Ελλάδα: ο θεσμός του γάμου σε κρίση; *Δημογραφικά Νέα*, 3, Βόλος 2009: ΕΔΚΑ.
15. Kotzamanis, B.: «L'Europe des Balkans, differente et diverse?». Στο B. Kotzamanis (ed.) *La dimographie des Balkans: Composantes de l'involution demographique*, Universiti de Macidoine - Universiti de Thessalie, Laboratoire d'Analyses Demographiques et Sociales, Riseau DemoBalk, Volos, 2000; 1-13.
16. Lewis J. *Children, Changing Families and Welfare States*. London 2006: Edward Elgar.
17. Μαράτου-Αλιπράντη Λ. «Μορφές οικογένειας και οικονομική ανέχεια: μια πρώτη προσέγγιση». Στο *Φτώχεια και κοινωνικός Αποκλεισμός, Πρακτικά εισηγήσεων*, Αθήνα 2005: ΕΚΚΕ, σελ. 243-249.
18. Millar J. "Lone Parenthood" In *Poverty and Social Exclusion in Europe*. London: Edward Elgar, 2002; 79-100.
19. Μουσουρού Λ, Στρατηγάκη Μ. επιμ.: *Οικογένεια και οικογενειακή πολιτική*. Gutenberg (Βιβλιοθήκη Κοινωνικής Επιστήμης και Κοινωνικής Πολιτικής), 2005.
20. Μπαλούρδος Δ. *Η δημογραφική κατάσταση στην Ελλάδα. Επίκαιρα Θέματα 1*. ΕΚΚΕ /ΙΝΚΠΟ, 2006.
21. Prioux F. "Cohabitation, mariage et sèparation: Contradictions en Europe, *Population et Sociétés*, 2006; 422.
22. Sardon J.P. *Evolution démographique récente des pays développés*, *Population* 2006; 54(3): 225-300.
23. Σιάμπος Γ. «Ένας αιώνας μεγάλων δημογραφικών μεταβολών στην Ελλάδα», στο: Σιάμπος, Γ. (επιμ.) *Πληθυσμός και Ανάπτυξη στην Ελλάδα*, Αθήνα 2003: Κορφή, σσ. 25-62.
24. Symeonidou H, Mitsopoulos PG. "Union Disruption in Greece", in R. Möller & H.-P. Blossfeld (eds) *Marital and Non-Marital Union Disruption. A Cross-national Comparison of 10 Countries*. *International Journal of Sociology* 2003; 33(2): 65-94.
25. Συμεωνίδου, Χ.: «Γάμος-Διαζύγιο, Συμβίωση-Χωρισμός στην Ελλάδα: Αποτελέσματα Έρευνας». Στο Μαράτου-Αλιπράντη Λ. (επιμ.), *Οικογένειες και Κράτος Πρόνοιας στην Ευρώπη. Τάσεις και προκλήσεις στον εικοστό πρώτο αιώνα*, Αθήνα Gutenberg, 2002, σσ. 115-130.



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 ΕΤΑΙΡΕΙΑ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΙΚΗΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ



Για την εγγραφή σας ως μέλος
ή φίλος/η της ΕΕΑΙ καλέστε
το 210- 6800525
ή επισκεφτείτε το www.eeai.gr

- Εκπαίδευση συνεργασία Παν/μιο Αθηνών e-learning πρόγραμμα
- Μετεκπαιδευτικά προγράμματα
- Ιατρικός τουρισμός
- Συνεργασία Πανεπιστημίων εξωτερικού
- Κοινωνικό Ιατρείο & Φαρμακείο
- Ενημέρωση πολιτών
- Έρευνα - εξειδίκευση



Περιεχόμενα

ΣΤΗΛΗ ΕΚΔΟΤΗ

3

ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΕΙΣ

Αυτοανοσία και Αναπαραγωγή

Μιχαήλ Α. Δανιηλίδης, Αντώνιος Δ. Γεροφώτης

10-24

Γενετική μελέτη θρομβοφιλικής προδιάθεσης

Ε. Μελισσάρη

25-31

Περιοδοντίτιδα και Υπογονιμότητα - Μέρος Β': Ο ανδρικός παράγοντας

Αικατερίνη Παππά, Αγνή Πάντου

32-45

Κρυσσυντήρηση γαμετών: Παρόν και μέλλον

Θεοδοσία Ζεγκινιάδου, Ιλιάνα Δροσίτη

46-52

ΟΔΗΓΙΕΣ ΠΡΟΣ ΣΥΓΓΡΑΦΕΙΣ

53-54

Αυτοανοσία και Αναπαραγωγή

Μιχαήλ Α. Δανιηλίδης¹, Αντώνιος Δ. Γεροφώτης²

1. Ομότιμος Καθηγητής Παθολογίας-Ανοσολογίας Τμήματος Ιατρικής Αριστοτέλειου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης
2. Ειδικευόμενος Αιματολογίας, Αιματολογική Κλινική ΘΕΑΓΕΝΕΙΟΥ Αντικαρκινικού Νοσοκομείου Θεσσαλονίκης

Ελληνική περίληψη

Τα αυτοάνοσα νοσήματα (ΑΝ) όπως είναι γνωστό, προσβάλλουν κατά κύριο λόγο το γυναικείο φύλο, συχνά μάλιστα σε ηλικία τεκνοποίησης, διαταράσσοντας διάφορες πτυχές της αναπαραγωγικής διαδικασίας. Κύρια χαρακτηριστικά των ΑΝ είναι αφενός η συμμετοχή τόσο της φυσικής-μη ειδικής όσο και της ειδικής (*adaptive*) ανοσίας με συνυπάρχουσα διαταραχή ανοσορύθμισης και αφετέρου η πρόκληση ιστικής βλάβης, η οποία προκαλείται κατά κύριο λόγο από τα αυτοαντισώματα και τα αυτοδραστικά Τ λεμφοκύτταρα. Η εμφάνιση ΑΝ σχετίζεται ιδιαίτερα με την ανοσογενετική προδιάθεση κάθε ατόμου και/ή τις περιβαλλοντικές συνθήκες, ενώ ο επιπολασμός τους στις διάφορες πληθυσμιακές ομάδες υπολογίζεται μεταξύ 3,6 και 9,4%.

Η ειδική ανοσιακή απάντηση στα περισσότερα ΑΝ παρουσιάζει αξιοσημείωτη ενεργοποίηση, ακολουθούμενη από φλεγμονή και βλάβη ιστού, ενώ ανάλογα με τον προσβαλλόμενο ιστό ή όργανο, έχουν διακριθεί σε Οργανοειδικά, όπως ο σακχαρώδης διαβήτης τύπου Ι, η θυρεοειδίτις Hashimoto, η νόσος του Graves, οι αυτοάνοσες κυτταροπενίες, η χρόνια ενεργός ηπατίτις, η πολλαπλή σκλήρυνση, κ.ά. και σε Συστηματικά Αυτοάνοσα νοσήματα, όπως ο συστηματικός ερυθηματώδης λύκος, οι αγγειίτιδες, η συστηματική σκλήρυνση ή σκληρόδερμα, η ρευματοειδής αρθρίτις, η πολυμυοσίτις, το σύνδρομο Sjogren, κ.ά.

Αυτοανοσία και αυτοαντισώματα αποτελούν συχνό αίτιο στειρότητας, αποβολών, μη βιώσιμων κήσεων, διαταραχών εμφύτευσης και αποτυχημένων εμβρυομεταφορών στο πλαίσιο της εφαρμογής τεχνικών υποβοηθούμενης αναπαραγωγής, ενώ παράλληλα αποτελούν δυνητικό αίτιο προεκλαμψίας, προωρότητας, θρομβωτικών επεισοδίων, ιδιαίτερα σε συσχέτιση και συνέργεια με συνυπάρχουσες θρομβοφιλικές διαταραχές. Συνήθης θεωρείται ακόμη η συνύπαρξη και συμμετοχή στις παρατηρούμενες αποτυχίες διεγερμένων φυσικών κυττάρων φονέων (NK).

Η παρουσία αντιφωσφολιπιδικών αντισωμάτων αποτελεί την πλέον τεκμηριωμένη και αποδεκτή αιτία απώλειας του εμβρύου μεταξύ όλων των αυτοάνοσων -και μη- ανοσολογικών μηχανισμών οι οποίοι έχουν προταθεί ως σχετιζόμενοι με επανειλημμένες αποβολές. Θεωρείται ότι οι γυναίκες με αποβολές, στον ορό των οποίων έχουν ανιχνευθεί αντιφωσφολιπιδικά αντισώματα, έχουν χωρίς θεραπεία πιθανότητα γέννησης παιδιού σε επόμενη κύηση μόνο 10%.

Για την αντιμετώπιση των αυτοάνοσων διαταραχών στην αναπαραγωγή, υπάρχουν σήμερα αξιόλογες θεραπευτικές επιλογές, η περαιτέρω βελτίωση των οποίων θεωρείται εφικτή με την εφαρμογή πλέον εξειδικευμένου διαγνωστικού ελέγχου αλλά και με τη διενέργεια οργανωμένων πολυκεντρικών μελετών.

Στη σύντομη αυτή ανασκόπηση, γίνεται προσπάθεια ανάλυσης των κυριότερων επιδράσεων της αυτοανοσίας στην αναπαραγωγή, δίδεται ξεχωριστό βάρος στο αντιφωσφολιπιδικό σύνδρομο, των διαγνωστικών προσεγγίσεων καθώς και των κυριότερων δυνατοτήτων αντιμετώπισης τους.



Υπεύθυνος αλληλογραφίας:

Μιχαήλ Δανιηλίδης, Εγνατία 142, 54622 Θεσσαλονίκη,
Τηλ. 6944588038 Φαξ: 2310240419, E-mail: mdaniilidis@gmail.com

Εισαγωγή

Τα αυτοάνοσα νοσήματα (ΑΝ) στον άνθρωπο προσβάλλουν παγκοσμίως περισσότερο από το 5% του γενικού πληθυσμού αποτελούν σημαντικό αίτιο νοσηρότητας, με σοβαρό αντίκτυπο στην ποιότητα ζωής των ασθενών, οι οποίοι συχνά επιβαρύνονται με -κατά κανόνα- δια βίου ιατρική παρακολούθηση και περιθαλψη.

Τα ΑΝ περιλαμβάνουν περισσότερες από 70 αυτοάνοσες διαταραχές και είναι δυνατόν να προσβάλλουν κάθε όργανο του σώματος, χαρακτηρίζονται από : ετερογένεια στην κλινική και ιστοπαθολογική εικόνα, στην πορεία και στην ανταπόκριση στη θεραπεία, αποκτώντας έτσι ενδιαφέρον για όλες τις ιατρικές ειδικότητες και όπως χαρακτηριστικά έχει ειπωθεί, «τα νοσήματα αυτά δεν έχουν όρια».

Σύμφωνα με υπολογισμούς του Εθνικού Ινστιτούτου Υγείας (NIH) στις Ηνωμένες Πολιτείες, βασισμένους σε επιδημιολογικές μελέτες 24 εικοσιπενταετηρίων μόνον από τα εκατό -τουλάχιστον- γνωστά ΑΝ, 23,5 εκατομμύρια Αμερικανών παρουσιάζουν ένα τουλάχιστον αυτοάνοσο νόσημα ενώ άλλες μελέτες ανεβάζουν το ποσοστό αυτό στο 7,8% μέχρι 9,4% [1, 2].

Όπως έχει υπολογισθεί διεθνώς, τα νοσήματα αυτά αυξάνουν απειλητικά τους προϋπολογισμούς των συστημάτων υγείας και κοινωνικής ασφάλισης[3].

Παρά τις εντατικές ερευνητικές προσπάθειες, ο παθογενετικός μηχανισμός δεν έχει ακόμη διευκρινιστεί με απόλυτη ακρίβεια σε καμία από τις αυτοάνοσες παθήσεις.

Η αυτοανοσία αποτελεί τον τρίτο συνηθέστερο τύπο νοσημάτων στις ΗΠΑ. Παρά το γεγονός ότι για τα νοσήματα αυτής της κατηγορίας υπάρχουν αξιολογές θεραπευτικές αντιμετώπισεις, δεν υπάρχει μέχρι σήμερα θεραπεία για την αυτοανοσία και κατά συνέπεια η μελέτη των μηχανισμών δημιουργίας αυτών των νοσημάτων αποκτά εξαιρετικό ενδιαφέρον.

Τόσο η φυσική-μη ειδική όσο και η ειδική (*adaptive*) ανοσία συμμετέχουν στην δημιουργία και στην εξέλιξη των αυτοάνοσων νοσημάτων.

Ανοσολογική ανοχή

Βασικό χαρακτηριστικό της ειδικής ανοσιακής απάντησης είναι η δυνατότητα διάκρισης του «ιδίου» («εαυτού»), από το «μη ίδιο» («μη-εαυτό») και με τον τρόπο αυτό το ανοσολογικό σύστημα αποκρίνεται σε ξένα, αλλά όχι σε «εαυτά» αντιγόνα (αυτοαντιγόνα) [4].

Η απενεργοποίηση είτε και καταστροφή των αυτό-αντιδραστικών λεμφοκυττάρων είναι συνεπώς αναγκαία, προκειμένου να αποφευχθεί η βλάβη «εαυτών» κυττάρων και ιστών, δηλαδή η αυτοανοσία, και επιτυγχάνεται με την απόκτηση ανοσολογικής ανοχής (αυτό-ανοχή).

Η ανοσολογική ανοχή ορίζεται ως η κατάσταση απουσίας ειδικής απόκρισης για ένα συγκεκριμένο αντιγόνο, και επάγεται ύστερα από προηγούμενη έκθεση στο αντιγόνο αυτό. Όπως είναι γνωστό από παλαιότερες μελέτες, διαφορετικές μορφές του ίδιου αντιγόνου είναι δυνατόν να επάγουν ανοσολογική απόκριση ή ανοχή.

Οι περισσότερες γνώσεις μας αποκτήθηκαν από πειραματικά μοντέλα, και ιδιαίτερα του ποντικού [4, 5].

Η ικανότητα προς διάκριση ανάμεσα στο εαυτό και στο ξένο αποκτάται κατά τη διάρκεια της εμβρυϊκής ανάπτυξης, όπως και η παρεμπόδιση της αυτο-αντιδραστικότητας, η οποία επιτυγχάνεται με διεργασίες που οδηγούν στην εξάλειψη -λειτουργικά είτε φυσικά- των κύτταρων που φέρουν αυτο-αντιδρώντες υποδοχείς.

Υπάρχουν τρεις δυνατότητες παρεμπόδισης της απόκρισης των αυτό-αντιδρώντων λεμφοκυττάρων εναντίον αυτο-αντιγόνων κατά την **περιφερική ανοχή**:

Η **κλωνική ανέργεια (*anergy*)**, δηλαδή η αδρανοποίηση του ενδογενούς μηχανισμού ανοσοαπάντησης, η **κλωνική απόπτωση-εξάλειψη**, με την φυσική εξάλειψη κυττάρων σε κάποιο στάδιο της ζωής τους, και η **καταστολή**, δηλαδή η παρεμπόδιση της κυτταρικής δραστηριότητας μέσω αλληλεπίδρασης με -κατά κύριο λόγο- ρυθμιστικά Τ-λεμφοκύτταρα (**σχήμα 1**).

Αρχικά, τα πρόδρομα θυμοκύτταρα αναπτύσσονται σε φλοιϊκά, διπλά-θετικά κύτταρα (CD4+, CD8+), τα οποία εκφράζουν χαμηλά ποσοστά αβ-TCR. Τα κύτταρα αυτά υπόκεινται σε θετική επιλογή (θυμική εκπαίδευση) ως προς την αλληλεπίδραση με εαυτά μόρια ΜHC τάξης I ή τάξης II στο επιθήλιο του φλοιού. Με την θετική επιλογή διασφαλίζεται η περαιτέρω εξέλιξη μόνον των κυτταρικών υποδοχέων (TCR) οι οποίοι εκδηλώνουν μέτρια συγγένεια για το «εαυτό» ΜHC. Τα μη επιλεγόμενα κύτταρα -τα οποία αποτελούν και το μεγαλύτερο ποσοστό- υφίσταται προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο.

Ορισμένα από τα Τ λεμφοκύτταρα τα οποία έχουν επιλεγεί θετικώς, είναι δυνατόν να φέρουν υποδοχείς με ικανότητα αναγνώρισης άλλων συστατικών του ίδιου του οργανισμού, όχι όμως των «εαυτών» μορίων ΜHC (HLA). Η κατηγορία αυτών των κυττάρων εξαλείφεται



Πίνακας 1.**Συστηματικά και Οργανοειδικά αυτοάνοσα νοσήματα**

Συστηματικά αυτοάνοσα νοσήματα	Οργανοειδικά αυτοάνοσα νοσήματα
<ul style="list-style-type: none"> • Ρευματοειδής αρθρίτιδα (ΡΑ) & νεανική ΡΑ (ΝΡΑ) (αρθρώσεις, πιο σπάνια πνεύμονας, δέρμα) • Συστηματικός ερυθηματώδης λύκος (δέρμα, αρθρώσεις, νεφροί, καρδιά, εγκέφαλος, ερυθροκύτταρα, άλλα) • Συστηματικό Σκληρόδερμα (δέρμα, έντερα, πιο σπάνια πνεύμονας) • Σύνδρομο Sjögren's (σιελογόνοι αδένες, δακρυϊκοί αδένες, αρθρώσεις) • Δερματομυοσίτις (γραμμωτοί μυς) • Ρευματική πολυμυαλγία (μεγάλες μυϊκές ομάδες) • Κοκκιωμάτωση Wegener 	<ul style="list-style-type: none"> • Σακχαρώδης Διαβήτης τύπου Ι (νησίδια παγκρέατος) • Θυρεοειδίτιδα Hashimoto <ul style="list-style-type: none"> • Νόσος Graves • Κοιλιοκάκη (γαστρεντερικός σωλήνας) • Νόσος Crohn, Ελκώδης κολίτις (γαστρεντερικός σωλήνας) • Νόσος Addison (επινεφρίδια) • Πρωτοπαθής χολική κίρρωση, σκληρωτική χολαγγειίτιδα, • Αυτοάνοση ηπατίτιδα (ήπαρ) <ul style="list-style-type: none"> • Κροταφική αρτηρίτιδα αρτηρίτιδα γιγαντοκυττάρων • Λεύκη (μελανοκύτταρα του δέρματος) • Γυροειδής Αλωπεκία (θύλακας της τρίχας)

με την αρνητική επιλογή, διαδικασία κατά την οποία περαιτέρω εξέλιξη έχουν μόνον θυμοκύτταρα τα οποία δεν αναγνωρίζουν αυτοαντιγόνα, ενώ τα υπόλοιπα αυτοκαταστρέφονται με αποπτωτική διαδικασία. Τελικά επιβιώνουν και εγκαταλείπουν το θύμο λιγότερα από 5% των λεμφοκυττάρων. Η βάση συνεπώς της κεντρικής ανοχής είναι δυνατόν να θεωρηθεί η διαδικασία της αρνητικής επιλογής.

Αυτοάνοσα Νοσήματα

Ανάλογα με τον μηχανισμό και τον προσβαλλόμενο ιστό, τα ΑΝ είναι δυνατόν να διακριθούν σε Οργανοειδικά και Συστηματικά (ειδικά οργάνου, μη ειδικά οργάνου, **Πίνακας 1**).

Όπως είναι γνωστό, τα ΑΝ προσβάλλουν συχνότερα το γυναικείο φύλο (75% έως 85%), και για τον λόγο αυτό θεωρείται από παλαιότερα ότι ορμονικές διαταραχές διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη των ΑΝ.

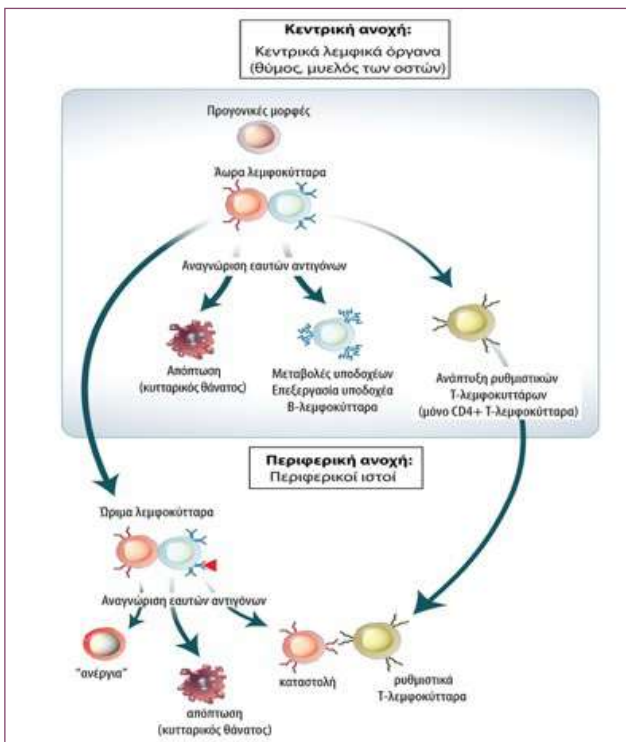
Η σχετική έρευνα έχει δείξει ότι τα οιστρογόνα οδηγούν σε ενίσχυση της αυτοάνοσης ανοσοαπάντησης, ενώ η κύηση σηματοδοτεί την ύφεση της αυτοανοσίας [5].

Τα ΑΝ συνδέονται άμεσα με όλους σχεδόν τους το-

μείς της αναπαραγωγής, εφόσον είναι γνωστή η συμμετοχή τους στην πρόκληση στειρότητας, αποβολών, ενδομήτριων θανάτων, προεκλαμψίας, πρόωρων τοκετών, πρόωρης εμμηνόπαυσης, αλλά και -στην υποβοηθούμενη αναπαραγωγή- επανειλημμένων αποτυχιών εμφύτευσης [5, 6]. Σε κλινικό επίπεδο, δεν είναι σπάνια η συνύπαρξη περισσότερων από ένα ΑΝ στην ίδια ασθενή. Η κλινικά εκδηλωμένη -αλλά και η υποκλινική ακόμη- αυτοανοσία, αποτελεί σχετικά συχνή αιτία ΕΑ και επιβαρυντικό παράγοντα τόσο για τη διαδικασία της εμφύτευσης όσο και για την επιτυχή κύηση.

Σημαντικό ενδιαφέρον της ανοσολογικής διερεύνησης στις περιπτώσεις επανειλημμένων αποβολών αποτελεί η ενδεχόμενη έγκαιρη διάγνωση -είτε ο αποκλεισμός- αυτοανόσου νοσήματος στις ασθενείς, ιδιαίτερα του συστηματικού ερυθηματώδους λύκου, ο οποίος έχει από παλαιότερα συσχετισθεί με αυξημένο κίνδυνο αποβολών, συνδρόμου επανειλημμένων αποβολών (ΕΑ), αλλά και ενδομήτριου θανάτου [7, 8, 9].

Οι πτωχές αναπαραγωγικές επιδόσεις ορισμένων γυναικών και ιδιαίτερα η εμφάνιση αποβολών είναι δυνατόν να αποτελούν το αρχικό σύμπτωμα αυτοανόσου νοσήματος (αυτοάνοση θυρεοειδίτις, συστηματικός ερυ-



Σχήμα 1. Σχηματική απεικόνιση Κεντρικής και Περιφερικής ανοχής έναντι εαυτών αντιγόνων (από βιβλιογραφία αρ 4, τροποποιημένο)

θηματώδης λύκος, κ.ά.). Κατά συνέπεια, η έγκαιρη διερεύνηση των ανοσολογικών αιτιών των αποβολών είναι δυνατόν να έχει καθοριστική σημασία όχι μόνον για την επιδιωκόμενη τεκνοποίηση, αλλά και για την υγεία της υποψήφιας μητέρας.

Κατά συνέπεια, και με βάση τα μέχρι σήμερα στοιχεία, φαίνεται ότι ο ρόλος της αυτοανοσίας είναι σημαντικός όχι μόνον για τη σύλληψη αλλά και για την ανεπίπλεκτη, τελειόμηνη κύηση.

Κατά τη διάρκεια της κύησης πολλές γυναίκες εμφανίζουν μείωση των κλινικών εκδηλώσεων και των συμπτωμάτων του αυτοάνοσου νοσήματος από το οποίο είναι γνωστό ότι πάσχουν, όπως η πολλαπλή σκλήρυνση και η ιριδοκυκλίτις.

Αυτοάνοσια και αυτοαντισώματα

Η εμφάνιση των αρνητικών επιδράσεων της αυτοανοσίας -κλινικής είτε υποκλινικής-στην αναπαραγωγή σχετίζεται κατά κύριο λόγο με την ύπαρξη αυτοαντισωμάτων (**πίνακας 2**), ενώ η ταυτόχρονη ανίχνευση δυο είτε περισσότερων αυτοαντισωμάτων στον ορό γυναικών με αποβολές, όπως έχει από παλαιότερα αναφερθεί, επιβαρύνει σημαντικά την πρόγνωση [10].

Ενώ η εμπλοκή αυτοαντισωμάτων στην παθογένε-

ση νόσου είναι σε ορισμένες περιπτώσεις σαφής και τεκμηριωμένη, σε άλλες καταστάσεις είναι μόνον επιφανόμενο, το οποίο ωστόσο είναι δυνατόν να αποβεί χρήσιμο για διαγνωστικούς σκοπούς.

Προκειμένου να επιβεβαιωθεί ότι συγκεκριμένα αυτοαντισώματα εμπλέκονται στην παθογένεση μιας διαταραχής, πρέπει να πληρούνται τα εξής βασικά κριτήρια:

1. Εμφάνιση της νόσου μετά την εισαγωγή των αντισωμάτων στον άνθρωπο ή στα ζώα.
2. Επαγωγή ιστικής είτε άλλης βλάβης παρόμοιας με τη νόσο, ύστερα από ανοσοποίηση με το υπό μελέτη αυτοαντιγόνο.
3. Προσομοίωση της βλάβης *in vitro*.
4. Απομόνωση του αυτοαντισώματος από αλλοίωση χαρακτηριστική της νόσου, και
5. Συσχέτιση των επιπέδων αντισωμάτων με τη δραστηριότητα της νόσου [11].

Η παραγωγή αυτοαντισωμάτων κατά την διαδρομή των αυτοάνοσων νοσημάτων είναι δυνατόν να προκαλέσει βλάβη με ποικίλους μηχανισμούς:

1. Καταστροφή («λύση») των κυττάρων-στόχων με συμπληρωματοεξαρτημένους μηχανισμούς, όπως στην παροξυσμική αιμοσφαιρινουρία από ψύχος, ένα είδος αυτοάνοσης αιμολυτικής αναιμίας η οποία είναι δυνατόν να παρατηρηθεί σε ασθενείς με παρωτίτιδα ή ιλαρά, και η οποία προκαλείται από αντισώματα IgM τα οποία δεσμεύουν το συμπλήρωμα.

2. Οψωνιοποίηση, η οποία αποτελεί τον μηχανισμό των περισσότερων μορφών αιμολυτικής αναιμίας καθώς η πυκνότητα της Ig είναι ανεπαρκής για να επιτρέψει τη σύνδεση και ενεργοποίηση των μορίων του C1q.

3. Σχηματισμός ανοσοσυμπλεγμάτων, όπως π.χ. συμβαίνει σε ασθενείς με σπειραματονεφρίτιδα, κατά την οποία λόγω του αρνητικού φορτίου της βασικής μεμβράνης του σπειράματος, τα ανοσοσυμπλέγματα με θετικό φορτίο τείνουν να εναποθεθούν σε αυτήν.

4. Αποκλεισμός υποδοχέων, π.χ. Μυασθένεια gravis (αντισώματα έναντι του υποδοχέα της ακετυλοχολίνης), κακοήθης αναιμία (αντισώματα κατά του ενδογενούς παράγοντα),

5. Διέγερση των υποδοχέων επιφάνειας των κυττάρων, όπως π.χ. κατά την αυτοάνοση νόσο Graves κατά την οποία δημιουργούνται αυτοαντισώματα τα οποία μιμούνται τις δράσεις της TSH.

Κάτω από φυσιολογικές συνθήκες, τα Β-λεμφοκύτταρα με ειδικότητα σε «εαυτά» αντιγόνα, καταστρέφονται στον μυελό. Αντιθέτως, ορισμένα αυτοαντιγόνα τα οποία είναι δυνατόν να προκαλέσουν υψηλό τίτλο αυτοαντισωμάτων, συνήθως απομονώνονται μέσα στα κύτταρα. Το γεγονός αυτό συνηγορεί για το ότι Β κύττα-

Πίνακας 2.**Μηχανισμοί των αρνητικών επιδράσεων των αυτοαντισωμάτων στην αναπαραγωγή**

Παραγωγή αυτοαντισωμάτων
Αυτοαντισώματα έναντι θυρεοειδικών αντιγόνων (ATA, antiTPO, antiTG, antiTSHr)
Αντιπυρηνικά αντισώματα (ANA, ssDNA, dsDNA, ιστόνες),
Σύνδρομο αντιφωσφολιπιδίων (αντιπηκτικό λύκου, αντικαρδιολιπινικά αντισώματα)
Μαιευτικό αντιφωσφολιπιδικό σύνδρομο
Πρόκληση φλεγμονής φλεβών & αρτηριών
Πρόκληση τοπικής φλεγμονής ενδομητρίου
Αύξηση θρομβοφιλικής διάθεσης (πλακουντιακό έμφρακτο, πνευμονική εμβολή)

ρα τα οποία διαθέτουν ειδικότητα έναντι ενδοκυτταρικών πρωτεϊνών, διαφεύγουν της κλωνικής διαγραφής.

Εντούτοις, ορισμένα αυτοαντισώματα αναγνωρίζουν εξωκυττάρια αυτοαντιγόνα στην κυτταρική επιφάνεια, όπως π.χ. ορισμένα IgM τάξης αυτοαντισώματα τα οποία είναι δυνατόν να συμμετέχουν στην εμφάνιση αυτοάνοσης αιμολυτικής αναιμίας και τα οποία δημιουργούνται συνήθως κατά τη διαδρομή λοιμώξεων (π.χ. λοιμώδης μονοπυρήνωση ή πνευμονία από μυκόπλασμα). Επίσης, Β-λεμφοκύτταρα τα οποία παράγουν αιμολυτικό αντίσωμα είναι δυνατόν να ανιχνευθούν σε φυσιολογικά άτομα, αλλά το επίπεδο έκφρασης είναι τόσο χαμηλό ώστε δεν συμβαίνει καταστροφή των ερυθροκυττάρων. Όταν όμως τα επίπεδα IgM αντισώματος αυξηθούν, όπως συμβαίνει κατά τη διάρκεια λοίμωξης, εμφανίζεται αυτοάνοση αιμόλυση.

