



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΡΗΤΗΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ

Σύγκριση ανθρωπομετρικών και ορμονικών παραμέτρων, καθώς και της υποδεκτικότητας του ενδομητρίου (ποσοστά εμφύτευσης, βιοχημικής και κλινικής εγκυμοσύνης) της εξωσωματικής γονιμοποίησης ανάμεσα σε λήπτριες ωαρίων με ιστορικό ενδομητρίωσης και σε λήπτριες χωρίς ενδομητρίωση

ΜΑΡΙΑ ΚΩΝ. ΓΚΟΥΝΤΑΚΟΥ

ΒΙΟΛΟΓΟΣ

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΥΠΟΒΛΗΘΗΚΕ ΣΤΗΝ ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ ΤΟΥ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΚΡΗΤΗΣ

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΑΚΟ ΕΤΟΣ 2014-2015

ΗΡΑΚΛΕΙΟ 2015

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Αλεξάνδρα Καλογεράκη, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Κυτταρολογίας

Ιωάννης Ματαλλιωτάκης, Αναπληρωτής Καθηγητής Μαιευτικής-Γυναικολογίας

Ιωάννης Πράπας, Καθηγητής Μαιευτικής-Γυναικολογίας Α.Π.Θ

ΕΠΤΑΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Αλεξάνδρα Καλογεράκη, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Κυτταρολογίας

Ιωάννης Ματαλλιωτάκης, Αναπληρωτής Καθηγητής Μαιευτικής-Γυναικολογίας

Ιωάννης Πράπας, Καθηγητής Μαιευτικής-Γυναικολογίας Α.Π.Θ

Οδυσσέας Ζώρας, Καθηγητής Γενικής Χειρουργικής

Κωνσταντίνος Ρελάκης, Αναπληρωτής Καθηγητής Μαιευτικής-Γυναικολογίας

Γεώργιος Χαλκιαδάκης, Καθηγητής Γενικής Χειρουργικής

Μαρία Τζαρδή, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Παθολογικής Ανατομικής

«Η έγκριση της διδακτορικής διατριβής από την Ιατρική Σχολή του Πανεπιστημίου Κρήτης δεν υποδηλώνει αποδοχή των γνωμών του συγγραφέως» Νόμος 5343/32, αρθρ. 202§2 και Νόμος 1268/82 αρθρ. 50 §2.

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η ενδομητρίωση είναι συχνή γυναικολογική πάθηση, η οποία επηρεάζει την ποιότητα ζωής της γυναίκας, αλλά και τη γονιμότητά της. Η αιτιοπαθογένεια της ωστόσο είναι εξαιρετικά πολύπλοκη και ουσιαστικά ανεξήγητη. Συχνά εντοπίζεται η πάθηση στις ωοθήκες, με εμφάνιση κύστεων (ενδομητριωσικών κύστεων), οι οποίες πολλές φορές προκαλούν καταστροφή του ωθηκικού φλοιού, με συνέπεια την ελάττωση της γονιμότητας λόγω μείωσης της ωθηκικής παρακαταθήκης. Η έρευνα σχετικά με τους μηχανισμούς που εμπλέκονται στην εμφάνιση της ενδομητρίωσης, αλλά και η εξέλιξη και οι επιπτώσεις της στη γυναικεία γονιμότητα έχει ιδιαίτερο ενδιαφέρον για την επιστημονική κοινότητα.

Στην παρούσα μελέτη έγινε σύγκριση ανθρωπομετρικών, ορμονικών παραμέτρων και της υποδεκτικότητας του ενδομητρίου ανάμεσα σε λήπτριες ωαρίων που είχαν ιστορικό ενδομητρίωσης και σε λήπτριες με ιστορικό ελεύθερο ενδομητρίωσης. Σημειώνεται ότι ανάλογα δεδομένα στη διεθνή βιβλιογραφία δεν αναφέρονται. Ο σχεδιασμός της μελέτης ήταν τέτοιος, ώστε να είναι εφικτή η διερεύνηση όλων των παραπάνω παραμέτρων, τόσο πριν όσο και κατά τη διάρκεια της κύησης.

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Πρωτίστως θα ήθελα να ευχαριστήσω την Αναπληρώτρια Καθηγήτρια κα. Αλεξάνδρα Καλογεράκη που με εμπιστεύτηκε και μου ανέθεσε την εκπόνηση της διδακτορικής διατριβής. Της εκφράζω τη βαθιά μου ευγνωμοσύνη για την ευκαιρία που μου προσέφερε και την ευχαριστώ για την εμπιστοσύνη και τη συνεχή συμπαράστασή της.

Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Αναπληρωτή Καθηγητή Μαιευτικής και Γυναικολογίας κ.Ιωάννη Ματαλλιωτάκη, ο οποίος με τις πολύτιμες παρεμβάσεις του συνέβαλε καθοριστικά στην ορθή επιστημονική προσέγγιση της συγκεκριμένης μελέτης.

Ευχαριστώ ακόμη τον Καθηγητή Μαιευτικής και Γυναικολογίας Α.Π.Θ κ. Ιωάννη Πράπα. Από την ανάθεση του θέματος μέχρι τη συγγραφή της διδακτορικής διατριβής η συμπαράστασή του ήταν άμεση και αμέριστη και οι συμβουλές του ανεκτίμητες. Η ολοκλήρωσή της θα ήταν αδύνατη χωρίς την αδιάλειπτη επίβλεψή του.

Ένα μεγάλο ευχαριστώ οφείλω στον Καθηγητή Μαιευτικής και Γυναικολογίας Α.Π.Θ κ.Νικόλαο Πράπα, του οποίου η πίστη στις δυνατότητες μου αποτέλεσε αρωγό σε όλους τους στόχους και τα όνειρά μου. Ως ελάχιστο δείγμα ευγνωμοσύνης θα ήθελα να ευχαριστήσω επίσης τους συναδέλφους μου Γιάννη Παναγιωτίδη, Λία Κασάπη, Αχιλλέα Παπαθεοδώρου, Τάτια Πασαδάκη και Άρτεμις Καρκανάκη.

Τέλος θα ήθελα να εκφράσω τις ειλικρινείς ευχαριστίες μου στις γυναίκες που συμμετείχαν στη μελέτη αυτή, οι οποίες με υπομονή και καλή πρόθεση, με βοήθησαν σε ένα επιστημονικό πεδίο, που μου έδωσε δυνατότητα βελτίωσης επιστημονικής και προσωπικής.

Στο Δημήτρη και την Ιωάννα

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

A. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

2. ΕΝΔΟΜΗΤΡΙΩΣΗ

2.1 Ορισμός και επιδημιολογία

2.2 Αιτιοπαθογένεια

2.3 Σταδιοποίηση

2.4 Ενδομητρίωση και γονιμότητα

2.5 Ενδομητρίωση και υπογονιμότητα

2.6 Ενδομητρίωση και υποβοηθούμενη αναπαραγωγή

3. ΕΜΦΥΤΕΥΣΗ ΕΜΒΡΥΟΥ

3.1 Μηχανισμός και παράθυρο εμφύτευσης εμβρύου

3.2 Παράγοντες εμφύτευσης εμβρύου

4. ΒΙΟΧΗΜΙΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ

4.1 Ο ρόλος του Ca-125 στην ενδομητρίωση

4.2 Ο ρόλος του VEGF στην ενδομητρίωση

4.3 Ο ρόλος της AMH ή MIS στην ενδομητρίωση

4.4 Ο ρόλος της IL-6 στην ενδομητρίωση

B. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

5. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

6. ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

6.1 Χαρακτηριστικά της μελέτης

6.2 Επιλογή δότριας

6.3 Πρωτόκολλο διέγερσης ωθηκών δότριας

6.4 Προετοιμασία ενδομητρίου λήπτριας

6.5 Εξωσωματική γονιμοποίηση και εμβρυομεταφορά

6.6 Ορμονικός έλεγχος (FSH, LH, E2 AMH) και μέτρηση

Ca-125, VEGF, IL-6

7. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ- ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ

7.1 Ενδομητριωσικές (Ομάδα I) vs χωρίς ενδομητρίωση (Ομάδα II)

7.2 Εμμηνορρυσιακές (Ομάδα III) vs εμμηνοπαυσιακές (Ομάδα IV) σε OD με ιστορικό ενδομητρίωσης

7.3 Εμμηνορρυσιακές (Ομάδα V) vs εμμηνοπαυσιακές (Ομάδα VI) σε OD χωρίς ιστορικό ενδομητρίωσης

7.4 Σύγκριση των τεσσάρων υποομάδων(Ομάδα V, Ομάδα VI, Ομάδα III και Ομάδα IV) ταυτόχρονα

8. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

9. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

10. ΠΕΡΙΛΗΨΗ

11. SUMMARY

12. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΩΝ - ΞΕΝΟΓΛΩΣΣΟΙ ΟΡΟΙ

AFS	αμερικάνικη εταιρεία γονιμότητας
ASRM	American Society for Reproductive Medicine
AMH	αντιμυλλέριος ορμόνη
ASRM	αμερικάνικη εταιρεία ιατρικής της αναπαραγωγής
BMI	δείκτης μάζας σώματος
Ca125	καρκινικό αντιγόνο CA-125
COX-2	ένζυμο ενδοϋπεροξειδίου προσταγλανδίνης-συνθετάσης
E2	οιστραδιόλη
EGF	επιδερμικός παράγοντας
EY	εξωκυττάριο στρώμα
FSH	ωοθυλακιοτρόπος ορμόνη
GnRH	ορμόνη που διεγείρει τις γοναδοτροπίνες
HGF	αιμοποιητικοί αυξητικοί παράγοντες
HOX10	Hox γονίδια είναι μια ομάδα σχετικών γονιδίων που ελέγχουν το σχέδιο του σώματος του εμβρύου κατά μήκος του πρόσθιο-οπίσθια (κεφάλι-ουρά) άξονα
HOXA11	Hox γονίδια είναι μια ομάδα σχετικών γονιδίων που ελέγχουν το σχέδιο του σώματος του εμβρύου κατά μήκος του πρόσθιο-οπίσθια (κεφάλι-ουρά) άξονα
ICSI	μικρογονιμοποίηση
IL-1	ιντερλευκίνη 1
IL-6	ιντερλευκίνη 6
IL-10	ιντερλευκίνη 10
IL-11	ιντερλευκίνη 11
IVF	κύκλος εξωσωματικής γονιμοποίησης
LH	ωχρινοτρόπος ορμόνη
LIF	ανασταλτικός παράγοντας λευχαιμίας
MAF	αυξητικός παράγοντας φαγοκυττάρων
MUC-1	βλεννογλυκοπρωτεΐνη-1

NK	φυσικοί φονείς
OD	κύκλος δωρεάς ωαρίων
P	προγεστερόνη
PGE	προσταγλανδίνη E
Placental Protein-14 PP-14	πλακουντιακή πρωτεΐνη 14
r-FSH	ανασυνδυασμένη ωοθυλακιοτρόπος ορμόνη
TNF-α	ογκονεκρωτικός παράγοντας
TGF-α	μετατρεπτικός αυξητικός παράγοντας α
TGF-β	μετατρεπτικός αυξητικός παράγοντας β
VEGF-A	αγγειακός ενδοθηλιακός αυξητικός παράγων A
VEGFR	υποδοχέας VEGF

A. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1.ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η ενδομητρίωση είναι καλοήθης γυναικολογική πάθηση της αναπαραγωγικής ηλικίας, η οποία εμφανίζεται σε 2- 10% των γυναικών του γενικού πληθυσμού ή στο 50% των γυναικών που εμφανίζουν υπογονιμότητα (Wheeler JM et al., 1992; Meuleman C et al., 2009) και ανάλογα με τα συμπτώματα επηρεάζει την ποιότητα ζωής της γυναίκας (Simoens S et al., 2007; Simoens S et al.,2012).

Η ενδομητρίωση μπορεί να είναι ασυμπτωματική ή να παρουσιάζει δευτεροπαθή δυσμηνόρροια, εν τω βάθει δυσπαρέυνεια, χαμηλή οσφυαλγία, χρόνιο πυελικό άλγος. Η υποψία ενδομητρίωσης τίθεται με γυναικολογική εξέταση και διακολπικό υπερηχογράφημα και αποδεικνύεται με ιστολογική ανάλυση του ιστού που συλλέγεται από άμεση βιοψία ή μετά τη λαπαροσκόπηση. Στη διάρκεια της λαπαροσκόπησης γίνεται εκτίμηση της ενδομητρίωσης σύμφωνα με το σύστημα κατάταξης της ASRM (American Society for Reproductive Medicine, 1997). Σύμφωνα με την κατάταξη αυτή η ενδομητρίωση εμφανίζει τέσσερα στάδια : ελάχιστη, ήπια, μέτρια και σοβαρή. Ωστόσο αυτά τα στάδια δεν είναι πάντα αντίστοιχα της έντασης των συμπτωμάτων και των προβλημάτων υπογονιμότητας που μπορεί να υπάρχουν.

Παρόλο που η λαπαροσκόπηση είναι το gold standard για τη διάγνωση της ενδομητρίωσης, η δυνατότητα να διαγνωστεί και να εκτιμηθεί η επίδρασή της με λιγότερο επεμβατικά μέσα, όπως η χρήση ενός βιολογικού δείκτη (biomarker), θα μπορούσε να είναι εξαιρετικά μεγάλης οικονομικής και κοινωνικής σημασίας. Οι βιολογικοί δείκτες (biomarkers) αξιολογούνται ως δείκτες βιολογικών διαδικασιών,

παθολογικών διαδικασιών ή και της φαρμακευτικής αγωγής στη διάρκεια θεραπείας (Biomarkers Definitions Working Group, 2001).

Παρόλο που πολλοί μηχανισμοί έχουν προταθεί για να εξηγήσουν τον τρόπο που η ενδομητρίωση σχετίζεται με την υπογονιμότητα, δεν υπάρχουν σημαντικά δεδομένα για την επίδραση της ενδομητρίωσης στην εμφύτευση. Πολλοί ερευνητές αναφέρουν στατιστικά σημαντικά χαμηλότερα ποσοστά εμφύτευσης και εγκυμοσύνης σε γυναίκες με ενδομητρίωση, οι οποίες υποβάλλονται σε κύκλο εξωσωματικής γονιμοποίησης (IVF) (Arıcı A et al., 1996; Barnhart K et al., 2002; Kuivasaari P et al., 2005), ενώ άλλοι ισχυρίζονται ότι δεν υπάρχει διαφορά μεταξύ γυναικών με ενδομητρίωση και γυναικών με ιστορικό ελεύθερο ενδομητρίωσης (Inoue M et al., 1992; Dmowski WP et al., 1995; Bukulmez O et al., 2001).

Στην προσπάθεια να γίνει κατανοητό εάν το ενδομήτριο, το ωάριο ή και τα δυο επηρεάζονται από την ενδομητρίωση, χρησιμοποιήθηκε το μοντέλο της δωρεάς ωαρίων. Σε ορισμένες μελέτες φάνηκε ότι η ενδομητρίωση δεν επηρεάζει την εμφύτευση (Sung L et al., 1997; Diaz I et al., 2000). Αυτά τα αποτελέσματα αμφισβητήθηκαν για δυο λόγους. Πρώτον, οι γυναίκες που συμμετείχαν σε αυτές τις μελέτες δεν αντιπροσώπευαν το γενικό πληθυσμό των γυναικών με ενδομητρίωση, γιατί ήταν πιο μεγάλες σε ηλικία και είχαν ανάγκη δωρεάς ωαρίων, αφού τα αποθέματα των ωοθηκών τους είχαν μειωθεί δραματικά. Σύμφωνα με τα παραπάνω, πιθανόν η ενδομητρίωση να υποστράφηκε αυτόματα (Cakmak H and Taylor HS, 2010a). Δεύτερον, τα GnRH ανάλογα (καταστολεις των γοναδοτροπινών) που χρησιμοποιήθηκαν για να προετοιμαστούν οι λήπτριες δανεικών ωαρίων πιθανόν να επηρέασαν την κατάσταση της ενδομητρίωσης (Lessey BA, 1998).

Παρόλο που είναι αποδεκτό ότι η ενδομητρίωση υποστρέφεται όταν οι γυναίκες πλησιάζουν στην εμμηνόπαυση, μη αναστρέψιμες επιγενετικές αλλαγές του ενδομητρίου σε γυναίκες με ενδομητρίωση (Cakmak H and Taylor HS, 2010b), όπως και επανενεργοποίηση της ενδομητρίωσης σε γυναίκες που έχουν περάσει στην εμμηνόπαυση, με ή χωρίς ορμονική θεραπεία, έχει παρατηρηθεί σε αρκετές περιπτώσεις (Nisolle-Pochet M et al., 1988; Goumenou AG et al., 2003; Oxholm D et al., 2007).

Η παρούσα εργασία είχε ως σκοπό να διερευνήσει εάν η ενδομητρίωση επηρεάζει την υποδεκτικότητα του ενδομητρίου, συγκρίνοντας ανθρωπομετρικούς και ορμονικούς παράγοντες, σε γυναίκες με και χωρίς ιστορικό ενδομητρίωσης που συμμετείχαν σε πρόγραμμα δωρεάς ωαρίων.

2. ΕΝΔΟΜΗΤΡΙΩΣΗ

2.1 Ορισμός και επιδημιολογία

Ως ενδομητρίωση ορίζεται η παρουσία λειτουργικού ενδομητρίου (αδένες και στρώμα) εκτός της ενδομητρικής κοιλότητας. Συνήθως εντοπίζεται στις ωοθήκες, στο δουγλάσειο, στους ιερομητρικούς συνδέσμους ή στον τράχηλο. Τα κύρια συμπτώματά της είναι δυσμηνόρροια, δυσπαρέυνεια, δυσχεσία ή και υπογονιμότητα. Η παρουσία και ανάπτυξη ενδομητρικών αδένων και στρώματος στο μυομήτριο, με συμπτώματα δυσμηνόρροια αλλά και μηνορραγία ονομάζεται αδενομύωση, εντοπίζεται συνήθως σε γυναίκες 35-50 ετών, η οποία ίσως να είναι μια διαφορετική παθολογική οντότητα (Βαβίλης Δ, 2002).

Ως προς τη συχνότητα θεωρείται ότι είναι η τρίτη πιο συχνή γυναικολογική πάθηση. Το ακριβές ποσοστό όμως είναι δύσκολο να εκτιμηθεί, γιατί πολλές γυναίκες που πάσχουν από ενδομητρίωση είναι ασυμπτωματικές. Επίσης, η διάγνωση εξαρτάται και από τη διαγνωστική προσέγγιση. Στο γενικό πληθυσμό η συχνότητα είναι 7-10% (Hompes and Mijatovic, 2007). Στις υπογόνιμες γυναίκες εντοπίζεται στο 50% των γυναικών που εμφανίζουν υπογονιμότητα (Wheeler JM et al., 1992; Meuleman C et al., 2009).

Η ενδομητρίωση είναι καλοήθης γυναικολογική πάθηση της αναπαραγωγικής ηλικίας. Η συχνότητα αυξάνει με την ηλικία από 17/100.000 γυναίκες-έτη μεταξύ γυναικών ηλικίας 15-19 ετών, σε 285/100.000 γυναίκες-έτη σε γυναίκες ηλικίας 45-49 ετών (Porkas R et al., 1994).

Σύμφωνα με επιδημιολογικές μελέτες η ενδομητρίωση εμφανίζει οικογενή χαρακτηριστικά. Θεωρείται κληρονομούμενη νόσος με πολυγονιδιακό και πολυπαραγοντικό χαρακτήρα που εμφανίζεται στο 5-7% των συγγενών πρώτου βαθμού (Simpson JL et al., 2003). Επίσης διαπιστώθηκε πως η ενδομητρίωση είναι σοβαρότερης μορφής στις οικογενείς σε σχέση προς τις σποραδικές περιπτώσεις (Malinak LR et al., 1980). Τέλος αναφέρθηκε ότι η αυξημένη ετερογένεια της ανευπλοειδίας του χρωμοσώματος 17 που εντοπίστηκε σε ιστολογικά δείγματα ενδομητρίωσης συνηγορεί υπέρ των γενετικών διαφοροποιήσεων που σχετίζονται με την εμφάνιση και επιδείνωση της νόσου (Kosugi Y et al., 1999).

Σύμφωνα με τη θεωρία της παλίνδρομης διασποράς, η αυξημένη ποσότητα του εμμηνορρυσιακού υλικού που παλινδρομεί στην περιτοναϊκή κοιλότητα κατά την εμμηνορρυσία αυξάνει την πιθανότητα εμφάνισης ενδομητρίωσης. Επίσης, η δυσμηνόρροια σχετίζεται έντονα με την ενδομητρίωση, καθώς θεωρείται ότι οι αυξημένες συσπάσεις της μήτρας οδηγούν σε αυξημένη παλινδρόμηση εμμηνορρυσιακού υλικού στην περιτοναϊκή κοιλότητα διαμέσου των σαλπίνγων (Schulman H et al., 1983).

Σύμφωνα με επιδημιολογικές μελέτες οι γυναίκες με διάρκεια εμμηνορρυσίας μεγαλύτερη των επτά ημερών έχουν αυξημένο κίνδυνο (2,4 φορές) για εμφάνιση ενδομητρίωσης, σε σχέση με τις γυναίκες με μικρότερη διάρκεια εμμηνορρυσίας (Arumugam K and Lim JM, 1997).

Τέλος, αν και η έκθεση των γυναικών σε τοξικούς περιβαλλοντικούς (π.χ. διοξίνες) και διαιτητικούς (π.χ. κεκορεσμένα λιπαρά) παράγοντες αναφέρονται ως

αίτια της πάθησης, η άποψη αυτή δεν έχει επικρατήσει (Rier HS et al., 2001; Missmer SA et al., 2003; Parazzini F et al., 2004).

2.2 Αιτιοπαθογένεια

Η ενδομητρίωση θεωρείται αινιγματική γυναικολογική πάθηση τα αίτια και η παθογένεια της οποίας παραμένουν σχετικά αδιευκρίνιστα. Ανοσολογικοί, αγγειογενείς και αυξητικοί παράγοντες που συμμετέχουν στη σύνδεση, διείσδυση και ανάπτυξη των ενδομητρικών κυττάρων στην περιτοναϊκή κοιλότητα, θεωρούνται αίτια εμφάνισης και εξέλιξης της νόσου. Από το 1860, που ο Von Rokitansky έκανε για πρώτη φορά την περιγραφή της πάθησης έχουν διατυπωθεί πολλές θεωρίες για την ανάπτυξη της νόσου, καμιά όμως από αυτές δεν εξηγεί όλες της μορφές της νόσου.

Οι επικρατέστερες θεωρίες που αναφέρονται στην αιτιοπαθογένεια της νόσου είναι οι εξής:

1. **Η θεωρία της παλίνδρομης εμμηνορρυσίας και της άμεσης εμφύτευσης (Implantation theory)** (Sampson JA, 1927). Σύμφωνα με τη θεωρία αυτή τα ενδομητρικά κύτταρα εμφυτεύονται και αναπτύσσονται κατ' ευθείαν στην ελάσσονα πύελο, μετά από παλινδρόμηση του αίματος της εμμηνορρυσίας μέσω των σαλπίνγων. Βέβαια αν και η παλινδρόμηση αυτή συμβαίνει στο 70-90% των γυναικών, η ενδομητρίωση διαγιγνώσκεται μόνο στο 10% εξ'αυτών. Ωστόσο, η θεωρία αυτή δεν ερμηνεύει τις σπάνιες περιπτώσεις ενδομητρίωσης που εμφανίζονται σε γυναίκες με συγγενή απλασία της μήτρας, καθώς και στη σπάνια

ανεύρεση ενδομητρίωσης σε άνδρες ή και σε απομακρυσμένα όργανα εκτός της περιτοναϊκής κοιλότητας.

2. Η θεωρία της μετάπλασης του μεσοθηλίου (Coelomic Metaplasia Theory)

(Meyer R, 1903). Σύμφωνα με αυτή το έκτοπο ενδομήτριο μπορεί να προέλθει από μετάπτωση – μεταπλασία των κυττάρων του περιτοναϊκού μεσοθηλίου, υπό την επίδραση ορμονικών ή φλεγμονωδών παραγόντων. Η θεωρία αυτή μπορεί να ερμηνεύσει και την ανάπτυξη ενδομητρίωσης σε απομακρυσμένα όργανα, τη σπάνια ανεύρεση της νόσου σε άνδρες (Schrodt GR et al., 1980), καθώς και την εμφάνιση της νόσου σε γυναίκες με απουσία εμμήνου ρύσεως.

3. Η θεωρία της άμεσης επέκτασης (Direct extension theory).

Σύμφωνα με αυτή τη θεωρία το έκτοπο ενδομήτριο αυξάνει μέσω του μυομητρίου (Cullen TS, 1908). Αν και η ενδομητρίωση μπορεί να αναπτυχθεί με άμεση επέκταση μετά τη δημιουργία της, δεν υπάρχουν στοιχεία ότι το φυσιολογικό ενδομήτριο παράγει ενδομητρίωση με τον ίδιο τρόπο.

4. Η θεωρία της πρόκλησης (Induction Theory).

Θεωρείται επέκταση της θεωρίας της μετάπλασης του μεσοθηλίου. Σύμφωνα με αυτή το εκφυλιζόμενο ενδομήτριο παράγει ουσίες που ενεργοποιούν τη μετάπλαση των περιτοναϊκών κυττάρων σε ενδομητρίωση. Ωστόσο, πειραματικές μελέτες με εμφύτευση αποδομημένου ενδομητρίου σε πειραματόζωα απέδειξαν τη δυνατότητα ανάπτυξης μόνο ενδομητρικού επιθηλίου και όχι ενδομητρικών αδένων και στρώματος (Levander G and Normann P, 1955).

5. **Η θεωρία της λεμφικής και αγγειακής μετάστασης (Lymphatic and vascular metastasis theory).** Σύμφωνα με αυτή τα ενδομητρικά κύτταρα εισέρχονται στα αιμοφόρα και λεμφικά αγγεία της μήτρας κατά την έμμηνη ρύση και μεταφέρονται σε μακρινά όργανα, όπως ο πνεύμονας, τα οστά ή και ο εγκέφαλος, όπου και μπορούν να εμφυτεύονται (Halban J, 1924).

6. **Η θεωρία της ενεργοποίησης υπολειμμάτων εμβρυϊκών κυττάρων (Embryonic rests theory)** (Von Rocklinghausen F, 1896), σύμφωνα με την οποία, κυτταρικά υπολείμματα των πόρων του Muller, υπο την επίδραση ειδικού ερεθίσματος μπορεί να ενεργοποιούνται και να σχηματίζουν λειτουργικό ενδομητριωσικό ιστό. Με τη θεωρία αυτή δικαιολογούνται σπάνιες περιπτώσεις ανεύρεσης ενδομητρίωσης σε άνδρες οι οποίοι λόγω καρκίνου του προστάτη κάνουν θεραπεία με οιστρογόνα.

7. **Σύνθετη θεωρία (Composite theory).** Προτάθηκε από τον Javert το 1952 που συνδυάζει τη θεωρία της εμφύτευσης, της αγγειακής και λεμφικής μετάστασης και της άμεσης επέκτασης. Οι Nisolle και Donnez (Nisolle M and Donnez J, 1997) πρότειναν ότι η ιστογένεση της ενδομητρίωσης εξαρτάται από τον τύπο και τη θέση της ενδομητριωσικής βλάβης.

Από τις προαναφερθείσες θεωρίες, η πλέον αποδεκτή είναι αυτή της παλινδρομης εμμηνορρυσίας και άμεσης εμφύτευσης των ενδομητρικών κυττάρων. Ωστόσο, δεδομένου ότι όλες οι γυναίκες με παλινδρόμηση δεν αναπτύσσουν ενδομητρίωση, η έρευνα τα τελευταία χρόνια στράφηκε **στο ρόλο του ανοσολογικού συστήματος** της γυναίκας. Μια ανώμαλη ανοσολογική απόκριση ή ελαττωματική απόκριση σε ιστική βλάβη μπορεί να αυξάνει την πιθανότητα ενδομητρίωσης. Έχει

αναφερθεί ότι σε γυναίκες με ενδομητρίωση παράγονται αυτοαντισώματα που συνδέονται με τις μεταλλοπρωτεΐνες της θεμέλιας ουσίας και διαταράσσουν την έκφρασή τους στα έκτοπα κύτταρα με αποτέλεσμα αυτά να παρουσιάζουν αυξημένη διηθητικότητα και να αναπτύσσονται σε έκτοπες θέσεις (Eidukaite A and Tamosiunas V, 2004). Η άποψη αυτή θεωρεί ότι η ενδομητρίωση θα μπορούσε να είναι μια αυτοάνοση παθολογική κατάσταση.

Το περιτοναϊκό υγρό περιέχει φαγοκύτταρα, T-λεμφοκύτταρα και μεσοεπιθηλιακά κύτταρα. Τα ενεργοποιημένα φαγοκύτταρα έχουν τις εξής λειτουργίες: α) αυξημένη φαγοκυττάρωση, β) αυξημένη παραγωγή οξυγονούχων ριζών και γ) αυξημένη παραγωγή ενζυματικών ουσιών, όπως IL-1, ογκοκρωτικό παράγοντα TNF-α, αυξητικό παράγοντα φαγοκυττάρων MAF, προσταγλανδίνη E (PGE) και άλλες. Με την ενεργοποίηση των περιτοναϊκών T-λεμφοκυττάρων δραστηριοποιείται η ανοσολογική ανταπόκριση και η ενεργοποίηση των φυσικών κυττάρων φονέων (NK κύτταρα) του περιτοναϊκού υγρού, τα οποία αποτελούν την βασική άμυνα στην εμφύτευση των ενδομητρικών κυττάρων σε έκτοπες θέσεις. Στις γυναίκες με ενδομητρίωση τοπικά παρατηρείται, **η ανάπτυξη άσηπτης μικροβιακής φλεγμονώδους αντίδρασης**. Η αναφερόμενη αυξημένη συγκέντρωση κυτταροκινών, μακροφάγων, ιντερλευκινών, λυσοζύμης, παράγοντα TNF, προσταγλανδινών και αυξητικών παραγόντων επιβεβαιώνουν τον ανοσολογικό χαρακτήρα της ενδομητρίωσης (Vigano P et al., 2004). Από τις ουσίες αυτές, οι κυτταροκίνες προσελκύουν τα μακροφάγα και τα λεμφοκύτταρα με συνέπεια τη φλεγμονώδη αντίδραση, ενώ η τοπική δραστηριότητα των NK-κυττάρων είναι

ελαττωμένη και έτσι οδηγεί σε ελαττωμένη αντίσταση των ιστών στην εμφύτευση του ενδομητρικού ιστού.

Σημαντικό ρόλο στην εμφάνιση και εξέλιξη της ενδομητρίωσης παρουσιάζουν οι αυξημένες συγκεντρώσεις αγγειογενετικών παραγόντων όπως FGF, TGF- α , TGF- β , HGF, VEGF-A (Matalliotakis IM et al., 2003).

Επίσης, στην εμφύτευση ενδομητρικών κυττάρων φαίνεται να παίζουν ρόλο και πρωτεΐνες της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας, όπως η φιβρονεκτίνη, η λαμινίνη και οι τύποι I και IV του κολλαγόνου, οι υποδοχείς της ιντεγκρίνης και οι ενδομήτριες γλυκοπρωτεΐνες.

Σύμφωνα με τα παραπάνω φαίνεται ότι η εμπλοκή και η ελαττωμένη ανταπόκριση του ανοσολογικού συστήματος βοηθούν στην εμφύτευση και ανάπτυξη των ενδομητρικών κυττάρων, μετά από παλινδρόμηση αίματος της εμμήνου ρύσεως στην περιτοναϊκή κοιλότητα και έτσι εξηγείται γιατί άλλες γυναίκες αναπτύσσουν ενδομητρίωση και άλλες όχι. Πιθανόν οι ανοσοβιολογικές αυτές διαταραχές της ενδομητρίωσης να οδηγούν τις γυναίκες αυτές σε υπογονιμότητα και αυξημένο ποσοστό αυτόματων αποβολών.

Η λειτουργία του ανοσοβιολογικού συστήματος και η σχέση του με τη υπογονιμότητα, σε γυναίκες με ενδομητρίωση έχει γίνει αντικείμενο μελέτης πολλών ερευνητών. Ορισμένοι έχουν αναφέρει παραγωγή αντισωμάτων ενάντια σε αντιγόνα του ενδομητρίου, όπως και δυσλειτουργία των Τ α κυττάρων και των μακροφάγων. Κάποιοι άλλοι αναφέρουν αυξημένη παραγωγή κυτοκινών στο περιτοναϊκό υγρό και στον ορό του αίματος, που πιθανό να επηρεάζει την κίνηση

των σπερματοζωαρίων, την ακροσωμική αντίδραση, την εμφύτευση του εμβρύου ή και την ανάπτυξή του (Matalliotakis IM et al., 1996; Mattoras R et al., 1996). Ωστόσο, ακόμη και σήμερα δεν είναι ακριβώς γνωστό ποια είναι η αιτία ή και πως επηρεάζει ακριβώς καθεμιά από αυτές τις ανωμαλίες στην παθογένεια της ενδομητρίωσης που σχετίζεται με την υπογονιμότητα.

Το ανοσοποιητικό σύστημα θεωρείται ότι συμμετέχει στην παθογένεια της ενδομητρίωσης και η απουσία ικανής ανοσολογικής επιτήρησης στο περιτόναιο μπορεί να αποτελεί αίτιο της νόσου. Σε υγιείς γυναίκες τα παλινδρομηθέντα κατά την εμμηνορρυσία ενδομητριακά κύτταρα καταστρέφονται από τα μονοκύτταρα και σε περίπτωση που η δράση των μονοκυττάρων είναι ανεπαρκής από τα μακροφάγα και από τα Nk cells κυτταροτοξικά λεμφοκύτταρα (Oosterlynck DJ et al., 1991).

Η περιτοναϊκή αυτή αντίδραση προλαμβάνει την προσκόλληση των ενδομητριακών κυττάρων στο περιτόναιο και εμποδίζει την ανάπτυξη ενδομητριοειδών εστιών. Η Sharpe-Timms et al., 1998, με τη μέθοδο της ηλεκτροφόρησης πρωτεϊνών ανακάλυψαν μία πρωτεΐνη στα ενδομητρικά κύτταρα από εστίες ενδομητρίωσης, που ονόμασαν Endo-1. Αυτή η πρωτεΐνη Endo-1 δεν παρατηρείται στα ενδομητριακά κύτταρα, που αναπτύσσονται στη φυσιολογική ανατομική θέση. Αυτή η πρωτεΐνη εμφανίζει δομικές ομοιότητες με την απτογλοβίνη, η οποία απαντάται στα ενδομητρικά κύτταρα, που αναπτύσσονται στη φυσιολογική ανατομική θέση. Οι δράσεις της πρωτεΐνης Endo-1 είναι να προσδένεται στα μακροφάγα του περιτονίου, τα οποία διεγείρει, να παράγουν IL-6 και με αυτό τον τρόπο να ελαττώνεται η ικανότητα φαγοκυττάρωσης τους, παρεμβαίνοντας έτσι στο στάδιο της προσκόλλησης. Υπάρχουν ακόμη στοιχεία για

διαταραγμένη λειτουργία των κυττάρων φυσικών φονέων (NK) με αποτέλεσμα μειωμένη επιτήρηση των έκπτωτων ιστών. Στις γυναίκες με ενδομητρίωση το περιτοναϊκό υγρό παρουσιάζει υψηλές συγκεντρώσεις κυτταροκινών (Oosterlynck DJ et al., 1991), αυξητικών παραγόντων και αγγειογεννητικών παραγόντων (Shifren J et al., 1996) του ωοθυλακικού υγρού.

Περιβαλλοντικοί παράγοντες όπως έκθεση σε διοξίνες, αλλά και διαιτητικοί παράγοντες, όπως αλκοολ και καφές σχετίζονται με την αιτιοπαθογένεια της πάθησης (Missmer SA and Cramer DW, 2003; Parazzini F et al., 2004). Οι διοξίνες είναι ομάδα χημικών ουσιών, παραπροϊόν βιομηχανικών δραστηριοτήτων που μετά τη δημιουργία τους συγκεντρώνονται στην τροφική αλυσίδα. Οι διοξίνες παρεμβάλλονται στο μηχανισμό ενεργοποίησης και απενεργοποίησης των γονιδίων. Τα γονίδια στόχος για τις διοξίνες είναι εκείνα που ρυθμίζουν το μεταβολισμό των ορμονών και τους αυξητικούς παράγοντες και με αυτό τον τρόπο επηρεάζουν την αναπαραγωγική λειτουργία και το ανοσολογικό σύστημα. Οι διοξίνες επηρεάζουν αρνητικά την παραγωγή κυτταροκινών που συμμετέχουν στη φυσιολογική λειτουργία της μήτρας (Tabibzadeh S, 1994). Επίσης επηρεάζουν ορμονικούς υποδοχείς μεταξύ των οποίων τον υποδοχέα των οιστρογόνων, της προγεστερόνης, της προλακτίνης και του επιδερμικού παράγοντα (EGF) (Koninckx PR et al., 1980).

Τα πειραματικά μοντέλα με θηλαστικά παρέχουν σημαντικές πληροφορίες για τους περιβαλλοντικούς παράγοντες και την πιθανή επίδρασή τους στην εμφάνιση ενδομητρίωσης όπως οι πίθηκοι RHESUS, που εκτέθηκαν σε ολόσωμη ακτινοβολία με πρωτόνια, παρουσιάζουν μεγαλύτερη συχνότητα εμφάνισης ενδομητρίωσης. Όταν οι πίθηκοι Rhesus εκτίθονταν κάθε μέρα σε 5-25 p.p.m

διοξίνη για τέσσερα χρόνια, η σοβαρότητα της ενδομητρίωσης ήταν ανάλογη της δόσης που ελάμβαναν. Ωστόσο άλλες μελέτες, που ακολούθησαν, δεν οδηγήθηκαν στο ίδιο συμπέρασμα ως προς τη δράση της διοξίνης¹⁰. Πάντως υπάρχουν υπόνοιες ότι χημικές ουσίες με αυξημένο κίνδυνο να προκαλέσουν ενδομητρίωση είναι εκείνες, που τα μόρια ομοιάζουν με τα μόρια των οιστρογόνων, oestrogen-like compounds. Ως προς το μηχανισμό της δράσης των ουσιών αυτών πιθανολογείται ότι αυτές επηρεάζουν την ικανότητα της προγεστερόνης να καταστέλλει την έκταση των μεταλλοπρωτεασών του ενδομητρίου (Attia GR et al., 2000).

Τέλος, μόνο η **μοριακή βιολογία και ο έλεγχος του γονιδιώματος** θα βοηθήσουν στη θεραπευτική προσέγγιση της ενδομητρίωσης, αφού οι κλασικές θεωρίες σήμερα θεωρούνται ανεπαρκείς. Μελέτη συγκεκριμένων γονιδίων με διαταραγμένη λειτουργία στον ενδομητρικό ιστό.

Τα τελευταία χρόνια έχει παρουσιαστεί ενδιαφέρον για την έκφραση συγκεκριμένων γονιδίων. Αυτά τα συγκεκριμένα γονίδια εκφράζονται άλλες στιγμές υπέρμετρα στην περίοδο της εμφύτευσης και άλλες στιγμές υπέρμετρα στη διάρκεια του κύκλου των γυναικών με ενδομητρίωση. Με βάση τη δράση αυτών των συγκεκριμένων γονιδίων μπορούν να κατατάσσονται στις εξής κατηγορίες: Α) γονίδια που επάγουν την τοπική παραγωγή οιστρογόνων Β) γονίδια που επάγουν αντίσταση στη δράση της προγεστερόνης Γ) γονίδια που επάγουν την παραγωγή διαφόρων άλλων μορίων όπως, των Matrix metalloproteinases (MMPs) και των Vascular endothelial growth factor (VEGF).

2.3 Σταδιοποίηση

Η σταδιοποίηση της ενδομητρίωσης είναι απαραίτητη για κάθε ασθενή, τόσο για να καθοριστεί η θεραπεία, όσο και για να συγκριθούν τα αποτελέσματα των θεραπευτικών σχημάτων. Από την εποχή που έγιναν οι πρώτες αναφορές στην ενδομητρίωση ξεκίνησαν και οι προσπάθειες για τη θέσπιση ενός συστήματος ταξινόμησης, με βάση την έκταση της νόσου ή τα ιστολογικά ευρήματα.

Το 1949 οι Wicks MJ και Larson CP πρότειναν ένα σύστημα ταξινόμησης, το οποίο βασίστηκε αποκλειστικά σε ιστολογικά ευρήματα, χωρίς να δίνει βαρύτητα στα συμπτώματα. Το 1961 οι Riva HL, Wilson JH και Kawasaki DM έκαναν άλλη μια προσπάθεια για τη σταδιοποίηση της ενδομητρίωσης, στα πλαίσια μιας μελέτης για αγωγή με νορεθινοδρέλη, ωστόσο ποτέ δεν προτάθηκε για διεθνή χρήση. Το 1966 ο Beecham CT πρότεινε ένα σύστημα ταξινόμησης της ενδομητρίωσης για διεθνή χρήση, βασισμένο στα ευρήματα από τη φυσική εξέταση ή τη λαπαροτομία. Το σύστημα δεν έγινε τελικά αποδεκτό.

Το 1973 οι Acosta AA και συνεργάτες πρότειναν ένα σύστημα ταξινόμησης που διέκρινε την ενδομητρίωση σε ελαφρά, μέτρια και βαριά. Το σύστημα έγινε αποδεκτό γιατί συσχέτισε το στάδιο της πάθησης με την πρόγνωση επίτευξης εγκυμοσύνης, στις περιπτώσεις που υπήρχε πρόβλημα υπογονιμότητας. Επίσης διαχώριζε την ενδομητρίωση σε ελαφριά, μέτρια και βαριά με βάση τα ευρήματα της λαπαροσκόπησης.

