

ΕΠΑΝΑΛΑΜΒΑΝΟΜΕΝΕΣ ΑΠΟΤΥΧΙΕΣ ΕΜΦΥΤΕΥΣΗΣ ΜΕΤΑ ΤΗΝ ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΕΞΩΣΩΜΑΤΙΚΗΣ ΓΟΝΙΜΟΠΟΙΗΣΗΣ

Ευάγγελος Μακράκης

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Οι επαναλαμβανόμενες αποτυχίες εμφύτευσης (ΕΑΕ) μετά εξωσωματική γονιμοποίηση αποτελούν ένα πολυσύνθετο πρόβλημα στη σύγχρονη υποβοηθούμενη αναπαραγωγή, φέροντας σε δύσκολη θέση ιατρούς, εμβρυολόγους και κυρίως τα ζευγάρια που δεν καταφέρνουν να πετύχουν το στόχο τους. Ποικίλοι παράγοντες έχουν συνδεθεί αιτιολογικά με τις ΕΑΕ, όπως οι ανατομικές διαταραχές της ενδομητρικής κοιλότητας, η παρουσία ενδομητρίου με ανεπαρκές πάχος κατά την εμβρυομεταφορά, η τοπική διαταραχή της έκφρασης ή της δράσης ποικίλων κυτοκινών στο ενδομήτριο, η παρουσία ανοσολογικών και θρομβοφιλικών παραγόντων, χρωμοσωμικές ανωμαλίες του ζευγαριού, των γαμετών, ή του αναπτυσσόμενου εμβρύου, η διαταραχή συγχρονισμού μεταξύ του γονιμοποιημένου ωαρίου και του ενδομητρίου, η αδυναμία της εμβρυϊκής διαφανούς ζώνης να ραγεί ώστε να επιτευχθεί η εμφύτευση, η παρουσία υδροσαλπίγγων και άλλοι. Για την αντιμετώπιση των παραγόντων αυτών έχουν γίνει διάφορες προτάσεις, πολλές όμως από αυτές βασιζονται σε μελέτες μικρής στατιστικής ισχύος, με αποτέλεσμα τα συμπεράσματα να είναι αντικρουόμενα ή ανεπαρκή. Μεταξύ των προτάσεων αυτών, ως πλέον τεκμηριωμένες θεωρούνται η πραγματοποίηση υστεροσκόπησης για τη διάγνωση και αντιμετώπιση διαταραχών της ενδομητρικής κοιλότητας, η πραγματοποίηση εμβρυομεταφοράς στο στάδιο της βλαστοκύστης, η υποβοηθούμενη εκκόλαση των εμβρύων σε γυναίκες προχωρημένης ηλικίας, η αφαίρεση υδροσαλπίγγων επί παρουσίας τους και η βελτίωση της τεχνικής της εμβρυομεταφοράς. Τέλος, ο χρωμοσωμικός έλεγχος του ζευγαριού και η προεμφυτευτική γενετική διάγνωση μπορούν να βοηθήσουν στο να δοθεί η κατάλληλη γενετική συμβουλή στο ζευγάρι. Η έρευνα πάνω στο πρόβλημα των ΕΑΕ είναι συνεχής και εντατική, δίνοντας ελπίδες για νέες προοπτικές και δυνατότητες αντιμετώπισής τους στο μέλλον.

Όροι ευρετηρίου: εξωσωματική γονιμοποίηση, υποβοηθούμενη αναπαραγωγή, εμφύτευση, επαναλαμβανόμενες αποτυχίες εμφύτευσης.

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η εφαρμογή των σύγχρονων μεθόδων υποβοηθούμενης αναπαραγωγής έχει βοηθήσει δίχως αμφιβολία στην αντιμετώπιση των ζευγαριών που παρουσιάζουν υπογονιμότητα και προσπαθούν να ολοκληρώσουν την οικογένειά τους. Η αλματώδης επιστημονική και τεχνολογική πρόοδος στον τομέα της υποβοηθούμενης αναπαραγωγής έχει επιτρέψει όχι μόνο την θεαματική βελτίωση των ποσοστών επιτυχίας έπειτα από την εφαρμογή των κατάλληλων μεθόδων, αλλά και την πλέον εξατομικευμένη και εξειδικευμένη αντιμετώπιση των διαφόρων προβλημάτων γονιμότητας. Οι διευρυσμένοι αυτοί ορίζοντες στην αντιμετώπιση της υπογονιμότητας σε συνδυασμό με κοινωνικές παραμέτρους, που βασικά αφορούν στην ηλικία κατά την οποία οι σύγχρονες γυναίκες αποφασίζουν να τεκνοποιήσουν, έχουν σαν αποτέλεσμα την αξιοσημείωτη αύξηση του αριθμού των κύκλων εξωσωματικής, όχι μόνο στην Ελλάδα, αλλά και σε όλες τις ανεπτυγμένες χώρες. Σύμφωνα με την πλέον πρόσφατη δημοσίευση στατιστικών στοιχείων από τη European Society for Human Reproduction and Embryology (ESHRE)¹, κατά το έτος 2003 πραγματοποιήθηκαν στην Ευρώπη 295.081 κύκλοι ωθητικής διέγερσης - εξωσωματικής γονιμοποίησης - εμβρυομεταφοράς και το ποσοστό επίτευξης κύησης ανά εμβρυομεταφορά στις περιπτώσεις όπου εφαρμόστηκε απλή εξωσωματική γονιμοποίηση (in vitro fertilization, IVF) ήταν 29,6%, ενώ στις περιπτώσεις όπου εφαρμόστηκε ενδοκυτταροπλασματική έγχυση

σπερματοζωαρίου (intracytoplasmic sperm injection, ICSI) ήταν 28,7%.

Η αποτυχία επίτευξης κύησης μετά την εφαρμογή εξωσωματικής γονιμοποίησης μπορεί να αποδοθεί σε μια μεγάλη ποικιλία παραγόντων, μερικοί από τους οποίους είναι προσδιορισίμοι (και κατά συνέπεια ελεγχόμενοι), όπως η εσφαλμένη εφαρμογή των πρωτοκόλλων ωοθηκικής διέγερσης, οι μη ικανοποιητικές συνθήκες του εμβρυολογικού εργαστηρίου, ή τα σφάλματα τεχνικής κατά την εμβρυομεταφορά. Ακόμα όμως και όταν όλα λειτουργούν και εφαρμόζονται άψογα σε μια Μονάδα εξωσωματικής γονιμοποίησης, πάντα υπάρχουν ζευγάρια στα οποία οι αποτυχίες διαδέχονται η μία την άλλη, οπότε και μιλάμε για περιπτώσεις με επαναλαμβανόμενες αποτυχίες εμφύτευσης (ΕΑΕ) μετά εξωσωματική γονιμοποίηση, που όπως είναι ευνόητο απογοητεύουν το ζευγάρι και προβληματίζουν τόσο τους ιατρούς, όσο και τους εμβρυολόγους της Μονάδας. Οσον αφορά στον ορισμό των ΕΑΕ, δεν υπάρχει προς το παρόν ταύτιση απόψεων στις διάφορες μελέτες που έχουν δημοσιευθεί στη βιβλιογραφία. Κάποιοι απλά θεωρούν ως ΕΑΕ την αδυναμία επίτευξης κύησης έπειτα από τρεις κύκλους εξωσωματικής γονιμοποίησης κατά τους οποίους μεταφέρθηκαν έμβρυα καλής ποιότητας, κάποιοι άλλοι την αδυναμία επίτευξης κύησης έπειτα από 2-6 κύκλους κατά τους οποίους μεταφέρθηκαν πάνω από 10 έμβρυα αριστής ποιότητας² και τέλος κάποιοι άλλοι την μη επίτευξη κύησης έπειτα από την αθροιστική μεταφορά οκτώ ή περισσότερων εμβρύων, οκτώ κυττάρων ή πέντε ή περισσότερων εμβρύων στο στάδιο της βλαστοκύστης³. Ο σκοπός της παρούσας μελέτης είναι η ανασκόπηση των αιτιολογικών παραγόντων που έχουν συνδεθεί με τις ΕΑΕ, καθώς και των παρεμβάσεων που έχουν προταθεί για την αντιμετώπισή τους, ώστε να εξαχθούν χρήσιμα συμπεράσματα τόσο για την στρατηγική που θα πρέπει να ακολουθείται, όσο και για το τι πραγματικά και τεκμηριωμένα μπορεί να βοηθήσει τα ζευγάρια αυτά. Για σχηματικούς λόγους, τα δεδομένα παρατίθενται σε τέσσερις κατηγορίες: παράγοντες που επηρεάζουν την ανατομία, υποδεκτικότητα και λειτουργία του ενδομητρίου (ενδομητρικοί παράγοντες), παράγοντες από το έμβρυο που επηρεάζουν την εμφύτευση και τα πρώτα στάδια ανάπτυξής του (εμβρυϊκοί παράγοντες), παράγοντες που επηρεάζουν το συγχρονισμό εμβρύου και ενδομητρίου και τέλος διάφοροι άλλοι παράγοντες.

ΕΝΔΟΜΗΤΡΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΠΟΥ ΣΥΝΔΕΟΝΤΑΙ ΜΕ ΕΑΕ

Διαταραχές της ενδομητρικής κοιλότητας που παραμένουν αδιάγνωστες και δεν αντιμετωπίζονται κατάλληλα μπορεί να οδηγήσουν σε ΕΑΕ. Σύμφωνα με μια πρόσφατη προοπτική και τυχαίοποιημένη μελέτη ένα ποσοστό 18-27% γυναικών με ΕΑΕ, στις οποίες ο αρχικός έλεγχος με υστεροσαλπιγγογραφία ή και υστεροσκόπηση είχε δείξει φυσιολογική ενδομητρική κοιλότητα, όταν υπεβλήθη σε νέα υστεροσκόπηση διαπιστώθηκε ότι παρουσίαζε διάφορες ανωμαλίες όπως ενδομητρικούς πολύποδες, υπερπλασία ενδομητρίου, εικόνα ενδομητρίτιδας, συμφύσεις και υποβλεννογόνια ινομυώματα⁴. Η αντιμετώπιση σε ένα χρόνο των διαταραχών αυτών βελτίωσε κατά σημαντικό βαθμό τα ποσοστά επιτυχίας στον επόμενο κύκλο εξωσωματικής των γυναικών αυτών (ποσοστό κύησης 32,5% έναντι 21,6% για τις γυναίκες που δεν υπεβλήθησαν σε υστεροσκόπηση). Επομένως, ο έλεγχος με υστεροσκόπηση των γυναικών με ΕΑΕ θα πρέπει να θεωρείται επιβεβλημένος. Οσον αφορά στην τεχνική της υστεροσκόπησης, θα πρέπει για ευνόητους λόγους να προτιμάται εκείνη που επιφέρει την ελάχιστη παρέμβαση στη γυναίκα. Με τη σύγχρονη τεχνολογία και την κατάλληλη εισαγωγή του υστεροσκοπίου υπό άμεση κολποσκοπική επισκόπηση χωρίς διενέργεια διαστολής του τραχήλου, είναι εφικτή η λύση συμφύσεων, η εκτομή διαφραγμάτων, καθώς και η αφαίρεση πολυπόδων και υποβλεννογόνιων ινομυωμάτων έως και 2 εκατοστών, χωρίς ουσιαστικό «τραυματισμό» του τραχήλου και με ελάχιστες επιπλοκές^{5,6}.

Όσον αφορά στην επίπτωση των ινομυωμάτων της μήτρας στις διαδικασίες εμφύτευσης, αυτή παραμένει εν πολλοίς αδιευκρίνιστη⁷. Ιδιαίτερη διχογνωμία ως προς την συσχέτιση με ΕΑΕ υπάρχει για τα ενδοτοιχωματικά ινομυώματα που δεν διαταράσσουν την ενδομητρική κοιλότητα⁸, καθώς και για εκείνα που είναι μικρότερα των τεσσάρων εκατοστών⁹. Αν και κάποιοι ερευνητές αναφέρουν βελτίωση των ποσοστών κύησης έπειτα από ινομυωματοεκτομία¹⁰, θα πρέπει να σημειωθεί πως δεν υπάρχουν επαρκείς προοπτικές μελέτες για να ισχυροποιήσουν τα συμπεράσματα αυτά και πολύ περισσότερο δεν υπάρχουν μελέτες ειδικά για τις γυναίκες με ΕΑΕ. Πάντως η συντριπτική πλειοψηφία των ερευνητών συμφωνεί πως τα υποβλεννογόνια ινομυώματα θα πρέπει να αφαιρούνται πριν την έναρξη οποιασδήποτε προσπάθειας υποβοηθούμενης αναπαραγωγής.

Το πάχος του ενδομητρίου αποτελεί έναν άλλο παράγοντα, η σχέση του οποίου με το αποτέλεσμα κύκλων εξωσωματικής έχει αποτελέσει πεδίο ευρύτατης συζήτησης. Σε μεγάλες προοπτικές μελέτες, η διαπίστωση λεπτού ενδομητρίου δεν επηρέασε τα αθροιστικά ποσοστά κύησης¹¹, ιδίως στις περιπτώσεις όπου μεταφέρθηκαν έμβρυα καλής ποιότητας¹². Ομοίως, η διαπίστωση λεπτού ή υπερηχογενούς ενδομητρίου δεν επηρέασε τα ποσοστά επιτυχίας σε περιπτώσεις όπου εφαρμόστηκε ICSI¹³, ούτε σε περιπτώσεις συνδρόμου πολυκυστικών ωοθηκών, παρά μόνο σε περιπτώσεις σαλπιγγικού παράγοντα¹⁴. Όπως και να' χει, η άποψη ότι ένα ελάχιστο πάχος ενδομητρίου 6-8mm είναι θετικός παράγοντας για την επίτευξη κύησης φαίνεται να έχει βάση και ως εκ τούτου θα πρέπει να λαμβάνεται υπόψη στις γυναίκες με ΕΑΕ. Διάφορες παρεμβάσεις έχουν προταθεί για την αντιμετώπιση των γυναικών που υποβάλλονται

σε εξωσωματική γονιμοποίηση και δεν καταφέρνουν να αναπτύξουν ενδομήτριο πάχους άνω των 7-8mm κατά την εμβρυομεταφορά: σε μικρές ως επί το πλείστον μελέτες, κάποιοι ερευνητές προτείνουν τη χορήγηση χαμηλής δόσης ασπιρίνης¹⁵ και την κολπική χορήγηση σιλδεναφίλης¹⁶ σε γυναίκες με ΕΑΕ και λεπτό ενδομήτριο, με σκοπό την βελτίωση της αιματικής ροής στη μήτρα, που θεωρητικά θα μπορούσε να ευοδώσει την ανάπτυξη του ενδομητρίου, ενώ κάποιοι άλλοι προτείνουν την κολπική χορήγηση οιστρογόνων ώστε να μεγιστοποιηθεί η οιστρογονική επίδραση στο ενδομήτριο¹⁷ ή την αγωγή με πεντοξυφιλίνη και υψηλές δόσεις βιταμίνης Ε¹⁸. Τέλος, στην κλινική πράξη πολλοί αποφεύγουν να προβούν σε εμβρυομεταφορά σε γυναίκες με ΕΑΕ και λεπτό ενδομήτριο, κρυσπνηθούν τα έμβρυα και τα μεταφέρουν σε επόμενο τεχνητό κύκλο απόψυξης-εμβρυομεταφοράς, όπου η ανάπτυξη ενδομητρίου με ικανοποιητικό πάχος επιτυγχάνεται με τη χορήγηση υψηλών δόσεων οιστρογόνων.

Περιπτώσεις ΕΑΕ έχουν συνδεθεί από κάποιους ερευνητές με μια τοπική διαταραχή της έκφρασης ή της δράσης ποικίλων κυτοκινών στο ενδομήτριο. Αύξηση των ενδομητρίων κυττάρων φονέων (natural killers-NK), διαταραχές των ιντερλευκινών 12, 15 και 18¹⁹, υψηλά επίπεδα ιντερλευκίνης 1β, υψηλά επίπεδα αρωματάσης p450 mRNA²⁰ και μεταλλοπρωτεϊνών²¹ και χαμηλά επίπεδα ιντερφερόνης-γ και ιντερλευκίνης 10²¹ έχουν αναφερθεί σε γυναίκες με ΕΑΕ. Απουσία της ιντεγκρίνης ανβ3 στο ενδομήτριο κατά την περίοδο της εμφύτευσης έχει επίσης συνδεθεί με αποτυχίες εμφύτευσης^{22,23}. Στην προσπάθεια μεταβολής πιθανών δυσμενών τοπικών συνθηκών θα μπορούσε να ενταχθεί η θεωρία του τραυματισμού ή «διέγερσης» του ενδομητρίου, με σκοπό τη βελτίωση των πιθανοτήτων εμφύτευσης. Ο τραυματισμός αυτός του ενδομητρίου που από παλιά εφαρμοζόταν εμπειρικά από μερικούς κλινικούς (με την πραγματοποίηση αποξέσεων), μελετήθηκε σε δύο μικρές μελέτες: οι Friedler et al, το 1993 υπέβαλαν 14 γυναίκες με ΕΑΕ σε υστεροσκόπηση, απόξεση, τριπλό αντιβιοτικό σχήμα και χορήγηση οιστρογόνων και ανέφεραν ποσοστό κύησης 43%²⁴, ενώ πιο πρόσφατα το 2003, οι Barash et al υπέβαλαν 45 γυναίκες σε πολλαπλές βιοψίες ενδομητρίου και ανέφεραν διπλασιασμό των ποσοτών κύησης μετά την παρέμβαση αυτή²⁵. Λόγω του μικρού αριθμού και μεγέθους των υπάρχοντων μελετών, είναι προφανές ότι απαιτείται η πραγματοποίηση νέων τυχαιοποιημένων μελετών προτού κανείς καταλήξει σε συμπεράσματα για τη σημασία του τραυματισμού του ενδομητρίου σε γυναίκες με ΕΑΕ.

