

ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ**ΣΥΓΓΕΝΕΙΣ ΔΙΑΜΑΡΤΙΕΣ ΣΕ ΝΕΟΓΝΑ ΑΠΟ ART:
ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ****Γ. Φιλιππίδης¹, Θ. Μ. Διακάκος², Σ. Καλέργη³****ΠΕΡΙΛΗΨΗ**

Φαίνεται ότι ο κίνδυνος για γονιδιακές μεταλλάξεις είναι αυξημένος στα άρρενα παιδιά που γεννήθηκαν με υποβοηθούμενη αναπαραγωγή, άσχετα αν ο ολιγοσπερμικός πατέρας τους έχει γενετικό υπόβαθρο. Στα περιστατικά όπου έγινε εμβρυομεταφορά σε φέρουσα μήτρα δεν υπήρχαν χρωμοσωμικά προβλήματα. Η αναλογία των νεκρών νεογνών, της περιγεννητικής θνησιμότητας και νοσηρότητας είναι διπλάσια και μάλλον οφείλεται στις πολύδυμες κηύσεις. Έτσι, παρατηρείται αυξημένη προωρότητα και περισσότερα λιποβαρή νεογνά. Αυτά συνεισφέρουν στην άυξηση των ποσοτών δυσγενείας, εγκεφαλικής παράλυσης, συνδρόμου αναπνευστικής δυσχέρειας, εγκεφαλικής αιμορραγίας, σηψαιμίας, κήλης, πυλωρικής στένωσης, αλλά και X-συνδεδεμένης νόσου, εύθραυστου X συνδρόμου, μυϊκής δυστροφίας Duchenne/Becker και αιμορροφιλίας A/B. Αυξημένη συχνότητα είχαν και οι αυτοσωματικές κυρίαρχες νόσοι, π.χ. Huntington, μυτοκονική δυστροφία και δομικές χρωμοσωμικές ανωμαλίες. Η PGD πρέπει να γίνεται σε ζευγάρια που βρίσκονται σε ομάδα υψηλού κινδύνου για γενετικό νόσημα. Φαίνεται ότι η πηγή προέλευσης των σπερματοζωαρίων δεν επηρεάζει τον καρυότυπο των νεογνών. Οι μεθοδοί FISH και PCR είναι αρκετά αξιόπιστες για τον έλεγχο των φυλοσύνδετων νοσημάτων X και Y, αλλά και για τα γενετικά νοσήματα ετεροζυγωτίας, όπως είναι η κυστική ίνωση, η νόσος Tay-Sachs, το σύνδρομο Lesch-Nyham κτλ. Η PGD αποδείχθηκε αξιόπιστη και αβλαβής για τα έμβρυα με πολυδύναμα εμβρυϊκά κύτταρα. Επίσης, φαίνεται ότι μόνο η μητρική αιτία υπογονιμότητας και η ηλικία της μητέρας μπορεί να σχετίζονται με στατιστικά υψηλή πιθανότητα εμφάνισης συγγενών ανωμαλιών. Δεν υπάρχει αύξηση αυτών σε περιπτώσεις υποβοηθούμενης εμφύτευσης με laser. Τα νεογνά που γεννιούνται μετά από ICSI παρουσιάζουν περισσότερες ανωμαλίες απ' ό,τι τα παιδιά από IVF ή από φυσιολογική επαφή. Τα νεογνά όμως από κατάψυξη δεν εμφάνισαν διαφορά στις συγγενείς ανωμαλίες.

Αναφέρεται, συμπερασματικά, ότι η βιοψία βλαστοκύστεων είναι αβλαβής και πολύ βοηθητική για τη γέννηση υγιών νεογνών και μειώνει τις αυτόματες αποβολές ή τις παλίνδρομες κηύσεις. Παρόλα αυτά η ART έχει προσφέρει πολύ περισσότερα στην αναπαραγωγική ιατρική, παρά τις επιπλοκές που φαίνεται ότι αυξάνονται, τόσο στα νεογνά, όσο και στις μητέρες, αλλά και στο κόστος περίθαλψης. Βοήθησε δε πάρα πολύ στην ανάπτυξη του κλάδου της νεογονολογίας γενικά και του καλού κοινωνικοβιοτικού επιπέδου της νέας γενιάς, δεδομένου ότι με τις μεθόδους προγεννητικού και προεμφυτευτικού ελέγχου, αλλά και με την αύξηση της συχνότητας εκτέλεσης της καισαρικής τομής, έρχονται στον κόσμο λιγότερα παιδιά με συγγενή ή χρωμοσωμικά προβλήματα.

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Σκοπός μας είναι η προσέγγιση των δημοσιεύσεων που αναφέρονται στις συγγενείς και χρωμοσωμικές ανωμαλίες παιδιών που γεννήθηκαν μέχρι σήμερα, σε διάφορες χώρες, από ART (τεχνικές υποβοηθούμενης αναπαραγωγής), τόσο με IVF (εξωσωματική γονιμοποίηση) ή ICSI (μικρογονιμοποίηση), όσο και μετά από κρυοσυντήρηση των εμβρύων για διάφορο χρονικό διάστημα ή μετά από PGD (προεμφυτευτική γενετική διάγνωση). Επισημαίνεται ακόμη η νοσηρότητα και η θνησιμότητα των νεογνών που προέρχονται από αυτές τις τεχνικές και συγκρίνονται με εκείνα που γεννήθηκαν μετά από φυσιολογική σεξουαλική επαφή στο γενικό πληθυσμό.

Όπως είναι γνωστό, η υπογονιμότητα από μόνη της δεν επηρεάζει το νεογνό που θα γεννηθεί, σωματικά ή διανοητικά, έχει όμως σοβαρή επίδραση στην ψυχολογία του ζεύγους και στην κοινωνικοοικονομική του κατάσταση. Τις τελευταίες δύο δεκαετίες, έχει επιτευχθεί σοβαρή πρόοδος στη θεραπεία υπογόνιμων ζευγαριών, ειδικά με τις νέες μεθόδους της τεχνικής της εξωσωματικής γονιμοποίησης με μικροχειριστή και κρυοκατάψυξη των εμβρύων, όπως και της προεμφυτευτικής γενετικής διάγνωσης αυτών. Έτσι, πιστεύεται ότι σήμερα όλα τα ζευγάρια που έχουν απόφραξη σαλπίγγων ή σοβαρό πρόβλημα σπέρματος μπορούν, με μεγάλες πιθανότητες, να αποκτήσουν το δικό τους παιδί. Το θέμα είναι το παιδί αυτό να είναι υγιές, τόσο σωματικά όσο και διανοητικά.