Η Αμερικάνικη Εταιρεία Γονιμότητας (AFS) από το 1979 έκανε μια προσπάθεια για τη θέσπιση ενός αποδεκτού από όλους συστήματος ταξινόμησης,

μέχρι την αναθεωρημένη σταδιοποίηση του 1985. Το σύστημα διακρίνει την ενδομητρίωση σε τέσσερα στάδια, από I έως IV (ελάχιστη, ελαφριά, μέτρια και βαριά αντίστοιχα). Τα κριτήρια για την ταξινόμηση είναι η συνολική επιφάνεια του περιτόναιου που καλύπτεται από ενδομητριωσικό ιστό, την εντόπιση αυτής στις ωοθήκες, την ύπαρξη συμφύσεων και την κάλυψη του δουλγάσειου.

Το σύστημα είναι σήμερα αποδεκτό από όλους αν και έχει μειονεκτήματα όπως την υποκειμενικότητα στη βαθμολόγηση, τη λειτουργική δραστηριότητα ενδομητριωσικών εστιών και την αδυναμία συσχέτισης του σταδίου με το πυελικό άλγος.

2.4 Ενδομητρίωση και γονιμότητα

Ως γονιμότητα (fecundity) ορίζεται η πιθανότητα που έχει ανα μήνα μια γυναίκα να πετύχει κύηση που θα οδηγήσει σε τοκετό ζώντος νεογνού. Σε φυσιολογικά ζευγάρια κυμαίνεται μεταξύ 15-20% και ελαττώνεται με την πάροδο της ηλικίας. Σε γυναίκες που πάσχουν από ενδομητρίωση και δεν υποβάλλονται σε θεραπεία κυμαίνεται από 2-10% (Schrager S et al., 2013).

Η γονιμότητα των γυναικών με ενδομητρίωση επηρεάζεται γιατί το ενδομήτριο τους παρουσιάζει διαταραχές του Αγγειακού Ενδοθηλιακού Αυξητικού Παράγοντα (Vascular Endothelial Growth Factor- VEGF) (Gashaw I et al., 2006), του CYR61 (Absenger Y et al., 2004) και δομικές ανωμαλίες (Fedele L et al., 1996). Επίσης το ενδομήτριο γυναικών με ενδομητρίωση εμφανίζει μεταλλάξεις σε μοριακούς δείκτες της υποδεκτικότητας (Hastings JM and Fazleabas AT, 2006) όπως

της $\alpha_v\beta_3$ ιντεγκρίνης, του IGFBP-1, των υποδοχέων στεροειδών ορμονών (SHRs), της έκφρασης των γονιδίων HOXA10 και HOXA11 (Taylor HS et al., 1999). Τέλος, γυναίκες με ενδομητρίωση έχουν χαρακτηριστικά περιτοναϊκής φλεγμονής, με αυξημένα επίπεδα του ανασταλτικού παράγοντα λευχαιμίας (LIF), του διαλυτού gp130 (Sherwin JR et al., 2002) και των κυτοκινών (IL-1, IL-6, IL-10, IL-11, p40, TNF- α , and TNF- β) (Gazvani R et al., 2002), με υψηλότερες επομένως συγκεντρώσεις μακροφάγων (Oral E and Arici A, 1997).

Πάρα πολλοί είναι οι μηχανισμοί οι οποίοι έχουν περιγραφεί προκειμένου να εξηγήσουν τον τρόπο με τον οποίο ακόμη και η ήπια ενδομητρίωση επηρεάζει τη γονιμότητα. Σε περιπτώσεις σοβαρής ενδομητρίωσης, η παραμορφωμένη ανατομία, αλλά και οι συμφύσεις προφανώς ενοχοποιούνται για την υπογονιμότητα. Ωστόσο, δεν υποφέρουν όλες οι υπογόνιμες γυναίκες από βλάβες της πυέλου. Στις γυναίκες με ήπια ενδομητρίωση, παράγοντες του περιβάλλοντος, αλλά και αλλαγές στην έκκριση ορμονών είναι υπεύθυνοι για τη γονιμότητα.

Σε ότι αφορά την ελάχιστη και μέτρια ενδομητρίωση δεν υπάρχουν επαρκή στοιχεία που να δείχνουν ότι προκαλούν υπογονιμότητα, ωστόσο εδώ και πολλά χρόνια έχουν δημοσιευθεί εργασίες που καταδεικνύουν άμεση σχέση αυτών (Carvalho LF et al., 2012). Πολλοί ερευνητές έχουν προτείνει ότι γυναίκες με ήπια ή και μέτρια ενδομητρίωση έχουν ενδείξεις ενδοκρινολογικών ανωμαλιών (Bancroft K et al., 1992), ανωωθυλακιορρηξίας (Mattoras R et al., 1996), ανεπάρκεια ωχρού σωματίου (Pittaway DE et al., 1983), υπερπρολακτιναιμία (Hirschowitz JS et al., 1978), ακόμη και αυτόματων αποβολών (Wheeler JM et al., 1983). Ωστόσο

υπάρχουν και ερευνητές που υποστηρίζουν ότι οι παραπάνω παράγοντες είναι φυσιολογικοί σε αυτές τις γυναίκες (Matalliotakis IM et al., 1996).

2.5 Ενδομητρίωση και υπογονιμότητα

Οι **βιολογικοί μηχανισμοί** που συνδέουν την ενδομητρίωση με την υπογονιμότητα είναι :

α) Διαταραχή της ανατομίας της πυέλου : εκτεταμένες πυελικές συμφύσεις μπορεί να παρακωλύουν την απελευθέρωση του ωαρίου από την ωοθήκη ή να παρεμποδίζουν την παραλαβή του από τη σάλπιγγα και τη μεταφορά του.

β) Διαταραχή της λειτουργίας του περιτόναιου : αυξημένος όγκος περιτοναϊκού υγρού, αυξημένη συγκέντρωση μακροφάγων, αυξημένη συγκέντρωση προσταγλανδινών, IL-1, TNF και πρωτεασών. Το περιτοναϊκό υγρό γυναικών που πάσχουν από ενδομητρίωση περιέχει έναν αναστολέα της φυσιολογικής αλληλεπίδρασης μεταξύ ωαρίου και σαλπιγγικών κροσσών με δυσμενείς επιδράσεις στο ωάριο, το σπέρμα, το έμβρυο και τη λειτουργία των σαλπίγγων (Lebonic DI et al., 2001).

γ) Διαταραχή σε κυτταρικό επίπεδο : αυξημένα IgG και IgA αντισώματα και λεμφοκύτταρα στο ενδομήτριο και αυξημένα αυτοαντισώματα έναντι αντιγόνων του ενδομητρίου με αποτέλεσμα διαταραχή της υποδεκτικότητας του ενδομητρίου και ελάττωση της εμφύτευσης (Lebonic DI et al., 2001).

δ) Ενδοκρινικές διαταραχές και διαταραχές ωοθυλακιορρηξίας : LUF, ανεπάρκεια ωχρινικής φάσης, διαταραχή στην ανάπτυξη του ωοθυλακίου και πρώιμες ή πολλαπλές αιχμές της LH .

ε) Διαταραχές της εμφύτευσης : ελαττωμένη έκφραση της $\alpha_v\beta$ integrin (cell adhesion molecule) (Lessey BA et al., 1994) ή πολύ ελαττωμένα επίπεδα ενός ενζύμου που συμμετέχει στη σύνθεση του ενδομητρικού τμήματος της L-selectin (protein that coats the trophoblast on the surface of the blastocyst) (Genbacev OD et al., 2003).

στ) Αντίσταση στην προγεστερόνη : Η καταστολή της παραγωγής οιστροδιόλης από τις ωοθήκες πραγματοποιείται κυρίως με τη χορήγηση προγεστερόνης. Η αποτυχία ανακούφισης από τα συμπτώματα ενδέχεται να οφείλεται: 1) Στην παραγωγή οιστρογόνων από τις ενδομητριωσικές εστίες, δηλαδή εξωθητική παραγωγή οιστρογόνων. 2) Στην αντίσταση στη δράση της προγεστερόνης στο ενδομήτριο και στις ενδομητριασικές εστίες. Στις ασθενείς με ενδομητρίωση ανιχνεύονται στο ενδομήτριο: 1) Η Α' ισόμορφη του υποδοχέα της προγεστερόνης, και 2) Η Β' ισόμορφη του υποδοχέα της προγεστερόνης. Ενώ στις ενδομητριωσικές εστίες ανιχνεύονται μόνο η Α ισόμορφη του υποδοχέα της προγεστερόνης(Blumonfeld Z, 2004). Η εξήγηση για την αντίσταση, που παρουσιάζουν οι ενδομητριωσιακές εστίες στη δράση της προγεστερόνης, την αποδίδουν στην απουσία της Β' ισόμορφη, του υποδοχέα της προγεστερόνης.

Ένα ζήτημα το οποίο έχει διχάσει αρκετά τους επιστήμονες είναι το εάν βελτιώνει η φαρμακευτική αγωγή ή η χειρουργική αντιμετώπιση της ενδομητρίωσης τη γονιμότητα της γυναίκας. Παρόλο που η φαρμακευτική αγωγή αντιμετωπίζει τα

συμπτώματα της ενδομητρίωσης, δεν έχει αποδειχθεί ότι βελτιώνει και τη γονιμότητα (Hughes E et al., 1997). Δεν υπάρχουν ενδείξεις ότι οφελεί ιδιαίτερα η χρήση παραγόντων καταστολής της ωοθυλακιορρηξίας, όπως δαναζόλη (danazol), προγεσταγόνα ή αντισυλληπτικά χάπια, σε γυναίκες που αντιμετωπίζουν προβλήματα υπογονιμότητας και θέλουν να συλλάβουν (Hughes E et al., 2007). Επίσης οι περισσότερες μελέτες που ασχολούνται με τη χειρουργική αφαίρεση ενδομητριωσικών βλαβών, ανεξαρτητα με την τεχνική, έχουν αποτύχει να δείξουν ότι με αυτό τον τρόπο βελτιώνεται η γονιμότητα των γυναικών με ενδομητρίωση (Falcone T et al., 2011). Επιπλέον η λαπαροσκοπική αφαίρεση κύστεων ενδομητρίωσης μεγαλύτερων από 4cm από τις ωοθήκες φαίνεται να είναι αποτελεσματική μέθοδος σε ότι αφορά τη γονιμότητα των γυναικών (Jacobson TZ et al., 2004). Η επανεμφάνιση της ενδομητρίωσης είναι συχνή και μπορεί να συμβεί ακόμη και σε διάστημα μηνών.

Η επίπτωση προηγούμενης **χειρουργικής αντιμετώπισης ωοθηκικών** κυστών στην έκβαση της εξωσωματικής γονιμοποίησης παραμένει αμφιλεγόμενη (Somigliana E et al., 2006). Παρόλο που τα ποσοστά εγκυμοσύνης δεν επηρεάζονται σημαντικά (Somigliana E et al., 2006), οι γυναίκες που έχουν χειρουργηθεί για ενδομητριωσικές κύστες στη μια ή και στις δυο ωοθήκες είναι πιθανό να συμπεριφέρονται ως φτωχές απαντήτριες κατά την ωοθηκική διέγερση στα πλαίσια της εξωσωματικής γονιμοποίησης (Loo TC et al., 2005; Gupta S al., 2006; Esinler I et al 2006; Somigliana E et al., 2008).

2.6 Ενδομητρίωση και υποβοηθούμενη αναπαραγωγή

Η πρόταση για εξωσωματική γονιμοποίηση είναι μονόδρομος για ασθενείς με ενδομητρίωση όταν συνυπάρχουν και άλλοι παράγοντες υπογονιμότητας. Σε ασθενείς που ο μόνος λόγος υπογονιμότητας είναι η ενδομητρίωση είναι προτιμότερο η εξωσωματική γονιμοποίηση να ακολουθεί το χειρουργείο, παρά να υπάρχει μόνο χειρουργική αντιμετώπιση. Εάν οι ασθενείς δεν μπορούν να επιτύχουν σύλληψη μετά από ένα χρόνο τακτικών σεξουαλικών επαφών αφότου παρέλθει το χειρουργείο, γίνεται πρόταση για εξωσωματική γονιμοποίηση (Kennedy S et al., 2005; Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine 2006). Σύμφωνα με πρόσφατη εργασία το ποσοστό εγκυμοσύνης μετά από λαπαροσκόπηση και εξωσωματική γονιμοποίηση ήταν 56.1%, ενώ μετά μόνο από χειρουργείο ήταν 37.4%, σημαντικά χαμηλότερο, ενώ το ποσοστό γονιμότητας για αυθόρμητες συλλήψεις, μετά από έξι μήνες από τη λαπαροσκόπηση ήταν 23.2% (Coccia ME et al., 2008).

Οι υπογόνιμες γυναίκες με ενδομητρίωση είναι οι πιο ωφελημένες σε ότι αφορά τις θεραπείες υπογονιμότητας μεταξύ των άλλων ασθενών (Brandes M et al., 2010). Προς το παρόν δεν υπάρχει διαφορετικό πρωτόκολλο ωοθηκικής διέγερσης για τις γυναίκες που έχουν ενδομητρίωση και τα κριτήρια για την επιλογή του κατάλληλου πρωτοκόλλου είναι τα ίδια όπως και για όλους τις άλλες ασθενείς (Dechaud H et al., 2009).

Η αντιμετώπιση της ενδομητρίωσης, η οποία βρίσκεται στο 17-44% των γυναικών που έχουν πρόβλημα υπογονιμότητας και υποβάλλονται σε εξωσωματική γονιμοποίηση θέτει το δίλημμα εάν απαιτείται χειρουργείο ή φαρμακευτική

αντιμετώπιση (Redwine DB 1999). Φυσικά κύστες με διάμετρο μεγαλύτερη των 4-6 cm χρειάζονται χειρουργική αντιμετώπιση και ιστολογική ανάλυση.

Θεραπεία με GnRH αγωνιστές μπορεί να μειώσει τις ενδομητριοειδείς εστίες έως και 51% (Rana N et al., 1996), παρόλο που η χειρουργική αντιμετώπιση, ιδιαίτερα σε ασθενείς με υπογονιμότητα είναι πιο αποτελεσματική μέθοδος (Jones KD and Sutton CJG 2000). Ωστόσο δεν υπάρχουν ισχυρά στοιχεία για την αποτελεσματικότητα της χειρουργικής αντιμετώπισης στην επιτυχία της εξωσωματικής γονιμοποίησης (Tsoumprou I et al., 2009). Επίσης είναι πολύ σημαντικό το ποσό του ιστού που αφαιρείται ή τραυματίζεται κατά τη διάρκεια του χειρουργείου των ωθηκών.

Το μακρύ πρωτόκολλο με χρήση GnRH αναλόγων with long-term pituitary down regulation, για τρεις έως έξι μήνες πριν από την εξωσωματική γονιμοποίηση προτείνεται ως θεραπεία που μειώνει το μέγεθος της ενδομητρίωσης (Rana N al., 1996) και την πυελική φλεγμονή (Barbieri RL 1997) βοηθά στον καλύτερο έλεγχο και τον περιορισμό των ωθηκικών κυστών. Παρόλο που το χρονικό διάστημα της θεραπείας ποικίλει μεταξύ των μελετών, οι τρεις μήνες θεωρούνται ικανοποιητικό διάστημα για τους περισσότερους ερευνητές.

Το μακρύ πρωτόκολλο με χρήση GnRH αναλόγων με long-term pituitary down regulation, φαίνεται να είναι το πιο κατάλληλο για ασθενείς με σοβαρή ενδομητρίωση (Sallam HN et al., 2006). Χορήγηση για τρεις έως έξι μήνες GnRH αγωνιστών, πριν την εξωσωματική γονιμοποίηση, σε ασθενείς με ενδομητρίωση αυξάνει το ποσοστό κλινικής εγκυμοσύνης (Sallam HN et al., 2006). Η αρχική δόση

καθορίζεται από το antral follicle count και την AMH, που μπορεί να μετρηθεί κατά τη διάρκεια του ελέγχου (Dechaud H et al., 2009; Ebrard-Charra S et al., 2005).

Επιμηκυσμένα down-regulation πρωτόκολλα απαιτούν μεγαλύτερης διάρκειας διέγερση, μεγαλύτερα ποσά γοναδοτροπινών και αποδίδουν λιγότερα ωάρια και χαμηλότερης ποιότητας έμβρυα (Allaire C, 2006). Ωστόσο παρατεταμένη καταστολή με GnRH αναλόγα συνιστάται για ασθενείς με ενδομητρίωση όταν δεν προηγείται χειρουργείο της εξωσωματικής γονιμοποίησης, όταν είναι αδύνατο να γίνει χειρουργείο ή όταν επανεμφανίζεται η ενδομητρίωση το χρονικό διάστημα της εξωσωματικής γονιμοποίησης (Rouly JL et al., 2007; Allaire C 2006). Άλλες θεραπευτικές μέθοδοι όπως τα πρωτόκολλα με GnRH αγωνιστές και αναστολείς αρωματάσης δεν έχουν ερευνηθεί πολύ.

3. ΕΜΦΥΤΕΥΣΗ ΕΜΒΡΥΟΥ

3.1 Μηχανισμός και παράθυρο εμφύτευσης εμβρύου

Η διαδικασία κατά την οποία το έμβρυο προσανατολίζεται, συνδέεται και εισβάλλει στο ενδομήτριο ονομάζεται εμφύτευση. Η εμφύτευση συνίσταται στη δημιουργία εξειδικευμένης στενής κυτταρικής επαφής μεταξύ της τροφοβλάστης και του ενδομητρίου. Για την εμφύτευση απαιτείται ένα υποδεκτικό ενδομήτριο, μια λειτουργικά φυσιολογική βλαστοκύστη και η κατάλληλη επικοινωνία μεταξύ αυτών των δύο. Στην επικοινωνία ή διάλογο μεταξύ βλαστοκύστης και ενδομητρίου συμμετέχουν πολλά μόρια όπως **ορμόνες, κυτοκίνες, ιντεγκρίνες και ένζυμα**. Η

εμφύτευση φυσιολογικά λαμβάνει χώρα κατά τη διάρκεια της εκκριτικής φάσης του κύκλου.

Το ανθρώπινο ενδομήτριο διατρέχει διάφορες φάσεις πολλαπλασιασμού και έκκρισης. Πολύπλοκοι και εν μέρει άγνωστοι μηχανισμοί κατευθύνουν τις διαδικασίες που οδηγούν το ενδομήτριο στις φάσεις αυτές και το προετοιμάζουν για την εμφύτευση του γονιμοποιημένου ωαρίου. Η εμφύτευση αποτελεί μια σύνθετη διαδικασία που αρχικά στοχεύει στη φυσική επαφή και αντίδραση μεταξύ της βλαστοκύστης και του ενδομητρίου για να καταλήξει στο σχηματισμό του πλακούντα.

Οι προϋποθέσεις για μία επιτυχή εμφύτευση είναι:

- α) συγχρονισμός της εξέλιξης του προεμφυτευτικού εμβρύου σε βλαστοκύστη και της διαφοροποίησης μιας περιοχής του ενδομητρίου κατάλληλης για εμφύτευση
- β) ορμονική προετοιμασία της μήτρας και εκκριτική δραστηριότητα του ενδομητρίου και του εμβρύου
- γ) αυξημένη αγγειογένεση και αιμάτωση της περιοχής
- δ) αυστηρά ρυθμιζόμενη διείσδυση των κυττάρων της τροφοβλάστης στο ενδοθήλιο του ενδομητρίου και τοπική μείωση των ανοσολογικών μηχανισμών.

Στη διεργασία της εμφύτευσης μπορούμε να διακρίνουμε τρία στάδια:

1. πρόσφυση της βλαστοκύστης στο ενδομήτριο,
2. προσκόλληση της βλαστοκύστης στο ενδομήτριο και

3. Διείσδυση και εισδοχή της τροφοβλάστης

Το ενδομήτριο είναι υποδεκτικό για περιορισμένη χρονική περίοδο, κατά την οποία το επιθήλιο του βρίσκεται υπό την επίδραση στεροειδών ορμονών της ωοθήκης και αυτό βοηθά στην προσκόλληση της βλαστοκύστης (Navot et al., 1991). Αυτή η περίοδος ονομάζεται **«παράθυρο εμφύτευσης»**, ανοίγει 24-48 ώρες μετά την ωοθυλακιορρηξία και κλείνει περίπου την έκτη ημέρα μετά την ωοθυλακιορρηξία (Psychoyos A and Prapas I 1987). Το «παράθυρο εμφύτευσης» αποτελείται από δύο φάσεις, την **ουδέτερη και την υποδεκτική**, των οποίων η απόλυτη χρονική διάρκεια δεν έχει προσδιοριστεί με ακρίβεια. Το «παράθυρο εμφύτευσης» ακολουθείται από μια φάση που το ενδομήτριο είναι **εχθρικό** στην εμφύτευση.

Σε κύκλους εξωσωματικής γονιμοποίησης το προσωρινό παράθυρο μιας επιτυχούς εμβρυομεταφοράς αρχίζει 24 ώρες μετά τη λήψη ωαρίων και διαρκεί 4-5 ημέρες. Αρχικά το έμβρυο είναι σε επαφή με το ενδομήτριο, αλλά δεν είναι προσκολλημένο. Κατά τη διάρκεια αυτής της περιόδου, μικρολάχνες της επιθηλιακής επιφάνειας σχηματίζουν πινοπόδια, τα οποία και παραμένουν από 24-48 ώρες. Τα πινοπόδια βοηθούν στην προσέγγιση εμβρύου και ενδομητρίου, μέσω της απορρόφησης διαφόρων μορίων (Murphy CR, 1995). Ταυτόχρονα η βλαστοκύστη αποδεσμεύεται από τη διαφανή ζώνη και με τη βοήθεια **γλυκοπρωτεϊνών** προσκολλάται στο ενδομήτριο. Στη συνέχεια ακολουθεί διείσδυση στο επιθήλιο και δημιουργία αγγειακής σύνδεσης με το μητρικό ιστό. Η διείσδυση ελέγχεται **από εκκρίσεις του εμβρύου όπως στεροειδή, ισταμίνη,**

προσταγλαδίνες, πρωτεάσες και διοξείδιο του άνθρακα. Η εισβολή είναι αυτορυθμιζόμενη διαδικασία.

Η ύπαρξη μιας περιορισμένης χρονικά υποδεκτικής φάσης στο ενδομήτριο δείχνει ότι η εμφύτευση της βλαστοκύστης είναι μια αυστηρά ρυθμιζόμενη διαδικασία από στεροειδείς ορμόνες. Το ενδομήτριο είναι εχθρικό για το έμβρυο και γίνεται φιλικό μόνο μια συγκεκριμένη χρονική περίοδο. Πριν και μετά θεωρείται εθρικό και δεν δέχεται εμφύτευση εμβρύου.

3.2 Παράγοντες εμφύτευσης εμβρύου

Διάφοροι βιοχημικοί δείκτες έχουν προταθεί για τον προσδιορισμό της υποδεκτικής φάσης του ενδομητρίου (Giudice LC et al., 1999; Lessey BA 2011). Στο ανθρώπινο ενδομήτριο περιγράφηκαν κατά την εκκριτική φάση διαφοροποιήσεις στη δομική μορφολογία, στην ενζυμική δραστηριότητα, καθώς και στην έκφραση διαφόρων ειδών πρωτεϊνών. **Μερικές από τις ουσίες αυτές, οι ιντεγκρίνες, η ιντερλευκίνη-6, η βλεννογλυκοπρωτεΐνη-1 (MUC-1), η τροφινίνη (Trophinin), η ταστίνη (Tastin) και η α-κρυσταλλίνη-B (α-crystallin-B) συμβάλλουν στη μετατροπή του ενδομητρίου σε υποδεκτικό («παράθυρο εμφύτευσης»).** Επίσης γνωστοί δείκτες υποδεκτικότητας του ενδομητρίου είναι ο **COX-2**, ένα ένζυμο που περιορίζει το ρυθμό βιοσύνθεσης προσταγλανδίνης (Pakrasi PL et al., 2008) και ο **HOX10** (Cakmak H et al., 2010b). Οι μεταβολές των βιοχημικών αυτών δεικτών συνοδεύονται από την εμφάνιση πινοποδίων στο ενδομήτριο, που αποτελούν προεκβολές των επιθηλιακών ενδομητρικών κυττάρων και θεωρούνται δείκτες υποδεκτικότητας του ενδομητρίου.

Για τη λειτουργία της σύνθετης δομής του ενδομητρίου είναι αναγκαία διάφορα μόρια που να συμβάλλουν στη μετανάστευση και διασπορά των κυττάρων, καθώς και στις αλληλεπιδράσεις μεταξύ τους καθώς και με τις πρωτεΐνες του **εξωκυττάρου υποστρώματος** (Extracellular Matrix, EY). Οι **ιντεγκρίνες** αποτελούν μια ομάδα από α , β ετεροδιμερικούς κυτταρικούς υποδοχείς που λειτουργούν σαν κυτταροσυνδετικά μόρια, συνδέοντας τα κύτταρα με τις πρωτεΐνες του **εξωκυττάρου υποστρώματος** και μεταφέροντας πληροφορίες από κύτταρο σε κύτταρο. Η έκφραση των διαφόρων α και β -υπομονάδων των ιντεγκρινών ποικίλλει κατά την εξέλιξη του εμμηνορρυσιακού κύκλου.

Στην παραγωγική φάση, τόσο στο επιθήλιο όσο και στο στρώμα του ενδομητρίου, ανιχνεύονται λίγες υπομονάδες ιντεγκρινών. Αντίθετα, στην εκκριτική φάση του κύκλου, η παρουσία τους είναι σημαντική. Ειδικότερα η έκφραση της υπομονάδας β , εκτός από το γεγονός ότι μετατοπίζεται από το επιθήλιο στο στρώμα κατά την εκκριτική φάση του κύκλου, αυξάνει συγχρόνως και σε έκφραση. Η αύξηση της έκφρασης της υπομονάδας β , κατά την εκκριτική φάση, αυξάνει την πιθανότητα η βιοσύνθεση της να εξαρτάται από τα ωοθηκικά στεροειδή και ιδιαίτερα από την προγεστερόνη.

Είναι γνωστό ότι η εμφύτευση της βλαστοκύστης πραγματοποιείται 5 με 6 ημέρες μετά την ωοθυλακιωρηξία. Για την επιτυχή εμφύτευση είναι αναγκαίος ο συγχρονισμός μεταξύ υποδεκτικότητας ενδομητρίου και βλαστοκύστης.

Στο χρονικό διάστημα της υποδεκτικής φάσης του ενδομητρίου, στο ενδομήτριο ανιχνεύονται τρεις ιντεγκρίνες, **η $\alpha_1\beta_1$, η $\alpha_4\beta_1$ και $\alpha_v\beta_3$** . Η $\alpha_v\beta_3$ είναι μια επιθηλιακή ιντεγκρίνη που αναγνωρίζει τη φμπρονεκτίνη, τη βιτρονεκτίνη και την οστεοποντίνη (osteopontin) και συμβάλλει σημαντικά στις αλληλοεπιδράσεις

κύτταρο - προς - κύτταρο. Τα κύτταρα της τροφοβλάστης εκφράζουν στην επιφάνειά τους την $\alpha_v\beta_3$ ενώ το εκκριτικό ενδομήτριο εκφράζει το συνδέτη της που είναι η οστεοποντίνη. Έτσι, πιθανόν η συγκόλληση της τροφοβλάστης με το επιθήλιο του ενδομητρίου να πραγματοποιείται μέσω της επιθηλιακής ιντεγκρίνη $\alpha_v\beta_3$.

Από τις τρεις ιντεγκρίνες που προαναφέρθηκαν, η $\alpha_1\beta_1$ και η $\alpha_4\beta_1$ πρωτοεμφανίζονται στο ενδομήτριο μετά την ωοθυλακιορρηξία την 14η ημέρα του κύκλου ενώ η $\alpha_v\beta_3$ εμφανίζεται την 20η ημέρα του κύκλου και διατηρείται στο ενδομήτριο σε όλη την εκκριτική φάση, μέχρι και στο φθαρτό μιας αρχόμενης κύησης. Την 24η ημέρα του κύκλου η $\alpha_4\beta_1$ εξαφανίζεται από το ενδομήτριο. Φαίνεται, λοιπόν, ότι για τη λειτουργικότητα του παράθρου εμφύτευσης είναι αναγκαία η παρουσία και των τριών ιντεγκρινών. Πιθανόν η εμφάνιση της $\alpha_v\beta_3$ την 20η ημέρα του κύκλου σηματοδοτεί το «άνοιγμα» του παράθρου εμφύτευσης και η εξαφάνιση της $\alpha_4\beta_1$ την 24η ημέρα, το «κλείσιμό» του. Επομένως, οι τρεις ιντεγκρίνες καθορίζουν το χρονικό διάστημα που το ενδομήτριο είναι σε θέση να στείλει και να δεχθεί μηνύματα προς και από την βλαστοκύστη, που στη φάση αυτή αιωρείται στη μητρική κοιλότητα για να συγκολληθεί και εμφυτευθεί σε αυτό.

Η περιοδική εμφάνιση των ιντεγκρινών στην εκκριτική φάση ελέγχεται από τα ωοθηκικά στεροειδή. Η προγεστερόνη (P) προάγει τη βιοσύνθεση των $\alpha_1\beta_1$ και $\alpha_4\beta_1$, ώστε μετά την ωοθυλακιορρηξία η άνοδος των επιπέδων της να συνοδεύεται από προοδευτική αύξηση στην έκφραση και των δύο ιντεγκρινών στο ενδομήτριο. Δεν συμβαίνει το ίδιο και με τη τρίτη ιντεγκρίνη, $\alpha_v\beta_3$, που εμφανίζεται για πρώτη φορά την 20η ημέρα, δηλαδή 6 ημέρες μετά την εμφάνιση της προγεστερόνης.

Η ερμηνεία για την παράδοση συμπεριφορά της ιντεγκρίνης παρέχεται από το γεγονός ότι η βιοσύνθεση της $\alpha_v\beta_3$ καταστέλλεται από την προγεστερόνη. Κατά

τη διάρκεια της εκκριτικής φάσης, στο επιθήλιο του ενδομητρίου δεν συναντώνται υποδοχείς P. Η επιλεκτική απώλεια των υποδοχέων της P οφείλεται στη μείωση των προγεστερονικών υποδοχέων στο επιθήλιο του ενδομητρίου, λόγω των αυξημένων συγκεντρώσεων της P. Η μείωση αυτή των υποδοχέων P ολοκληρώνεται την 19η - 20η ημέρα του κύκλου και συμπίπτει με το «άνοιγμα» του παράθρου εμφύτευση και την εμφάνιση της $\alpha_v\beta_3$, αφού μειώνεται σημαντικά η επίδραση της P (μέσω των υποδοχέων) σε αυτή. Στη φάση αυτή τα ωοθηκικά στεροειδή (P, E2) ασκούν την επίδραση τους στο ενδομήτριο μέσω παραγωγής τοπικών αυξητικών παραγόντων, όπως οι EGF / TGF- α που αυξάνουν τη βιοσύνθεση της $\alpha_v\beta_3$.

Επομένως, η δημιουργία του παράθρου εμφύτευσης χαρακτηρίζεται από τη μείωση των υποδοχέων των ωοθηκικών στεροειδών στο επιθήλιο του ενδομητρίου (διακοπή της ανασταλτικής δράσης της P στη βιοσύνθεση της $\alpha_v\beta_3$) και την αυξημένη παρακρινική δράση των αυξητικών παραγόντων που παράγονται στο στρώμα υπό την επίδραση των ωοθηκικών ορμονών.

Η **βλεννογλυκοπρωτεΐνη-1 (Mucin Glycoprotein-1, MUC-1)** ανήκει στην οικογένεια των πολυσακχαριτών που δρουν σαν καλυπτικά μόρια προφυλάσσοντας στους ιστούς από ενζυματική ή μικροβιακή επίδραση. Τόσο στα πειραματόζωα όσο και στον άνθρωπο, η αυξημένη έκφραση της MUC-1 στην επιφάνεια του καλυπτικού και αδενικού επιθηλίου του ενδομητρίου εμποδίζει την προσέγγιση της βλαστοκύστης, ενώ η μειωμένη έκφραση της ή η απουσία της συμβάλλει στη μετατροπή του ενδομητρίου σε υποδεκτικά, απελευθερώνοντας την επιφάνειά του .

Σε μερικά είδη, η μείωση της παραγωγής της MUC-1 κατευθύνεται από ερεθίσματα που προέρχονται από τη βλαστοκύστη, ενώ σε άλλα βρίσκεται σε άμεση εξάρτηση με τα ωοθηκικά στεροειδή.

Στον άνθρωπο τα οιστρογόνα διεγείρουν την παραγωγή της MUC-1, ενώ η προγεστερόνη έχει αντίθετη δράση. Τα αντι-οιστρογόνα μειώνουν την παραγωγή της MUC-1, ενώ τα αντι-προγεσταγόνα (RU 486) διατηρούν την αυξημένη παραγωγή της, εμποδίζοντας την εμφύτευση.

Η **IL-6** είναι μια κυτταροκίνη με πλειοτροπική δράση. Τα κύτταρα του στρώματος στο ανθρώπινο ενδομήτριο παράγουν IL-6. Μια σειρά από προ-φλεγμονώδεις κυτταροκίνες (IL-1α IL-1β, TNF-α και INF-γ) προκαλούν στα κύτταρα του στρώματος τη βιοσύνθεση της IL-6. Από αυτές, η IL-1α έχει την ισχυρότερη δράση. Εκτός από τα κύτταρα του στρώματος, τα επιθηλιακά ενδομητρικά κύτταρα επίσης παράγουν IL-6.

Βασική προϋπόθεση για επιτυχή εμφύτευση του εμβρύου στο ενδομήτριο, είναι η ανοσοκαταστολή που προκαλεί η IL-6 σε συνδυασμό με την πλακουντιακή πρωτεΐνη-14 (Placental Protein-14 PP-14). Η δράση της κυτταροκίνης επεκτείνεται και μετά από την εμφύτευση. Η ανθρώπινη τροφοβλάστη διαθέτει υποδοχείς IL-6 και παράγει την κυτταροκίνη.

Η διαπίστωση ότι η IL-6 παράγει hCG σε καλλιέργειες τροφοβλάστης, οδήγησε στην άποψη ότι η κυτταροκίνη πιθανόν να δρα ρυθμιστικά στη βιοσύνθεση της hCG στην τροφοβλάστη με παρακρινικό μηχανισμό και μέσω της β-hCG ασκεί ανοσοκατασταλτική δράση.

Στο ενδομήτριο ανιχνεύονται υποδοχείς **IL-1** στα επιθηλιακά κύτταρα και στα κύτταρα του στρώματος. Τόσο στα κύτταρα του στρώματος όσο και στο έμβρυο έχει ανιχνευθεί η ύπαρξη ενός πλήρους συστήματος IL-1, αποτελούμενο από τις δύο μορφές της κυτταροκίνης (IL-1α, IL-1β), τους αντίστοιχους υποδοχείς και από έναν ανταγωνιστή της IL1. Ο ανταγωνιστής της κυτταροκίνης είναι άφθονος στην

παραγωγική φάση και ελαττώνεται σταδιακά κατά την εκκριτική φάση του κύκλου, εξηγώντας έτσι την αυξημένη δραστηριότητα της κυτταροκίνης στην προχωρημένη εκκριτική φάση και στο φθαρτό. Η πρόσφατη διαπίστωση ότι το έμβρυο αρχίζει να εκκρίνει την παραγόμενη σε αυτό IL-1 μόνο όταν συγκαλλιεργηθεί με επιθηλιακά ενδομητρικά κύτταρα, υποδεικνύει την ουσιαστική συμβολή της κυτταροκίνης στη διαδικασία της εμφύτευσης.

Η **α-κρυσταλλίνη Β** απουσιάζει από το ενδομήτριο κατά την παραγωγική φάση του κύκλου, ενώ αρχίζει να εμφανίζεται κατά την εκκριτική φάση, με συνεχώς αυξανόμενες συγκεντρώσεις μέχρι την προχωρημένη εκκριτική φάση. Η ουσία ανιχνεύεται, κατά τη διάρκεια του παράθυρου εμφύτευσης, μόνο στα επιθηλιακά κύτταρα του ενδομητρίου ενώ αργότερα, στην προχωρημένη εκκριτική φάση και στα αδενικά κύτταρα του ενδομητρίου, αλλά ποτέ στα κύτταρα του στρώματος, τα ενδοθηλιακά ή τα λεμφοκύτταρα. Η έκφραση του γονιδίου ρυθμίζεται από τα ωοθηκικά στεροειδή. Πιθανολογείται ότι η δράση της α-κρυσταλλίνης Β κατά τη διάρκεια του παράθυρου εμφύτευσης είναι προστατευτική στα καλυπτικά κύτταρα του ενδομητρίου, εμποδίζοντας την κυτταροτοξική δράση του TNF-α (που υπάρχει επίσης στην εκκριτική φάση) σε αυτά.

Οι ουσίες που μετατρέπουν το υποδεκτικό ενδομήτριο σε ανθεκτικό για εμφύτευση προϋπάρχουν, η δε λειτουργία τους αναστέλλεται χρονικά, όπως συμβαίνει με την α-κρυσταλλίνη Β και τον TNF-α.

4. ΒΙΟΧΗΜΙΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ ΕΝΔΟΜΗΤΡΙΟΥ

4.1 Ο ρόλος του Ca-125 στην ενδομητρίωση

Η διάγνωση της ενδομητρίωσης στηρίζεται στη λήψη του ιστορικού, ατομικού και οικογενειακού, την κλινική εξέταση, τις ορολογικές εξετάσεις, αλλά κυρίως την άμεση επισκόπηση των βλαβών και την ιστολογική επιβεβαίωσή τους. Η ιδανική εξέταση για τη διάγνωση της ενδομητρίωσης δεν υπάρχει, γι' αυτό και σε αυτή καταλήγουμε μετά από συνδυασμό χειρουργικών, παθολογικών και κλινικών ευρημάτων.

Πολλοί συγγραφείς προσδιόρισαν τα επίπεδα διαφόρων γλυκοπρωτεϊνών του ορού του αίματος ως πιθανά διαγνωστικά εργαλεία για την ενδομητρίωση. Το καρκινικό αντιγόνο CA-125 είναι μια γλυκοπρωτεΐνη υψηλού μοριακού βάρους. Η μέτρησή του γίνεται με ανοσοενζυμικές τεχνικές, με ιστοτοπική ή μη σήμανση. Είναι ένα επιφανειακό αντιγόνο που βρίσκεται στα κύτταρα ιστών που προέρχονται από το αρχέγονο σπλαγνικό επιθήλιο, όπως το ενδομήτριο, οι σάλπιγγες και το περιτόναιο. Εκτός του αίματος, ανευρίσκεται στο ασκίτικό υγρό, στο υγρό κύστεων, εκκρίσεων από τη μήτρα και στον τράχηλο. Υψηλές συγκεντρώσεις του έχουν βρεθεί σε φυσιολογικά υγρά, όπως στην τραχηλική βλέννη, στο αμνιακό και περιτοναϊκό υγρό. Αυξημένες τιμές παρατηρούνται στο 1-2% φυσιολογικών ατόμων, στο 5% ατόμων με καλοήγη νόσο και στο 28% γυναικών με μη γυναικολογικούς καρκίνους. Αποτελεί τον καλύτερο καρκινικό δείκτη για την παρακολούθηση ασθενών με καρκίνο ωοθηκών.

Ο Mol BW και οι συνεργάτες του, το 1998 πραγματοποίησαν μια μετα-ανάλυση προκειμένου να προσδιορίσουν εάν η συγκέντρωση του καρκινικού αντιγόνου CA-125 στον ορό του αίματος είναι σημαντική για τη διάγνωση της ενδομητρίωσης (Mol BW et al., 1998). Το συμπέρασμά τους ήταν ότι ο προσδιορισμός του αντιγόνου CA-125 δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως διαγνωστικό μέσο για την ενδομητρίωση, γιατί έχει μικρή ευαισθησία και ειδικότητα (Mol BW et al., 1998). Ωστόσο τα επίπεδα του αντιγόνου σχετίζονται με τη σοβαρότητα της ενδομητρίωσης (έχει αξία για τον προσδιορισμό ενδομητρίωσης σταδίων III/IV, ενώ είναι περιορισμένη η σημασία του για την εκτίμηση της ενδομητρίωσης σταδίων I/II), την ανταπόκριση στη φαρμακευτική αγωγή και τη χειρουργική θεραπεία. Παρόλη τη μικρή διαγνωστική του αξία, οι συγγραφείς πιστεύουν ότι η μέτρηση του καρκινικού αντιγόνου CA-125 σε γυναίκες με υπογονιμότητα, έχει ιδιαίτερη σημασία, γιατί μπορεί να προσδιοριστεί το υποσύνολο των γυναικών που θα ωφεληθούν από μια έγκαιρη λαπαροσκόπηση.

Μελέτες που δημοσιεύτηκαν μετά από αυτή επιβεβαιώνουν τη συσχέτιση μεταξύ αυξημένων συγκεντρώσεων του καρκινικού αντιγόνου CA-125 στον ορό του αίματος και ενδομητρίωσης (Maiorana A et al., 2007; Seeber B et al., 2009).

Περισσότερες έρευνες για να χρησιμοποιηθεί το αντιγόνο CA-125 στη διάγνωση της ενδομητρίωσης έγιναν μετά τη μελέτη του Barbieri RL το 2002, ο οποίος βρήκε αυξημένα επίπεδα της συγκέντρωσής του στον ορό γυναικών με αυξημένη ενδομητρίωση. Ορισμένοι ερευνητές υποστηρίζουν ότι η ευαισθησία και η ειδικότητα του δείγματος είναι συγκρίσιμες στην ωοθυλακική και εμμηνορυσιακή φάση, αλλά μικρότερες στην ωχρινική φάση (Hornstein et al., 1992), ενώ άλλοι

ισχυρίζονται ότι δείγματα ορού γυναικών από το τέλος της ωχρινικής φάσης μπορεί να είναι πιο αντιπροσωπευτικά από αυτά της ωοθυλακικής φάσης (Lomano et al., 1987). Μάλιστα ο Konickx υποστήριξε ότι η μέτρηση του αντιγόνου στα μέσα της ωοθυλακικής φάσης ήταν πιο αξιόπιστη (Konickx PR et al., 1996).