Με αφορμή τη συσχέτιση ανοσολογικών και θρομβοφιλικών παραγόντων με τις καθέξιν αποβολές²⁶, η αναζήτηση μιας αντίστοιχης συσχέτισης των παραγόντων αυτών με τις ΕΑΕ έχει αποτελέσει θέμα αρκετών μελετών. Σχετικά με τους ανοσολογικούς παράγοντες, αν και κάποιες παλαιότερες μελέτες έδειξαν συσχέτιση παρουσίας αντιφωσφολιπιδικών και άλλων αυτοαντισωμάτων με εκδήλωση ΕΑΕ, οι πλέον πρόσφατες, μεγάλες και προοπτικές μελέτες απέτυχαν να αποδείξουν κάτι τέτοιο^{27,28}. Οι Eldar-Geva et al δεν εντόπισαν ουδεμία συσχέτιση μεταξύ 18 ειδικών αντιφωσφολιπιδικών αντισωμάτων και εκδήλωσης ΕΑΕ²⁷, ενώ οι Stern et al, ανέφεραν ότι τα αντισώματα β2-γλυκοπρωτεΐνης-Ι συνδέονται με αποτυχίες κύκλων εξωσωματικής²⁹. Οι Matsubayashi et al ανέφεραν ότι αντισώματα έναντι της αννεξίνης-V, η οποία δρα σαν αναστολέας της φωσφολιπιδό-εξαοξωμένης πηκτικότητας και ίσως είναι απαραίτητη για τη διαφοροποίηση της τροφοβλάστης, παρουσιάζονται συχνότερα σε γυναίκες με ΕΑΕ (8,3%) σε σχέση με γυναίκες ομάδας ελέγχου (1,1%)³⁰. Οι Kwak-Kim et al ανέφεραν ότι η ενδοκυττάρια έκφραση T-helper -1 και -2 κυτοκινών ήταν αυξημένη σε περιφερικά λεμφοκύτταρα γυναικών με ΕΑΕ³¹. Η συσχέτιση μεταξύ περιφερικών NK κυττάρων και ΕΑΕ υποστηρίχθηκε σε αρκετές μελέτες παρατήρησης, αλλά μια πρόσφατη ανασκόπηση όλων των δημοσιευμένων στοιχείων κατέληξε στο συμπέρασμα πως δεν υπάρχει ισχυρή επιστημονική βάση για να τεκμηριωθεί μια τέτοια συσχέτιση³². Οι Carp et al υποστήριξαν το 1994 ότι ζευγάρια με κοινά HLA αλληλία παρουσιάζουν μεγαλύτερο κίνδυνο για ΕΑΕ και επαναλαμβανόμενες βιοχημικές κύσεις, ούτε όμως τα αποτελέσματα αυτής της προκαταρκτικής μελέτης τεκμηριώθηκαν αργότερα³³.

Η πιθανολογούμενη συσχέτιση ανοσολογικών παραγόντων και ΕΑΕ οδήγησε αρκετούς ερευνητές στην εμπειρική χορήγηση ενδοφλέβιας ανοσοσφαιρίνης σε γυναίκες που υποβάλλονταν σε εξωσωματική. Προκαταρκτικές μελέτες ανέφεραν ποικίλα αποτελέσματα³⁴. Οι Elram et al χορήγησαν IVIG σε δέκα ζευγάρια με επτά ή περισσότερες αποτυχίες εξωσωματικής και HLA ομοιότητα και ανέφεραν επτά κύσεις³⁵. Αντιθέτως, οι Stephenson et al όταν πραγματοποίησαν μια διπλή τυφλή και τυχαιοποιημένη μελέτη που περιέλαβε 51 ζευγάρια με ΕΑΕ κατέληξαν ότι η χορήγηση IVIG δεν βελτίωσε την πιθανότητα γέννησης τέκνου³⁶. Συνεπώς η αξία της χορήγησης IVIG σε ζευγάρια με ΕΑΕ τελεί υπό έντονη αμφισβήτηση.

Η συνδυασμένη αγωγή με γλυκοκορτικοειδή και ασπιρίνη σε γυναίκες οροθετικές για αυτοαντισώματα που εκδηλώνουν ΕΑΕ, έχει αναφερθεί ότι μπορεί να αυξήσει τις πιθανότητες κύησης³⁷. Σε δύο μεγάλες τυχαιοποιημένες μελέτες^{38,39}, η αγωγή με ηπαρίνη και ασπιρίνη δεν βελτίωσε τις πιθανότητες κύησης σε γυναίκες με ΕΑΕ, ακόμα και αν αυτές ήταν οροθετικές για αυτοαντισώματα³⁹. Επίσης, η ανοσοθεραπεία με τη χρησιμοποίηση πατριικών λευκοκυττάρων δεν φαίνεται να μεταβάλλει την πρόγνωση γυναικών με ΕΑΕ³³. Πλην των επιδράσεων της στην πηκτικότητα, η ηπαρίνη έχει και άλλες δυναμικές δράσεις, συμμετέχοντας τόσο στην προσκόλληση της βλαστοκύστης στο ενδομητρικό επιθήλιο, όσο και στη μετέπειτα διεύδυση. Έτσι οι Friedler and Wurfel υποστηρίζουν ότι η παρατεταμένη

θεραπεία με ηπαρίνη μπορεί να βελτιώσει τα ποσοστά κύησης⁴⁰. Τέλος, το 2001 μια ομάδα ερευνητών⁴¹ χορήγησε διήθημα λευκοκυττάρων σε γυναίκες με ΕΑΕ και ανέφερε βελτίωση των αποτελεσμάτων, υποθέτοντας ότι οι αυξητικοί παράγοντες και κυτοκίνες που εκκρίθηκαν από τα λευκοκύτταρα επηρέασαν την εμβρυονική εμφύτευση και ανάπτυξη. Έκτοτε δεν υπήρξε άλλη δημοσίευση που να ισχυροποιεί τα συμπεράσματά τους.

Όσον αφορά στη συσχέτιση θρομβοφιλικών παραγόντων και ΕΑΕ, δύο σχετικά πρόσφατες μελέτες ελεγχόμενων περιπτώσεων (case control studies) αναφέρουν αυξημένα ποσοστά κληρονομικής θρομβοφιλίας σε γυναίκες με ΕΑΕ^{42,43}, ενώ μια άλλη μεγάλη μελέτη απέτυχε να αποδείξει κάτι τέτοιο⁴⁴. Τέλος, σε μια πλέον πρόσφατη μελέτη, οι Coulam et al αναφέρουν αύξηση της συχνότητας μεταλλάξεων σε πολλαπλά θρομβοφιλικά γονίδια και στο PAI-1 σε γυναίκες με ΕΑΕ, σε σχέση με γόνιμες γυναίκες που απετέλεσαν την ομάδα ελέγχου⁴⁵. Συνεπώς, η σημασία του ελέγχου για θρομβοφιλικούς παράγοντες στις γυναίκες με ΕΑΕ χρήζει περαιτέρω διερεύνησης, δεδομένου ότι υπάρχουν ισχυρές ενδείξεις για πιθανή συσχέτιση, ενώ η χορήγηση ηπαρίνης χαμηλού μοριακού βάρους θα μπορούσε να ωφελήσει σημαντικά τις γυναίκες αυτές.

ΕΜΒΡΥΪΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΠΟΥ ΣΥΝΔΕΟΝΤΑΙ ΜΕ ΕΑΕ