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Όπως είναι γνωστό, η μέθοδος της εξωσωματικής γονιμοποίησης (IVF) βοήθησε, από το 1978 μέχρι σήμερα, χιλιάδες ζευγάρια παγκοσμίως να αποκτήσουν το δικό τους παιδί, είτε η αιτία της υπογονιμότητάς τους ήταν οι πολυκυστικές ωοθήκες, η ανωορρηξία, οι σαλπινγίτιδες, η ενδομητρίωση, είτε ο ανδρικός παράγοντας. Η επιστήμη στις περιπτώσεις της υποβοηθούμενης αναπαραγωγής προσπαθεί, ώστε τα ζευγάρια να αποκτήσουν το δικό τους παιδί και συγχρόνως επιθυμεί αυτό να έχει τις ελάχιστες πιθανότητες να παρουσιάσει συγγενείς διαμαρτίες ή χρωμοσωματικές βλάβες. Από το 1978, πολλές μελέτες εστιάζουν στη διερεύνηση αυτής της κατεύθυνσης και συνεχίζονται παγκόσμια: οι σχετικές αναφορές έχουν δώσει χρήσιμα συμπεράσματα μέχρι σήμερα.

Οι κυριότερες μελέτες που έγιναν παγκοσμίως έδειξαν τα ακόλουθα αποτελέσματα από το 1978: Οι Feng C et al, το 2008, βρήκαν ότι όλα τα παιδιά είχαν ένα φυσιολογικό XY καρυότυπο, αλλά μόνο σε ένα από τα 19 παιδιά από IVF και σε 3 (16,7%) από τα 18 νεογά από ICSI βρήκαν de novo (εκ νέου) μικροελλείψεις στο Y χρωμόσωμα (5,3%). Η επίπτωση της de novo Y μικροελλείψης στα άρρενα παιδιά που γονιμοποιήθηκαν μετά από ICSI ή IVF ήταν στατιστικά σημαντικά υψηλότερη από εκείνη που η σύλληψή τους έγινε φυσιολογικά, δηλ. 10,8% και 0% αντίστοιχα. Στα 4 παιδιά με μικροελλείψεις χρωμοσωμάτων, ένα είχε και υποσπαδία. Έτσι, συμπεράναν ότι ο κίνδυνος για γονιδιακές μεταλλάξεις ήταν αυξημένος στα παιδιά (πιθανώς άρρενα) που γεννήθηκαν με υποβοηθούμενη αναπαραγωγή, άσχετα αν οι πατεράδες τους είχαν φυσιολογική σπερματογένεση και γενετικό υπόβαθρο¹.

Οι Sheean LA et al μελέτησαν νεογά που γεννήθηκαν μετά από εμβρυομεταφορά σε φέρουσες γυναίκες που είχαν φυσιολογικούς κύκλους, τους οποίους συγχρόνως με τις δότριες των ωαρίων. Περιγράφησαν έξι περιπτώσεις, εκ των οποίων η μία απέβαλε στην 6η εβδ. κύησης, οι τέσσερις είχαν ομαλή τελειώμηνη κύηση και η τελευταία κωφορούσε ακόμα με επιτυχία. Όλα τα νεογά είχαν ταυτοποιηθεί με HLA-test με τις δότριες ωαρίων. Οι δότριες είχαν δυσλειτουργική μήτρα ή απουσία αυτής, υπεβλήθηκαν δε σε φαρμακευτική διέγερση ωοθηκών και ωοληψία. Τα νεογά των γυναικών αυτών δεν παρουσίασαν χρωμοσωματικά προβλήματα στον έλεγχο που ακολούθησε².

Σχεδόν ταυτόχρονα, το Βασιλικό Κολέγιο των Μαίων στο Λονδίνο μελέτησε το 1990 τα παιδιά που γεννήθηκαν στην Αγγλία, Ουαλία και Σκωτία, από το 1978 έως το 1987 με τεχνικές υποβοηθούμενης αναπαραγωγής (IVF ή GIFT). Η μελέτη αφορούσε σε 1.267 περιπτώσεις εγκύων γυναικών που γέννησαν 1.581 ζώντα ή νεκρά νεογά. Βρήκαν ότι οι αναλογίες αρρένων προς θήλεα νεογά ήταν 1,07/1,00 και το 23% ήταν πολύδυμες κηήσεις (249 από 1.092), ενώ στις περιπτώσεις με φυσιολογική σύλληψη αυτό το ποσοστό ήταν 1%. Το 24% των νεογνών (δηλ. 278 από 1.015) ήταν πρόωρα, σε σύγκριση με το 6% εκείνων μετά από φυσιολογική σύλληψη. Το 32% των νεογνών (406 από 1.269 νεογά) ζύγιζε λιγότερο από 1.560 gr, σε σύγκριση με το 7% εκείνων που συλλαμβάνονταν φυσιολογικά. Η αναλογία των νεκρών νεογνών, της περιγεννητικής θνησιμότητας και της νεογνικής νοσηρότητας ήταν διπλάσια από το εθνικό ποσοστό των κρατών και αυτό αποδόθηκε στο υψηλό ποσοστό των πολύδυμων κηήσεων. Παρατηρήθηκε ακόμα ότι από τα 1.581 νεογά, στα 35 ανευρέθηκαν μία ή περισσότερες συγγενείς διαμαρτίες στον έλεγχο που έγινε την πρώτη εβδομάδα της ζωής τους (2,2%). Ο τύπος της δυσγενεσίας ήταν ποικίλος και ο αριθμός των νεογνών που έπασχαν ήταν μικρός για την κάθε περίπτωση³.

Μελέτες απέδειξαν επίσης ότι υπήρχαν χρωμοσωματικές ανωμαλίες σε 14,3% των αζωοσπερμικών ανδρών, ενώ ο μέσος όρος στο γενικό πληθυσμό ήταν 10,2%. Χρωμοσωματικές ανωμαλίες που συμπεριλαμβάνουν και τις γονοσωματικές βλάβες παρατηρήθηκαν σε 5 περιπτώσεις ανδρών με αζωοσπερμία. Μία περίπτωση ήταν μετάθεση Robertson, μία περίπτωση ήταν τρισωμία 7 (μωσαϊκισμός), μία είχε ελλείψεις στο χρωμόσωμα 16 και μία είχε χρωμοσωματικό δείκτη.

Επιπλέον, παρατηρήθηκαν χρωμοσωματικές ποικιλίες σε 33 περιπτώσεις (37,5%) στο σύνολο των αζωοσπερμικών ανδρών. Η πιο συχνή ήταν Y 9h στα φυλετικά χρωμοσώματα, ενώ το αυξημένο μήκος στην ετεροχρωματίνη και στους δορυφόρους παρατηρήθηκε και στα αυτοσωματικά χρωμοσώματα. Συμπεραίνεται έτσι, ότι η υψηλή συχνότητα χρωμοσωματικών ανωμαλιών μεταξύ στείρων ανδρών συνεπάγεται τον κατά ρουτίνα κυτταρογενετικό έλεγχο πριν την προσφυγή στην τεχνητή γονιμοποίηση, ενώ συγχρόνως συνιστάται η διαχρονική παρακολούθηση των άρρενων νεογνών που γεννιούνται μετά από γονιμοποίηση με ICSI⁴.