Κάποιες εργασίες έχουν αξιολογήσει τη συγκέντρωση του καρκινικού αντιγόνου CA-125 στον ορό του αίματος κατά τη διάρκεια θεραπείας. Ο Chen και οι συνεργάτες του το 1998 συμπέραναν ότι η συγκέντρωση του καρκινικού αντιγόνου CA-125 μειώνεται σημαντικά μετά από τρεις μήνες θεραπεία με danazol (Chen et al., 1998). Μια άλλη μελέτη αξιολόγησε την επίδραση του leuprolide acetate και danazol στα επίπεδα του καρκινικού αντιγόνου CA-125 (Matalliotakis IM et al., 2004). Το συμπέρασμα της μελέτης ήταν ότι τα επίπεδα του καρκινικού αντιγόνου CA-125 μειώθηκαν κατά τη διάρκεια της θεραπείας και με τα δύο φάρμακα. Ωστόσο τρεις μήνες μετά τη θεραπεία, τα επίπεδα του καρκινικού αντιγόνου CA-125 αν και αυξήθηκαν πάλι, ήταν μειωμένα σε σχέση με αυτά πριν τη θεραπεία.

4.2 Ο ρόλος του VEGF στην ενδομητρίωση

Το 1989 οι Ferrara και Henzel (Ferrara N and Henzel W., 1989) ανακοίνωσαν την απομόνωση ενός αυξητικού παράγοντα των αγγειακών ενδοθηλιακών κυττάρων από κύτταρα της υπόφυσης. Ο παράγοντας αυτός ονομάστηκε Αγγειακός Ενδοθηλιακός Αυξητικός Παράγοντας (Vascular Endothelial Growth Factor- VEGF). Ο Αγγειακός Ενδοθηλιακός Αυξητικός Παράγοντας (Vascular Endothelial Growth

Factor- VEGF) είναι μια πρωτείνη με πολλαπλές λειτουργίες. Κύρια ιδιότητά της η πρόκληση πολλαπλασιασμού των ενδοθηλιακών κυττάρων και η διέγερση της αγγειογένεσης (Conolly DT et al., 1989).

Η διαδικασία της αγγειογένεσης καθορίζεται από πολλούς παράγοντες, ο σημαντικότερος από τους οποίους είναι ο Αγγειακός Ενδοθηλιακός Αυξητικός Παράγοντας (VEGF). Ο Αγγειακός Ενδοθηλιακός Αυξητικός Παράγοντας έχει σπουδαίο ρόλο **στη φυσιολογική αγγειογένεση** για την ανάπτυξη του αγγειακού δικτύου στην πρώιμη εμβρυϊκή περίοδο, την οργανογένεση και την κυτταρική διαφοροποίηση. Η μερική παρεμπόδισή του μέσω στόχευσης γονιδίου είχε ως αποτέλεσμα αυξημένο αριθμό θανάτων αλλά και καθυστερημένη σωματική ανάπτυξη (Gerber HP et al., 1999). Επίσης συμμετέχει στη διαδικασία της φλεγμονής, αυξάνοντας τη διαπερατότητα των αγγείων, ως χημειοτακτικός παράγοντας για τα φαγοκύτταρα (Ausprunk DH and Folkman J, 1997) και επιπλέον έχει ανιχνευτεί και σε καρκινικά κύτταρα (Belgore FM et al., 2001).

Ο Αγγειακός Ενδοθηλιακός Αυξητικός Παράγοντας έχει σημαντικό ρόλο στην **παθολογική αγγειογένεση**. Μελέτες έχουν δείξει αύξηση των επιπέδων του Αγγειακού Ενδοθηλιακού Αυξητικού Παράγοντα στο περιτοναϊκό υγρό γυναικών που έχουν ενδομητρίωση. Μάλιστα οι γυναίκες με μέτρια προς σοβαρή ενδομητρίωση έχουν υψηλότερη συγκέντρωση του Αγγειακού Ενδοθηλιακού Αυξητικού Παράγοντα στο περιτοναϊκό υγρό, σε σχέση με αυτές που έχουν ελάχιστη ή ήπια ενδομητρίωση ή δεν νοσούν (Shifren JL et al., 1996; Wang H et al., 2009).

Στην εγκυμοσύνη ο Αγγειακός Ενδοθηλιακός Αυξητικός Παράγοντας εκφράζεται στον πλακούντα (Jackson MR et al., 1994) και προκαλεί αύξηση των αιμοφόρων αγγείων της μήτρας, ανάπτυξη των εμβρυικών αγγείων και πολλαπλασιασμό της τροφοβλάστης (Evans P et al., 1997). Η σύνθεσή του διεγείρεται όταν σε κυτταρικό επίπεδο υπάρχει έλλειψη οξυγόνου ή γλυκόζης, αλλά και σε φλεγμονώδεις αντιδράσεις (Wolfgang J, 2001).

Σημαντικός είναι ο ρόλος του VEGF στη διαδικασία της εμμήνου ρύσεως (Ferrara N, 2004), αλλά και η ανάπτυξη του ωχρού σωματίου γίνεται με τη διαδικασία της αγγειογένεσης. Επίσης, μεγάλες συγκεντρώσεις του στο ωοθυλακικό υγρό σχετίζονται με μειωμένες πιθανότητες εγκυμοσύνης στην υποβοηθούμενη αναπαραγωγή (Friedman CI et al., 1998 ; Oliveira VA et al., 2005).

Η οικογένεια των VEGFs περιλαμβάνει έξι διαφορετικές ενώσεις που αποτελούν πολυδύναμες κυτοκίνες : VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGFD, VEGF-E και PLGF με κύρια δράση εστιασμένη στα ενδοθηλιακά κύτταρα των αιμοφόρων αγγείων και των λεμφαγγείων (Neufeld G et al., 1999).

Ο Αγγειακός Ενδοθηλιακός Αυξητικός Παράγοντας-A (VEGF-A) είναι το πρώτο μέλος της οικογένειας που αναγνωρίστηκε και γι' αυτό αναφέρεται ως VEGF. Αποτελεί μία διμερή γλυκοπρωτεΐνη μοριακού βάρους 34-45kDa με ισχυρή μιτογόνο δράση στα ενδοθηλιακά κύτταρα. Αποτελείται από δύο πεπτιδικές αλυσίδες που ενώνονται μεταξύ τους με δισουλφιδικό δεσμό και έχει συγγένεια με την ηπαρίνη. Το υπεύθυνο γονίδιο για την σύνθεσή του βρίσκεται στο βραχύ σκέλος του χρωμοσώματος 6 (6p21.3). Αποτελείται από οκτώ εξόνια τα οποία ενώνονται από επτά ιντρόνια. Ο VEGF-A έχει 6 ισομορφές: VEGF 121, VEGF 145,

VEGF 165, VEGF 183, VEGF 189 και VEGF 206 (Kowanetz M and Ferrara N, 2006). Παράγεται από 39 διάφορα φυσιολογικά ή νεοπλασματικά κύτταρα και έχει την μορφή ομοδιμερούς (homodimer) με ικανότητα να δεσμεύει την ηπαρίνη και μοριακό βάρος 45 kDa (Ferrara N and Davis-Smyth T, 1997). Οι ισομορφές -189 και -121 εμφανίζονται σε μια πλειάδα κυττάρων ενώ η -206 είναι σπάνια μορφή που συναντάται μόνο στο ανθρώπινο ηπατικό κύτταρο. Οι ισομορφές αυτές προκύπτουν από εναλλακτικό μάτισμα του VEGF mRNA και έχουν διαφορετικές λειτουργίες στην διαδικασία της αγγειογένεσης (Ferrara N, 1999).

Ο Αγγειακός Ενδοθηλιακός Αυξητικός Παράγοντας-B (VEGF-B) είναι μια πρωτεΐνη που αποτελείται από 188 αμινοξέα. Το γονίδιό της εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 11. Υπάρχουν δύο ισομορφές του: VEGF-B(167) και VEGF-B(189) (Word RA et al., 1993) που εκφράζονται κυρίως στο σκελετικό και καρδιακό μυ.

Ο Αγγειακός Ενδοθηλιακός Αυξητικός Παράγοντας-C (VEGF-C) είναι μια πρωτεΐνη που αποτελείται από 419 αμινοξέα και το γονίδιό της εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 4. Βρίσκεται σε μικρές ποσότητες στον πλακούντα, τις ωθήκες, τα αιμοπετάλια και σε ορισμένες σειρές καρκινικών κυττάρων (Wartiovaara U et al., 1998). Ο ρόλος του είναι τόσο αγγειογενετικός όσο και λεμφαγγειογενετικός αυξητικός παράγοντας.

Ο Αγγειακός Ενδοθηλιακός Αυξητικός Παράγοντας-D (VEGF-D) έχει 61% ομοιότητα με τον VEGF-C, το γονίδιό του εντοπίζεται στο χρωμόσωμα Χρ22.31 (Yamada Y et al., 1997) και εκφράζεται κυρίως στην καρδιά, το σκελετικό μυ και το λεπτό έντερο.

Ο Αγγειακός Ενδοθηλιακός Αυξητικός Παράγοντας-E (VEGF-E) βρέθηκε στο γονιδίωμα του ιού Orf, ο οποίος είναι επιθηλιοτρόπος ιός που προκαλεί δερματικές βλάβες σε αμνούς, αλλά και στον άνθρωπο. Ο Αγγειακός Ενδοθηλιακός Αυξητικός Παράγοντας-E (VEGF-E) συνδέεται με τον υποδοχέα VEGFR-2 και μέσω αυτού διεγείρει την αγγειογένεση, ενισχύοντας έτσι τη λοιμογόνο ικανότητα του ιού (Meyer M et al., 1999).

Ο Αγγειακός Ενδοθηλιακός Αυξητικός Παράγοντας αλληλεπιδρά με αυξητικούς παράγοντες και κυτταροκίνες και επηρεάζεται η σύνθεσή του. Ο παράγοντας νέκρωσης όγκων-α (TNFα), ο μετατρεπτικός αυξητικός παράγοντας-β (TGFβ), η ιντερλευκίνη 1, καθώς και η ιντερλευκίνη 6 είναι μερικοί από τους παράγοντες που μεταβάλλουν την ικανότητα του κυττάρου να συνθέτει VEGF (Deroanne CF et al., 1997). Τέλος και οι γοναδοτροπίνες διεγείρουν την έκφραση του VEGF στις ωθήκες (Shweiki D et al., 1993), ενώ η οιστραδιόλη ενεργοποιεί την έκφραση του γονιδίου του (Mueller MD et al., 2000).

4.3 Ο ρόλος της AMH ή MIS στην ενδομητρίωση

Η αντιμυλλεριανή ορμόνη (AMH ή MIS) είναι μια ομοδιμερής γλυκοπρωτεΐνη μοριακού βάρους 140 k-Da, που παράγεται από τα κύτταρα της κοκκιώδους στιβάδας των ωοθυλακίων (Siow Y et al., 2005) και ανήκει στην οικογένεια των αυξητικών παραγόντων TGF-β. Το γονίδιο που κωδικοποιεί την AMH εντοπίζεται στο βραχύ σκέλος του χρωμοσώματος 19 (Cohen-Haguenaer O et al., 1987). Η δράση της AMH εκφράζεται μέσω συστήματος δύο υποδοχέων, του I

(AMHR I) και του II (AMHR II) που εντοπίζονται στις γονάδες και τους πόρους του Muller (La Marca and Volpe A, 2006b).

Η παραγωγή της ορμόνης αυτής αρχίζει την 36^η εβδομάδα της εμβρυϊκής ζωής και συνεχίζεται μέχρι την εμμηνόπαυση. Η αντιμυλλεριανή ορμόνη δεν παράγεται από τα κύτταρα της κοκκιώδους στιβάδας των αρχέγονων ωοθυλακίων. Η παραγωγή της ορμόνης ξεκινάει από τα πρωτογενή ωοθυλάκια (Weenen C et al., 2004). Εφόσον η AMH παράγεται αποκλειστικά από τα κύτταρα της κοκκιώδους στιβάδας των αναπτυσσόμενων ωοθυλακίων, τα επίπεδά της στον ορό των γυναικών μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως δείκτης της εφεδρείας των ωοθυλακίων, αντιπροσωπεύοντας την ποσότητα και την ποιότητα του συνολικού αριθμού των ωοθυλακίων της ωοθήκης (Seifer DB et al., 2002). Πρόσφατα, αποδείχθηκε ότι οι μετρήσεις των επιπέδων της AMH στον ορό είναι σταθερές από τον ένα εμμηνορρυσιακό κύκλο στον άλλο, γεγονός που καθιστά την εκτίμηση των τιμών της ορμόνης αυτής σημαντικό βιολογικό δείκτη, όσον αφορά την ποσότητα και την ποιότητα των ωοθυλακίων της ωοθήκης (Josso N et al., 2001). Η ορμόνη είναι μη ανιχνεύσιμη κατά τη γέννηση των κοριτσιών και παρουσιάζει αύξηση μέχρι την ηλικία των τεσσάρων ετών και παραμένει σταθερή μέχρι την ενήλικη ζωή (Lee MM et al., 1996). Τα επίπεδα της ορμόνης παραμένουν σταθερά κατά τη διάρκεια του εμμηνορρυσιακού κύκλου (Cook CL et al., 2000) και η ελάττωσή της στον ορό αποτελεί πρώτη ένδειξη μείωση της εφεδρείας των ωοθυλακίων, με συνέπεια η χρήση της AMH στην κλινική πράξη να είναι σημαντική.

Από το 2000 έχει αναπτυχθεί μια ακριβής και ευαίσθητη μέθοδος, η ELISA, με την οποία ανιχνεύεται η ορμόνη ακόμη και σε πολύ χαμηλά επίπεδα (0,1

ng/ml)(La Marca A et al., 2006b) στον ορό, το πλάσμα και το ωοθυλακικό υγρό. Η μέτρησή της βοηθά στην εκτίμηση της γονιμότητας και της εμμηνόπαυσης,.

Η μέτρηση των επιπέδων της ορμόνης χρησιμοποιείται κλινικά ως δείκτης ωοθηκικής γήρανσης. Η μέτρησή της μάλιστα εμφανίζει μεγαλύτερη ευαισθησία από εκείνη της FSH και της οιστραδιόλης (Tocci A et al., 2009).

Οι παράγοντες που μειώνουν τα επίπεδα της AMH είναι η πάροδος της ηλικίας, η αύξηση του BMI, η χορήγηση γοναδοτροπινών, οι χημειοθεραπείες και η ακτινοβολία (Singer T et al., 2009). Η AMH δεν επηρεάζεται από τα GnRH ανάλογα, την εγκυμοσύνη, τα αντισυλληπτικά, καθώς και την ημέρα του εμμηνορυσιακού κύκλου (Diamanti-Kandarakis E, 2008).

Σε μια πρόσφατη μελέτη διαπιστώθηκε ότι οι παχύσαρκες γυναίκες αναπαραγωγικής ηλικίας 35-49 ετών εμφάνιζαν σημαντικά χαμηλότερες τιμές AMH, σε αντιστοιχία με γυναίκες της ίδιας ηλικίας αλλά φυσιολογικού βάρους (Freeman EW et al., 2007). Η σχέση μεταξύ του δείκτη μάζας σώματος(BMI) και της AMH δεν έχει διευκρινιστεί. Έχουν προταθεί απόψεις, αλλά τα βιβλιογραφικά δεδομένα είναι ελάχιστα. Είναι απαραίτητες και άλλες μελέτες και για να διευκρινιστεί ο μηχανισμός, αλλά και η αντίστροφη σχέση μεταξύ AMH και BMI.

Η ωοθυλακιόγνεση είναι μια δυναμική διεργασία, κατά την οποία οι παράγοντες που παίρνουν μέρος σε αυτή έχουν ως μοναδικό σκοπό την εξασφάλιση της επιλογής ενός κυρίαρχου ωοθυλακίου και την ωοθυλακιόρρηξη σε κάθε κύκλο. Η AMH φαίνεται ότι εμποδίζει την ανάπτυξη των ωοθυλακίων (Nakhuda GS et al.,

2006), παίζοντας έτσι το ρόλο του «φρουρού πύλης», με στόχο την αποφυγή υπερκατανάλωσης ωοθυλακίων.

Είναι γενικά αποδεκτό ότι οι τιμές της AMH στον ορό εκφράζουν το ωοθυλακικό δυναμικό και έχουν μεγάλη κλινική σημασία στην πρόγνωση της επιτυχίας ενός κύκλου εξωσωματικής γονιμοποίησης. Σε κύκλους υποβοηθούμενης αναπαραγωγής, η μέτρηση της ορμόνης είναι πολύ καλός δείκτης για τη διάγνωση της ωοθηκικής ανταπόκρισης (Muttukrishna S et al., 2004). Η μέτρηση της ορμόνης μπορεί να καθορίσει τον αριθμό των ωαρίων που λαμβάνονται στην εξωσωματική γονιμοποίηση (Al-Qahtami A et al., 2006).

4.4 Ο ρόλος της IL-6 στην ενδομητρίωση

Η αυξημένη αγγειογένεση στις ενδομητρωσικές εστίες είναι σπουδαίος παράγοντας για την παθογένεια της ενδομητρίωσης. Στο περιτοναϊκό υγρό γυναικών με ενδομητρίωση έχει βρεθεί αυξημένη συγκέντρωση και δραστηριότητα αγγειογενετικών παραγόντων, όπως FGF, HGF, VEGF (Matalliotakis IM et al., 2003).

Οι κυτοκίνες αποτελούν μια μεγάλη οικογένεια πρωτεϊνών χαμηλού μοριακού βάρους, οι οποίες σχετίζονται με τη ρύθμιση της κυτταρικής δραστηριότητας. Έχουν αυτοκρινή αλλά και παρακρινή δράση μέσα στα πλαίσια του ανοσολογικού συστήματος του ανθρώπινου οργανισμού και μαζί με τους αυξητικούς παράγοντες παίζουν σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση της χημειοταξίας, της μίτωσης, της αγγειογένεσης και της διαφοροποίησης. Σύμφωνα με έρευνες που

έχουν διεξαχθεί τα τελευταία χρόνια όσον αφορά στην ανακάλυψη της παθογένειας της ενδομητρίωσης, βρέθηκε πως πιθανόν οι μεταβολές του ανοσοποιητικού συστήματος να είναι υπεύθυνες για το ότι κάποιες γυναίκες εμφανίζουν ενδομητρίωση ενώ άλλες όχι. Συγκεκριμένα το ανοσοποιητικό σύστημα των γυναικών με ενδομητρίωση πρέπει να επιτρέπει την επιβίωση των ενδομητρικών κυττάρων στην περιτοναϊκή κοιλότητα. Οι κυτοκίνες και οι αυξητικοί παράγοντες του περιτοναϊκού υγρού που παράγονται από τα ενεργοποιημένα μακροφάγα και τα μεσοθηλιακά κύτταρα φαίνεται να προωθούν την εμφύτευση και την ανάπτυξη του έκτοπου ενδομητρικού ιστού, προάγοντας τον πολλαπλασιασμό και τη διαφοροποίησή του (Wu M et al., 2003).

Σύμφωνα με μια πρόσφατη μελέτη αλλά και με δικά μας αποτελέσματα, (La Marca A et al., 2006a) μετρήθηκαν οι συγκεντρώσεις στον ορό και στο περιτοναϊκό υγρό της IL-1b, IL-6, IL-8, IL-12, IL-13 και του TNF-a σε 130 γυναίκες, σε μια προσπάθεια ανακάλυψης ενός μη επεμβατικού διαγνωστικού μέσου της ενδομητρίωσης. Βρέθηκε, λοιπόν, πως τα επίπεδα της IL-6 στον ορό και του TNF-a στο περιτοναϊκό υγρό με διακολπικά κατευθυνόμενη υπερηχογραφική παρακέντηση του δουλασείου μπορούν να χρησιμοποιηθούν, προκειμένου να διακρίνουμε ποιες γυναίκες πάσχουν από ενδομητρίωση και ποιες όχι, με υψηλή ευαισθησία και ειδικότητα.

Το γεγονός πως οι μετρήσεις αυτών των δύο κυτοκινών δεν επηρεάζονται σημαντικά κατά τις φάσεις του καταμήνιου κύκλου τις καθιστά αρκετά αξιόπιστες, προκειμένου να εφαρμοστούν στην κλινική πράξη ως διαγνωστικά μέσα της ενδομητρίωσης. Όμως τα επίπεδά τους δεν κατάφεραν να συσχετιστούν με το

στάδιο βαρύτητας της νόσου και γι' αυτό θα πρέπει να εκλαμβάνονται ως ποιοτικά και όχι ως ποσοτικά διαγνωστικά μέσα της ενδομητρίωσης. Έτσι προτάθηκε το όριο των 2pg/ml στον ορό του αίματος για την IL-6, για να διακρίνουμε με ευαισθησία 90% και ειδικότητα 67% ποιές γυναίκες πάσχουν από ενδομητρίωση. Για τον TNF- α προτάθηκε το όριο των 15pg/ml στο περιτοναϊκό υγρό, πάνω από το οποίο ανιχνεύουμε με ευαισθησία 100% και ειδικότητα 87% τις γυναίκες που πάσχουν από ενδομητρίωση (Bedaiwy M et al., 2002). Απαιτούνται περισσότερες μελέτες σε μεγαλύτερα δείγματα πληθυσμού, πριν αυτοί οι δείκτες χρησιμοποιηθούν ευρέως στην κλινική πράξη ως μη επεμβατικό διαγνωστικό μέσο της ενδομητρίωσης.

Η IL-6 είναι μια πολυλειτουργική πρωτεΐνη με μοριακό βάρος 21kDa, η οποία αποτελείται από 186 αμινοξέα (Hirano T et al., 1989). Παράγεται τόσο από λεμφοειδή όσο και από μη λεμφοειδή κύτταρα και ρυθμίζει την ανοσολογική απάντηση οξείας φάσης, αλλά και την αιμοποίηση. Προκαλεί μεγάλες μεταβολές στη βιοχημική, φυσιολογική και ανοσολογική κατάσταση, προάγοντας την ενεργοποίηση B- και T- λεμφοκυττάρων, αλλά και τη διαφοροποίηση των B- λεμφοκυττάρων και μυελοκυττάρων. Επίσης βοηθά στην ωρίμανση των κυτταροτοξικών T- κυττάρων, τη διαφοροποίηση των νευρικών αλλά και την παράγωγή της φλοιοτρόπου ορμόνης .

Αυξημένα επίπεδα παρατηρούνται στα ανθρώπινα υγρά κατά τη διάρκεια λοιμώξεων και αυτοάνοσων νόσων. Το γονίδιο της εντοπίζεται στο βραχύ σκέλος του χρωμοσώματος 7 (Sehgal PB et al., 1986).

Το γονίδιο της IL6 βρίσκεται στο βραχύ σκέλος του χρωμοσώματος 7 (Sehgal PB et al., 1986). Κύτταρα που παράγουν κυρίως IL6 είναι οι ινοβλάστες (Van

Damme J et al., 1987), τα ενδοθηλιακά (Sironi M et al., 1989), τα καρκινικά (Miki S et al., 1989), όπως και τα κύτταρα του αίματος. Επίσης παράγονται από την τροφοβλάστη (Jokhi PP et al., 1997), τον πλακούντα πιθανόν και από το ίδιο το έμβρυο (Dame JB et al., 2000).

Το γονίδιο της IL6, σε φυσιολογικά άτομα μεταγράφεται σε σημαντικά ποσά στο σπλήνα, το ήπαρ, τους νεφρούς, αλλά και τα λεμφοκύτταρα του περιφερικού αίματος (Tovey MG et al., 1988).

Σε μια συστηματική φλεγμονή, τα ενδοθηλιακά κύτταρα, οι ινοβλάστες και τα μακροφάγα είναι η κύρια πηγή παραγωγής της IL6 (Sironi M et al., 1989).

Οι υποδοχείς της έχουν μοριακό βάρος 80 kDa και αποτελούνται από 486 αμινοξέα. Υπάρχουν σε λεμφοειδή και μη λεμφοειδή κύτταρα (Taga T et al., 1987), γεγονός που δείχνει ότι η απελευθέρωση διαλυτών υποδοχέων των κυτοκινών είναι ένα γενικό φαινόμενο και συμβαίνει και σε φυσιολογικές καταστάσεις (Gehr G et al., 1992).

Θετική ρύθμιση της έκφρασης και παραγωγής της IL6 από τους ινοβλάστες προκαλείται από παράγοντες όπως κυτταροκίνες (Content J et al., 1985), βακτηρίδια (Van Damme J et al., 1989) και ιοί όπως ο HIV (Sehgal PB et al., 1988). Αντίθετα, αρνητική ρύθμιση της σύνθεσής της προκαλείται από τα γλυκοκορτικοειδή (Woloski BM et al., 1985).

Μεταβολίζεται στο ήπαρ και διηθείται μέσω των νεφρών σε ποσοστό 10-15% (Castell JV et al., 1988). Προστατεύεται από τη δράση των πρωτεασών, με τη βοήθεια της α2-μακροσφαιρίνης (Matsuda T et al., 1989).

Η ιντερλευκίνη-1, αλλά και ο παράγοντας νέκρωσης των όγκων TNF (Mosmann TR et al., 1989) βοηθούν στη σύνθεση της IL6. Οι τρεις αυτοί παράγοντες βοηθούν στη σύνθεση της φλοιοτρόπου ορμόνης (ACTH) (Woloski BM et al., 1985). Η ιντερλευκίνη-6 επιδρά σε διάφορα επίπεδα πάνω στον άξονα υποθάλαμος-υπόφυση-επινεφρίδια (Salas MA et al., 1990). Επίσης έχει αρνητική επίδραση στην παράγωγή του παράγοντα νέκρωσης των όγκων (TNF). Επιπλέον καταστέλλει και την παράγωγή της ιντερλευκίνης-1 (Schindler R et al., 1990).

Η ιντερλευκίνη-6 έχει αρκετά όργανα και κύτταρα στόχους και γι'αυτό εμπλέκεται και σε αρκετές λοιμώδεις και αυτοάνοσες διαταραχές (Sehgal PB et al., 1989). Αυξημένα επίπεδά της βρέθηκαν στη ρευματοειδή αρθρίτιδα (Hirano T et al., 1988), στις ηπατοπάθειες (Kakumu S et al., 1982), στο σακχαρώδη διαβήτη τύπου I (Akira S et al., 1990), σε κακοήθεις νόσους (Yee C et al., 1989), μηνιγγίτιδα (Waage A et al., 1989), στην ενδομητρίωση (Martínez S et al., 2007) και σε αρκετά άλλα.

Η ιντερλευκίνη-6 προσδιορίζεται με ραδιοανοσοχημική μέθοδο (RIA), αλλά και με ανοσοενζυμική μέθοδο (ELISA). Η τελευταία μάλιστα έχει πολύ μεγάλη ευαισθησία και ανιχνεύει ποσά μέχρι και 10ng/l. Η μέθοδος στηρίζεται στη δυνατότητα που έχει η ιντερλευκίνη-6 να προκαλεί υπερπλασία διαφόρων κυτταρικών σειρών (Van Oers MH et al., 1988).

B. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

5. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Η παρούσα μελέτη έχει σκοπό τη σύγκριση ανθρωπομετρικών και ορμονικών παραμέτρων και της υποδεκτικότητας του ενδομητρίου σε γυναίκες με ιστορικό ενδομητρίωσης, οι οποίες συμμετείχαν σε πρόγραμμα δωρεάς ωαρίων και μοιράστηκαν ωάρια προερχόμενα από κοινές δότριες, με γυναίκες χωρίς ιστορικό ενδομητρίωσης.

Στη διάρκεια της μελέτης προέκυψαν άλλες τέσσερις υποομάδες γυναικών με βάση τη μεταβλητή της εμμηνόπαυσης, γιατί παρόλο που θεωρείται ότι η ενδομητρίωση υποχωρεί όταν οι γυναίκες εισέλθουν στην εμμηνόπαυση, μη αναστρέψιμες επιγενετικές αλλαγές του ενδομητρίου σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες με ιστορικό ενδομητρίωσης (Cakmak H and Taylor HS, 2010b) και μετα-εμμηνοπαυσιακή επανενεργοποίηση της ενδομητρίωσης έχουν αναφερθεί σε γυναίκες (Goumenou AG et al., 2003; Oxholm D et al., 2007), με ή χωρίς ορμονική θεραπεία.

6. ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

6.1 Χαρακτηριστικά της μελέτης

Μελετήθηκαν συνολικά 420 γυναίκες οι οποίες προσήλθαν για δωρεά ωαρίων στην κλινική Υποβοηθούμενης Αναπαραγωγής "Ιάκεντρο" στη Θεσσαλονίκη και υποβλήθηκαν σε εξωσωματική γονιμοποίηση. Η μελέτη πραγματοποιήθηκε και υποβλήθηκε σε εξωσωματική γονιμοποίηση. Η μελέτη πραγματοποιήθηκε στο χρονικό διάστημα 2009-2012.

Οι γυναίκες της μελέτης, που ήταν λήπτριες ωαρίων, χωρίστηκαν σε δύο ομάδες. Η πρώτη ομάδα (I) περιελάμβανε 210 γυναίκες με ιστορικό ενδομητρίωσης, Η δεύτερη ομάδα (II) περιελάμβανε 210 γυναίκες χωρίς ιστορικό ενδομητρίωσης. Η διάγνωση και το στάδιο της ενδομητρίωσης είχαν τεθεί με λαπαροσκόπηση σε πρότερο χρόνο.

Ολες οι γυναίκες της μελέτης, την 3^η-7^η ημέρα του κύκλου που προηγείτο της εξωσωματικής γονιμοποίησης, υποβλήθηκαν σε λήψη αίματος και μετρήθηκαν οι δείκτες : FSH, LH, estradiol, CA-125, IL-6, VEGF, AMH. Στη συνέχεια, την 20-21^η ημέρα του ιδίου κύκλου στις εμμηνορρυσιακές γυναίκες εδίδετο μια ένεση GnRH αναλόγου των 3,75mg ενώ στις εμμηνοπαυσιακές δεν χορηγούνταν τίποτα.

Στη διάρκεια του κύκλου της εξωσωματικής γονιμοποίησης καταγράφονταν όλα τα δεδομένα του ιστορικού της γυναίκας (δημογραφικά, υπερηχογραφικά και εργαστηριακά ευρήματα) και τα υπερηχογραφικά και εργαστηριακά ευρήματα που αφορούσαν τη φαρμακευτική θεραπεία και την παρακολούθηση του κύκλου της εξωσωματικής γονιμοποίησης μέχρι την ημέρα της ωοληψίας. Στη συνέχεια, καταγράφονταν και όλα τα στοιχεία που αφορούσαν το εργαστήριο (αριθμός

ωαρίων, ώριμα ώάρια, αριθμός 2PN, 2PN scoring, cleavage rate, εκτίμηση εμβρύων) και μετά την εμβρυομεταφορά τα κλινικά στοιχεία που αφορούσαν στην έκβαση της προσπάθειας (ποσοστά εγκυμοσύνης, εμφύτευσης, βιοχημικής και κλινικής εγκυμοσύνης, αποβολές και γεννήσεις ζώντων παιδιών)

6.2 Επιλογή δότριας

Όλες οι δότριες ήταν κάτω των 32 ετών, αποδεδειγμένης γονιμότητας (να έχουν αποκτήσει τουλάχιστον ένα τέκνο) και ελέγχονταν κλινικά από γυναικολόγο, παθολόγο και γενετίστρια ενώ εργαστηριακά αντίστοιχα για ομάδα αίματος - rhesus, σεξουαλικά μεταδιδόμενα νοσήματα (HIV, σύφιλη, ηπατίτιδες B,C, γονόρροια, χλαμύδια), μεσογειακή αναιμία, ινοκυστική νόσο και καρυότυπο. Παράλληλα η λήπτρια ωαρίων υποβάλλονταν σε αντίστοιχες εξετάσεις. Όλες οι δότριες, που πήραν μέρος στο πρόγραμμα ήταν μικρότερες των 32 ετών, ο δείκτης μάζας του σώματός τους μικρότερος από 28 kg/m^2 , είχαν φυσιολογικό εμμηνορρυσιακό κύκλο 25 έως 33 ημερών, φυσιολογική ωοθηκική μορφολογία υπερηχογραφικά, χωρίς εικόνα πολυκυστικών ωοθηκών, ενδομητρίωσης ή άλλων γυναικολογικών παθήσεων. Όλες οι δότριες συνέναισαν στην ελεύθερη, αλτρουιστική και ανώνυμη δωρεά των ωαρίων τους, όπως προβλέπεται από τον ελληνικό νόμο περί υποβοηθούμενης αναπαραγωγής.

6.3 Πρωτόκολλο διέγερσης ωοθηκών δότριας

Το πρωτόκολλο που χρησιμοποιήθηκε για τη διέγερση των ωοθηκών της δότριας ήταν το βραχύ πρωτόκολλο με τη χορήγηση GnRH ανταγωνιστών. Το πρωτόκολλο αυτό περιελάμβανε καθημερινή χορήγηση 225IU ανασυνδυασμένης θυλακιοτρόπου ορμόνης - rFSH (Puregon, NV Organon) ξεκινώντας από τη δεύτερη μέρα του κύκλου. Η ημερήσια δοσολογία της FSH ρυθμιζόταν κάθε τρεις ημέρες ανάλογα με την ωοθηκική απάντηση αξιολογώντας τα επίπεδα οιστραδιόλης στον ορό του αίματος και τον αριθμό και μέγεθος των αναπτυσσόμενων ωοθυλακίων. Για την πρόληψη πρώιμων αιχμών της LH το πρωτόκολλο διέγερσης περιελάμβανε χορήγηση ανταγωνιστή ξεκινώντας από την έκτη μέρα της διέγερσης (Orgalutran 0.25 mg; NV Organon). Όταν στον υπερηχογραφικό έλεγχο γινόταν καταγραφή 2 ή περισσότερων ωοθυλακίων με μέση διάμετρο μεγαλύτερη από 17 χιλιοστά και συγχρόνως τα επίπεδα της οιστραδιόλης στον ορό του αίματος ήταν μεγαλύτερα από 1500 pg/ml, γίνονταν χορήγηση 10.000 IU ανθρώπινης χοριακής γοναδοτροπίνης (hCG; Pregnyl; NV Organon). Δότριες με κίνδυνο υπερδιέγερσης λάμβαναν διπλή δόση ανταγωνιστή (0.25 mg πρωί και βράδυ) την προηγούμενη μέρα από τη χορήγηση της χοριακής γοναδοτροπίνης (Prapas et al., 2010), ενώ ποτέ δεν γινόταν χορήγηση ανταγωνιστή την ημέρα χορήγησης της hCG.

6.4 Προετοιμασία ενδομητρίου λήπτριας

Όλες οι γυναίκες λήπτριες ωαρίων είχαν ηλικία μικρότερη των 50 ετών, και είχαν πραγματοποιήσει πρόσφατες εξετάσεις υστεροσαλιπγογραφίας και

υστεροσκόπησης, προκειμένου να αποκλειστεί η περίπτωση υδροσαλίγγων ή άλλων ανωμαλιών στην ενδομήτρια κοιλότητα.

Σε περιπτώσεις όπου οι σύζυγοί των λήπτριών είχαν μη αποφρακτική αζωοσπερμία ή έντονη ολιγοασθενοσπερμία (<5 εκατομμύρια σπερματοζωάρια ανά ml) ο σύζυγος υποβάλλονταν σε εξετάσεις για έλεγχο κυστικής ίνωσης, μικροελλείψεις Υ χρωμοσώματος και καρυότυπο.

Σε όλες στις λήπτριες πραγματοποιούνταν δοκιμαστική εμβρυομεταφορά, χωρίς τοποθέτηση εμβρύου σε προηγούμενο κύκλο. Σε περίπτωση στενού ή παραμορφωμένου τραχηλικού αυλού, πραγματοποιούνταν διαστολή του τραχήλου (Prapas et al., 2004).

Η προετοιμασία του ενδομητρίου της λήπτριας πραγματοποιούνταν με χρήση οιστραδιόλης και προγεστερόνης. Συγχρόνως γινόταν μέτρηση του πάχους του ενδομητρίου, το οποίο την ημέρα της εμβρυομεταφοράς επρεπε να είναι $\leq 9\text{mm}$.

Όταν η λήπτρια ήταν εμμηνορρυσιακή ξεκινούσε η χορήγηση GnRH αναλόγου (Arvecap ή Daronda 3,75 mg) από την 21η ημέρα του κύκλου που προηγείτο της εξωσωματικής. Τη 2η ημέρα του κύκλου της εξωσωματικής γινόταν υπερηχογράφημα προκειμένου να αποκλειστεί η παρουσία ωοθηκικών κύστεων διαμέτρου άνω των 10 χιλιοστών και μέτρηση της οιστραδιόλης στον ορό του αίματος. Επιπλέον, από τη δεύτερη ημέρα εμμηνορρυσίας της δότριας ξεκινούσε η χορήγηση οιστρογόνων (Cyclacur; Bayer Schering Pharma). Τη 8^η ημέρα του κύκλου γινόταν υπερηχογραφικός έλεγχος για τον προσδιορισμό του πάχους του

ενδομητρίου και ρύθμιση της δοσολογίας των οιστρογόνων βάση αυτού. Η χορήγηση οιστρογόνων συνεχίζονταν τουλάχιστον μέχρι τη 12^η εβδομάδα κύησης.

Όταν η λήπτρια ήταν εμμηνοπαυσιακή γινόταν υπερηχογραφικός έλεγχος τη δεύτερη ημέρα του εμμηνορρυσιακού κύκλου της δότριας προκειμένου να αποκλειστεί η παρουσία υπερπλαστικού ενδομητρίου πάχους > 5mm. Στη συνέχεια ξεκινούσε η χορήγηση οιστραδιόλης σε δόση 2mg/ημέρα για τις 4 επόμενες ημέρες, 4mg/ ημέρα για τις επόμενες 4 ημέρες και 6mg/ημέρα μέχρι το αποτέλεσμα του τεστ κύησης. Όταν το πάχος του ενδομητρίου έφτανε τα 9 mm, η χορήγηση των οιστρογόνων συνέχιζε στην ίδια δοσολογία και την ημέρα της ωοληψίας άρχιζε η διακοπική χορήγηση προγεστερόνης 200 mg (Utrogestan) τρεις φορές την ημέρα μέχρι τη 12^η εβδομάδα της κύησης.

6.5 Εξωσωματική γονιμοποίηση και εμβρυομεταφορά

Η γονιμοποίηση των ώριμων ωαρίων (στάδιο δεύτερης μειωτικής διαίρεσης) γινόταν με τη μέθοδο της μικρογονιμοποίησης. Η καλλιέργεια των εμβρύων για τις ημέρες από τις ημέρες 0 έως και 5 πραγματοποιήθηκε σε ξεχωριστές σταγόνες θρεπτικού υλικού (Sage Media, USA) όγκου 25 μl, καλυμμένων με λάδι παραφίνης (FertiPro, Bernem, Belgium) και σε κλίβανο κορεσμένης ατμόσφαιρας σε υγρασία και συγκέντρωσης 6% CO₂, 5% O₂ και 89% N₂. Τα έμβρυα αξιολογούνταν το πρωί της δεύτερης, τρίτης και πέμπτης ημέρας της καλλιέργειάς τους οπότε και επιλέγονταν τα προς εμβρυομεταφορά ενώ τα υπόλοιπα υποβάλλονταν σε κρυοσυντήρηση με τη μέθοδο της υαλοποίησης (Vanderzwalmen P et al., 2009).

Τα έμβρυα που προέκυπταν, αξιολογούνταν και στη συνέχεια τα καλύτερα (grade 1 και grade 2) μεταφέρονταν στις λήπτριες (μέγιστος αριθμός εμβρύων: 3). Οι γονιμοποιημένοι ζυγώτες χαρακτηρίζονταν την πρώτη μέρα μετά τη γονιμοποίηση σύμφωνα με την κατάταξη της Scott (Scott L, 2001), ανάλογα με τον αριθμό και το μέγεθος των προπυρήνων, με την εμφάνιση και κατανομή των πυρηνίσκων μέσα στους προπυρήνες και με τη θέση των προπυρήνων, σε σχέση με τα πολικά σωμάτια. Ο συνδυασμός των ανωτέρω στοιχείων οδηγεί σε κατάταξη των εμβρύων ως εξής:

Grade 1 embryos: αριστα έμβρυα, με συμμετρικά βλαστομερίδια και όχι εμφανή fragmentation.

Grade 2 embryos: πολύ καλά έμβρυα, με σχετικά συμμετρικά βλαστομερίδια και περίπου 10% fragmentation.

Grade 3 embryos: καλά έμβρυα, με όχι συμμετρικά βλαστομερίδια και 10-50% fragmentation.

Grade 4 embryos: άσχημα έμβρυα με όχι συμμετρικά βλαστομερίδια και περισσότερο από 50% fragmentation.

Η εμβρυομεταφορά πραγματοποιούνταν κάτω από υπερηχογραφική έλεγχο (Prapas Y et al., 1995).

Η κύηση επιβεβαιωνόταν 14 ημέρες μετά την εμβρυομεταφορά με τη μέτρηση β-hCG στο αίμα. Ως κλινική κύηση ορίστηκε η συνύπαρξη αμνιακού σάκου και θετικής καρδιακής λειτουργίας μεταξύ 8^{ης} και 10^{ης} εβδομάδας της κύησης. Ως συνεχιζόμενη ορίστηκε η κύηση στην οποία διαπιστώθηκαν φυσιολογικά

υπερηχογραφικά ευρήματα στις 22 εβδομάδες της κύησης. Το ποσοστό εμφύτευσης ορίστηκε ως ο λόγος του αριθμού αμνιακών σάκων με θετική καρδιακή λειτουργία προς των αριθμό των μεταφερόμενων εμβρύων.

Τέλος, καταγράφεται το αποτέλεσμα της εξωσωματικής γονιμοποίησης (βιοχημική-κλινική εγκυμοσύνη, αποβολές- τρίμηνο).

6.6 Ορμονικός έλεγχος (FSH, LH, E2 AMH) και μέτρηση Ca-125, VEGF, IL-6

Ο ορμονικός έλεγχος (FSH, LH, E2, AMH) καθώς και ο προσδιορισμός του Ca-125, VEGF, IL-6, γινόταν στην πρώιμη παραγωγική φάση του κύκλου με λήψη αίματος. Οι οροί για τον προσδιορισμό των παραπάνω ουσιών φυλάσσονταν στην κατάψυξη προκειμένου να μετρηθούν στο τέλος της μελέτης.