Χρωμοσωμικές ανωμαλίες του ζευγαριού, των γαμετών ή του αναπτυσσόμενου εμβρύου ενδέχεται να επηρεάσουν την εμβρυογένεση και να οδηγήσουν σε ΕΑΕ. Διάφοροι ερευνητές αναφέρουν αυξημένη συχνότητα ανεύρεσης χρωμοσωμικών διαταραχών στον καρυότυπο γυναικών με πολύ μεγάλο αριθμό αποτυχημένων εμφυτεύσεων, όπως μεταθέσεις, αναστροφές, μωσαϊκά ή ελλείψεις^{46,47}, ενώ άλλοι αναφέρουν και αυξημένη συχνότητα χρωμοσωμικών ανωμαλιών στα σπερματοζωάρια ανδρών με φυσιολογικό καρυότυπο που παρουσιάζουν ΕΑΕ⁴⁸. Όσον αφορά στα αναπτυσσόμενα έμβρυα, η μελέτη με την τεχνική του φθορίζοντος ανοσοφθορισμού (fluorescence in-situ hybridization-FISH) των χρωμοσωμάτων 13, 16, 18, 21, 22, X και Y μετά τη βιοψία βλαστομεριδίων έδειξε ότι το ποσοστό παρουσίας ανευπλοειδίων ήταν κατά πολύ υψηλότερο σε ζευγάρια με ΕΑΕ (54%-57% των εμβρύων) σε σχέση με τα ζευγάρια των ομάδων ελέγχου (36% των εμβρύων)^{49,50}, ενώ η εφαρμογή πιο εξελιγμένων τεχνικών (όπως της comparative genomic hybridization) ανέβασε το ποσοστό αυτό στο 60% των εμβρύων των γυναικών με ΕΑΕ⁵¹. Διαταραχές στη φυσιολογική αλληλουχία αναδίπλωσης και διαχωρισμού των χρωμοσωμάτων κατά τα πρώιμα στάδια της εμβρυονικής ανάπτυξης, προκαλούμενες από κυτταροπλασματικούς παράγοντες ή μεταλλάξεις στα γονίδια που ελέγχουν τον κυτταρικό κύκλο, μπορεί να είναι υπεύθυνες για ΕΑΕ. Συνεπώς θα μπορούσε να υποθεθεί πως σε κάποια από τα ζευγάρια με ΕΑΕ το πρόβλημα εντοπίζεται στο γεγονός ότι παράγουν μεγάλο ποσοστό εμβρύων με χρωμοσωμικές ανωμαλίες, που αποτυγχάνουν να εμφυτευθούν ή διακόπτον την ανάπτυξή τους εξαιρετικά πρώιμα. Με βάση τις ανωτέρω παρατηρήσεις, πολλοί ερευνητές εξέφρασαν την άποψη πως ζευγάρια με ΕΑΕ θα μπορούσαν να ωφεληθούν από την εφαρμογή προεμφυτευτικού γενετικού ελέγχου (preimplantation genetic screening, PGS), που περιλαμβάνει τη λήψη κυττάρων από έμβρυα 2-3 ημερών, τα οποία εξετάζονται για ανευπλοειδίες, ώστε στη συνέχεια η εμβρυομεταφορά να πραγματοποιηθεί μόνο με τα χρωμοσωμικά φυσιολογικά έμβρυα. Κάποιοι από τους υποστηρικτές της μεθόδου έχουν δημοσιεύσει θετικά αποτελέσματα από την εφαρμογή της, αναφέροντας αυξημένα ποσοστά εμφύτευσης ή και αυξημένα ποσοστά κλινικών κύσεων και γεννήσεων^{49,52-54}. Όταν, όμως, οι Ceglar et al ανασκόπησαν τα υπάρχοντα δεδομένα για την αξία του PGS σε ζευγάρια με ΕΑΕ, κατέληξαν στο συμπέρασμα πως προς το παρόν δεν υπάρχει ισχυρή ένδειξη πως τα ζευγάρια αυτά θα ωφεληθούν πραγματικά από την εφαρμογή της μεθόδου επιτυγχάνοντας υψηλότερα ποσοστά κύσεων και πως η μόνη αξία της μεθόδου για τα ζευγάρια αυτά είναι το να διαπιστωθεί αν τα έμβρυα που παράγουν είναι στην συντριπτική τους πλειοψηφία ανευπλοειδικά, ώστε να λάβουν μια καταλληλότερη γενετική συμβουλή⁵⁵. Επιπλέον, η πιο πρόσφατη ανασκόπηση από την Cochrane Database (το 2006) πάνω στην αξία του PGS στην εξωσωματική γονιμοποίηση κατέληξε στο συμπέρασμα πως μέχρι σήμερα δεν υπάρχουν επαρκή δεδομένα που να δείχνουν πως η μέθοδος αυτή μπορεί να αυξήσει τα ποσοστά γεννήσεων έπειτα από εξωσωματική γονιμοποίηση, ακόμα και για γυναίκες προχωρημένης ηλικίας (από τις οποίες θεωρητικά παράγεται μεγαλύτερο ποσοστό ανευπλοειδικών εμβρύων)⁵⁶.

Ως ένα άλλο πιθανό αίτιο ΕΑΕ έχει διατυπωθεί η αδυναμία της εμβρυϊκής διαφανούς ζώνης να ραγίσει (μια διαδικασία που καλείται εκκόλαψη, οπότε και μιλάμε για διαταραχές εκκόλαψης), κάτι που είναι απαραίτητο για να επακολουθήσει η εμφύτευση του εμβρύου στο ενδομήτριο. Η αύξηση του πάχους της διαφανούς ζώνης έχει συνδεθεί με χαμηλότερα ποσοστά εμφύτευσης⁵⁷, ενώ η σκλήρυνσή της προκαλούμενη από τις συνθήκες της εξωσωματικής καλλιέργειας ή από την προχωρημένη ηλικία της γυναίκας έχει συνδεθεί με αποτυχία της εκκόλαψης⁵⁸. Με σκοπό τη διευκόλυνση της απελευθέρωσης του εμβρύου από τη διαφανή ζώνη, εφαρμόζεται η τεχνική της «υποβοηθούμενης εκκόλαψης» (assisted hatching, AH), κατά την οποία διανοίγεται στο εργαστήριο μια οπή στη ζώνη, είτε με μηχανικό τρόπο, είτε με χημική μέθοδο, είτε με τη χρήση συστημάτων laser⁵⁹ πριν την εμβρυομεταφορά. Η συστηματική ανασκόπηση των 23 τυχαίοποιημένων μελετών που έχουν δημοσιευθεί, με σκοπό την αξιολόγηση της υποβοηθούμενης εκκόλαψης σε γυναίκες που υποβάλλονται σε εξωσωματική γονιμοποίηση, κατέληξε πως η μέθοδος δεν φαίνεται να

βελτιώνει τα ποσοστά γεννήσεων⁶⁰, αν και μεταξύ αυτών τρεις τυχαιοποιημένες μελέτες έδειξαν ότι η εφαρμογή της μεθόδου σε γυναίκες με ΕΑΕ αύξησε τα ποσοστά εμφύτευσης και κλινικών κήσεων⁶¹⁻⁶³ (τονίζεται ότι η σύγχρονη τάση στην υποβοηθούμενη αναπαραγωγή είναι ότι το απόλυτο στοιχείο επιτυχίας είναι το ποσοστό γεννήσεων και όχι τα ποσοστά εμφύτευσης ή κλινικών κήσεων). Τέλος, η πλέον πρόσφατη Ευρωπαϊκή πολυκεντρική μελέτη πάνω στην εφαρμογή υποβοηθούμενης εκκόλαψης σε γυναίκες με ΕΑΕ δεν κατάφερε να αναδείξει κάποιο όφελος από τη μέθοδο στις γυναίκες αυτές⁶⁴.

Τέλος, σύμφωνα με κάποιους ερευνητές, μερικές περιπτώσεις ΕΑΕ μπορεί να οφείλονται σε διαταραχές κυτταροπλασματικών παραγόντων και συνεπώς η εισαγωγή μιας μικρής ποσότητας κυτταροπλάσματος από ένα ωάριο δότριας ή από άλλο ζυγώτη θα μπορούσε να τροποποιήσει τη λειτουργία των «ανεπαρκών» ωοκυττάρων⁶⁵. Αν και με την τεχνική αυτή έχουν γεννηθεί υγιή παιδιά⁶⁶, θα πρέπει να έχουμε υπόψη πως το μεταφερόμενο κυτταρόπλασμα μπορεί να περιέχει mRNAs, πρωτεΐνες, μιτοχόνδρια, οργανίδια ή και άλλους παράγοντες, οι επιδράσεις των οποίων στο αναπτυσσόμενο έμβryo παραμένουν άγνωστες. Ως εκ τούτου η τεχνική αυτή θεωρείται ακόμα πειραματική.

ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΣΥΓΧΡΟΝΙΣΜΟΥ ΕΜΒΡΥΟΥ – ΕΝΔΟΜΗΤΡΙΟΥ ΠΟΥ ΣΥΝΔΕΟΝΤΑΙ ΜΕ ΕΑΕ

Κατά τη διαδικασία της φυσικής αναπαραγωγής, η γονιμοποίηση και οι πρώτες κυτταρικές διαιρέσεις του γονιμοποιημένου ωαρίου πραγματοποιούνται στον αυλό της σάλπιγγας υπό την επίδραση του σαλπινγικού μικροπεριβάλλοντος. Η είσοδος στην κοιλότητα της μήτρας πραγματοποιείται κατά την 5^η ημέρα μετά τη γονιμοποίηση, όταν το έμβryo έχει φθάσει στο στάδιο του μοριδίου, ενώ η εμφύτευση πραγματοποιείται στο επόμενο εμβρυϊκό στάδιο, αυτό της βλαστοκύστης. Επομένως, η συνήθης κατά την εξωσωματική γονιμοποίηση, πρακτική της μεταφοράς εμβρύων 2^{ης} – 3^{ης} ημέρας στη μήτρα, θεωρητικά δεν θέτει τα έμβρυα αυτά στο φυσιολογικό, για το στάδιο ανάπτυξής τους, περιβάλλον. Στην παρατήρηση αυτή στηρίχθηκε εν μέρει η εφαρμογή της ενδοσαλπινγικής μεταφοράς γαμετών (gamete intrafallopian transfer, GIFT) ή ζυγωτών (zygote intrafallopian transfer). Κατά τις τεχνικές αυτές η γυναίκα ακολουθεί κανονικά πρωτόκολλο ωοθημικής διέγερσης, γίνεται η ωοληψία και στο μεν GIFT η γυναίκα υποβάλλεται την ίδια ημέρα σε λαπαροσκόπηση, κατά την οποία τοποθετούνται εντός της σάλπιγγας ωάρια και σπερματοζωάρια ώστε να γίνει η γονιμοποίηση στον «φυσικό» τόπο, ενώ στο ZIFT η γονιμοποίηση γίνεται στο εργαστήριο και την επόμενη ημέρα οι ζυγώτες τοποθετούνται λαπαροσκοπικώς στη σάλπιγγα. Κάποιες πρώτες αναδρομικές μελέτες υποστήριξαν βελτίωση των ποσοστών εμφύτευσης και κήσης με τις τεχνικές αυτές σε σύγκριση με την παραδοσιακή εξωσωματική γονιμοποίηση⁶⁷, ενώ άλλες υποστήριξαν ότι η βασική αξία του ZIFT βρίσκεται στις περιπτώσεις με ΕΑΕ^{68,69}. Στη συνέχεια, όμως, πραγματοποιήθηκαν αρκετές τυχαιοποιημένες μελέτες, οι οποίες και απέτυχαν να αναδείξουν πλεονεκτήματα από την εφαρμογή των τεχνικών αυτών σε σύγκριση με την παραδοσιακή εξωσωματική^{70,71}, ενώ και σε μία πρόσφατη μελέτη 229 γυναικών με ΕΑΕ το ZIFT απέφερε συγκρίσιμα αποτελέσματα με την εξωσωματική⁷².