Στο Ισραήλ φάνηκε, σε μελέτη που αφορούσε σε δύο χρονικές περιόδους, από το 1986-1994 και από το 1995-2002, ότι η τεχνητή γονιμοποίηση σχετίζεται με αυξημένη συχνότητα συγγενών ανωμαλιών, λιποβαρή νεογά και γενετικά νοσήματα. Κατά την πρώτη χρονική περίοδο, γεννήθηκαν 31.007 νεογά, εκ των οποίων τα 278 με IVF. 26 από αυτά είχαν μεγάλες ανωμαλίες (9,35%), ποσοστό 2,3 φορές μεγαλύτερο από ότι στο γενικό πληθυσμό (4,05%). Κατά τη δεύτερη χρονική περίοδο, γεννήθηκαν 53.208 νεογά, εκ των οποίων τα 1.632 με υποβοηθούμενη αναπαραγωγή. Σοβαρές ανωμαλίες βρέθηκαν σε 147 παιδιά από IVF (9%), δηλ. 1,75 φορές μεγαλύτερο από ότι στο γενικό πληθυσμό (5,18%). Η ανάλυση των κλινικών χαρακτηριστικών των παιδιών από ART με σοβαρές συγγενείς ανωμαλίες έδειξε ότι προήλθαν από πρόωρο τοκετό σε ποσοστό 70,3% και το 76,5% ήταν λιποβαρή. Το 58,6% ήταν δίδυμα και το 11,7% ήταν τριδύμα. Η θεραπεία με ART στη δεύτερη χρονική περίοδο αυξήθηκε κατά 3,4 φορές. Πρέπει λοιπόν

να ενημερώνονται τα ζευγάρια για τις συγγενείς ανωμαλίες, τα πρόωρα και τα λιποβαρή νεογνά, όταν πρόκειται να υποβληθούν σε θεραπεία υπογονιμότητας με ART⁵.

Αυτό καταδείχθηκε και σε έρευνα το 2005, όπου αναφέρθηκε ότι οι τεχνικές υποβοηθούμενης αναπαραγωγής είναι αποτελεσματικές και ασφαλείς τεχνικές για την υπογονιμότητα, αλλά και ότι παρουσιάστηκε αυξημένη συχνότητα σε σοβαρές δυσγενεσίες, λιποβαρή νεογνά και άλλες περιγεννητικές επιπλοκές σε αυτά τα παιδιά (εγκεφαλική αιμορραγία λόγω προωρότητας, σύνδρομο αναπνευστικής δυσχέρειας, νεκρωτική εντεροκολίτιδα, σηψαιμία κ.ά.). Αναφέρθηκαν περιπτώσεις με Beckwith-Wiedemann σύνδρομο ως και Angelman σύνδρομο⁶.

Ακολούθως, οι εργασίες που έγιναν στην Ολλανδία για προεμφυτευτική διάγνωση (PGD), σε μια χρονική περίοδο 10 ετών (1993-2003), έδειξαν ότι 691 ζευγάρια προχώρησαν σε PGD και ότι η πιο συχνή αιτία ήταν η X-συνδεδεμένη νόσος (30%), το εύθραστο X σύνδρομο, η μυϊκή δυστροφία Duchenne/Becker και η αιμορροφιλία A/B. Μετά ακολουθούσαν οι αυτοσωματικές κυρίαρχες νόσοι (26%), όπως η νόσος Huntington, η μυοτονική δυστροφία και οι δομικές χρωμοσωματικές ανωμαλίες (24%). Συνολικά 120 γυναίκες υπεβλήθησαν σε 260 κύκλους PGD. Ένα έμβρυο μεταφέρθηκε σε 158 κύκλους και αυτό οδήγησε σε 45 επιτυχείς κηύσεις. Το ποσοστό κηύσεως ήταν 17% ανά κύκλο που άρχισε και 28% σε κύκλο ανά εμβρυομεταφορά. Γεννήθηκαν 29 παιδιά μονήρη, όπως επίσης 8 ζεύγη διδύμων και 1 περίπτωση τριδύμων. Δεν υπήρξαν λάθη διαγνώσεων και κανένα από τα νεογνά δεν είχε συγγενή ανωμαλία. Συμπεραίνεται λοιπόν, ότι η PGD πρέπει να γίνεται σε ζευγάρια που βρίσκονται σε ομάδα υψηλού κινδύνου για γενετικό νόσημα⁷.

Στη βιβλιογραφία της Τουρκίας αναφέρεται, το 2004, μελέτη στην οποία ανεβρέθηκαν ανώμαλοι χρωματότυποι σε 17 περιπτώσεις (1,5%), από 1.136 έμβρυα. 8 (0,7%) από αυτά ήταν από μονήρεις κηύσεις και 9 (0,8%) ήταν από δίδυμες. Δεν υπήρχε αξιόλογη διαφορά στα αυτοσωματικά χρωμοσώματα ή τον αριθμό και τη δομή των φυλοσύνδετων χρωμοσωμάτων στον έλεγχο καρτύπου, τόσο των μονήρων όσο και των διδύμων εμβρύων. Αναφέρθηκε, όμως, ανώμαλος αριθμός στα αυτοσωματικά χρωμοσώματα (πιο συχνές δηλ. ανωμαλίες) στα μονήρη (2,3%) από ό,τι στα δίδυμα (1,1%). Δεν υπήρχε σαφής διαφορά στις χρωμοσωματικές ανωμαλίες ανάμεσα σε περιπτώσεις που έγινε ICSI κατόπιν εκσπερμάτωσης (1,9%) και λήψης σπερματοζωαρίων από τον όρχι (1,5%). Δεν παρατηρήθηκε επίσης διαφορά στη συχνότητα χρωμοσωματικών βλαβών ανάμεσα σε έμβρυα από ICSI λόγω ανδρικού παράγοντα (1,8%), συγκρινόμενα με έμβρυα από ICSI στα οποία ήταν η σωστή επιλογή για θεραπεία υπογονιμότητας (λόγω άλλων παραγόντων-0,9%). Συμπεραίνεται έτσι, ότι η πηγή προέλευσης των σπερματοζωαρίων δεν επηρεάζει τον καρτύπο των νεογνών που συνελήφθησαν με ICSI. Τα νεογνά από ICSI όμως, λόγω σοβαρής ολιγο-ασθενοσπερμίας, έχουν σημαντικά υψηλότερη συχνότητα ανώμαλου καρτύπου. Αυτός ο κίνδυνος είναι ο ίδιος ανάμεσα σε διαφορετικές ομάδες υπογόνιμων ομάδων⁸.

Το 2004 ανακινώθηκε ότι η μέθοδος FISH για PGD είναι αξιόπιστη για την ανάδειξη χρωμοσωματικών ανωμαλιών των εμβρύων, πράγμα που είναι συνήθης αιτία για αυτόματες αποβολές σε έμβρυα με χρωμοσωματικές βλάβες. Δέκα ζευγάρια στην Κίνα υπεβλήθησαν σε εξέταση PGD με FISH κατά τη διάρκεια της IVF θεραπείας τους (4 ζεύγη ήταν σε ομάδα υψηλού κινδύνου για χρωμοσωμική ανωμαλία και τα 6 ζεύγη στείρα). Την 3η μέρα μετά την ωοληψία, ένα ή δύο βλαστομερίδια είχαν αναρροφηθεί από κάθε έμβρυο. Την επομένη μέρα, τα έμβρυα που δεν είχαν χρωμοσωματικές ανωμαλίες μεταφέρθηκαν στη μήτρα. Ανάμεσα στα 54 έμβρυα που εξετάστηκαν με τη μέθοδο FISH, τα 30 φάνηκαν να έχουν χρωμοσωματικές ανωμαλίες. Τα 24 υγιή έμβρυα μεταφέρθηκαν στη μήτρα και έδωσαν 4 κλινικές κηύσεις, δύο από τις οποίες οδήγησαν στη γέννηση δύο φυσιολογικών νεογνών. Υπήρξε όμως μία σαλπινγική κήση και μία που διαρκούσε ακόμα⁹.