Ο προσδιορισμός της **FSH** και της **LH**, έγινε με στερεάς φάσης ανοσοχημειοφωταυγειομετρική μέθοδο δυο θέσεων-sandwich (solid-face, tow-site chemiluminescent immunometric assay, IMMULITE 2000 EURO/DPC, UK). Στη στερεά φάση (beads) είναι συνδεδεμένο ένα μονοκλωνικό αντίσωμα (murine) έναντι της FSH ή της LH, προστίθεται το δείγμα που περιέχει το αντιγόνο(FSH ή LH), γίνεται σύνδεση αντιγόνου αντισώματος και μετά προστίθεται ένα δεύτερο πολυκλωνικό αντίσωμα έναντι της FSH ή LH που είναι συνδεδεμένο με ένζυμο (alkaline phosphatase). Όταν στη συνέχεια προστεθεί το χημειοφψταυγές υπόστρωμα, καταλύεται από το ένζυμο και εκτιμάται η εκπομπή φωτεινής ακτινοβολίας.

Ο προσδιορισμός της **E2** έγινε με στερεάς φάσης ενζυμοανοσοχημειοφωταυγείας (Solid-face, competitive chemiluminescent enzyme immunoassay) . Στη στερεά φάση (beads) είναι συνδεδεμένο ένα πολυκλωνικό αντίσωμα (κουνελιού) έναντι της οιστραδιόλης, προστίθεται αντιδραστήριο που είναι οιστραδιόλη συνδεδεμένη με το ένζυμο αλκαλική φωσφατάση και δείγμα. Το αντιδραστήριο και το δείγμα ανταγωνίζονται να καταλάβουν τις θέσεις του αντισώματος. Παράλληλα σε άλλη θέση που χρησιμοποιείται σαν αρνητικός μάρτυρας, στο αντίσωμα της στερεάς φάσης προστίθεται το αντιδραστήριο, δηλαδή αντιγόνο σημασμένο με το ένζυμο. Στη συνέχεια προστίθεται το υπόστρωμα που καταλύεται από το ένζυμο και εκτιμάται η εκπομπή φωτεινής ακτινοβολίας. Η διαφορά έντασης της ακτινοβολίας μεταξύ αρνητικού μάρτυρα και δείγματος, μας δίνει την ποσότητα του αντιγόνου.

Για τον ποσοτικό προσδιορισμό της **Anti-Mullerian Hormone (AMH)** σε δείγμα ορού εφαρμόστηκε η ανοσοενζυμική μέθοδος ELISA (Diagnostic Systems Laboratories, Texas, USA). Σε κάθε βοθρίο της πλάκας μικροτιτλοποίησης 96 θέσεων περιέχεται δεσμευμένο το ειδικό αντίσωμα έναντι της Anti-Mullerian Hormone (AMH). Σκοπός του σταδίου αυτού ήταν η σύνδεση της AMH που περιέχεται σε ένα δείγμα ορού με το ειδικό αντίσωμα της πλάκας. Με το πέρας της επώασης απορρίφθηκε το περιεχόμενο κάθε βοθρίου και ακολούθησε έκπλυση της πλάκας μικροτιτλοποίησης σε μηχανήμα αυτόματης έκπλυσης πλακών ELISA. Στη συνέχεια προστέθηκαν 100 μl του ειδικού αντι-αντισώματος (Antibody- Biotin Conjugate) που δεσμεύεται στο ειδικό αντίσωμα έναντι της AMH (ήδη δεσμευμένο στην AMH κάθε εξεταστέου δείγματος).

Η πλάκα επώαστηκε στους 25°C για μια ώρα σε συσκευή ανακίνησης. Ακολούθησε απόρριψη του περιεχομένου κάθε βοθρίου και έκπλυση της πλάκας τιτλοποίησης σε μηχάνημα αυτόματης έκπλυσης πλακών ELISA. Η πλάκα μικροτιτλοποίησης εκπλύθηκε όπως και στα προηγούμενα στάδια για πέντε φορές και προστέθηκαν από 100 μl του υποστρώματος του ενζύμου (TMB chromogen solution). Η τελική επώαση της πλάκας έγινε στους 25°C για 20 λεπτά, σε συσκευή ανακίνησης με αποφυγή έκθεσης στο φως. Με το πέρας της επώασης η προσθήκη 100 μl ειδικού διαλύματος σε κάθε βοθρίο σταμάτησε την αντίδραση που πραγματοποιούνταν μεταξύ του ενζύμου και του αντίστοιχου υποστρώματος του. Η μέτρηση της οπτικής απορρόφησης της παραγόμενης έγχρωμης ένωσης έγινε σε ειδικό φωτόμετρο για πλάκες ELISA σε μήκος κύματος 450 nm, με βοηθητικό μήκος κύματος τα 620 nm.

Ο προσδιορισμός του καρκινικού αντιγόνου **Ca-125** πραγματοποιήθηκε στον ανοσολογικό αναλυτή AXSYM με την μικροσωματιδιακή ανοσοενζυμική μέθοδο ανάλυσης (Microparticles Immunoenzyme Assay – MEIA) της εταιρείας Abbott Diagnostics Division. Το δείγμα του ορού που περιέχει το αντιγόνο Ca-125 προστίθεται στο αντιδραστήριο που αποτελείται από εναιώρημα μικροσωματιδίων που είναι επικαλυμμένα με αντισώματα έναντι του Ca-125. Με τη σύνδεση αντιγόνου αντισώματος δημιουργούνται ανοσοσυμπλέγματα επί των μικροσωματιδίων. Στη συνέχεια προστίθεται δεύτερο μονοκλωνικό αντίσωμα συνδεδεμένο με ένζυμο (αλκαλική φωσφατάση) το οποίο συνδέεται με τα ήδη υπάρχοντα ανοσοσυμπλέγματα. Ακολουθεί προσθήκη υποστρώματος το οποίο

υδρολύεται από το ένζυμο σε προϊόν που παράγει φθορισμό ο οποίος μετράται. Η ένταση του φθορισμού είναι ανάλογη της συγκέντρωσης του αντιγόνου Ca-125.

Για τον προσδιορισμό των τιμών της **ιντερλευκίνης-6 (IL-6)** χρησιμοποιήθηκε η ανοσοενζυμομετρική μέθοδος ELISA και το kit Human IL-6 Ultra sensitive, BioSource International Inc, CA, USA. Συγκεκριμένα 100 μl του ορού των δειγμάτων και των προτύπων τοποθετήθηκαν (κάθε δείγμα διπλό) σε πλάκα 96 βοθρίων επιστρωμένα με ειδικά αντισώματα προς την IL-6. Μετά την επώαση τριών ωρών στους 37 °C, 100 μl του ειδικού μονοκλωνικού αντισώματος για την IL-6 προστέθηκαν και έγινε επώαση για 45 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου. Στη συνέχεια προστέθηκαν 100 μl στρεπταβιδίνης-υπεροξειδάσης και ακολούθησε επώαση για 45 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου. Σε καθένα από τα προηγούμενα βήματα γινόταν έκπλυση των βοθρίων με κατάλληλο διάλυμα. Τέλος 100 μl χρωμογόνου προστέθηκαν και τα δείγματα παρέμειναν 30 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου, για την ανάπτυξη του χρώματος. Η αντίδραση σταμάτησε με την προσθήκη 100 μl του ειδικού διαλύματος Stop Solution. Η απορρόφηση κάθε δείγματος μετρήθηκε σε ειδικό φωτόμετρο στα 450 nm, αφού προηγουμένως έγινε μηδενισμός του αναλυτή με τυφλό χρωμογόνο. Η ευαισθησία της μεθόδου ήταν < 104fg.

Για τον προσδιορισμό των τιμών του **Αγγειακού Ενδοθηλιακού Αυξητικού Παράγοντα (VEGF)** χρησιμοποιήθηκε η ανοσοενζυμομετρική μέθοδος ELISA και το kit Human VEGF , BioSource International Inc, CA, USA. Συγκεκριμένα 100 μl προτύπων και 50 μl δείγματος πλάσματος στα οποία προστέθηκαν 50 μl πρότυπου διαλύματος αραίωσης (κάθε δείγμα διπλό) σε πλάκα 96 βοθρίων με ειδικά

αντισώματα προς το VEGF και έγινε επώαση για 2 ώρες σε θερμοκρασία δωματίου. Στη συνέχεια σε κάθε βοθρίο προστέθηκαν 100 μl σεσημασμένου μονοκλωνικού αντισώματος έναντι του VEGF και έγινε επώαση για 1 ώρα στους 37 °C. Στη συνέχεια προστέθηκαν 100 μl στρεπταβιδίνης-υπεροξειδάσης και ακολούθησε επώαση για 30 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου. Σε καθένα από τα προηγούμενα βήματα γινόταν έκπλυση τέσσερις φορές των βοθρίων με κατάλληλο διάλυμα. Τέλος 100 μl χρωμογόνου προστέθηκαν και τα δείγματα παρέμειναν 30 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου, για την ανάπτυξη του χρώματος. Η αντίδραση σταμάτησε με την προσθήκη 100 μl του ειδικού διαλύματος Stop Solution. Η απορρόφηση κάθε δείγματος μετρήθηκε σε ειδικό φωτόμετρο στα 450 nm, αφού προηγουμένως έγινε μηδενισμός του αναλυτή με τυφλό χρωμογόνο. Η ελάχιστη περιεκτικότητα που μπορεί να προσδιοριστεί με τη συγκεκριμένη μέθοδο είναι <0,5 pg/ml. Η ειδικότητα της μεθόδου ήταν >98%.

Η στατιστική επεξεργασία των δεδομένων που συγκεντρώθηκαν έγινε με τη χρήση του στατιστικού πακέτου SPSS 18.0 (SPSS, Chicago, IL, USA - Statistical Package for Social Sciences for Windows). Υπολογίστηκαν περιγραφικά στατιστικά μέτρα όπως συχνότητες, μέσες τιμές, διακυμάνσεις, τυπικές αποκλίσεις και τυπικά σφάλματα κατά περίπτωση. Χρησιμοποιήθηκε ο έλεγχος Mc Nemar για την αξιολόγηση της εξέλιξης εμφάνισης γεγονότων σε κατηγορικές μεταβλητές. Χρησιμοποιήθηκε το t-test και ο έλεγχος Wilcoxon-Mann-Whitney για να ελεγχούν υποθέσεις που αφορούσαν την ισότητα των παραμέτρων θέσεως δυο ποσοτικών τυχαίων μεταβλητών. Για τη μελέτη των μεταβλητών με επαναλαμβανόμενες μετρήσεις σε συνεχή κλίμακα και τον έλεγχο των σταθερών υποθέσεων

χρησιμοποιήθηκε το γενικό γραμμικό μοντέλο επαναλαμβανόμενων μετρήσεων. Για όλους τους ελέγχους η στάθμη σημαντικότητας ήταν $p < 0.05$. Για τις μεταβλητές που μελετήθηκαν εκτιμήθηκε η μέση τιμή ± 1 σταθερή απόκλιση (mean \pm standard deviation SD). Το Binary logistic regression χρησιμοποιήθηκε για την εκτίμηση των διαφορών των ομάδων ως προς την εμφύτευση, κλινική εγκυμοσύνη, αποβολή, συνεχιζόμενη εγκυμοσύνη και ρυθμός γέννησης ζώντων παιδιών με ρύθμιση ως προς την ηλικία και το δείκτη μάζας σώματος (BMI).

Οι γυναίκες της μελέτης χωρίστηκαν σε 2 ομάδες : Η πρώτη ομάδα (I) περιελάμβανε 210 λήπτριες ωαρίων με ιστορικό ενδομητρίωσης, ενώ η δεύτερη ομάδα (II) περιελάμβανε 210 γυναίκες λήπτριες ωαρίων χωρίς ιστορικό ενδομητρίωσης. Επίσης, στη διάρκεια της μελέτης αυτής προέκυψαν άλλες 4 υποομάδες γυναικών με βάση τη μεταβλητή της εμμηνόπαυσης. Η τρίτη ομάδα (III) περιελάμβανε 102 γυναίκες με ιστορικό ενδομητρίωσης σε εμμηνόπαυση. Η τέταρτη (IV) ομάδα περιελάμβανε 108 γυναίκες με ιστορικό ενδομητρίωσης χωρίς εμμηνόπαυση. Η πέμπτη ομάδα (V) περιελάμβανε 98 γυναίκες χωρίς ιστορικό ενδομητρίωσης και σε εμμηνόπαυση. Η έκτη ομάδα (VI) περιελάμβανε 112 γυναίκες χωρίς ιστορικό ενδομητρίωσης και όχι εμμηνόπαυση.

7. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

7.1 Ενδομητρωσικές (Ομάδα I) vs χωρίς ενδομητρίωση (Ομάδα II)

Δημογραφικά και κλινικά χαρακτηριστικά των γυναικών της μελέτης

Στον Πίνακα 1 αναφέρονται και συγκρίνονται τα δημογραφικά στοιχεία των γυναικών που μελετήθηκαν. Στην Ομάδα I περιλαμβάνονται οι γυναίκες **με** ιστορικό ενδομητρίωσης. Στην Ομάδα II περιλαμβάνονται οι γυναίκες **χωρίς** ιστορικό ενδομητρίωσης (*control group*).

Όπως αποτυπώνεται στον Πίνακα 1, οι γυναίκες των προαναφερθέντων ομάδων παρουσιάζουν στατιστικά σημαντικές διαφορές σε ότι αφορά την ηλικία ($p < 0001^*$) και το κάπνισμα ($p < 0001^*$). Αντίθετα δεν παρατηρείται στατιστικά σημαντική διαφορά όσον αφορά στην εμμηνόπαυση, στους τοκετούς, στις αποβολές και στον αριθμό των προσπαθειών εξωσωματικής γονιμοποίησης που προηγήθηκαν που είχαν προηγηθεί, στην εμμηναρχή και στο δείκτη μάζας σώματος (BMI).

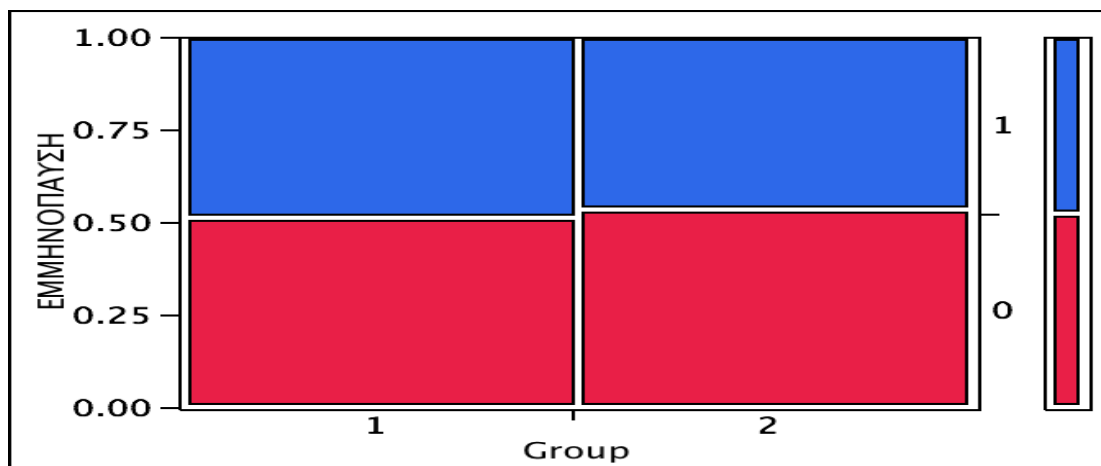
Στο Σχήμα 2 απεικονίζονται οι ομάδες I και II σε σχέση με την εμμηνόπαυση και όπως φαίνεται δεν υπήρξε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ τους. Από την Ομάδα I, 102 από τις 210 γυναίκες βρίσκονταν σε εμμηνόπαυση, ενώ οι υπόλοιπες 108 είχαν τακτικό εμμηνορρυσιακό κύκλο. Από την Ομάδα II (*control group*), 98 γυναίκες βρίσκονταν σε εμμηνόπαυση, ενώ οι υπόλοιπες 112 είχαν τακτικό εμμηνορρυσιακό κύκλο.

Πίνακας 1 : Σύγκριση των δημογραφικών χαρακτηριστικών (μέση τιμή ± τυπικό σφάλμα) των γυναικών των ομάδων I (με ιστορικό ενδομητρίωσης) και II (χωρίς ιστορικό ενδομητρίωσης) που μελετήθηκαν.

	Ομάδα I	Ομάδα II	P value
N	210	210	
Εμμηνόπαυση	102	98	NS
Κάπνισμα	93	88	<.0001*
Ηλικία (χρόνια)	36.019 ± 0.299	42.009 ± 0.372	<.0001*
Τοκετοί	0.255 ± 0.038	0.033 ± 0.048	NS
Αποβολές	0.509 ± 0.057	0.69 ± 0.076	NS
B.M.I (Kgr/m²)	23.462 ± 0.269	24.091 ± 0.276	NS
Εμμηναρχή (ηλικία)	11.957 ± 0.118	11.843 ± 0.093	NS
Προηγούμενες προσπάθειες εξωσωμ. γονιμοποίησης	1.757 ± 0.15	1.733 ± 0.15	NS

NS = στατιστικά μη σημαντική διαφορά

Σχήμα 2 : Εμμηνόπαυση για τις ομάδες I και II



Στον Πίνακα 3 απεικονίζονται και συγκρίνονται οι τιμές των ορμονικών και βιοχημικών παραμέτρων των γυναικών της μελέτης πριν από την έναρξη οποιασδήποτε ορμονικής αγωγής στα πλαίσια της εξωσωματικής γονιμοποίησης (OD). Όπως φαίνεται δεν παρατηρείται στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των δυο ομάδων της μελέτης όσον αφορά στις τιμές LH (mIU/ml) και AMH (pmol/ml), ενώ οι τιμές της FSH(mIU/ml) είναι στατιστικά σημαντικά υψηλότερες στην ομάδα II (control group) σε σχέση με την ομάδα I. Αντίθετα οι τιμές για τη E2(pg/ml), τον CA125(U/ml), την IL-6 (pg/ml) και τον VEGF (pg/ml) είναι στατιστικά σημαντικά υψηλότερες στις γυναίκες της ομάδας I σε σχέση προς τις γυναίκες του control group .

Πίνακας 3 : Σύγκριση ορμονικών και βιοχημικών παραμέτρων (μέση τιμή ± τυπικό σφάλμα) των γυναικών των δυο ομάδων I (με ιστορικό ενδομητρίωσης) και II (χωρίς ιστορικό ενδομητρίωσης) που μελετήθηκαν.

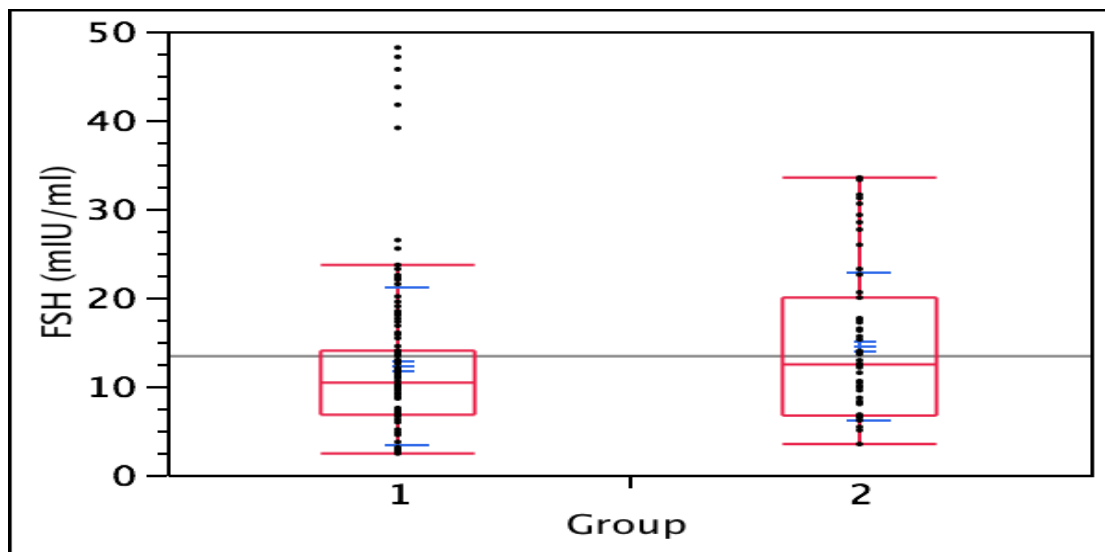
	Ομάδα I	Ομάδα II	P value
FSH (mIU/ml)	12.214 ± 0.621	14.519 ± 0.575	0.0067*
LH (mIU/ml)	8.437 ± 0.419	9.207 ± 0.337	NS
E2 (pg/ml)	38.261 ± 1.475	28.485 ± 1.266	<.0001*
CA125 (U/ml)	43.618 ± 3.115	14.199 ± 0.494	0.0000*
IL-6 (pg/ml)	164.589 ± 4.671	98.977 ± 3.711	0.0000*
VEGF (pg/ml)	982.107 ± 34.738	237.784 ± 15.453	0.0000*
AMH (pmol/ml)	3.758 ± 0.140	3.734 ± 0.102	NS

NS = στατιστικά μη σημαντική διαφορά

Τα επίπεδα των FSH (mIU/ml), LH (mIU/ml), E2 (pg/ml), CA125 (U/ml), IL6 (pg/ml), VEGF (pg/ml) και της AMH (pmol/ml), για τις ομάδες I και II απεικονίζονται στα Σχήματα 4, 5, 6, 7, 8, 9 και 10 αντίστοιχα.

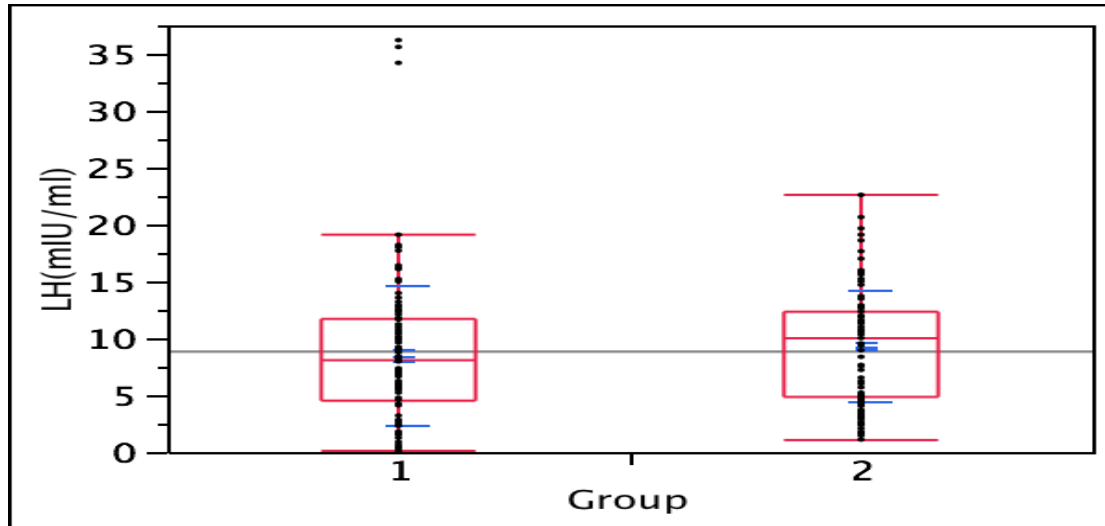
Σχήμα 4 : FSH (mIU/ml) για τις ομάδες I και II

Στον παρακάτω πίνακα φαίνεται η σύγκριση των τιμών της FSH (mIU/ml) για τις δυο ομάδες I και II, όπου φαίνεται ότι **υπάρχει σημαντική διαφορά**.



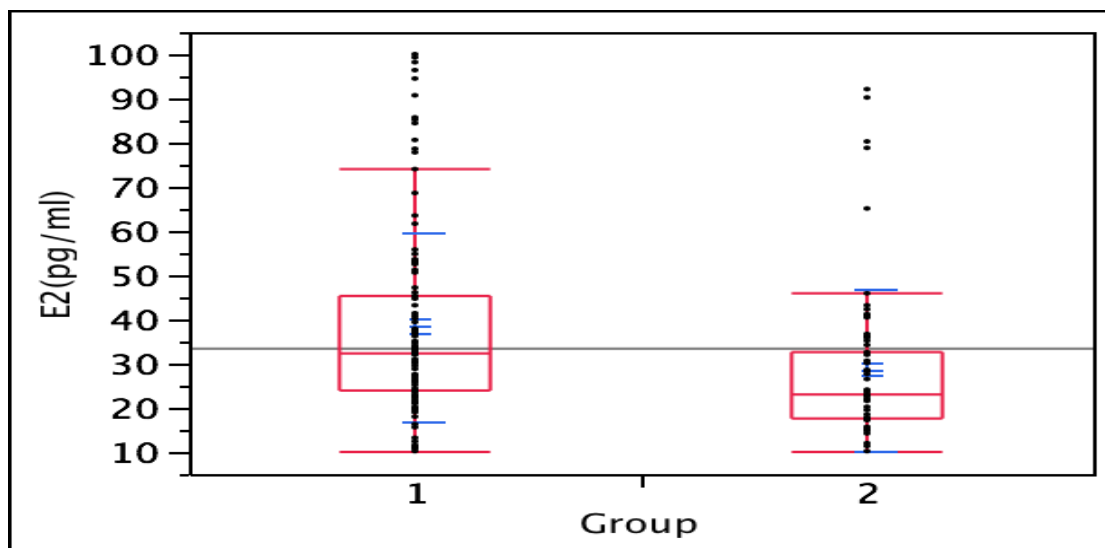
Σχήμα 5: LH (mIU/ml) για τις ομάδες I και II

Στον παρακάτω πίνακα φαίνεται η σύγκριση των τιμών της LH (mIU/ml) για τις δυο ομάδες, όπου φαίνεται ότι **δεν υπάρχει σημαντική διαφορά**.



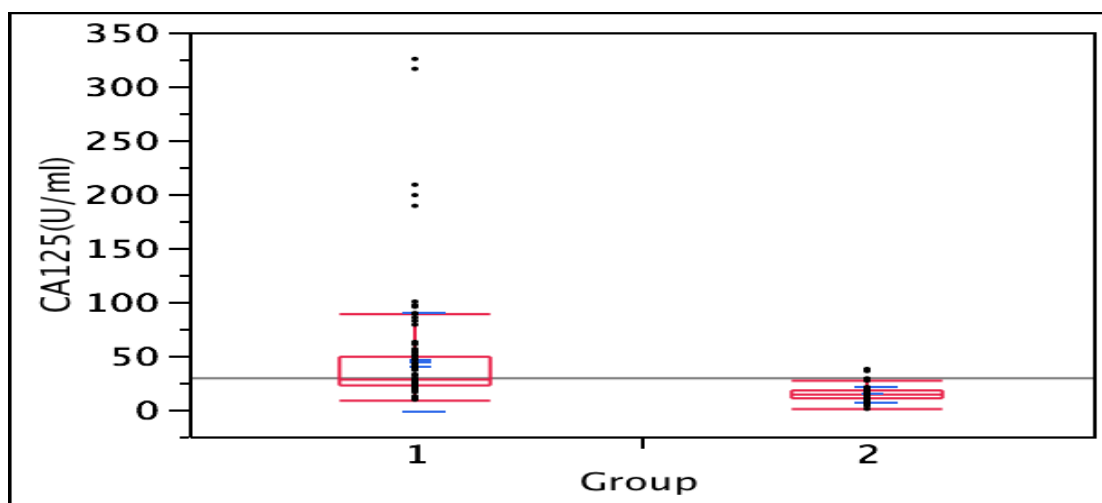
Σχήμα 6 : E2 (pg/ml) για τις ομάδες I και II

Στον παρακάτω πίνακα φαίνεται η σύγκριση των τιμών της E2 (pg/ml) για τις δυο ομάδες, όπου φαίνεται ότι **υπάρχει σημαντική διαφορά**.



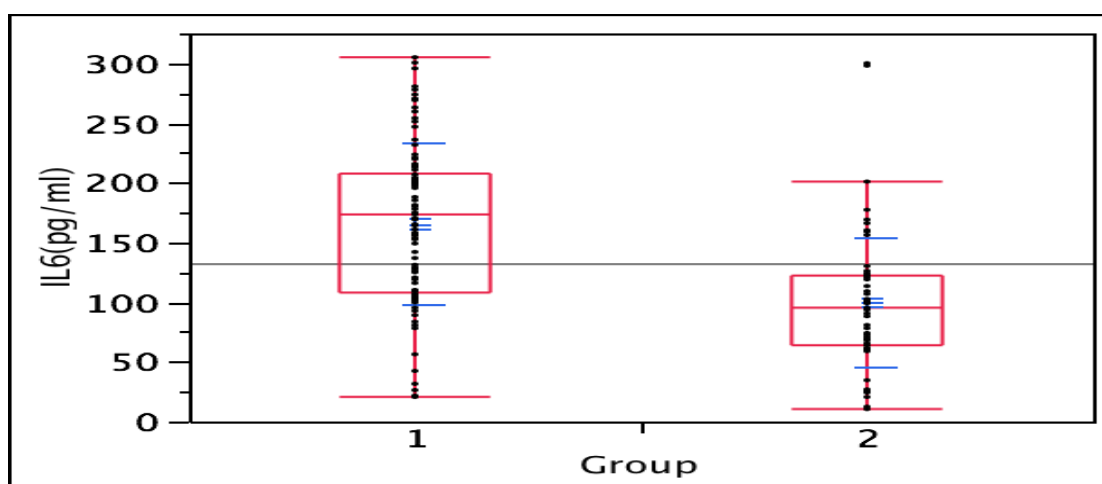
Σχήμα 7 : CA125 (U/ml) για τις ομάδες I και II

Στον παρακάτω πίνακα φαίνεται η σύγκριση των τιμών του CA125 (U/ml) για τις δυο ομάδες, όπου φαίνεται ότι **υπάρχει σημαντική διαφορά**.



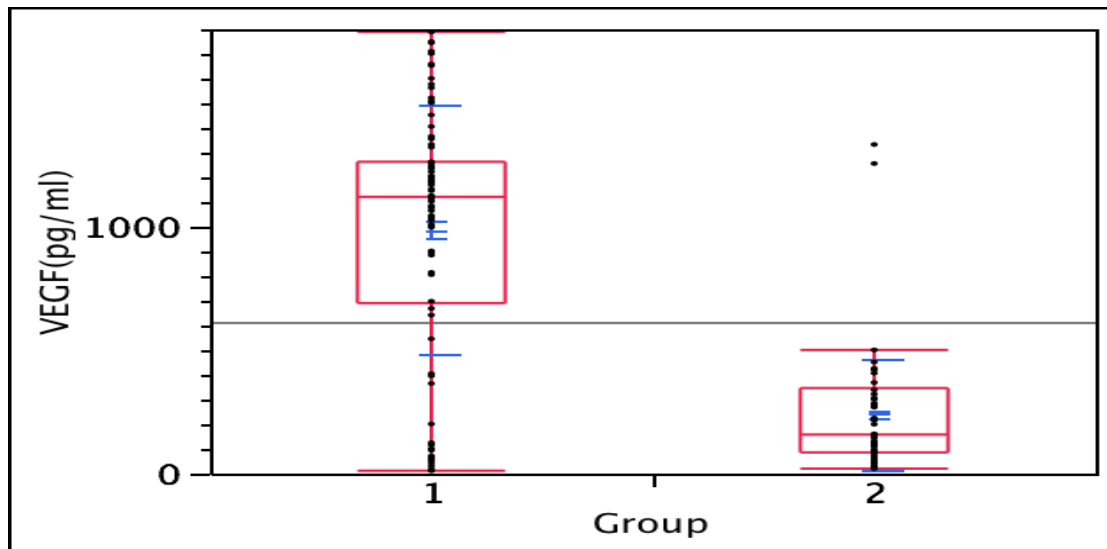
Σχήμα 8 : IL6 (pg/ml) για τις ομάδες I και II

Στον παρακάτω πίνακα φαίνεται η σύγκριση των τιμών του IL6 (pg/ml) για τις δυο ομάδες, όπου φαίνεται ότι **υπάρχει σημαντική διαφορά**.



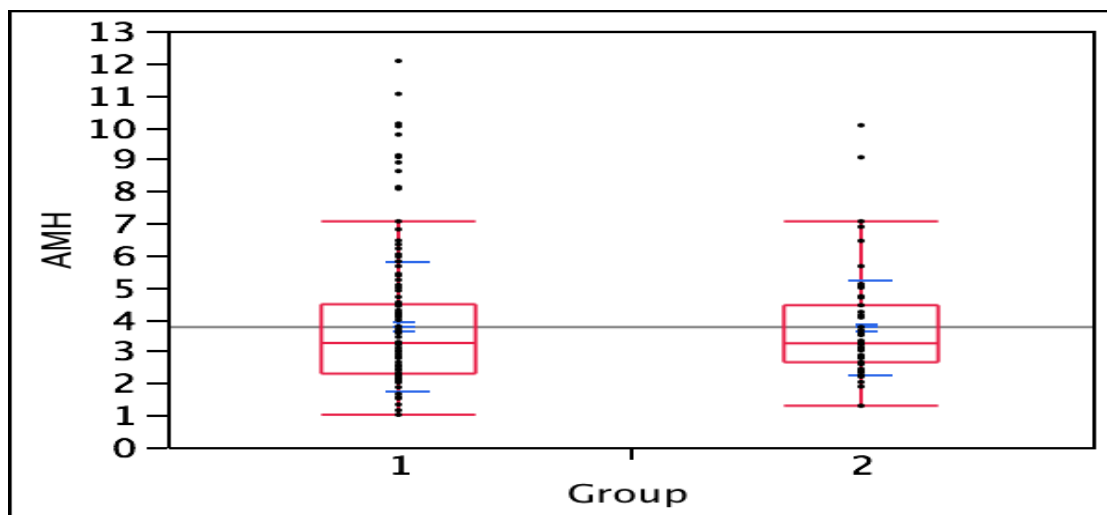
Σχήμα 9 : VEGF (pg/ml) για τις ομάδες I και II

Στον παρακάτω πίνακα φαίνεται η σύγκριση των τιμών της VEGF(pg/ml) για τις δυο ομάδες, όπου φαίνεται ότι **υπάρχει σημαντική διαφορά**.



Σχήμα 10 : AMH (pmol/ml) για τις ομάδες I και II

Στον παρακάτω πίνακα φαίνεται η σύγκριση των τιμών της AMH (pmol/ml) για τις δυο ομάδες, όπου φαίνεται ότι **δεν υπάρχει σημαντική διαφορά**.



Εργαστηριακά δεδομένα και κλινικά αποτελέσματα των κύκλων δωρεάς ωαρίων στις γυναίκες της μελέτης

Όπως καταγράφεται στον Πίνακά 11 δεν υφίσταται στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των δυο ομάδων της μελέτης όσον αφορά στον αριθμό ωαρίων ($p=0.139$), τον αριθμό των MII ωαρίων ($p=0.059$), τον αριθμό 2PN ($p=0.076$), το 2PN scoring ($p=0.016$), το cleavage rate ($p=0.033$), τον αριθμό των εμβρύων που μεταφέρθηκαν ($p=0.118$) και το score των εμβρύων ($p=0.125$) στις γυναίκες της μελέτης μας.

Όμως τα κλινικά αποτελέσματα της μελέτης είναι στατιστικά σημαντικά υψηλότερα στις γυναίκες του control group σε σχέση προς τις αντίστοιχες της ομάδας I (Bhcg $p<0.0001^*$, κλινική εγκυμοσύνη $p<0.0001^*$, βιοχημικές εγκυμοσύνες $p<0.0001^*$, ποσοστό εμφύτευσης (implantation rate) $p<0.0001^*$, ongoing pregnancy rate $p<0.0001^*$ και το live birth rate $p<0.0001^*$). Δεν υπήρξε ωστόσο στατιστικά σημαντική διαφορά για το για τις ομάδες I και II αντίστοιχα, για το ποσοστό αποβολής (miscarriage rate) ($p=0.0041$).

Εργαστηριακά δεδομένα και κλινικά αποτελέσματα

Πίνακας 11 : Σύγκριση εργαστηριακών και κλινικών παραμέτρων (μέση τιμή ± τυπικό σφάλμα) των γυναικών των ομάδων I (με ιστορικό ενδομητρίωσης) και II (χωρίς ιστορικό ενδομητρίωσης) που μελετήθηκαν.

	Ομάδα I	Ομάδα II	P value
Αριθμός ωαρίων	8.203 ± 0.452	8.135 ± 0.487	0.139
Αριθμός MII ωαρίων	7.229 ± 0.461	7.338 ± 0.694	0.059
Αριθμός 2PN	4.662 ± 0.403	5.757 ± 0.660	0.076
2PN scoring	0.641 ± 0.057	0.658 ± 0.084	0.016
Cleavage rate	0.814 ± 0.093	0.835 ± 0.108	0.033
Αριθμός εμβρύων ET	2.071 ± 0.086	2.125 ± 0.491	0.118
Score εμβρύων	1.644 ± 0.161	1.617 ± 0.197	0.125
Bhcg	107/210(50.9%)	164/210(78.1%)	<.0001*
Κλινική εγκυμοσύνη	0.567 ± 0.058	0.928 ± 0.057	<.0001*
Βιοχημική εγκυμοσύνη	0.129 ± 0.024	0.157 ± 0.028	<.0001*
Implantation rate	0.210 ± 0.022	0.379 ± 0.025	<.0001*
Miscarriage rate	18(8.57%)	38(18.10%)	0.0041
On going pregnancy rate	0.467 ± 0.055	0.748 ± 0.056	<.0001*
Live birth rate	89/210 (42.38%)	126/210 (60%)	<.0001*

NS = στατιστικά μη σημαντική διαφορά

7.2 Εμμηνορρυσιακές (Ομάδα III) vs εμμηνοπαυσιακές (Ομάδα IV) σε OD με ιστορικό ενδομητρίωσης

Δημογραφικά και κλινικά χαρακτηριστικά των γυναικών

Στην προσπάθειά μας να διερευνήσουμε την επίδραση της εμμηνόπαυσης στα ποσοστά επίτευξης εγκυμοσύνης σε OD κύκλους γυναικών με ιστορικό ενδομητρίωσης, διαχωρίσαμε τις γυναίκες αυτές σε δύο ομάδες με βάση την ύπαρξη ή όχι εμμηνόπαυσης. Έτσι στην ομάδα III τοποθετήθηκαν οι γυναίκες εμμηνορρυσιακές με ιστορικό ενδομητρίωσης, ενώ στην ομάδα IV τοποθετήθηκαν γυναίκες εμμηνοπαυσιακές με ιστορικό ενδομητρίωσης.

Όπως φαίνεται στον Πίνακα 12 οι εμμηνοπαυσιακές γυναίκες ήταν μεγαλύτερης ηλικίας ($p < 0.0087^*$) και είχαν περισσότερους τοκετούς στο ιστορικό τους ($p = 0.0471^*$). Όλες οι άλλες παράμετροι όπως κάπνισμα, αποβολές που είχαν προηγηθεί, εμμηναρχή, BMI, καθώς και οι προηγούμενες προσπάθειες εξωσωματικής γονιμοποίησης δεν διαφέρουν στατιστικά σημαντικά μεταξύ των δυο συγκρινόμενων ομάδων.

Πίνακας 12 : Σύγκριση των δημογραφικών χαρακτηριστικών (μέση τιμή ± τυπικό σφάλμα) των γυναικών των ομάδων III (ιστορικό ενδομητρίωσης και όχι σε εμμηνόπαυση) και IV (ιστορικό ενδομητρίωσης και σε εμμηνόπαυση) που μελετήθηκαν.

	Ομάδα III	Ομάδα IV	P value
N	108	102	
Ηλικία (χρόνια)	35.259 ± 0.396	36.823 ± 0.438	0.0087*
Κάπνισμα	52	41	NS
Τοκετοί	0.179 ± 0.037	0.333 ± 0.067	0.0471*
Αποβολές	0.491 ± 0.083	0.529 ± 0.079	NS
B.M.I (Kgr/m²)	23.547 ± 0.377	23.372 ± 0.387	NS
Εμμηναρχή	11.917 ± 0.161	12.000 ± 0.175	NS
Προηγούμενες προσπάθειες εξωσωμ. γονιμοποίησης	1.602 ± 0.194	1.398 ± 0.160	NS

NS = στατιστικά μη σημαντική διαφορά

Στον Πίνακα 13 αναφέρονται και συγκρίνονται τα επίπεδα στο αίμα των ορμονικών και βιοχημικών παραμέτρων των γυναικών των Ομάδων III και IV. Η στατιστική ανάλυση των παραμέτρων αυτών δείχνει ότι δεν υπάρχει σημαντική διαφορά σε ότι αφορά την LH (mIU/ml), την E2 (pg/ml), το CA125(U/ml) και την AMH (pmol/ml). Αντίθετα οι μέσες τιμές FSH (mIU/ml) (13.505 ± 0.855 έναντι 10.995 ± 0.887 , $p=0.0428^*$), IL6 (pg/ml) (191.756 ± 5.890 έναντι 138.930 ± 6.266 , $p < .0001^*$) και του VEGF (pg/ml) (1170.84 ± 36.129 έναντι 803.86 ± 52.992 , $p < 0.0001^*$) είναι σημαντικά υψηλότερες στις εμμηνοπαυσιακές γυναίκες (ομάδα IV) σε σχέση προς τις εμμηνορρυσιακές (ομάδα III).