Η εξασφάλιση του ιδανικού συγχρονισμού μεταξύ του αναπτυσσόμενου εμβρύου και του ενδομητρίου αποτέλεσε και έναν από τους βασικούς λόγους υιοθέτησης της τακτικής εμβρυομεταφοράς στο στάδιο των βλαστοκύστεων, αφήνοντας τα έμβρυα να αναπτυχθούν στην εξωσωματική καλλιέργεια για 5 ή 6 ημέρες. Θεωρητικά, μια ιδιοσυστασιακή δυσχέρεια τέτοιου συγχρονισμού σε κάποιες γυναίκες θα μπορούσε να αποτελέσει αίτιο ΕΑΕ. Εκτός των ανωτέρω, η παρατεταμένη καλλιέργεια των εμβρύων θα μπορούσε να μας δώσει πληροφορίες για τη δυναμική τους, δεδομένου ότι η ενεργοποίηση του εμβρυονικού γενώματος πραγματοποιείται στο στάδιο των 8-10 κυττάρων, ενώ μέχρι τότε η εμβρυονική ανάπτυξη βασίζεται μόνο στο γένωμα του ωοκυττάρου. Αν και η πλέον πρόσφατη μετα-ανάλυση των αποτελεσμάτων από τη μεταφορά βλαστοκύστεων δεν κατάφερε να αποδείξει πλεονεκτήματα ως προς τα ποσοστά κλινικών κήσεων και γεννήσεων σε σχέση με τη μεταφορά εμβρύων 2^{ης} ή 3^{ης} ημέρας σε γυναίκες που υποβάλλονται σε εξωσωματική γονιμοποίηση⁷³, δύο αρκετά μεγάλες τυχαιοποιημένες μελέτες σε ζευγάρια με ΕΑΕ έπειτα από μεταφορές εμβρύων 2^{ης} ή 3^{ης} ημέρας, έδειξαν υψηλότερα ποσοστά εμφύτευσης και γεννήσεων όταν η εμβρυομεταφορά πραγματοποιήθηκε στο στάδιο των βλαστοκύστεων^{74,75}.

ΔΙΑΦΟΡΟΙ ΑΛΛΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΠΟΥ ΣΥΝΔΕΟΝΤΑΙ ΜΕ ΕΑΕ

Ενώ ο σαλπινγικός παράγοντας αποτελεί κύρια και αδιαμφισβήτητη ένδειξη εφαρμογής εξωσωματικής γονιμοποίησης, ιδιαίτερα ενδιαφέρουσα είναι η παρατήρηση πως γυναίκες που υποβάλλονται σε εξωσωματική έχοντας υδροσάλπιγγες παρουσιάζουν σημαντικώς χαμηλότερα ποσοστά εμφύτευσης και κήσης σε σχέση με τα αναμενόμενα⁷⁶. Το φαινόμενο αυτό αποδίδεται στο υγρό που περιέχουν οι υδροσάλπιγγες, στο οποίο απομονώνονται κυτοκίνες, προσταγλανδίνες και άλλα φλεγμονώδη συστατικά, τα οποία εισερχόμενα στην ενδομητρική κοιλότητα μπορεί να ασκούν άμεση τοξική δράση στα μεταφερόμενα έμβρυα, να επηρεάζουν την υποδεκτικότητα του ενδομητρίου ή τέλος να παρασύρουν μηχανικά τα έμβρυα, εμποδίζοντας την προσκόλληση και εμφύτευσή τους⁷⁷. Συνεπώς, οι υδροσάλπιγγες θα μπορούσαν να αποτελούν αίτιο ΕΑΕ και η χειρουργική αφαίρεσή τους πριν την έναρξη των προσπαθειών εξωσωματικής θα αποτελούσε μια απολύτως λογικοφανή πράξη. Πράγματι, η πρώτη μεγάλη τυχαιοποιημένη μελέτη

δικαίωσε τους θιασώτες της «προφυλακτικής» σαλπινγγεκτομίας⁷⁸, ενώ πρόσφατη μετα-ανάλυση όλων των δημοσιευμένων μελετών ανέφερε ότι με την «προφυλακτική» σαλπινγγεκτομία τα ποσοστά κηύσεων και γεννήσεων μετά εξωσωματική διπλασιάστηκαν⁷⁹. Τέλος, όπως έδειξε μια άλλη πρόσφατη τυχαιοποιημένη μελέτη, παρόμοια ευεργετικά αποτελέσματα έχει και η απλούστερη απολίνωση των υδροσαλπύγγων, η οποία θα μπορούσε να εφαρμοσθεί ως εναλλακτική της σαλπινγγεκτομίας μέθοδος σε τεχνικά δύσκολες περιπτώσεις λαπαροσκοπικής⁸⁰.

Είναι προφανές πως η ποιότητα των καλλιεργητικών υλικών παίζει σημαντικότατο ρόλο στα πρώτα στάδια της εμβρυϊκής ανάπτυξης, επηρεάζοντας άμεσα τα ποσοστά εμφύτευσης σε κάθε εργαστήριο και συνεπώς η τακτική διενέργεια ποιοτικών εργαστηριακών ελέγχων⁸¹ είναι απαραίτητη, ώστε να αποφευχθούν περιπτώσεις ΕΑΕ που οφείλονται σε εργαστηριακές ανεπάρκειες. Στο σημείο αυτό θα πρέπει να αναφερθούν και τα διάφορα συστήματα συγκαλλιέργειας (co-culture), στα οποία έχει χρησιμοποιηθεί μια μεγάλη ποικιλία διαφορετικών κυττάρων, με σκοπό τη βελτίωση των συνθηκών για το εργαστηριακά αναπτυσσόμενο έμβρυο. Τα θεωρητικά πλεονεκτήματα των συστημάτων συγκαλλιέργειας περιλαμβάνουν την έκκριση εμβρυοτροφικών παραγόντων, όπως αυξητικοί παράγοντες, κυτοκίνες και θρεπτικά συστατικά, καθώς και την απενεργοποίηση ελευθέρων ριζών και άλλων βλαπτικών παραγόντων⁸². Το πιο υποσχόμενο σύστημα συγκαλλιέργειας είναι αυτό που περιλαμβάνει ομόλογα ενδομητρικά κύτταρα⁸³ και μια πρόσφατη μελέτη ανέφερε πολύ καλά ποσοστά επιτυχίας έπειτα από τη χρήση του σε γυναίκες με ΕΑΕ⁸⁴. Όπως και να έχει, η πολυπλοκότητα της μεθόδου, η έλλειψη ισχυρών μελετών για την αξιολόγησή της, καθώς και η συνεχής εξέλιξη των σύγχρονων καλλιεργητικών υλικών, δεν βοήθησαν στην ευρεία υιοθέτησή της.

Σε περιπτώσεις ΕΑΕ, θα πρέπει κανείς να αξιολογήσει προσεκτικά την τεχνική εμβρυομεταφοράς και να βεβαιωθεί ότι αυτή γίνεται σωστά και με τον πλέον δόκιμο τρόπο. Αξίζει να τονισθεί στο σημείο αυτό πως σύμφωνα με πρόσφατη μετα-ανάλυση όλων των μελετών που πραγματοποιούνται τις τεχνικές εμβρυομεταφοράς, θα πρέπει να θεωρείται αδιαμφισβήτητο πως οι εμβρυομεταφορές υπό υπερηχογραφικό έλεγχο, όπου τα έμβρυα τοποθετούνται ατραυματικά στο μέσον της ενδομητρικής κοιλότητας, οδηγούν σε στατιστικώς σημαντική αύξηση των ποσοστών κηύσεων⁸⁵. Επίσης, η συνήθης τακτική πολλών κλινικών να αυξάνουν τον αριθμό των μεταφερομένων εμβρύων σε γυναίκες με ΕΑΕ δεν έχει αποδειχθεί ότι μπορεί να εξασφαλίσει καλύτερα αποτελέσματα.

Τέλος, δεν υπάρχουν επαρκή δεδομένα που να υποστηρίζουν την υπεροχή κάποιου συγκεκριμένου πρωτοκόλλου διέγερσης ή συγκεκριμένου φαρμάκου γονιμότητας σε περιπτώσεις γυναικών με ΕΑΕ, με εξαίρεση μιας μελέτης που αναφέρει υψηλότερες πιθανότητες επιτυχίας με τη χρήση GnRH ανταγωνιστών σε σχέση με τους αγωνιστές⁸⁶.