Στις ενδεχόμενες βλαπτικές επιδράσεις των αυτοαντισωμάτων θα πρέπει να συμπεριληφθούν η αποφρακτική αγγειοπάθεια, η οποία σε συνδυασμό με τις παρατηρούμενες διαταραχές του αγγειακού ενδοθηλίου και της συγκολλητικότητας των αιμοπεταλίων, με ή χωρίς ελάττωση των επιπέδων της αννεξίνης V, είναι δυνατόν να οδηγήσουν σε εμφάνιση εμφράκτων του πλακούντα. Η παρατηρούμενη διέγερση των μονοκυττάρων είναι δυνατόν να διευκολύνει περαιτέρω τον σχηματισμό θρόμβων, όπως και η αναστολή διεγέρσεως της πρωτεΐνης C. Οι μηχανισμοί μέσω των οποίων τα Β λεμφοκύτταρα αυτά διαφεύγουν από την κλωνική διαγραφή δεν έχουν μέχρι στιγμής διευκρινισθεί.

Το σύμπλεγμα του DNA της ιογενούς πρωτεΐνης, και της πρωτεΐνης που δεσμεύεται με το «εαυτό» DNA προ-

σλαμβάνεται από τα δενδριτικά κύτταρα. Η αναγνώριση της ιικής πρωτεΐνης από τα Τ-λ επάγει επίσης διαδικασία αναγνώρισης αυτοαντιγόνου τόσο για τα Β λεμφοκύτταρα όσο και για τα CD8+ Τ-λ. Εάν συνυπάρχει η βοηθητική δράση από τα Τ-λ και παράλληλα δεν έχουν απενεργοποιηθεί τα αυτοαντιδραστικά Β-λ, το ανοσοποιητικό σύστημα δεν είναι δυνατόν να ελέγξει την ενδεχόμενη παραγωγή αυτοαντισωμάτων.

Η μέτρηση των αυτοαντισωμάτων όπως είναι ευνόητο, υπήρξε πολύ χρήσιμη στη διάγνωση και την επακόλουθη παρακολούθηση πολλών αυτοάνοσων νοσημάτων.

Ο ρόλος των Β-λεμφοκυττάρων

Είναι γνωστό ότι τα Β-λεμφοκύτταρα συμμετέχουν σε διάφορες φάσεις αυτοάνοσων νοσημάτων και είναι δυνατόν να συμμετέχουν στη δημιουργία αυτοαντισωμάτων, την κατεργασία και παρουσίαση αυτοαντιγόνων στα Τ-λεμφοκύτταρα και την παραγωγή φλεγμονωδών κυτταροκινών. Έτσι τα Β-λεμφοκύτταρα έχουν πλέον καταστεί προφανείς στόχοι για την αντιμετώπιση των αυτοάνοσων νοσημάτων [12, 13].

Η αρχική θεώρηση έχει ήδη εφαρμοστεί στην κλινική πράξη και ο περιορισμός των Β-λεμφοκυττάρων αποτέλεσε θεραπεία η οποία έχει δοκιμαστεί για αρκετές αυτοάνοσες νόσους και διαταραχές. Ωστόσο, τα αποτελέσματα των παραπάνω θεραπειών στον Συστηματικό Ερυθηματώδη Λύκο (ΣΕΛ) είναι ακόμα αμφιλεγόμενα και σε ορισμένα σημεία αλληλοσυγκρουόμενα [14], ενώ σε ορισμένους ασθενείς με ρευματοειδή αρθρίτιδα (ΡΑ) και πολλαπλή σκλήρυνση έχουν δείξει αξιολογή αποτελεσματικότητα [15, 16].

Είναι εντούτοις αξιοσημείωτο ότι το αίτιο της βελτίωσης από την καταστολή των Β-λεμφοκυττάρων για μερικά από αυτά τα νοσήματα και για ορισμένους ασθενείς με το συγκεκριμένο νόσημα δεν είναι ακόμα γνωστό. Ένα πιθανό ενδεχόμενο είναι το ότι οι θεραπείες καταστολής των Β-λ ενδέχεται να μην στρέφονται εναντίον όλων των Β-κυτταρικών υποπληθυσμών αλλά επίσης και το ενδεχόμενο ότι διάφορα νοσήματα σε διάφορους ασθενείς είναι δυνατόν να εμφανίζουν διαφορετικά ευρήματα ως προς τους υποπληθυσμούς των Β-λεμφοκυττάρων.

Ένας καινούργιος υποπληθυσμός Β-κυττάρων, τα σχετιζόμενα με την ηλικία Β-λεμφοκύτταρα (*age-associated cells-ABCs*) απασχολούν τελευταία τη σχετική έρευνα [17, 18]. Τα κύτταρα αυτά εκφράζουν υψηλό ποσοστό του δείκτη CD-11c και του μεταγραφικού παράγοντα T-bet ο οποίος τελευταία θεωρήθηκε ικανός και αναγκαίος παράγοντας για την εμφάνιση και λειτουργία αυτού του υποπληθυσμού, για την επαγωγή του υποδοχέα Β-κυττάρων (BcR), του υποδοχέα της ιντερφερόνης γ (IFN-γR) αλλά και του υποδοχέα TOLL (TLR7) στα Β-κύτταρα με αποτέλεσμα την επαγωγή υψηλού επιπέδου έκφρασης του παράγοντα T-bet [19].

Ακόμη, σύμφωνα με τα ευρήματα προηγούμενης μελέτης στα Β-κύτταρα ασθενών με ΣΕΛ, τα επίπεδα έκφρασης T-bet είναι σημαντικά υψηλότερα σε σύγκριση με υγιείς αιμοδοτές, εύρημα το οποίο συνηγορεί ότι η έκφραση T-bet στα Β-κύτταρα είναι δυνατόν να είναι καθοριστική για την εμφάνιση της νόσου στον άνθρωπο [20]. Άλλες μελέτες αναφέρουν ότι Β-λεμφοκύτταρα με τον παράγοντα T-bet σχετίζονται με την ενεργότητα της νόσου Crohn όπως και της πολλαπλής σκλήρυνσης (MS) αλλά και της κοιλιοκάκης, ευρήματα τα οποία υποδηλώνουν τον σημαντικό ρόλο των Β-κυττάρων που εκφράζουν T-bet για την αυτοανοσία στον άνθρωπο [21].

Θυρεοειδική αυτοανοσία

Σημαντικότερος τύπος Αυτοάνοσης θυρεοειδίτιδας (ΑΘ) θεωρείται η θυρεοειδίτιδα Hashimoto, η οποία χαρακτηρίζεται, εκτός από την παρουσία υποθυρεοειδισμού, και από την παρουσία υψηλού τίτλου αυτοαντισωμάτων, των αντιθυρεοσφαιρινικών και των έναντι της θυρεοειδικής περοξειδάσης.

Το αυτοάνοσο αυτό νόσημα αποτελεί όπως φαίνεται τη συχνότερη αυτοάνοση διαταραχή, προσβάλλει το 4% περίπου των γυναικών αναπαραγωγικής ηλικίας και όπως δείχνει ο διαρκώς αυξανόμενος αριθμός κλινικών μελετών κατά την τελευταία εικοσαετία, συσχετίζεται ισχυρά τόσο με σποραδικές όσο και επανειλημμένες

αποβολές, αλλά και με στειρότητα, ακόμη και σε ευθυρεοειδικές γυναίκες, ενώ σημαντικό μέρος της έρευνας έχει εστιαστεί στην ανοσοπαθogenία των καταγραφόμενων διαταραχών [22, 23].

Ως προδιαθεσικός παράγων για την εμφάνιση θυρεοειδικής αυτοανοσίας προτάθηκε μεταξύ άλλων και η έλλειψη βιταμίνης D, η πυκνότητα της οποίας όπως ήδη είχε τεκμηριωθεί ήταν μειωμένη στις γυναίκες αυτές. Παράλληλα, τα θυρεοειδικά αυτοαντισώματα θεωρείται ότι είναι δυνατόν να συμβάλουν στην εμφάνιση υπογονιμότητας, στοχεύοντας στην διαφανή ζώνη, τους υποδοχείς της χοριακής γοναδοτροπίνης, αλλά και άλλα πλακουντιακά αντιγόνα [24].

Τα αντιθυρεοειδικά αντισώματα φαίνεται ότι ασκούν τις δράσεις τους μέσω εξαρτώμενων είτε μη εξαρτώμενων από την TSH οδών. Οι περισσότεροι ερευνητές έχουν συμπεριλάβει στους μη εξαρτώμενους μηχανισμούς ποσοτικές αλλά και ποιοτικές μεταβολές του προφίλ των Τ λεμφοκυττάρων του ενδομητρίου, με χαρακτηριστική μείωση της παραγωγής των δύο σημαντικότερων Th2 κυτταροκινών, της IL-4 και IL-10, παράλληλα με υπερέκκριση IFN-γ. Επίσης, σε γυναίκες με θυρεοειδική αυτοανοσία εμφανίζεται σχεδόν τρεις φορές συχνότερα πολυκλωνική διέγερση των Β λεμφοκυττάρων η οποία σχετίζεται με αυξημένο τίτλο μη οργανοειδικών αυτοαντισωμάτων (π.χ. αντιπυρηνικών, αντιμιτοχονδριακών, κ.ά.). Σχετικά με την άποψη αυτή, αξίζει να αναφερθεί ότι σε παλαιότερη Ιταλική μελέτη σε 160 γυναίκες με επανειλημμένες αποβολές, ανιχνεύθηκαν αντιθυρεοειδικά αντισώματα στις 46 (28,7%), έναντι 13% της ομάδας ελέγχου ($p < 0,05$) ενώ στο 91% των θετικών σε ATA γυναικών ανιχνεύθηκαν και άλλα, μη οργανοειδικά αυτοαντισώματα [25].

Σε Ολλανδική μετα-ανάλυση 38 δημοσιευμένων ερευνητικών εργασιών, με αποκλεισμό δημοσιεύσεων σχετιζόμενων με υποθυρεοειδισμό, διαπιστώθηκε ότι έγκυες με υποκλινικό υποθυρεοειδισμό είτε με αντιθυρεοειδικά αντισώματα, παρουσιάζουν αυξημένο κίνδυνο αποβολής είτε άλλων επιπλοκών, όπως προεκλαμψίας αλλά και αυξημένης περιγεννητικής θνησιμότητας [26].

Σημαντικά είναι τα ευρήματα Ισραηλινής μελέτης σε γυναίκες με θυρεοειδική αυτοανοσία, στην οποία διαπιστώθηκε ότι η υπερενεργοποίηση και αυξημένη μετανάστευση φυσικών κυττάρων φονέων (cytotoxic natural killer cells) είναι μέχρι και 40% συχνότερη, με αποτέλεσμα την αλλοίωση της ανοσοενδοκρινικής απάντησης της μήτρας [27].

Τα ευρήματα των παραπάνω, αλλά και άλλων μελετών, συνηγορούν για το ότι η συχνότητα ανίχνευσης των αντιθυρεοειδικών αντισωμάτων, τουλάχιστον σε

γυναίκες με αποβολές, δεν είναι σταθερή στις διάφορες μελέτες και φαίνεται πως επηρεάζεται και από φυλετικά χαρακτηριστικά.

Οι προτεινόμενες θεραπείες περιλαμβάνουν κατά κύριο λόγο ορμονική υποκατάσταση με εξωγενή θυροξίνη. Αξίζει να σημειωθεί ότι η συνύπαρξη θυρεοειδικών αυτοαντισωμάτων με μείζονες θρομβοφιλικούς παράγοντες, φαίνεται ότι ενισχύει ακόμη περισσότερο τη δράση των τελευταίων και απαιτεί ιδιαίτερη αντιμετώπιση [28].

Ο ρόλος των φυσικών κυτταροκτόνων (NK) κυττάρων

Τα φυσικά κυτταροκτόνα ή κύτταρα φονείς (*natural killers*, NK) είναι δραστικά κύτταρα, ικανά όχι μόνο να φονεύσουν μεγάλη ποικιλία κυττάρων στόχων, αλλά παράλληλα να επιτελέσουν και ανοσορυθμιστικές λειτουργίες, επάγοντας ανοσοαπαντήσεις με την παραγωγή συγκεκριμένων ισχυρών Th1 τύπου κυτταροκινών όπως IL-12, IFN γ , αλλά και GM-CSF, TNF- β , καθώς και χημειοκινών (π.χ. MIP-1, RANTES). Τα NK κύτταρα χαρακτηρίζονται ανοσοφαινοτυπικά από τα μόρια CD16, CD56 και CD57, ενώ δεν διαθέτουν θυμική προέλευση (CD3 $^{-}$). Ο ρόλος των κυττάρων αυτών στις λοιμώξεις, σε αυτοάνοσες διαταραχές αλλά και στην αναπαραγωγή, και ιδιαίτερα στην κύηση, παρουσιάζει ξεχωριστό ενδιαφέρον.

Κύρια λειτουργία των NK κυττάρων να ανιχνεύουν και να καταστρέφουν κύτταρα τα οποία δεν διαθέτουν τη δυνατότητα να εκφράσουν «εαυτά» στοιχεία (*self markers*) [29].

Η αναγνώριση και η φόνευση -ή όχι- των καρκινικών είτε των μολυσμένων από ιούς κυττάρων από τα NK, πραγματοποιείται με τη συνδυασμένη λειτουργία επαγωγικών ή ανασταλτικών υποδοχέων, ενώ η ποικιλομορφία των διαφόρων επιφανειακών υποδοχέων επιτρέπει στα NK να εμπλέκονται σε ποικίλες ανοσοαπαντήσεις, ενώ σημαντικός αριθμός μελετών συνηγορεί για το ότι στην τελική εκδήλωση της αποβολής σημαντικό ρόλο διαδραματίζει η λειτουργία των ανασταλτικών υποδοχέων φόνευσης στην επιφάνεια των κυττάρων φυσικών φονέων (NK).

Καθοριστικός παράγων για τη δημιουργία και ενδεχομένως και την εξέλιξη των περισσότερων ανοσοαπαντήσεων στον τομέα της αναπαραγωγής θεωρούνται σήμερα τα ρυθμιστικά T κύτταρα, CD4 $^{+}$ CD25 $^{+}$ Tregs, τα οποία θεωρείται ότι επάγουν ανοχή από πλευράς του μητρικού ανοσιακού συστήματος.

Με βάση τις υπάρχουσες ενδείξεις, φαίνεται ότι η κινητική των NK κυττάρων είναι ενδεχομένως διαφο-

ρετική από το ένα σημείο εμφύτευσης του ενδομητρίου σε άλλο, καθώς και ότι τα NK παρουσιάζουν δυνατότητα συσσώρευσης σε ορισμένες μόνον περιοχές, ενώ σε άλλες η παρουσία τους είναι ιδιαίτερα πτωχή. Παράλληλα, πρέπει να ληφθεί υπόψη ότι κατά τη διάρκεια της εμφύτευσης είναι δυνατόν να μεταβάλλεται και το προφίλ των κυτταροκινών, εφόσον σε πολλές περιπτώσεις η κύηση διαγιγνώσκεται μετά την εμφύτευση (π.χ. σαλπινγιικές κήσεις).

Σημαντικό αυξητικό παράγοντα για τα φυσικά κυτταροκτόνα της μήτρας, τόσο στα ποντίκια όσο και στον άνθρωπο, φαίνεται ότι αποτελεί και η IL-15, ενεργοποιώντας τα κύτταρα αυτά και προσδίδοντάς τους ικανότητες κυτταρόλυσης.

Σε παλαιότερη, πολύ καλά οργανωμένη μελέτη των NK του περιφερικού αίματος από το «St George Hospital» του Σίδνεϋ, διαπιστώθηκε ότι οι γυναίκες με επανειλημμένες αποβολές παρουσιάζουν σημαντικές ποσοτικές διαταραχές. Τα NK ως ποσοστό % των λεμφοκυττάρων φαίνεται ότι αποτελεί αξιόπιστο δείκτη για τη διάκριση από τις γυναίκες με φυσιολογικές ανεπίπλεκτες κύσεις, ενώ σε ΕΑ με σταθερά υψηλά επίπεδα NK είναι δυνατόν να παρουσιάζουν ανοσολογική διαταραχή [30].

Ενδιαφέρουσα επίσης φαίνεται πρόσφατη μελέτη από το Δουβλίνο, σχετικά με την χρήση ως δείκτη περιεμφυτευτικής ανοσολογικής δυσλειτουργίας του λόγου των ενδοκυττάρων Th1/Th2 κυτταροκινών (Intracellular cytokine ratios, CKR). Σύμφωνα με τα ευρήματα της παραπάνω μελέτης, η χορήγηση ανοσοτροποποιητικού πρωτοκόλλου με πρεδνιζολόνη, ενδοφλέβιο γαλάκτωμα σογιέλαιου και επιλεγμένη διατροφή στις γυναίκες με αυξημένο Th1/Th2 λόγο, δηλαδή με υπεροχή της Th1 αναλογίας, έδειξε σημαντική βελτίωση τόσο στην εμφύτευση όσο και στα ποσοστά αποβολής ($P < 0,001$) [31].

Αντιφωσfolιπιδικό Σύνδρομο

Το αντιφωσfolιπιδικό σύνδρομο (ΑΦΣ), γνωστό και ως σύνδρομο Hughes, περιγράφηκε για πρώτη φορά από τον Graham Hughes, στο Νοσοκομείο «Hammersmith» του Λονδίνου, το 1983. Πρόκειται για μία αυτοάνοσου χαρακτήρα προθρομβωτική διαταραχή με εκδηλώσεις τόσο από τη φλεβική όσο και από την αρτηριακή κυκλοφορία και/ή την αποτυχημένη έκβαση της κύησης με ταυτόχρονη παρουσία αντισωμάτων έναντι πρωτεϊνών του πλάσματος που συνδέονται με φωσfolιπίδια. Το ΑΦΣ διακρίνεται σε πρωτοπαθές και σε δευτεροπαθές. Στο πρωτοπαθές δεν ανευρίσκεται κανένα υποκείμενο αίτιο, ενώ δευτεροπαθώς μπορεί να αναπτυχθεί επί εδάφους ποικίλων νοσημάτων, όπως είναι οι ρευματοπάθειες, τα νεοπλάσματα, οι λοιμώξεις (π.χ.

HIV, CMV, σύφιλη, ηπατίτιδα, ελονοσία, μυκόπλασμα ή φαρμακευτικής αγωγή (χλωροπρομαζίνη, υδραλαζίνη, προκαϊναμίδη, φαινυτοϊνη, ιντερφερόνη, κινίνη, αμοξικιλίνη, κ.λπ.) [31].

Κλινική εικόνα

Η κλινική εικόνα του ΑΦΣ εμφανίζει μεγάλη ετερογένεια με κύριες εκδηλώσεις τις θρομβώσεις και/ή την αποτυχημένη έκβαση της κύησης. Η εν τω βάθει φλεβοθρόμβωση των κάτω άκρων και τα ισχαιμικά αγγειακά εγκεφαλικά είναι οι πιο συχνές εκδηλώσεις του. Εκδηλώσεις όμως μπορεί να υπάρχουν από οποιοδήποτε όργανο ή ιστό με προσβολή του αγγειακού του δικτύου. Γενικά τα άτομα με ΑΦΣ είναι σχετικά νέα σε ηλικία, εμφανίζουν μη προκλητές θρομβώσεις και έχουν αρνητικό οικογενειακό ιστορικό θρομβοφιλίας. Σε ένα μικρό αριθμό ασθενών (<1%) αναπτύσσεται το καταστροφικό αντιφωσφολιπιδικό σύνδρομο (CAPS), το οποίο χαρακτηρίζεται από θρομβώσεις σε πολλαπλά μικρά αγγεία και οδηγεί σε πολυοργανική ανεπάρκεια με υψηλή θνητότητα η οποία παρά την εξειδικευμένη αντιμετώπιση υπερβαίνει το 50%. Άλλες σημαντικές εκδηλώσεις του ΑΦΣ είναι οι μαιευτικές εκδηλώσεις που περιλαμβάνουν ανεξήγητο θάνατο ενός ή περισσότερων μορφολογικά φυσιολογικών εμβρύων στη 10η ή και μεγαλύτερη εβδομάδα της κύησης, ο πρόωρος τοκετός ενός ή περισσότερων μορφολογικά φυσιολογικών νεογνών πριν την 34η εβδομάδα της κύησης λόγω εκλαμψίας ή σοβαρής προεκλαμψίας, και τρεις είτε περισσότερες διαδοχικές ανεξήγητες αποβολές πριν τη 10η εβδομάδα της κύησης [32, 33].

Επιπλέον, καταστάσεις οι οποίες σχετίζονται με το ΑΦΣ, χωρίς όμως να συμπεριλαμβάνονται στον ορισμό του, είναι μεταξύ άλλων η δικτυωτή πελώση (*Livedo reticularis*), η πνευμονική υπέρταση, η νεφροπάθεια, η απώλεια της ακοής, το ARDS, η βαλβιδοπάθεια καθώς και ποικίλες νευρολογικές εκδηλώσεις όπως χορεία, ημικρανία, παροδικό ισχαιμικό αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο, επιληψία, σύνδρομο προσομοιάζον με σκλήρυνση κατά πλάκας, κ.λπ.

Διάγνωση

Σύμφωνα με τα κριτήρια για τη διάγνωση του ΑΦΣ (2006) θεωρείται απαραίτητη η παρουσία σε μεσαία προς υψηλά επίπεδα αντιφωσφολιπιδικών αντισωμάτων (IgM ή IgG ισotypes), κυρίως αντικαρδιολιπινικά αντισώματα ή αντιπηκτικό του λύκου ή και τα δύο. Η παρουσία των aPL πρέπει να διαπιστώνεται σε τουλάχιστον δύο συνεχείς μετρήσεις που απέχουν μεταξύ

τους 12 εβδομάδες έτσι ώστε να γίνει εφικτή η διάκριση της επίμονης παρουσίας των αυτοαντισωμάτων στο πλάσμα του αίματος από την παροδική αύξηση των τίτλων τους η οποία είναι δυνατόν να οφείλεται σε λοίμωξη ή σε χρήση φαρμάκων. Γενικά, το αντιπηκτικό του λύκου (LAC) χαρακτηρίζεται από μεγαλύτερη ειδικότητα για ΑΦΣ ενώ τα αντικαρδιολιπινικά αντισώματα έχουν μεγαλύτερη ευαισθησία. Η ειδικότητα των αντικαρδιολιπινικών αντισωμάτων αυξάνει και είναι υψηλότερη για τα IgG σε σχέση με τα IgM αντισώματα. Τα παραπάνω κριτήρια θεωρείται ότι έχουν ευαισθησία που αγγίζει το 71% και ειδικότητα περίπου 98%. Η διάγνωση του ΑΦΣ τίθεται όταν υπάρχει τουλάχιστον ένα από τα παρακάτω κλινικά με ένα εργαστηριακό κριτήριο.

Σύμφωνα με τα παραπάνω οι ασθενείς πρέπει να έχουν αγγειακή θρόμβωση ή επιπλοκές κύησης (κυρίως καθ' ἑξίν αποβολές) και να ανιχνεύονται στο αίμα τους τα αντισώματα αυτά. Η συχνότητα του συνδρόμου στο γενικό πληθυσμό δεν είναι επακριβώς γνωστή. Εν τούτοις, τα αντικαρδιολιπινικά αντισώματα βρίσκονται στο γενικό πληθυσμό με συχνότητα 1%-4,5%, ενώ σε ασθενείς με φλεβική θρόμβωση μεταξύ 5%-16% και σε ασθενείς με αρτηριακή θρόμβωση μεταξύ 5%-46%. Το ΑΦΣ σύνδρομο απαντάται σε ποσοστό 0,3% μεταξύ του εγκύμου πληθυσμού.

Παθολογική Φυσιολογία του Αντιφωσφολιπιδικού Συνδρόμου [32,34]

Τα αντιφωσφολιπιδικά αντισώματα (ΑΦΑ) είναι μια ετερογενής ομάδα αυτοαντισωμάτων διότι στρέφονται εναντίον μεγάλης ποικιλίας αντιγονικών στόχων. Αντιγονικοί στόχοι τους είναι κυρίως η β2-γλυκοπρωτεΐνη Ι (αντι β2-GPI αντισώματα), η προθρομβίνη (αντι-προθρομβινικά αντισώματα), ο ιστικός ενεργοποιητής πλασμινογόνου t-PA (αντι t-PA αντισώματα), ο ενδοθηλιακός υποδοχέας της πρωτεΐνης C EPCR (αντι EPCR αντισώματα), η πρωτεΐνη C, η πρωτεΐνη S ο παράγοντας XII, η αννεξίνη 5, το υψηλού μοριακού βάρους κινινογόνο, το πλασμινογόνο, φωσφολιπάσες, ο παράγων συμπληρώματος Η και άλλοι. Οι παραπάνω πρωτεΐνες στόχοι περιέχουν στη δομή του μορίου τους περιοχές - τμήματα που δεσμεύουν φωσφολιπίδια (*phospholipid binding domains*) όπως καρδιολιπίνη, φωσφατιδυλοσερίνη, φωσφατιδυλοαιθανολαμίνη, φωσφατιδυλινοσιτόλη, φωσφατιδικό οξύ και άλλα, και τα ΑΦΑ κατευθύνονται εναντίον αυτών ακριβώς των πρωτεϊνών.

Τα ΑΦΑ έχουν ως κοινό χαρακτηριστικό το παράδοξο ότι *in vitro* αναστέλλουν το σχηματισμό του συμπλέγματος ενεργοποίησης της προθρομβίνης, επιβραδύ-

Πίνακας 3.**Οι συχνότερες κλινικές εκδηλώσεις του Αντιφωσφολιπιδικού συνδρόμου**

Αρτηριακές εκδηλώσεις	Θρόμβωση της αορτής ή της μασχαλαίας, καρωτιδικής, ηπατικής, μεσεντέριας παγκρεατικής, σπληνικής ή υποκλείδιας αρτηρίας	
Αιματολογικές εκδηλώσεις	Θρομβοπενία, αιμολυτική αναιμία, ή αιμολυτικό-ουραιμικό σύνδρομο και θρομβωτική θρομβοπενική πορφύρα	Διάχυτη ενδαγγειακή πήξη (καταστροφικό αντιφωσφολιπιδικό σύνδρομο μόνο)
Νευρολογικές εκδηλώσεις	Παροδική ισχαιμική νόσος, αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο (θρομβωτικό ή εμβολικό), χορεία, πολλαπλή-έμφρακτη άνοια, εγκάρσια μυελίτιδα, εγκεφαλοπάθεια, ημικρανίες, ψευδοόγκος εγκεφάλου, εγκεφαλική φλεβική θρόμβωση, πολλαπλή μονονευρίτιδα ή amaurosis fugax	Μικροθρομβώσεις ή μικροεμφράγματα
Μαιευτικές εκδηλώσεις	Απώλεια κύησης, σύνδρομο HELLP-αιμόλυση, αυξημένα ηπατικά ένζυμα και χαμηλός αριθμός αιμοπεταλίων σε συνδυασμό με προεκλαμψία, ανεπάρκεια πλακούντα	
Καρδιολογικές εκδηλώσεις	Στηθάγχη, έμφραγμα μυοκαρδίου, βαλβιδοπάθειες, εκβλαστήσεις, βαλβιδικές ανωμαλίες, μη βακτηριακή θρομβωτική (Lidmam- Sacks) ενδοκαρδίτιδα	Έμφραγμα μυοκαρδίου, ενδοκαρδιακοί θρόμβοι
Δερματολογικές εκδηλώσεις	Επιφανειακή θρομβοφλεβίτιδα, έλκη κάτω άκρων, δερματική ισχαιμία, σύνδρομο νέκρωσης μεγάλου δακτύλου (blue toe), εκχυμώσεις, ή ακροκυάνωση	Δικτυωτή πελίωση, επιφανειακή γάγγραινα, πορφύρα δέρματος
Ενδοκρινολογικές εκδηλώσεις	Επινεφριδικά εμφράγματα, επινεφριδική ανεπάρκεια, έμφρακτα όρχεως και προστάτη, νέκρωση του βλεννογόνιου αδένου ή βλεννογόνια ανεπάρκεια	
Γαστρεντερολογικές εκδηλώσεις	σύνδρομο Budd-Chiari, ηπατική ισχαιμία, μεσεντέρια ισχαιμία, ισχαιμική κολίτιδα, οισοφαγική διάτρηση, έμφρακτο της χοληφόρου κύστεως μη αποδοτέα στους χολόλιθους, παγκρεατίτιδα ή ασκίτης	Εντερικά, ηπατικά, παγκρεατικά και σπληνικά έμφρακτα ή γάγγραινα
Οφθαλμολογικές εκδηλώσεις	Θρόμβωση της αμφιβληστροειδικής αρτηρίας, της αμφιβληστροειδικής φλέβας ή amaurosis fugax	Αμφιβληστροειδίτιδα
Νεφρικές εκδηλώσεις	Θρόμβωση της νεφρικής φλέβας, θρόμβωση της νεφρικής αρτηρίας, υπέρταση, οξεία νεφρική ανεπάρκεια, χρόνια νεφρική ανεπάρκεια, πρωτεϊνουρία, αιματουρία ή νεφρωσικό σύνδρομο	Οξεία νεφρική ανεπάρκεια (συχνά απαιτεί τεχνητό νεφρό), θρομβωτική μικροαγγειοπάθεια, ή υπέρταση
Φλεβικές εκδηλώσεις	Εν τω βάθει φλεβική θρόμβωση των κάτω άκρων ή θρόμβωση επινεφριδιακής, ηπατικής, μεσεντέριας, ή σπληνικής φλέβας ή της κάτω κοίλης φλέβας	
Πνευμονικές εκδηλώσεις	Πνευμονική εμβολή, πνευμονική υπέρταση, πνευμονική αρτηριακή θρόμβωση	Σύνδρομο οξείας αναπνευστικής δυσχέρειας

Πίνακας 4.**Διαγνωστικά κριτήρια αντιφωσφολιπιδικού συνδρόμου**

Κλινικά κριτήρια	Εργαστηριακά κριτήρια
<p>Αγγειακή θρόμβωση</p> <ul style="list-style-type: none"> • Ένα ή περισσότερα επεισόδια αρτηριακής ή φλεβικής θρόμβωσης μικρού αγγείου σε οποιονδήποτε ιστό ή όργανο <p><i>*Η θρόμβωση μπορεί να έχει επιβεβαιωθεί με μαγνητική τομ/φία ή υπερήχους ή ιστοπαθολογικά, με εξαίρεση την επιπολής φλεβική θρόμβωση. Για ιστοπαθολογική επιβεβαίωση, η θρόμβωση δεν πρέπει να συνοδεύεται από σημαντική φλεγμονή του αγγειακού τοιχώματος</i></p>	<p>Αντικαρδιολιπινικά αντισώματα IgG και/ ή IgM ισοτύπου στον ορό ή πλάσμα, με τίτλο >99η εκατοστιαία θέση</p> <p>Αντιπηκτικό του λύκου</p> <p>Anti-β2 γλυκοπρωτεΐνη-I (anti -β2GPI) αντισώματα IgG και / ή IgM ισοτύπου στον ορό ή πλάσμα με τίτλο >99η εκατοστιαία θέση</p> <p><i>*σε 2 ή περισσότερες εξετάσεις σε απόσταση > 12 εβδομάδων</i></p>
<p>Επιπλοκές κύησης</p> <ul style="list-style-type: none"> • Ανεξήγητος θάνατος φυσιολογικού εμβρύου κατά μετά την 10η εβδομάδα της κύησης • Μία ή περισσότερες πρόωρες γεννήσεις ενός μορφολογικά φυσιολογικού νεογνού κατά ή πριν την 34η εβδομάδα της κύησης λόγω βαρείας προεκλαμψίας ή εκλαμψίας, ή βαρείας πλακουντιακής ανεπάρκειας. • Τρεις ή περισσότερες ανεξήγητες αυτόματες αποβολές πριν τη 10η εβδομάδα κύησης, με αποκλεισμό μητρικής ανατομικής ή ορμονικής διαταραχής και πατρικής ή μητρικής χρωμοσωμιακής αιτίας 	

νουν τον σχηματισμό της θρομβίνης και άρα επιμηκύνουν το χρόνο των δοκιμασιών πήξης, ενώ αντιθέτως *in vivo* δημιουργούν συνθήκες υπερπηκτικότητας οδηγώντας σε αγγειακές θρομβώσεις.