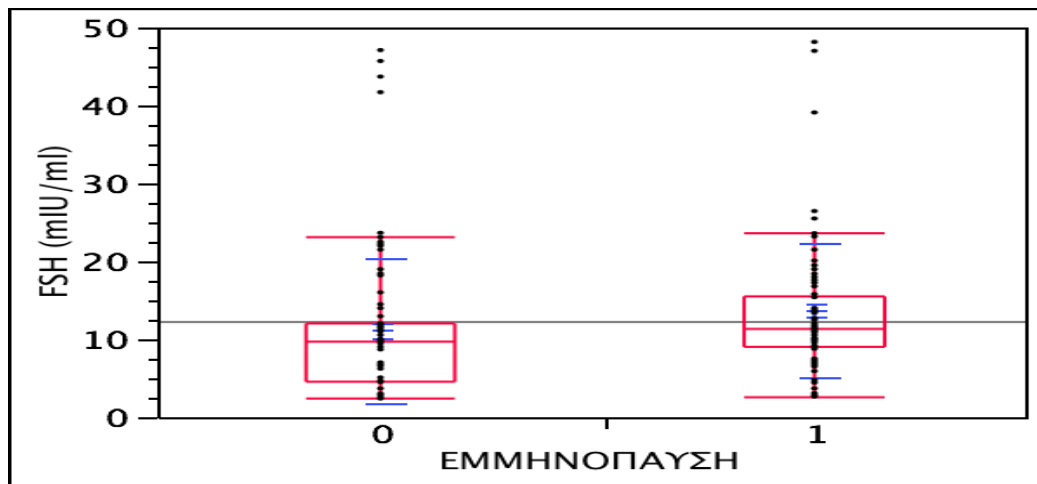
Πίνακας 13 : Σύγκριση ορμονικών και βιοχημικών παραμέτρων (μέση τιμή \pm τυπικό σφάλμα) των γυναικών των δυο ομάδων III (ιστορικό ενδομητρίωσης και όχι εμμηνόπαυση) και IV (ιστορικό ενδομητρίωσης και σε εμμηνόπαυση) που μελετήθηκαν.

	Ομάδα III	Ομάδα IV	P value
FSH (mIU/ml)	10.995 ± 0.887	13.505 ± 0.855	0.0428*
LH (mIU/ml)	7.653 ± 0.689	9.267 ± 0.449	NS
E2 (pg/ml)	39.337 ± 2.142	37.123 ± 2.025	NS
CA125 (U/ml)	41.218 ± 4.666	46.159 ± 4.099	NS
IL-6 (pg/ml)	138.930 ± 6.266	191.756 ± 5.890	<.0001*
VEGF (pg/ml)	803.86 ± 52.992	1170.84 ± 36.129	<.0001*
AMH (pmol/ml)	3.498 ± 0.213	4.033 ± 0.178	NS

NS = στατιστικά μη σημαντική διαφορά

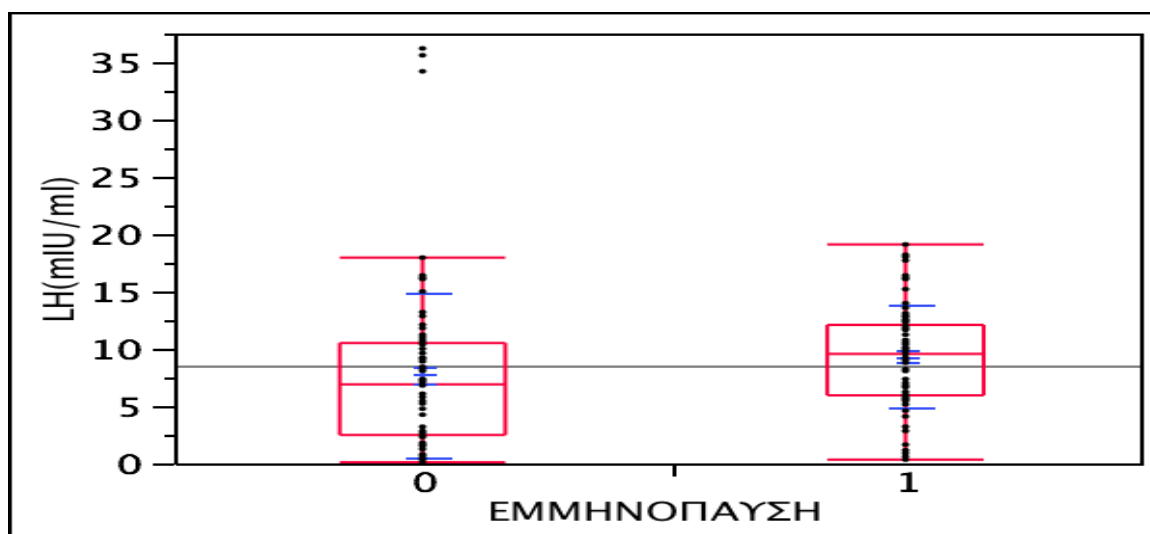
Σχήμα 14 : FSH (mIU/ml) για τις ομάδες III και IV

Στον παρακάτω πίνακα φαίνεται η σύγκριση των τιμών της FSH (mIU/ml) για τις δυο ομάδες III και IV, όπου φαίνεται ότι **υπάρχει σημαντική διαφορά**.



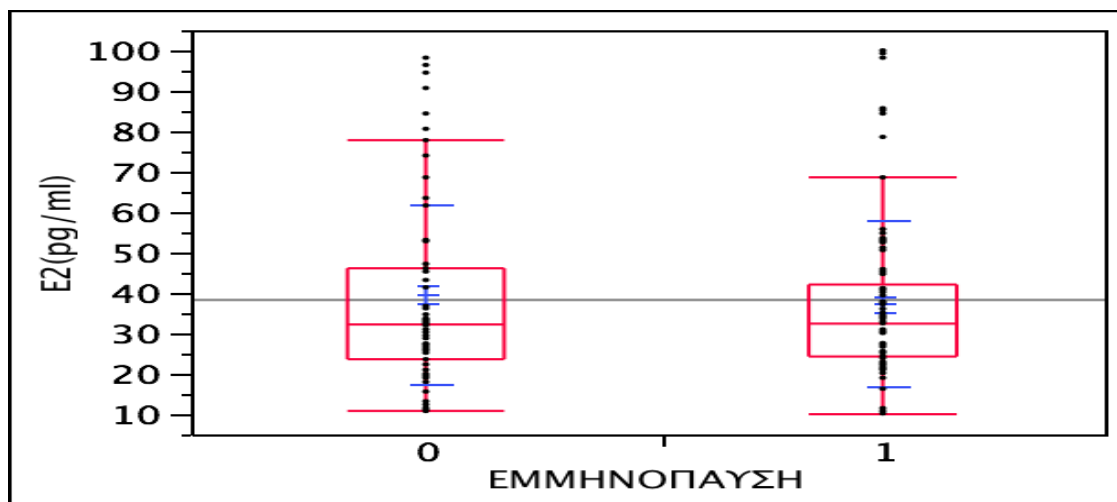
Σχήμα 15 : LH (mIU/ml) για τις ομάδες III και IV

Στον παρακάτω πίνακα φαίνεται η σύγκριση των τιμών της LH (mIU/ml) για τις δυο ομάδες, όπου φαίνεται ότι **δεν υπάρχει σημαντική διαφορά**.



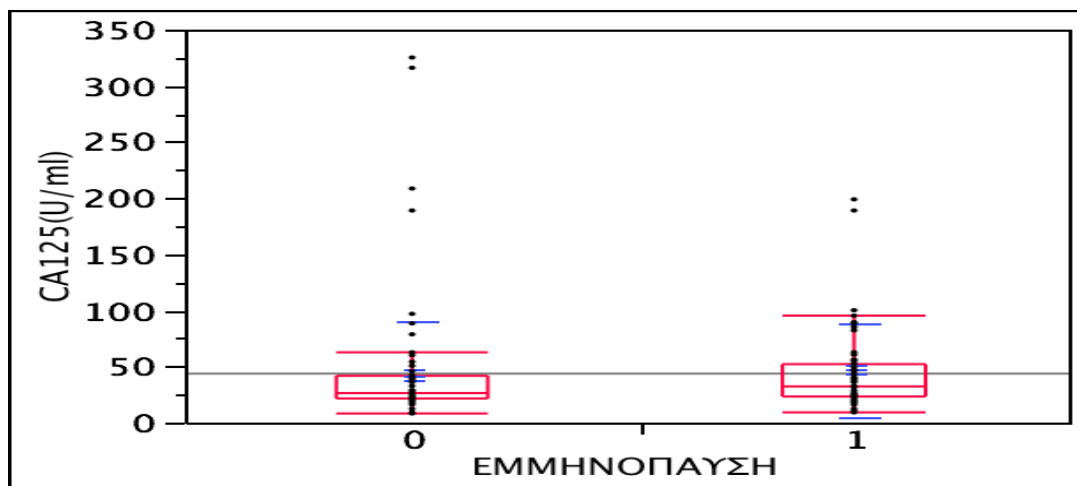
Σχήμα 16 : E2 (pg/ml) για τις ομάδες III και IV

Στον παρακάτω πίνακα φαίνεται η σύγκριση των τιμών της E2 (pg/ml) για τις δυο ομάδες, όπου φαίνεται ότι **δεν υπάρχει σημαντική διαφορά**.



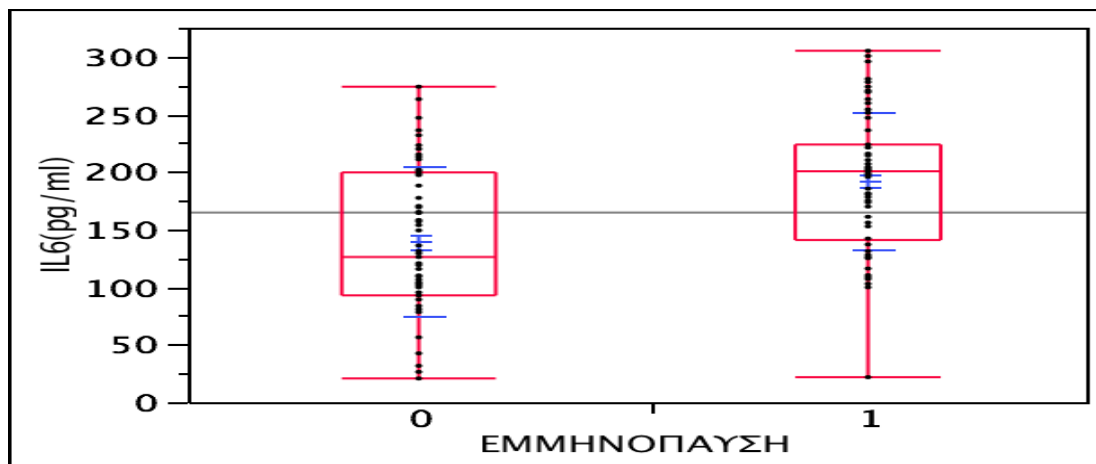
Σχήμα 17 : CA125 (U/ml) για τις ομάδες III και IV

Στον παρακάτω πίνακα φαίνεται η σύγκριση των τιμών του CA125 (U/ml) για τις δυο ομάδες, όπου φαίνεται ότι **δεν υπάρχει σημαντική διαφορά**.



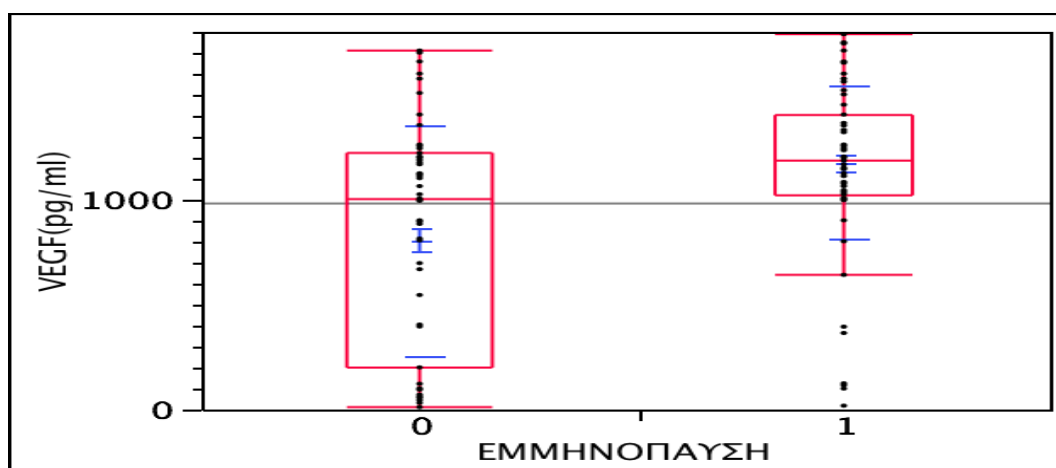
Σχήμα 18 : IL6 (pg/ml) για τις ομάδες III και IV

Στον παρακάτω πίνακα φαίνεται η σύγκριση των τιμών του IL6 (pg/ml) για τις δυο ομάδες, όπου φαίνεται ότι **υπάρχει σημαντική διαφορά**.



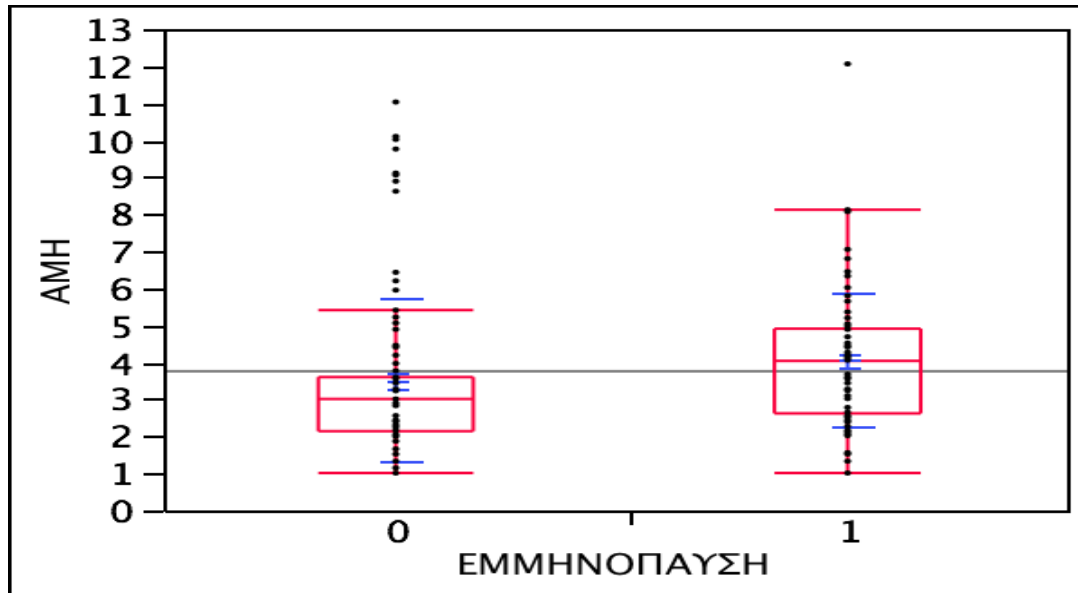
Σχήμα 19 : VEGF (pg/ml) για τις ομάδες III και IV

Στον παρακάτω πίνακα φαίνεται η σύγκριση των τιμών της VEGF(pg/ml) για τις δυο ομάδες, όπου φαίνεται ότι **υπάρχει σημαντική διαφορά**.



Σχήμα 20 : AMH (ρmol/ml) για τις ομάδες III και IV

Στον παρακάτω πίνακα φαίνεται η σύγκριση των τιμών της AMH (ρmol/ml) για τις δυο ομάδες, όπου φαίνεται ότι **δεν υπάρχει σημαντική διαφορά**.



Σε ότι αφορά τα εργαστηριακά και κλινικά δεδομένα όπως φαίνονται στον Πίνακά 21, παρατηρούμε ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά όσον αφορά στον αριθμό των ωαρίων (8.151 ± 0.606 έναντι 7.990 ± 0.682), τον αριθμό των MII ωαρίων (7.212 ± 0.582 έναντι 7.069 ± 0.722), τον αριθμό 2PN (4.864 ± 0.605 έναντι 5.009 ± 0.758), το 2PN scoring (0.684 ± 0.281 έναντι 0.752 ± 0.310), το cleavage rate (0.857 ± 0.037 έναντι 0.873 ± 0.087), τον αριθμό των μεταφερόμενων εμβρύων (1.956 ± 0.195 έναντι 2.003 ± 0.214), το score των εμβρύων (1.850 ± 0.196 έναντι 1.910 ± 0.278), τη Bhcg (251.250 ± 43.733 έναντι 307.471 ± 45.883), την κλινική εγκυμοσύνη (0.509 ± 0.075 έναντι 0.627 ± 0.089), τη βιοχημική εγκυμοσύνη (0.111 ± 0.030 έναντι 0.169 ± 0.035), το ρυθμό εμφύτευσης (implantation rate) (0.199 ± 0.029 έναντι 0.222 ± 0.033), το ρυθμό αποβολών (miscarriage rate) (9 έναντι 9), το on going pregnancy rate (0.426 ± 0.075 έναντι 0.509 ± 0.082) και το live birth rate (0.954 ± 0.026 έναντι 0.931 ± 0.026) μεταξύ της Ομάδας III και IV.

Εργαστηριακά δεδομένα και κλινικά αποτελέσματα

Πίνακας 21 : Σύγκριση εργαστηριακών και κλινικών παραμέτρων (μέση τιμή ± τυπικό σφάλμα) των γυναικών των δυο ομάδων III (ιστορικό ενδομητρίωσης και όχι εμμηνόπαυση) και IV (ιστορικό ενδομητρίωσης και σε εμμηνόπαυση) που μελετήθηκαν.

	Ομάδα III	Ομάδα IV	P value
Αριθμός ωαρίων	8.151 ± 0.606	7.990 ± 0.682	NS
Αριθμός MII ωαρίων	7.212 ± 0.582	7.069 ± 0.722	NS
Αριθμός 2PN	4.864 ± 0.605	5.009 ± 0.758	NS
2PN scoring	0.684±0.281	0.752 ± 0.310	NS
Cleavage rate	0.857 ± 0.037	0.873 ± 0.087	NS
Αριθμός εμβρύων ET	1.956 ± 0.195	2.003 ± 0.214	NS
Score εμβρύων	1.850 ± 0.196	1.910 ± 0.278	NS
Bhcg	59/108(54.6%)	54/102(52.9%)	NS
Κλινική εγκυμοσύνη	0.509 ± 0.075	0.627 ± 0.089	NS
Βιοχημική εγκυμοσύνη	0.111 ± 0.030	0.169±0.035	NS
Implantation rate	0.199 ± 0.029	0.222 ± 0.033	NS
Miscarriage rate	9	9	NS
On going pregnancy rate	0.426 ± 0.075	0.509 ± 0.082	NS
Live birth rate	0.954 ± 0.026	0.931 ± 0.026	NS

NS = στατιστικά μη σημαντική διαφορά

7.3 Εμμηνορρυσιακές (Ομάδα V) vs εμμηνοπαυσιακές (Ομάδα VI) σε OD χωρίς ιστορικό ενδομητρίωσης

Δημογραφικά και κλινικά χαρακτηριστικά των γυναικών

Στον Πίνακα 22 αναφέρονται και συγκρίνονται τα δημογραφικά στοιχεία των γυναικών που μελετήθηκαν. Στην Ομάδα V περιλαμβάνονται *εμμηνορρυσιακές γυναίκες χωρίς ιστορικό ενδομητρίωσης*. Στην Ομάδα VI περιλαμβάνονται *εμμηνοπαυσιακές γυναίκες χωρίς ιστορικό ενδομητρίωσης*.

Όπως φαίνεται στον Πίνακα 22, οι εμμηνοπαυσιακές γυναίκες της μελέτης (group VI) παρουσιάζουν μεγαλύτερη ηλικία ($p < 0001^*$), μεγαλύτερο αριθμό προηγθεισών αποβολών ($p = 0.0111^*$) και υψηλότερο BMI ($p = 0.0028^*$), σε σχέση με την ομάδα των εμμηνορρυσιακών γυναικών (group V), ενώ δεν υπάρχει διαφορά όσον αφορά το κάπνισμα, τους προηγούμενους τοκετούς, την ηλικία εμμηναρχής και προηγθεισες προσπάθειες εξωσωματικής γονιμοποίησης μεταξύ των συγκρινομένων ομάδων.

Πίνακας 22 : Σύγκριση των δημογραφικών χαρακτηριστικών (μέση τιμή ± τυπικό σφάλμα) των γυναικών των ομάδων V (χωρίς ιστορικό ενδομητρίωσης και όχι σε εμμηνόπαυση) και VI (χωρίς ιστορικό ενδομητρίωσης και σε εμμηνόπαυση) που μελετήθηκαν.

	Ομάδα V	Ομάδα VI	P value
N	112	98	
Ηλικία (χρόνια)	36.824 ± 0.438	45.684 ± 0.274	<.0001*
Κάπνισμα	41	50	NS
Τοκετοί	0.333 ± 0.067	0.265 ± 0.061	NS
Αποβολές	0.529 ± 0.079	0.949 ± 0.142	0.0111*
B.M.I (Kgr/m²)	23.373 ± 0.387	25.225 ± 0.472	0.0028*
Εμμηναρχή	12.000 ± 0.175	11.622 ± 0.109	NS
Προηγούμενες προσπάθειες εξωσωμ. γονιμοποίησης	1.922 ± 0.233	2.102 ± 0.258	NS

NS = στατιστικά μη σημαντική διαφορά

Στον Πίνακα 23 αναφέρονται και συγκρίνονται οι τιμές των ορμονικών και βιοχημικών παραμέτρων μεταξύ των γυναικών των Ομάδων V και VI. Όπως φαίνεται στον πίνακα 23 δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά όσον αφορά στις τιμές της AMH (pmol/ml). Σημαντικά υψηλότερες ήταν οι τιμές της FSH (mIU/ml) ($p<.0001^*$) και της LH (mIU/ml) ($p=0.0202^*$) στις γυναίκες της Ομάδας VI σε σχέση με τις αντίστοιχες της Ομάδας V. Αντίθετα, σημαντικά υψηλότερες ήταν οι μέσες τιμές της E2(pg/ml) ($p<.0001^*$), του CA125(U/ml) ($p<.0001^*$), της IL6 (pg/ml) ($p =0.0000^*$) και του VEGF(pg/ml) ($p= 0.0000^*$) στις γυναίκες της Ομάδας V σε σχέση προς τις γυναίκες της Ομάδας VI.

Πίνακας 23 : Σύγκριση ορμονικών και βιοχημικών παραμέτρων (μέση τιμή \pm τυπικό σφάλμα) των γυναικών των δυο ομάδων V (χωρίς ιστορικό ενδομητρίωσης και όχι σε εμμηνόπαυση) και VI (χωρίς ιστορικό ενδομητρίωσης και σε εμμηνόπαυση) που μελετήθηκαν.

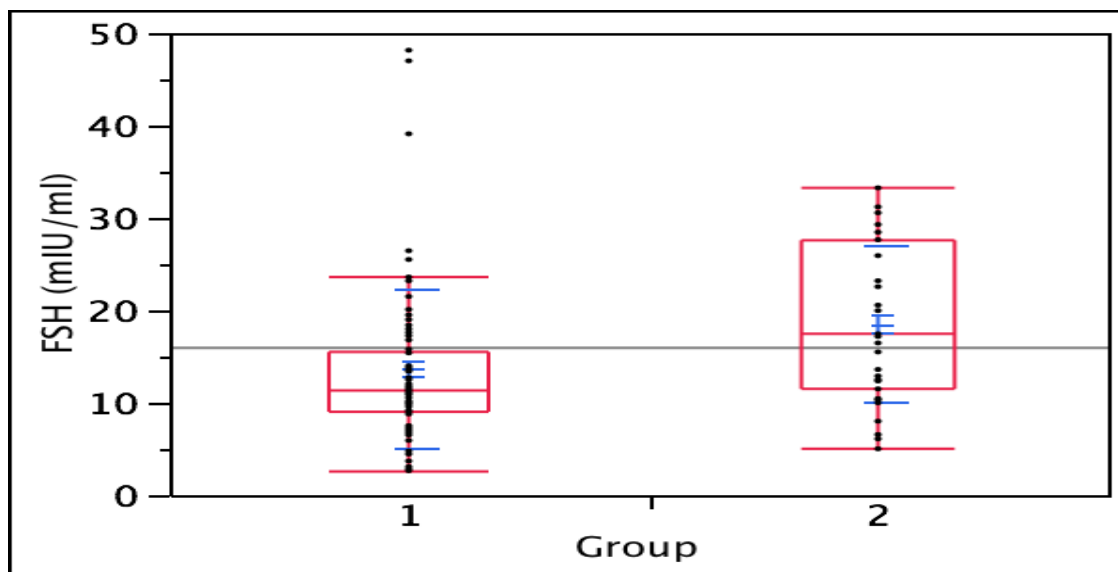
	Ομάδα V	Ομάδα VI	P value
FSH (mIU/ml)	13.505 \pm 0.855	18.463 \pm 0.848	<.0001*
LH (mIU/ml)	9.267 \pm 0.449	10.823 \pm 0.489	0.0202*
E2 (pg/ml)	37.123 \pm 2.025	20.342 \pm 0.872	<.0001*
CA125 (U/ml)	46.159 \pm 4.099	15.128 \pm 0.588	<.0001*
IL-6 (pg/ml)	191.756 \pm 5.891	94.139 \pm 4.385	0.0000*
VEGF (pg/ml)	1170.84 \pm 36129	209.77 \pm 12.919	0.0000*
AMH (pmol/ml)	4.033 \pm 0.178	3.907 \pm 0.147	NS

NS = στατιστικά μη σημαντική διαφορά

Στα σχήματα 24, 25, 26, 27, 28, 29 και 30 φαίνονται οι προαναφερθείσες διαφορές όσον αφορά στα επίπεδα ορμονικών και βιοχημικών παραγόντων μεταξύ των εμμηνορρυσιακών και εμμηνοπαυσιακών γυναικών χωρίς ιστορικό ενδομητρίωσης.

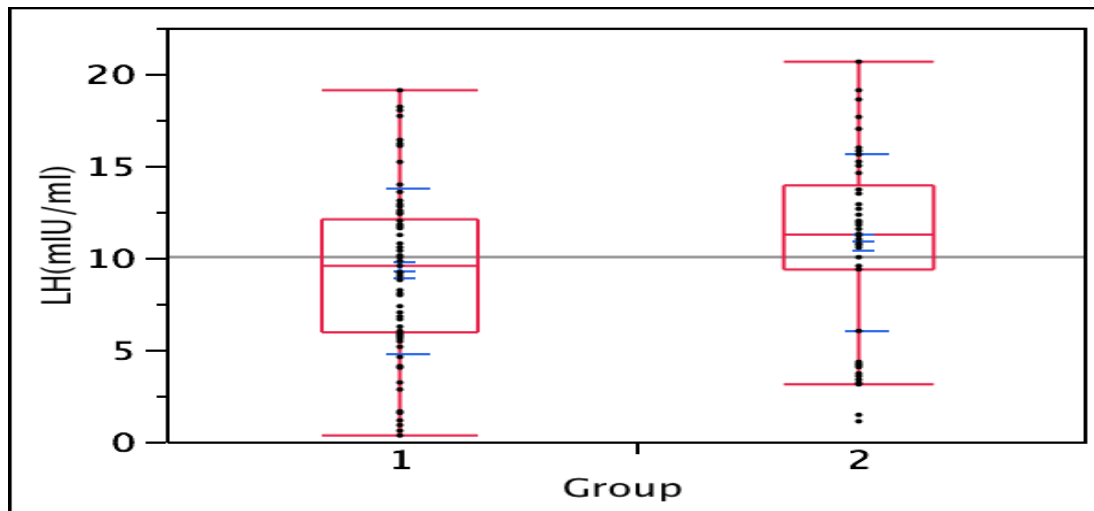
Σχήμα 24 : FSH (mIU/ml) για τις ομάδες V και VI

Στον παρακάτω πίνακα φαίνεται η σύγκριση των τιμών της FSH (mIU/ml) για τις δυο ομάδες, όπου φαίνεται ότι **υπάρχει σημαντική διαφορά.**



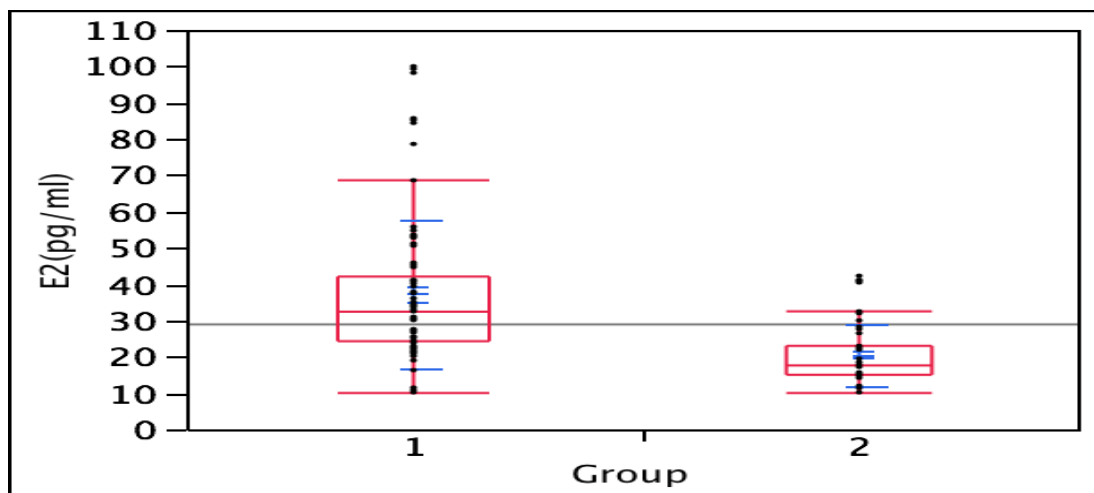
Σχήμα 25 : LH (mIU/ml) για τις ομάδες V και VI

Στον παρακάτω πίνακα φαίνεται η σύγκριση των τιμών της LH (mIU/ml) για τις δυο ομάδες, όπου φαίνεται ότι **υπάρχει σημαντική διαφορά**.



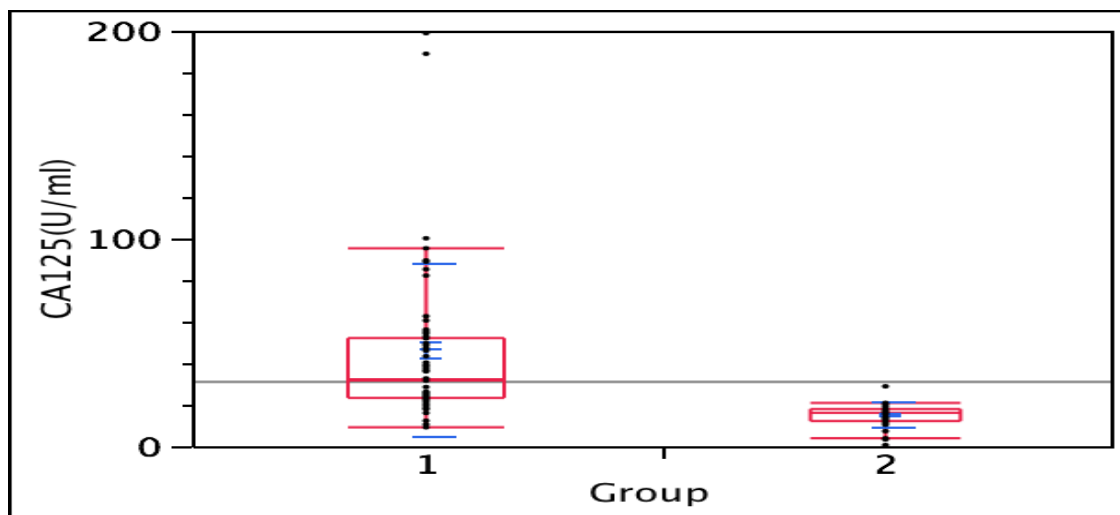
Σχήμα 26 : E2 (pg/ml) για τις ομάδες V και VI

Στον παρακάτω πίνακα φαίνεται η σύγκριση των τιμών της E2 (pg/ml) για τις δυο ομάδες, όπου φαίνεται ότι **υπάρχει σημαντική διαφορά**.



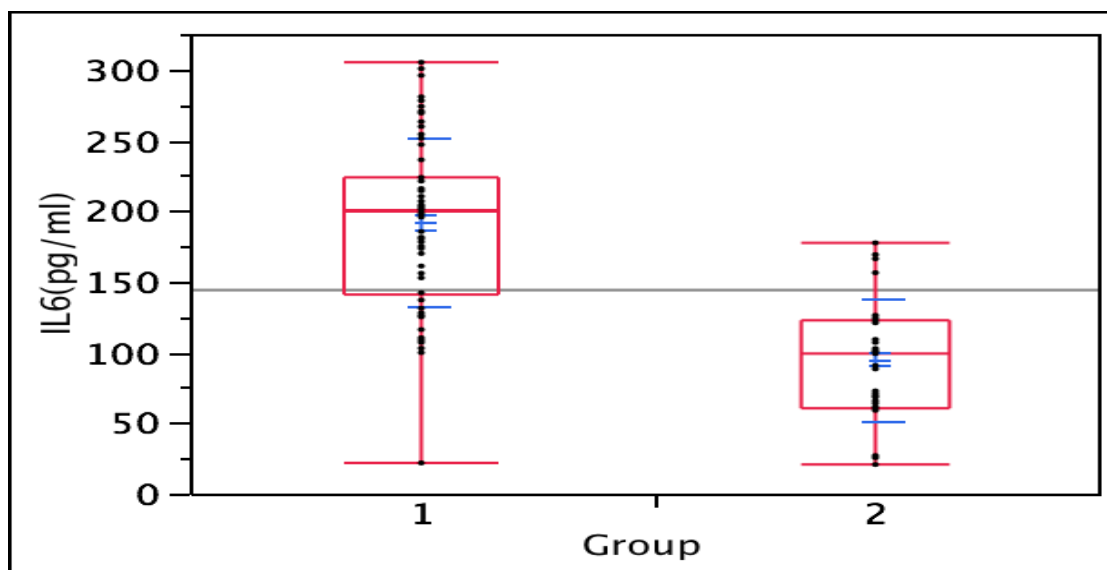
Σχήμα 27 : CA125 (U/ml) για τις ομάδες V και VI

Στον παρακάτω πίνακα φαίνεται η σύγκριση των τιμών του CA125(U/ml) για τις δυο ομάδες, όπου φαίνεται ότι **υπάρχει σημαντική διαφορά**.



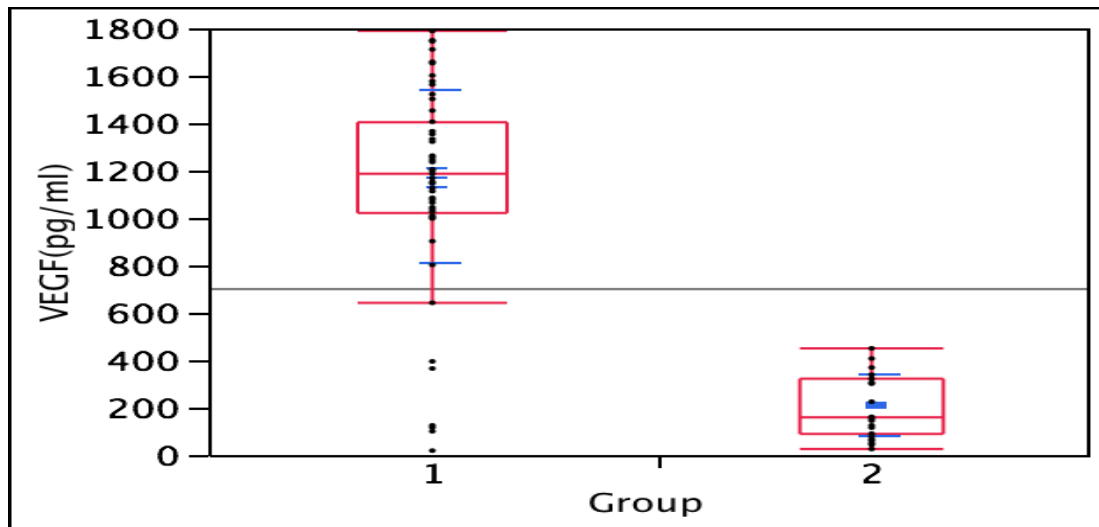
Σχήμα 28 : IL6 (pg/ml) για τις ομάδες V και VI

Στον παρακάτω πίνακα φαίνεται η σύγκριση των τιμών του IL6(pg/ml) για τις δυο ομάδες, όπου φαίνεται ότι **υπάρχει σημαντική διαφορά**.



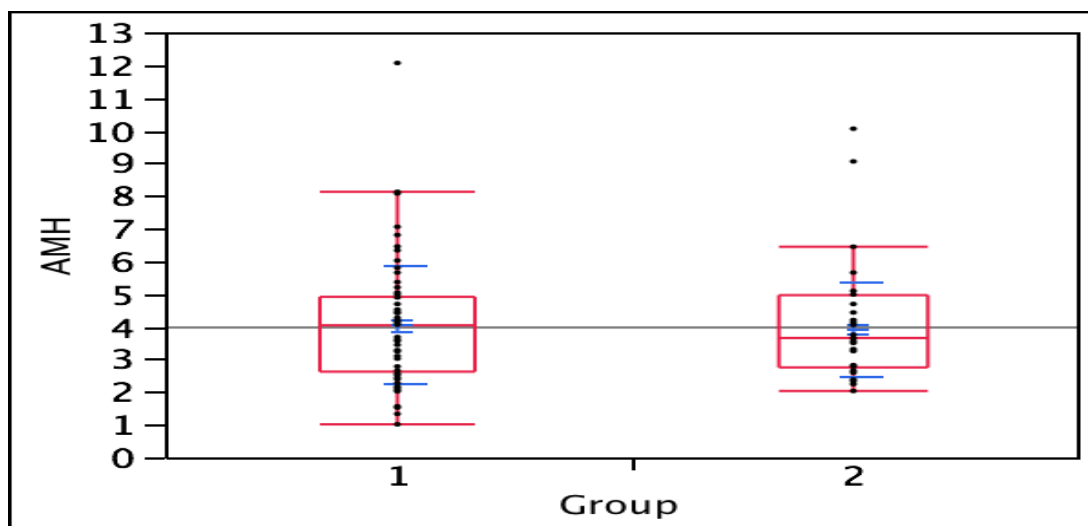
Σχήμα 29 : VEGF (pg/ml) για τις ομάδες V και VI

Στον παρακάτω πίνακα φαίνεται η σύγκριση των τιμών της VEGF(pg/ml) για τις δυο ομάδες, όπου φαίνεται ότι **υπάρχει σημαντική διαφορά**.



Σχήμα 30 : AMH (pmol/ml) για τις ομάδες V και VI

Στον παρακάτω πίνακα φαίνεται η σύγκριση των τιμών της AMH (pmol/ml) για τις δυο ομάδες, όπου φαίνεται ότι **δεν υπάρχει σημαντική διαφορά**.



Σε ότι αφορά στα εργαστηριακά και κλινικά δεδομένα όπως φαίνονται στον Πίνακά 31, παρατηρούμε ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά στον αριθμό των ωαρίων (8.692 ± 1.482 έναντι 9.043 ± 1.198), τον αριθμό MII ωαρίων (7.869 ± 0.872 έναντι 8.188 ± 1.384), τον αριθμό 2PN εμβρύων (5.509 ± 0.958 έναντι 5.716 ± 0.714), το 2PN scoring (0.732 ± 0.127 έναντι 0.711 ± 0.122), το cleavage rate (0.873 ± 0.137 έναντι 0.917 ± 0.190), τον αριθμό των μεταφερόμενων εμβρύων (2.353 ± 0.292 έναντι 2.473 ± 0.552), το score των εμβρύων (1.971 ± 0.708 έναντι 1.773 ± 0.983), τη Bhcg (307.471 ± 45.883 έναντι 265.439 ± 34.013), το ποσοστό της κλινική εγκυμοσύνης (0.627 ± 0.089 έναντι 0.867 ± 0.088), το ποσοστό της βιοχημικής εγκυμοσύνης (0.147 ± 0.038 έναντι 0.143 ± 0.044), το ποσοστό της εξελισσόμενης εγκυμοσύνης (0.509 ± 0.082 έναντι 0.551 ± 0.076) και το live birth rate (0.931 ± 0.026 έναντι 0.974 ± 0.026) μεταξύ των Ομάδων V και VI. Σε ότι αφορά το ποσοστό εμφύτευσης (implantation rate) (0.222 ± 0.033 έναντι 0.347 ± 0.038 , $p=0.0140^*$) και το ποσοστό αποβολής (miscarriage rate) (24 έναντι 9, $p=0.0028^*$) οι τιμές είναι στατιστικά σημαντικά υψηλότερες για την Ομάδα VI σε σχέση με την V.

Εργαστηριακά δεδομένα και κλινικά αποτελέσματα

Πίνακας 31 : Σύγκριση εργαστηριακών και κλινικών παραμέτρων (μέση τιμή ± τυπικό σφάλμα) των γυναικών των δυο ομάδων V (χωρίς ιστορικό ενδομητρίωσης και όχι σε εμμηνόπαυση) και VI (χωρίς ιστορικό ενδομητρίωσης και σε εμμηνόπαυση) που μελετήθηκαν.