Μετά την παράθεση των ανωτέρω δεδομένων, γίνεται εύκολα αντιληπτό πως το πρόβλημα των επαναλαμβανόμενων αποτυχιών εμφύτευσης μετά εξωσωματική γονιμοποίηση είναι εξαιρετικά πολυσύνθετο. Εκατοντάδες μελέτες έχουν ασχοληθεί με τις ΕΑΕ, προβάλλοντας διάφορους παράγοντες ως αιτιολογικούς και προτείνοντας ποικίλους τρόπους αντιμετώπισης, δυστυχώς όμως, πολλές από τις μελέτες αυτές στερούνται σημαντικής στατιστικής ισχύος, είτε λόγω του περιορισμένου αριθμού των συμπεριληφθέντων σε αυτές περιπτώσεων, είτε λόγω του σχεδιασμού τους (αναδρομικές, μη τυχαιοποιημένες). Συνεπώς, για τους περισσότερους από τους θεωρητικά υπεύθυνους για ΕΑΕ παράγοντες, καθώς και για τους τρόπους αντιμετώπισής τους, τα δεδομένα είτε είναι ακόμα ανεπαρκή, είτε είναι αντικρουόμενα. Προφανώς, η εμπειρική ή θεωρητική εφαρμογή θεραπειών, μπορεί μεν να μην βλάπτει την υγεία της γυναίκας, δεν σημαίνει όμως ότι είναι τεκμηριωμένα αποτελεσματική και δόκιμη. Αν θελήσουμε να χαράξουμε μια στρατηγική αντιμετώπισης των ζευγαριών με ΕΑΕ στηρίζομενοι στα μέχρι τώρα αποδεδειγμένα δεδομένα, θα καταλήξουμε στα ακόλουθα:

- Οι γυναίκες με ΕΑΕ θα πρέπει να υποβάλλονται σε υστεροσκοπηση και σε περίπτωση που ανευρεθεί παθολογία ενδομητρικής κοιλότητας αυτή θα πρέπει να αντιμετωπίζεται.
- Εάν δεν έχει γίνει υστεροσαλπινγογραφία στο πρόσφατο παρελθόν, αυτή θα πρέπει να ζητείται, γιατί η παρουσία υδροσαλπύγγων τεκμηριωμένα επηρεάζει τα αποτελέσματα της εξωσωματικής. Επί διάγνωσης υδροσαλπύγγων, αυτές θα πρέπει να αφαιρούνται ή να απολινώνονται.
- Στα ζευγάρια με ΕΑΕ θα πρέπει να προτείνεται η μεταφορά εμβρύων στο στάδιο των βλαστοκύστεων, εφόσον αυτή δεν έχει δοκιμασθεί στο παρελθόν. Επίσης, δικαιολογημένη μπορεί να χαρακτηριστεί και η υποβοηθούμενη εκκόλαψη, ιδίως αν η γυναίκα είναι προχωρημένης ηλικίας.
- Η αναζήτηση ανοσολογικών και θρομβοφιλικών παραγόντων στις γυναίκες με ΕΑΕ δεν θα μπορούσε να αποκλεισθεί, όπως επίσης και η στοχευμένη αγωγή επί ανεύρεσης κάποιου από τους παράγοντες αυτούς. Τα ζευγάρια, όμως, θα πρέπει να ενημερώνονται ότι η εφαρμογή της συγκεκριμένης αγωγής δεν συνεπάγεται απόλυτα και την επίλυση του προβλήματος, την επίτευξη δηλαδή κήσης σε επόμενη προσπάθεια.
- Η εφαρμογή προεμφυτευτικής γενετικής διάγνωσης ανευπλοειδιών δεν μπορεί με τα μέχρι τώρα δεδομένα να προταθεί ως «θεραπευτική», για να λύσει δηλαδή το πρόβλημα των ΕΑΕ και να αυξήσει τα ποσοστά επιτυχίας. Μπορεί να προταθεί μόνο ως «διαγνωστική» για να διαπιστωθεί δηλαδή αν το συγκεκριμένο ζευγάρι δημιουργεί κατά συντριπτική πλειοψηφία ανευπλοειδικά έμβρυα, ώστε να δοθεί η κατάλληλη γενετική συμβουλή και να

αλλάξει η στρατηγική αντιμετώπισής του (π.χ. χρησιμοποίηση ωαρίων δότης).

- Σε γυναίκες με ΕΑΕ, στις οποίες το πάχος του ενδομητρίου παραμένει σταθερά λεπτό κατά την εμβρυομεταφορά, η κρυσταλλοποίηση των εμβρύων και η τοποθέτησή τους σε επόμενο τεχνητό κύκλο απόψυξης, όπου η ανάπτυξη του ενδομητρίου έχει ευοδοθεί με ορμονικούς χειρισμούς, θα μπορούσε να χαρακτηριστεί ως δικαιολογημένη.

Η έρευνα στον τομέα της υποβοηθούμενης αναπαραγωγής είναι εντατική, φέρνοντας καθημερινά στο φως νέα δεδομένα και προτάσεις. Έτσι, το πρόβλημα των ΕΑΕ συνεχώς μελετάται και είναι σίγουρο πως τα επόμενα χρόνια θα μπορούμε να προσφέρουμε περισσότερα στα ζευγάρια αυτά. Μέχρι τότε, θα πρέπει να είμαστε ειλικρινείς μαζί τους, να είμαστε προσεκτικοί στην ενημέρωσή τους, να εφαρμόζουμε αυτά που γνωρίζουμε πως τεκμηριωμένα είναι αποτελεσματικά και πάνω απ' όλα να τους προσφέρουμε την πολύτιμη ψυχολογική υποστήριξη.

SUMMARY

Repeated implantation failure (RIF) after in vitro fertilization, represents one of the most upsetting problems in current assisted reproductive technologies. Various factors have been associated with RIF, like undiagnosed pathology of the uterine cavity, persistently thin endometrium, local dysregulation of the expression or action of endometrial cytokines, immunological or thrombophilic factors, chromosomal abnormalities of parents, gametes or embryos, absence of synchronization between receptive endometrium and developing embryo, difficulty in hatching of the zona pellucida, presence of hydrosalpinges, etc. Various treatments for RIF have been proposed but many of them have been reported in studies with small statistical power. Among them, strategies or treatments that seem more appropriate include the following: application of hysteroscopy and hysteroscopic correction of endometrial cavity anomalies, embryo transfer at the blastocyst stage, assisted hatching of the embryos before embryo transfer especially in women of advanced age, salpingectomy in the presence of hydrosalpinges, and optimization of embryo transfer technique. Finally preimplantation genetic screening (PGS) and parental karyotyping can be useful for genetic counseling. Current research regarding RIF is intense, and we hope that in the near future we will be able to offer more to these couples.

Key words: in vitro fertilization, assisted reproductive technologies, implantation, recurrent implantation failure.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Andersen AN, Goossens V, Gianaroli L, Felberbaum R, de Mouzon J, Nygren KG. Assisted reproductive technology in Europe, 2003. Results generated from European registers by ESHRE. *Hum Reprod* 2007; 22(6):1513-25.
2. Tan BK, Vandekerckhove P, Kennedy R, Keay SD. Investigation and current management of recurrent IVF treatment failure in the UK. *Bjog* 2005; 112(6):773-80.
3. Rinehart J. Recurrent implantation failure: definition. *J Assist Reprod Genet* 2007 Aug 3; [Epub ahead print].
4. Demirel A, Gurgan T. Effect of treatment of intrauterine pathologies with office hysteroscopy in patients with recurrent IVF failure. *Reprod Biomed Online* 2004; 8(5):590-4.
5. Μακράκης Ε, Πιστοφίδης Γ. Οι επιπλοκές της διαγνωστικής και επεμβατικής υστεροσκόπησης. *Ελληνική Μαιευτική & Γυναικολογία* 2002; 14(4):412-6.
6. Μακράκης Ε. Κόλπο-υστεροσκόπηση: μια διαγνωστική και επεμβατική τεχνική ελαχίστης παρέμβασης. 'In: 9ο Πανελλήνιο Συνέδριο Μαιευτικής και Γυναικολογίας 2003. Αλεξανδρούπολη 2003; p. 98.
7. Surprey ES. Impact of intramural leiomyomata on in-vitro fertilization-embryo transfer cycle outcome. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2003; 15(3):239-42.
8. Eldar-Geva T, Meagher S, Healy DL, MacLachlan V, Breheny S, Wood C. Effect of intramural, subserosal, and submucosal uterine fibroids on the outcome of assisted reproductive technology treatment. *Fertil Steril* 1998; 70(4):687-91.
9. Oliveira FG, Abdelmassih VG, Diamond MP, Dozortsev D, Melo NR, Abdelmassih R. Impact of subserosal and intramural uterine fibroids that do not distort the endometrial cavity on the outcome of in vitro fertilization-intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril* 2004; 81(3):582-7.
10. Donnez J, Jadoul P. What are the implications of myomas on fertility? A need for a debate? *Hum Reprod* 2002; 17(6):1424-30.
11. De Geyter C, Schmitter M, De Geyter M, Nieschlag E, Holzgreve W, Schneider HP. Prospective evaluation of the ultrasound appearance of the endometrium in a cohort of 1.186 infertile women. *Fertil Steril* 2000; 73(1):106-13.
12. Zhang X, Chen CH, Confino E, Barnes R, Milad M, Kazer RR. Increased endometrial thickness is associated with improved treatment outcome for selected patients undergoing in vitro fertilization-embryo transfer. *Fertil Steril* 2005; 83(2):336-40.
13. Rinaldi L, Lisi F, Floccari A, Lisi R, Pepe G, Fishel S. Endometrial thickness as a predictor of pregnancy after in-vitro fertilization but not after intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod* 1996; 11(7):1538-41.
14. Akman MA, Erden HF, Bahceci M. Endometrial fluid visualized through ultrasonography during ovarian stimulation in IVF cycles impairs the outcome in tubal factor, but not PCOS, patients. *Hum Reprod* 2005; 20(4):906-9.
15. Weckstein LN, Jacobson A, Galen D, Hampton K, Hammel J. Low-dose aspirin for oocyte donation recipients with a thin endometrium: prospective, randomized study. *Fertil Steril* 1997; 68(5):927-30.
16. Sher G, Fisch JD. Effect of vaginal sildenafil on the outcome of in vitro fertilization (IVF) after multiple IVF failures attributed to poor endometrial development. *Fertil Steril* 2002; 78(5):1073-6.
17. Tourgeman DE, Slater CC, Stanczyk FZ, Paulson RJ. Endocrine and clinical effects of micronized estradiol administered vaginally or orally. *Fertil Steril* 2001; 75(1):200-2.