Οι μηχανισμοί που συμμετέχουν στην αγγειακή θρόμβωση και τις αυτόματες αποβολές στους ασθενείς με ΑΦΣ δεν έχουν ακόμη πλήρως διευκρινιστεί, ωστόσο προτείνονται διάφοροι παθογενετικοί μηχανισμοί.

Είναι γνωστό ότι τα ΑΦΑ επεμβαίνουν στον καταρράκτη της πήξης με την αναστολή της ενεργοποιημένης πρωτεΐνης C και της αντιθρομβίνης III, την αναστολή της ινωδολυσης και την αύξηση της δράσης του ιστικού παράγοντα (TF) ο οποίος ξεκινά την εξωγενή οδό πήξης. Αξίζει να υπογραμμισθεί ότι η β2-γλυκοπρωτεΐνη I αποτελεί ένα φυσικό αναστολέα πήξης (εμποδίζει τη σύνδεση παραγόντων πήξης και αναστέλλει τον καταρράκτη της πήξεως) και επομένως τα ΑΦΑ τα οποία στρέφονται εναντίον της παρεμπο-

δίζουν τον ανασταλτικό της αυτό ρόλο. Άλλες πρωτεΐνες επίσης σημαντικές για τη ρύθμιση των μηχανισμών πήξης, όπως η προθρομβίνη, ο παράγων XII, η πρωτεΐνη S και η αννεξίνη V, αποτελούν παρομοίως στόχο των ΑΦΑ.

Η αννεξίνη V σχηματίζει συμπλέγματα με τα αρνητικά φορτισμένα φωσφολιπίδια της κυτταρικής μεμβράνης. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα να παρεμποδίζεται η σύνδεση της με συμπλέγματα προπηκτικών παραγόντων και αναστέλλεται έτσι η διαδικασία πήξης. Τα ΑΦΑ κατά της αννεξίνης V παρεμποδίζουν τη λειτουργία της αυτή, με αποτέλεσμα πολλά αρνητικά φορτισμένα φωσφολιπίδια να μένουν έτσι ελεύθερα και να σχηματίζουν συμπλέγματα με παράγοντες πήξεως.

Το σύμπλεγμα β2-GPI - αντι β2-GPI προσδένεται με αυξημένη συγγένεια στην κυτταρική επιφάνεια των ενδοθηλιακών κυττάρων και προκαλεί την αύξηση

των μορίων προσκόλλησης στην επιφάνεια τους και έκκριση ιντερλευκίνης-6 και προσταγλανδινών, γεγονός που προάγει την πήξη ενώ τα ΑΦΑ προάγουν την ενεργοποίηση και συγκόλληση των αιμοπεταλίων και το μηχανισμό γένεσης και σχηματισμού των θρόμβων.

Τα ΑΦΑ στρέφονται και εναντίον του ενδοθηλιακού υποδοχέα της πρωτεΐνης C (EPCR). Ο EPCR είναι μια γλυκοπρωτεΐνη της κυτταρικής μεμβράνης των ενδοθηλιακών κυττάρων στενά συνδεδεμένη με φωσφολιπίδια και υποδέχεται την πρωτεΐνη C και την ενεργοποιημένη πρωτεΐνη C, έχοντας έτσι αντιπηκτική δραστηριότητα. Κυρίως εκφράζεται σε μεγάλα αγγεία και δε σε αρτηρίες αλλά και στην συγκυτιοτροφοβλάστη. Σύγχρονες μελέτες υποστηρίζουν ότι ο EPCR έχει ρόλο και στην διατήρηση της κύησης, αφού η απουσία-καταστροφή του σε ποντίκια είχε ως αποτέλεσμα θρόμβωση στον πλακούντα και πρώιμο ενδομήτριο θάνατο. Όλα τα παραπάνω καθιστούν τον EPCR πιθανό στόχο των aPL που σχετίζεται με θρόμβωση και αυτόματες αποβολές.

Ο παθοφυσιολογικός μηχανισμός μέσω του οποίου τα αντισώματα αυτά προκαλούν θρομβώσεις ή επιπλοκές στην κύηση δεν είναι απόλυτα διευκρινισμένος. Η παθογένεια των διαταραχών της κύησης είναι περισσότερο σύνθετη και δυσκολότερη στο να ερμηνευτεί. Ο κύριος αλλά όχι μοναδικός μηχανισμός, φαίνεται να είναι η ισχαιμία του πλακούντα λόγω της υπερπηκτικότητας που χαρακτηρίζει το ΑΦΣ.

Οι επιπλοκές κύησης στις γυναίκες με APS προκύπτουν λόγω ελαττωμένης αιμάτωσης του πλακούντα συνεπεία της τοπικής θρόμβωσης, η οποία πιθανώς προκαλείται μέσω της αλληλεπίδρασης των aPL με την αννεξίνη V της τροφοβλάστης που έχει σαν αποτέλεσμα την αναστολή της αντιπηκτικής της δράσης. Τα ΑΦΑ είναι επίσης δυνατό να ελαττώσουν την παραγωγή ορμονών από την τροφοβλάστη και να οδηγήσουν έτσι σε πλακουντιακή ανεπάρκεια και αυτόματες αποβολές.

Οι γυναίκες ασθενείς με ΑΦΣ και προσβολή νεφρών από τα αντιφωσφολιπιδικά αντισώματα έχουν κατά κανόνα αυξημένη αρτηριακή πίεση, γεγονός που αποτελεί έναν επιπλέον σοβαρό κίνδυνο για την εγκυμοσύνη τους και που μπορεί να οδηγήσει στις επιπλοκές που αναφέρθηκαν ανωτέρω.

Το 1% των γυναικών αναπαραγωγικής ηλικίας παρουσιάζουν καθ' έξιν αποβολές, και περίπου 10-15% από αυτές εκτιμάται ότι πάσχουν από μαιευτικό APS. Το αντιπηκτικό του λύκου είναι ο ισχυρότερος προγνωστικός παράγων για θρόμβωση σε αμιγώς μαι-

ευτικό ΑΦΣ με ετήσια επίπτωση εν τω βάθει φλεβοθρόμβωσης 1,46%, και αγγειακού εγκεφαλικού επεισοδίου 0,32%.

Στόχος των ΑΦΑ αποτελεί και ο ιστικός ενεργοποιητής πλασμινογόνου t-PA. Ο t-PA μετέχει στην ινωδολύση και η δράση του ενισχύεται με τη σύνδεσή του στο ινώδες. Επομένως τα αντι t-PA αντισώματα που βρίσκονται αυξημένα σε περιπτώσεις ΑΦΣ, παρεμποδίζουν τη δράση του και οδηγούν σε υποϊνωδολυτικές καταστάσεις (υπερπηκτικές).

Μια άλλη θεωρία εστιάζεται στην οξειδωτική βλάβη του ενδοθηλίου των αγγείων. Η οξειδωμένη LDL (ox-LDL), που συμβάλλει στην αθηροσκλήρωση, φαγοκυτταρώνεται από μακροφάγα, τα οποία ενεργοποιούνται και προκαλούν βλάβη στα ενδοθηλιακά κύτταρα. Μερικά αντικαρδιολιπινικά αντισώματα αναγνωρίζουν οξειδωμένα φωσφολιπίδια, πρωτεΐνες που δεσμεύουν φωσφολιπίδια ή και τα δύο ενώ δίνουν και διασταυρούμενη αντίδραση με την ox-LDL και συμμετέχουν στο μηχανισμό της αθηροσκλήρωσης.

Υπάρχουν επίσης στοιχεία ότι ιικά και βακτηριακά πεπτίδια επάγουν την παραγωγή ΑΦΑ σε ζώα και προάγουν θρομβώσεις και αυτόματες αποβολές κάτι το οποίο διερευνάται αν συμβαίνει και στον άνθρωπο.

Πρόσφατες μελέτες αναδεικνύουν τον άμεσο ρόλο των μηχανισμών κυτταρικής ανοσίας στο αντιφωσφολιπιδικό σύνδρομο. Ειδικότερα η β2-γλυκοπρωτεΐνη προκαλεί υπερπλασία και διέγερση των μονοκυττάρων του περιφερικού αίματος, με αποτέλεσμα την έκκριση ιντερφερόνης-γ η οποία ενεργοποιεί απευθείας τα ενδοθηλιακά κύτταρα. Επιπλέον, πειραματικές μελέτες καταδεικνύουν ότι τα ΑΦΑ προκαλούν αυξημένη έκφραση μορίων προσκόλλησης, όπως του VCAM-1 και της E-σελεκτίνης, στην επιφάνεια των ενδοθηλιακών κυττάρων καθώς και αυξημένη έκκριση ιντερλευκίνης 6.

Στην κλινική πράξη, έλεγχος για ΑΦΑ θα πρέπει να γίνεται σε όλους τους ασθενείς με Συστηματικό Ερυθηματώδη Λύκο, αρτηριακή ή φλεβική θρόμβωση και ιδιαίτερα σε ασθενείς με επαναλαμβανόμενα επεισόδια θρομβώσεων, και σε ασθενείς με θρομβώσεις που συνοδεύονται από άτυπα είτε ασυνήθη συμπτώματα, καθώς επίσης και σε γυναίκες με ιστορικό αυτόματων αποβολών όταν δεν υπάρχει άλλη εναλλακτική εξήγηση, ειδικά αν οι εκδηλώσεις είναι επαναλαμβανόμενες (καθ' έξιν αποβολές).

Επιπλέον, ανεξήγητη αιμολυτική αναιμία, θρομβοπενία, και επιμήκυνση χρόνου οποιασδήποτε δοκιμασίας πήξεως θα πρέπει επίσης να μας κατευθύνει στον έλεγχο για ΑΦΑ.

Θεραπευτική αντιμετώπιση αυτοάνοσων αποβολών

Από θεραπευτικής πλευράς, στο αντιφωσφολιπιδικό σύνδρομο, σε ασθενείς οι οποίοι έχουν ΑΦΑ στο πλάσμα τους αλλά δεν έχουν εμφανίσει καμία θρομβωτική επιπλοκή και κανένα άλλο σύμπτωμα του ΑΦΣ η θεραπεία περιλαμβάνει την εξάλειψη ή μείωση άλλων συνυπαρχόντων παραγόντων κινδύνου οι οποίοι ενδεχομένως προάγουν τη θρόμβωση. Η αντιμετώπιση αυτών των ασθενών είναι δυνατόν να περιλάβει και τη χορήγηση αντιαιμοπεταλιακών παραγόντων όπως χαμηλή δόση ασπιρίνης ή τικλοδιπίνης. Αξίζει να αναφερθεί ότι στο δευτεροπαθές αντιφωσφολιπιδικό σύνδρομο μελέτες έχουν δείξει ότι και η υδροξυχλωροκίνη είναι δυνατόν να εμφανίζει προστατευτικό αντιθρομβωτικό ρόλο [35, 36].

Αντίστοιχα, όταν ανιχνεύονται ΑΦΑ στον ορό σε έγκυες για πρώτη φορά γυναίκες είτε σε γυναίκες με προηγούμενες φυσιολογικές κύσεις, ενδέχεται να μην χορηγηθεί καμία θεραπεία αλλά μόνον η απομάκρυνση όλων των άλλων επιβαρυντικών παραγόντων. Ωστόσο κάθε περίπτωση πρέπει να εξατομικεύεται και η πρακτική χορήγησης αντιπηξίας συνοδεύεται με υψηλά ποσοστά επιτυχίας.

Σε ασθενείς που έχουν ανιχνευτεί ΑΦΑ στο αίμα τους και έχουν εκδηλώσει έστω και μία θρομβωτική επιπλοκή επιβάλλεται η διαβίου αντιπηκτική αγωγή, καθώς ο κίνδυνος να επαναληφθεί θρομβωτική επιπλοκή είναι μεγάλος και κυμαίνεται μεταξύ 20 και 70%. Η αρχική θεραπεία περιλαμβάνει τη χορήγηση ηπαρίνης ή ηπαρίνης χαμηλού μοριακού βάρους ακολουθούμενη στη συνέχεια από κουμαρινικά αντιπηκτικά με στόχο τη διατήρηση του INR (International Normalized Ratio) πάνω από 2,0 ($2,0 < \text{INR} < 2,9$).

Σημειώνεται ότι τα κουμαρινικά αντιπηκτικά πρέπει να αποφεύγονται στην κύηση, ειδικά στο διάστημα μεταξύ 6 και 12 βδομάδων κύησης, διότι προκαλούν τερατογένεση. Οι γυναίκες ασθενείς που λάμβαναν κουμαρινικά αντιπηκτικά λόγω προηγούμενου θρομβωτικού επεισοδίου πριν την κύηση αλλάζουν τη θεραπεία τους σε ηπαρίνη ή ηπαρίνη χαμηλού μοριακού βάρους (LMWH).

Αντίστοιχα, σε γυναίκες με θετικά ΑΦΑ που είναι έγκυες και έχουν ιστορικό καθ' ἑξιν αποβολών ο συνδυασμός που χρησιμοποιείται συνήθως είναι ηπαρίνη χαμηλού μοριακού βάρους ή/ και μικρές δόσεις ασπιρίνης. Το fondaparinux δεν έχει αλληλεπίδραση με το συμπλήρωμα και πιθανά δεν πλεονεκτεί έναντι των LMWH αλλά μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε περιπτώσεις θρομβοπενίας από ηπαρίνη.

Τα νέας γενιάς από του στόματος αντιπηκτικά (NOACs) φαίνεται να μεταβάλλουν το τοπίο στη θεραπευτική αντιμετώπιση της θρομβοεμβολικής νόσου, ωστόσο στο ΑΦΣ -λόγω έλλειψης δεδομένων- θα πρέπει κανείς να εξετάζει τη χορήγηση τους μόνο σε περίπτωση δυσανεξίας ή μη ικανοποιητικού αντιπηκτικού ελέγχου.

Άλλες θεραπείες αποτελούν η ενδοφλέβια γ-σφαιρίνη, που μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε περιπτώσεις ασθενών που συνεχίζουν να έχουν αυτόματες αποβολές παρά το γεγονός ότι λαμβάνουν ηπαρίνη με ασπιρίνη και η πλασμαφαίρεση που χρησιμοποιείται σε περιπτώσεις καταστροφικού ΑΦΣ σε συνδυασμό με αντιπηκτική αγωγή. Το χιμαιρικό μονοκλωνικό αντίσωμα αντι-CD20, Rituximab, έχει χρησιμοποιηθεί εκτός ενδείξεων (*off label*) σε ΑΦΣ με σοβαρή θρομβοπενία, αιμολυτική αναιμία, δερματικά έλκη και νέκρωση.

Σχετικά με τις λοιπές αυτοάνοσου τύπου αποβολές είτε επαναλαμβανόμενες ανεπιτυχείς εμβρυομεταφορές, τα τελευταία χρόνια, η εμπειρική περίοδος των διαφόρων ανοσοθεραπειών φαίνεται ότι δίνει τη θέση της σε περισσότερο τεκμηριωμένα θεραπευτικά σχήματα. Η διαγνωστική προσέγγιση των μηχανισμών οι οποίοι ενδεχομένως επάγουν το σύνδρομο των επανειλημμένων αποβολών -ή συμμετέχουν στην εκδήλωση του- είναι όχι μόνο χρήσιμη, αλλά και επιβεβλημένη, προκειμένου να εφαρμοστεί μια αιτιολογικά τεκμηριωμένη ανοσοθεραπευτική αγωγή.

Οι σύγχρονες ανοσοπαρεμβατικές θεραπείες περιλαμβάνουν διάφορα σχήματα ανοσοθεραπείας, βασισμένα συχνά στη χορήγηση 1) κορτικοστεροειδών, όπως η πρεδνιζολόνη και η δεξαμεθαζόνη, 2) ενδοφλέβιας γ-σφαιρίνης, 3) αλλοανοσοποίησης με ενδοδερμική χορήγηση λεμφοκυττάρων του συντρόφου είτε άλλου δότη, 4) αντι-TNFα μονοκλωνικών αντισωμάτων και 5) ενδοφλέβιων συμπληρωμάτων διατροφής, διαλυμάτων λιπώδους γαλακτώματος (σογιέλαιο με λευκωματίνη και φωσφολιπίδια). Τα παραπάνω σχήματα έχουν εφαρμοσθεί συχνά με την προσθήκη χαμηλών δόσεων σαλικυλικών είτε ηπαρίνης χαμηλού μοριακού βάρους, με ποσοστά όμως επιτυχίας τα οποία δεν είναι πάντοτε ίδια.

Ιδιαίτερα θα πρέπει να τονιστεί ο ρόλος της ψυχιατρικής και κοινωνικής στήριξης από εξειδικευμένες ομάδες ιατρών και ψυχολόγων, αλλά και από το οικογενειακό περιβάλλον, σε όλες τις περιπτώσεις γυναικών με ΕΑ.

Σε ΕΑ αυτοάνοσης αιτιολογίας, με συμμετοχή δηλαδή μηχανισμών αυτοανοσίας, η χορήγηση πρεδνιζολόνης με -ή και χωρίς- αντιπηκτικά, καθώς και η χορήγηση εν-

δοφλέβιας γ-σφαιρίνης (IVIg) θεωρείται ότι είναι δυνατόν να οδηγήσουν σε αξιολογικά αποτελέσματα. Πρέπει να σημειωθεί ότι στις ανεπιθύμητες δράσεις της IVIg, εκτός από την κεφαλαλγία, μυαλγίες, υπόταση, ναυτία, κεφαλαλγία, περιλαμβάνεται και η βαριά αναφυλακτική προσβολή, ιδιαίτερα σε περιπτώσεις IgA ανεπάρκειας. Η χορήγηση κορτικοστεροειδών έχει προταθεί από αρκετές ιατρικές ομάδες, η περιγραφόμενη όμως βελτίωση στην έκβαση των κυήσεων είναι δυνατόν όχι σπάνια να συνοδεύεται από τις ανεπιθύμητες δράσεις του θεραπευτικού αυτού σχήματος (οστεοπόρωση, διαβήτης, γαστρικό έλκος, κ.ά.) και για τον λόγο αυτό η χρήση τους παραμένει περιορισμένη.

Η χορήγηση βιολογικών παραγόντων (αντι-TNF μοнокλωνικών αντισωμάτων), αν και σε περιορισμένη

χρήση, φαίνεται ικανοποιητική λύση σε ορισμένες περιπτώσεις αυτοάνοσων νοσημάτων, ενώ η χρήση νεότερων ανοσοκατασταλτικών είτε κυτταροκινών είναι ακόμη υπό μελέτη.

Η συμπλήρωση ικανοποιητικού αριθμού εκτεταμένων μελετών, με αυστηρή επιλογή ασθενών ύστερα από πλήρη ανοσολογικό και ανοσογενετικό έλεγχο και με απολύτως ενιαία σχεδίαση και θεραπευτική αντιμετώπιση, ενδέχεται στο άμεσο μέλλον να προσφέρει μια αντικειμενικότερη θεώρηση του σύνθετου και αμφιλεγόμενου αυτού προβλήματος, καθώς και μία ορθολογικότερη αξιολόγηση των υπάρχοντων θεραπευτικών σχημάτων. ●

Σύγκρουση συμφερόντων: Καμία

Abstract

It is well known that Autoimmune diseases (ADs) predominantly affect female, at child-bearing age, causing various problems and posing a potential risk for many aspects of reproduction, not only pregnancy.

Main characteristics of ADs are tissue damage, mediated by different self-reactive mechanisms of the immune system, such as antibodies and T cells. The specific adaptive-immune response presents with a remarkable activation, followed by inflammation and tissue damage, without any features of infection, toxin activity or tumor growth.

AD occurrence is frequently associated with genetic predisposition and/or environmental conditions. It is estimated that AD prevalence fluctuates between 7.6% and 9.4%.

All types of ADs, may present implications for fertility and obstetrics. Concerning pregnancy complications, first trimester miscarriages may achieve the 80% of the general population miscarriages. Under the age of 35, the risk of miscarriage is about 10% while between women over the age of 40 is about 45%.

It is worth to remind that a few years ago women suffering from certain ADs e.g. systemic lupus erythematosus and/or particularly antiphospholipid syndrome was considered to avoid pregnancy, while currently, due to available treatments, the prognosis for these pregnancies has significantly improved.

In any case, even today, these pregnancies are considered to be always high risk, probably associated with fetal loss, intrauterine growth restriction, placental insufficiency, premature rupture of membranes, preeclampsia, preterm birth, and other serious complications. Based on the above, it is now accepted that planning the pregnancy during the remission phase of the disease, must be the overall principle for a successful and uncomplicated pregnancy and delivery.

In this short editorial, we try to review the main effects of autoimmunity on reproduction, the significantly improved current potential for treatment and the prognosis of pregnant women with AD.

KEY WORDS

*pregnancy loss;
autoimmunity;
reproduction;
IVF failures;
pregnancy;
sterility*

Βιβλιογραφική παραπομπή άρθρου

Δανιηλίδης Μ, Γεροφώτης Α. Αυτοανοσία και Αναπαραγωγή. *Αναπαραγωγή* 2019; 4: 10-24.

Βιβλιογραφικές παραπομπές

1. Cooper G, Bynum M, Somers E. Recent insights in the epidemiology of autoimmune diseases: Improved prevalence estimates and understanding of clustering of diseases. *J Autoimmun* 2009;33(3-4): 197-207. doi: 10.1016/j.jaut.2009.09.008.
2. Julian, Marcia K. Nursing Management. November 2014; Volume 45, Number 11: 24-29.
3. American Autoimmune Related Disease Association, National Coalition of Autoimmune Patient Groups. The cost burden of autoimmune disease: The latest front in the war on healthcare spending. <http://www.diabetesed.net/page/files/autoimmune-diseases.pdf>.
4. Abbul K. Abbas, Andrew H. Lichtman, Shiv. Pillai. CELLULAR & MOLECULAR IMMUNOLOGY, 9th ED., 2018, ELSEVIER, Philadelphia, Ch.15, Immunologic Tolerance and Autoimmunity, p.325-350.
5. Mold J.E., McCune J.M. Immunological Tolerance During Fetal Development: From Mouse to Man. *Advances in Immunology*, Volume 115, 2012, p.73-111.
6. Goedicke-Fritz Sybelle, Härtel Christoph, Krasteva-Christ Gabriela, Kopp Matthias V., Meyer Sascha and Zemlin Michael. Preterm Birth Affects the Risk of Developing Immune-Mediated Diseases. *Front Immunol* 2017; 8: 1266.
7. Knight CL and Nelson-Piercy C. Management of systemic lupus erythematosus during pregnancy: Challenges and solutions. *Open Access Rheumatol* 2017; 9: 37-53. Published online 2017 Mar 10. doi:10.2147/OARRR.S87828.
8. Μιχαήλ Α. Δανιηλίδης. Ανοσολογία αποβολών. Σύγχρονες απόψεις. *ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗ* 2016, Τεύχος 1, σελ. 8-18.
9. Alarcon-Segovia D, Deleze M, Oria CO, Sanchez-Guerrero J, et al. Antiphospholipid antibodies and the antiphospholipid syndrome in systemic lupus erythematosus: A prospective analysis of 500 consecutive patients. *Medicine (Baltimore)* 1989; 68: 353-365.
10. Ogasawara M, Aoki K, Katano K, Aoyama T, Kajiu-ura S, Suzumori K. Prevalence of autoantibodies in patients with recurrent miscarriages. *Am J Reprod Immunol* 1999; 41(1): 86-90.
11. Jolien Suurmond and Betty Diamond. Autoantibodies in systemic autoimmune diseases: Specificity and pathogenicity. *J Clin Invest* 2015; 1, 125(6): 2194-2202. Published online 2015 May 4. doi:10.1172/JCI78084
12. Franks SE, Getahun A, Hogarth PM, Cambier JC. Targeting B cells in treatment of autoimmunity. *Curr Opin Immunol* 2016; 43: 39-45. doi: 10.1016/j.coi.2016.09.003.
13. Borba HH, Funke A, Wiens A, Utiyama SR, Perlin CM, Pontarolo R. Update on biologic therapies for systemic lupus erythematosus. *Curr Rheumatol Rep* 2016; 18(7): 44. doi: 10.1007/s11926-016-0589-5.
14. Harvey PR, Gordon C. B-cell targeted therapies in systemic lupus erythematosus: Successes and challenges. *BioDrugs* 2013; 27(2): 85-95. doi: 10.1007/s40259-013-0015-8.
15. Edwards JC, et al. Efficacy of B-cell-targeted therapy with rituximab in patients with rheumatoid arthritis. *N Engl J Med* 2004; 350(25): 2572-2581. doi: 10.1056/NEJMoa032534.
16. Hauser SL, et al. B-cell depletion with rituximab in relapsing-remitting multiple sclerosis. *N Engl J Med* 2008; 358(7): 676-688. doi: 10.1056/NEJMoa0706383.
17. Rubtsov AV, et al. Toll-like receptor 7 (TLR7)-driven accumulation of a novel CD11c+ B-cell population is important for the development of autoimmunity. *Blood* 2011; 118(5): 1305-1315. doi: 10.1182/blood-2011-01-331462.
18. Swati Phalke and Philippa Marrack. Age (autoimmunity) associated B cells (ABCs) and their relatives. <https://doi.org/10.1016/j.coi.2018.09.007>
19. Rubtsova K, Marrack P, Rubtsov AV. TLR7, IFN γ , and T-bet: their roles in the development of ABCs in female-biased autoimmunity. *Cell Immunol* 2015; 294(2): 80-83. doi: 10.1016/j.cellimm.2014.12.002.
20. Becker AM, et al. SLE peripheral blood B cell, T cell and myeloid cell transcriptomes display unique profiles and each subset contributes to the interferon signature. *PLoS One* 2013; 8(6): e67003. doi:10.1371/jp.0067003.
21. Rubtsova K, Rubtsov AV, Cancro MP, Marrack P. Age-associated B cells: A T-bet-dependent effector with roles in protective and pathogenic immunity. *J Immunol* 2015; 195(5): 1933-1937. doi: 10.4049/jimmunol.1501209.
22. Kim NY, Cho HJ, Kim HY, Yang KM, Ahn HK, Thornton S, Park JC, Beaman K, Gilman-Sachs A, Kwak-Kim J. Thyroid autoimmunity and its association with cellular and humoral immunity in women with reproductive failures. *Am J Reprod Immunol* 2011; 65: 78-87.



