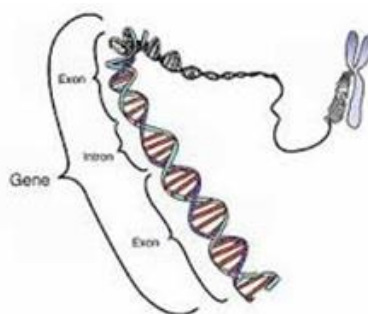
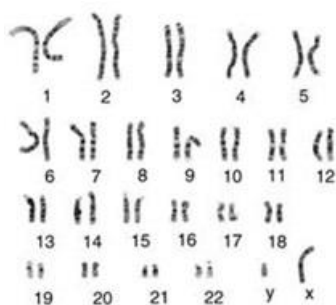




ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΠΕΙΡΑΙΩΣ
ΣΧΟΛΗ ΟΙΚΟΝΟΜΙΚΩΝ, ΕΠΙΧΕΙΡΗΜΑΤΙΚΩΝ ΚΑΙ ΔΙΕΘΝΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΟΙΚΟΝΟΜΙΚΗΣ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ
Π.Μ.Σ. ΟΙΚΟΝΟΜΙΚΑ & ΔΙΟΙΚΗΣΗ ΤΗΣ ΥΓΕΙΑΣ



«Αξιολόγηση Επένδυσης: Κέντρο προγεννητικού ελέγχου και εξωσωματικής γονιμοποίησης»



Narjes Beshari

A.M.: ΔΥ/1231

Επιβλέπων Καθηγητής: Ευάγγελος Σαμπράκος

ΠΕΙΡΑΙΑΣ

ΝΟΕΜΒΡΙΟΣ 2017

Περιεχόμενα

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1 ^ο	3
ΕΙΣΑΓΩΓΗ	3
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2 ^ο	4
ΑΙΤΙΑ ΥΠΟΓΟΝΙΜΟΤΗΤΑΣ	4
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3 ^ο	8
ΣΥΣΤΑΣΗ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟΥ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΒΕΛΤΙΣΤΗΣ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑΣ ΜΟΝΑΔΑΣ ΥΠΟΒΟΗΘΟΥΜΕΝΗΣ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗΣ	8
3.1 Τμήμα Κυτταρογενετικής.....	8
3.2 Τμήμα Μοριακής Κυτταρογενετικής	10
3.3 Τμήμα Arrays CGH- Μοριακής Κυτταρογενετικής.....	11
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4 ^ο	13
ΛΕΠΤΟΜΕΡΗΣ ΚΑΤΑΓΡΑΦΗ ΣΥΣΤΑΣΗΣ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΩΝ & ΚΟΣΤΟΙ ΕΞΕΤΑΣΕΩΝ ΠΟΥ ΔΙΕΝΕΡΓΟΥΝ	13
4.1 Εργαστήριο κυτταρογενετικής	13
4.2 Εργαστήριο μοριακής κυτταρογενετικής	14
4.4 Εργαστήριο μοριακής και arrays CGH.....	16
4.5 Κατάλογος εξετάσεων εργαστηρίου μοριακής κυτταρογενετικής - Arrays CGH.....	18
4.6 Εργαστήριο Μοριακής	19
4.7 Κατάλογος εξετάσεων εργαστηρίου Μοριακής	21
4.8 Οικονομική αποτύπωση επένδυσης.....	27
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5 ^ο	28
ΑΝΑΚΕΦΑΛΑΙΩΣΗ – ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	28
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	29

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1^ο

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η σύγχρονη αντίληψη της ζωής ωθεί την πλειοψηφία των ζευγαριών σήμερα στην απόφαση να δημιουργήσουν οικογένεια μετά τα 30 έτη, αφού οι ανάγκες του σύγχρονου τρόπου διαβίωσης συνεχώς αυξάνονται και διευρύνονται. Λόγω της διάρκειας των σπουδών και των απαιτήσεων της επαγγελματικής σταδιοδρομίας τα ζευγάρια τελικά οδηγούνται στο να κάνουν το πρώτο τους παιδί στα 35 τους χρόνια περίπου, όταν η πιο γόνιμη ηλικία είναι μεταξύ 25 και 30 ετών. Δυστυχώς όμως σε αυτήν την ηλικία ξεκινούν και τα προβλήματα υπό-γονιμότητας σε άνδρες και γυναίκες. Κατά συνέπεια, μετά από μερικές προσπάθειες τεκνοποίησης (το ενδεικτικό εδώ είναι ένα έτος τακτικών σεξουαλικών επαφών χωρίς προφύλαξη), τα ζευγάρια αυτά τελικά απευθύνονται σε κάποιο κέντρο υποβοηθούμενης αναπαραγωγής, αφού η επιστήμη σήμερα έχει αναπτύξει τεχνικές και μεθόδους που συνδυαστικά δίνουν τη δυνατότητα στην πλειονότητα των υπό-γόνιμων ζευγαριών να αποκτήσουν παιδί.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2^ο