18. Ledee-Bataille N, Olivennes F, Lefaix JL, Chaouat G, Frydman R, Delanian S. Combined treatment by pentoxifylline and tocopherol for recipient women with a thin endometrium enrolled in an oocyte donation programme. *Hum Reprod* 2002; 17(5):1249-53.
19. Ledee-Bataille N, Bonnet-Chea K, Hosny G, Dubanchet S, Frydman R, Chaouat G. Role of the endometrial tripod interleukin-18, -15, and -12 in inadequate uterine receptivity in patients with a history of repeated in vitro fertilization-embryo transfer failure. *Fertil Steril* 2005; 83(3):598-605.
20. Brosens J, Verhoeven H, Campo R, Gianaroli L, Gordts S, Hazekamp J, et al. High endometrial aromatase P450 mRNA expression is associated with poor IVF outcome. *Hum Reprod* 2004; 19(2):352-6.
21. Inagaki N, Stern C, McBain J, Lopata A, Kornman L, Wilkinson D. Analysis of intra-uterine cytokine concentration and matrix-metalloproteinase activity in women with recurrent failed embryo transfer. *Hum Reprod* 2003; 18(3):608-15.
22. Tei C, Maruyama T, Kuji N, Miyazaki T, Mikami M, Yoshimura Y. Reduced expression of alphavbeta3 integrin in the endometrium of unexplained infertility patients with recurrent IVF-ET failures: improvement by danazol treatment. *J Assist Reprod Genet* 2003; 20(1):13-20.
23. Thomas K, Thomson A, Wood S, Kingsland C, Vince G, Lewis-Jones I. Endometrial integrin expression in women undergoing in vitro fertilization and the association with subsequent treatment outcome. *Fertil Steril* 2003; 80(3):502-7.
24. Friedler S, Margalioth EJ, Kafka I, Yaffe H. Treatable uterine cause for in-vitro fertilisation failures. *Lancet* 1993; 341(8854):1213.
25. Barash A, Dekel N, Fieldust S, Segal I, Schechtman E, Granot I. Local injury to the endometrium doubles the incidence of successful pregnancies in patients undergoing in vitro fertilization. *Fertil Steril* 2003; 79(6):1317-22.
26. Dendrinis S, Makrakis E, Botsis D, Chassiakos D, Baka S, Creatsas G. A study of pregnancy loss in 352 women with recurrent miscarriages. *Arch Gynecol Obstet* 2005; 271:235-9.
27. Eldar-Geva T, Wood C, Lolatgis N, Rombauts L, Kovacs G, Fuscaldò J, et al. Cumulative pregnancy and live birth rates in women with antiphospholipid antibodies undergoing assisted reproduction. *Hum Reprod* 1999; 14(6):1461-6.
28. Denis AL, Guido M, Adler RD, Bergh PA, Brenner C, Scott RT, Jr. Antiphospholipid antibodies and pregnancy rates and outcome in vitro fertilization patients. *Fertil Steril* 1997; 67(6):1084-90.
29. Stern C, Chamley L, Hale L, Kloss M, Speirs A, Baker HW. Antibodies to beta2 glycoprotein I are associated with in vitro fertilization implantation failure as well as recurrent miscarriage: results of a prevalence study. *Fertil Steril* 1998; 70(5):938-44.
30. Matsubayashi H, Arai T, Izumi S, Sugi T, McIntyre JA, Makino T. Anti-annexin V antibodies in patients with early pregnancy loss or implantation failures. *Fertil Steril* 2001; 76(4):694-9.
31. Kwak-Kim JY, Chung-Bang HS, Ng SC, Ntrivalas EI, Mangubat CP, Beaman KD, et al. Increased T helper 1 cytokine responses by circulating T cells are present in women with recurrent pregnancy losses and in infertile women with multiple implantation failures after IVF. *Hum Reprod* 2003; 18(4):767-73.
32. Rai R, Sacks G, Trew G. Natural killer cells and reproductive failure-theory, practice and prejudice. *Hum Reprod* 2005; 20(5):1123-6.
33. Carp HJ, Toder V, Mashiach S, Rabinovici J. Effect of paternal leukocyte immunization on implantation after biochemical pregnancies and repeated failure of embryo transfer. *Am J Reprod Immunol* 1994; 31(2-3):112-5.
34. Coulam CB, Krysa LW, Bustillo M. Intravenous immunoglobulin for in-vitro fertilization failure. *Hum Reprod* 1994; 9(12):2265-9.
35. Elram T, Simon A, Israel S, Revel A, Shevsky D, Laufer N. Treatment of recurrent IVF failure and human leukocyte antigen similarity by intravenous immunoglobulin. *Reprod Biomed Online* 2005; 11(6):745-9.
36. Stephenson MD, Fluker MR. Treatment of repeated unexplained in vitro fertilization failure with intravenous immunoglobulin: a randomized, placebo-controlled Canadian trial. *Fertil Steril* 2000; 74(6):1108-13.
37. Geva E, Amit A, Lerner-Geva L, Yaron Y, Daniel Y, Schwartz T, et al. Prednisone and aspirin improve pregnancy rate in patients with reproductive failure and autoimmune antibodies: a prospective study. *Am J Reprod Immunol* 2000; 43(1):36-40.
38. Urman B, Mercan R, Alatas C, Balaban B, Isiklar A, Nuhoglu A. Low-dose aspirin does not increase implantation rates in patients undergoing intracytoplasmic sperm injection: a prospective randomized study. *J Assist Reprod Genet* 2000; 17(10):586-90.
39. Stern C, Chamley L, Norris H, Hale L, Baker HW. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial of heparin and aspirin for women with in vitro fertilization implantation failure and antiphospholipid or antinuclear antibodies. *Fertil Steril* 2003; 80(2):376-83.
40. Fiedler K, Wurfel W. Effectivity of heparin in assisted reproduction. *Eur J Med Res* 2004; 9(4):207-14.
41. Wurfel W, Fiedler K, Krusmann G, Smolka B, von Hertwig I. [Improving treatment outcome by LeukoNorm Cytochemia in patients with multiple, failed IVF or ICSI treatment cycles]. *Zentralbl Gynakol* 2001; 123(6):361-5.
42. Grandone E, Colaizzo D, Lo Bue A, Checchia MG, Cittadini E, Margaglione M. Inherited thrombophilia and in vitro fertilization implantation failure. *Fertil Steril* 2001; 76(1):201-2.
43. Azem F, Many A, Ben Ami I, Yovel I, Amit A, Lessing JB, et al. Increased rates of thrombophilia in women with repeated IVF failures. *Hum Reprod* 2004; 19(2):368-70.
44. Martinelli I, Taioli E, Ragni G, Levi-Setti P, Passamonti SM, Battaglioli T, et al. Embryo implantation after assisted reproductive procedures and maternal thrombophilia. *Haematologica* 2003; 88(7):789-93.
45. Coulam CB, Jeyendran RS, Fishel LA, Roussev R. Multiple thrombophilic gene mutations are risk factors for implantation failure. *Reprod Biomed Online* 2006; 12(3):322-7.
46. Tarlatzis BC, Toncheva DI, Vatev IT. Significance of chromosomal aberrations for the unsuccessful procedures of assisted reproduction. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2000; 88(2):181-7.
47. Raziell A, Friedler S, Schachter M, Kasterstein E, Strassburger D, Ron-El R. Increased frequency of female partner chromosomal abnormalities in patients with high-order implantation failure after in vitro fertilization. *Fertil Steril* 2002; 78(3):515-9.
48. Rubio C, Gil-Salom M, Simon C, Vidal F, Rodrigo L, Minguez Y, et al. Incidence of sperm chromosomal abnormalities in a risk population: relationship with sperm quality and ICSI outcome. *Hum Reprod* 2001; 16(10):2084-92.
49. Pehlivan T, Rubio C, Rodrigo L, Romero J, Remohi J, Simon C, et al. Impact of preimplantation genetic diagnosis on IVF outcome in implantation failure patients. *Reprod Biomed Online* 2003; 6(2):232-7.
50. Gianaroli L, Magli MC, Munne S, Fiorentino A, Montanaro N, Ferraretti AP. Will preimplantation genetic diagnosis assist patients with a