	Ομάδα V	Ομάδα VI	P value
Αριθμός ωαρίων	8.692 ± 1.482	9.043 ± 1.198	NS
Αριθμός MII ωαρίων	7.869 ± 0.872	8.188 ± 1.384	NS
Αριθμός 2PN	5.509 ± 0.958	5.716 ± 0.714	NS
2PN scoring	0.732±0.127	0.711 ± 0.122	NS
Cleavage rate	0.873 ± 0.137	0.917 ± 0.190	NS
Αριθμός εμβρύων ET	2.353 ± 0.292	2.473 ± 0.552	NS
Score εμβρύων	1.971 ± 0.708	1.773 ± 0.983	NS
Bhcg	100/112(89.3%)	65/98(66.3%)	NS
Κλινική εγκυμοσύνη	0.627 ± 0.089	0.867 ± 0.088	NS
Βιοχημική εγκυμοσύνη	0.147 ± 0.038	0.143±0.044	NS
Implantation rate	0.222 ± 0.033	0.347 ± 0.038	0.0140*
Miscarriage rate	9	24	0.0028*
On going pregnancy rate	0.509 ± 0.082	0.551 ± 0.076	NS
Live birth rate	0.931 ± 0.026	0.974 ± 0.026	NS

NS = στατιστικά μη σημαντική διαφορά

7.4 Σύγκριση των τεσσάρων υποομάδων(Ομάδα V, Ομάδα VI, Ομάδα III και Ομάδα IV) ταυτόχρονα

Υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των ομάδων για όλες τις μετρήσεις (οριακά για την AMH ανάλογα με τη φύση του στατιστικού ελέγχου που επιλέγεται). Ακολουθούν περιγραφικά στατιστικά:

Report

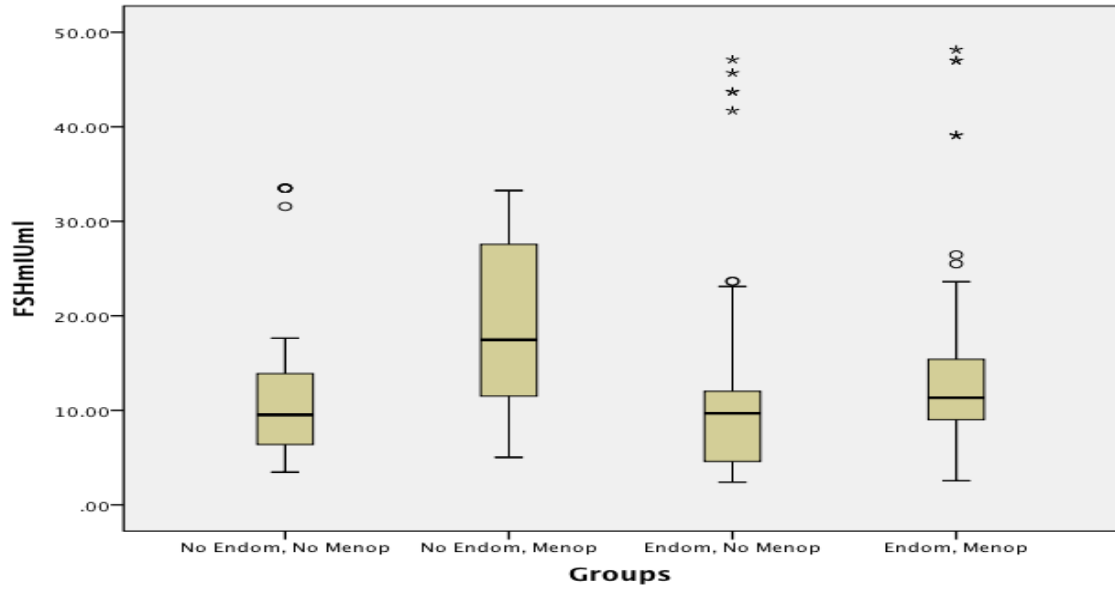
Groups	FSHmlUml	LHmlUml	E2pgml	CA125Uml	IL6pgml	VEGFpgml	
No Endom, No Menop	Mean	11.0688	7.79395	35.6112	13.3876	103.2106	262.2946
	Std. Deviation	6.58144	4.466095	21.41610	8.08122	61.31601	280.76939
	Median	9.5200	6.49500	30.2800	12.5000	95.3000	127.0000
	Minimum	3.46	1.660	11.30	.36	10.45	20.25
	Maximum	33.50	22.600	92.10	37.56	300.00	1333.00
	N	112	112	112	112	112	112
No Endom, Menop	Mean	18.4628	10.82296	20.3415	15.1283	94.1387	209.7722
	Std. Deviation	8.39816	4.844325	8.63069	5.81911	43.41227	127.89446
	Median	17.4600	11.25000	17.6000	16.0500	99.0000	158.9000
	Minimum	5.02	1.050	10.00	.51	20.60	25.44
	Maximum	33.25	20.650	42.30	28.84	177.30	450.00
	N	98	98	98	98	98	98
Endom, No Menop	Mean	10.9951	7.65296	39.3367	41.2181	138.9300	803.8568
	Std. Deviation	9.21485	7.161242	22.26198	48.48800	65.11863	550.70974
	Median	9.6900	6.89500	32.2000	26.3100	126.0000	1003.0000
	Minimum	2.40	.100	10.80	8.11	20.60	11.63
	Maximum	47.10	36.200	98.20	325.20	273.80	1711.00

	N	108	108	108	108	108	108
Endom, Menop	Mean	13.5052	9.26657	37.1226	46.1591	191.7564	1170.8426
	Std. Deviation	8.63051	4.539319	20.45071	41.39445	59.49228	364.88608
	Median	11.3250	9.55000	32.4000	32.2200	200.4100	1186.5000
	Minimum	2.56	.330	10.00	9.11	21.70	18.52
	Maximum	48.15	19.100	100.00	198.86	305.00	1789.00
	N	102	102	102	102	102	102
Total	Mean	13.3668	8.82210	33.3733	28.9090	131.7828	609.9456
	Std. Deviation	8.73967	5.513560	20.48832	35.48074	69.33076	538.75158
	Median	11.0150	8.83500	27.5000	19.1900	113.4500	404.0000
	Minimum	2.40	.100	10.00	.36	10.45	11.63
	Maximum	48.15	36.200	100.00	325.20	305.00	1789.00
	N	420	420	420	420	420	420

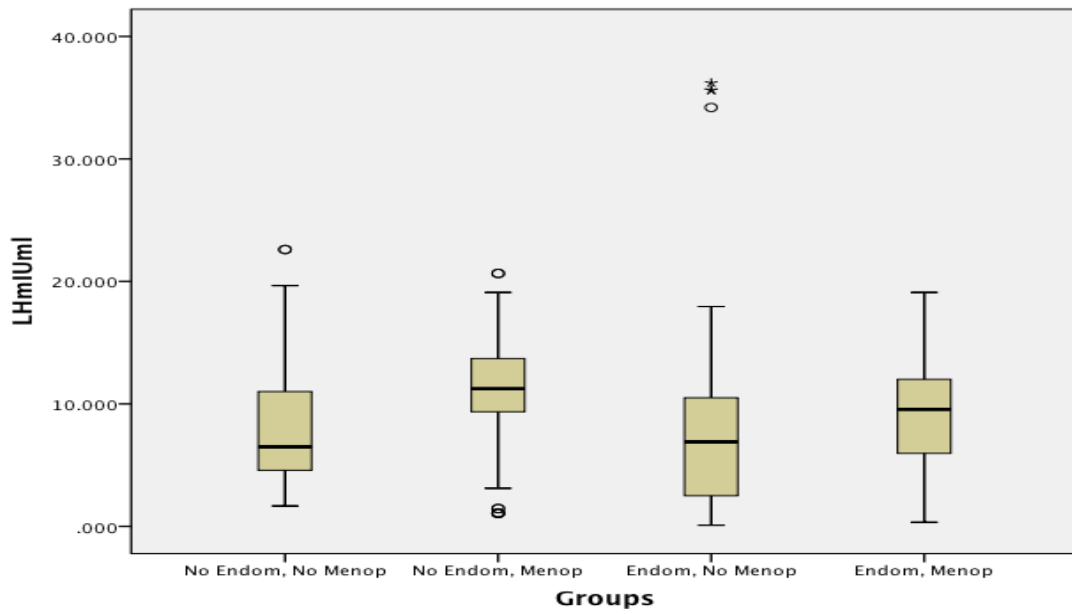
Report

Groups		AMH
No Endom, No Menop	Mean	3.58250
	Std. Deviation	1.483672
	Median	3.21000
	Minimum	1.290
	Maximum	9.050
	N	112
No Endom, Menop	Mean	3.90684
	Std. Deviation	1.451553
	Median	3.65000
	Minimum	2.030
	Maximum	10.050
	N	98
Endom, No Menop	Mean	3.49833
	Std. Deviation	2.209660
	Median	3.01000
	Minimum	1.010
	Maximum	11.030
	N	108
Endom, Menop	Mean	4.03271
	Std. Deviation	1.801153
	Median	4.03800
	Minimum	1.010
	Maximum	12.060
	N	102
Total	Mean	3.74587
	Std. Deviation	1.774493
	Median	3.25000
	Minimum	1.010
	Maximum	12.060
	N	420

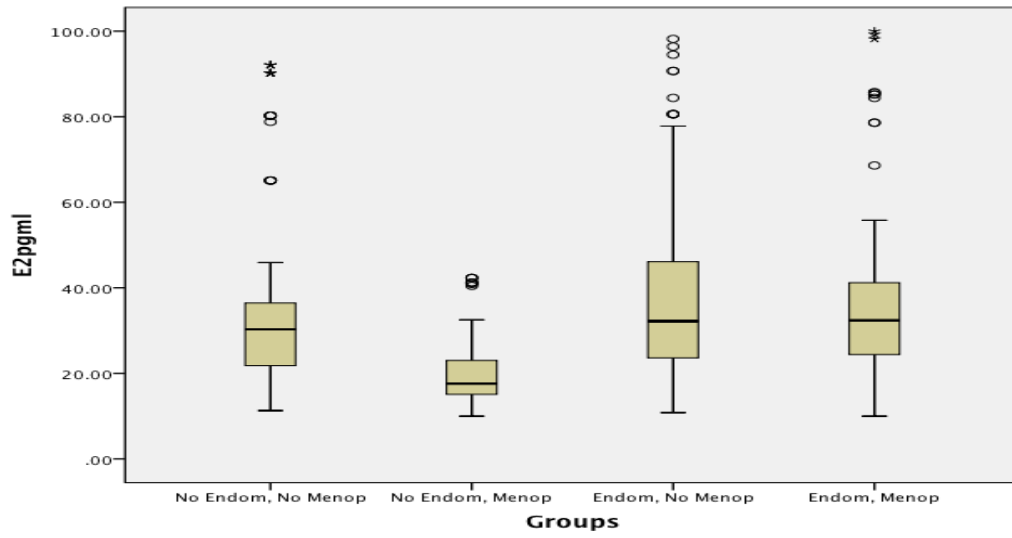
FSH (mIU/ml)



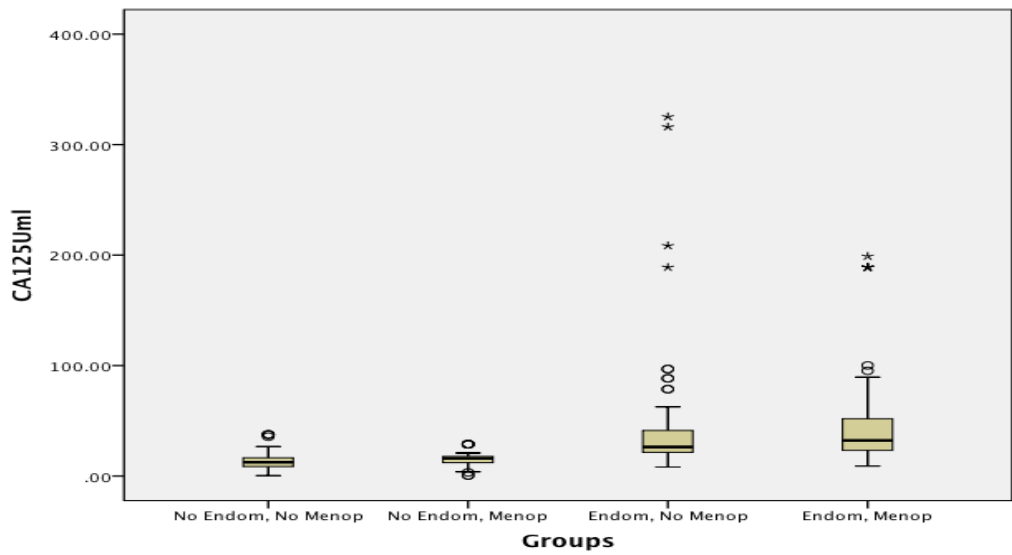
LH (mIU/ml)



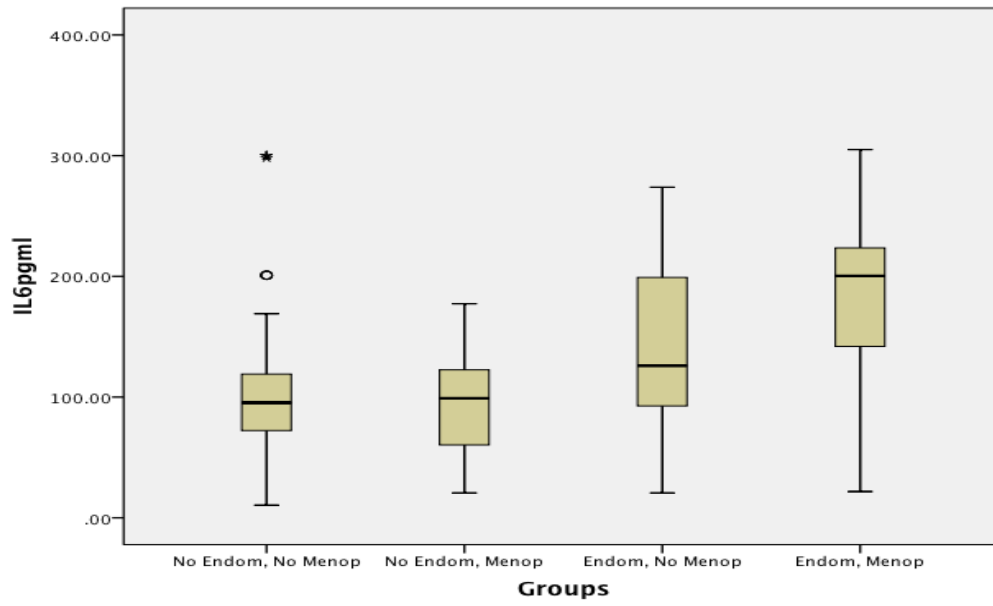
E2 (pg/ml)



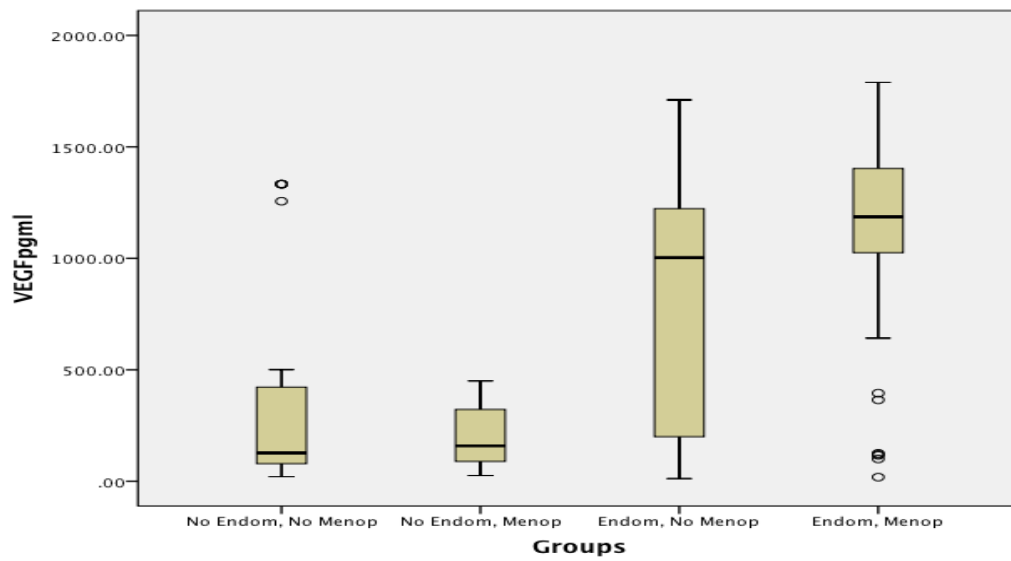
CA125 (U/ml)



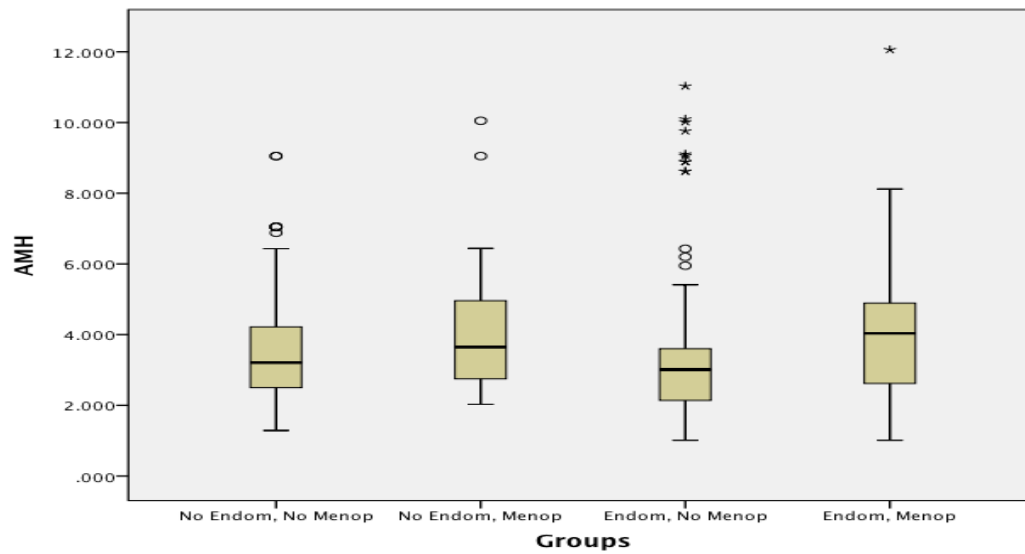
IL6 (pg/ml)



VEGF (pg/ml)



AMH (pmol/ml)



Τα αποτελέσματα των στατιστικών ελέγχων: Στατιστικά σημαντικές διαφορές (εκτός από AMH σύμφωνα με την ANOVA).

Kruskal-Wallis Test

	FSHmIUml	LHmIUml	E2pgml	CA125Uml	IL6pgml	VEGFpgml	AMH
Chi-Square	61.185	37.762	88.696	207.630	131.920	172.439	20.531
df	3	3	3	3	3	3	3
Asymp. Sig.	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
FSHmlUml	Between Groups	3745.867	3	1248.622	18.382	.000
	Within Groups	28258.122	416	67.928		
	Total	32003.989	419			
LHmlUml	Between Groups	678.506	3	226.169	7.802	.000
	Within Groups	12058.821	416	28.988		
	Total	12737.327	419			
E2pgml	Between Groups	22478.489	3	7492.830	20.319	.000
	Within Groups	153405.668	416	368.764		
	Total	175884.157	419			
CA125Uml	Between Groups	92308.614	3	30769.538	29.415	.000
	Within Groups	435163.414	416	1046.066		
	Total	527472.028	419			
IL6pgml	Between Groups	602700.720	3	200900.240	59.217	.000
	Within Groups	1411329.217	416	3392.618		
	Total	2014029.937	419			
VEGFpgml	Between Groups	65380780.799	3	21793593.600	161.218	.000
	Within Groups	56235336.752	416	135181.098		
	Total	121616117.552	419			
AMH	Between Groups	20.538	3	6.846	2.193	.088
	Within Groups	1298.819	416	3.122		
	Total	1319.357	419			

Post Hoc TestsMultiple

Comparisons

Tukey HSD

Dependent Variable	(I) Groups	(J) Groups	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.
FFSHmlUmlSHmlU ml	No Endom, No Menop	No Endom, Menop	-7.39401 [*]	1.14002	.000
		Endom, No Menop	.07366	1.11152	1.000
		Endom, Menop	-2.43645	1.12804	.136
	No Endom, Menop	No Endom, No Menop	7.39401 [*]	1.14002	.000
		Endom, No Menop	7.46766 [*]	1.14983	.000
		Endom, Menop	4.95756 [*]	1.16581	.000
	Endom, No Menop	No Endom, No Menop	-.07366	1.11152	1.000
		No Endom, Menop	-7.46766 [*]	1.14983	.000
		Endom, Menop	-2.51010	1.13795	.123
	Endom, Menop	No Endom, No Menop	2.43645	1.12804	.136
		No Endom, Menop	-4.95756 [*]	1.16581	.000
		Endom, No Menop	2.51010	1.13795	.123
LHmlUml	No Endom, No Menop	No Endom, Menop	-3.029013 [*]	.744721	.000
		Endom, No Menop	.140983	.726100	.997
		Endom, Menop	-1.472622	.736892	.190
	No Endom, Menop	No Endom, No Menop	3.029013 [*]	.744721	.000
		Endom, No Menop	3.169996 [*]	.751129	.000
		Endom, Menop	1.556391	.761566	.174
	Endom, No Menop	No Endom, No Menop	-.140983	.726100	.997
		No Endom, Menop	-3.169996 [*]	.751129	.000
		Endom, Menop	-1.613606	.743367	.133
	Endom, Menop	No Endom, No Menop	1.472622	.736892	.190
		No Endom, Menop	-1.556391	.761566	.174

		Endom, No Menop	1.613606	.743367	.133
		No Endom, Menop	15.26963 ⁺	2.65621	.000
	No Endom, No Menop	Endom, No Menop	-3.72551	2.58979	.476
		Endom, Menop	-1.51149	2.62828	.939
		No Endom, No Menop	-15.26963 ⁺	2.65621	.000
	No Endom, Menop	Endom, No Menop	-18.99514 ⁺	2.67906	.000
		Endom, Menop	-16.78112 ⁺	2.71629	.000
E2pgml		No Endom, No Menop	3.72551	2.58979	.476
	Endom, No Menop	No Endom, Menop	18.99514 ⁺	2.67906	.000
		Endom, Menop	2.21402	2.65138	.838
		No Endom, No Menop	1.51149	2.62828	.939
	Endom, Menop	No Endom, Menop	16.78112 ⁺	2.71629	.000
		Endom, No Menop	-2.21402	2.65138	.838
		No Endom, Menop	-1.74068	4.47370	.980
	No Endom, No Menop	Endom, No Menop	-27.83047 ⁺	4.36184	.000
		Endom, Menop	-32.77153 ⁺	4.42667	.000
		No Endom, No Menop	1.74068	4.47370	.980
	No Endom, Menop	Endom, No Menop	-26.08979 ⁺	4.51220	.000
		Endom, Menop	-31.03085 ⁺	4.57490	.000
CA125Uml		No Endom, No Menop	27.83047 ⁺	4.36184	.000
	Endom, No Menop	No Endom, Menop	26.08979 ⁺	4.51220	.000
		Endom, Menop	-4.94106	4.46557	.686
		No Endom, No Menop	32.77153 ⁺	4.42667	.000
	Endom, Menop	No Endom, Menop	31.03085 ⁺	4.57490	.000
		Endom, No Menop	4.94106	4.46557	.686
IL6pgml	No Endom, No Menop	No Endom, Menop	9.07195	8.05666	.674

		Endom, No Menop	-35.71938 ⁺	7.85521	.000
		Endom, Menop	-88.54575 ⁺	7.97196	.000
		No Endom, No Menop	-9.07195	8.05666	.674
	No Endom, Menop	Endom, No Menop	-44.79133 ⁺	8.12599	.000
		Endom, Menop	-97.61770 ⁺	8.23890	.000
		No Endom, No Menop	35.71938 ⁺	7.85521	.000
	Endom, No Menop	No Endom, Menop	44.79133 ⁺	8.12599	.000
		Endom, Menop	-52.82637 ⁺	8.04202	.000
		No Endom, No Menop	88.54575 ⁺	7.97196	.000
	Endom, Menop	No Endom, Menop	97.61770 ⁺	8.23890	.000
		Endom, No Menop	52.82637 ⁺	8.04202	.000
		No Endom, Menop	52.52231	50.85640	.730
	No Endom, No Menop	Endom, No Menop	-541.56221 ⁺	49.58479	.000
		Endom, Menop	-908.54809 ⁺	50.32175	.000
		No Endom, No Menop	-52.52231	50.85640	.730
	No Endom, Menop	Endom, No Menop	-594.08451 ⁺	51.29401	.000
		Endom, Menop	-961.07040 ⁺	52.00677	.000
		No Endom, No Menop	541.56221 ⁺	49.58479	.000
	Endom, No Menop	No Endom, Menop	594.08451 ⁺	51.29401	.000
		Endom, Menop	-366.98589 ⁺	50.76398	.000
		No Endom, No Menop	908.54809 ⁺	50.32175	.000
	Endom, Menop	No Endom, Menop	961.07040 ⁺	52.00677	.000
		Endom, No Menop	366.98589 ⁺	50.76398	.000
		No Endom, Menop	-.324337	.244408	.546
	AMH	No Endom, No Menop	.084167	.238297	.985
		Endom, Menop	-.450206	.241839	.246

	No Endom, No Menop	.324337	.244408	.546
No Endom, Menop	Endom, No Menop	.408503	.246511	.348
	Endom, Menop	-.125869	.249936	.958
	No Endom, No Menop	-.084167	.238297	.985
Endom, No Menop	No Endom, Menop	-.408503	.246511	.348
	Endom, Menop	-.534373	.243964	.128
	No Endom, No Menop	.450206	.241839	.246
Endom, Menop	No Endom, Menop	.125869	.249936	.958
	Endom, No Menop	.534373	.243964	.128

Ανά 2 συγκρίσεις για τον εντοπισμό των συγκεκριμένων διαφορών:

Η ομάδα της στήλης I συγκρίνεται με την αντίστοιχη της στήλης J (π.χ. με βελάκια για FSH). Οι σημαντικές διαφορές σημειώνονται με κίτρινο.

Tests of Normality

Groups		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
FSHmIUml	No Endom, No Menop	.183	112	.000	.775	112	.000
	No Endom, Menop	.116	98	.002	.941	98	.000
	Endom, No Menop	.241	108	.000	.748	108	.000
LHmIUml	Endom, Menop	.222	102	.000	.771	102	.000
	No Endom, No Menop	.128	112	.000	.926	112	.000
	No Endom, Menop	.154	98	.000	.947	98	.001
E2pgml	Endom, No Menop	.146	108	.000	.788	108	.000
	Endom, Menop	.055	102	.200 [*]	.979	102	.104
	No Endom, No Menop	.274	112	.000	.774	112	.000
CA125Uml	No Endom, Menop	.233	98	.000	.861	98	.000
	Endom, No Menop	.194	108	.000	.872	108	.000
	Endom, Menop	.191	102	.000	.841	102	.000
IL6pgml	No Endom, No Menop	.132	112	.000	.916	112	.000
	No Endom, Menop	.121	98	.001	.938	98	.000
	Endom, No Menop	.259	108	.000	.497	108	.000
VEGFpgml	Endom, Menop	.238	102	.000	.652	102	.000
	No Endom, No Menop	.163	112	.000	.879	112	.000
	No Endom, Menop	.088	98	.059	.949	98	.001
AMH	Endom, No Menop	.117	108	.001	.961	108	.003
	Endom, Menop	.106	102	.007	.961	102	.004
	No Endom, No Menop	.194	112	.000	.714	112	.000
AMH	No Endom, Menop	.189	98	.000	.902	98	.000
	Endom, No Menop	.159	108	.000	.896	108	.000
	Endom, Menop	.189	102	.000	.897	102	.000
AMH	No Endom, No Menop	.240	112	.000	.830	112	.000
	No Endom, Menop	.120	98	.001	.889	98	.000
	Endom, No Menop	.241	108	.000	.780	108	.000
	Endom, Menop	.095	102	.025	.936	102	.000

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Ακολουθούν έλεγχοι κανονικότητας (χρήσιμοι τεχνικά μόνο για την επιλογή του κατάλληλου στατιστικού ελέγχου).

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

8. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Όπως φαίνεται από τα αποτελέσματά μας τα ποσοστά εμφύτευσης είναι στατιστικά χαμηλότερα σε γυναίκες με ενδομητρίωση και κατά συνέπεια η υποδεκτικότητα του ενδομητρίου φαίνεται να είναι εξίσου σημαντικός παράγοντας με την ποιότητα των ωαρίων για την επιτυχία ή αποτυχία της προσπάθειας εξωσωματικής γονιμοποίησης. Επιπλέον, η εμμηνόπαυση φαίνεται να βελτιώνει τα αποτελέσματα της γονιμότητας γυναικών με ιστορικό ενδομητρίωσης. Όμως τα ποσοστά παραμένουν σχετικά χαμηλότερα σε σύγκριση με τα αντίστοιχα των γυναικών χωρίς ιστορικό ενδομητρίωσης. Η διαφορά αυτή πιθανόν να οφείλεται σε μη αναστρέψιμες επιγενετικές αλλαγές πριν την εμμηνόπαυση, που σχετίζονται με την ενδομητρίωση ή μετά-εμμηνόπαυσιακή υποτροπή της ενδομητρίωσης (Prapas Y et al., 2012). Τέλος, ένα τρίτο σημαντικό συμπέρασμα είναι ότι οι μεταβολές των βιοχημικών δεικτών στον ορό γυναικών με ενδομητρίωση σε σχέση και με την εμμηνόπαυση φαίνεται να ευνοούν την υπόθεση της υπολειμματικής νόσου. Τόσο η IL6, όσο και ο VEGF, όπως προκύπτει από τα αποτελέσματά μας, αυξάνουν αντί να μειώνονται μετά την εμμηνόπαυση (Πίνακας 13).

Η σημαντικότητα αυτής της προοπτικής μελέτης για τη διερεύνηση της ενδομητρίωσης συνίσταται σε τρία ευρήματα. Πρώτον οι γυναίκες που υποβάλλονται σε δωρεά ωαρίων, με ιστορικό ενδομητρίωσης, λαπαροσκοπικά διαγνωθείσα, παρουσιάζουν χαμηλότερα ποσοστά εμφύτευσης των εμβρύων και κλινικής εγκυμοσύνης σε σχέση με τις αντίστοιχες χωρίς ιστορικό ενδομητρίωσης. Δεύτερον οι διαφορές αυτές παραμένουν σημαντικές και μετά την εμμηνόπαυση, Τέλος, οι βιοχημικοί δείκτες IL6 και VEGF ενώ σε γυναίκες χωρίς ιστορικό

ενδομητρίωσης παρουσιάζουν πτώση των επιπέδων τους στο αίμα μετεμμηνοπαυσιακά, αντίθετα οι γυναίκες με ιστορικό ενδομητρίωσης μετεμμηνοπαυσιακά παρουσιάζουν αύξηση των επιπέδων τους στο αίμα. Τα παραπάνω ευρήματα ισχυροποιούν την άποψη ότι η ενδομητρίωση εκτός από την ποιότητα των ωαρίων επηρεάζει και την υποδεκτικότητα του ενδομητρίου και δημιουργεί ερωτήματα κατά πόσον μη αναστρέψιμες επιγενετικές μεταβολές που συνέβησαν προεμμηνοπαυσιακά θα μπορούσαν να επηρεάζουν την υποδεκτικότητα του ενδομητρίου και τα ποσοστά επίτευξης εγκυμοσύνης σε κύκλους δωράς ωαρίων.

Πολλοί μηχανισμοί έχουν προταθεί προκειμένου να ερμηνεύσουν τα χαμηλά ποσοστά επιτυχίας στην υποβοηθούμενη αναπαραγωγή (χαμηλότερα ποσοστά εμφύτευσης, κλινικής εγκυμοσύνης, κύσεων σε εξέλιξη και γέννησης ζώντων παιδιών), σε γυναίκες με ενδομητρίωση, σε σχέση με τις αντίστοιχες χωρίς ενδομητρίωση (Barnhart K et al., 2002). Οι ερευνητές αποδίδουν τα χαμηλά ποσοστά σε κακή ποιότητα των ωαρίων (Diaz I et al., 2000), σε προβλήματα εμβρυογένεσης (Margalioth EJ et al., 2006) ή και στη μειωμένη υποδεκτικότητα του ενδομητρίου (Arici A et al., 1996).

Η παρουσία και λιγότερο η βαρύτητα της ενδομητρίωσης φαίνεται να επηρεάζουν την έκβαση της εξωσωματικής γονιμοποίησης (Geber S et al., 1995) γεγονός που οδηγεί στη σκέψη ότι μάλλον το πρόβλημα είναι μοριακής αιτιολογίας και δεν οφείλεται σε ανατομικές ανωμαλίες. Η αρνητική επίδραση της ενδομητρίωσης στην ποιότητα των ωαρίων καθιστά δυσκολότερη τη διερεύνηση της σχέσης ενδομητρίωσης και υποδεκτικότητας του ενδομητρίου ή εμφύτευσης.

Η δωρεά ωαρίων από γόνιμες δότριες χωρίς ιστορικό ενδομητρίωσης σε γυναίκες δέκτριες με ιστορικό ενδομητρίωσης, που εφαρμόσαμε στη μελέτη μας, αποτελεί ένα ενδιαφέρον μοντέλο για τη μελέτη της σχέσης ενδομητρίωσης και υποδεκτικότητας του ενδομητρίου καθόσον αποκλείει τον παράγοντα ποιότητα ωαρίων από την εξίσωση και διερευνά αποκλειστικά την ποιότητα του ενδομητρίου. Σε όλες τις περιπτώσεις εφαρμόστηκε το ίδιο πρωτόκολλο διέγερσης ωοθηκών και η μέθοδος ICSI (μικρογονιμοποίηση) για τη γονιμοποίηση των ωαρίων ώστε να αποφευχθούν φτωχές απαντήσεις της ωοθήκης και αποτυχίες γονιμοποίησης οι οποίες θα μπορούσαν να οδηγήσουν σε στατιστικά λάθη.

Σε ότι αφορά κύκλους δωρεάς ωαρίων ορισμένοι ερευνητές έχουν αναφέρει ότι γυναίκες με ιστορικό ενδομητρίωσης έχουν τις ίδιες πιθανότητες εμφύτευσης και εγκυμοσύνης με λήπτριες χωρίς ιστορικό ενδομητρίωσης (Simon C et al., 1994; Sung L et al., 1997; Bodri D et al., 2007). Το βασικό μειονέκτημα αυτών των εργασιών είναι ότι τα ωάρια προέρχονται από διαφορετικές δότριες ή από διαφορετικούς κύκλους και έτσι υπάρχουν περιορισμοί σε ο,τι αφορά στην ερμηνεία των αποτελεσμάτων. Κατά συνέπεια, ενώ έχει αναφερθεί ότι η ποιότητα των ωαρίων που προέρχονται από διαφορετικές δότριες δεν επηρεάζει το αποτέλεσμα του κύκλου της δωρεάς (Diaz I et al. 2000) , ωστόσο διαφορές στην ποιότητα των ωαρίων μεταξύ των γυναικών δεν μπορούν να αποκλειστούν. Ως εκ τούτου, το μοίρασμα των ωαρίων της ίδιας δότριας θα μπορούσε να αποκλείσει πιθανές διακυμάνσεις και στατιστικά λάθη. Επίσης οι Diaz I et al. (2000) έχουν αναφέρει ότι σε κύκλους δωρεάς ωαρίων η εμφύτευση δεν επηρεάζεται από το στάδιο της ενδομητρίωσης της λήπτριας. Έτσι από τα προαναφερθέντα οι ερευνητές

αυτοί καταλήγουν στο συμπέρασμα ότι η ποιότητα των ωαρίων και των εμβρύων είναι αυτή που καθορίζει το τελικό αποτέλεσμα της υποβοηθούμενης αναπαραγωγής δε κύκλους δωρεάς ωαρίων.

Τα αποτελέσματα της μελέτης μας δεν συμφωνούν με τα παραπάνω (Prapas Y et al., 2012). Τα ποσοστά εμφύτευσης, κλινικής εγκυμοσύνης και γέννησης ζώντος παιδιού ήταν στατιστικά σημαντικά χαμηλότερα στις γυναίκες λήπτριες με ιστορικό ενδομητρίωσης σε σχέση προς τις γυναίκες λήπτριες χωρίς ιστορικό ενδομητρίωσης οι οποίες υποβλήθηκαν σε δωρεά ωαρίων (Πίνακας 11). Η απόκλιση των αποτελεσμάτων μας σε σχέση προς την επικρατούσα άποψη μπορεί να αποδοθεί στο ότι ο αριθμός του δείγματος των γυναικών που χρησιμοποιήσαμε ήταν αρκετά μεγάλος, ώστε να πετύχουμε καλύτερα στατιστικά αποτελέσματα. Οι προαναφερθέντες ερευνητές χρησιμοποίησαν στο υλικό της μελέτης τους και εμμηνορρυσιακές γυναίκες οι οποίες έλαβαν για μεγάλο διάστημα GnRH αγωνιστές προκειμένου να γίνει συγχρονισμός λήπτριας και δότριας. Εμείς, στην προσπάθεια μας να αποκλείσουμε την πιθανότητα η μακροχρόνια χρήση GnRH αναλόγων να διορθώνει ενδεχόμενα προβλήματα υποδεκτικότητας του ενδομητρίου και να επηρεάζει τα αποτελέσματα της μελέτης (Surrey ES et al., 2000) συγκρίναμε χωριστά τις εμμηνορρυσιακές και τις εμμηνοπαυσιακές γυναίκες με ή χωρίς ενδομητρίωση, οι οποίες χρησιμοποίησαν GnRH ανάλογα και τα αποτελέσματά μας παρέμειναν τα ίδια.

Πράγματι έχει αναφερθεί ότι όταν GnRH ανάλογα προστέθηκαν στο καλλιεργητικό υλικό ενδομητρικού ιστού που προήλθε από βιοψία γυναικών με ενδομητρίωση, ο ρυθμός απόπτωσης των κυττάρων γίνεται φυσιολογικός (Imai A et

al., 2000). Επίσης, τρίμηνη θεραπεία με GnRH ανάλογα, η οποία προηγείται του κύκλου εξωσωματικής γονιμοποίησης για γυναίκες με ιστορικό ενδομητρίωσης, βελτιώνει το ρυθμό γέννησης ζώντος παιδιού (Surrey ES et al., 2000; Sallam HN et al., 2006). Ωστόσο, η χρήση των GnRH αναλόγων για ένα σύντομο χρονικό διάστημα (χορήγηση από την 20η ημέρα του κύκλου που προηγείται του κύκλου της δωρεάς ωαρίων) για να γίνει συγχρονισμός με τη λήπτρια, δεν μετέβαλε τα αποτελέσματα στη μελέτη μας. Φαίνεται ότι η βραχύχρονη θεραπεία με GnRH αγωνιστή και η θεραπεία με στεροειδή υποκατάστασης για την προετοιμασία του ενδομητρίου δεν είναι επαρκής για να αποκαταστήσει το αλλοιωμένο περιβάλλον του ενδομητρίου λόγω της ενδομητρίωσης.

Στη μελέτη μας παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικά χαμηλότερα ποσοστά εμφύτευσης, κλινικής εγκυμοσύνης και γέννησης ζώντος παιδιού στις λήπτριες ωαρίων με ιστορικό ενδομητρίωσης σε σύγκριση με τις λήπτριες που είχαν ιστορικό ελεύθερο ενδομητρίωσης, ανεξάρτητα με το αν ήταν σε εμμηνόπαυση ή όχι (Πίνακας 11). Αν και τα κλινικά αποτελέσματα της δωρεάς ωαρίων (εμφύτευση, κύηση) ήταν υψηλότερα στις εμμηνοπαυσιακές λήπτριες ωαρίων σε σύγκριση με αυτές που δεν ήταν σε εμμηνόπαυση (Πίνακας 21), αυτά συνεχίζουν να είναι στατιστικά χαμηλότερα σε σύγκριση με τις εμμηνοπαυσιακές γυναίκες που είχαν ιστορικό ελεύθερο ενδομητρίωσης (Πίνακας 21 και Πίνακας 31) (Prapas Y et al., 2012).

Η δυσλειτουργία του ενδομητρίου στις γυναίκες με ιστορικό ενδομητρίωσης μπορεί να αποδοθεί σε θεμελιώδεις βιοχημικές και δομικές παραλλαγές, σε σύγκριση με τις γυναίκες χωρίς ιστορικό ενδομητρίωσης. Αυτές οι διαφορές μπορεί

να σχετίζονται με επιγενετικές αλλαγές σε έκφραση γονιδίων που οδηγούν σε παρεκκλίνουσα έκφραση ή απορύθμιση υποδοχέων του ενδομητρίου (Kao LC et al., 2003). Ένας αριθμός δεικτών εμφύτευσης (anb3 και leukaemia-inhibitory factor) εκφράζονται έκτοπα σε γυναίκες με ιστορικό ενδομητρίωσης και αυτό πιθανά συμβάλλει στην υπογονιμότητα αυτών των γυναικών. Σε γυναίκες με ιστορικό ενδομητρίωσης έχει αναφερθεί μειωμένη έκφραση δεικτών κατά τη διάρκεια του παραθύρου εμφύτευσης, αδρανοποίηση του HOXA10, αντίσταση στην προγεστερόνη και αλλαγές σε παράγοντες που εμπλέκονται σε αποπτωτικές διαδικασίες (Lessey BA and Young, 1997; Taylor HS et al., 1999; Cakmak H and Taylor HS, 2010a).

Πολλές εργασίες έχουν δημοσιευτεί σε ό,τι αφορά στην εξασθενημένη ή απορρυθμισμένη απάντηση στην προγεστερόνη σε μοριακό επίπεδο, για το ενδομήτριο γυναικών με ενδομητρίωση (Burney R et al., 2007). Μεταβολές στην αναλογία του υποδοχέα PR-A σε PR-B (Lee B et al., 2009), μόνιμη αδρανοποίηση του HOXA10, μέσω υπερμεθυλίωσης (Cakmak H and Taylor HS, 2010b) είναι μερικοί από τους μηχανισμούς που προτάθηκαν για την αυξημένη αντίσταση του ενδομητρίου στην προγεστερόνη και τη μειωμένη εμφύτευση στην ενδομητρίωση. Δυστυχώς η μεθυλίωση είναι σχετικά μη αναστρέψιμη και τα προβλήματα της υποδεκτικότητας να επιμείνουν μετά από φαρμακευτική ή χειρουργική θεραπεία της ενδομητρίωσης, όπως και στη φυσιολογική εμμηνόπαυση. Οι επιγενετικές αυτές αλλαγές που σχετίζονται με την ενδομητρίωση μπορεί να είναι υπεύθυνες για χαμηλότερα ποσοστά εμφύτευσης, κλινικής εγκυμοσύνης και γέννησης ζώντων παιδιών σε γυναίκες με ιστορικό ενδομητρίωσης που συμμετέχουν στο πρόγραμμα δωρεάς

ωαρίων. Επιπλέον, οι φλεγμονώδεις κυτοκίνες οι οποίες είναι αυξημένες στην ενδομητρίωση μπορεί να παρεμποδίζουν την έκφραση βασικών μορίων όπως η ανβ3 ιντεγκρίνη, η οποία παίζει σημαντικό ρόλο στην εμφύτευση του εμβρύου (Khorram O et al., 2002). Επιπρόσθετα, έχει διατυπωθεί η πρόταση ότι η ενδομητρίωση αυξάνει το σχηματισμό αντισωμάτων έναντι του ενδομητρίου (antiendometrial antibodies AEAs), τα οποία είναι υπεύθυνα για τη δυσλειτουργία της υποδεκτικότητας του ενδομητρίου (Sararik A et al., 2010).