Ο Lambert ανέφερε το 2003 στον Καναδά ότι η συχνότητα των προβλημάτων υγείας στα μονήρη έμβρυα από ART είναι μεγαλύτερη απ' ό,τι στα μονήρη έμβρυα που προέρχονται από αυτόματες κηύσεις. Δυνατές αιτίες μπορεί να είναι η ίδια η τεχνολογία ART, η διέγερση των ωοθηκών (τα φάρμακα), αλλά και η υπογονιμότητα από μόνη της. Καταγράφηκε βιβλιογραφία που αναφέρει πρόωρο τοκετό, λιποβαρή νεογνά, περιγεννητική θνησιμότητα και μεγάλα προβλήματα κατά τη γέννηση παιδιών που η «γονιμοποίηση» έγινε με IVF. Η ανάλυση των συμπερασμάτων των μονήρων κηύσεων από IVF σε σύγκριση με τα νεογνά από ενδομήτρια σπερματέγχυση-IUI έδειξε ότι μόνο η μητρική αιτία της υπογονιμότητας έχει σχέση με σημαντικά υψηλό κίνδυνο ανωμαλιών. Δεν τέθηκαν όμως, ακόμα, τα κριτήρια για αυτές τις μητρικές αιτίες¹⁰.

Μελετήθηκαν επίσης νεογνά (134) που γεννήθηκαν μετά τη χρήση laser για υποβοηθούμενη εκκόλαψη ή εμφύτευση σε κύκλους IVF. Οι γυναίκες που υπεβλήθησαν σε αυτή τη μέθοδο, είτε ήταν μεγαλύτερες των 35 ετών (ομάδα I), είτε είχαν τουλάχιστον 3 αποτυχημένες εξωσωματικές (ομάδα II). Η ομάδα III είχε και τα δύο πιο πάνω κριτήρια. Δεν παρατηρήθηκε, όμως, αύξηση σε μεγάλες συγγενείς δυσπλασίες (2,2%, ενώ στο γενικό πληθυσμό είναι 3%), ούτε ανεβρέθει αύξηση σε χρωμοσωματικές βλάβες. Δεν υπήρξαν επίσης περισσότερες μικρές συγγενείς δυσπλασίες ανάμεσα στις γεννήσεις που προήλθαν από laser-υποβοηθούμενη εμφύτευση (10,4%) και στις γεννήσεις του γενικού πληθυσμού (11,1%)¹¹.

Στη Νίκαια, το 2002, μελετήθηκαν 71 κύκλοι με μικρογονιμοποίηση, όπου χρησιμοποιήθηκαν σπερματοζωάρια από επιδιδυμίδα σε 49 από αυτούς και σπερματοζωάρια από όρχεις σε 22 κύκλους. Το ποσοστό γονιμοποίησης ήταν 76% για νωπό σπέρμα, 87% για επιδιδυμικά σπερματοζωάρια και 68% για ορχικά. Αναφέρθηκαν 13 εγκυμοσύνες (18,3%). 11 νεογνά είχαν γεννηθεί τελειόμηνα, συμπεριλαμβανομένων και αυτών από 3 δίδυμες κήσεις. Δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα στις κήσεις από νωπό σπέρμα και κατεψυγμένο ή ανάμεσα σε αποφρακτικές και μη αποφρακτικές περιπτώσεις άζωοσπερμίας. Φαίνεται λοιπόν ότι η γονιμοποίηση και η τεκνοποίηση με ICSI, σε περιπτώσεις άζωοσπερμίας είναι επαναστατική μέθοδος θεραπείας υπογονιμότητας ανδρών, πρέπει να διευκρινιστεί όμως αν τα νεογνά που γεννιούνται υπόκεινται σε υψηλότερο κίνδυνο για γενετικές ανωμαλίες¹².

Οι επιστήμονες μελέτησαν επίσης τον καρούτυπο σε 430 νεογνά που γεννήθηκαν με ICSI το 2001, στην Αίγυπτο και έκαναν σύγκριση με άλλα 430 παιδιά, των οποίων η γονιμοποίηση έγινε φυσιολογικά. Από τα παιδιά που προήλθαν από τη μέθοδο ICSI ανευρέθηκαν 15 (3,5%) με ανώμαλο καρούτυπο, από τα οποία τα 7 είχαν φαινότυπο θήλεως και τα 8 άρρενος. 6 παιδιά είχαν φυλοσύνδετη χρωμοσωματική ανωμαλία, 8 είχαν αυτοσωματική ανωμαλία και ένα παιδί είχε συνδυασμένη (αυτοσωματική και φυλοσύνδετη ανωμαλία μαζί). Τα παιδιά-μάρτυρες δεν παρουσίασαν καμία χρωμοσωματική βλάβη. Η διαφορά αυτή ήταν στατιστικά σημαντική ($P < 0,001$) και φαίνεται ότι μοιράζεται εξίσου ανάμεσα στα αυτοσωματικά και φυλετικά χρωμοσώματα¹³.

Οι αυτόματες αποβολές και οι εμβρυϊκές δυσπλασίες διερευνήθηκαν μετά από διέγερση ωοθηκών τόσο με κλομιφαίνη, όσο και με HMG σε κύκλους IVF και GIFT. Τα αποτελέσματα που προήλθαν αμέσως μετά τη γέννηση των νεογνών έδειξαν ότι δεν υπάρχει σημαντική διαφορά ανάμεσα σε αυτά και στους μάρτυρες για χρωμοσωματικές ανωμαλίες. Όσο όμως πιο μακροχρόνια γίνεται η παρακολούθηση των παιδιών αυτών, τόσο παρατηρείται μια πιο υψηλή συχνότητα σε συγγενείς ανωμαλίες στα παιδιά που γεννήθηκαν μετά από διέγερση ωοθηκών και IVF ή GIFT. Φάνηκε, επίσης, ότι ο αριθμός των αυτομάτων αποβολών δε διέφερε σημαντικά, αν λαμβάνονταν υπ' όψιν, και στις δύο ελεγχόμενες ομάδες, παράγοντες, όπως η προχωρημένη ηλικία της μητέρας, ο λόγος της υπογονιμότητας και οι πολλαπλές κήσεις¹⁴.