-  23. Gilad Twig, Avi Shinab, Howard Amital, Yehuda Shoenfeld. Pathogenesis of infertility and recurrent pregnancy loss in thyroid autoimmunity. *Journal of Autoimmunity* 2012; 38(2-3): J275-J281.
24. P Triggianese, C Perricone, P Conigliaro, MS Chimenti, R Perricone, C De Carolis. Peripheral blood natural killer cells and mild thyroid abnormalities in women with reproductive failure. *Int J Immunopathol Pharmacol* 2016, Volume: 29(1): 65-75. <https://doi.org/10.1177/0394632015615130>.
25. Ticconi C, Giuliani E, Veglia M, Pietropolli A, Piccione E, Di Simone N. Thyroid autoimmunity and recurrent miscarriage. *Am J Reprod Immunol* 2011; 66 (6): 452-459.
26. Van den Boogaard E, Vissenberg R, Land JA, Van Wely M, Van der Post JAM, Goddijn M. and Bisschop PH. Significance of (sub)clinical thyroid dysfunction and thyroid autoimmunity before conception and in early pregnancy: A systematic review. *Hum Reprod Update* 2011; 17 (5): 605-619.
27. Twig G, Shina A, Amital H, Shoenfeld Y. Pathogenesis of infertility and recurrent pregnancy loss in thyroid autoimmunity. *J Autoimmun* 2012 May; 38(2-3): J275-81.
28. Daniilidis M, Kontogianni H, Foka Z, et al. Factor V Leiden and other thrombophilic and immunological risk factors of reproductive failure: A multi-centre study. *J Reproductive Immunology* 2003; 58(2): 181.
29. Δανιηλίδης Μ. Ειδική ανοσιακή απάντηση. Από "ΚΛΙΝΙΚΗ ΑΝΟΣΟΛΟΓΙΑ" Τομέα Παθολογίας, Τμήματος Ιατρικής Αριστοτέλειου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης. Έκδοση 3η, University Studio Press 2015, σελ.: 39-70.
30. King K, Smith S, Chapman M, Sacks G. Detailed analysis of peripheral blood natural killer (NK) cells in women with recurrent miscarriage. *Hum Reprod* 2010; 25(1): 52-58.
31. Harrity C, Shkrobot L, Walsh D, Marron K. ART implantation failure and miscarriage in patients with elevated intracellular cytokine ratios: Response to immune support therapy. *Fertil Res Pract* 2018 Oct 17;4:7. doi: 10.1186/s40738-018-0052-6. eCollection 2018.
32. Hematology: Basic Principles and Practice, 7e Hardcover – 30 Aug 2017 by Ronald Hoffman, Edward J. Benz Jr., Leslie E. Silberstein Helen Heslop, Jeffrey Weitz, John Anastasi.
33. S. Miyakis, M. D. Locksnin, T. Atsui, D. W. Brach, § R. L. Brey, – R. Cervera, R. H. W. M. Dersen, P. G. De Groot, T. Koike, P. L. Meroni, G. Reber. Shoenfeld, A. Tincani, P. G. Vlachoyiannopoulos and S. A. Krilis* International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 4: 295-306.
34. Bill Giannakopoulos, Freda Passam, Soheila Rahgozar, and Steven A. Krilis Current concepts on the pathogenesis of the antiphospholipid syndrome. *Blood* 2007; 15, 109 (2): 422-430.
35. Bala MM, Paszek E, Lesniak W, Wloch-Kopec D, Jansinska K, Undas A. Antiplatelet and anticoagulant agents for primary prevention of thrombosis in individuals with antiphospholipid antibodies. *Cochrane Database Syst Rev* 2018; 13: 7, CD012534. doi: 10.1002/14651858.CD012534.pub2.
36. Shruti Chaturvedi and Keith R. McCrae. The antiphospholipid syndrome: Still an enigma. 2015; 5: 153-160.

Γενετική μελέτη θρομβοφιλικής προδιάθεσης

Ευθυμία Μελισσάρη

Αιματολόγο, Υπεύθυνη Αιμοδοσίας, Επιστ. Συνεργάτης ΥΓΕΙΑ,
Πρ. Αν. Καθηγήτρια King's College, Hospital / Medical School, UK

Ελληνική περίληψη

Η θρομβοφιλία προδιαθέτει δυνητικά σε υπερπηκτικότητα και τελικά σε σχηματισμό θρόμβου και δη καθ' υποτροπή.

Διακρίνεται σε επίκτητη, με κύριο αντιπρόσωπο το αντιπηκτικό τύπου λύκου-αντιφωσφολιπιδικό σύνδρομο και στην κληρονομική θρομβοφιλία.

Η κληρονομική θρομβοφιλία ελέγχεται τόσο σε επίπεδο πρωτεΐνης όσο και σε μοριακό. Σε επίπεδο πρωτεΐνης ελέγχονται οι φυσικοί *in vivo* αναστολείς της πήξεως όπως η πρωτεΐνη C, η πρωτεΐνη S και η αντιθρομβίνη. Γενετικές τροποποιήσεις των μορίων των φυσικών αυτών αναστολέων οδηγούν είτε σε μειωμένη σύνθεση αντίστοιχων πρωτεϊνών είτε σε δυσλειτουργικές (αντίστοιχες) πρωτεΐνες που σε κάθε περίπτωση προάγουν την υπερπηκτικότητα και κατ' επέκταση την θρόμβωση.

Σε μοριακό επίπεδο ελέγχονται κυρίως οι μεταλλάξεις των:

- FV Leiden 506, κατάσταση που οδηγεί σε μειωμένη ικανότητα της ενεργοποιημένης πρωτεΐνης C να διασπά πρωτεολυτικά τους συμπαράγοντες FVIIIa και FVa (παθολογική αντίσταση στην ενεργοποιημένη πρωτεΐνη C, APC-Resistance), γεγονός που οδηγεί σε θρομβώσεις.
- FII20210 G → A, που σε επίπεδο πρωτεΐνης προκαλεί αυξημένη ποσότητα προθρομβίνης, κατάσταση που οδηγεί σε υπερπηκτικότητα και δυνητικά σε θρόμβωση.
- MTHFR 677 C → T, MTHFR 1298 A → C καταστάσεις που οδηγούν συνήθως σε υπερομοκυστεϊναιμία η οποία καταστρατηγεί την θρομβοαντίσταση του αγγειακού ενδοθηλίου προκαλώντας θρομβώσεις και παλίνδρομες αποβολές.

Ο έλεγχος της θρομβοφιλίας αποβλέπει α) στη θεραπεία της θρόμβωσης με την επιλογή της κατάλληλης αντιπηκτικής αγωγής και τη διάρκεια χορήγησης της ούτως ώστε να αποφευχθεί η υποτροπή (δευτερογενής πρόληψη) και β) στην πρωτογενή πρόληψη της θρόμβωσης, σε συγγενείς ασθενών που πάσχουν από θρόμβωση/θρομβοεμβολισμό σε καταστάσεις υπερπηκτικότητας.

Ο έλεγχος της θρομβοφιλίας σε επίπεδο πρωτεΐνης δεν συνιστάται να γίνεται σε περιόδους οξείας φλεγμονώδους αντίδρασης ούτε και κατά την περίοδο λήψης *PerOs* αντιπηκτικών. Εξάλλου κατά τη λήψη οιστρογόνων και στη κύηση, ελέγχονται χαμηλά τα επίπεδα της πρωτεΐνης S και της APC-Resistance. Αντίθετα δεν υφίστανται περιορισμοί ανάλογοι για τον έλεγχο της θρομβοφιλίας σε μοριακό επίπεδο.



Υπεύθυνος αλληλογραφίας:

Ελληνική Εταιρεία Αναπαραγωγικής Ιατρικής, E-mail: info@eeai.gr, www.eeai.gr

Έλεγχο θρομβοφιλίας χρήζουν κυρίως 3 κατηγορίες ασθενών:

1. Ασθενείς με αυτόματο VTE

2. Σε συγγενείς ασθενών με VTE όταν αφορά:

- Γυναίκες που πρόκειται να κάνουν χρήση οιστρογόνων
- Γυναίκες που προγραμματίζουν τεκνοποιία
- Άτομα που πρόκειται να υποβληθούν σε μεγάλη χειρουργική επέμβαση ή πρόκειται να πραγματοποιήσουν αεροπορικό ταξίδι μακράς διάρκειας ή βρίσκονται σε άλλη υπερπηκτική κατάσταση

3. Σε επιπλοκές κύησης

Σημειώνεται δε ότι ο σχετικός κίνδυνος για επιπλοκές της κύησης από ανεπάρκεια των φυσικών αναστολέων της πήξης κυμαίνεται στα 1,3-3,6 ενώ για τον FV Leiden στα 1,0-2,2 και για το FII20210 στα 0,9-1,3. Ο κίνδυνος αυξάνεται κατά πολύ σε παρουσία ομοζυγωτίας των θρομβογόνων γονιδίων FV Leiden και FII20210 ή συνδυασμός γονιδίων FV Leiden /FII20210. Εντούτοις η συγγενής θρομβοφιλία μετρίως αυξάνει τον κίνδυνο της υποτροπής σε αυτόματο χωρίς πρόκληση VTE. Στην προκλητή θρόμβωση η χορήγηση αντιπηκτικής αγωγής είναι περιορισμένης διάρκειας ενώ στην αυτόματη θρόμβωση η αντιπηκτική αγωγή χορηγείται χωρίς διακοπή εκτός και αν υφίσταται κίνδυνος αιμορραγίας.

Εισαγωγή

Η θρομβοφιλία αποτελεί κληρονομική ή επίκτητη κατάσταση η οποία δυνητικά προάγει την φλεβική ή αρτηριακή θρόμβωση.

Η αιτιολογία της θρόμβωσης ωστόσο είναι πολυπαράγοντική και η θρομβοφιλία αν και αποτελεί ισχυρό προδιαθεσικό παράγοντα δεν προδικάζει πάντοτε την εμφάνιση θρομβωτικού επεισοδίου γεγονός που προκαλεί διχογνωμία στην χορήγηση αντιθρομβωτικής αγωγής.

Κληρονομική θρομβοφιλία

Η κληρονομική θρομβοφιλία είναι το αποτέλεσμα μεταλλάξεων στα γονίδια που κωδικοποιούν τους φυσικούς *in vivo* αναστολείς ενεργοποίησης της πήξης όπως η αντιθρομβίνη (AT), πρωτεΐνη C (PC), η πρωτεΐνη S (PS) [1-3]. Επιπλέον νουκλεοτιδική μετάλλαξη από G σε A στο γονίδιο του παράγοντα V (FV) στη θέση 1691 οδηγεί σε αντικατάσταση αμινοξέος στη θέση 506, θέση όπου ο ενεργοποιημένος παράγων V (FVa) υφίσταται πρωτεολυτική διάσπαση από την ενεργοποιημένη πρωτεΐνη C (APC) [1-4]. Η μετάλλαξη αυτή προκαλεί την πλέον συχνή αιτία θρομβοφιλίας. Ελέγχεται δε σε μοριακό επίπεδο με την ανίχνευση του παθολογικού γονιδίου FV Leiden 506 και σε επίπεδο πρωτεΐνης με την αντίσταση του FVa να διασπασθεί από την APC, δηλαδή με την ανίχνευση της APC-Resistance. Σε θρόμβωση, δυνητικά οδηγεί επίσης και η παρουσία μετάλλαξης στο γονίδιο της προθρομβίνης: FII20210 G → A μέσω αυξημένης παραγωγής προθρομβίνης [5]. Πολυμορφισμοί στο γονίδιο της ομοκυστεΐνης (αυξημέ-

νη ομοκυστεΐνη φθίρει το αγγειακό ενδοθήλιο) ή πολυμορφισμός PAI-I 4G/4G του γονιδίου του αναστολέα του ιστικού ενεργοποιητού του Πλασμινογόνου (*tissue plasminogen activator inhibitor PAI-I*) που μειώνει την ινωδολυτική ικανότητα, συνδέονται επίσης με την εμφάνιση θρόμβωσης αλλά σε χαμηλότερο βαθμό [6].

Επίκτητη θρομβοφιλία

Η επίκτητη θρομβοφιλία είναι πολλαπλής αιτιολογίας με κυριότερο εκπρόσωπο το αντιπηκτικό τύπου λύκου - αντιφωσfolιπιδικό σύνδρομο (APS). Το APS σύνδρομο προκαλεί αρτηριακή ή φλεβική θρόμβωση καθώς και επιπλοκές στην κύηση. Τα διαγνωστικά κριτήρια είναι αυστηρά καθορισμένα με την ανίχνευση αντιφωσfolιπιδικών αντισωμάτων (aPL): Αντισώματα έναντι καρδιολιπινών (aCL), αντισώματα έναντι β2 γλυκοπρωτεΐνης I (β2 GPI) ή και αντιπηκτικού τύπου λύκου (LA). Τα aPL πρέπει να ανιχνευθούν σε 2 τουλάχιστον ελέγχους που να απέχουν τουλάχιστον 12 εβδομάδες για να τεθεί η διάγνωση APS-LA. Τούτο διότι σε ποσοστό 3%-5% τα αντισώματα αυτά είναι παροδικά και σχετίζονται με ιώσεις ή λήψη φαρμάκων [7]. Τα aPL είναι πολυπαράγοντικής αιτιολογίας και αναπτύσσονται σε άτομα με γενετική προδιάθεση που αφορά το μεγάλο σύμπλεγμα ιστοσυμβατότητας (MHC). Διάφορα αλληλία HLA-DR και HLA-DQ συνδέονται από εμφάνιση APS [8]. Εξάλλου ορισμένα νοσήματα όπως τα μυελουπεπλαστικά νεοπλασμάτα, η νυκτερινή παροξυσμική αιμοσφαιρινουρία αλλά και ορισμένα φάρμακα όπως χορήγηση ορμονών και χημειοθεραπεία αυξάνουν τον κίνδυνο της θρόμβωσης [9]. Τέλος αυξημένα επίπεδα

παραγόντων της πήξεως όπως ο FVIII, FIX και FXI αλλά και αυξημένα επίπεδα του αναστολέως της ινωδολύσης (TAFI) που ενεργοποιείται από την θρομβίνη αυξάνουν τον κίνδυνο της θρόμβωσης [10-13]. Διευκρινίζεται ωστόσο ότι ο FVIII ανεξάρτητα γενετικού προσδιορισμού αυξάνεται με την ηλικία όπως και κατά την διάρκεια φλεγμονώδους αντίδρασης.

Σκοπός ελέγχου θρομβοφιλίας

Ο έλεγχος θρομβοφιλίας αποσκοπεί στην βελτίωση ή την τροποποίηση της αντιμετώπισης ενός θρομβωτικού/θρομβοεμβολικού επεισοδίου. Αποβλέπει κυρίως στην διάρκεια χορήγησης της αντιπηκτικής αγωγής ούτως ώστε να αποφευχθεί υποτροπή μετά από ένα θρομβωτικό επεισόδιο, αποβλέπει δηλαδή στην δευτερογενή πρόληψη. Ο σκοπός ελέγχου της θρομβοφιλίας στην πρωτογενή πρόληψη, αφορά συγγενείς ασθενών που πάσχουν από θρόμβωση/θρομβοεμβολισμό και ενόσω τα άτομα αυτά βρίσκονται σε περιόδους υπερπηκτικότητας. Από τους πολλαπλούς παράγοντες/κινδύνους που οδηγούν σε υποτροπή μετά από θρομβωτικό/θρομβοεμβολικό επεισόδιο σημαντικότερος είναι εκείνος που προκάλεσε αρχικά την θρόμβωση [14].

Σημαντικός προκλητικός της θρόμβωσης παράγων αποτελεί το μεγάλο χειρουργείο τους τελευταίους 3 μήνες, μεγάλη ιστική κάκωση (εκτεταμένα εγκαύματα), παρατεταμένη ακινησία (≥ 3 ημέρες) αεροπορικό ταξίδι κτλ. Ωστόσο η θρόμβωση μετά από πρόκληση συσχετίζεται με μικρότερο κίνδυνο υποτροπής (σχετικός κίνδυνος $\leq 0,5$) συγκριτικά με την υποτροπή που εμφανίζει η παρουσία θρόμβωσης χωρίς πρόκληση [15]. Επιπλέον η παρουσία συγγενούς θρομβοφιλίας δεν φαίνεται να διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην εμφάνιση υποτροπής μετά από ένα προκλητό VTE επεισόδιο [16].

Η Αμερικάνικη Αιματολογική Εταιρεία (ASH) και η Εταιρεία Αγγειολογικής Ιατρικής (SVM) συνιστούν να μην γίνεται έλεγχος θρομβοφιλίας εφόσον η θρόμβωση είναι απόρροια πρόκλησης και πως η αντιπηκτική αγωγή χορηγείται για περιορισμένη χρονική περίοδο. Τούτο διότι σε προκλητή θρόμβωση ο κίνδυνος υποτροπής είναι μικρός και ανεξάρτητος της παρουσίας συγγενούς θρομβοφιλίας [17].

Απεναντίας σε αυτόματα παρουσία VTE (παρουσία VTE χωρίς πρόκληση) ο κίνδυνος υποτροπής είναι υψηλότερος. Συγκεκριμένα το 30% των ασθενών αυτών θα εμφανίσει υποτροπή VTE εντός της προσεχούς 5ετίας εκτός και αν ο ασθενής λαμβάνει αντιπηκτική αγωγή χωρίς διακοπή [17].

Η Εταιρεία ACCP (American College of Chest Physicians) συμβουλεύει συνεχή χωρίς διακοπή χο-

ρήγηση αντιπηκτικής αγωγής σε αυτόματο VTE αφού ληφθεί υπόψη ο κίνδυνος αιμορραγίας και η θέληση του ασθενούς να αποδεχθεί την δια βίου αντιπηκτική αγωγή [18].

Ο έλεγχος θρομβοφιλίας γίνεται συνήθως σε νέα άτομα που παρουσιάζουν υποτροπή θρόμβωσης/θρομβοεμβολισμού (VTE) ή παρουσιάζουν θρόμβωση σε ασυνήθεις θέσεις ή έχουν οικογενειακό ιστορικό επιβαρυμένο με VTE.

Σε αυτόματο VTE δεν γίνεται έλεγχος θρομβοφιλίας αλλά χορηγείται αντιπηκτική αγωγή χωρίς διακοπή καθόσον ο κίνδυνος υποτροπής είναι μεγάλος [18] και η παρουσία συγγενούς θρομβοφιλίας δεν επηρεάζει σημαντικά την υποτροπή μετά από ένα αυτόματο VTE [19, 20].

Ωστόσο η ανεπάρκεια των φυσικών *in vivo* αναστολέων της πήξεως προκαλεί αργοπορημένη υποτροπή που εγγίζει τα 10 χρόνια μετά από ένα αρχικό VTE στο 55% των περιπτώσεων ενώ οι ασθενείς με τις μεταλλάξεις FV Leiden ή FII20210G \rightarrow A ή με υψηλά επίπεδα FVIII εμφανίζει υποτροπή σε ποσοστό 25% στη δεκαετία [21].

Συνεπώς, ο έλεγχος θρομβοφιλίας σε ασυμπτωματικά άτομα με οικογενειακό ιστορικό επιβαρυμένο με VTE, παρουσία θρομβοφιλίας επιτρέπει την λήψη μέτρων και θρομβοπροφύλαξης σε συνοδές καταστάσεις υπερπηκτικότητας και έτσι αποφεύγεται η εμφάνιση πρωταρχικού VTE επεισοδίου.

Ο έλεγχος θρομβοφιλίας σε επίπεδο πρωτεΐνης δεν συνιστάται να γίνεται σε περιόδους οξείας φλεγμονώδους αντίδρασης ούτε κατά την περίοδο λήψης Per Os αντιπηκτικών και κυρίως κουμαρινικών.

Κατά τη λήψη οιστρογόνων και στη κύηση ελέγχονται χαμηλά τα επίπεδα της πρωτεΐνης S και της APC-Resistance. Σε αντίθεση η θρομβοφιλία σε μοριακό επίπεδο ελέγχεται ανά πάσα στιγμή.

Ιδιαιτερότητες συγγενούς θρομβοφιλίας ως προς την εμφάνιση VTE

Σε κάθε περίπτωση η ετήσια επίπτωση VTE σε 1ου βαθμού συγγενείς ετεροζυγωτών FV Leiden ανέρχεται σε 0,45% όταν φέρουν και οι ίδιοι την ετεροζυγωτία και σε 0,1% όταν δεν φέρουν την μετάλλαξη. Από αυτά τα VTE επεισόδια το 50% εμφανίζεται αυτόματα, το 20% εμφανίζεται μετά από πρόκληση και το 30% συσχετίζεται με την κύηση και χρήζει PerOs αντισυλληπτικών.

Σε γυναίκες ετεροζυγώτες FV Leiden η χρήση PerOs αντισυλληπτικών ενέχει 0,5% ετήσιο κίνδυνο VTE ενώ κάθε κύηση αυξάνει τον κίνδυνο VTE στα 2% [22-25].

Σε ομοζυγωτία FV Leiden η ετήσια επίπτωση VTE

ανέρχεται στα 1,8% ενώ η κύηση αυξάνει την επίπτωση στα 16,3% (7% κατά την διάρκεια της κύησης και 9,3% κατά τη διάρκεια της λοχείας).

Ίδια κατά προσέγγιση ετήσια επίπτωση VTE εμφανίζουν και οι ασθενείς με ετεροζυγωτία ως προς το παθολογικό γονίδιο FII 20210. Σε ομοζυγωτία FII 20210 και η κύηση αυξάνει την επίπτωση VTE έως και 78%.

Σε ανεπάρκεια των φυσικών *in vivo* αναστολέων της πήξεως [Αντιθρομβίνη (ΑΤ), πρωτεΐνη C (PC), πρωτεΐνη S(PS)] η ετήσια επίπτωση VTE ανέρχεται στα 1,5%. Μετά από πρόκληση η παρουσία VTE αυξάνεται στα 8,1% κατά επεισόδιο [23]. Σε κάθε κύηση η επίπτωση VTE είναι της τάξεως των 4,1% (κύηση 1,2%, λοχεία 3%) όπως και στη χρήση αντισυλληπτικών 4,3% κατ' έτος χρήσης.

Τέλος η ανεπάρκεια των φυσικών *in vivo* αναστολέων ενεργοποίησης της πήξης διπλασιάζουν τις επιπλοκές της κύησης συγκριτικά με έγκυες γυναίκες με φυσιολογικούς τους αναστολείς αυτούς [26, 27].

Σύμφωνα με τις δημοσιευμένες κατευθυντήριες οδηγίες [28, 29] χορηγείται θρομβοπροφύλαξη σε ασυμπτωματικές έγκυες γυναίκες με όλους τους τύπους της συγγενούς θρομβοφιλίας και με οικογενειακό VTE ιστορικό στη διάρκεια της λοχείας. Προσωπική άποψη της συγγραφέως είναι ότι κατά τη διάρκεια της κύησης η χορηγούμενη αντιπηκτική αγωγή θα πρέπει να στηρίζεται στην εκάστοτε ανιχνευόμενη κατάσταση υπερπηκτικότητας και σε συνδυασμό με τον εκάστοτε *u/s* εξέλιξης της κύησης και ανεξάρτητα της παρουσίας θρομβοφιλίας.

Η κύηση αποτελεί αυξημένο κίνδυνο για θρόμβωση με αύξηση του σχετικού κινδύνου θρόμβωσης κατά 5-10 φορές υψηλότερα από μη κυοφορούσα γυναίκα ίδιας ηλικίας [30]. Η παρουσία δε συγγενούς θρομβοφιλίας αυξάνει κατά πολύ την πιθανότητα παρουσίας θρόμβου όπως προαναφέρθηκε.

Ο έλεγχος θρομβοφιλίας κατά την κύηση αποβλέπει συνεπώς στην πρόληψη υποτροπής μετά από ένα αρχικό VTE επεισόδιο ή την πρόληψη ενός αρχικού VTE.

Ο ρόλος της θρομβοφιλίας σε εμβρυϊκές απώλειες και άλλες μαιευτικές επιπλοκές

Υπάρχουν αντικρουόμενες απόψεις κατά πόσο η συγγενής θρομβοφιλία ευθύνεται για τις πρόωρες επιπλοκές της κύησης όπως καθ' έξιν απώλειες εμβρύων ή τις καθυστερημένες επιπλοκές λόγω αγγειακών διαταραχών της πλακούντιας κυκλοφορίας όπως απώλεια κυήματος και μάλιστα καθ' υποτροπή, καθυστέρηση ανάπτυξης εμβρύου, προεκλαμψία ή αποκόλληση πλακούντος.

Από τις μέχρι τώρα δημοσιευμένες μελέτες φαίνεται

ότι η συγγενής θρομβοφιλία διαδραματίζει ρόλο συμπαράγοντος και ότι δεν αποτελεί τον κύριο παράγοντα, το κύριο αίτιο των επιπλοκών [31-33]. Εδώ ωστόσο θα πρέπει να ληφθεί υπόψιν ότι η σοβαρού βαθμού θρομβοφιλία όπως οι ομοζυγωτίες FV Leiden / FII 20210 G → A η ανεπάρκεια των φυσικών *in vivo* αναστολών της πήξεως που εμφανώς οδηγούν σε VTE εμφανίζονται με μικρή συχνότητα στο γενικό πληθυσμό.

Ως εκ τούτου τα αποτελέσματα συσχέτισης θρομβοφιλίας και επιπλοκών της κύησης θα ήταν αντικειμενικά μόνο σε μελέτες μεγαλύτερες με πληθυσμό συμμετεχόντων τουλάχιστον διπλάσιο εκείνου των μέχρι τώρα δημοσιευμένων μελετών [34].

Άλλος πιθανός λόγος απουσίας σημαντικής συσχέτισης είναι η μη αναφορά εάν οι συμμετέχουσες στις μελέτες αυτές ελάμβαναν ήδη αντιπηκτική αγωγή λόγω VTE επεισοδίου. Εξάλλου από την στατιστική ανάλυση 31 μελετών φαίνεται ότι η παρουσία των θρομβοεμβολικών γονιδίων FV Leiden και FII 20210 G → A ευθύνονται τόσο για τις πρόωρες όσο και όψιμες καθ' υποτροπή απώλειες κυήματος [35]. Επιπλέον, ορισμένες μελέτες υποστηρίζουν ότι η σοβαρή προεκλαμψία συνδέεται άμεσα με την συγγενή ή επίκτητη θρομβοφιλία [36]. Έχει επίσης παρατηρηθεί ότι σε έγκυες γυναίκες που εμφανίζουν συγγενή θρομβοφιλία και έχουν ιστορικό καθ' έξιν αποβολών, χορήγηση της κλασσικής ηπαρίνης (UFH) ή ηπαρίνης χαμηλού μοριακού βάρους (LMWH) οδηγεί σε επιτυχή έκβαση κύησης συγκριτικά με μη λήψη αντιπηκτικής αγωγής LMWH [37, 38].

Σε επίκτητη θρομβοφιλία, απόρροια αντιφωσφολιπιδικού συνδρόμου και σύμφωνα με τις διεθνείς κατευθυντήριες οδηγίες συνιστάται χορήγηση αντιθρομβωτικής αγωγής (UFH ή LMWH σε συνδυασμό με Salospir) κυρίως για την πρόληψη των καθ' έξιν αποβολών οι οποίες μειώνονται στο 25%, ενώ σε απουσία αντιθρομβωτικής αγωγής το ποσοστό επιτυχούς έκβασης της κύησης περιορίζεται στο 20% [39]. Σε κάθε περίπτωση η αντιθρομβωτική αγωγή θα πρέπει να χορηγηθεί έγκαιρα ούτως ώστε να επηρεάσει και την εμφύτευση του γονιμοποιημένου ωαρίου [40].

Συμπερασματικά γυναίκες με κληρονομική ή επίκτητη θρομβοφιλία βρίσκονται σε αυξημένο κίνδυνο να αναπτύξουν επιπλοκές της κύησης τόσο στα αρχικά στάδια όσο και στα προχωρημένα στάδια. Συνιστάται συνεπώς σε εγκύους με ιστορικό καθ' έξιν αποβολών έγκαιρη αντιθρομβωτική αγωγή σε παρουσία αντιφωσφολιπιδικού συνδρόμου. Σε γυναίκες με συγγενή θρομβοφιλία και επιπλοκές της κύησης ή σε ατυχείς IVF εμφυτεύσεις, συνιστάται η χορήγηση κυρίως αντιπηκτικής αγωγής η οποία θα πρέπει να εξατομικεύεται και να

ρυθμίζεται με τον εκάστοτε έλεγχο αντιπηξίας υπερπηκτικότητας καθώς και με τον εκάστοτε U/S εξέλιξης της κύησης.

Συμπεράσματα

- Ο έλεγχος θρομβοφιλίας σε ασυμπτωματικά άτομα με οικογενειακό ιστορικό VTE που αποβαίνει θετικός για παρουσία θρομβοφιλίας, επιτρέπει τη λήψη μέτρων και χορήγηση θρομβοπροφύλαξης σε σύνοδες καταστάσεις υπερπηκτικότητας και κατ' αυτόν τον τρόπο αποφεύγεται η εμφάνιση πρωτογενούς VTE επεισοδίου.
- Ο έλεγχος θρομβοφιλίας επιτελείται σε νέα άτομα που παρουσιάζουν υποτροπή ή εμφανίζουν VTE σε ασυνήθεις θέσεις ή έχουν οικογενειακό ιστορικό επιβαρυνόμενο με VTE.
- Σε αυτόματο VTE (χωρίς πρόκληση) δεν συνιστάται

να γίνεται έλεγχος θρομβοφιλίας καθόσον ο κίνδυνος υποτροπής VTE είναι μεγάλος και ως εκ τούτου συνιστάται χορήγηση αντιπηκτικής αγωγής χωρίς διακοπή, επί μακρόν.

- Η παρουσία συγγενούς θρομβοφιλίας δεν επηρεάζει σημαντικά την υποτροπή μετά από ένα αυτόματο VTE.
- Δεν γίνεται έλεγχος θρομβοφιλίας:
 - Α) Όταν πρωτοδιαγνώσκεται το VTE επεισόδιο
 - Β) Κατά την διάρκεια Per Os αντιπηκτικής αγωγής και κυρίως με κουμαρινικά
 - Γ) Σε φάση φλεγμονώδους αντίδρασης
- Σε μοριακό επίπεδο η θρομβοφιλία ελέγχεται ανά πάσα στιγμή
- Κατά την διάρκεια κύησης και λήψης οιστρογόνων μειώνονται τα επίπεδα της πρωτεΐνης S. ●

Σύγκρουση συμφερόντων: Καμία

Abstract

Thrombophilia is a hereditary or acquired condition which predisposes patients towards venous or arterial thrombosis.

The practice of testing thrombophilia is extended from testing selected populations towards populations with various conditions that included VTE, arterial thrombosis and pregnancy complications.

Testing for inherited thrombophilia is most often not helpful to guide clinical decisions and should not be performed on a routine basis. Specialty societies including ASH provide clinical guidance for thrombophilia testing.

Thrombophilia testing should not be performed in patients with VTE following a major provocation as extended anticoagulation is not indicated in these cases. Anticoagulation should be given however until D-Dimer levels become negative and in the absence of residual vein thrombosis and in the absence of postthrombotic symptoms. Patients with unprovoked VTE are at significantly high risk of recurrent thrombosis that anticoagulation should be continued regardless of thrombophilia status.

Thrombophilia testing should not be performed:

- During acute thrombosis
- During treatment with oral anticoagulants especially coumarins

Thrombophilia testing is not indicated in most family members of patients with VTE, since thromboprophylaxis in high risk situations and choice of contraceptive methods can be made on the basis of family history alone.

KEY WORDS

*thrombophilia,
reproduction,
genetics*

Βιβλιογραφική παραπομπή άρθρου

Μελισσάρη Ε. Γενετική μελέτη θρομβοφιλικής προδιάθεσης. *Αναπαράγωγή* 2019; 4: 25-31.