Η εμφάνιση της ενδομητρίωσης μετά την εμμηνόπαυση είναι σχετικά σπάνια, γιατί η απουσία παραγωγής οιστρογόνων παύει την εξέλιξη της ενδομητρίωσης (Bulun SE, 2009). Οι Oxholm et al (2007) έχουν αναφέρει ότι υπάρχει κίνδυνος 2-4% επανεμφάνισης ή de-novo εμφάνισης της ενδομητρίωσης μετά την εμμηνόπαυση. Παρόλο που η ενδομητρίωση μετά την εμμηνόπαυση σχετίζεται με θεραπεία ορμονικής υποκατάστασης, ειδικά με θεραπεία οιστρογόνων, μια σειρά κλινικών παρατηρήσεων δείχνει ότι η ενδομητρίωση μετά την εμμηνόπαυση μπορεί να είναι τελείως ανεξάρτητη με τα οιστρογόνα των ωοθηκών ή την μήτρα (Namnoum AB et al., 1995; Goumenou AG et al., 2003; Du H and Taylor HS, 2007; Sasson IE and Taylor HS, 2009; Bailey AP et al., 2010) και μπορεί να αναπτυχθεί με έναν απρόβλεπτο και σιωπηλό τρόπο (Indraccolo U and Barbieri F, 2010). Ωστόσο, αν και τα οιστρογόνα διεγείρουν την ενδομητρίωση αμφισβητείται το κατά πόσο η θεραπεία ορμονικής υποκατάστασης κατά τη διάρκεια της προετοιμασίας ενδομητρίου θα μπορούσε να διεγείρει την υπολειπόμενη ενδομητρίωση.

Παρόλο που οι Rosa-e-Silva JC et al., το 2008 είχαν προτείνει ότι ο λιπώδης ιστός παράγει οιστρογόνα που μπορούν να διεγείρουν την εμφάνιση της ενδομητρίωσης μετά την εμμηνόπαυση, στη μελέτη μας ο BMI ήταν στατιστικά σημαντικά χαμηλότερος μόνο στην ομάδα V (γυναίκες με ιστορικό ελεύθερο ενδομητρίωσης και σε εμμηνόπαυση) σε σχέση με την ομάδα VI (γυναίκες με ιστορικό ενδομητρίωσης και όχι εμμηνόπαυση) (23.373 ± 0.387 έναντι 25.225 ± 0.472) (Πίνακας 22). Μεταξύ των ομάδων I και II, (Πίνακας 1) όπως και μεταξύ των ομάδων III και IV (Πίνακας 12) δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά σε ότι αφορά το BMI.

Σε ό,τι αφορά το δείκτη μάζας σώματος (BMI), οι περισσότερες βιβλιογραφικές αναφορές υποστηρίζουν ότι οι γυναίκες με υψηλό BMI που ακολουθούν κύκλο εξωσωματικής γονιμοποίησης εμφανίζουν λιγότερα και χαμηλότερης ποιότητας ωάρια και έμβρυα, όπως και χαμηλότερο ποσοστό γονιμοποίησης, εγκυμοσύνης και γέννησης ζώντων παιδιών (Van Swieten EC et al., 2005). Βέβαια, υπάρχουν λιγότερες δημοσιεύσεις σε ό,τι αφορά στη σχέση δείκτη μάζας σώματος (BMI) με τα αποτελέσματα σε κύκλους δωρεάς ωαρίων (OD) (Styne-Gross A et al., 2005). Πιθανοί μηχανισμοί με τους οποίους ο υψηλός δείκτης μάζας σώματος (BMI) επηρεάζει την υποδεκτικότητα του ενδομητρίου είναι η υπερανδρογοναιμία, η αντίσταση στην ινσουλίνη και η αλλαγή στη φυσιολογία της λεπτίνης, έχοντας έτσι επιπτώσεις σε κυτταρικούς και μοριακούς μηχανισμούς της εμφύτευσης (Mahutte NG et al., 2003 ; Cervero A et al., 2005). Ωστόσο στη δική μας μελέτη, μεταξύ των δύο ομάδων γυναικών I και II δεν υπήρχε διαφορά ως προς τον παράγοντα δείκτη μάζας σώματος (BMI) (Πίνακας 1). Επίσης δεν υπήρχε διαφορά

ως προς τον παράγοντα δείκτη μάζας σώματος (BMI) ούτε μεταξύ των ομάδων III και IV (Πίνακας 12), ενώ υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των ομάδων V και VI (Πίνακας 22) . Οι γυναίκες της ομάδας VI είχαν υψηλότερο ποσοστό αποβολών σε σχέση με αυτές της ομάδας V. Βέβαια, η εμμηνόπαυση σηματοδοτεί μια μικρή πτώση του βασικού μεταβολισμού, η οποία συνεχίζεται με το πέρασμα των χρόνων, λόγω μεγαλύτερης εναπόθεσης λίπους παρά μυών (Da Fonseca AM et al., 2013). Παράλληλα, η μείωση της ενεργητικότητας και η αυξημένη κατανάλωση τροφής (πιθανά λόγω περιορισμού των οιστρογόνων ή λόγω ήπιων συμπτωμάτων κατάθλιψης) επίσης απαντώνται συχνά (Fernández-Alonso AM et al., 2010). Ο συνδυασμός των παραπάνω καταστάσεων μπορεί να συντελέσει στην αύξηση του βάρους.

Πολλοί συγγραφείς ανέφεραν αυξημένα επίπεδα της IL-6 στον ορό των γυναικών με ενδομητρίωση (Kalu E et al, 2007; Seeber B et al, 2009), ενώ άλλοι δεν εντόπισαν κάποια σημαντική αλλαγή (Iwabe T et al, 2003; Othman et al., 2008). Επιπλέον, ορισμένοι συγγραφείς ανέφεραν ότι τα επίπεδα συγκέντρωσης του VEGF στον ορό και στο περιτοναϊκό υγρό γυναικών με ενδομητρίωση είναι αυξημένα (Verit και Ayas, 2010), ενώ άλλοι διαφωνούν (Pellicer A et al, 1998; Othman Eel-D et al., 2008). Η παρούσα μελέτη υποστηρίζει ότι οι συγκεντρώσεις IL-6 και VEGF είναι σημαντικά υψηλότερες στις γυναίκες που έχουν ενδομητρίωση σε σύγκριση με τις γυναίκες χωρίς ιστορικό ενδομητρίωσης (Πίνακας 3). Είναι ενδιαφέρον ότι ενώ τα επίπεδα της IL-6 και του VEGF στον ορό, για τις λήπτριες χωρίς ιστορικό ενδομητρίωσης μειώθηκαν μετά την εμμηνόπαυση (Πίνακας 3 και Πίνακας 23), αντίθετα στις γυναίκες με ιστορικό ενδομητρίωσης παρατηρήθηκε σημαντική

αύξηση των επιπέδων IL-6 και VEGF στην εμμηνόπαυση(Πίνακας 3 και Πίνακας 13) .
Ως εκ τούτου, εάν η IL-6 και ο VEGF θεωρούνται ισχυροί βιοδείκτες της ενδομητρίωσης, όπως αναφέρεται στη βιβλιογραφία, τότε τα αποτελέσματα μας μπορεί να σημαίνουν ότι είτε η εμμηνόπαυση είναι ανεπαρκής για να αναστρέψει πλήρως και να αποκαταστήσει τη λειτουργία του ανοσοποιητικού συστήματος, ή ότι η ενδομητρίωση εξακολουθεί να υπάρχει σε εμμηνοπαυσιακές γυναίκες και μπορεί να ασκήσει αρνητική επίδραση στα αποτελέσματα των ληπτριών.

Αυτή η μελέτη έδειξε ότι η ενδομητρίωση φαίνεται να επηρεάζει την υποδεκτικότητα του ενδομητρίου σε λήπτριες ωαρίων ανεξάρτητα από την εμμηνόπαυση. Ως εκ τούτου, κάθε λήπτρια με ιστορικό ενδομητρίωσης πρέπει να αξιολογηθεί προσεκτικά. Αν και τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης ευνοούν την υπόθεση της υπολειμματικής ενδομητρίωσης μετά την εμμηνόπαυση, μελλοντικές μελέτες απαιτούνται για την κατανόηση των μηχανισμών μέσω των οποίων η ενδομητρίωση επηρεάζει το αποτέλεσμα στις λήπτριες των ωαρίων, έτσι ώστε να επανεκτιμηθεί οποιαδήποτε ιατρική θεραπευτική αγωγή που προτείνεται για την αύξηση της επιτυχίας σε κύκλους υποβοηθούμενης αναπαραγωγής .

9. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

- 1) Η ενδομητρίωση επηρεάζει την υποδεκτικότητα του ενδομητρίου.
- 2) Η βραχύχρονη χρήση GnRH αναλόγων στον κύκλο πριν τη δωρεά ωαρίων δεν βελτιώνει τα ποσοστά επίτευξης εγκυμοσύνης σε γυναίκες με ενδομητρίωση.
- 3) Η εμμηνόπαυση βελτιώνει τα ποσοστά επίτευξης εγκυμοσύνης σε σχέση προς τις εμμηνορρυσιακές γυναίκες με ενδομητρίωση, πλην όμως τα ποσοστά αυτά παραμένουν στατιστικά χαμηλότερα σε σχέση προς τα αντίστοιχα των εμμηνοπαυσιακών γυναικών χωρίς ενδομητρίωση.
- 4) Οι βιοχημικοί δείκτες ενεργούς ενδομητρίωσης (IL-6 και VEGF) μειώνονται στον ορό του αίματος γυναικών σε εμμηνόπαυση, όταν δεν υπάρχει ενδομητρίωση, ενώ αντίθετα αυξάνονται σημαντικά σε αυτές που έχουν ενδομητρίωση.
- 5) Το ιστορικό ενδομητρίωσης πρέπει να λαμβάνεται σημαντικά υπόψη ακόμη και σε γυναίκες που υποβάλλονται σε δωρεά ωαρίων.

10. ΠΕΡΙΛΗΨΗ

ΤΙΤΛΟΣ

Σύγκριση ανθρωπομετρικών και ορμονικών παραμέτρων, καθώς και της υποδεκτικότητας του ενδομητρίου (ποσοστά εμφύτευσης, βιοχημικής και κλινικής εγκυμοσύνης) της εξωσωματικής γονιμοποίησης ανάμεσα σε λήπτριες ωαρίων με ιστορικό ενδομητρίωσης και σε λήπτριες χωρίς ενδομητρίωση.

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η ενδομητρίωση είναι καλοήθης γυναικολογική πάθηση της αναπαραγωγικής ηλικίας και ανάλογα με τα συμπτώματα επηρεάζει την ποιότητα ζωής της γυναίκας (Simoens S et al., 2007; Simoens S et al.,2012). Παρόλο που η λαπαροσκόπηση είναι το gold standard για τη διάγνωση της ενδομητρίωσης, η δυνατότητα να μπορεί να διαγνωστεί και να εκτιμηθεί η επίδρασή της με λιγότερο επεμβατικά μέσα, όπως η χρήση ενός βιολογικού δείκτη (biomarker), θα μπορούσε να είναι εξαιρετικά μεγάλης οικονομικής και κοινωνικής σημασίας.

Αν και έχουν προταθεί πολλοί μηχανισμοί για να εξηγήσουν τη σχέση της ενδομητρίωσης με την υπογονιμότητα, ελάχιστα δεδομένα υπάρχουν όσον αφορά στην επίδραση της ενδομητρίωσης στην εμφύτευση του γονιμοποιημένου ωαρίου και στην υποδεκτικότητα της μήτρας. Στην προσπάθειά μας να γίνει κατανοητό εάν το ενδομήτριο, το ωάριο ή και τα δυο επηρεάζονται από την ενδομητρίωση, χρησιμοποιήθηκε το μοντέλο της δωρεάς ωαρίων.

Παρόλο που είναι αποδεκτό ότι η ενδομητρίωση υποστρέφεται όταν οι γυναίκες πλησιάζουν στην εμμηνόπαυση, μη αναστρέψιμες επιγενετικές αλλαγές του ενδομητρίου σε γυναίκες με ενδομητρίωση (Cakmak H and Taylor HS, 2010b), όπως και επανενεργοποίηση της ενδομητρίωσης σε γυναίκες που έχουν περάσει στην εμμηνόπαυση, με ή χωρίς ορμονική θεραπεία, έχει παρατηρηθεί σε αρκετές περιπτώσεις (Nisolle-Pochet M et al., 1988; Goumenou AG et al., 2003; Oxholm D et al., 2007).

ΣΤΟΧΟΣ

Η παρούσα εργασία συγκρίνοντας ανθρωπομετρικούς και ορμονικούς παράγοντες, έχει ως σκοπό να διερευνήσει εάν η ενδομητρίωση επηρεάζει την υποδεκτικότητα του ενδομητρίου σε γυναίκες με ιστορικό ενδομητρίωσης, οι οποίες συμμετείχαν σε πρόγραμμα δωρεάς ωαρίων και μοιράστηκαν ωάρια προερχόμενα από κοινές δότριες, με γυναίκες χωρίς ιστορικό ενδομητρίωσης.

ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Οι γυναίκες της μελέτης χωρίστηκαν σε 2 ομάδες : Η πρώτη ομάδα (I) περιελάμβανε 210 λήπτριες ωαρίων με ιστορικό ενδομητρίωσης, ενώ η δεύτερη ομάδα (II) περιελάμβανε 210 γυναίκες λήπτριες ωαρίων χωρίς ιστορικό ενδομητρίωσης. Επίσης, στη διάρκεια της μελέτης αυτής προέκυψαν άλλες 4 υποομάδες γυναικών με βάση τη μεταβλητή της εμμηνόπαυσης. Η τρίτη ομάδα (III) περιελάμβανε 102 γυναίκες με ιστορικό ενδομητρίωσης σε εμμηνόπαυση. Η

τέταρτη (IV) ομάδα περιελάμβανε 108 γυναίκες με ιστορικό ενδομητρίωσης χωρίς εμμηνόπαυση. Η πέμπτη ομάδα (V) περιελάμβανε 98 γυναίκες χωρίς ιστορικό ενδομητρίωσης και σε εμμηνόπαυση. Η έκτη ομάδα (VI) περιελάμβανε 112 γυναίκες χωρίς ιστορικό ενδομητρίωσης και όχι εμμηνόπαυση.

Οι παράμετροι που προσδιορίστηκαν διακρίνονται σε τρεις κατηγορίες. **A.** Καταγράφονταν πλήρες ιστορικό στην πρώτη επίσκεψη της ασθενούς με τη συμπλήρωση ενός προκαθορισμένου εντύπου. Το έντυπο περιελάμβανε βασικά δημογραφικά στοιχεία (ηλικία, βάρος, κάπνισμα, μαιευτικό ιστορικό με τοκετούς και αποβολές, συχνότητα-έναρξη και διάρκεια εμμήνου ρύσεως), καθώς και τα υπερηχογραφικά και εργαστηριακά ευρήματα (γ. αίματος, ανοσολογικός έλεγχος, χρόνοι πήξης, καλλιέργειες). **B.** Την 3^η-7^η ημέρα του κύκλου που προηγούνταν της εξωσωματικής γονιμοποίησης μετρούνταν στο αίμα οι παρακάτω παράγοντες: FSH, LH, estradiol, CA-125, IL-6, VEGF, AMH. **Γ.** Καταγράφονταν όλα τα δεδομένα που προέκυπταν στη διαδικασία της εξωσωματικής γονιμοποίησης (αριθμός ωαρίων, ώριμα ωάρια, αριθμός 2PN, 2PN scoring, cleavage rate, εκτίμηση εμβρύων) και τα αντίστοιχα που αφορούσαν στην υποδεκτικότητα του ενδομητρίου (ποσοστά εγκυμοσύνης, εμφύτευση, βιοχημικής και κλινικής εγκυμοσύνης, αποβολές και γεννήσεις ζώντων παιδιών).

Δεδομένου ότι η ηλικία της δότριας είναι καθοριστικός παράγοντας για την επίτευξη κύησης αφού σχετίζεται αντίστροφα με την ποιότητα των ωαρίων, όλες οι δότριες που χρησιμοποιήθηκαν στη μελέτη μας ήταν κάτω των 32 ετών και αποδεδειγμένης γονιμότητας, έχοντας τουλάχιστον ένα παιδί. Το συνηθέστερο πρωτόκολλο που χρησιμοποιήθηκε για τη διέγερση των ωοθηκών της δότριας ήταν

το πρωτόκολλο διέγερσης με GnRH αγωνιστή και ενίοτε το αντίστοιχο με χρήση GnRH ανταγωνιστών.

Η γονιμοποίηση των ώριμων ωαρίων (στάδιο δεύτερης μειωτικής διαίρεσης) γινόταν με τη μέθοδο της μικρογονιμοποίησης (ICSI). Τα έμβρυα αξιολογούνταν το πρωί της δεύτερης, τρίτης ή και πέμπτης ημέρας της καλλιέργειάς τους και επιλέγονταν τα καλύτερα από αυτά (grade 1 και grade 2) για εμβρυομεταφορά στις λήπτριες (μέγιστος αριθμός εμβρύων: 3), ενώ τα υπεράριθμα καλής ποιότητας καταψύχονταν με τη μέθοδο της υαλοποίησης (Vanderzwalmen P et al., 2009). Η εμβρυομεταφορά πραγματοποιούνταν κάτω από υπερηχογραφική παρακολούθηση (Prapas Y et al., 1995). Η κύηση επιβεβαιωνόταν 14 ημέρες μετά την εμβρυομεταφορά με τη διαπίστωση θετικού τεστ κύησης. Ως κλινική κύηση ορίστηκε η συνύπαρξη αμνιακού σάκου και θετικής καρδιακής λειτουργίας μεταξύ 8^{ης} και 10^{ης} εβδομάδας της κύησης. Ως εξελισσόμενη ορίστηκε η κύηση στην οποία διαπιστώθηκαν φυσιολογικά υπερηχογραφικά ευρήματα στις 22 εβδομάδες της κύησης. Το ποσοστό εμφύτευσης ορίστηκε ως ο λόγος του αριθμού αμνιακών σάκων με θετική καρδιακή λειτουργία προς τον αριθμό των μεταφερόμενων εμβρύων. Τέλος, καταγράφονταν το αποτέλεσμα της εξωσωματικής γονιμοποίησης (βιοχημική-κλινική εγκυμοσύνη, αποβολές- τρίμηνο).

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Από την ανάλυση των αποτελεσμάτων προέκυψε ότι οι γυναίκες **με** ιστορικό ενδομητρίωσης (Ομάδα I, n=210) σε σχέση με τις γυναίκες **χωρίς** ιστορικό ενδομητρίωσης (Ομάδα II, n=210), εμφάνισαν στατιστικά σημαντικές διαφορές σε

ότι αφορά την ηλικία ($p < .0001^*$) και το κάπνισμα ($p < .0001^*$). Δεν υπήρχε στατιστικά σημαντική διαφορά σε ότι αφορά την εμμηνόπαυση, τους τοκετούς και τις αποβολές που είχαν προηγηθεί, την εμμηναρχή, το BMI, καθώς και τις προηγούμενες προσπάθειες εξωσωματικής γονιμοποίησης.

Επίσης, σε ότι αφορά τις ορμονικές και βιοχημικές παραμέτρους δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά σε ότι αφορά την LH (mIU/ml) και την AMH (pmol/ml). Διαφορές όμως παρατηρήθηκαν σε όλες τις υπόλοιπες μετρήσεις. Πιο συγκεκριμένα, σημαντικά υψηλότερες ήταν οι τιμές της FSH (mIU/ml) για τις γυναίκες της Ομάδας II σε σχέση με τις αντίστοιχες της Ομάδας I ($p=0.0067^*$). Σε ότι αφορά όμως την E2 ($p<0001^*$), CA125 ($p=0.0000^*$), IL6 ($p= 0.0000^*$) και VEGF ($p= 0.0000^*$) οι τιμές ήταν υψηλότερες για την Ομάδα I σε σχέση με την Ομάδα II.

Σε ότι αφορά τα εργαστηριακά δεδομένα παρατηρούμε ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά σε κανένα από τους παράγοντες που καταγράψαμε (αριθμός ωαρίων, αριθμός MII ωαρίων, αριθμός 2PN, 2PN scoring, cleavage rate, αριθμός εμβρύων για εμβρυομεταφορά (ET), score εμβρύων). Επίσης οι τιμές ήταν υψηλότερες για την Ομάδα II σε σχέση με την Ομάδα I για την Bhcg ($p=0.0007^*$), την κλινική εγκυμοσύνη ($p <0001^*$), το ρυθμό εμφύτευσης (implantation rate) ($p<0001^*$) και το live birth rate ($p <0001^*$). Ενώ το ποσοστό αποβολής (miscarriage rate) είναι υψηλότερο για τις γυναίκες της Ομάδας II σε σχέση με τις γυναίκες της Ομάδας I ($p = 0.0043$), ο ρυθμός on going pregnancy είναι στατιστικά υψηλότερος για την Ομάδα II σε σχέση με την Ομάδα I ($p=0.0004^*$).

Από την περαιτέρω ανάλυση των αποτελεσμάτων οι γυναίκες **με** ιστορικό ενδομητρίωσης και **όχι** εμμηνόπαυση (Ομάδα III, $n=102$) σε σχέση με τις γυναίκες

με ιστορικό ενδομητρίωσης και με εμμηνόπαυση (Ομάδα IV, n=108) εμφάνισαν στατιστικά σημαντικές διαφορές σε ότι αφορά την ηλικία ($p < 0.0087^*$) και τους προηγούμενους τοκετούς ($p 0.0471^*$). Δεν υπήρχε στατιστικά σημαντική διαφορά σε ότι αφορά το κάπνισμα, τις αποβολές που είχαν προηγηθεί, την εμμηναρχή, το BMI, τη διάρκεια του κύκλου, καθώς και τις προηγούμενες προσπάθειες εξωσωματικής γονιμοποίησης.

Επίσης δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά σε ότι αφορά την LH (mIU/ml), το CA125(U/ml) και την AMH (pmol/ml). Διαφορές όμως παρατηρήθηκαν σε όλες τις υπόλοιπες μετρήσεις. Πιο συγκεκριμένα, σημαντικά υψηλότερες ήταν οι τιμές της FSH (mIU/ml) για τις γυναίκες της Ομάδας IV σε σχέση με τις αντίστοιχες της Ομάδας III ($p=0.0428^*$) της IL6 ($p < .0001^*$) και VEGF($p < 0.0000^*$).

Τέλος, σε ότι αφορά τα εργαστηριακά δεδομένα παρατηρήσαμε ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά σε κανένα από τους παράγοντες που καταγράψαμε (αριθμός ωαρίων, αριθμός MII ωαρίων, αριθμός 2PN, 2PN scoring, cleavage rate, ιθμός εμβρύων για εμβρυομεταφορά (ET), score εμβρύων). Σε ότι αφορά τα εργαστηριακά δεδομένα, παρατηρήσαμε ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά στη Bhcg, την κλινική εγκυμοσύνη, τη βιοχημική εγκυμοσύνη, το ρυθμό εμφύτευσης (implantation rate) , το ρυθμό αποβολών (miscarriage rate), το on going pregnancy, το live birth rate μεταξύ της Ομάδας III και IV.

Οι γυναίκες *χωρίς ιστορικό ενδομητρίωσης και όχι σε εμμηνόπαυση* (Ομάδα V, n=98) σε σχέση με τις γυναίκες *χωρίς ιστορικό ενδομητρίωσης και σε εμμηνόπαυση* Ομάδα VI (n=112) εμφάνισαν στατιστικά σημαντικές διαφορές σε ότι αφορά την ηλικία ($p < 0001^*$), τις προηγούμενες αποβολές ($p 0.0111^*$) και το BMI

($p= 0.0028^*$). Δεν υπήρχε στατιστικά σημαντική διαφορά σε ότι αφορά το κάπνισμα, την εμμηναρχή, καθώς και τις προηγούμενες προσπάθειες εξωσωματικής γονιμοποίησης.

Επίσης, δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά μόνο για την AMH (pmol/ml) μεταξύ των γυναικών των Ομάδων V και VI. Διαφορές όμως παρατηρήθηκαν σε όλες τις υπόλοιπες μετρήσεις. Πιο συγκεκριμένα, σημαντικά υψηλότερες ήταν οι τιμές της FSH (mIU/ml) για τις γυναίκες της Ομάδας VI σε σχέση με τις αντίστοιχες της Ομάδας V ($p<.0001^*$) και της LH (mIU/ml) ($p=0.0202^*$). Αντίθετα, σημαντικά υψηλότερες ήταν οι τιμές για τις γυναίκες της Ομάδας V σε σχέση με τις αντίστοιχες της Ομάδας VI, της E2(pg/ml) ($p<.0001^*$), του CA125(U/ml) ($p<.0001^*$), της IL6 ($p =0.0000^*$) και VEGF ($p= 0.0000^*$).

Σε ότι αφορά τα εργαστηριακά δεδομένα παρατηρήσαμε ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά σε κανένα από τους παράγοντες που καταγράψαμε (αριθμός ωαρίων, αριθμός MII ωαρίων, αριθμός 2PN, 2PN scoring, cleavage rate, αριθμός εμβρύων για εμβρυομεταφορά (ET), score εμβρύων), τη B_{hcg}, την κλινική εγκυμοσύνη, τη βιοχημική εγκυμοσύνη, το ρυθμό αποβολών (miscarriage rate), το on going pregnancy και το live birth rate μεταξύ της Ομάδας III και IV. Σε ότι αφορά το ρυθμό αποβολής (24 έναντι 9, $p=0.0028^*$) και το ρυθμό εμφύτευσης (implantation rate), οι τιμές είναι στατιστικά σημαντικά υψηλότερες για την Ομάδα VI σε σχέση με την Ομάδα V.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Το μοντέλο της δωρεάς ωαρίων παρέχει ένα ενδιαφέρον πρότυπο για τη διερεύνηση της αναπαραγωγής, επειδή αποκλείονται παράγοντες που επηρεάζουν τα ωάρια, ειδικά όταν χρησιμοποιούνται ωάρια που προέρχονται από την ίδια δότρια.

Από την αξιολόγηση των αποτελεσμάτων της παρούσας μελέτης φαίνεται ότι οι γυναίκες με ιστορικό ενδομητρίωσης, έχουν στατιστικά χαμηλότερα ποσοστά εμφύτευσης, εγκυμοσύνης και γέννησης ζώντος παιδιού, σε σύγκριση με τις γυναίκες που πήραν ωάρια από την ίδια δότρια και οι οποίες δεν είχαν ιστορικό ενδομητρίωσης. Οι διαφορές αυτές αν και ήταν μικρότερες στη σύγκριση εμμηνοπαυσιακών γυναικών ωστόσο παρέμεναν στατιστικά σημαντικές. Έτσι προέκυψαν ερωτήματα για το αν μη αναστρέψιμες επιγενετικές αλλαγές, πριν την εμμηνόπαυση, που σχετίζονται με την ενδομητρίωση ή μετα-εμμηνοπαυσιακή υποτροπή της ενδομητρίωσης επηρέασαν τα αποτελέσματα της προσπάθειας εξωσωματικής γονιμοποίησης. Ωστόσο η βαρύτητα της ενδομητρίωσης δεν επηρέασε τα παραπάνω αποτελέσματα και αυτό γιατί ο αριθμός των γυναικών που συμμετείχαν στην εργασία ήταν μεγάλος, περιορίζοντας το στατιστικό σφάλμα.

Συμπερασματικά η υποδεκτικότητα του ενδομητρίου επηρεάζεται από την ενδομητρίωση, ακόμη και όταν οι γυναίκες έχουν περάσει στην εμμηνόπαυση και αυτό έχει αρνητικές επιπτώσεις στην εμφύτευση, εγκυμοσύνη και στη γέννηση ζώντος παιδιού και ως εκ τούτου, είναι σημαντικό να αξιολογείται προσεκτικά κάθε λήπτρια με ιστορικό ενδομητρίωσης.

Από τους βιοχημικούς δείκτες ενδομητρίου που αναλύσαμε το συμπέρασμα που προέκυψε ήταν ότι μόνο η IL-6 και ο VEGF αλλάζουν με την εμμηνόπαυση, ενώ

δεν εμφανίζουν αλλαγές η AMH και ο Ca-125. Πιο συγκεκριμένα, στις λήπτριες ωαρίων χωρίς ιστορικό ενδομητρίωσης, μετά την εμμηνόπαυση, τα επίπεδα τόσο της IL-6 όσο και του VEGF μειώνονται, ενώ στις γυναίκες με ιστορικό ενδομητρίωσης που περνούν στην εμμηνόπαυση τα επίπεδα αυτών αυξάνουν. Ωστόσο από τα αποτελέσματά μας φαίνεται ότι τα ποσοστά εμφύτευσης, εγκυμοσύνης αλλά και γέννησης ζώντος παιδιού δεν επηρεάζονται από τους δείκτες αυτούς.

11. SUMMARY

TITLE

Comparison of anthropometric and hormonal parameters and the receptivity of the endometrium (implantation rates, biochemical and clinical pregnancy) IVF-OD between recipient oocytes with a history of endometriosis and recipient without endometriosis.

INTRODUCTION

Endometriosis is a benign gynecological disease of reproductive age and according to symptoms affecting quality of life of the woman (Simoens S et al., 2007; Simoens S et al., 2012). Although laparoscopy is the gold standard for diagnosis of endometriosis, the possibility can be diagnosed and assessed its impact on less invasive means such as the use of a biological indicator (biomarker), could be extremely high economic and social importance.

Although many mechanisms have been proposed to explain how endometriosis is associated with infertility, there is no important data on the effect of endometriosis on implantation of the fertilized oocyte and the uterus receptivity. Trying to understand if the endometrium, the oocyte, or both are affected by endometriosis was used the egg donation model.

Whilst it is accepted that endometriosis regresses when women nearing menopause, irreversible epigenetic changes of the endometrium in women with endometriosis (Cakmak H and Taylor HS, 2010b), as well as reactivation of endometriosis in women who have passed menopause, with or without hormonal

therapy, has been observed in several cases (Nisolle-Pochet M et al., 1988; Goumenou AG et al., 2003; Oxholm D et al., 2007).

AIM OF THE STUDY

The present study comparing anthropometric and hormonal factors aims to investigate whether endometriosis affects the receptivity of the endometrium in women with a history of endometriosis, in an egg donation program and shared eggs with women who had free history of endometriosis.

SUBJECTS AND METHODS

Women in the study were divided into 2 groups: the first group (I) included 210 women with a history of endometriosis, which were recipient oocytes. The second group (II) included 210 women without history of endometriosis who shared donor's oocytes with women from group I. Also, during the study arose other four subgroups of women by variable menopause. The third group (III) consisted of 102 women with a history of endometriosis in menopause. The fourth (IV) group included 108 women with a history of endometriosis and no menopause. The fifth group (V) included 98 women with no history of endometriosis and menopause. The sixth group (VI) included 112 women with no history of endometriosis and no menopause.

The parameters identified are divided into three categories. A complete history recorded in the patient 's first visit by completing a prescribed form. The form included basic demographic data (age, weigh, smoking, history of obstetric

deliveries and abortions, menarche, frequency and duration of menstruation) and ultrasound and laboratory findings (blood control, immunological control, time of blood coagulation, cultures) . **B** On the 3rd to 7th day of the cycle preceding IVF measured in blood, the following factors : FSH, LH, estradiol, CA-125, IL-6, VEGF, AMH. **C**. Documentation and all elements of effort (number of eggs , mature eggs , number of 2PN, 2PN scoring, cleavage rate, embryo assessment) and the receptivity of the endometrium (pregnancy rate , implantation rate, biochemical and clinical pregnancy , abortions and live births) .

The age of the donor is a key factor in achieving pregnancy as it is known that a woman's age is inversely related to the quality of oocytes, all donors were under 32 years of proven fertility, having at least one child. The most common protocol used for ovarian stimulation of the donor was the long protocol, and sometimes the corresponding using GnRH antagonists.

The fertilization of the mature oocytes (stage of the second meiotic division) was made by the method of microinjection (ICSI). Embryos were evaluated on the morning of the second, third or fifth day of their culture and were selected the best ones (grade 1 and grade 2) for transfer to the recipient (maximum number of embryos 3), while supernumerary good quality were frozen and by the method of vitrification (Vanderzwalmen P et al., 2009). The embryo transfer held under ultrasound monitoring (Prapas Y et al., 1995). Pregnancy was confirmed 14 days after embryo transfer with finding of a positive pregnancy test. A clinical pregnancy was defined as coexistence amniotic sac and positive cardiac function between 8th and 10th week of pregnancy. As defined by the ongoing pregnancy in which normal sonographic findings in 22 weeks of pregnancy. The implantation rate was defined as

the ratio of the number amniotic sacks positive cardiac function to the number of transferred embryos. Finally, recorded the outcome of in vitro fertilization (biochemical - clinical pregnancy, miscarriage and live birth rate) .

RESULTS

The analysis of the results showed that women with a history of endometriosis (Group I, n = 210) compared with women with no history of endometriosis (Group II, n = 210), showed statistically significant differences respecting age ($p < .0001$ *) and the smoking ($p < .0001$ *). There was no statistically significant difference in terms of menopause, births and abortions were preceded menarche, BMI, and previous IVF attempts.

Also, regarding the hormonal and biochemical parameters there was not statistically significant difference in terms of the LH (mIU / ml) and AMH (pmol / ml). Differences were seen in all other measurements, specifically, it was significantly higher values of FSH (mIU / ml) for the women in Group II compared with those of the group I ($p = 0.0067$ *). In that regard however, the E2 ($p < 0.0001$ *), CA125 ($p = 0.0000$ *), IL6 ($p = 0.0000$ *) and VEGF ($p = 0.0000$ *) values were higher for Group I compared to Group II.

Regarding laboratory data we observed that there was no statistically significant difference in any of the factors recorded (number of eggs , number of MII oocytes , number 2PN, 2PN scoring, cleavage rate, number of embryos for embryo transfer (ET), score of embryos) . Also, were higher for Group II compared to Group I Bhcg ($p = 0.0007$ *), clinical pregnancy ($p < 0.0001$ *) and implantation rate ($p < 0.0001$ *) and live birth rate ($p < 0.0001$ *). While the miscarriage rate was again higher for women in

Group II compared with women in Group I ($p = 0.0043$), the rate of going pregnancy was statistically higher for Group II compared with Group I ($p = 0.0004$ *).

A further analysis of the results of women with no history of endometriosis and menopause (Group III, $n = 102$) compared with women with a history of endometriosis and menopause (Group IV, $n = 108$) showed statistically significant differences respecting age ($p < 0.0087$ *) and the previous births ($p 0.0471$ *). There was no statistically significant difference in smoking, abortions, menarche, BMI, duration of the cycle and previous IVF attempts.

No statistically significant differences in terms of the LH (mIU / ml), the CA125 (U / ml) and AMH (pmol / ml). Differences were seen in all other measurements, specifically significantly higher values of FSH (mIU / ml) for women of Group IV compared with those of the Group III ($p = 0.0428$ *) of IL6 ($p < 0.0001$ *) and VEGF ($p < 0.0000$ *).

Regarding laboratory data observed that there was no statistically significant difference in any of the factors recorded (number of eggs , number of MII oocytes , number 2PN , 2PN scoring, cleavage rate, ithmos embryos for embryo transfer (ET), score embryos) . Regarding laboratory data, we observed that there was no statistically significant difference in Bhcg, clinical pregnancy, biochemical pregnancy, (implantation rate), miscarriage rate, the on going pregnancy to live birth rate between Group III and IV.

Women without a history of endometriosis and no menopause (Group V, $n = 98$) compared with women without a history of endometriosis and menopausal Group VI ($n = 112$) showed statistically significant differences respecting age (p

<0001 *), previous miscarriages ($p= 0.0111$ *), BMI ($p = 0.0028$ *). There was no statistically significant difference in smoking, menarche and previous IVF attempts.

There was no statistically significant difference only for AMH ($\mu\text{mol} / \text{ml}$) among women of Groups V and VI. Differences were seen in all other measurements, specifically it was significantly higher values of FSH (mIU / ml) for women of Group VI in relation to those of the Group V ($p <.0001$ *) and LH (mIU / ml) ($p = 0.0202$ *) . Instead, it was significantly higher values for females of Group V in relation to those of the Group VI of E2 (pg / ml) ($p <.0001$ *), the CA125 (U / ml) ($p <.0001$ *) of IL6 ($p = 0.0000$ *) and VEGF ($p = 0.0000$ *).

Regarding laboratory data observed that there was no statistically significant difference in any of the factors recorded (number of eggs, number of MII oocytes, number 2PN, 2PN scoring, cleavage rate, number of embryos for embryo transfer (ET), score embryos), the Bhcg, clinical pregnancy, biochemical pregnancy, the rate of abortion (miscarriage rate), the on going pregnancy and live birth rate between Group III and IV. Regarding the miscarriage rate (24 versus 9, $p = 0.0028$ *) and implantation rate, the rates are significantly higher for Group VI in relation to Group V.

CONCLUSIONS

From the assessment of the results of this study it appears that women with a history of endometriosis, have statistically lower rates of implantation, pregnancy and live births, compared with women who received oocytes from the same donor, which had no history of endometriosis. These differences though were lower in comparison to menopausal women, but remained statistically significant. Thus,

questions arose about whether irreversible epigenetic changes before menopause associated with endometriosis or recurrent postmenopausal endometriosis affect the outcome of IVF. However, the severity of endometriosis did not affect these results and that's why the number of women who participated in the work was great, limiting the statistical error.

In conclusion, the receptivity of the endometrium affected by endometriosis, even when women have gone through menopause and has negative effects on implantation, pregnancy and live birth rate and therefore, it is important to carefully assess each recipient with a history of endometriosis.

From biochemical indices endometrial analyze the conclusion drawn was that only the IL-6 and VEGF changing with menopause, while no changes occur AMH and Ca-125. More specifically, in recipient oocytes without history of endometriosis, after menopause, the levels of both IL-6 and VEGF in reduced while women with a history of endometriosis who are going through menopause these levels increase. However, from our results it appears that the rates of implantation, pregnancy and live birth not affected by these indicators.

12. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Absenger Y, Hess-Stump H, Kreft B, Kratzschmar J, Haendler B, Schutze N, Regidor PA, Winterhager E (2004) Cyr61, a deregulated gene in endometriosis *Mol Hum Reprod* 10:399-407.

Acosta AA, Buttram VC, Besch PK, Malinak R, Franklin RR, Vanderheyden JD (1973) A proposed classification of pelvic endometriosis. *Obstet Gynecol* 42(1):19-25.

Akira S, Hirano T, Taga T, Kishimoto T (1990) Biology of multifunctional cytokines: IL 6 and related molecules (IL 1 and TNF). *FASEB J*. Aug;4(11):2860-7.

Allaire C (2006) Endometriosis and infertility: a review. *J Reprod Med* 5:164-8.

Al-Qahtami A and Groome N (2006) Anti-Mullerian hormone: Cinderella finds new admirers. *J Clin Endocrinol Metab* 91:3760-62.

Arici A, Oral E., Bukulmez O, Olive .L, Jones EE (1996) The effect of endometriosis on implantation: results from Yale university in vitro fertilization and embryo transfer program. *Fertility and Sterility* 65, 603–607.

Arumugam K and Lim JM (1997) Menstrual characteristics associated with endometriosis. *Br J Obstet Gynaecol* 1014(8):948-950.

Attia GR, Zeitoun K, Edwards D, Johns A et al (2000) Progesterone receptor isoform A but not B expressed in endometriosis. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*85, 2897-2902.

Ausprunk DH and Folkman J (1997) Migration and proliferation of endothelial cells in performed and newly formed blood vessels during angiogenesis. *Microvasc Res* 14:53-65.

Βαβίλης Δ (2007) Ενδομητρίωση-Αδενομύωση. Βασικές γνώσεις Μαιευτικής και Γυναικολογίας. 2^η εκδ. *University Studio Press* 79 (suppl):702-709.

Bailey AP, Schutt Ak, Modesitt SC (2010) Fluid endometriosis in a postmenopausal woman. *Fertility and Sterility* 94, 2769.e1–2769.e4.

Bancroft K, Vaughan Williams CA, Elstein M (1992) Pituitary-ovarian function in women with minimal or mild endometriosis and otherwise unexplained infertility. *Clin Endocrinol* Feb;36(2):177-81.

Barbieri RL (1997) Primary gonadotropin-releasing hormone agonist therapy for suspected endometriosis: a nonsurgical approach to the diagnosis and treatment of chronic pelvic pain. *Am J Manag Care* 1997;3:285-90.

Barbieri RL and Missmer S (2002) Endometriosis and infertility: a cause-effect relationship? *Ann N Y Acad Sci*. Mar;955:23-33; discussion 34-6, 396-406.

Barnhart K, Dunsmoor-su R, Coutifaris C (2002) Effect of endometriosis on in vitro fertilization. *Fertility and Sterility* 77, 1148–1155.

Belgore FM, Lip GYH, Wadley M et al. (2001) Plasma levels of vascular endothelial growth factor (VEGF) and its receptor (sFlt-1) in haematological cancers: a comparison with breast cancer. *Am J Haematol* 66:59-61.

Bedaiwy M, Falcone T, Sharma R, et al. (2002) Prediction of endometriosis with serum and peritoneal fluid markers: a prospective controlled trial. *Hum Reprod* 17(2):426-431.

Beecham CT (1966) Classification of endometriosis. *Obstet Gynecol.* 1966 Sep;28(3):437.

Biomarkers Definitions Working Group (2001) Biomarkers and Surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework. *Clin Pharmacol Ther* ;69:89-95.