Το 1991 έγινε ανασκοπική μελέτη που αφορούσε σε νεογνά που γεννήθηκαν μετά από IVF, στην περίοδο από το 1978 έως το 1987. Η μέση μητρική ηλικία ήταν 34,2 έτη και οι πολλαπλές κήσεις ήταν 23%. Από αυτές, 19% ήταν δίδυμες κήσεις και 4% τριδύμες. Το 25% των τοκετών ήταν πρόωροι. Το μέσο βάρος των νεογνών κατά τη γέννηση ήταν 2.793 gr και σχετιζόταν σημαντικά με τις πολύδυμες κήσεις και την ηλικία της μητέρας στον τοκετό. Το 32% των παιδιών ήταν λιποβαρή (<2.560 gr) και το 6% είχαν πολύ μικρό βάρος γέννησης (<1.500 gr). Η συχνότητα γέννησης νεκρών παιδιών και η νεογνική θνησιμότητα ήταν 2-3 φορές υψηλότερη στα παιδιά των οποίων η γονιμοποίηση έγινε φυσιολογικά. Η γέννηση νεκρών νεογνών είχε μια συχνότητα 5,07, 20,8 και 24,7 ανά 1.000 γεννήσεις μονήρων παιδιών, διδύμων και τριδύμων αντίστοιχα. Οι αντίστοιχοι αριθμοί για περιγεννητική θνησιμότητα ήταν 13,5, 38,2 και 37%. Τελικά, φάνηκε ότι το 2,5% είχε μία ή περισσότερες συγγενείς ανωμαλίες που διαγνώστηκαν την πρώτη εβδομάδα της ζωής τους. Αυτό ήταν μέσα στην αναμενόμενη συχνότητα στη Βρετανία και δεν υπήρχε καμία σημαντική αύξηση σε νεογνική ειδική δυσπλασία ή ανωμαλία¹⁵.

Ο Hughes M. αναφέρει, σε έρευνα που έκανε σε 73.069 κύκλους IVF ή ICSI, ότι γεννήθηκαν παιδιά σε ποσοστό 27,9%. Με τη μέθοδο GIFT είχε 30% γέννηση παιδιού, ενώ με ZIFT 28%. Στους κύκλους με δωρεά ωαρίων υπήρξε ποσοστό γέννησεων 40%. Οι κύκλοι με εμβρυομεταφορά κατεψυγμένων εμβρύων έδωσαν 18,8% ποσοστό γέννησης ανά εμβρυομεταφορά. Το 22,2% προήλθε από κατεψυγμένα έμβρυα μετά από δωρεά ωαρίων και το 34,6% από φέρουσα μήτρα. Συνολικά γεννήθηκαν 25.059 νεογνά από 17.311 τοκετούς ή καισαρική τομή. Υπήρξε θεαματική αύξηση κατά 10,9% των κύκλων με ART, σαν προτεινόμενη θεραπεία υπογονιμότητας το 1997 στην Αμερική, σε σύγκριση με το προηγούμενο έτος¹⁶.

Στη Γαλλία παρατηρήθηκε ότι στις μονήρεις κήσεις από ART, οι μαιευτικές και παιδιατρικές επιπλοκές δεν αυξάνονται. Προβλήματα φαίνεται ότι υπάρχουν στις πολύδυμες κήσεις, συμπεριλαμβανομένου του υψηλού κόστους για τα ζευγάρια. Στις κήσεις από ICSI παρατηρήθηκε πρόβλημα στα φυλοσύνδετα νοσήματα. Η κρουσυντήρηση εμβρύων δε φάνηκε να προκαλεί ουσιαστικά προβλήματα. Η PGD γίνεται τώρα ένα δυνατό εργαλείο για τα ζευγάρια που φέρουν γενετικά νοσήματα. Η βιοψία βλαστοκύστεων φαίνεται ότι είναι το μέλλον των ART και της αναπαραγωγικής ιατρικής, υπάρχουν όμως ηθικά προβλήματα στις μεθόδους αυτές που χρησιμοποιούνται τώρα¹⁷.

Εργασίες σε έμβρυα, μετά από PGD και IVF, έδειξαν ότι αυτή ευθύνεται για μεγάλο ποσοστό αυτόματων αποβολών ή παλίνδρομων κήσεων. Έτσι, παρατηρείται μικρό ποσοστό εμφύτευσης εμβρύων και μεγάλο ποσοστό αποβολών σε μεγαλύτερες ηλικίες γυναικών. Έχει προταθεί η εμβρυομεταφορά μόνο γενετικά φυσιολογικών εμβρύων μετά από PGD. Οι ασθενείς ομαδοποιούνται ανάλογα με τη μέση μητρική ηλικία τους, τον αριθμό των προηγούμενων προσπαθειών IVF που είχαν, τη διάρκεια της διέγερσης των ωοθηκών τους, τη συγκέντρωση της οιστραδιόλης την 1η ημέρα και το μέσο αριθμό ώριμων ωοθυλακίων. Όλες αυτές οι παράμετροι ήταν οι ίδιες ανάμεσα σε δύο ομάδες γυναικών το 2000 στις Ηνωμένες Πολιτείες, τις ελεγχόμενες ασθενείς και τις υγιείς μάρτυρες. Μεταφέρθηκαν μόνο

τα έμβρυα που χαρακτηρίστηκαν ως χρωμοσωμικά υγιή, μετά από PGD. Η συχνότητα εμφάνισης της καρδιακής λειτουργίας στα έμβρυα ήταν η ίδια και στις δύο ομάδες που συγκρίθηκαν. Οποσδήποτε όμως, οι αυτόματες αποβολές, με δείκτη την καρδιακή λειτουργία υπερηχογραφικά, μειώθηκαν με την εμβρυομεταφορά εμβρύων μετά από PGD ($P < 0,05$) και οι συνεχιζόμενες κυήσεις και γεννήσεις αυξήθηκαν ($P < 0,05$).

Δύο συμπεράσματα βγαίνουν λοιπόν:

- α) η PGD για ανευλοειδία μειώνει την απώλεια εμβρύων μετά από την εμφύτευση στο ενδομήτριο και
- β) ο ρυθμός εμφύτευσης των εμβρύων δεν αυξάνει σημαντικά, αλλά οι αναλογίες των συνεχιζόμενων κυήσεων και των γεννήσεων είναι αυξημένες¹⁸.

Στο Λονδίνο δημοσιεύθηκαν πληροφορίες του HFEA (Human Fertilization and Embryology Authority), οι οποίες ανάφεραν 135.000 κύκλους θεραπείας, 20.000 εγκυμοσύνες και 25.000 νεογνά μετά από IVF το 1999. Δόθηκαν πληροφορίες σχετικά με τη νεογνική θνησιμότητα και τις συγγενείς διαμαρτίες, αλλά όχι σε μακρύ follow-up, τόσο των γυναικών όσο και των παιδιών. Έτσι, προς το παρόν, δεν είναι δυνατό να αξιολογηθεί η μακροχρόνια ασφάλεια της ART ως μέθοδος θεραπείας υπογονιμότητας, τόσο για τις γυναίκες, όσο και για τα γεννηθέντα παιδιά. Πρέπει να μελετηθούν οι μαιευτικές επιπλοκές, οι πρώιμοι τοκετοί, ο καρκίνος, η εγκεφαλική παράλυση και η έρευνα πρέπει να συνεχιστεί μακροχρόνια¹⁹.