- poor prognosis to achieve pregnancy? *Hum Reprod* 1997; 12(8):1762-7.
51. Voullaire L, Wilton L, McBain J, Callaghan T, Williamson R. Chromosome abnormalities identified by comparative genomic hybridization in embryos from women with repeated implantation failure. *Mol Hum Reprod* 2002; 8(11):1035-41.
 52. Tarani M, El-Toukhy T, Gorgy A, Verlinsky Y. Influence of maternal age on the outcome of PGD for aneuploidy screening in patients with recurrent implantation failure. *Reprod Biomed Online* 2005; 10(5):628-32.
 53. Munne S. Preimplantation genetic diagnosis and human implantation-a review. *Placenta* 2003; 24 Suppl B:S70-6.
 54. Wilding M, Forman R, Hogewind G, Di Matteo L, Zullo F, Cappiello F, et al. Preimplantation genetic diagnosis for the treatment of failed in vitro fertilization-embryo transfer and habitual abortion. *Fertil Steril* 2004; 81(5):1302-7.
 55. Caglar GS, Asimakopoulos B, Nikolettos N, Diedrich K, Al-Hasani S. Preimplantation genetic diagnosis for aneuploidy screening in repeated implantation failure. *Reprod Biomed Online* 2005; 10(3):381-8.
 56. Twisk M, Mastenbroek S, van Wely M, Heineman MJ, Van der Veen F, Repping S. Preimplantation genetic screening for abnormal number of chromosomes (aneuploidies) in vitro fertilisation or intracytoplasmic sperm injection. *Cochrane Database Syst Rev* 2006; (1):CD005291.
 57. Cohen J, Inge KL, Suzman M, Wiker SR, Wright G. Videocinematography of fresh and cryopreserved embryos: a retrospective analysis of embryonic morphology and implantation. *Fertil Steril* 1989; 51(5):820-7.
 58. De Vos A, Van Steirteghem A. Zona hardening, zona drilling and assisted hatching: new achievements in assisted reproduction. *Cells Tissues Organs* 2000; 166(2):220-7.
 59. Makrakis E, Angeli I, Agapitou K, Pappas K, Dafereras A, Pantos K. Laser versus mechanical assisted hatching: a prospective study of clinical outcomes. *Fertil Steril* 2006; 86(6):1596-600.
 60. Edi-Osagie EC, Hooper L, McGinlay P, Seif MW. Effect(s) of assisted hatching on assisted conception (IVF & ICSI). *Cochrane Database Syst Rev* 2003; (4):CD001894.
 61. Chao KH, Chen SU, Chen HF, Wu MY, Yang YS, Ho HN. Assisted hatching increases the implantation and pregnancy rate of in vitro fertilization (IVF)-embryo transfer (ET), but not that of IVF-tubal ET in patients with repeated IVF failures. *Fertil Steril* 1997; 67(5):904-8.
 62. Magli MC, Gianaroli L, Ferraretti AP, Fortini D, Aicardi G, Montanaro N. Rescue of implantation potential in embryos with poor prognosis by assisted zona hatching. *Hum Reprod* 1998; 13(5):1331-5.
 63. Nakayama T, Fujiwara H, Yamada S, Tatum K, Honda T, Fujii S. Clinical application of a new assisted hatching method using a piezo-micromanipulator for morphologically low-quality embryos in poor-prognosis infertile patients. *Fertil Steril* 1999; 71(6):1014-8.
 64. Primi MP, Senn A, Montag M, Van der Ven H, Mandelbaum J, Veiga A, et al. A European multicentre prospective randomized study to assess the use of assisted hatching with a diode laser and the benefit of an immunosuppressive/antibiotic treatment in different patient populations. *Hum Reprod* 2004; 19(10):2325-33.
 65. Cohen J, Scott R, Alikani M, Schimmel T, Munne S, Levron J, et al. Ooplasmic transfer in mature human oocytes. *Mol Hum Reprod* 1998; 4(3):269-80.
 66. Barritt J, Willadsen S, Brenner C, Cohen J. Cytoplasmic transfer in assisted reproduction. *Hum Reprod Update* 2001; 7(4):428-35.
 67. Asch RH. Uterine versus tubal embryo transfer in the human. Comparative analysis of implantation, pregnancy, and live-birth rates. *Ann N Y Acad Sci* 1991; 626:461-6.
 68. Friedler S, Margalioth EJ, Kafka I, Yaffe H. ZIFT as efficient alternative treatment in non-tubal infertility. In: *The 7th World Congress on IVF and Assisted Procreation*. Paris 1991.
 69. Levrin D, Mashiah S, Dor J, Levron J, Farhi J. Zygote intrafallopian transfer may improve pregnancy rate in patients with repeated failure of implantation. *Fertil Steril* 1998; 69(1):26-30.
 70. Habana AE, Palter SF. Is tubal embryo transfer of any value? A meta-analysis and comparison with the Society for Assisted Reproductive Technology database. *Fertil Steril* 2001; 76(2):286-93.
 71. Dale B, Fiorentino A, de Simone ML, di Matteo L, di Frega AS, Wilding M, et al. Zygote versus embryo transfer: a prospective randomized multicenter trial. *J Assist Reprod Genet* 2002; 19(10):456-61.
 72. Aslan D, Elizur SE, Levron J, Shulman A, Lerner-Geva L, Bider D, et al. Comparison of zygote intrafallopian tube transfer and transcervical uterine embryo transfer in patients with repeated implantation failure. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2005; 122(2):191-4.
 73. Blake D, Proctor M, Johnson N, Olive D. Cleavage stage versus blastocyst stage embryo transfer in assisted conception. *Cochrane Database Syst Rev* 2005; (4):CD002118.
 74. Guerif F, Bidault R, Gasnier O, Couet ML, Gervereau O, Lansac J, et al. Efficacy of blastocyst transfer after implantation failure. *Reprod Biomed Online* 2004; 9(6):630-6.
 75. Levitas E, Lunenfeld E, Har-Vardi I, Albotiano S, Sonin Y, Hackmon-Ram R, et al. Blastocyst-stage embryo transfer in patients who failed to conceive in three or more day 2-3 embryo transfer cycles: a prospective, randomized study. *Fertil Steril* 2004; 81(3):567-71.
 76. Zeyneloglu HB, Arici A, Olive DL. Adverse effects of hydrosalpinx on pregnancy rates after in vitro fertilization-embryo transfer. *Fertil Steril* 1998; 70(3):492-9.
 77. Meyer WR, Castelbaum AJ, Somkuti S, Sagoskin AW, Doyle M, Harris JE, et al. Hydrosalpinges adversely affect markers of endometrial receptivity. *Hum Reprod* 1997; 12(7):1393-8.
 78. Strandell A, Lindhard A, Waldenström U, Thorburn J, Janson PO, Hamberger L. Hydrosalpinx and IVF outcome: a prospective, randomized multicentre trial in Scandinavia on salpingectomy prior to IVF. *Hum Reprod* 1999; 14(11):2762-9.
 79. Johnson NP, Mak W, Sower MC. Surgical treatment for tubal disease in women due to undergo in vitro fertilisation. *Cochrane Database Syst Rev* 2004; (3):CD002125.
 80. Kontoravdis A, Makrakis E, Pantos K, Botsis D, Deligeoroglou E, Creatsas G. Proximal tubal occlusion and salpingectomy result in similar improvement in vitro fertilization outcome in patients with hydrosalpinx. *Fertil Steril* 2006; 86(6):1642-9.
 81. Gardner DK, Reed L, Linck D, Sheehan C, Lane M. Quality control in human in vitro fertilization. *Semin Reprod Med* 2005; 23(4):319-24.
 82. Simon C, Mercader A, Garcia-Velasco J, Nikas G, Moreno C, Remohi J, et al. Coculture of human embryos with autologous human

- endometrial epithelial cells in patients with implantation failure. J Clin Endocrinol Metab 1999; 84(8):2638-46.*
83. Jayot S, Parneix I, Verdaguer S, Discamps G, Audebert A, Emperaire JC. Coculture of embryos on homologous endometrial cells in patients with repeated failures of implantation. *Fertil Steril 1995; 63(1):109-14.*
84. Spandorfer SD, Pascal P, Parks J, Clark R, Veeck L, Davis OK, et al. Autologous endometrial coculture in patients with IVF failure: outcome of the first 1,030 cases. *J Reprod Med 2004; 49(6):463-7.*
85. Sallam HN. Embryo transfer: factors involved in optimizing the success. *Curr Opin Obstet Gynecol 2005; 17(3):289-98.*
86. Takahashi K, Mukaida T, Tomiyama T, Goto T, Oka C. GnRH antagonist improved blastocyst quality and pregnancy outcome after multiple failures of IVF/ICSI-ET with a GnRH agonist protocol. *J Assist Reprod Genet 2004; 21(9):317-22.*