Blumofeld Z (2004). Hormonal suppressive therapy for endometriosis may not improve patient health. *Fertil Steril.* 31, 487-492.

Bodri D, Colodron M, Vidal R, Galindo A, Durban M, Coll O. (2007) Prognostic factors in oocyte donation: an analysis through egg-sharing recipient pairs showing a discordant outcome. *Fertil Steril.* Dec;88(6):1548-53.

Brandes M, Hamilton CJ, de Bruin JP, Nelen WL, Kremer JA (2010) The relative contribution of IVF to the total ongoing pregnancy rate in a subfertile cohort. *Hum Reprod* 25:118-26.

Bukulmez O, Yarali H, Gurgan T (2001) The presence and extent of endometriosis do not affect clinical pregnancy and implantation rates in patients undergoing ICSI. *European Journal of Obstetrics, Gynecology, and Reproductive Biology* 96, 102–107.

Bulun SE (2009) Endometriosis. *New England Journal of Medicine* 360, 268–279.

Burney R, Talbi S, Hamilton A, Vo Kim Chi, Nyegaard M, Nezhat C, Lessey B, Giudice L (2007) Gene expression analysis of endometrium reveals progesterone resistance and candidate susceptibility genes in women with endometriosis. *Endocrinology* 148, 3814–3826.

Cakmak H, Taylor HS (2010a) Implantation failure: molecular mechanisms and clinical treatment. *Human Reproduction Update* 17, 242–253.

Cakmak H, Taylor HS, (2010b) Molecular mechanisms of treatment resistance in endometriosis: the role of progesterone-hox gene interactions. *Seminars in Reproductive Medicine* 28, 69–74, Epub 2010, Jan 26.

Carvalho LF, Below A, Abrão MS, Agarwal A (2012) Minimal and mild endometriosis negatively impact on pregnancy outcome. *Rev Assoc Med Bras*. Oct;58(5):607-14.

Castell JV, Geiger T, Gross V, Andus T, Walter E, Hirano T, Kishimoto T, Heinrich PC (1988) Plasma clearance, organ distribution and target cells of interleukin-6/hepatocyte-stimulating factor in the rat. *Eur J Biochem*. Nov 1;177(2):357-61.

Cervero A, Horcajadas JA, Domínguez F, Pellicer A, Simón C (2005) Leptin system in embryo development and implantation: a protein in search of a function. *Reprod Biomed Online*. Feb;10(2):217-23.

Chen FP, Soong YK, Lee N, Lo SK (1998) The use of serum CA-125 as a marker for endometriosis in patients with dysmenorrhea for monitoring therapy and for recurrence of endometriosis. *Acta Obstet Gynecol Scand*. Jul;77(6):665-70.

Coccia ME, Rizzello F, Cammilli F, Bracco GL, Scarselli G (2008) Endometriosis and infertility Surgery and ART: An integrated approach for successful management. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 138:54-9.

Cohen-Haguenaer O, Picard Mattei JY, Mattei MG, Serero S, Nguyen VC, De Tand MF, Guerrier D, Hors-Cayla MC, Josso N, Frezal J (1987) Mapping the gene for anti-Mullerian hormone to the short arm of human chromosome 19. *Cytogenet Cell Genet* ;44:2-6.

Conolly DT, Heuvelman DM, Nelson R et al (1989) Tumor vascular permeability factor stimulates endothelial cell growth and angiogenesis. *J Clin Invest* 84:1470-8.

Content J, De Wit L, Poupart P, Opdenakker G, Van Damme J, Billiau A (1985) Induction of a 26-kDa-protein mRNA in human cells treated with an interleukin-1-related, leukocyte-derived factor. *Eur J Biochem.* Oct 15;152(2):253-7.

Cook CL, Siow Y, Taylor S, Fallat M (2000) Serum Mullerian inhibiting substance levels during normal menstrual cycles. *Ferti Steril* 73:659-61.

Cullen TS (1908) Adenomyoma of the uterus. *Philadelphia PA: W.B Saunders.*

Da Fonseca AM, Bagnoli VR, Souza MA, Azevedo RS, Couto Ede B Jr, Soares JM Jr, Baracat EC. (2013) Impact of age and body mass on the intensity of menopausal symptoms in 5968 Brazilian women. *Gynecol Endocrinol.* Feb;29(2):116-8.

Dame JB and Juul SE (2000) The distribution of receptors for the pro-inflammatory cytokines interleukin (IL)-6 and IL-8 in the developing human fetus. *Early Hum Dev.* Apr;58(1):25-39.

Dechaud H, Dechanet C, Brunet C, Reyftmann L, Hamamah S, Hedon B (2009) Endometriosis and in vitro fertilization: a review. *Gynecol Endocrinol* 2009;25:717-21.

Deroanne CF, Hajitou A Calberg-Bacq CM et al (1997) Angiogenesis by fibroblast growth factor 4 is mediated through an autocrine up-regulation of vascularendothelial growth factor expression. *Cancer Res* 57:5590-7.

Diamanti-Kandarakis E (2008) Polycystic ovarian syndrome: pathophysiology, molecular aspects and clinical implications. *Expert Rev Mol Med* 10:e3.

Diaz I, Navarro J, Blasco L, Simon C, Pellicer A, Remohi J (2000) Impact of stage III–IV endometriosis on recipients of sibling oocytes: matched case-control study. *Fertility and Sterility* 74, 31–34.

Dmowski WP, Rana N, Michalowska J, Friberg J, Papierniak C, El-Roeiy A (1995) The effect of endometriosis, its stage and activity, and of autoantibodies on in vitro fertilization and embryo transfer success rates. *Fertility and Sterility* 63, 555–562.

Du H and Taylor HS (2007) Contribution of bone marrow-derived stem cells to endometrium and endometriosis. *Stem cells* 25, 2082–2086.

Ebrard-Charra S, Reyftmann L, Hédon B, Déchaud H (2005) Ultrasonographical predictive factors of ovarian response to stimulation prior to in vitro fertilization. *Gynecol Obstet Fertil* 33:762-7.

Eiducaite A and Tamosiunas V (2004) Activity of eosinophils and immunoglobulin E concentration in the peritoneal fluid of women with endometriosis. *Clin Chem Lab Med.* 42:590-594.

Evans P, Wheeler T, Anthony F, Osmond C (1997) Maternal serum vascular endothelial growth factor during early pregnancy. *Clin Sci (Lond)*. Jun;92(6):567-71.

Falcone T and Lebovic DI (2011) Clinical management of endometriosis. *Obstet Gynecol Sep*;118(3):691-705.

Fedele L, Bianchi S, Marchini M, Franchi D, Tozzi L, Dorta M (1996) Ultrastructural aspects of endometrium in infertile women with septate uterus. *Fertil Steril* 65:750-2.

Fernández-Alonso AM, Cuadros JL, Chedraui P, Mendoza M, Cuadros AM, Pérez-López FR (2010) Obesity is related to increased menopausal symptoms among Spanish women. *Menopause Int.* 2010 Sep;16(3):105-10.

Ferrara N and Henzel WJ (1989) Pituitary follicular cells secrete a novel heparin-binding growth factor specific for vascular endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 161: 851-58.

Ferrara N and Davis-Smyth T (1997) The biology of vascular endothelial growth factor. *Endocrine Rev* 18: 4-25.

Ferrara N (1999) VEGF: Molecular and biological aspects. *Curr Top Microbiol Immunol* 237: 1-30.

Ferrara N (2004) Vascular endothelial growth factor: basic science and clinical progress. *Endocr Rev.* Aug;25(4):581-611.

Freeman EW, Gracia CR, Sammel MD, Lin H, Lim LC, Strauss JF (2007) Association of anti-mullerian hormone levels with obesity in late reproductive-age women. *Fertil Steril.* Jan;87(1):101-6.

Friedman CI, Seifer DB, Kennard EA, Arbogast L, Alak B, Danforth DR (1998) Elevated level of follicular fluid vascular endothelial growth factor is a marker of diminished pregnancy potential. *Fertil Steril* Nov;70(5):836-9.

Gashaw I, Hastings JM, Jackson KS, Winterhager E, Fazleabas AT (2006) Induced endometriosis in the baboon (*Papio anubis*) increases the expression of the proangiogenic factor CYR61 (CCN1) in eutopic and ectopic endometrium. *Biol Reprod* 74:1060-6.

Gazvani R and Templeton A (2002) Peritoneal environment, cytokines, and angiogenesis in the pathophysiology of endometriosis *Reproduction* 123:217-26.

Geber S, Paraschos T, Atkinson G, Margara R, Winston RM (1995) Results of IVF in patients with endometriosis: the severity of the disease does not affect outcome, or the incidence of miscarriage. *Hum Reprod.* 1995 Jun;10(6):1507-11.

Gehr G, Braun T, Lesslauer W (1992) Cytokines, receptors, and inhibitors. *Clin Investig.* Jan;70(1):64-9.

Genbacev OD, Prakobphol A, Foulk RA, Krtolica AR, Ilic D, Singer MS, Yang ZQ, Kiessling LL, Rosen SD, Fisher SJ (2003) Trophoblast L-selectin-mediated adhesion at the maternal-fetal interface. *Science* Jan 17;299(5605):405-8.

Gerber HP, Hillan KJ, Ryan AM, Kowalski J, Keller GA, Rangell L, Wright BD, Radtke F, Aguet M, Ferrara N (1999) VEGF is required for growth and survival in neonatal mice. *Development* Mar;126(6):1149-59.

Giudice LC (1999) Potential biochemical markers of uterine receptivity. *Hum Reprod* Dec;14 Suppl 2:3-16.

Goumenou AG, Chow C, Taylor A, Magos, A (2003) Endometriosis arising during estrogen and testosterone treatment 17 years after abdominal hysterectomy: a case report. *Maturitas* 46, 239–241.

Gupta S, Agarwal A, Agarwal R, Loret de Mola JR (2006) Impact of ovarian endometrioma on assisted reproduction outcomes. *Reprod Biomed Online* 13:349-60.

Halban J. Metastatic Hysteroadenosis (1924) *Wien Klin Wochenschr* 37:1205-6.

Hastings JM and Fazleabas AT (2006) A baboon model for endometriosis: implications for fertility. *Reprod Biol Endocrinol* 4(Suppl 1):S7

Hirano T, Matsuda T, Turner M, Miyasaka N, Buchan G, Tang B, Sato K, Shimizu M, Maini R, Feldmann M, et al (1988) Excessive production of interleukin 6/B cell stimulatory factor-2 in rheumatoid arthritis. *Eur J Immunol.* Nov;18(11):1797-801.

Hirano T, Taga T, Yamasaki K, Matsuda T, Yasukawa K, Hirata Y, Yawata H, Tanabe O, Akira S, Kishimoto T (1989) Molecular cloning of the cDNAs for interleukin-6/B cell stimulatory factor 2 and its receptor. *Ann N Y Acad Sci.* 557:167-78, discussion 178-80.

Hirschowitz JS, Soler NG, Wortsman J (1978) The galactorrhoea-endometriosis syndrome. *Lancet* Apr 29;1(8070):896-8.

Hompes PG and Mijatovic (2007) Endometriosis: the way forward. *Gynecol Endocrinol* 23:5-12.

Hornstein MD, Thomas PP, Gleason RE, Barbieri RL (1992) Menstrual cyclicality of CA-125 in patients with endometriosis. *Ferti Steril.* 58;279.

Hughes E, Fedorkow DM, Collins J, Vandekerckhove P (1997) Ovulation suppression versus placebo in the treatment of endometriosis. In : Lilford R, Hughes E, Vandekerckhove P, eds, *Subfertility Module of the Cochrane Database of Systematic Reviews.* Oxford: The Cochrane Collection.

Hughes E, Fedorkow D, Collins J, Vandekerckhove P (2007) Ovulation suppression for endometriosis. *Cochrane Database Syst Rev.*(3):CD000155.

Jackson MR, Carney EW, Lye SJ, Ritchie JW (1994) Localization of two angiogenic growth factors (PDECGF and VEGF) in human placentae throughout gestation. *Placenta* Jun;15(4):341-53.

Jacobson TZ, Barlow DH, Koninckx PR, Olive D and Farquhar C (2004) Laparoscopic surgery for subfertility associated with endometriosis (Cochrane Review). In *The Cochrane Library, Issue 3.* John Wiley & Sons Ltd, Chichester, UK.

Jones KD and Sutton CJG (2000) Laparoscopic management of ovarian endometriomas: a critical review of current practice. *Curr Opin Obstet Gynecol* 12:309-15.

Jokhi PP, King A, Loke YW (1997) Cytokine production and cytokine receptor expression by cells of the human first trimester placental-uterine interface. *Cytokine* Feb;9 (2):126-37.

Josso N, di Clemente N, Gouedrad L (2001) Anti-Mullerian hormone and its receptors. *Moll Cell Endocrinol* 179:25-32.

Imai A, Takagi A, Tamaya T (2000) Gonadotropin-releasing hormone analog repairs reduced endometrial cell apoptosis in endometriosis in vitro. *Am J Obstet Gynecol*. May;182(5):1142-6.

Indraccolo U and Barbieri F (2010) Silent onset of postmenopausal endometriosis in a woman with renal failure in hormone replacement therapy: a case report. *Journal of Medical Case Reports* 4, 248.

Inoue M, Kobayashi Y, Honda I, Awaji H, Fujii A (1992) The impact of endometriosis on the reproductive outcome of infertile patients. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 167, 278–282.

Iwabe T, Harada T, Sakamoto Y, Iba Y, Horie S, Mitsunari M, Terakawa N. (2003) Gonadotropin-releasing hormone agonist treatment reduced serum interleukin-6 concentrations in patients with ovarian endometriomas. *Fertil Steril*. Aug;80(2):300-4.

Kakumu S, Fukatsu A, Shinagawa T, Kurokawa S, Kusakabe A (1992) Localisation of intrahepatic interleukin 6 in patients with acute and chronic liver disease. *J Clin Pathol* May;45(5):408-11.

Kalu E, Sumar N, Giannopoulos T, Patel P, Croucher C, Sherriff E, Bansal A (2007) Cytokine profiles in serum and peritoneal fluid from infertile women with and without endometriosis. *J Obstet Gynaecol Res.* Aug;33(4):490-5

Kao LC, Germeyer A, Tulac S, Lobo S, Yang JP, Taylor RN, Osteen K, Lessey BA, Giudice LC (2003) Expression profiling of endometrium from women with endometriosis reveals candidate genes for disease-based implantation failure and infertility. *Endocrinology.* Jul;144(7):2870-81.

Kennedy S, Bergqvist A, Chapron C, D'Hooghe T, Dunselman G, Greb R, Hummelshoj L, Prentice A, Saridogan E (2005) ESHRE Special Interest Group for Endometriosis and Endometrium Guideline Development Group. ESHRE guideline for the diagnosis and treatment of endometriosis. *Hum Reprod* 20:2698-704.

Khorram O and Lessey BA (2002) Alterations in expression of endometrial endothelial nitric oxide synthase and alpha(v)beta(3) integrin in women with endometriosis. *Fertil Steril.* Oct;78(4):860-4.

Koninckx PR, Ide P, Vandenbroucke W, Brosens IA (1980) New aspects of the pathophysiology of endometriosis and associated infertility. *J Reprod Med* Jun;24(6):257-60.

Koninckx PR, Meuleman C, Oosterlynck D, Cornillie FJ (1996) Diagnosis of deep endometriosis by clinical examination during menstruation and plasma concentration. *Fertil Steril* 65;280.

Kosugi Y, Elias S, Malinak LR, Nagata J, Isaka K, Takayama M, Simpson JL, Bischoff FZ (1999) Increased heterogeneity of chromosome 17 aneuploidy in endometriosis. *Am J Obstet Gynecol.* Apr;180(4):792-7.

Kowanetz M, Ferrara N (2006) Vascular endothelial growth factor signaling pathways: therapeutic perspective. *Clin Cancer Res* 12: 5018-5022.

Kuivasaari P, Hippelainen M, Anttila M, Heinonen S (2005) Effect of endometriosis on IVF/ICSI outcome: stage III/IV endometriosis worsens cumulative pregnancy and live-born rates. *Human Reproduction* 20, 3130–3135.

La Marca A, Pati M, Orvieto R, Stabile G, Artenisio AC, Volpe A (2006a) Serum anti-mullerian hormone levels in women with secondary amenorrhea. *Fertil Steril* 85:1547-9.

La Marca A and Volpe A (2006b) Anti-Mullerian hormone (AMH) in female reproduction: is measurement of circulating AMH a useful tool? *Clin Endocrinol*; 64:603-10.

Lebovic DI, Mueller MD, Taylor RN (2001) Immunobiology of endometriosis. *Fertil Steril.* 2001 Jan;75(1):1-10.

Lee B, Du H, Taylor H (2009) Experimental murine endometriosis induces DNA methylation and altered gene expression in eutopic endometrium. *Biology of Reproduction* 80, 79–85.

Lee MM, Donahoe PK, Haasegawa T, Silverman B, Crist GB, Best S, Hasegawa Y, Noto RA, Schoenfeld D, MacLaughlin DT (1996) Mullerian inhibiting substance in humans: normal levels from infancy to adulthood. *J Clin Endocrinol* 81:571-6.

Lessey BA, Castelbaum AJ, Sawin SW, Buck CA, Schinnar R, Bilker W, Strom BL (1994) Aberrant integrin expression in the endometrium of women with endometriosis. *J Clin Endocrinol Metab.* Aug;79(2):643-9.

Lessey BA and Young SL (1997) Integrins and other cell adhesion molecules in endometrium and endometriosis. *Seminars in Reproductive Endocrinology* 15, 291–299.

Lessey BA (1998) Embryo quality and endometrial receptivity: lessons learned from the ART experience. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics* 15, 173–176.

Lessey BA (2011) Assessment of endometrial receptivity. *Fertil Steril.* 2011 Sep;96(3):522-9.

Levander G and Normann P (1955) The pathogenesis of endometriosis. An experimental study. *Acta Obstet Gynecol Scand* 34:366-398.

Lomano JM (1987) Nd:Yag laser ablation oearly endometriosis. A report of 61 cases. *Laser Surg Med.*7:56-60.

Loo TC, Lin MY, Chen SH, Chung MT, Tang HH, Lin LY, Tsai YC (2005) Endometrioma undergoing laparoscopic ovarian cystectomy: its influence on the outcome of in vitro fertilization and embryo transfer (IVF–ET). *J Assist Reprod Genet* 22:329-33.

Mahutte NG, Matalliotakis IM, Goumenou AG, Vassiliadis S, Koumantakis GE, Arici A (2003) Inverse correlation between peritoneal fluid leptin concentrations and the extent of endometriosis. *Hum Reprod.* Jun;18(6):1205-9.

Maiorana A, Cicerone C, Niceta M, Alio L (2007) Evaluation of serum CA 125 levels in patients with pelvic pain related to endometriosis. *Int J Biol Markers* Jul-Sep;22(3):200-2.

Malinak LR, Buttram Jr VC, Elias S, Simpson JL (1980) Heritage aspects of endometriosis. Clinical characteristics of familiar endometriosis. *Am J Obstet Gynecol* 137:332-337.

Margalioth EJ, Ben-Chetrit A, Gal M, Eldar-Geva T (2006) Investigation and treatment of repeated implantation failure following IVF-ET. *Hum Reprod.* 2006 Dec;21(12):3036-43..

Martínez S, Garrido N, Coperias JL, Pardo F, Desco J, García-Velasco JA, Simón C, Pellicer A (2007) Serum interleukin-6 levels are elevated in women with minimal-mild endometriosis. *Hum Reprod.* Mar;22(3):836-42.

Matalliotakis I, Panidis D, Vlassis G, Vavilis D, Neonaki M, Koumantakis E (1996) PRL, TSH and their response to the TRH test in patients with endometriosis before, during, and after treatment with danazol. *Gynecol Obstet Invest.* 42(3):183-6.

Matalliotakis IM, Goumenou AG, Koumantakis GE, et al (2003) Serum concentrations of growth factors in women with and without endometriosis: the action of anti-endometriosis medicines. *Inter Immunol.* 3:81-89.

Matalliotakis IM, Arici A, Goumenou AG, Katassos T, Karkavitsas N, Koumantakis EE (2004) Comparison of the effects of leuprorelin acetate and danazol treatments on serum CA-125 levels in women with endometriosis. *Int J Fertil Womens Med.* Mar-Apr;49(2):75-8.

Matorras R et al (1996) Infertile women with and without endometriosis: a case control study of luteal phase and other infertility conditions. *Acta Obstet Gynecol Scand.*

Matsuda T, Hirano T, Nagasawa S, Kishimoto T (1989) Identification of alpha 2-macroglobulin as a carrier protein for IL-6. *J Immunol.* Jan 1;142(1):148-52.

Meuleman C, Vandenabeele B, Fieuws S, Spiessens C, Timmerman D, D'Hooghe T (2009) High prevalence of endometriosis in infertile women with normal ovulation and normospermic partners. *Fertil Steril.* Jul;92(1):68-74.

Meyer M, Clauss M, Lepple –Wienhues A et al (1999) A novel vascular endothelial growth factor encoded by Orf virus, VEGF-E mediates angiogenesis via signaling through VEGFR-2 (KDR) but not VEGFR-1 (Flt-1) receptor kinases. *EMBO J* 18:363-74.

Meyer R (1903) Ueber eine adenomatöse. Wucherung der serosa in einer Bauchuabe. *Zeit Geburt Gynak.* 49:32-38.

Miki S, Iwano M, Miki Y, Yamamoto M, Tang B, Yokokawa K, Sonoda T, Hirano T, Kishimoto T (1989) Interleukin-6 (IL-6) functions as an in vitro autocrine growth factor in renal cell carcinomas. *FEBS Lett.* Jul 3;250(2):607-10.

Missmer SA, Cramer DW (2003) The epidemiology of endometriosis. *Obstet Gynecol Clin North Am.* 30:1-19.

Mol BW, Bayram N, Lijmer JG, Wiegerinck MA, Bongers MY, Van der Veen F, Bossuyt PT (1998) The performance of CA-125 measurement in the detection of endometriosis: a meta-analysis. *Fertil Steril.* 70(6):1101-1108.

Mosmann TR and Coffman RL (1989) TH1 and TH2 cells: different patterns of lymphokine secretion lead to different functional properties. *Annu Rev Immunol.* 7:145-73.

Mueller MD, Vigne JL, Minchenko A, Lebovic DI, Leitman DC, Taylor RN (2000) Regulation of vascular endothelial growth factor (VEGF) gene transcription by estrogen receptors α and β . *Proc Natl Acad Sci USA* 97:10972-10977.

Murphy CR (1995) The cytoskeleton of uterine epithelial cells: a new player in uterine receptivity and the plasma membrane transformation. *Hum Reprod Update.* Nov;1(6):567-80.

Muttukrishna S, Suharjono H, McGarrigle H, Sathanandan M (2004) Inhibin B and anti-mullerian hormone: markers of ovarian response in IVF/ICSI patients. *Brit J Obstet Gynecol* 111:1248-53.

Nakhuda GS, Chu Mc, Wang JG, Sauer MV, Lobo RA (2006) Elevated serum mullerian-inhibiting substance may be a marker for ovarian hyperstimulation syndrome in normal women undergoing in vitro fertilization. *Fertil Steril* 85:1541-2.

Namnoum AB, Hickman TN, Goodman SB, Gehlbach DL, Rock JA (1995) Incidence of symptoms recurrence after hysterectomy for endometriosis. *Fertility and Sterility* 64,898–902.

Navot D, Bergh PA, Williams M, Garrisi GJ, Guzman I, Sandler B, Fox J, Schreiner-Engel P, Hofmann GE, Grunfeld L (1991) An insight into early reproductive processes through the in vivo model of ovum donation. *J Clin Endocrinol Metab.* Feb;72(2):408-14.

Neufeld G, Cohen T, Gengrinovitch S, Poltorak Z (1999) VEGF and its receptors. *FASEB.* 13: 9-22.

Nisolle M and Donnez J (1997) Peritoneal endometriosis, ovarian endometriosis, and adenomyotic nodules of the rectovaginal septum are three different entities. *Fertility and Sterility* Oct;68(4):585-96.

Nisolle-Pochet M, Casanas-Roux F, Donnez J (1988) Histologic study of ovarian endometriosis after hormonal therapy. *Fertility and Sterility* 49, 423–426.

Oliveira VA, Abreu LG, Ferriani RA, Reis RM, Moura MD (2005) Vascular endothelial growth factor in the plasma, follicular fluid and granulosa cells of women with endometriosis submitted to in vitro fertilization--a pilot study. *Gynecol Endocrinol.* May;20(5):284-8.

Oosterlynck DJ, Cornillie FJ, Waer M et al (1991) Women with endometriosis show a defect in natural killer activity resulting in a decreased cytotoxicity to autologous endometrium. *Fertil. Steril.* 56, 45-51.

Oral E and Arici A (1997) Pathogenesis of endometriosis. *Obstet Gynecol Clin North Am* 24:219-33.

Othman Eel-D, Hornung D, Salem HT, Khalifa EA, El-Metwally TH, Al-Hendy A (2008) Serum cytokines as biomarkers for nonsurgical prediction of endometriosis. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* Apr;137(2):240-6

Oxholm D, Knudsen UB, Kryger-Baggesen N, Ravn P (2007) Postmenopausal endometriosis. *Acta Obstetrica et Gynecologica Scandinavica* 4, 1–7.

Parazzini F, Chiaffarino F, Surace, Chatenoud L, Cipriani S, Chiantera V, Benzi G, Fedele L (2004) Selected food intake and risk of endometriosis. *Hum Reprod* 19(8):1755-1759.

Pakrasi PL and Jain AK (2008) Cyclooxygenase-2 derived PGE2 and PGI2 play an important role via EP2 and PPARdelta receptors in early steps of oil induced decidualization in mice. *Placenta* Jun;29(6):523-30.

Pellicer A, Albert C, Mercader A, Bonilla-Musoles F, Remohí J, Simón C (1998) The follicular and endocrine environment in women with endometriosis: local and systemic cytokine production. *Fertil Steril.* Sep;70(3):425-31.

Pittaway DE, Maxson W, Daniell J, Herbert C, Wentz AC (1983) Luteal phase defects in infertility patients with endometriosis. *Fertil Steril* May;39(5):712-3.

Porkas R, Kozac LJ, McCarthy E (1997) Ampulatory and inpatient procedures in the United States, 1994. *Vital Health Stat* 13.132:1-113.

Pouly JL, Canis M, Velemir L, Brugnion F, Rabischong B, Botchorichvili R, Jardon K, Peikrishvili R, Mage G, Janny L (2007) Endometriosis related infertility. *J Gynecol Obstet Biol Reprod* 36:151-61.

Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine (2006) Endometriosis and infertility. *Fertil Steril* 86 Suppl: S156-60.

Prapas Y, Prapas N, Hatziparasidou A, Prapa S, Nijs M, Vanderzwalmen P, Vlassis G, Jones EE (1995) The echoguide embryo transfer maximizes the IVF results. *Acta Eur Fertil* May-Jun;26(3):113-5.

Prapas Y, Panagiotidis I, Kalogiannidis I, Gjata E, Papatheodorou A, Prapa S, Kasapi L, Goudakou M, Prapas N (2010) Double GnRH-antagonist dose before HCG administration may prevent OHSS in oocyte-donor cycles: a pilot study. *Reprod Biomed Online*.

Prapas Y, Goudakou M, Matalliotakis I, Kalogeraki A, Matalliotaki C, Panagiotidis Y, Ravanos K, Prapas N (2012) History of endometriosis may adversely affect the outcome in menopausal recipients of sibling oocytes. *Reprod Biomed Online*. 2012 Nov;25(5):543-8.

Psychoyos A and Prapas I (1987) Inhibition of egg development and implantation in rats after post-coital administration of the progesterone antagonist RU 486. *J Reprod Fertil*. 1987 Jul;80(2):487-91.

Rana N, Thomas S, Rotman C, Dmowski WP (1996) Decrease in the size of ovarian endometriomas during ovarian suppression in Stage IV endometriosis. Role of preoperative medical treatment. *J Reprod Med* 41:384-92.

Redwine DB (1999) Ovarian endometriosis: a marker for more extensive pelvic and intestinal disease. *Fertil Steril* 72:310-5.

Rier HS, Turner ME, Martin DC et al (2001) Serum levels of TCDD and dioxin like chemicals in Rhesus monkeys chronically exposed to dioxin: correlation of increased serum PCB levels with endometriosis. *Tox Sciences*. 59:147-159.

Riva HL, Wilson JH, Kawasaki DM. Effect of norethynodrel on endometriosis. *Am J Obstet Gynecol*. 1961 Jul;82:109-18

Rosa-e-Silva JC, Carvalho BR, Barbosa Hde F, Poli-Neto OB, Rosa-e-Silva AC, Candido-dos-Reis FJ, Nogueira AA (2008) Endometriosis in postmenopausal women without previous hormonal therapy: report of three cases. *Climacteric* 11, 525–528.

Salas MA, Evans SW, Levell MJ, Whicher JT (1990) Interleukin-6 and ACTH act synergistically to stimulate the release of corticosterone from adrenal gland cells. *Clin Exp Immunol* Mar;79(3):470-3.

Sallam HN, Garcia-Velasco JA, Dias S, Arici A (2006) Long-term pituitary down-regulation before in vitro fertilization (IVF) for women with endometriosis. *Cochrane Database Syst Rev* Jan 25;(1):CD004635.

Sampson JA (1927) Peritoneal endometriosis due to menstrual dissemination of endometrial tissue into the peritoneal cavity. *Am J Obstet Gynecol* 14:422-469.

Sarapik A, Haller-Kikkatalo K, Utt M, Teesalu K, Salumets A, Uibo R (2010) Serum anti-endometrial antibodies in infertile women - potential risk factor for implantation failure. *Am J Reprod Immunol*. May;63(5):349-57.

Sasson IE and Taylor HS (2009) Aromatase inhibitor for treatment of a recurrent abdominal wall endometrioma in a postmenopausal woman. *Fertility and Sterility* 92, 1170.e1–1170.e4.

Schindler R, Mancilla J, Endres S, Ghorbani R, Clark SC, Dinarello CA (1990) Correlations and interactions in the production of interleukin-6 (IL-6), IL-1, and tumor necrosis factor (TNF) in human blood mononuclear cells: IL-6 suppresses IL-1 and TNF. *Blood*. Jan 1;75(1):40-7.

Schrager S, Falleroni J, Edgoose J (2013) Evaluation and treatment of endometriosis. *Am Fam Physician*. Jan 15;87(2):107-13.

Schrodt GR, Alcorn MO, Ibanez J (1980) Endometriosis of the male urinary system: a case report. *J Urol*. Nov;124(5):722-3.

Schulman H, Duvivier R, Blattner MS (1983) The uterine contractility index: a research and diagnostic tool in dysmenorrhea. *Am J Obstet*. 145(8):1049-1058.

Sharpe-Timms KL, Piva M, Ricke EA, Surewicz K, Zhang YL, Zimmer RL (1998) Endometriotic lesions synthesize and secrete a haptoglobin-like protein. *Biol Reprod*. Apr;58(4):988-94.

Sherwin JR, Smith SK, Wilson A, Sharkey AM (2002) Soluble gp130 is upregulated in the implantation window and shows altered secretion in patients with primary unexplained infertility. *J Clin Endocrinol Metab* 87:3953-60.

Shifren J, Tseng J, Zaloudek A et al (1996) Ovarian steroid regulation of vascular endothelial growth factor in the human endometrium: implications for angiogenesis

during the menstrual cycle and in the pathogenesis of endometriosis. *J. Clin. Endocrinol Metabol.* 81, 3112-3118.

Scott L (2001) "Analysis of fertilization". In: Gardner D.K., Weissman A., Howles C.M., Shoham Z. (eds) "*Textbook of Assisted Reproductive Techniques*", Martin Dunitz Ltd., σελ. 193.

Seeber B, Sammel MD, Fan X, Gerton GL, Shaunik A, Chittams J, Barnhart KT (2009) Proteomic analysis of serum yields six candidate proteins that are differentially regulated in a subset of women with endometriosis. *Fertil Steril* May 1;93(7):2137-44.

Sehgal PB, Zilberstein A, Ruggieri RM, May LT, Ferguson-Smith A, Slate DL, Revel M, Ruddle FH (1986) Human chromosome 7 carries the beta 2 interferon gene. *Proc Natl Acad Sci U S A.* Jul;83(14):5219-22.

Sehgal PB, Helfgott DC, Santhanam U, Tatter SB, Clarick RH, Ghrayeb J, May LT (1988) Regulation of the acute phase and immune responses in viral disease. Enhanced expression of the beta 2-interferon/hepatocyte-stimulating factor/interleukin 6 gene in virus-infected human fibroblasts. *J Exp Med.* Jun 1;167(6):1951-6.

Sehgal PB, Greininger G, Tosato G (Editors) (1989) Regulation of the acute phase and immune responses. Interleukin-6. *Ann NY Acad Sci* 1989;557:1-583.

Seifer DB, MacLaughlin DT, Christian BP, Feng B, Shelden RM (2002) Early follicular serum mullerian-inhibiting substance levels are associated with ovarian response during assisted reproductive technology cycles. *Fertil Steril* 77:468-71.

Shweiki D, Itin A, Neufeld G, Gitay-Goren H, Keshet E (1993) Patterns of expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) and VEGF receptors in mice suggest a role in hormonally regulated angiogenesis. *J Clin Invest.* May;91(5):2235-43.

Simoens S, Hummelshoj L, D'Hooghe T (2007) Endometriosis: cost estimates and methodological perspective. *Hum Reprod Update.* Jul-Aug;13(4):395-404.

Simoens S, Dunselman G, Dirksen C, Hummelshoj L, Bokor A, Brandes I, Brodsky V, Canis M, Colombo GL, DeLeire T, Falcone T, Graham B, Halis G, Horne A, Kanj O, Kjer JJ, Kristensen J, Lebovic D, Mueller M, Vigano P, Wulschleger M, D'Hooghe T (2012) The burden of endometriosis: costs and quality of life of women with endometriosis and treated in referral centres. *Hum Reprod.* May;27(5):1292-9.

Simpson JL, Bischoff FZ, Kamat A, Buster J, Carson S (2003) Genetics of endometriosis. *Obstet Gynecol Clin N Am* 30:21-40.

Simón C, Gutiérrez A, Vidal A, de los Santos MJ, Tarín JJ, Remohí J, Pellicer A (1994) Outcome of patients with endometriosis in assisted reproduction: results from in-vitro fertilization and oocyte donation. *Hum Reprod.* Apr;9(4):725-9.

Singer T, Barad DH, Weghofer A, Geicher N (2009) Correlation of antimullerian hormone and baseline follicle-stimulating hormone levels. *Fertil Steril* 91:2616-9.

Siow Y, Kires S, Hertweck P, Perlman S, Fallat ME (2005) Serum mullerian-inhibiting substance levels in adolescent girls with normal menstrual cycles or with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 84: 938-44.

Sironi M, Breviario F, Proserpio P, Biondi A, Vecchi A, Van Damme J, Dejana E, Mantovani A (1989) IL-1 stimulates IL-6 production in endothelial cells. *J Immunol.* Jan 15;142(2):549-53.

Somigliana E, Vercellini P, Vigano P, Ragni G, Crosignani PG (2006) Should endometriomas be treated before IVF–ICSI cycles? *Hum Reprod Update* 12:57-64.

Somigliana E, Arnoldi M, Benaglia L, Iemello R, Nicolosi AE, Ragni G (2008) IVF-ICSI outcome in women operated on for bilateral endometriomas. *Hum Reprod* 23:1526-30.

Styne-Gross A, Elkind-Hirsch K, Scott RT Jr (2005) Obesity does not impact implantation rates or pregnancy outcome in women attempting conception through oocyte donation. *Fertil Steril.* Jun;83(6):1629-34.

Sung L, Mukherjee T, Takeshige T, Bustillo M, Copperman AB (1997) Endometriosis is not detrimental to embryo implantation in oocyte recipients. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics* 14, 152–156.

Surrey ES, Silverberg KM, Surrey MW, Schoolcraft WB (2002) Effect of prolonged gonadotropin-releasing hormone agonist therapy on the outcome of in vitro fertilization-embryo transfer in patients with endometriosis. *Fertil Steril.* Oct;78(4):699-704.

Tabibzadeh S (1994) Cytokines and the hypothalamic-pituitary-ovarian-endometrial axis. *Hum Reprod* 9:947-67.

Taga T, Kawanishi Y, Hardy RR, Hirano T, Kishimoto T (1987) Receptors for B cell stimulatory factor 2. Quantitation, specificity, distribution, and regulation of their expression. *J Exp Med.* Oct 1;166(4):967-81.

Taylor HS, Bagot C, Kardana A, Olive D, Arici, A (1999) HOX gene expression is altered in the endometrium of women with endometriosis. *Human Reproduction* 14, 1328–1331.

Tocci A (2009) AMH as a marker to premature ovarian failure. *Fertil Steril (Letter)*, ;92:e41.

Tovey MG, Content J, Gresser I, Gugenheim J, Blanchard B, Guymarho J, Poupart P, Gigou M, Shaw A, Fiers W (1988) Genes for IFN-beta-2 (IL-6), tumor necrosis factor, and IL-1 are expressed at high levels in the organs of normal individuals. *J Immunol.* Nov 1;141(9):3106-10.

Tsoumpou I, Kyrgiou M, Gelbaya TA, Nardo LG (2009) The effect of surgical treatment for endometrioma on in vitro fertilization outcomes: a systematic review and meta-analysis. *Fertil Steril* 92:75-87.

Van Damme J, Cayphas S, Opdenakker G, Billiau A, Van Snick J (1987) Interleukin 1 and poly(rI).poly(rC) induce production of a hybridoma growth factor by human fibroblasts. *Eur J Immunol.* Jan;17(1):1-7.

Van Damme J, Schaafsma MR, Fibbe WE, Falkenburg JH, Opdenakker G, Billiau A (1989) Simultaneous production of interleukin 6, interferon-beta and colony-stimulating activity by fibroblasts after viral and bacterial infection. *Eur J Immunol.* Jan;19(1):163-8.

Van Oers MH, Van der Heyden AA, Aarden LA (1988) Interleukin 6 (IL-6) in serum and urine of renal transplant recipients. *Clin Exp Immunol*. 1988 Feb;71(2):314-9.

Van Swieten EC, van der Leeuw-Harmsen L, Badings EA (2005) Obesity and Clomiphene Challenge Test as predictors of outcome of in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection. *Gynecol Obstet Invest*. 2005;59(4):220-4.

Vanderzwalmen P, Ectors F, Grobet L, Prapas Y, Panagiotidis Y, Vanderzwalmen S, Stecher A, Frias P, Liebermann J, Zech N.H (2009) Aseptic vitrification of blastocysts from infertile patients, egg donors and after IVM. *Reproductive BioMedicine Online* 19, 700–707.

Verit FF and Ayas S (2010) Elevated ghrelin levels in the peritoneal fluid of patients with endometriosis: associations with vascular endothelial growth factor (VEGF) and inflammatory cytokines. *Fertil Steril*. 2010 Jun;94(1):e31

Vigano P, Parazzini F, Somigliana E, Vercellini P (2004) Endometriosis:epidemiology and etiological factors. *Best Pract Res Clin Obstet Gynecol*. 18:177-200.

Von Rocklinghausen F (1896) Adenomyomas and cystadenomas of the wall of the uterus and tube: their origin as remnants of the wolffian body. *Wien Klin Wochenschr* 8:530.

Von Rokitansky (1860) Ueber uterusdrusen-Neobildung in uterus and Ovarian-sarcomen. *Ztsch KK Gessellsch Aertze Wien*.37:577-581.

Yamada Y, Nezu J, Shimane M et al (1997) Molecular cloning of a novel vascular endothelial growth factor, VEGF-D. *Genomics* 42: 483-8.

Yee C, Biondi A, Wang XH, Iscove NN, de Sousa J, Aarden LA, Wong GG, Clark SC, Messner HA, Minden MD (1989) A possible autocrine role for interleukin-6 in two lymphoma cell lines. *Blood*. Aug 1;74(2):798-804.

Waage A, Halstensen A, Shalaby R, Brandtzaeg P, Kierulf P, Espevik T (1989) Local production of tumor necrosis factor alpha, interleukin 1, and interleukin 6 in meningococcal meningitis. Relation to the inflammatory response. *J Exp Med*. Dec 1;170(6):1859-67.

Wang H, Gorpudolo N, Li Y, Feng D, Wang Z, Zhang Y (2009) Elevated vascular endothelial growth factor-A in the serum and peritoneal fluid of patients with endometriosis. *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci*. 2009 Oct;29(5):637-41.

Wartiovaara U, Salven P, Mikkola H et al (1998) Peripheral blood platelets express VEGF-C and VEGF which are released during platelet activation. *Thromb Haemost* 1998;80: 171-5.

Weenen C, Laven JSE, von Bergh ARM, Crandfield M, Groome NP, Visser JA, Kramer P, Fauser BCJM, Themmen APN (2004) Anti-mullerian hormone expression pattern in the human ovary: potential implications for initial and cyclic follicle recruitment. *Mol Hum Reprod* 10:77-83.

Wheeler JM, Johnston BM, Malinak LR (1983) The relationship of endometriosis to spontaneous abortion. *Fertil Steril*. May;39(5):656-60.

Wheeler JM, Knittle JD, Miller JD (1992) Depot leuprolide versus danazol in treatment of women with symptomatic endometriosis. I. Efficacy results. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 167 (5), 1367–1371.

Wicks MJ and Larson CP (1949) Histologic criteria for evaluating endometriosis.

Northwest Med. Sep;48(9):611-3.

Wolfgang J (2001) Pitfalls in the measurement of circulating Vascular Endothelial Growth Factor. Minireview. *Clinical Chemistry* 47:4p617-623.

Woloski BM, Smith EM, Meyer WJ 3rd, Fuller GM, Blalock JE (1985) Corticotropin-releasing activity of monokines. *Science.* Nov 29;230(4729):1035-7.

Word RA, Stull JT, Casey ML, et al (1993) Contractile elements and myosin light chain phosphorylation in myometrial tissue from non pregnant and pregnant women. *J Clin Invest* 92:29.

Wu M and Ho H (2003) The role of cytokines in endometriosis. *Am J Reprod Immunol* 49(5):285-296.