Φαίνεται ότι η υπογονιμότητα δεν απειλεί τη φυσική υγεία των ζευγαριών, αλλά επηρεάζει την ψυχολογική και την καλή κοινωνική κατάστασή τους. Τα IVF και ICSI προσέφεραν αρκετά, τόσο στις αποφράξεις σαλπίνγων, όσο και στην άζωοσπερμία. Η μητρική ηλικία αναφέρθηκε ότι επηρεάζει αρνητικά το ποσοστό επιτυχίας των κύκλων IVF, οποσδήποτε όμως και τη συχνότητα των φυλοσύνδετων χρωμοσωματικών ανωμαλιών σε νεογνά από ICSI. Αναφέρθηκε ότι αυτή ισούται με 1% σε 585 κύκλους PGD, μια συχνότητα που είναι τετραπλάσια των παιδιών που συλλαμβάνονται με φυσιολογική σεξουαλική επαφή. Γενετικές ανωμαλίες αναφέρονται σε υψηλή συχνότητα στείρων ανδρών με επηρεασμένη σπερματογένεση και καρούτυπο, η δε ανάλυση του Y χρωμοσώματος για μικροελλείψεις πρέπει να γίνεται σε όλους τους άνδρες που θα συμμετάσχουν σε θεραπεία με ICSI. Επίσης, πρέπει να γίνεται έλεγχος για κυστική ίνωση (χρωμοσωμική μετάλλαξη) σε άζωοσπερμικούς άνδρες που έχουν απουσία σπερματικού πόρου και σπερματοδόχων κύστεων. Πρέπει να συστήνεται γενετική συμβουλή σε όλα τα ζευγάρια που θα υποβληθούν σε μικρογονιμοποίηση, όταν προσδιορίζεται μια γονιδιακή ή χρωμοσωμική ανωμαλία. Η μέση συχνότητα γέννησης παιδιού με ART είναι 15% ανά κύκλο και η συνολική συχνότητα τοκετού μετά από μερικούς κύκλους είναι 50%²⁰.

100 νεογνά που γεννήθηκαν στο Ισραήλ με IVF συγκρίθηκαν με νεογνά που γονιμοποιήθηκαν με φυσιολογική σεξουαλική επαφή. Παρατηρήθηκε ότι τα παιδιά από IVF είχαν υψηλότερο ποσοστό χαμηλού βάρους γέννησης (37%), τα δίδυμα ήταν 30%, πρόωρο τοκετό είχε το 20% και σε σύγκριση με το δείγμα του γενικού πληθυσμού υπήρχε διαφορά με $P < 0,05$. Δεν παρατηρήθηκε διαφορά για συγγενείς ανωμαλίες, μεγάλες ή μικρές. Η νεογνική θνησιμότητα όμως ήταν μεγαλύτερη στα νεογνά από IVF. Παθολογικά σημεία στα νεογνά από IVF δεν παρατηρήθηκαν, αν και έγιναν περισσότερες και λεπτομερέστερες έρευνες για μεταβολικά, ενδοκρινικά και νευροφυσιολογικά νοσήματα²¹.

Μελέτες έγιναν, επίσης, στα νεογνά που γεννήθηκαν μετά από εμβρυομεταφορά κατεψυγμένων εμβρύων, τόσο για άμεσα, όσο και για αργότερα προβλήματα, στο Παρίσι, το 1996. Το 31% των 1.200 ασθενών κατέψυξαν υπεράριθμα έμβρυα. Η συχνότητα εμφύτευσης ανά έμβryo ήταν 8%. Αν και η συχνότητα πολλαπλών κυήσεων είναι σημαντικά μικρότερη απ' ό,τι προκύπτει από νωπά έμβρυα, αυτή ανέρχεται στο 9,6%. Από βιολογική άποψη, σε περίπου 3.693 κατεψυγμένα έμβρυα, καταδείχθηκε ότι η επιτυχία αυτής της τεχνικής εξαρτιόταν από την ποιότητα των εμβρύων και δε σχετιζόταν με τη διάρκεια της κατάψυξης. Η επίπτωση των μεγάλων και μικρών συγγενών ανωμαλιών δεν ήταν διαφορετική στις δύο ομάδες των νεογνών (<3%). Μια όμως αναδρομική μελέτη που έγινε σε 84 παιδιά, έδειξε 4 μεγάλες ανωμαλίες μετά από παρακολούθηση που κράτησε 1-9 έτη. Αυτές οι ανωμαλίες δε φάνηκε να σχετίζονται με την κατάψυξη των εμβρύων²².

Έρευνα που έγινε στο UCLH, στην προεμφυτευτική γενετική διάγνωση των εμβρύων, έδειξε ότι βλαστομερίδια που εξετάστηκαν την 3η μέρα μετά την ωοληψία δεν επηρεάζουν την εξέλιξη των εμφυτευμένων εμβρύων. Η μελέτη για το φύλο του εμβρύου έγινε με τεχνικές PCR και FISH, όπως και η έρευνα για τα φυλοσύνδετα νοσήματα X και Y, αλλά και για τα γενετικά νοσήματα ετεροζυγωτίας, όπως η κυστική ίνωση, η νόσος Tay-Sachs, το σύνδρομο Lesch-Nyham κ.λπ. Η PGD απεδείχθηκε αξιόπιστη και αβλαβής για τα έμβρυα με πολυδύναμα εμβρυϊκά κύτταρα²³.

Ανακοινώθηκε επίσης μελέτη στο Cambridge που αφορούσε στα γενετικά χαρακτηριστικά και την περιγεννητική θνησιμότητα σε νεογνά που γεννήθηκαν μετά από εβρυοκατάψυξη και συγκρίθηκαν με μάρτυρες που γεννήθηκαν από νωπά έμβρυα σε κύκλους IVF. Μελετήθηκαν 283 νεογνά από κρουσυντήρηση, 961 από νωπά έμβρυα και δεν παρατηρήθηκε διαφορά στα δίδυμα (18 και 19% αντίστοιχα) και στα τριδύμα (2 και 3% αντίστοιχα). Η μέση ηλικία κύησης και το βάρος γέννησης στα μονήρη παιδιά, τα δίδυμα και τριδύμα δεν είχαν σημαντική διαφορά μεταξύ των δύο ομάδων. Επίσης, δεν ανεβρεθεί διαφορά στην περιγεννητική θνησιμότητα. Η συχνότητα παρουσίας μεγάλων συγγενών διαμαρτιών ήταν σημαντικά χαμηλότερη στα νεογνά από κατάψυξη (1%), σε σύγκριση με τα νωπά νεογνά

από IVF (3%) $-P < 0,05$. Φαίνεται λοιπόν ότι τα γενετικά προβλήματα των νεογνών από κατάψυξη είναι παρόμοια ή και λιγότερα απ' αυτά των νεογνών χωρίς κατάψυξη σε IVF θεραπείες²⁴.