Βιβλιογραφικές παραπομπές

1. Egeberg O. Inherited antithrombin deficiency causing thrombophilia. *Thromb Diath Haemorrh* 1965;13: 516-530.
2. Griffin JH, Evatt B, Zimmerman TS, Kleiss AJ, Wideman C. Deficiency of protein C in congenital thrombotic disease. *J Clin Invest* 1981;68: 1370-1373.
3. Comp PC, Esmon CT. Recurrent venous thromboembolism in patients with a partial deficiency of protein S. *N Engl J Med* 1984;311: 1525-1528.
4. Dahlback B, Hildebrand B. Inherited resistance to activated protein C is corrected by anticoagulant cofactor activity found to be a property of factor V. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994;91: 1396-1400.
5. Poort SR, Rosendaal FR, Reitsma P, Bertina RM. A common genetic variation in the 3 untranslated region of the prothrombin gene is associated with elevated plasma prothrombin levels and an increase in venous thrombosis. *Blood* 1996;88: 3698-3703.
6. Gohil R, Peck G, Sharma P. The genetics of venous thromboembolism. A meta-analysis involving approximately 120.000 cases and 180.000 controls. *Thromb Haemost* 2009;102(2): 360-370.
7. Myers B., Pavord S. Diagnosis and management of antiphospholipidic syndrome in pregnancy. *Obstet. Gynaecol* 2011;13: 15-21.
8. Lopez-Pedraza C, Barbarroja N, Patino-Tries AM, Collantes E, Aquire MA, Perez-Sanchez C. New Biomarkers for Atherothrombosis in Antiphospholipidic syndrome. *Genomics and Epigenetics Approaches. Front Immunol* 2019; 10: 764-769.
9. Heit JA. The epidemiology of venous thrombolism in the community. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2008;28: 370-372.
10. Van Hylclama Vlieg A, van der Linden IK, Bertina RM, Rosendaal FR. High levels of factor IX increase the risk of venous thrombosis. *Blood* 2000;95(12): 3678-3682.
11. Bank I, Libourel EJ, Middledrop S, et al. Elevated levels of FVIII:C within families are associated with an increase risk for venous and arterial thrombosis. *J Thromb Haemost* 2005;3(1): 79-84.
12. Meijers JC, Tekelenburg WL, Bouma BN, Bertina RM, Rosendaal FR. High levels of coagulation factor XI as a risk factor for venous thrombosis. *N Engl J Med* 2000;342(10): 696-701.
13. Martini CH, BrandtsA, de Bruijine ELE, et al. The effect of genetic variants in the thrombin activatable fibrinolysis inhibitor (TAFI) gene on TAFI-antigen levels, clot lysis time and the risk of venous thrombosis. *Br J Haematol* 2006;134(1): 92-94.
14. Kearon C, Akl E. Duration of anticoagulant therapy for deep vein thrombosis and pulmonary embolism. *Blood* 2014;123: 1794-1801.
15. Kearon C, Akl EA, Comerota Aj, et al. Antithrombotic therapy for VTE disease. *Chest* 2012;141:e419S-e494S.
16. Coppens M, Reijnders J, Middeldorp S, Doggen CJ, Rosendaal FR. Testing for inherited thrombophilia does not reduce the recurrence of venous thrombosis. *J Thromb Haemost* 2008;6: 1474-1477.
17. Boutitie F, Pinede L, Schulman S, et al. Influence of preceding length of anticoagulant treatment and initial presentation of venous thromboembolism on risk of recurrence after stopping treatment: Analysis of individual participants' data from seven trials. *BMJ* 2011;342: d3036.
18. Kearon C, Akl EA, Orrietas J, et al. Antithrombotic therapy for VTE disease: CHEST guideline and expert panel report. *Chest*.2016;149(2): 315-352.
19. Ho WK, Hankey GJ, Quinlan DJ, Eikelboom JW. Risk of recurrent venous thromboembolism in patients with common thrombophilia: A systematic review. *Arch Intern Med* 2006;166 (7): 729-736.
20. Segal JB, Brotman DJ, NEcochea AJ, et al. Predictive value of factor V Leiden and prothrombin G20210A in adults with venous thromboembolism and in family members of those with a mutation at systemic review. *JAMA* 2009;301(23): 2472-2482.
21. Lijfering WM, Brouwer JL, Veeger NJGM, et al. Selective testing for thrombophilia in patients with first venous thrombosis: Results from a retrospective family cohort study on absolute thrombotic risk for currently known thrombophilic defects in 2479 relatives. *Blood* 2009;113(21): 5314-5322.
22. Simioni P, Sanson BJ, Prandoni P, et al. Incidence of venous thromboembolism in families with inherited thrombophilia. *Thromb Haemost* 1999;81(2): 198-202.
23. Bucciarelli P, Rosendaal FR, Tripodi A, et al. Risk of venous thromboembolism and clinical manifestations in carriers of antithrombin protein C, protein S deficiency, or activated protein C resistance: A multicenter collaborative family study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999;19(4): 1026-1033.
24. Couturaud F, Kearon C, Leroyer C, et al. Groupe d' Étude de la Thrombose de Bretagne Occiden-

- tale (G.E.T.B.O). Incidence of venous thromboembolism in first-degree relatives of patients with venous thromboembolism who have factor V Leiden. *Thromb Haemost* 2006;96(6): 744-749.
25. Middeldorp S, Meinardi JR, Koopman MM, et al. A prospective study of asymptomatic carriers of the factor V Leiden mutation to determine the incidence of venous thromboembolism. *Ann Intern Med* 2001;135(5): 322-327.
 26. Sanson BJ, Friederich PW, Simioni P, et al. The risk of abortion and stillbirth in antithrombin-, protein C-, and protein S-deficient women. *Thromb Haemost* 1996;75(3): 387-388.
 27. Meinardi JR, Middeldorp S, de Kam PJ, et al. Increased risk for fetal loss in carriers of the factor V Leiden mutation. *Ann Intern Med* 1999;130(9): 736-739.
 28. Bates SM, Greer IA, Middeldorp S, Veenstra DL, Prabulos AM, Vandvik PO; American College of Chest Physicians. VTE thrombophilia, antithrombotic therapy and pregnancy: Antithrombotic Therapy and Prevention of Thrombosis 9th ed. American College of Chest Physicians Evidence Based Clinical Practice Guidelines. *Chest*.2012;141(2 Suppl): e691S-736S.
 29. Skeith L, Carrier M, KaajaR, Martinelli I, Petroff D, Schleubner E, Laskin CA, Rodger MA. A meta-analysis of low-molecular-weight heparin to prevent pregnancy loss in women with inherited thrombophilia. *Blood* 2016;127(13): 1650-1655.
 30. James Ah, Jamison MG, Brancazio LR, Myers ER. Venous thromboembolism during pregnancy and the postpartum period: Incidence, risk, factors and mortality. *Am J Obstet Gynecol* 2006;194: 1311-1315.
 31. Rodger M.A, Betancourt M T, Clark P, Lindqvist PG, Dizon-Townson D, Said J, Seligsohn U, Carrier M, Salomon O, Greer IA. The association of factor. V Leiden and prothrombin gene mutation and placenta-mediated pregnancy complications: A systematic review and meta-analysis of prospective cohort studies. *PLoS Med* 2010;7:e1000292.
 32. Lykke JA, Bare LA, Olsen J, Lagier R, Arellano AR, Tong C, Paidas MJ, Langhoff-Roos J. Thrombophilias and adverse pregnancy outcomes: Results from the Danish National Birth Cohort. *J. Thromb. Haemost* 2012;10: 1320-1325.
 33. Robertson L, Wu O, Langhorne P, Twaddle S, Clark P, Lowe GD, Walker ID, Greaves M, Brenkel I, Regan L, et al. Thrombophilia in pregnancy: A systematic review. *Br. J. Haematol* 2006;132: 171-196.
 34. Rodger MA, Walker MC, Smith GN, Wells PS, Ramsay T, Langlois NJ, Carson N, Carrier M, Rennicks White R, Shachkina S, et al. Is thrombophilia associated with placenta-mediated pregnancy complications? A prospective cohort study. *J. Thromb. Haemost* 2014;12: 469-478.
 35. Rey E, Kahn SR, David M, Shrier I. Thrombophilic disorders and fetal loss: a meta-analysis. *The Lancet* 2003;361: 901-908.
 36. Dizon-Townson DS, Nelson LM, Easton K, Ward K. The factor V Leiden mutation may predispose women to severe preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 1996, 175: 902-905.
 37. Melissari E, Parker CJ, Wilson NV, Monte G, Kanthou C, Pemberton KD, et al. *Thromb. Haemost* 1992;68: 652-656.
 38. Carp H, Dolizky M, Inbal A. Thromboprophylaxis improves the live birth rate in women with consecutive recurrent miscarriages and hereditary thrombophilia. *Journal of Thrombosis and Haemostasis* 2003;1: 433-438.
 39. Laskin CA, Spitzer KA, Clark CA, Crowther MR, Ginsberg IS, Hawker GA, Kingdom JC, Barrett J, Gent M. Low molecular weight heparin and aspirin for recurrent pregnancy loss results from the randomized controlled HepASA Trial. *Journal of Rheumatology* 2009;36: 279-287.
 40. Nelson SM, Greer I.A. The potential role of heparin in assisted conception. *Human Reproduction Update* 2008;14: 623-645.

Περιοδοντίτιδα και υπογονιμότητα

Μέρος Β': Ο ανδρικός παράγοντας

Αικατερίνη Παππά¹, Αγνή Πάντου²

1. Οδοντίατρος, BDS, M.Sc., cPh.D.

2. Ειδ. Ιατρός Μαιευτικής Γυναικολογίας, Νοσοκομείο ΑΛΕΞΑΝΔΡΑΣ, Κλινική ΓΕΝΕΣΙΣ ΑΘΗΝΩΝ

Ελληνική περίληψη

Η στοματική υγεία έχει κερδίζει μεγάλο ενδιαφέρον τα τελευταία χρόνια καθώς εκτός από την σημασία της για την καλή υγεία του στόματος και των δοντιών και την όσο το δυνατόν μακροχρόνια διατήρησή τους στη στοματική κοιλότητα, έχει συσχετιστεί με σχεδόν όλες τις καταστάσεις ασθένειας του οργανισμού, όπως για παράδειγμα, τα αναπνευστικά, τα καρδιαγγειακά νοσήματα, τον σακχαρώδη διαβήτη τη νόσο του Alzheimer και τις δυσμενείς εκβάσεις της κύησης. Πρόσφατα έχει αρχίσει να διερευνάται ο πιθανός ρόλος της περιοδοντικής νόσου στην υπογονιμότητα τόσο στην γυναίκα όσο και στον άνδρα. Η υπογονιμότητα επηρεάζει περίπου το 15% των ζευγαριών παγκοσμίως και μπορεί να οφείλεται σε πολλούς παράγοντες όπως παράγοντες που σχετίζονται με ανατομικούς παράγοντες, ορμονικούς παράγοντες, την ωορρηξία ή τον ανδρικό παράγοντα. Περίπου το 30% των περιπτώσεων υπογονιμότητας είναι ανεξήγητες. Μέχρι σήμερα οι σχετικές μελέτες είναι ελάχιστες και κατά συνέπεια λίγα είναι γνωστά σχετικά με την επίδραση της περιοδοντικής νόσου στην αναπαραγωγή, ενώ εξακολουθούν να προκύπτουν δεδομένα από όλο και περισσότερες μελέτες, τα οποία υποστηρίζουν τη σχέση μεταξύ περιοδοντίτιδας και υπογονιμότητας. Στην παρούσα βιβλιογραφική ανασκόπηση θα αναφερθούμε στις υπάρχουσες μελέτες και στα αποτελέσματά τους. Επίσης, θα αναφερθούμε στους μηχανισμούς που προτείνουν ότι ισχύουν, προκειμένου να εξηγήσουν το ρόλο της περιοδοντικής νόσου στην υπογονιμότητα.

ΛΞΕΙΣ-ΕΥΡΕΤΗΡΙΟΥ

περιοδοντίτιδα,
υπογονιμότητα,
χρόνια σύλληψη,
χρόνια φλεγμονή,
φλεγμονώδεις
μεσολαβητές

Περιοδοντική νόσος και ανδρικός παράγοντας υπογονιμότητας

Ο εκτιμώμενος επιπολασμός της υπογονιμότητας μεταξύ των ζευγαριών της αναπαραγωγικής ηλικίας είναι 15% (Juul, et al. 1999). Σχετικά σύγχρονες μελέτες που ερευνούν την υπογονιμότητα στον άνθρωπο υποδεικνύουν ότι τουλάχιστον το 40% έως 50% των περιπτώσεων υπογονιμότητας συνδέονται με τον ανδρικό παράγοντα (male factor infertility, MFI) (Agarwal, et al. 2015,

Kumar & Singh, 2015). Αν και η αιτιολογία της ανδρικής υπογονιμότητας έχει διερευνηθεί εκτενώς, ένα 25% των περιπτώσεων είναι ιδιοπαθείς (Jung & Seo, 2014).

Ο ανδρικός παράγοντας υπογονιμότητας ορίζεται ως οι μεταβολές στη μορφολογία του σπέρματος, τη συγκέντρωση και / ή την κινητικότητα των σπερματοζωαρίων σε δείγμα σπέρματος μετά από τουλάχιστον δύο αναλύσεις, το οποίο συλλέγεται μεταξύ 1 και 4 εβδομάδων (Azenabor, et al. 2015).



Υπεύθυνη αλληλογραφίας:

Αικατερίνη Παππά

ΓΕΝΕΣΙΣ ΑΘΗΝΩΝ: Παπανικολή 14-16, Χαλάνδρι, 15232 - Τηλ.: 210 6894326, Fax: 210 6890897

E-mail: krapasdent@gmail.com

Η αιτιολογία του ανδρικού παράγοντα υπογονιμότητας θεωρείται πολυπαραγοντική και πολλοί παράγοντες κινδύνου έχουν συσχετιστεί με αυτή την κατάσταση. Οι παράγοντες αυτοί περιλαμβάνουν τη βακτηριοσπερμία, τα αυξημένα επίπεδα των δραστικών ειδών οξυγόνου, τις ουρογεννητικές λοιμώξεις, τα ανοσολογικά και τα ενδοκρινολογικά νοσήματα, περιβαλλοντικούς παράγοντες και γενετικές διαταραχές (Azenabor, et al. 2015, Ko, et al. 2014, Kovac, et al. 2015, Ould Hamouda, et al. 2016, Vilvanathan, et al. 2016). Ωστόσο, στις μισές των περιπτώσεων η αιτιολογία του ανδρικού παράγοντα υπογονιμότητας παραμένει ανεξήγητη (Guzick, et al. 2001).

Ένας περιορισμένος αριθμός ερευνών έχουν διαπιστώσει ότι ο ανδρικός παράγοντας υπογονιμότητας συνδέεται με την φτωχή στοματική υγιεινή και την περιοδοντική νόσο (Bieniek & Riedel, 1989, 1993; Bustos-Obregon, et al. 1983, Ensslen, et al. 1990, Klinger, et al. 2011, Nwhator, Umeizudike, et al. 2014, Zhu, et al. 2010). Σε μία σχετικά πρόσφατη συστηματική βιβλιογραφική ανασκόπηση από τους Kellesarian, et al. (2016), οι ερευνητές αξιολόγησαν τη σχέση μεταξύ της κατάστασης της οδοντιατρικής υγείας των ανδρών και του ανδρικού παράγοντα υπογονιμότητας. Στην ανασκόπηση συμπεριέλαβαν 7 μελέτες που πληρούσαν τα κριτήρια ενσωμάτωσης. Όλες οι μελέτες ανέφεραν θετική σχέση μεταξύ του ανδρικού παράγοντα και της οδοντιατρικής υγείας. Ο αριθμός των συμμετεχόντων στη μελέτη κυμαίνονταν μεταξύ 18 και 360 ατόμων. Τα αποτελέσματα από 6 μελέτες έδειξαν θετική συσχέτιση μεταξύ της χρόνιας περιοδοντίτιδας και του ανδρικού παράγοντα. Σε 3 μελέτες ανέφερθηκε θετική σχέση μεταξύ του ανδρικού παράγοντα και των οδοντογενών λοιμώξεων που σχετίζονται με νεκρωτικό πολφό, χρόνια ακρορριζική οστεϊτίδα και τις ριζικές κύστεις. Η ακρορριζική οστεϊτίδα είναι μία φλεγμονή του ακρορριζίου. Οι οστεοβλάστες δραστηριοποιούνται σε μεγαλύτερο βαθμό, σε σχέση με τους οστεοκλάστες, αλλά και σε σχέση με τους φυσιολογικούς ρυθμούς, με άμεση συνέπεια την μεγαλύτερη παραγωγή οστίτη ιστού, και τη χαμηλή έως μηδαμινή επαναδιάταξή του και φυσιολογική απορρόφηση. Μία μελέτη ανέφερε σχέση μεταξύ του δείκτη τερηδόνας και του ανδρικού παράγοντα.

A. Περιοδοντική νόσος και παράμετροι σπέρματος

Οι Linossier, et al. (1982) έδειξαν ότι είναι δυνατόν να προκύψει ακινητοποίηση του σπέρματος με παράγοντα ακινητοποίησης σπερματοζωαρίων από *Escherichia coli*, που είχε ληφθεί από νεκρωτικό οδοντικό πολφό.

Οι Bieniek, et al. (1989) αξιολόγησαν αναλύσεις σπέρ-

ματος που είχαν συλλεγεί από υποψηφίους για IVF και ανίχνευσε 36 άνδρες με βακτηριοσπερμία ανθεκτική στη θεραπεία με αντιβιοτικά. Περαιτέρω εξετάσεις αποκάλυψαν εστίες στοματικών μικροβίων με μικροβιακό φάσμα παρόμοιο με αυτό της βακτηριοσπερμίας. Η θεραπεία της στοματικής λοίμωξης βελτίωσε τις παραμέτρους γονιμότητας του σπέρματος. Με βάση τα αποτελέσματα αυτά, οι Bieniek, et al. (1989) πρότειναν την ύπαρξη σχέσης μεταξύ της υγιεινής του στόματος και της βακτηριοσπερμίας και της επακόλουθης ανδρικής υπογονιμότητας.

Επιπλέον, οι Bieniek, et al. (1993) έδειξαν υψηλή συχνότητα εμφάνισης εστιών στοματικών μικροβίων στο σπέρμα των υπογόνιμων ανδρών. Έξι μήνες μετά την οδοντιατρική θεραπεία επαναλήφθηκε η ανάλυση σπερμοδιαγράμματος και διαπιστώθηκε ότι τα 2/3 των δειγμάτων σπέρματος ήταν στείρα μικροβίων ενώ είχε επέλθει σημαντική βελτίωση στην κινητικότητα, τη μορφολογία και την πυκνότητα του σπέρματος. Οι Bieniek, et al. (1993) ανέφεραν ότι υπάρχει σχέση μεταξύ των μικροβιακών αποικιών και της ανθεκτικής στη θεραπεία βακτηριοσπερμίας, η οποία θα μπορούσε είναι η κύρια αιτία της υπογονιμότητας (Ensslen, et al. 1989).

Αρκετά χρόνια αργότερα, οι Klinger, et al. (2011) αξιολόγησαν τη σχέση μεταξύ της υπογονιμότητας και της περιοδοντικής νόσου και κατέδειξαν θετική σχέση μεταξύ των περιοδοντικών θυλάκων μεγάλου βάθους και της υποκινητικότητας του σπέρματος. Σύμφωνα με τους ερευνητές, οι βακτηριοσπερμία και η παραγωγή κυτοκινών λόγω περιοδοντικής νόσου μπορεί να αυξήσει την πιθανότητα ανδρικής υπογονιμότητας μέσω αιματογενούς διασποράς.

Επίσης, στη μελέτη των Nwhator, et al. (2014) σε αναλύσεις σπέρματος από 76 άνδρες που υποβάλλονταν σε διερεύνηση υπογονιμότητας, τα αποτελέσματα ήταν ενδεικτικά της ύπαρξης θετικής συσχέτισης μεταξύ του μειωμένου αριθμού σπερματοζωαρίων και της περιοδοντίτιδας μόνο σε μία ηλικιακή ομάδα. Ωστόσο, η βρέθηκε σημαντική συσχέτιση μεταξύ της φτωχής στοματικής υγιεινής και του μειωμένου αριθμού σπερματοζωαρίων μεταξύ όλων των ηλικιακών ομάδων.

Οι Agbaje, et al. (2007) παρατήρησαν έμμεση σχέση της περιοδοντίτιδας με την υπογονιμότητα μέσω επιβάρυνσης του σακχαρώδους διαβήτη (κατά 6 φορές σε ασθενείς με περιοδοντίτιδα [Mealey & Rose 2008]). Οι ερευνητές διαπίστωσαν σημαντική μείωση στον όγκο του σπέρματος σε άτομα με διαβήτη, τα οποία θα μπορούσαν να συσχετιστούν με αυξημένη βλάβη του πυρηνικού mtDNA του σπέρματος με πιθανές δυσμενείς επιπτώσεις στην αναπαραγωγική ικανότητα των δια-

βητικών ατόμων. Φαίνεται ότι η περιοδοντίτιδα με έμμεσο τρόπο μειώνει τη γονιμότητα σε αυτή την ομάδα ασθενών, προκαλώντας φτωχό γλυκαιμικό έλεγχο.

Αντίθετα με τις παραπάνω αναφερθείσες μελέτες, οι Pásztor, et al. (2016) έδειξαν ότι η φτωχή περιοδοντική κατάσταση δεν συνδέεται με παθολογία του σπέρματος και μειωμένες παραμέτρους σε άνδρες με ιδιοπαθή υπογονιμότητα. Στη μελέτη τους συμπεριέλαβαν 95 κατά τα άλλα υγιείς άνδρες, οι οποίοι είχαν προσέλθει σε ανδρολογικό τμήμα για ανάλυση σπέρματος. Από αυτούς, το 38% είχε ολιγοσπερμία, το 28% ασθενοσπερμία, το 16% κρυπτοζωοσπερμία, και το 15% ήταν φυσιολογικοί. Οι μισοί άνδρες στην ομάδα με παθολογία σπέρματος και οι μισοί στην ομάδα των ανδρών με φυσιολογικές παραμέτρους σπέρματος (normozoospermia) είχαν φτωχή περιοδοντική κατάσταση (50,8% και 50%, αντίστοιχα)

B. Περιοδοντική νόσος και στυτική δυσλειτουργία

Σε μία μελέτη από τους Oguz, et al. (2013) προτάθηκε σημαντική σχέση μεταξύ χρόνιας περιοδοντίτιδας και στυτικής δυσλειτουργίας σε νεαρούς ενήλικες ηλικίας 30-40 ετών.

Ομοίως, οι Keller, et al. (2012) σε μία εθνική πληθυσμιακή μελέτη βρήκαν μεγαλύτερο κίνδυνο διάγνωσης χρόνιας περιοδοντίτιδας σε ασθενείς με στυτική δυσλειτουργία. Η συσχέτιση ήταν πολύ ισχυρότερη μεταξύ του πληθυσμού ηλικίας <30 ετών και > 69 ετών.

Ομοίως, και τα αποτελέσματα των Zadik, et al. (2009) ήταν ενδεικτικά συσχέτισης μεταξύ στυτικής δυσλειτουργίας και χρόνιας περιοδοντίτιδας. Τα αποτελέσματα αυτά είναι σύμφωνα με τις θεωρίες που συσχετίζουν αυτές τις δύο καταστάσεις με τη συστηματική φλεγμονή, την ενδοθηλιακή δυσλειτουργία και την αρτηριοσκλήρωση.

Σε άλλη μελέτη, οι Zuo, et al. (2011) παρατήρησαν μειωμένη έκφραση της ενδοθηλιακής συνθετάσης μονοξειδίου του αζώτου (eNOS) στον ιστό του πέους (ένας σημαντικός παράγοντας στον μηχανισμό της στύσης), σε ασθενείς με συστηματική φλεγμονή λόγω χρόνιας περιοδοντίτιδας.

Οι Eltas, et al. (2013) πραγματοποίησαν μία τυχαιοποιημένη ελεγχόμενη μελέτη προκειμένου να αξιολογήσουν το αποτέλεσμα της περιοδοντικής θεραπείας στη βελτίωση της στυτικής δυσλειτουργίας στην αρχή της μελέτης (baseline), 1 και 3 μήνες μετά την περιοδοντική θεραπεία. Τα ποτελέσματα αυτής της μελέτης έδειξαν ότι η περιοδοντική θεραπεία συνέβαλε σημαντικά στη θεραπεία της στυτικής δυσλειτουργίας.

Σε δύο άλλες μελέτες, οι Uppal, et al. (2014) και

Matsumoto, et al. (2014) έδειξαν σημαντική συσχέτιση μεταξύ της στυτικής δυσλειτουργίας και της σοβαρότητας της χρόνιας περιοδοντίτιδας. Οι Matsumoto, et al. (2014) πρότεινε ότι η στυτική δυσλειτουργία σχετίζεται με τη βλάβη που προκαλείται από ενδοθηλιακή δυσλειτουργία και τις συστηματικές φλεγμονώδεις αλλαγές, οι οποίες σχετίζονται με την χρόνια περιοδοντίτιδα.

Στη μελέτη των Eastham, et al. (2015), σημειώθηκε ότι η στοματική υγεία θα μπορούσε να είναι ένας από τους παράγοντες κινδύνου για τη σεξουαλική υγεία. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα αυτής της μελέτης, οι οδοντίατροι θα πρέπει να γνωρίζουν συνειδητά τη συσχέτιση μεταξύ της έκτασης και της βαρύτητας της χρόνιας περιοδοντικής νόσου και της στυτικής δυσλειτουργίας, της κινητικότητας του σπέρματος και του χρόνου σύλληψης.

Περιοδοντική νόσος και έκβαση κύησης

Ένας μεγάλος αριθμός μελετών συσχετίζουν μια αύξηση στα επίπεδα τοπικών και συστηματικών δεικτών φλεγμονής με δυσμενείς εκβάσεις της κύησης. Ως εκ τούτου, αυξημένα επίπεδα IL-1β, IL-6, TNF-α, PGE2, ινονεκτίνης και α-εμβρυϊκής πρωτεΐνης στο αμνιακό υγρό έχουν συσχετιστεί με πρόωρους τοκετούς, ενώ άλλοι βιοδείκτες, όπως οι MMPs, οιστριόλη, ελαστάση, πρωτεάση, φωσφολιπάση, προλακτίνη μυελοϋπεροξειδάσης και ιστικός αναστολέας της MMP (TIMP) -1 έχουν αξιολογηθεί αλλά με αμφίβολα αποτελέσματα (Inglis 1997, Gürsoy, et al. 2010). Αυξημένες προ-φλεγμονώδεις κυτοκίνες, όπως IL-1, IL-6, IL-8 και TNF-α στον ορό της μητέρας, έχουν, επίσης, αναφερθεί ότι συνδέονται με πρόωρο τοκετό ή χαμηλό σωματικό βάρος γέννησης (Greig, et al. 1997, von Minckwitz, et al. 2000, Turhan, et al. 2000, Gücer, et al. 2001, Hitti, et al. 2001). Επιπλέον, η C-αντιδρώσα πρωτεΐνη (CRP), η οποία είναι ένας παράγοντας της οξείας φάσης που συντίθεται από το ήπαρ σε απόκριση προς τις προ-φλεγμονώδεις κυτοκίνες, και ως εκ τούτου, είναι ένας δείκτης συστηματικής φλεγμονής, συνδέεται επίσης με πρόωρους τοκετούς (Pitiphat, et al. 2005). Εκτός από τον πρόωρο τοκετό, αυξημένα επίπεδα CRP έχουν δειχθεί να συνδέονται με αυξημένο κίνδυνο για άλλες επιπλοκές της κύησης, όπως ενδομήτριος περιορισμός της ανάπτυξης (IUGR) (Tjoa, et al. 2003) και προεκλαμψία (Teran, et al. 2001).

Η προεκλαμψία, επηρεάζει κυρίως την έγκυο γυναίκα αντί το έμβρυο. Εκδηλώνεται κυρίως με αυξημένη αρτηριακή πίεση και πρωτεϊνουρία της μητέρας και συνδέεται επίσης με υψηλά επίπεδα προ-φλεγμονωδών κυτοκινών (Herrera, et al. 2007). Τέλος, αυξημένα επίπεδα CRP, IL-6 και TNF-α στις γυναίκες με σακχα-

ρώδη διαβήτη της κύησης (GDM) προτείνουν ένα ρόλο της φλεγμονής στην αιτιολογία αυτής της επιπλοκή της κύησης. Είναι γνωστό ότι η IL-6 και TNF-α παρεμβαίνουν στη σηματοδότηση ινσουλίνης και είναι επίσης ανταγωνιστές της ινσουλίνης. Ως εκ τούτου, παραμένοντα αυξημένα επίπεδα IL-6 και TNF-α μπορεί να παρέμβουν στον μεταβολισμό των υδατανθράκων, και κατά συνέπεια, να προκαλέσουν δυσανεξία στη γλυκόζη που μπορεί να οδηγήσει σε σακχαρώδη διαβήτη της κύησης (Madianos, et al, 2013).

Δεν είναι μόνον ότι η περιοδοντίτιδα αποτελεί επιβαρυντικό παράγοντα στην έκβαση της κύησης, αλλά, επίσης, και η κύηση μπορεί να μεταβάλει την εξέλιξη των περιοδοντικών νοσημάτων. Οι φυσιολογικές αλλαγές που προκαλούνται κατά τη διάρκεια της κύησης μπορούν να τροποποιήσουν τη φλεγμονώδη απόκριση, επιτείνοντας την φλεγμονή των ούλων. Η ουλίτιδα της

κύησης επηρεάζει το 36-100% των εγκύων γυναικών (Carrillo- de- Albornoz, et al. 2010). Κλινικές παράμετροι, όπως η αιμορραγία των ούλων κατά την ανίχνευση και το βάθος των περιοδοντικών θυλάκων μπορεί να αυξηθούν κατά τη διάρκεια της κύησης, χωρίς ταυτόχρονη αύξηση του δείκτη πλάκας, και μειώνονται μετά τον τοκετό (Gürsoy, et al. 2008).