Για τη διετία 1987-89 μελετήθηκαν τα παιδιά από κύκλους IVF στη Γαλλία, μέχρι την ηλικία του ενός έτους. Κυοφόρησαν 1.637 γυναίκες μετά από θεραπεία με IVF και γέννησαν 1.669 ζωντανά και νεκρά νεογνά. Εξ αυτών έζησαν μέχρι και για ένα έτος 1.411 νεογνά συνολικά. Τα πρόωρα παιδιά ήταν το 22,7% των γεννήσεων και από τις μονήρεις κησίες ήταν το 12,2%, ενώ στο γενικό πληθυσμό της Γαλλίας ήταν 5,6%. Το 34,7% των παιδιών από IVF ζύγιζαν <2.500 gr, ενώ η συχνότητα στο γενικό πληθυσμό μετά από φυσιολογική σύλληψη είναι 52%. Η συχνότητα της περιγεννητικής νεογνικής και παιδικής θνησιμότητας ήταν υψηλότερη απ' ό,τι στο γενικό πληθυσμό. Από τα IVF-παιδιά, το 2% νόσησε κατά τη διάρκεια του πρώτου έτους παρακολούθησης. Φαίνεται, έτσι, ότι η υγεία των IVF-παιδιών, ένα χρόνο μετά από τη γέννησή τους ήταν πολύ πλησιόν της φυσιολογικής²⁵.

Το 1993 ανακοινώθηκε αναδρομική μελέτη από τους Wada et al (για 4 έτη) που αφορούσε σε 881 ασθενείς που υποβλήθηκαν σε IVF. Έγινε εμβρυομεταφορά στο 81,8% των περιπτώσεων, υπήρξαν 150 βιοχημικές κησίες (20,8% ανά εμβρυομεταφορά) και 92 τοκετοί με 100 παιδιά (12,8% ανά εμβρυομεταφορά). Οι πολλαπλές κησίες ήταν 8,7% των κησιών και 6,5% των παιδιών παρουσίασαν μικρές συγγενείς ανωμαλίες. Καισαρική τομή έγινε στο 46% των περιπτώσεων και το βάρος γέννησης των νεογνών κυμαινόταν μεταξύ των 1.000 gr και 4.000 gr, είχε δε μέσο όρο 2.944 gr. Η μέση ηλικία κήσης στον τοκετό ήταν 260 μέρες και το 23% των νεογνών ήταν πρόωρα, το δε 13,8% ήταν δίδυμα και είχαν μικρό βάρος γέννησης. Παρατηρήθηκε ότι οι γυναίκες που κυοφόρησαν μέσα στις δύο πρώτες προσπάθειες IVF είχαν καλύτερες πιθανότητες να γεννήσουν τελειόμηνα²⁶.

Το 1991 κυοφόρησαν 63 γυναίκες μετά από IVF θεραπεία και γεννήθηκαν 100 παιδιά, στη Χαβάη, το δε 97% των ασθενών είχε μονήρη κήση και γέννησε μετά τις 36 εβδομάδες. Μόνο το 16% των ασθενών χρειάστηκε τοκολυτική θεραπεία και το ποσοστό πολλαπλών κησιών ήταν 51%, αρκετά υψηλότερο από άλλα κέντρα IVF. Παρατηρήθηκε ότι οι μητρικές επιπλοκές και η νεογνική νοσηρότητα σχετιζόνταν με τις πολλαπλές κησίες. Το 41% από αυτές κατέληξαν σε γέννηση πριν τις 36 εβδομάδες και τοξόλυση χρειάστηκε στο 81% των διδύμων κησιών και στο 100% των τριδύμων κησιών. Η νεογνική νοσηρότητα παρουσιάστηκε σε 39 νεογνά. Τα 28 από αυτά εισήχθησαν σε μονάδα εντατικής νοσηλείας (27 από πολλαπλές κησίες). 9 νεογνά είχαν μικρές ανωμαλίες (κήλες, πυλωρική στένωση). Μία περίπτωση ήταν τρισωμία 21 και υπήρξε ένα νεογνικός θάνατος στους 11 μήνες της ζωής του. Η συχνότητα καισαρικής τομής ήταν 65% μετά από IVF και ο κίνδυνος φαίνεται ότι οφείλεται στις πολλαπλές κησίες και όχι στην τεχνητή γονιμοποίηση. Η κρυοσυντήρηση των εμβρύων δίνει μια μορφή λύσης στις πολλαπλές κησίες και στις επιπλοκές τους, όσον αφορά στη μητέρα, αλλά και, κυρίως, στα νεογνά (πρόωροι τοκετοί, λιποβαρή παιδιά, συγγενείς ανωμαλίες κ.ά.)²⁷.

SUMMARY

It is obvious that the risk is higher for neonates after ART to have chromosomal abnormalities, especially to the males, if their oligospermic father has a genetic problem. Wherever there has been an embryo transfer to surrogate mother, the genetic problems were not higher. The proportion of still births, neonatal morbidity and mortality is doubled and that happened because of the higher incidence of multiple pregnancies. It seems to have more immature and low birth weight babies. These contribute to higher rates of desgenesia, cerebral palsy, respiratory distress syndrome, cerebral hemorrhage, hernias, pyloric stenosis and toxinemia to the babies. Higher rates are noticed to X-linked diseases, fragile X-syndrome, muscles Duchenne/Becker dystrophy and hemorrofilia A/B. Neonates have also higher incidence after ART for autosomal-dominant diseases, such as Huntington disease, myotonic dystrophy and some structural anomalies of chromosomes. PGD has to be ordered in couples which are in high risk groups for genetic disorder. It seems that the source of finding of spermatozoa is not relevant to neonate's bad karyotype. Techniques, such as FISH and PCR are very reliable for illnesses as X-linked disorders, cystic fibrosis, Tay-Sachs disease and Lesch-Nyham syndrome. It's sure that the mother's cause of infertility and age have a strong relation to genetic anomalies. In cases where assisted hatching with laser-beam was used, the proportion of congenital abnormalities was not higher in comparison to the others. Neonates which were born after ICSI technique were having more anomalies than those born after IVF or normal sexual intercourse. Neonates conceived after cryopreservations were having the same rate of genetic disorders.

It is well known that blastocyte's biopsy is harmless, very aiding to healthy newborns and helps the reduction of the proportion of intrauterine deaths and abortions. ARTs have offered a great deal to reproductive medicine despite the higher rate of the babies' congenital abnormalities or the mother's complications and the higher cost of treatment to society. Using these methods, thousands of couples owned their own child, and PGD or prenatal diagnosis offered many healthy children as well as the higher use of caesarean section by the doctors.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Feng C, Wang LQ, Dong MY, Huang HF. Assisted reproductive technology may increase clinical mutation detection in male offspring. *Fertil*

- Steril.* 2008 Jul; 90(1):92-6. Epub 2008 Feb 6.
2. Sheean LA, Goldfarb JM, Kiwi R, Utian WH. In vitro fertilization (IVF)-surrogacy: application of IVF to women without functional uteri. *J In Vitro Fert Embryo Transf.* 1989 Jun; 6(3):134-7.
 3. Births in Great Britain resulting from assisted conception, 1978-87. MRC Working Party on Children Conceived by In Vitro Fertilisation. *BMJ.* 1990 May 12; 300(6734):1229-33.
 4. Nagvenkar P, Desai K, Hinduja I, Zaveri K. Chromosomal studies in infertile men with oligozoospermia & non-obstructive azoospermia. *Indian J Med Res.* 2005 Jul; 122(1):34-42.
 5. Merlob P, Sapir O, Sulkes J, Fisch B. The prevalence of major congenital malformations during two periods of time, 1986-1994 and 1995-2002 in newborns conceived by assisted reproduction technology. *Eur J Med Genet.* 2005 Jan-Mar; 48(1):5-11. Epub 2005 Feb 1.
 6. Shiota K, Yamada S. Assisted reproductive technologies and birth defects. Review. *Congenit Anom (Kyoto).* 2005 Jun; 45(2):39-43.
 7. de Die-Smulders CE, Land JA, Dreesen JC, Coonen E, Evers JL, Geraedts JP. Results from 10 years of preimplantation-genetic diagnostics in The Netherlands. *Ned Tijdschr Geneesk.* 2004 Dec 11; 148(50):2491-6.
 8. Jozwiak EA, Ulug U, Mesut A, Erden HF, Bahçeci M. Prenatal karyotypes of fetuses conceived by intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril.* 2004 Sep; 82(3):628-33.
 9. Ye YH, Xu CM, Jin F, Qian YL. Identification of embryonic chromosomal abnormality using FISH-based preimplantation genetic diagnosis. *J Zhejiang Univ Sci.* 2004 Oct; 5(10):1249-54.
 10. Lambert RD. Safety issues in assisted reproductive technology: aetiology of health problems in singleton ART babies. *Hum Reprod.* 2003 Oct; 18(10):1987-91.
 11. Kanyo K, Konc J, Eur J. A follow-up study of children born after diode laser assisted hatching. *Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2003 Oct 10; 110(2):176-80.
 12. Jansen RP, Anderson JC, Birrell WS, Lyneham RC, Sutherland PD, Turner M, Flowers D, Ciancaglini E. Outpatient gamete intrafallopian transfer: a clinical analysis of 710 cases. *Med J Aust.* 1990 Aug 20; 153(4):182-8.
 13. Garcia G, Chevallier D, Donzeau M, Isnard V, Chevallier T, Fenichel P, Amiel J. Male infertility due to azoospermia and in vitro fertilization assisted by ICSI. Findings based on a prospective study of our first 42 patients. *Prog Urol.* 2002 Jun; 12(3):429-36.
 14. Aboulghar H, Aboulghar M, Mansour R, Serour G, Amin Y, Al-Inany H.A. Prospective controlled study of karyotyping for 430 consecutive babies conceived through intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril.* 2001 Aug; 76(2):249-53.
 15. Shoham Z, Zosmer A, Insler V. Early miscarriage and fetal malformations after induction of ovulation (by clomiphene citrate and/or human menopausal gonadotropins), in vitro fertilization, and gamete intrafallopian transfer. *Fertil Steril.* 1991 Jan; 55(1):1-11.
 16. Hughes M. IVF-babies by numbers. *Issues Reprod Genet Eng.* 1991; 4(1):27-30.
 17. Rizk B, Doyle P, Tan SL, Rainsbury P, Betts J, Brinsden P, Edwards R. Perinatal outcome and congenital malformations in in-vitro fertilization babies from the Bourn-Hallam group. *Hum Reprod.* 1991 Oct; 6(9):1259-64.
 18. Assisted reproductive technology in the United States: 1997 results generated from the American Society for Reproductive Medicine/Society for Assisted Reproductive Technology Registry. *Fertil Steril.* 2000 Oct; 74(4):641-53; discussion 653-4.
 19. Minuzo YJ, Veiga A, Pouly JL. Assisted reproductive technology (ART) in humans: facts and uncertainties. *Theriogenology.* 2000 Jan 15; 53(2):599-610.
 20. Munn S, Magli C, Cohen J, Morton P, Sadowy S, Gianaroli L, Tucker M, Marquez C, Sable D, Ferraretti AP, Massey JB, Scott R. Positive outcome after preimplantation diagnosis of aneuploidy in human embryos. *Hum Reprod.* 1999 Sep; 14(9):2191-9.
 21. Doyle P. The U.K. Human Fertilisation and Embryology Authority. How it has contributed to the evaluation of assisted reproduction technology. *Int J Technol Assess Health Care.* 1999 Winter; 15(1):3-10.
 22. Forti G, Krausz C. Clinical review 100: Evaluation and treatment of the infertile couple. *J Clin Endocrinol Metab.* 1998 Dec; 83(12):4177-88.
 23. Fisch B, Harel L, Kaplan B, Pinkas H, Amit S, Ovadia J, Tadir Y, Merlob P. Neonatal assessment of babies conceived by in vitro fertilization. *J Perinatol.* 1997 Nov-Dec; 17(6):473-6.
 24. Salat-Baroux J, Mandelbaum J, Junca AM, Plachot M, Alvarez S, Alnot MO, Antoine JM. Cryopreservation of human embryos after in vitro fertilization: immediate and long-term results. *Bull Acad Natl Med.* 1996 Jan; 180(1):83-91; discussion 92-3.
 25. Delhanty JD. Preimplantation diagnosis. *Prenat Diagn.* 1994 Dec; 14(13):1217-27.
 26. Wada I, MacNamee MC, Wick K, Bradfield JM, Brinsden PR. Birth characteristics and perinatal outcome of babies conceived from cryopreserved embryos. *Hum Reprod.* 1994 Mar; 9(3):543-6.
 27. Rufat P, Olivennes F, de Mouzon J, Dehan M, Frydman R. Task force report on the outcome of pregnancies and children conceived by in vitro fertilization (France: 1987 to 1989). *Fertil Steril.* 1994 Feb; 61(2):324-30.
 28. Fourie FL, Bosman E, Huyser C, Esterhuizen AD, Sevenster CB, van der Merwe JV. Pregnancy outcome after in vitro fertilisation at the Pretoria unit. *S Afr Med J.* 1993 Jan; 83(1):43-6.
 29. Huang T Jr, McNamee P, Kosasa T, Silva J, Hale RW, Terada F, Chun B, Morton C. Birth of the first 100 babies in Hawaii after conception in-vitro: experience at the Pacific In-Vitro Fertilization Institute. *Hawaii Med J.* 1991 Oct; 50(10):358-64.

¹Γ. Φιλιππίδης, Διδάκτωρ Ιατρική Παν. Αθηνών, Μαιευτήρας-Γυναικολόγος, Μαιευτήριο «ΙΑΣΩ», Αθήνα

²Θ. Μ. Λιακάδος, Ειδικός Μαιευτήρας-Γυναικολόγος, Μαιευτήριο «ΙΑΣΩ», Αθήνα

³Σ. Καλέργη, Κλινική Εμβρυολόγος, Μονάδα Εξωσωματικής Γονιμοποίησης Μαιευτηρίου «ΙΑΣΩ», Αθήνα