Οι μηχανισμοί, οι οποίοι διέπουν την αυξημένη σοβαρότητα της περιοδοντικής νόσου κατά τη διάρκεια της κύησης συνδέονται με την αυξημένη αγγειακή διαπερατότητα, την καταστολή του ανοσοποιητικού συστήματος και τις μεταβολές στη σύνθεση του υπερουλικού και του υποουλικού μικροβιώματος (Carrillo- de- Albornoz, et al. 2010). ●

Σύγκρουση συμφερόντων: Καμία

Abstract

Oral health has gained much interest in recent years as in addition to its importance for good oral and dental health and their long-term maintenance of the teeth in the oral cavity, it has been associated with virtually all situations of disease of the body, such as for example, respiratory, cardiovascular disease, diabetes mellitus, Alzheimer's disease and the adverse outcomes of pregnancy. Recently, the possible role of periodontal disease in infertility in both women and men has begun to be explored. Infertility affects about 15% of couples worldwide and may be due to many factors such as factors related to anatomical factors, hormonal factors, ovulation or male factor. About 30% of infertility cases are unexplained. To date, few studies are available and therefore little is known about the impact of periodontal disease on reproduction, while data from more and more studies supporting the relationship between periodontitis and infertility are still emerging. In this review we will refer to the existing studies and their results. We will also refer to the mechanisms that they propose to apply in order to explain the role of periodontal disease in infertility.

KEY WORDS

periodontitis; infertility; time-to-conception; chronic inflammation; inflammatory mediators

Βιβλιογραφική παραπομπή άρθρου

Παππά Α, Πάντου Α. Περιοδοντίτιδα και Υπογονιμότητα - Μέρος Β': Ο ανδρικός παράγοντα. Αναπαγωγή 2019; 4: 32-45.

Βιβλιογραφικές παραπομπές

1. Aas, J. A., Paster, B. J., Stokes, L. N., Olsen, I. & Dewhirst, F. E. Defining the normal bacterial flora of the oral cavity. *Journal of Clinical Microbiology* 2005; 43: 5721-5732.
2. Adler L, Modin C, Friskopp J, Jansson L. Relationship between smoking and periodontal probing pocket depth profile. *Swed Dent J.* 2008; 32(4): 157-63.
3. Albadar JM, Rams TE. Global epidemiology of periodontal diseases: An overview. *Periodontol* 2000; 29: 7-10 (2002).
4. Alviggi C, Carrieri PB, Pivonello R, Scarano V, Pezzella M, De Placido G, et al. Association of pelvic endometriosis with alopecia universalis, autoimmune thyroiditis and multiple sclerosis. *J Endocrinol Invest* 2006; 29:182-9.
5. Amar S, Han X. The impact of periodontal infection on systemic diseases. *Medical Science Monitor* 2003; 9(12): 291-299.
6. Anovazzi G, Kim YJ, Viana AC, Curtis KM, Orrico SR, Cirelli JA, Scarel-Caminaga RM. Polymorphisms and haplotypes in the interleukin-4 gene are associated with chronic periodontitis in a Brazilian population. *J Periodontol* 2010;81: 392-402.
7. Arce RM, Barros SP, Wacker B, Peters B, Moss K, et al. Increased TLR4 expression in murine placentas after oral infection with periodontal pathogens. *Placenta* 2009; 30: 156-162.
8. Arendorf TM, Walker DM. The prevalence and intra-oral distribution of *Candida albicans* in man. *Arch Oral Biol* 1980; 25: 1-10.
9. Armitage CG. Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. *Ann Periodontol* 1999; 4: 1-6.
10. Asikainen S, Alaluusua S, Kari K, et al. Subgingival microflora and periodontal conditions in healthy teenagers. *J Periodontol* 1986; 57: 505-509.
11. Asikainen S, Lai C-H, Alaluusua S, et al. Distribution of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* serotypes in periodontal health and disease. *Oral Microbiol Immunol* 1991; 6: 115-118.
12. Azenabor A, Ekun AO, Akinloye O. Impact of inflammation on male reproductive tract. *Journal of Reproduction & Infertility* 2015; 16(3): 123-129.
13. Bailit HL, Baldwin DC, Hunt Jr EE. The increasing prevalence of gingival *Bacteroides rnelaninogenicus* with age in children. *Arch Oral Biol* 1964; 9: 435-438.
14. Baker VL, Luke B, Brown MB, Alvero R, Frattarello JL, Usadi R, Grainger DA, Armstrong AY. Multivariate analysis of factors affecting probability of pregnancy and live birth with *in vitro* fertilization: An analysis of the Society for Assisted Reproductive Technology Clinic Outcomes Reporting System. *Fertil Steril* 2010; 94: 1410-1416.
15. Barksby HE, Nile CJ, Jaedicke KM, et al. Differential expression of immunoregulatory genes in monocytes in response to *Porphyromonas gingivalis* and *Escherichia coli* lipopolysaccharide. *Clin Exp Immunol* 2009; 156(3): 479-87.
16. Barnhart K, Dunsmoor-Su R, Coutifaris C. Effect of endometriosis on *in vitro* fertilization. *Fertil Steril* 2002; 77: 1148-1155.
17. Barr-Agholme M, Dahllof G, Linder L, et al. *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Capnocytophaga*, and *Porphyromonas gingivalis* in subgingival plaque of adolescents with Down's syndrome. *Oral Microbiol Immunol* 1992; 7: 244-248.
18. Bartold PM, Walsh LJ, Narayanan AS: Molecular and cell biology of the gingiva. *Periodontol* 2000; 24: 28-55.
19. Bartold, P.M. and Narayanan, A.S. (2006) Molecular and cell biology of healthy and diseased periodontal tissues. *Periodontology* 2000; 40: 29-49.
20. Bascones, A. et al. Tissue destruction in periodontitis: Bacteria or cytokines fault? *Quintessence International* 2005; 36: 299-306
21. Beck JD, Offenbacher S. Systemic effects of periodontitis: Epidemiology of periodontal disease and cardiovascular disease. *J Periodontol* 2005; 76 (11 Suppl.): 2089-100.
22. Bellingan G. Inflammatory cell activation in sepsis. *Br Med Bull* 1999; 55: 12-29.
23. Bowden GH, Hardie JM, Slack GL. Microbial variations in approximal dental plaque. *Caries Res* 1975; 9: 253-277.
24. Brex M. Histophysiology and histopathology of the gingiva. *J West Soc Periodontol Periodontol Abstr* 1991;39(2): 33-8.
25. Brook I, Foote PA, Slots J: Immune response to *Fusobacterium nucleatum*, *Prevotella intermedia* and other anaerobes in children with acute tonsillitis. *J Antimicrob Chemother* 1997; 39:763.

26. Brown CM, Hancock EB, O'Leary TJ, et al. A microbiological comparison of young adults based on relative amounts of subgingival calculus. *J Periodontol* 1991; 62: 591-597.
27. Brown LR, Dreizen S, Handler S, et al. Effect of radiation-induced xerostomia on human oral microflora. *J Dent Res* 1975; 54: 740-750.
28. Brown LR, Mackler BE, Levy BM, et al. Comparison of the plaque microflora in immunodeficient and immunocompetent dental patients. *J Dent Res* 1979; 58: 2344-2352.
29. Brown, L.J., Brunelle, J.A., Kingman, A. Periodontal status in the United States, 1988-91: Prevalence, extent, and demographic variation. *J Dent Res* 1996; 75: 672-683.
30. Camejo MI, Segnini A, Proverbio F. Interleukin-6 (IL-6) in seminal plasma of infertile men, and lipid peroxidation of their sperm. *Arch Androl* 2001; 47: 97-101.
31. Cao CF, Aeppli DM, Liljemark WF, et al. Comparison of plaque microflora between Chinese and Caucasian population groups. *J Clin Periodontol* 1990; 17: 115-118.
32. Cao Z, Li C, Xiang J. Effect of matrix metalloproteinase-1 promoter genotype on interleukin-1beta-induced matrix metalloproteinase-1 production in human periodontal ligament cells. *J Periodontol Res* 2010; 45: 109-115.
33. Carlsson J, Gothefors L. Transmission of *Lactobacillus jensenii* and *Lactobacillus acidophilus* from mother to child at the time of delivery. *J Clin Microbiol* 1975; 1: 124-128.
34. Carlsson J, Grahnen H, Jonsson G: Lactobacilli and streptococci in the mouth of children. *Caries Res* 1975; 9: 333.
35. Caufeld PW, Dasanayake AP, Li Y, et al. Natural history of *Streptococcus sanguinis* in the oral cavity of infants: Evidence for a discrete window of infectivity. *Infect Immun* 2000; 68: 4018.
36. Chai L, Song YQ, Zee KY, Leung WK. Single nucleotide polymorphisms of complement component 5 and periodontitis. *J Periodontol Res* 2010a; 45: 301-308.
37. Chai L, Song YQ, Zee KY, Leung WK. SNPs of Fc-gamma receptor genes and chronic periodontitis. *J Dent Res* 2010b; 89: 705-710.
38. Chang KM, Ramamurthy NS, McNamara TF, Genco RJ, Golub LM. Infection with a gram-negative organism stimulates gingival collagenase production in nondiabetic and diabetic germfree rats. *Journal of periodontal research* 1988; 23: 239-244.
39. Colombo AP, Boches SK, Cotton SL, Goodson JM, Kent R, Haffajee AD, et al. Comparisons of subgingival microbial profiles of refractory periodontitis, severe periodontitis, and periodontal health using the human oral microbe identification microarray. *J Periodontol* 2009;80: 1421-32.
40. Contreras A, Slots J. Herpesviruses in human periodontal disease. *J Periodontol Res* 2000; 35:3.
41. Couper KN, Blount DG, Riley EM. IL-10: The master regulator of immunity to infection. *J Immunol* 2008; 180: 5771-5777.
42. Craandijk J, van Krugten MV, Verweij CL, van der Velden U, Loos BG. Tumor necrosis factor-alpha gene polymorphisms in relation to periodontitis. *J Clin Periodontol* 2002; 29: 28-34.
43. Cullinan MP, Ford PJ, Seymour GJ. Periodontal disease and systemic health: current status. *Australian Dental Journal* 2009; 54(1): 62-69.
44. D'Aiuto F, Parkar M, Andreou G, Suvan J, Brett PM, Ready D, et al. Periodontitis and systemic inflammation: control of the local infection is associated with a reduction in serum inflammatory markers. *J Dent Res* 2004; 83(2): 156-160.
45. D'Aiuto F, Graziani F, Tete S, Gabriele M, Tonetti MS. Periodontitis: From local infection to systemic diseases. *Int J Immunopathol Pharmacol* 2005; 18: 1-12.
46. de Aquino SG, Guimaraes MR, Stach-Machado DR, da Silva JA, Spolidorio LC, Rossa C Jr. Differential regulation of MMP-13 expression in two models of experimentally induced periodontal disease in rats. *Arch Oral Biol* 2009 Jul; 54(7): 609-617.
47. De Araújo WC, Macdonald JB. The gingival crevice microbiota of preschool children. *J Periodontol* 1964; 35: 285-289.
48. Delaney JE, Kornman KS. Microbiology of subgingival plaque from children with localized prepubertal periodontitis. *Oral Microbiol Immunol* 1987; 2: 71-76.
49. Dinarello CA. Interleukin-1, interleukin-1 receptors and interleukin-1 receptor antagonist. *Int Rev Immunol* 1998; 16: 457-499.
50. Dominguez-Bello MG, Costello EK, Contreras M, et al. Delivery mode shapes the acquisition and structure of the initial microbiota across multiple body habitats in newborns. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2010; 107: 11971.
51. Donesky BW, Dias de Moura M, Tedeschi C, Hurwitz A, Adashi EY, et al. Interleukin-1beta inhib-



- its steroidogenic bioactivity in cultured rat ovarian granulosa cells by stimulation of progesterone degradation and inhibition of estrogen formation. *Biol Reprod* 1998; 58: 1108-1116.
52. Dzink JL, Socransky SS, Haffajee AD. The predominant cultivable microbiota of active and inactive lesions of destructive periodontal diseases. *J Clin Periodontol* 1988; 15: 316-323.
 53. Eke P, Barker L. Prevalence of Periodontal Disease in the United States: NHANES 1999-2004. Abstr. #1843. IADR, 2007.
 54. Ellen RP Establishment and distribution of *Actinomyces viscosus* and *Actinomyces naeslundii* in the human oral cavity. *Infect Immun* 1976; 14: 1119-1124.
 55. Fassmann A, Holla LI, Buckova D, Vasku A, Znojil V, Vanek J. Polymorphisms in the +252(A/G) lymphotoxin-alpha and the -308(A/G) tumor necrosis factor-alpha genes and susceptibility to chronic periodontitis in a Czech population. *J Periodontol Res* 2003; 38: 394-399.
 56. Feinberg EC, Larsen FW, Catherino WH, Zhang J, Armstrong AY. Comparison of assisted reproductive technology utilization and outcomes between Caucasian and African American patients in an equal-access-to-care setting. *Fertil Steril* 2006; 85: 888-894.
 57. Flemmig TF. Periodontitis. *Ann Periodontol* 1999; 4: 32-37.
 58. Fogacci MF, Barbirato DS, Amaral CS, da Silva PG, Coelho Mde O, et al. No Association Between Periodontitis, Preterm Birth or Intrauterine Growth Restriction: Experimental Study in Wistar Rats. *Am J Obstet Gynecol* 2016; 214: 749.e1-749.e11.
 59. Folwaczny M, Glas J, Torok HP, Fricke K, Folwaczny C. Prevalence of the chemokine receptor CCR5-Delta32 gene mutation in periodontal disease. *Clin Immunol* 2003; 109: 325-329.
 60. Folwaczny M, Glas J, Torok HP, Fricke K, Folwaczny C. The CD14 -159C-to-T promoter polymorphism in periodontal disease. *J Clin Periodontol* 2004a; 31: 991-995.
 61. Folwaczny M, Glas J, Torok HP, Limbersky O, Folwaczny C. Toll-like receptor (TLR) 2 and 4 mutations in periodontal disease. *Clin Exp Immunol* 2004b; 135: 330-335.
 62. Folwaczny M, Glas J, Torok HP, Mauermann D, Folwaczny C. The 3020insC mutation of the NOD2/CARD15 gene in patients with periodontal disease. *Eur J Oral Sci* 2004c; 112: 316-319.
 63. Folwaczny M, Glas J, Torok HP, Mende M, Folwaczny C. Lack of association between the TNF alpha G -308 A promoter polymorphism and periodontal disease. *J Clin Periodontol* 2004d; 31: 449-453.
 64. Folwaczny M, Manolis V, Markus C, Glas J. Variants of the human PPARG locus and the susceptibility to chronic periodontitis. *Innate Immun* 2011; 17: 541-547.
 65. Franczak A, Zmijewska A, Kurowicka B, Wojciechowicz B, Petroff BK, et al. The effect of tumor necrosis factor alpha (TNFalpha), interleukin 1beta (IL1beta) and interleukin 6 (IL6) on endometrial PGF2alpha synthesis, metabolism and release in early-pregnant pigs. *Theriogenology* 2012; 77: 155-165.
 66. Fraser ID, Germain RN: Navigating the network: Signaling cross-talk in hematopoietic cells. *Nat Immunol* 2009; 10:327-331.
 67. Friskin Kw, Tagg Jr, Laws AJ et al. Suspected periodontopathic microorganisms and their oral habitats in young children. *Oral Microbiol Immunol* 1987; 2: 60-64.
 68. Fujimoto VY, Luke B, Brown MB, Jain T, Armstrong A, Grainger DA, Hornstein MD. Racial and ethnic disparities in assisted reproductive technology outcomes in the United States. *Fertil Steril* 2010; 93: 382-390.
 69. Gaffen, S. L. and Hajishengallis, G. A new inflammatory cytokine on the block: Rethinking periodontal disease and the Th1/Th2 paradigm in the context of Th17 cells and IL-17. *Journal of dental research* 2008; 87(9): 817-828.
 70. Galbraith GM, Steed RB, Sanders JJ, Pandey JP. Tumor necrosis factor alpha production by oral leukocytes: Influence of tumor necrosis factor genotype. *J Periodontol* 1998; 69: 428-433.
 71. Galili D, Donitza A, Garfunkel A et al. Gram-negative enteric bacteria in the oral cavity of leukemia patients. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1992; 74: 459-462.
 72. Garlet GP, Cardoso CR, Silva TA, et al. Cytokine pattern determines the progression of experimental periodontal disease induced by *Actinobacillus actinomycetemcomitans* through the modulation of MMPs, RANKL, and their physiological inhibitors. *Oral Microbiol Immunol* 2006; 21(1): 12-20.
 73. Garlet GP, Martins W, Ferreira BR, Milanezi CM, Silva JS. Patterns of chemokines and chemokine receptors expression in different forms of human

- periodontal disease. *Journal of periodontal research* 2003; 38: 210-217.
74. Garlet, G.P. Destructive and protective roles of cytokines in periodontitis: A re-appraisal from host defense and tissue destruction viewpoints. *Journal of Dental Research* 2010; 89, 1349-1363
 75. Gemmell, E. et al. P. gingivalis-specific T-cell lines produce Th1 and Th2 cytokines. *Journal of dental research* 2002a; 81(5): 303-307.
 76. Genco RJ, Löe H. The role of systemic conditions and disorders in periodontal disease. *Periodontol* 2000. 1993; 2: 98-116.
 77. Gibbs RS. The relationship between infections and adverse pregnancy outcomes: An overview. *Ann Periodontol* 2001; 6:153-163.
 78. Gibson GR, Roberfroid MB: Dietary modulation of the human colonic microbiota: Introducing the concept of prebiotics. *J Nutr* 1995; 125: 1401.
 79. Goepfert AR, Jeffcoat MK, Andrews WW, Faye-Petersen O, Cliver SP, Goldenberg RL, et al. Periodontal disease and upper genital tract inflammation in early spontaneous preterm birth. *Obstet Gynecol* 2004; 104: 777-783.
 80. Goldenberg RL, Culhane JF. Preterm birth and periodontal disease. *N Engl J Med* 2006; 355: 1925-1927.
 81. Graves D. Cytokines that promote periodontal tissue destruction. *J Periodontol* 2008; 79: 1585-1591.
 82. Graves DT, Cochran D. The contribution of interleukin-1 and tumor necrosis factor to periodontal tissue destruction. *J Periodontol* 2003; 74(3): 391-401.
 83. Gu Y., and Ryan M.E. Overview of Periodontal Disease: Causes, Pathogenesis, and Characteristics. Chapter 2, In: *Periodontal Disease and Overall Health: A Clinician's Guide.*, by Genco R.J. and Williams R.C. (eds), Professional Audience Communications, Inc, Yardley, Pennsylvania, USA, ISBN-13: 978-0-6152-8508-5, ISBN-10: 0-6152-8508-2
 84. Haffajee AD, Socransky SS. Microbial etiological agents of destructive periodontal diseases. *Periodontol* 2000 1994; 5: 78-111.
 85. Hart R. Periodontal disease: could this be a further factor leading to subfertility and is there a case for a prepregnancy dental check-up? *Women's Health* (Lond Engl) 2012; 8: 229-230.
 86. Hart R, Norman R. Polycystic ovarian syndrome -Prognosis and outcomes. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2006; 20: 751-778.
 87. Hart R. Polycystic ovarian syndrome-prognosis and treatment outcomes. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2007; 19:529-535.
 88. Hart TC, Kornman KS. Genetic factors in the pathogenesis of periodontitis. *Periodontol* 2000;14: 202-215.
 89. Haubek D, Dirienzo JM, Tinoco EM, Westergaard J, Lopez NJ, Chung CP, Poulsen K, Kilian M. Racial tropism of a highly toxic clone of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* associated with juvenile periodontitis. *J Clin Microbiol* 1997;35 (12): 3037-3042.
 90. Haytaç MC, Cetin T, Seydaoglu G. The effects of ovulation induction during infertility treatment on gingival inflammation. *J Periodontol* 2004; 75: 805-810.
 91. Horton AL, Boggess KA, Moss KL, Jared HL, Beck J, Offenbacher S. Periodontal disease early in pregnancy is associated with maternal systemic inflammation among African American women. *J Periodontol* 2008; 79: 1127-1132.
 92. Howick J, Chalmers I, Glasziou P, et al. (2011) *The Oxford Levels of Evidence* 2.
 93. Itagaki M, Kubota T, Tai H, Shimada Y, Morozumi T, Yamazaki K. Matrix metalloproteinase-1 and -3 gene promoter polymorphisms in Japanese patients with periodontitis. *J Clin Periodontol* 2004; 31: 764-769.
 94. Iwasaki A. The role of dendritic cells in immune responses against vaginal infection by herpes simplex virus type 2. *Microbes Infect* 2003; 5: 1221-1230.
 95. Izakovicova Holla L, Buckova D, Fassmann A, Benes P, Znojil V. Plasminogen-activator-inhibitor-1 promoter polymorphism as a risk factor for adult periodontitis in non-smokers. *Genes Immun* 2002; 3:292-294.
 96. Jeffcoat MK, Hauth JC, Geurs NC, Reddy MS, Cliver SP, Hodgkins PM, et al. Periodontal disease and preterm birth: Results of a pilot intervention study. *J Periodontol* 2003;74: 1214-8.
 97. Jin LJ, Chiu GK, Corbet EF. Are periodontal diseases risk factor for certain systemic disorders-what matters to medical practitioners? *Hong Kong Medical Journal* 2003; 9:31-37.
 98. Johnson N, van Voorst S, Sowter MC, Strandell A, Mol BW. Surgical treatment for tubal disease in women due to undergo *in vitro* fertilisation. *Cochrane Database Syst Rev* 2010; CD002125.
 99. Kajita K, Honda T, Amanuma R, Domon H, Okui T, et al. Quantitative messenger RNA expression of

- Toll-like receptors and interferon- α 1 in gingivitis and periodontitis. *Oral microbiology and immunology* 2007; 22: 398-402.
100. Kavoussi SK, West BT, Taylor GW, Lebovic DI. Periodontal disease and endometriosis: Analysis of the National Health and Nutrition Examination Survey. *Fertility and Sterility* 2009; 91(2): 335-342.
101. Kazor C.E, Mitchell PM, Lee AM, Stokes LN, Loesche WJ, Dewhirst FE & Paster BJ. Diversity of bacterial populations on the tongue dorsa of patients with halitosis and healthy patients. *Journal of Clinical Microbiology* 2003; 41, 558-563.
102. Kobschull M, Demmer RT, Papapanou PN. 'Gum bug, leave my heart alone!'--epidemiologic and mechanistic evidence linking periodontal infections and atherosclerosis. *J Dent Res* 2010; 89: 879-902.
103. Kim J, Amar S. Periodontal disease and systemic conditions: a bidirectional relationship. *Odontology* 2006; 94(1): 10-21.
104. Kinane D, Bouchard P. Periodontal diseases and health: Consensus Report of the Sixth European Workshop on Periodontology. *J Clin Periodontol* 2008;35 (8 Suppl.): 333-337.
105. Kinane DF. Periodontitis modified by systemic factors. *Ann Periodontol* 1999, 4:54-63.
106. Kinane, D. F. et al. Host-response: Understanding the cellular and molecular mechanisms of host-microbial interactions--consensus of the Seventh European Workshop on Periodontology. *Journal of clinical periodontology* 2011; 38(11): 44-48.
107. Kinney JS, Ramseier CA, Giannobile WV. Oral fluid based biomarkers of alveolar bone loss in periodontitis. *Ann N Y Acad Sci* 2007; 1098: 230-51.
108. Kohen P, Castro A, Caballero-Campo P, Castro O, Vega M, et al. Interleukin-1 β (IL-1 β) is a modulator of human luteal cell steroidogenesis: Localization of the IL type I system in the corpus luteum. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84: 4239-4245.
109. Köhler B, Bratthall D, Krasse B. Preventive measures in mothers influence the establishment of the bacterium *Streptococcus mutans* in their infants. *Arch Oral Biol* 1983;28(3): 225-231.
110. Könönen E, Asikainen S, Alaluusua S, et al. Are certain oral pathogens part of normal oral flora in denture-wearing edentulous subjects? *Oral Microbiol Immunol* 1991; 6: 119-122.
111. Könönen E, Asikainen S, Jousimies-Somer H. The early colonization of gram-negative anaerobic bacteria in edentulous infants. *Oral Microbiol Immunol* 1992; 7: 28-31.
112. Könönen E: Development of oral bacterial flora in young children. *Ann Med* 2000; 32 :107.
113. Könönen E: Oral colonization by anaerobic bacteria during childhood: Role in health and disease. *Oral Dis* 1999; 5:278.
114. Könönen K, Jousimies-Somer H, Asikainen S. Relationship between oral gram-negative anaerobic bacteria in saliva of the mother and the colonization of her edentulous infant. *Oral Microbiol Immunol* 1992; 7: 273-276.
115. Kornman KS, Crane A, Wang HY, di Giovine FS, Newman MG, Pirk FW, Wilson TG Jr, Higginbottom FL, Duff GW. The interleukin-1 genotype as a severity factor in adult periodontal disease. *J Clin Periodontol* 1997; 24:72-77.
116. Kornman KS, di Giovine FS. Genetic variations in cytokine expression: A risk factor for severity of adult periodontitis. *Ann Periodontol* 1998; 3: 327-338.
117. Kornman, K.S., Page, R.C. and Tonetti, M.S. (1997) The host response to the microbial challenge in periodontitis: assembling the players. *Periodontology* 2000; 14: 33-53.
118. Kramer, J.M. and Gaffen, S.L. Interleukin-17: A new paradigm in inflammation, autoimmunity, and therapy. *Journal of Periodontology* 2007; 78: 1083-1093.
119. Kumar PS, Griffen AL, Barton JA, Paster BJ, Moeschberger ML & Leys EJ. New bacterial species associated with chronic periodontitis. *Journal of Dental Research* 2003; 82: 338-344.
120. Laine ML, Farre MA, Gonzalez G, van Dijk LJ, Ham AJ, Winkel EG, et al. Polymorphisms of the interleukin-1 gene family, oral microbial pathogens, and smoking in adult periodontitis. *J Dent Res* 2001; 80: 1695-1699.
121. Laine ML, Loos BG, Crielaard W. Gene polymorphisms in chronic periodontitis. *Int J Dent* 2010; 2010: 324719.
122. Law V, Seow WK, Townsend G. Factors influencing oral colonization of mutans streptococci in young children. *Aust Dent* 2007; J 52: 93.
123. Lei R, Leung KW, Darveau RP, Lijian Jin. Te expression profile of lipopolysaccharide-binding protein, membrane-bound CD14, and toll-like receptors 2 and 4 in chronic periodontitis. *Journal of periodontology* 2005; 76(11): 1950-1959.
124. Lepp PW, Brinig MM, Ouverney CC, et al. Methanogenic Archaea and human periodontal disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101: 6176.

125. Lindhe J, Hamp S, Löe H. Experimental periodontitis in the beagle dog. *J Periodontol Res* 1973; 8(1): 1-10.
126. Lindhe J, Rylander H. Experimental gingivitis in young dogs. *Scand J Dent Res* 1975; 83: 314-32.
127. Listgarten MA. The structure of dental plaque. *Periodontology* 2000; 5: 52-65.
128. Löe H, Theilade E, Jensen SB. Experimental gingivitis in man. *J Periodontol* 1965; 36: 177-187.
129. Long SS, Swenson, RM. Determinants of the developing oral flora in normal newborns. *Appl Environ Microbiol* 1976; 32: 494-497.
130. Loos BG, Fiebig A, Nothnagel M, Jepsen S, Groessner-Schreiber B, Franke A, et al. NOD1 gene polymorphisms in relation to aggressive periodontitis. *Innate Immun* 2009;15: 225-232.
131. Loos BG. Systemic markers of inflammation in periodontitis. *J Periodontol* 2005; 76: 2106-15.
132. Luheshi NM, Rothwell NJ, Brough D. Dual functionality of interleukin-1 family cytokines: Implications for anti-interleukin-1 therapy. *Br J Pharmacol* 2009; 157: 1318-1329.
133. Mackler SB, Crawford JJ. Plaque development and gingivitis in the primary dentition. *J Periodontol* 1973; 44: 18-24.
134. Madianos PN, Bobetsis YA, Kinane DF. Generation of inflammatory stimuli: How bacteria set up inflammatory responses in the gingiva. *Journal of Clinical Periodontology* 2005; 32 (6): 57-71.
135. Mariotti A. Dental plaque-induced gingival diseases. *Ann Periodontol* 1999; 4: 7-19.
136. Mark LL, Haffajee AD, Socransky SS, et al. Effect of the interleukin-1 genotype on monocyte IL-1beta expression in subjects with adult periodontitis. *J Periodontol Res* 2000; 35: 172-7.
137. Marriotti A. Dental plaque-induced gingival diseases. *Ann Periodontol* 1994, 4: 7-17.
138. Martoriati A1, Gérard N. Interleukin-1 (IL-1) system gene expression in granulosa cells: kinetics during terminal preovulatory follicle maturation in the mare. *Reprod Biol Endocrinol* 2003; 1: 42.
139. Matalliotakis IM, Cakmak H, Fragouli Y, Kourtis A, Arici A, Huszar G. Increased IL-18 levels in seminal plasma of infertile men with genital tract infections. *Am J Reprod Immunol*. 2006; 55: 428-433.
140. Matthias B, Axtelius B, Solioz C, Attstrom R. Cytokine gene expression in chronic periodontitis. *Journal of clinical periodontology* 2001; 28: 840-847.
141. McCarthy C, Snyder ML, Parker RB. The indigenous oral flora of man. I. The newborn to the 1-year old infant. *Arch Oral Biol* 1965; 10: 61-70.
142. McCrary BR, Streckfuss JL, Keene HJ. Oral hygiene and the prevalence of oral group D streptococci in medically physically compromised and periodontal disease patients. *J Periodontol* 1989; 60: 255-258.
143. McDevitt MJ, Wang HY, Knobelman C, Newman MG, di Giovine FS, Timms J, et al. Interleukin-1 genetic association with periodontitis in clinical practice. *J Periodontol* 2000; 71: 156-163.
144. Meisel P, Krause T, Cascorbi I, Schroeder W, Herrmann F, John U, Kocher T. Gender and smoking-related risk reduction of periodontal disease with variant myeloperoxidase alleles. *Genes Immun* 2002a; 3: 102-106.
145. Meisel P, Schwahn C, Gesch D, Bernhardt O, John U, Kocher T. Dose-effect relation of smoking and the interleukin-1 gene polymorphism in periodontal disease. *J Periodontol* 2004; 75: 236-242.
146. Meisel P, Siegemund A, Dombrowa S, Sawaf H, Fanghaenel J, Kocher T. Smoking and polymorphisms of the interleukin-1 gene cluster (IL-1alpha, IL-1beta, and IL-1RN) in patients with periodontal disease. *J Periodontol* 2002b; 73: 27-32.
147. Michalowicz BS, Diehl SR, et al. Evidence of a substantial genetic basis for risk of adult periodontitis. *J Periodontol* 2000; 71(11): 1699-707.
148. Midtvedt T. Ecosystems: Development, functions and consequences of disturbances, with special reference to the oral cavity. *J Clin Periodontol* 1990; 17: 474-478.
149. Mikx FHM, Matee MI, Maltha JC. The occurrence of oral spirochetes in relation to age and periodontal disease. In: Lehner T, Cimasoni G, ed. *The borderland between caries and periodontal disease*, vol. 3. Geneva: Editions Medecine et Hygiene, 1986: 391-399.
150. Miller WD. The human mouth as a focus of infection. *Dental Cosmos* 1891; 33: 689-713.
151. Mombelli A, Casagni F, Madianos PN. Can presence or absence of periodontal pathogens distinguish between subjects with chronic and aggressive periodontitis? A systematic review. *J Clin Periodontol* 2002; 29: 10-21.
152. Moore S, Ide M, Randhawa M, Walker JJ, Reid JG, Simpson NA. An investigation into the association among preterm birth, cytokine gene polymorphisms and periodontal disease. *BJOG* 2004; 111: 125-132.



153. Moore WE, Moore LV. The bacteria of periodontal diseases. *Periodontology* 2000; 5: 66-77.
154. Muna S Elburki. The Etology and Pathogenesis of Periodontal Disease. *BAOJ Dentstry* 2018; 4: 042.
155. Nguyen DP, Genc M, Vardhana S, Babula O, Onderdonk A, Witkin SS. Ethnic differences of polymorphisms in cytokine and innate immune system genes in pregnant women. *Obstet Gynecol* 2004; 104: 293-300.
156. Nibali L, D'Aiuto F, Donos N, Griffiths GS, Parkar M, Tonetti MS, Humphries SE, Brett PM. Association between periodontitis and common variants in the promoter of the interleukin-6 gene. *Cytokine* 2009; 45: 50-54.
157. Novak KF, Taylor GW, Dawson DR, Ferguson JE 2, Novak MJ. Periodontitis and gestational diabetes mellitus: Exploring the link in NHANES III. *J Public Health Dent* 2006; 66:163-168.
158. Nwhator S, Opeodu O, Ayanbadejo P, Umeizudike K, Olamijulo J, Alade G, et al. Could periodontitis affect time to conception? *Ann Med Health Sci Res* 2014; 4: 817-822.
159. Nwhator SO, Umeizudike KA, Samuel TA, Soroye MO, Umeizudike TI. Periodontitis & sub-fertility; Opinions and practices of Nigerian specialists. *West Afr J Med* 2013; 32: 267-271.
160. Offenbacher S, Katz V, Fertik G, Collins J, Boyd D, Maynor G, et al. Periodontal infection as a possible risk factor for preterm low birth weight. *J Periodontol* 1996; 67: 1103-1113.
161. Ohlrich EJ, Cullinan MP, Seymour GJ. The immunopathogenesis of periodontal disease. *Australian Dental Journal* 2009; 54(1): 2-10.
162. Page RC, Schroeder HE. Pathogenesis of inflammatory periodontal disease. A summary of current work. *Lab Invest* 1976; 33:235-249.
163. Page RC and Kornman KS. The pathogenesis of human periodontitis: An introduction. *Periodontology* 2000; 14: 9-11.
164. Page RC, et al. Advances in the pathogenesis of periodontitis: summary of developments, clinical implications and future directions. *Periodontology* 2000; 14: 216-248
165. Papapanou PN, Sellkn A, Wennstrom JL et al. An analysis of the subgingival microflora in randomly selected subjects. *Oral Microbiol Immunol* 1993; 8: 24-29.
166. Papapanou, P.N. Periodontal diseases: Epidemiology. *Ann Periodontol* 1996; 1: 1-36.
167. Paster BJ, Boches SK, Galvin JL, Ericson RE, Lau C N, Levanos VA, Sahasrabudhe A & Dewhirst F E. Bacterial diversity in human subgingival plaque. *Journal of Bacteriology* 2001; 183: 3770-3783.
168. Pavlatou A, Tsami A, Vlahos N, Mantzavinos T, Vrotsos I. The effect of *in vitro* fertilization on gingival inflammation according to women's periodontal status: Clinical Data. *Journal of the International Academy of Periodontology* 2013; 15(2): 36-42.
169. Payne WA, Page RC, Ogilvie AL, et al. Histopathologic features of the initial and early stages of experimental gingivitis in man. *J Periodontal Res* 1975; 10:51-64.
170. Pearce C, Bowden GH, Evans M, et al. Identification of pioneer viridans streptococci in the oral cavity of human neonates. *J Med Microbiol* 1995; 42: 67.
171. Persson GR, Matuliene G, Ramseier CA, Persson RE, Tonetti MS, Lang NP. Influence of interleukin-1 gene polymorphism on the outcome of supportive periodontal therapy explored by a multi-factorial periodontal risk assessment model (PRA). *Oral Health Prev Dent* 2003; 1: 17-27.
172. Pihlstrom BL, Michalowicz BS, Johnson NW. Periodontal diseases. *Lancet* 2005; 366: 1809-1820.
173. Pizzoa G, Guigliaa R, Russob LL, Campisi G. Dentistry and internal medicine: From the focal infection theory to the periodontal medicine concept. *European Journal of Internal Medicine* 2010; 21(6): 496-502.
174. Polyzos NP, Polyzos IP, Mauri D, Tzioras S, Tsappi M, Cortinovic I, Casazza G. Effect of periodontal disease treatment during pregnancy on preterm birth incidence: A metaanalysis of randomized trials. *Am J Obstet Gynecol* 2009; 200: 225-232.
175. Pontes CC, Gonzales JR, Novaes AB Jr, Junior MT, Grisi MF, Michel J, Meyle J, de Souza SL. 'Interleukin-4 gene polymorphism and its relation to periodontal disease in a Brazilian population of African heritage'. *J Dent* 2004; 32: 241-246.
176. Purcell K, Schembri M, Frazier LM, Rall MJ, Shen S, Croughan M, Grainger DA, Fujimoto VY. Asian ethnicity is associated with reduced pregnancy outcomes after assisted reproductive technology. *Fertil Steril* 2007; 87: 297-302.
177. Quappe L, Jara L, Lopez NJ. Association of interleukin-1 polymorphisms with aggressive periodontitis. *J Periodontol* 2004; 75: 1509-1515.
178. Quirynen M, Vogels R, Peeters W, et al. Dynamics of initial subgingival colonization of peri-implant pockets. *Clin Oral Implants Res* 2005; 17: 25.

179. Rashidi Maybodi F, Amirzade Iranaq MH. Association between Poor Oral Health and Fertility Problems: A Narrative Mini-Review. *Journal of Midwifery and Reproductive Health* 2017; 5 (1): 842-847. DOI: 10.22038/jmrh.2016.7708.
180. Roberts A, Matthews JB, Socransky SS, et al. Stress and the periodontal diseases: effects of catecholamines on the growth of periodontal bacteria in vitro. *Oral Microbiol Immunol* 2002; 17(5): 296-303.
181. Romero R, Chaiworapongsa T, Kuivaniemi H, Tromp G. Bacterial vaginosis, the inflammatory response and the risk of preterm birth: A role for genetic epidemiology in the prevention of preterm birth. *Am J Obstet Gynecol* 2004; 190:1509-1519.
182. Rotimi VO, Duerden BI: The development of the bacterial flora in normal neonates. *J Med Microbiol* 1981; 14: 51.
183. Salvi GE, Lawrence HP, Offenbacher S, Beck JD. Influence of risk factors on the pathogenesis of periodontitis. *Periodontol* 2000; 14:173-201.
184. Scannapieco FA, Ho AW. Potential associations between chronic respiratory disease and periodontal disease: Analysis of National Health and Nutrition Examination Survey III. *J Periodontol* 2001; 72: 50-6.
185. Scarel-Caminaga RM, Kim YJ, Viana AC, Curtis KM, Corbi SC, Sogumo PM, Orrico SR, Cirelli JA. Haplotypes in the interleukin 8 gene and their association with chronic periodontitis susceptibility. *Biochem Genet* 2011; 49: 292-302.
186. Scarel-Caminaga RM, Trevilatto PC, Souza AP, Brito RB Jr, Line SR. Investigation of IL4 gene polymorphism in individuals with different levels of chronic periodontitis in a Brazilian population. *J Clin Periodontol* 2003; 30: 341-345.
187. Scarel-Caminaga RM, Trevilatto PC, Souza AP, Brito RB, Line SR. Investigation of an IL-2 polymorphism in patients with different levels of chronic periodontitis. *J Clin Periodontol* 2002;29:587-591.
188. Schaefer AS, Richter GM, Nothnagel M, Laine ML, Noack B, Glas J, Schrezenmeir J, Groessner-Schreiber B, Jepsen S, Loos BG et al. COX-2 is associated with periodontitis in Europeans. *J Dent Res* 2010a; 89: 384-388.
189. Schaefer AS, Richter GM, Nothnagel M, Manke T, Dommisch H, Jacobs G, Arlt A, et al. A genome-wide association study identifies GLT6D1 as a susceptibility locus for periodontitis. *Hum Mol Genet* 2010b; 19:553-562.
190. Schafer AS, Jepsen S, Loos BG. Periodontal genetics: A decade of genetic association studies mandates better study designs. *J Clin Periodontol* 2011; 38: 103-107.
191. Schätzle M, Faddy MJ, Cullinan MP, et al. The clinical course of chronic periodontitis. V. Predictive factors in periodontal disease. *J Clin Periodontol* 2009; 36(5) :365-71.
192. Schenkein HA, Burmeister JA, Koertge TE, et al. The influence of race and gender on periodontal microflora. *J Periodontol* 1993; 64: 292-296.
193. Schroeder HE. Quantitative parameters of early human gingival inflammation. *Arch Oral Biol* 1970; 15: 383-400.
194. Sechi LA, Zingaro L, Catena C, De Marchi S. Increased fibrinogen levels and hemostatic abnormalities in patients with arteriolar nephrosclerosis: Association with cardiovascular events. *Thromb Haemost* 2000; 84: 565-570.
195. Segal S, Hill AV. Genetic susceptibility to infectious disease. *Trends Microbiol* 2003; 11: 445-448.
196. Seifer DB, Frazier LM, Grainger DA. Disparity in assisted reproductive technologies outcomes in black women compared with white women. *Fertil Steril* 2008; 90: 1701-1710.
197. Serio FG, Duncan TB. The Pathogenesis and Treatment of Periodontal Disease. Academy of Dental Therapeutics and Stomatology. *PennWell Publications* 2009: 1-12.
198. Seymour GJ. Possible mechanisms involved in the immunoregulation of chronic inflammatory periodontal disease. *J Dent Res* 1987; 66(1): 2-9.
199. Seymour GJ, Gemmell E. Cytokines in periodontal disease: Where to from here? *Acta Odontologica* 2001; 59(3): 167-173.
200. Sharma CG, Pradeep AR. Anti-neutrophil cytoplasmic autoantibodies: a renewed paradigm in periodontal disease pathogenesis? *J Periodontol* 2006;77:1304-13.
201. Shete AR, Joseph R, Vijayan NN, Srinivas L, Bannerjee M. Association of single nucleotide gene polymorphism at interleukin-1beta +3954, -511, and -31 in chronic periodontitis and aggressive periodontitis in Dravidian ethnicity. *J Periodontol* 2010; 81: 62-69.
202. Shimada Y, Tai H, Endo M, Kobayashi T, Akazawa K, Yamazaki K. Association of tumor necrosis factor receptor type 2 +587 gene polymorphism with severe chronic periodontitis. *J Clin Periodontol* 2004; 31: 463-469.
203. Sinaii N, C SD, Ballweg ML, Nieman LK, Stratton P.

- Autoimmune and related diseases among women with endometriosis: A survey analysis. *Fertil Steril* 2002; 77: 7-8.
- 204.** Sirivelu MP, Shin AC, Perez GI, MohanKumar PS, MohanKumar SM. Effect of L-dopa on interleukin-1 beta-induced suppression of luteinizing hormone secretion in intact female rats. *Hum Reprod* 2009; 24: 718-725.
- 205.** Socransky SS, Haffajee AD, Smith C, Duff GW. Microbiological parameters associated with IL-1 gene polymorphisms in periodontitis patients. *J Clin Periodontol* 2000; 27(11): 810-8.
- 206.** Socransky SS, Haffajee AD. Dental biofilms: Difficult therapeutic targets. *Periodontology* 2000. 28: 12-55.
- 207.** Socransky SS, Manganiello SD. The oral microbiota of man from birth to senility. *J Periodontol* 1971; 42: 485-496.
- 208.** Soga Y, Nishimura F, Ohyama H, Maeda H, Takashiba S, Murayama Y. Tumor necrosis factor-alpha gene (TNF-alpha) -1031/-863, -857 single-nucleotide polymorphisms (SNPs) are associated with severe adult periodontitis in Japanese. *J Clin Periodontol* 2003; 30: 524-531.
- 209.** Stingu CS, Eschrich K, Rodloff AC, et al. Periodontitis is associated with a loss of colonization by *Streptococcus sanguinis*. *J Med Microbiol* 2008; 57: 495.
- 210.** Sugita N, Kobayashi T, Ando Y, Yoshihara A, Yamamoto K, van de Winkel JG, et al. Increased frequency of FcγRIIIb-NA1 allele in periodontitis-resistant subjects in an elderly Japanese population. *J Dent Res* 2001; 80:914-918.
- 211.** Tang AW, Alfirevic Z, Quenby S. Natural killer cells and pregnancy outcomes in women with recurrent miscarriage and infertility: A systematic review. *Hum Reprod* 2011; 26: 1971-1980.
- 212.** Taubman MA, Kawai T. Involvement of T-Lymphocytes in periodontal disease and in direct and indirect induction of bone resorption: Critical Reviews. *Oral Biology & Medicine* 2001; 12: 125-135.
- 213.** Taubman MA, Valverde P, et al. Immune response: The key to bone resorption in periodontal disease. *J Periodontol* 2005; 76(11): 2033-41.
- 214.** Teng YT. Protective and Destructive Immunity in the Periodontium: Part 1--Innate and Humoral Immunity and the Periodontium. *Journal of Dental Research* 2006; 85(3): 198-208.
- 215.** Terranova PF, Rice VM. Review: Cytokine involvement in ovarian processes. *Am J Reprod Immunol* 1997; 37: 50-63.
- 216.** Tonneti MS. & Mombelli A. Early onset periodontitis. *Ann Periodontol* 1999; 4: 39-52.
- 217.** Trombelli L, Tatakis DN, Scapoli C, et al. Modulation of clinical expression of plaque-induced gingivitis. II. Identification of "highresponder" and "low-responder" subjects. *J Clin Periodontol* 2004; 31: 239-252.
- 218.** Trombone AP, Cardoso CR, Repeke CE, Ferreira SB Jr, Martins W Jr, Campanelli AP, Avila-Campos MJ, Trevilatto PC, Silva JS, Garlet GP. Tumor necrosis factor-alpha -308G/A single nucleotide polymorphism and red-complex periodontopathogens are independently associated with increased levels of tumor necrosis factor-alpha in diseased periodontal tissues. *J Periodontol Res* 2009; 44:598-608.
- 219.** Uehara A, Sugawara Y, Kurata S, Fujimoto Y, Fukase K, et al. Toll-like receptors, NOD1, and NOD2 in oral epithelial cells. *Journal of dental research* 2006; 85: 524-529.
- 220.** Van Dyke TE. The management of inflammation in periodontal disease. *J Periodontol* 2008; 79(8): 1601-1608.
- 221.** Van Dyke TE and van Winkelhoff AJ. Infection and inflammatory mechanisms. *Journal of Clinical Periodontology* 2013; 40(14): 1-7.
- 222.** Wade WG, Addy M. *In vitro* activity of a chlorhexidine-containing mouthwash against subgingival bacteria. *J Periodontol* 1989; 60:5-21.
- 223.** Walker CB. Selected antimicrobial agents: Mechanisms of action, side effects and drug interactions. *Periodontol* 2000; 10: 12.
- 224.** Weiss G, Goldsmith LT, Taylor RN, Bellet D, Taylor HS. Inflammation in reproductive disorders. *Reproductive Sciences* 2009; 16(2): 216-229.
- 225.** Winger EE, Reed JL, Ashoush S, Ahuja S, El-Toukhy T, Taranissi M. Treatment with adalimumab (Humira) and intravenous immunoglobulin improves pregnancy rates in women undergoing IVF. *Am J Reprod Immunol* 2009; 61: 113-120.
- 226.** Winger EE, Reed JL, Ashoush S, El-Toukhy T, Ahuja S, Taranissi M. Degree of TNF-alpha/IL-10 cytokine elevation correlates with IVF success rates in women undergoing treatment with Adalimumab (Humira) and IVIG. *Am J Reprod Immunol* 2011; 65: 610-618.
- 227.** Wojcicki CJ, Harper DS, Robinson PJ. Differences in periodontal disease-associated microorganisms of subgingival plaque in prepubertal, pubertal and postpubertal children. *J Periodontol* 1987; 58: 219-223.

- 228.** Zhao X, Deak E, Soderberg K, Linehan M, Spezzano D, Zhu J, Knipe DM, Iwasaki A. Vaginal submucosal dendritic cells, but not Langerhans cells, induce protective Th1 responses to herpes simplex virus-2. *J Exp Med* 2003; 197: 153-162.
- 229.** Zmijewska A, Franczak A, Kotwica G. Role of interleukin-10E \leq in the regulation of porcine corpora lutea during the late luteal phase of the cycle and during pregnancy. *Acta Vet Hung* 2012; 60: 395-407.
- 230.** Μαντζαβίνος, Ζ.Σ., Βρότσος, Ι.Α. Κλινική Περιοδοντολογία 2002; Αθήνα, Λίτσας.
- 231.** Μήτσης, Φ.Ι. Περιοδοντολογία. Έκδοση: 2η, Εκδότης: Λίτσας, Αθήνα, 1996
- 232.** Πανής Β, Τσιλιγκρού Ι. Αντιμικροβιακά και αντιβιοτικά στην Περιοδοντολογία. *ΟΔΟΝΤΟΣΤΟΜΑΤΟΛΟΓΙΚΗ ΠΡΟΟΔΟΣ* 2009; 63(1): 71-80.
- 233.** Σακελλάρη Δ, Teles RP. Οι μικροβιακές κοινότητες των υποουλικών βιοϋμένων. *Περιοδοντολογικά Ανάλεκτα* 2010; 21(4): 1-15.

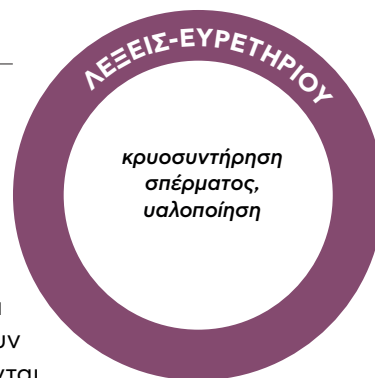
Κρυοσυντήρηση γαμετών: Παρόν και μέλλον

Θεοδοσία Ζεγκινιάδου¹, Ιλιάννα Δροσίτη²

1. M.Sc., Ph.D, Βιολόγος Αναπαραγωγής
2. Βιοτεχνολόγος

Ελληνική περίληψη

Πολλά ζευγάρια τα τελευταία χρόνια θα καταφύγουν σε κάποια μορφή υποβοηθούμενης αναπαραγωγής για να λύσουν τα προβλήματα γονιμότητας που αντιμετωπίζουν. Η κρυοσυντήρηση των γαμετών μαζί με την κρυοσυντήρηση εμβρύων, αποτελεί πλέον αναπόσπαστο κομμάτι των τεχνικών της υποβοηθούμενης αναπαραγωγής. Αυτό το άρθρο επικεντρώνεται στην κρυοσυντήρηση των σπερματοζωαρίων, με αναφορά αρχικά στις αλλαγές που υφίστανται τα σπερματοζωάρια όταν βρεθούν σε πολύ χαμηλές θερμοκρασίες. Στην συνέχεια περιγράφεται ο τρόπος με τον οποίο οι κρυοπροστατευτικές ουσίες βελτιώνουν την βιωσιμότητα των σπερματοζωαρίων μετά την απόψυξη. Τέλος περιγράφονται οι εργαστηριακές λεπτομέρειες που είναι καθοριστικές για την επιτυχή κρυοσυντήρηση των σπερματοζωαρίων, όπως ο ρυθμός προσθήκης του κρυοπροστατευτικού και ο ρυθμός της κατάψυξης.



Εισαγωγή

Η κρυοβιολογία αποτελεί ένα εφαρμοσμένο κλάδο της βιολογίας που μελετά την ζωή σε χαμηλές θερμοκρασίες, μελετά δηλαδή τους κανόνες που καθορίζουν τις διαδικασίες με τις οποίες είναι δυνατή η διατήρηση των κυττάρων σε εξαιρετικά χαμηλές θερμοκρασίες. Η εφαρμογή της τεχνολογίας της κρυοσυντήρησης έχει επιτρέψει την συντήρηση μιας ποικιλίας κυτταρικών τύπων, του φυτικού και του ζωικού βασιλείου, συμπεριλαμβανομένων των αρσενικών και των θηλυκών γαμετών αλλά και πολυκύτταρων οργανισμών όπως τα έμβρυα, σε ιδιαίτερα χαμηλές θερμοκρασίες (Shufaro and Schenker, 2010). Οι λόγοι για τους οποίους θα χρειαστεί να κρυοσυντηρηθούν κύτταρα είναι πολλοί όπως

η διατήρηση της ποικιλομορφίας των ειδών ή διατήρηση ειδών που είναι στα πρόθυρα εξαφάνισης. Για τον άνθρωπο ο σημαντικότερος λόγος στις μέρες μας είναι η δυνατότητα για αναπαραγωγή. Τα σπερματοζωάρια θα χρειαστεί να διατηρηθούν σε τράπεζα σπέρματος σε περιπτώσεις που η θεραπεία ή εξέλιξη μιας αρχόμενης νόσου θα καταστρέψει το γενετικό υλικό ενός άνδρα ή σε περιπτώσεις που ο σύζυγος βρίσκεται μακριά από την σύζυγο στις γόνιμες μέρες, όπως παραδείγματος χάριν σε συζύγους ναυτικών. Επίσης, μια άλλη μεγάλη εφαρμογή της κρυοσυντήρησης των σπερματοζωαρίων είναι η διατήρηση γονιμότητας σε άνδρες όπου η επαγγελματική τους ή η φυσική τους κατάσταση αποτελεί παράγοντα υψηλού κινδύνου απώ-



Υπεύθυνος αλληλογραφίας:

Ελληνική Εταιρεία Αναπαραγωγικής Ιατρικής, E-mail: info@eeai.gr, www.eeai.gr

λειας της γονιμοποιητικής ικανότητας του γενετικού υλικού τους, όπως αθλητές, εργαζόμενους σε αντίξοες κλιματολογικές συνθήκες ή υπό την επίδραση τοξικών περιβαλλοντικών παραγόντων (ακτινοβολίες, χημικές ουσίες).

Μέθοδοι κρυσυντήρησης

Οι πρώτες απόπειρες συντήρηση σπερματοζωαρίων αναφέρονται ακόμη και από τα τέλη του 16ου αιώνα (Sherman, 1953 & 1963). Το 1776 ο Lazzaro Spallanzani διατύπωσε την παρατήρηση ότι το σπέρμα διατηρείται στο χιόνι, αν και χάνει την κινητικότητά του όταν ψύχεται κάνοντας μια πρωτοποριακή για την εποχή του παρατήρηση. Λίγα χρόνια αργότερα, το 1866, ο Montegazza, ήταν ο πρώτος που πρότεινε την κρυσυντήρηση ανθρώπινου σπέρματος, για τους στρατιώτες που είχαν πεθάνει στη μάχη (Sherman et al, 1964). Αν και αρκετοί επιστήμονες για πολλά χρόνια μελετούσαν την επίδραση που έχει η χαμηλή θερμοκρασία στην κυτταρική δομή και λειτουργία χρειάστηκε να φτάσουμε στο 1953 για να αποκτήσει πλέον η κρυσυντήρηση σπέρματος την θέση της στην κλινική πράξη και στις τεχνικές της υποβοηθούμενης αναπαραγωγής (Assisted Reproduction Technologies, ARTs) (Woods et al, 2004).

Η πρώτες προσπάθειες κρυσυντήρησης σπέρματος χρονολογούνται από το 1966 από τους S. J. Behrman and Y. Sawada, οι οποίοι χρησιμοποίησαν ένα πρωτόκολλο με σταδιακή πτώση της θερμοκρασίας σε διάστημα 2-4 ωρών (S. J. Behrman and Y. Sawada, 1966). Σήμερα χρησιμοποιείται η ταχεία κατάψυξη που προτάθηκε αρχικά από τον Sherman (Sherman, 1964). Σύμφωνα με το συγκεκριμένο πρωτόκολλο στο δείγμα του σπέρματος προστίθεται το κρυσπροστατευτικό σταγόνα-σταγόνα, για να αποφευχθούν οι απότομες αλλαγές στον όγκο των κυττάρων, λόγω των φαινομένων ώσμωσης. Στην συνέχεια το δείγμα φορτώνεται στους ειδικούς περιέκτες, τοποθετείται σε απόσταση 15-20 cm πάνω από το επίπεδο του υγρού αζώτου (-80°C) για 15 min για την σταδιακή πτώση της θερμοκρασίας και κατόπιν βυθίζεται στο υγρό άζωτο.

Η απαιτούμενη θερμοκρασία για την διατήρηση των σπερματοζωαρίων πρέπει να είναι χαμηλότερη από τους -132°C, γιατί κάτω από αυτή την θερμοκρασία διακόπεται κάθε βιολογική δραστηριότητα (Mazur, 1984). Δείγματα σπέρματος που είχαν διατηρηθεί στους 79oC έχασαν την κινητικότητά τους με τον χρόνο διατήρησής τους, όπως έκανε γνωστό ο Ackerman εδώ και χρόνια (Ackerman, 1968). Γ' αυτό το λόγο το υγρό άζωτο αποτελεί το ιδανικό υλικό για την κρυσυντήρηση των κυττάρων για μεγάλα χρονικά διαστήματα.

Η μέθοδος αυτή είναι πολύ απλή και αποτελεί την μέθοδο επιλογής από τα περισσότερα εργαστήρια σπέρματος. Πρέπει όμως να αναφερθεί ότι σε αυτό το πρωτόκολλο η καμπύλη πτώσης της θερμοκρασίας δεν είναι σταθερή και αυτή η έλλειψη επαναληψιμότητας στην καμπύλη πτώσης της θερμοκρασίας αποτελεί το μοναδικό της μειονέκτημα της μεθόδου. Την έλλειψη αυτή της επαναληψιμότητας έρχονται να καλύψουν οι αυτοματοποιημένες μέθοδοι. Οι αυτόματες συσκευές για την κατάψυξη σπέρματος χρησιμοποιούν τους ατμούς του υγρού αζώτου και η κατάψυξη γίνεται βαθμιαία μέσω λογισμικού προγράμματος που δεν απαιτεί την συνεχή παρέμβαση του χειριστή. Το γεγονός αυτό εξασφαλίζει μεγάλη ακρίβεια στην καμπύλη πτώσης της θερμοκρασίας σε όλα τα δείγματα, έχει όμως το μειονέκτημα του υψηλού κόστους (Di Santo, et al. 2012).

Η πιο δημοφιλής και επιτυχημένη μέθοδος για την κατάψυξη των ωαρίων και των εμβρύων είναι η υαλοποίησης (*vitrification*). Ο Isachenko πρώτος χρησιμοποίησε την υαλοποίηση και για την κατάψυξη των σπερματοζωαρίων, ως μια εναλλακτική των συμβατικών μεθόδων (Isachenko, et al. 2004). Στην υαλοποίηση, χρησιμοποιείται μικρή ποσότητα δείγματος σπέρματος και αποφεύγεται η δημιουργία κρυστάλλων στα κύτταρα λόγω του υψηλού ρυθμού ψύξης και της υψηλής συγκέντρωσης κρυσπροστατευτικού που χρησιμοποιείται (Fahy and Wowk, 2015). Για την αποφυγή της αρνητικής επίδρασης της υψηλής συγκέντρωσης του κρυσπροστατευτικού στα σπερματοζωάρια ο Isachenko ανέπτυξε μια μέθοδο υαλοποίησης χωρίς κρυσπροστατευτικό (Isachenko, et al. 2003). Πρόσφατα, στους ειδικούς περιέκτες, όπως παγέτες ή μικροί δακτύλιοι (loops), έχουν προστεθεί καινούργιες συσκευές σε υποσχόμενα αποτελέσματα (O'Neil, et al. 2019). Αποτελεί δηλαδή η υαλοποίηση μια μέθοδο ταχείας κατάψυξης, με υψηλό ρυθμό ψύξης και μικρό όγκο δείγματος, που όμως απαιτεί την χρήση.

Η κρυσυντήρηση των σπερματοζωαρίων

Η κρυσυντήρηση διατηρεί τα κύτταρα και τους ιστούς σε ιδιαίτερα χαμηλές θερμοκρασίες, μεταξύ -140°C και -200°C. Σε αυτές τις θερμοκρασίες αναστέλλεται η βιολογική δραστηριότητα των κυττάρων που, κατά συνέπεια, διατηρούνται αναλλοίωτα για μεγάλα χρονικά διαστήματα. Για το ανθρώπινο σπέρμα, το μεγαλύτερο χρονικό διάστημα κρυσυντήρησης που έχει αναφερθεί είναι τα 21 χρόνια (Sharma, 2001). Η πρώτη ανθρώπινη εγκυμοσύνη που επιτεύχθηκε με γονιμοποίηση από κατεψυγμένο σπέρμα, αναφέρθηκε το 1953 από τους Sherman και Bunge (Sherman, Bunge 1953).

Η κρυοσυντήρηση σε αυτή την περίπτωση πραγματοποιήθηκε με απλή ψύξη και αποθήκευση σε ξηρό πάγο στους -75°C . Αυτή η μέθοδος δεν χρησιμοποιήθηκε στη συνέχεια, αφού η κινητικότητα των σπερματοζωαρίων διαρκώς ελαττωνόταν, για όσο χρονικό διάστημα αυτά παρέμεναν στον ξηρό πάγο. Σαν συνέπεια, το δείγμα του σπέρματος δεν μπορούσε να διατηρηθεί κατεψυγμένο, παρά μόνο για μικρά χρονικά διαστήματα.

Νέα ώθηση στην κρυοσυντήρηση σπέρματος δόθηκε από τον Sherman το 1963, ο οποίος χρησιμοποίησε το υγρό άζωτο (-196°C) για την κρυοσυντήρηση δειγμάτων και παρατήρησε την υπεροχή της νέας αυτής τεχνικής, αφού σε αυτή την περίπτωση δεν υπήρχε η ελάττωση της κινητικότητας των σπερματοζωαρίων που είχε παρατηρηθεί με τον ξηρό πάγο (Sherman, 1963). Από το 1964 και μετά πολυάριθμες είναι οι αναφορές για επιτυχημένη γονιμοποίηση, για κυήσεις και γεννήσεις, με τη χρήση σπέρματος κρυοσυντηρημένου σε υγρό άζωτο στους -196°C . Αν και αρχικά, το χρονικό διάστημα συντήρησης σπέρματος δεν υπερέβαινε τους πέντε μήνες [Perloff, et al. 1964], πλέον το διάστημα της διατήρησης είναι ουσιαστικά χωρίς περιορισμούς (Sharma, 2001).

Είναι γνωστό ότι ένα ποσοστό μόνο των κυττάρων θα αντέξουν την διαδικασία της κατάψυξης και θα διατηρήσουν την βιωσιμότητά τους μετά την απόψυξη. Οι αλλαγές που προκαλούνται επηρεάζουν όχι μόνο την βιωσιμότητα αλλά, στην περίπτωση των σπερματοζωαρίων, και την κινητικότητα ή τους μοριακούς μηχανισμούς που είναι απαραίτητοι για την είσοδο του στο ωάριο. Η επίδραση στην κινητικότητα είναι μεγάλης σημασίας και καθοριστικός παράγοντας για την επιτυχία της κατάψυξης-απόψυξης σε ένα δείγμα σπέρματος. Στην περίπτωση που η κινητικότητα μετά την απόψυξη είναι περίπου στο 50% της αρχικής τότε η κατάψυξη θεωρείται πολύ ικανοποιητική (David, et al. 1980). Βέβαια το τελικό αποτέλεσμα της κινητικότητας μετά την απόψυξη είναι σε μεγάλο βαθμό συνάρτηση της αρχικής κινητικότητας του δείγματος. Το κρυοσυντηρημένο δείγμα δεν πρέπει να εκτίθεται σε θερμοκρασία περιβάλλοντος κατά την διάρκεια της φύλλαξής του, γιατί η αυξομείωση της θερμοκρασίας, θα προκαλέσει πιθανά μη αντιστρέψιμες αλλαγές (Tyler, et al. 1996), γιαυτό η κατάψυξη και απόψυξη του ίδιου δείγματος δε είναι εφικτή (Ofeim, et al. 2001).

Οι αλλαγές που συμβαίνουν στην κινητικότητα οφείλονται στις αλλοιώσεις που προκαλεί η πτώση της θερμοκρασίας στην μεμβράνη, ακόμη και όταν γίνεται βαθμιαία και με χαμηλό ρυθμό. Γενικά, έχει δειχθεί ότι οι αλλαγές της δομής της μεμβράνης γίνονται γύρω στους 5

με -15°C βαθμούς χωρίς να είναι γνωστό το αν η πραιτέρω ελάττωση της θερμοκρασίας έχει και άλλες επιπτώσεις στο δείγμα (Drobnis, et al. 1993). Όπως έχουν δείξει μελέτες από μικροσκοπία κατάψυξης-θραύσης, οι δύο στιβάδες των φωσφολιπιδίων της μεμβράνης απομακρύνονται η μία από την άλλη χωρίς να μπορούν να επανέλθουν τελείως στην αρχική τους θέση μετά την απόψυξη [Holt, et al. 1984, De Leeuw, et al. 1990]. Βέβαια, αλλαγές συμβαίνουν επίσης και στις πρωτεΐνες που εντοπίζονται στη διπλοστιβάδα. Η απομάκρυνση των στιβάδων έχει σαν αποτέλεσμα οι πρωτεΐνες να συσσωρεύονται και να προκαλείται αλλαγή στην λειτουργικότητά τους, ειδικά αν λειτουργούν ως κανάλια ιόντων. Είναι γνωστό ότι η διαπερατότητα της μεμβράνης αυξάνεται κατά την κατάψυξη και πιθανά να εμπλέκονται, εκτός από τα κανάλια ιόντων και άλλες πρωτεΐνες που έχουν την δράση καναλιών (Robertson, et al. 1984, Robertson, et al. 1988).

Κατά τη διάρκεια της κατάψυξης σπέρματος, η μετάβαση από τη θερμοκρασία περιβάλλοντος στους -196°C δημιουργεί μια σειρά από φαινόμενα που επηρεάζουν τόσο τη δομή όσο και τη λειτουργία των σπερματοζωαρίων. Καθώς κατεβαίνει η θερμοκρασία κάτω από τους 5°C δημιουργούνται κρύσταλλοι πάγου στον εξωκυττάριο χώρο με συνέπεια να αυξάνονται οι διαλυμένες ουσίες και να δημιουργείται έτσι αυξημένη οσμωμοριακή πίεση. Τα σπερματοζωάρια βρίσκονται έτσι μέσα σε ένα υπέρτονο διάλυμα που αναγκάζει το νερό να μεταφερθεί από το εσωτερικό των σπερματοζωαρίων στο εξωκυττάριο χώρο (Mazur, 1984). Αν κάποια ποσότητα νερού παραμείνει στο εσωτερικό του κυττάρου τότε δημιουργούνται ενδοκυτταρικά κρύσταλλοι που καταστρέφουν το σπερματοζωάριο. Οι κρύσταλλοι που δημιουργούνται στο εσωτερικό των κυττάρων σε αυτές τις περιπτώσεις γίνονται ορατοί με την τεχνική της κρυο-μικροσκοπίας και σχετίζονται με θεωρητικά μοντέλα (Mazur, 2004). Το φαινόμενο αυτό ισχύει σε πολλές κατηγορίες κυττάρων, εκτός από τα σπερματοζωάρια, που φαίνεται να μην ακολουθούν αυτά τα πρότυπα (Gilmore, 2000). Όπως αναφέρει ο Morris σε πρόσφατη εργασία του δεν παρατηρήθηκε δημιουργία κρυστάλλων στο εσωτερικό των σπερματοζωαρίων σε ένα μεγάλο εύρος ρυθμών κατάψυξης (Morris, 2006)

Κρυοπροστατευτικές ουσίες

Η κρυοσυντήρηση απέκτησε ουσιαστικά μεγάλη ώθηση μετά το 1949, μετά την παρατήρηση του Polge ότι η γλυκερόλη προστατεύει τα κύτταρα στις θερμοκρασίες κρυοσυντήρησης (Polge, et al. 1949). Εκτός από τη γλυκερόλη και άλλα μόρια παρουσιάζουν κρυοπρο-

στατευτική δράση. Γενικά όλες οι κρυοπροστατευτικές ουσίες είναι μικρού ή μεγάλου μοριακού βάρους χημικά μόρια τα οποία προστατεύουν τα κύτταρα επειδή χαμηλώνουν το σημείο τήξεως του διαλύματος στο οποίο βρίσκονται (Wowk, 2007). Οι κρυοπροστατευτικές ουσίες μικρού μοριακού βάρους όπως η γλυκερόλη και το DMSO διαπερνούν την κυτταρική μεμβράνη και μπαίνουν στο εσωτερικό των κυττάρων γι' αυτό και ονομάζονται διεισδυτικά κρυοπροστατευτικά. Αντίθετα η σουκρόζη ή η γλυκόζη είναι ουσίες μεγάλου μοριακού βάρους που δεν μπορούν να μπουν στο εσωτερικό των κυττάρων και ανήκουν στην κατηγορία των μη διεισδυτικών κρυοπροστατευτικών - σε αυτή την περίπτωση η προστασία παρέχεται στα κύτταρα μέσω της αφυδάτωσης, το νερό απομακρύνεται από το κυτταρόπλασμα και έτσι δεν δημιουργούνται κρύσταλλοι πάγου ενδοκυτταρικά. Στα διαλύματα που περιέχονται οι κρυοπροστατευτικές ουσίες συνυπάρχουν ρυθμιστικά διαλύματα, παράγοντες που σταθεροποιούν την πλασματική μεμβράνη ή EDTA που δεσμεύει το ασβέστιο και άλλα (Keel et al, 1993). Η διαδικασία της κρυοσυντήρησης είναι γνωστό ότι προκαλεί αύξηση των ελευθέρων ριζών. Τα τελευταία χρόνια τα κρυοπροστατευτικά έχουν εμπλουτιστεί με αντιοξειδωτικές ουσίες, που θα προστατεύσουν τα σπερματοζώαρια από τις βλαβερές συνέπειες στην κινητικότητα και στην ποιότητα του DNA. Σε αυτά τα συμπληρώματα συγκαταλέγονται η βιταμίνη E (Kalthur, et al. 2011) ή φυτικά μόρια, όπως το Ceratonia siliqua η κοινή Κερωνία ή Κερατέα η έλλοβος με την λαϊκή ονομασία Χαρουπιά της οικογένεια φυτών Fabaceae και Leguminosae. (Does supplementation of sperm freezing/thawing media with Ceratonia siliqua improve detrimental effect of cryopreservation on sperm parameters and chromatin quality in normozoospermic specimens?, Faramarzi, et al. 2019)

Πρόσθεση και αφαίρεση του κρυοπροστατευτικού

Τα κρυοπροστατευτικά θα δράσουν σωστά εάν, τόσο η προσθήκη τους όσο και η αφαίρεσή τους από το διάλυμα που θέλουμε να κρυοσυντηρήσουμε γίνει με το σωστό τρόπο. Όταν προσθέτουμε το κρυοπροστατευτικό στο διάλυμα οι μετακινήσεις του νερού προκαλούν αυξομειώσεις στον όγκο των κυττάρων που θέλουμε να κρυοσυντηρήσουμε και αυτές οι μεταβολές του όγκου μπορεί να προκαλέσουν την καταστροφή των κυττάρων. Όταν προστίθεται το κρυοπροστατευτικό αυξάνεται η οσμωμοριακότητα του διαλύματος. Το νερό μετακινείται από το εσωτερικό στο εξωτερικό του κυττάρου και το κύτταρο συρρικνώνεται. Τα αντίθετα φαινόμενα θα παρατηρηθούν κατά την απομά-

κρυνση του κρυοπροστατευτικού από το διάλυμα. Το κύτταρο θα επιστρέψει στο κανονικό του όγκο όταν το κρυοπροστατευτικό αρχίσει να εισέρχεται στο εσωτερικό του κυττάρου εξισώνοντας τη συγκέντρωση του μέσα και έξω από αυτό.

Τα φαινόμενα συμβαίνουν όταν η προσθήκη του κρυοπροστατευτικού γίνεται σταδιακά και πρέπει να ακολουθείται συγκεκριμένος ρυθμός, που επιτρέπει στις αυξομειώσεις μεγέθους των κυττάρων να γίνονται εντός επιτρεπτών ορίων (Gao, et al. 1995, Gilmore, et al. 1997). Αντίθετα αν ο ρυθμός εισόδου ή ο ρυθμός απομάκρυνσης του κρυοπροστατευτικού δεν είναι ο ενδεδειγμένος οι αυξομειώσεις μεγέθους του κυττάρου ξεπερνούν τα επιτρεπτά του όρια και τότε η βλάβη είναι μη αντιστρεπτή (Merryman, 1970). Κύριο λόγο για αυτή την βλάβη αποτελεί η καταστροφή του κυτταροσκελετού που συγκρατεί το κυτταρόπλασμα (Hall et al. 1993, Saunders, et al. 1990). Βάσει των εργασιών των Gao, et al. και Gilmore, et al. τα σπερματοζώαρια δεν αλλοιώνονται αν το μέγεθος τους αυξηθεί κατά 110% ή αν συρρικνωθεί κατά 75% (Gao, et al. 1995, Gilmore, et al. 1997).

Ο ρυθμός κατάψυξης - απόψυξης

Μια ακόμη καθοριστική παράμετρος για την επιτυχή κρυοσυντήρηση είναι ο ρυθμός κατάψυξης και απόψυξης των κυττάρων. Ο ρυθμός κατάψυξης-απόψυξης δεν πρέπει να είναι ούτε πολύ ψηλός και ούτε πολύ χαμηλός για την επιτυχή διατήρηση και είναι διαφορετικός για κάθε κατηγορία κυττάρων. Όπως ήδη αναφέρθηκε, η πτώση της θερμοκρασίας έχει σαν αποτέλεσμα τη δημιουργία πάγου αρχικά τον εξωκυτταρικό χώρο. Αν ο ρυθμός κατάψυξης είναι πιο χαμηλός από τον ενδεδειγμένο όλη η ποσότητα του νερού μεταφέρεται από το εσωτερικό στο εξωτερικό του κυττάρου γεγονός που δημιουργεί αρνητική επίδραση στα κύτταρα λόγω της αυξημένης συγκέντρωσης διαλυμένων ουσιών στο εσωτερικό τους (Lovelock, 1953). Αντίθετα αν ο ρυθμός κατάψυξης είναι πιο υψηλός από τον ενδεδειγμένο τότε το νερό δεν προλαβαίνει να βγει στον εξωκυτταρικό χώρο παραμένει στο εσωτερικό του κυττάρου σχηματίζοντας κρυστάλλους πάγου που καταστρέφουν το κύτταρο (Mazur, 1984 & 2002).

Τα διαγράμματα του Mazur έχουν τη μορφή αναστραμμένου U που παρουσιάζει την επιβίωση των κυττάρων μετά την ψύξη-απόψυξη σε συνάρτηση με τον ρυθμό κατάψυξης (Mazur, 1963 & 1970). Ειδικά για τα σπερματοζώαρια έχει δείξει από τον Devismita ότι ο ιδανικός ρυθμός κατάψυξης των σπερματοζωαρίων υπολογίζεται κοντά στους 17°C/min (Devismita et al. 2012) λόγω του μικρού τους μεγέθους, του συγκεκριμένου

σχήματος τους και της διαπερατότητας της πλασματικής μεμβράνης του σπερματοζωαρίων (Devireddy, et al. 2000). Στην πράξη βέβαια όταν καταψύχουμε ένα δείγμα σπέρματος ο ρυθμός κατάψυξης είναι 0,5-1°C/min από τη θερμοκρασία περιβάλλοντος μέχρι τους 5°C ενώ ο ρυθμός αυξάνεται σε 1-10°C/min για θερμοκρασίες από 5°C έως -80°C και μετά τοποθετείται στο υγρό άζωτο (Di Santo et al. 2012).

Διατήρηση / προστασία της γονιμότητας

Η μεγάλη ανατροπή με την κρυοσυντήρηση γαμετών ήλθε στην διατήρηση γονιμότητας. Με τον όρο διατήρηση γονιμότητας αναφερόμαστε στην κρυοσυντήρηση ανθρώπινων γαμετών, δηλαδή σπέρματος / ωαρίων, ορχικού / ωοθηκικού ιστού ή ακόμα και εμβρύων για μελλοντική χρήση, όταν η ανάγκη για τεκνοποίηση έρθει αργότερα από την τρέχουσα υγιή αναπαραγωγική ηλικία. Πρόκειται, πράγματι, για μια διαδικασία που αφορά συνεχώς ένα αυξανόμενο αριθμό ανθρώπων, όπου οι κοινωνικές και οικονομικών συνθηκών τα τελευταία χρόνια, αλλά και τα απροσδόκητα νοσήματα και οι θεραπείες τους καθυστερούν την ηλικία τεκνοποίησης ή δυσχεραίνουν την αναπαραγωγική λειτουργία τόσο του άνδρα όσο και της γυναίκας.

Στον άνδρα, η διατήρηση της γονιμότητας αναφέρεται περισσότερο σε ογκολογικούς ασθενείς, αν και υπάρχουν και άλλες περιπτώσεις όπως αυτοάνοσα, νευρολογικά, μεταβολικά ή γενετικά νοσήματα που μπορούν να προκαλέσουν υπογοναδισμό και αζωοσπερμία/ολιγοζωοσπερμία στους άνδρες. Επιπλέον, υπάρχουν και άλλες περιπτώσεις στις οποίες πρέπει να λαμβάνεται υπόψη η διατήρηση της γονιμότητας, όπως μια ποικιλία κοινωνικών λόγων που μπορεί να καταλήξουν σε παρεμπόδιση ή καθυστέρηση της τεκνοποίησης σε κατά τα άλλα γόνιμα άτομα (Nasab, 2019).

Οι τρόποι διατήρησης της γονιμότητας για τους άνδρες επιτυγχάνεται με την κρυοσυντήρηση σπέρματος / ορχικού ιστού και με την προστασία της γονιμότητας με γοναδική «θωράκιση» (*gonadal shielding*). Ως πιο αποτελεσματική μέθοδος θεωρείται η κρυοσυντήρηση σπερματοζωαρίων. Η συλλογή δείγματος σπέρματος από τον άνδρα γίνεται με αυνανισμό ή με άλλες μεθόδους, όπως η βιοψία όρχεως για λήψη σπερματοζωαρίων (TESE-Testicular Sperm Extraction) και ακολουθεί το επόμενο στάδιο όπου τα δείγματα καταψύχονται σε υγρό άζωτο και αποθηκεύονται για μελλοντική χρήση (Valiour 2019).

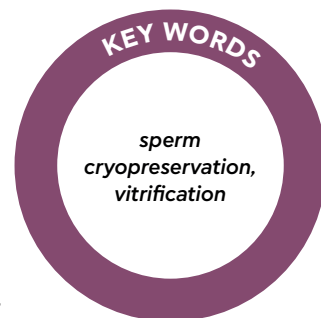
Στις περιπτώσεις όπου η ακτινοθεραπεία είναι αναπόφευκτη, η γοναδική «θωράκιση», ειδικά στα παιδιά, μπορεί να είναι ενδεδειγμένη καθώς φαίνεται να περιορίζει τις επιπτώσεις της ακτινοβολίας, χρησιμοποιώντας την κάλυψη των όρχεων με «φράγματα» μολύβδου, για να αποφευχθεί η άμεση έκθεση σε ακτινοβολία, αν και η καλύτερη επιλογή για τη διατήρηση της γονιμότητας σε ενήλικες άνδρες και ανήλικα παιδιά είναι η κρυοσυντήρηση σπέρματος (Fahy 2015).

Είναι κοινός τόπος ότι η διατήρηση και η προστασία της γονιμότητας αποτελεί αναφαίρετο δικαίωμα ανδρών-γυναικών και ειδικά στις μέρες μας όπου η τεχνολογική αναβάθμιση των διαδικασιών της υποβοηθούμενης αναπαραγωγής, καθώς και τα αυξημένα ποσοστά επιβίωσης μετά την κρυοσυντήρηση παρέχουν την δυνατότητα και την ευκαιρία σε όσους αντιμετωπίζουν ένα νόσημα με συνοδό θεραπεία η οποία ενδεχομένως επηρεάσει την γονιμότητά τους ή για κοινωνικούς και επαγγελματικούς λόγους έχουν αποφασίσει να μεταθέσουν χρονικά την τεκνοποίηση και τη δημιουργία οικογένειας. ●

Σύγκρουση συμφερόντων: Καμία

Abstract

Many couples in recent years will resort to some form of assisted reproduction to solve their fertility problems. Cryopreservation of gametes, along with embryo cryopreservation, is now an integral part of assisted reproduction techniques. This article focuses on cryopreservation of spermatozoa, referring initially to the changes that spermatozoa undergo when they are exposed to very low temperatures. The following describes how cryoprotectants improve sperm viability after thawing. Finally, the laboratory details that are crucial for successful cryopreservation of spermatozoa are described, such as the rate of addition of cryoprotectants and the rate of freezing.





Βιβλιογραφική παραπομπή άρθρου

Ζεγκινιάδου Θ, Δροσίτη Ι. Κρυσσυντήρηση γαμετών: Παρόν και μέλλον. *Αναπαραγωγή* 2019; 4: 46-52.

Βιβλιογραφικές παραπομπές

1. Ackerman DR. Damage to human spermatozoa during storage at warming temperatures. *International Journal of Fertility* 1968; 13: 220-225.
2. Behrman SJ Sawada Y. Heterologous and homologous inseminations with human semen frozen and stored in a liquid-nitrogen refrigerator. *Fertility and Sterility* 1966; 17(4):457-466.
3. David G, Czyglik F, Mayaux MJ, et al. Artificial insemination with frozen sperm: Prolocol, method of analysis and results for 1188 women. *Br. J Obstet Gynaecol* 1980; 87: 1022-1028.
4. De Leeuw FE, Chen HC, Colenbrander B, Verkleij AJ. Cold-induced ultrastructural changes in bull and boar sperm plasma membranes. *Cryobiology* 1990; 27: 171-183.
5. Devireddy RV, Swanlund DJ, Roberts KP, Pryor JL, Bischof JC. The effect of extracellular ice and cryoprotective agents on the water permeability parameters of human sperm plasma membrane during freezing. *Hum Reprod* 2000; 15: 1125-1135.
6. Devismita D, Kumar A, Krishna Kumar R. Cryopreservation of Human sperm: Effect of Cooling Rate on Intracellular Ice Formation. *Int J Sci Engin Res* 2012; 3(6).
7. Di Santo M, Tarozzi N, Nadalini M, Borini A. Human Sperm Cryopreservation: Update on Techniques, Effect on DNA Integrity, and Implications for ART. *Adv Urol* 2012; 2012: 854837.
8. Drobni EZ, Crowe LM, Berger T, Anchoroguy T, Overstreet JW, Crowe JH. Cold shock damage is due to lipid phase transitions in cell membranes: A demonstration using sperm as a model. *J Exp Zool* 1993; 265: 432-437.
9. Fahy GM. The relevance of cryoprotectant toxicity to cryobiology. *Cryobiology* 1986; 23: 1-13.
10. Fahy GM, Wowk B. Principles of cryopreservation by vitrification. *Methods Mol Biol* 2015; 1257: 21-82.
11. Faramarzi A, Aghaz F, Golestan Jahromi M, Bakh-tiari M, Khazaei M. Does supplementation of sperm freezing/thawing media with Ceratonia siliquaimprove detrimental effect of cryopreservation on sperm parameters and chromatinquality in normozoospermic specimens? *Cell Tissue Bank* 2019; 20(3): 403-409.
12. Gao D, Liu J, Liu C et al. Prevention of osmotic injury to human spermatozoa during addition and removal of glycerol. *Hum Reprod* 1995; 10: 1109-1122.
13. Gilmore JA, Liu J, Gao DY et al. Determination of optical cryoprotectants for their addition and removal from human spermatozoa. *Hum Reprod* 1997; 12: 112-118.
14. Gilmore JA, Liu J, Woods EJ, Peter AT, Crister JK. Cryoprotective agent and temperature effects on human sperm membrane permeabilities; convergence of theoretical and empirical approaches for optimal cryopreservation methods. *Hum Reprod* 2000; 15: 335-343.
15. Hall SM, Evans J, Haworth SG. Influence of cold preservation on the cytoskeleton of cultured pulmonary arterial endothelial cells. *Am J Respir Cell Mol. Biol* 1993; 9: 106-114.
16. Holt WV, North RD. Partially irreversible cold-induced lipid phase transitions in mammalian sperm plasma membrane domains: Freezefracture study. *J. Exp. Zool* 1984; 230: 473-483.
17. Isachenko E, Isachenko V, Katkov II, et al. Vitrification of mammalian spermatozoa in the absence of cryoprotectants: From past practical difficulties to present success. *Reproductive BioMedicine Online* 2003; 6: 191-200.
18. Isachenko E, DNA integrity and motility of human spermatozoa after standard slow freezing versus cryoprotectant-free vitrification. *Hum Reprod* 2004; 19(4): 932-939.
19. Kalthur G, Raj S, Thiyagarajan A, Kumar S, Kumar P, Adiga SK. Vitamin E supplementation in semen-freezing medium improves the motility and protects sperm from freeze-thaw-induced DNA damage. *Fertil Steril* 2011 1; 95(3): 1149-1151.
20. Keel BA, Webster BW. Semen cryopreservation

- methodology and results. In Barrat and Cooke ID, eds. Donor Insemination. *Cambridge University Press* 1993; 96-71.
21. Lovelock JE. The haemolysis of human red blood-cells by freezing and thawing. *Biochim Biophys Acta* 1953; 10:414-426.
 22. Mazur P. Freezing of living cells: mechanisms and implications. *Am J Physiol* 1984; 247: 125-142.
 23. Mazur P. Principles of cryobiology. In *Life in the frozen State*, eds Fuller BJ, Lane N and Benson EE. *CRC Press, Boca Raton FL*, 2004; 3-65.
 24. Mazur P. Kinetics of water loss from cells at sub-zero temperatures and the likelihood of intracellular freezing. *J Gen Physiol* 1963; 47: 347-369.
 25. Mazur P, Koshimoto C. Is intracellular ice formation the cause of death of mouse sperm frozen at high cooling rates? *Biol Reprod* 2002; 66: 1485-90.
 26. Mazur P, Leibo SP, Chu EH. A two-factor hypothesis of freezing injury. Evidence from Chinese hamster tissue-culture cells. *Exp Cell Research* 1972; 71: 345-355.
 27. Merryman HT. The exceeding of a minimum tolerable cell volume in hypertonic suspension as a cause of freezing injury. In *The frozen cell*, eds Wolstenholme G.E., O' Connor M. London. *Churchill Press* 1970; 565-569.
 28. Morris GJ. Rapidly cooled human sperm: No evidence of intracellular ice formation. *Human Reproduction* 2006; 21: 2075-2083.
 29. Nasab S, Shah JS, Nurudeen K, Jooya ND, Abdallah ME, Sibai BM. Physicians' attitudes towards using elective oocyte cryopreservation to accommodate the demands of their career. *J Assist Reprod Genet* 2019; 36(9):1 935-1947.
 30. Ofeim O, Brown TA, Gilbert BR. Effects of serial thaw-freeze cycles on human sperm motility and viability. *Fertil Steril* 2001; 75: 1242-1243.
 31. O'Neill HC, Improved cryopreservation of spermatozoa using vitrification: Comparison of cryoprotectants and a novel device for long-term storage. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics* 2019; 36(8): 1713-1720.
 32. Perloff WH, Steinberger E, Sherman JK. Conception with human spermatozoa frozen by nitrogen vapor technic. *Fertil Steril* 1964; 25: 501-504.
 33. Polge C, Smith A, Parkes A. Revival of spermatozoa after vitrification and dehydration at low temperatures. *Nature* 1949; 164: 666.
 34. Robertson L, Watson PF. Calcium transport in diluted or cooled ram semen. *J. Reprod. Fertil* 1986; 77: 177-185.
 35. Robertson L, Watson PF, Plummer JM. Prior incubation reduces calcium uptake and membrane disruption in boar spermatozoa subjected to cold shock. *Cryo-Lett* 1988; 9: 286-293.
 36. Saunders KM, Parks JE. Effects of cryopreservation procedures on the cytology and fertilization rate of *in vitro*-matured bovine oocytes. *Biol Reprod* 1999; 61: 178-87.
 37. Sharma V. Sperm storage for cancer patients in the UK: A review of current practice. *Hum Reprod* 2001; 26: 2935-2943.
 38. Sherman JK. Research on frozen human sperm. In 20th Annual Meeting of the American Society for the Study of Sterility. *Bal Harbour* 1964.
 39. Sherman JK, Bunge RG. Observations on preservation of human spermatozoa at low temperatures. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine. Soc Exp Biol Med* 1953; 82: 686-8.
 40. Shufaro Y, Schenker JG. Cryopreservation of human genetic material. *Annals of The New York Academy of Sciences* 2010; 1205: 220-224.
 41. Sherman JK. Improved methods of preservation of human spermatozoa by freezing and freezing-drying. *Fertil Steril* 1963; 14: 49-64.
 42. Tyler JP, Kime L, Cooke S et al. Temperature change in cryo-containers during short exposure to ambient temperatures. *Hum Reprod* 1996; 11: 1510-1512.
 43. Valipour A, Osowski S, Rey J, Ochsendorf F, Weberschock T. Semen cryopreservation in adolescent and adult men undergoing fertility compromising cancer treatment: A systematic review. *Andrologia* 2019; 4:e13392.
 44. Woods EJ, Benson JD, Aqca Y, Critser JK. Fundamental cryobiology of reproductive cells and tissues. *Cryobiology* 2004; 48: 146-156.
 45. Wowk Br. How cryoprotectants work. *Cryonics* 2007; 28: 6-7.

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-ερευνητικού, 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

νυμο 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.λπ.

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 αποφαίνονται 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.



Γενετική διάγνωση • Κλινική Γενετική • Έρευνα

Το εργαστήριο Genesis Genoma Lab στελεχώνεται από Γενετιστές με ολοκληρωμένη κλινική και εργαστηριακή εμπειρία, παρέχοντας ασφάλεια για την ακρίβεια και εγκυρότητα των γενετικών αναλύσεων και της κλινικής γενετικής:

- Γενετική Συμβουλευτική
- Μη Επεμβατικός Προγεννητικός Έλεγχος (NIPT)
- Προεμφυτευτική Γενετική Διάγνωση (PGD)
- Μοριακός Καρυότυπος (aCGH)
- Μονογονιδιακά Νοσήματα
- Μοριακή Ογκολογία
- Αλληλούχιση Νέας Γενιάς (NGS)

Λεωφόρος Κηφισίας 302, Χαλάνδρι, 152 32 • Τηλ.: 210 68 03 130 • Fax: 210 68 94 778
email: info@genlab.gr • website: www.genlab.gr