ΑΙΤΙΑ ΥΠΟΓΟΝΙΜΟΤΗΤΑΣ

Τα τελευταία χρόνια στις δυτικού τύπου κοινωνίες εμφανίζεται όλο και περισσότερο το φαινόμενο της υπογονιμότητας το οποίο όπως είναι λογικό αυτό οδηγεί τα ζευγάρια σε εξειδικευμένους ιατρούς και κέντρα νοσηλείας με στόχο την εύρεση λύσης. Ο εξειδικευμένος ιατρός και συγκεκριμένα ο γυναικολόγος εξωσωματικής θα εκκινήσει μια διερεύνηση για τα αίτια της υπογονιμότητας για το ζεύγος και στην πρώτη γραμμή έρευνας είναι η γενετική διερεύνηση της υπογονιμότητας.

Για την εύρεση της λύσης του εν λόγω προβλήματος ο ιατρός ακολουθεί τα διεθνή πρότυπα τα οποία συνιστούν γενετική διερεύνηση για τα ζευγάρια με ιστορικό υπογονιμότητας όπως:

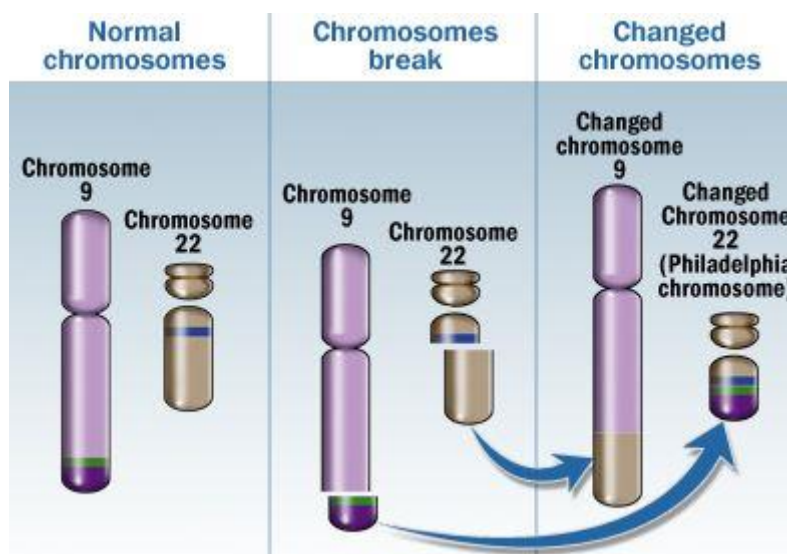
- Ένα χρόνο αποτυχημένων προσπαθειών τεκνοποίησης
- Ύπαρξη ιστορικού πολλαπλών αποβολών
- Ύπαρξη ολιγοσπερμίας και αζωοσπερμίας στους άνδρες

Σύμφωνα με την πολύχρονη εμπειρία, οι βασικοί λόγοι εμφάνισης των προαναφερθέντων προβλημάτων είναι:

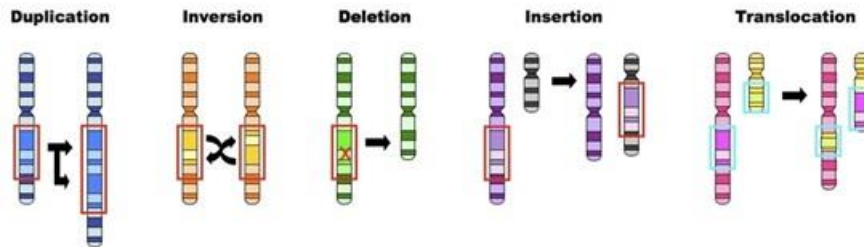
- ❖ Η ηλικία της μητέρας: Συγκεκριμένα οι γυναίκες ηλικίας άνω των 35 ετών έχουν αυξημένο κίνδυνο να κάνουν παιδί με κάποια μορφή χρωμοσωμικής ανευπλοειδίας, με πιο συχνή την τρισωμία του

χρωμοσώματος 21 ή την εμφάνιση Down Syndrome σε σχέση με γυναίκες κάτω των 35 ετών.

- ❖ Ολιγοσπερμία και αζωοσπερμία στους άνδρες: Τα άτομα αυτά μπορεί να υποφέρουν από κάποιο σύνδρομο με το πιο συχνό να είναι το σύνδρομο Klinefelter το οποίο προκαλεί από υπό-γονιμότητα έως και στειρότητα.
- ❖ Φορείς χρωμοσωματικών μεταθέσεων (ισοζυγισμένη ανταλλαγή χρωμοσωματικού υλικού ανάμεσα σε δυο χρωμοσώματα): Τα άτομα αυτά έχουν αυξημένο κίνδυνο πολλαπλών αποβολών σε σχέση με τον υπόλοιπο πληθυσμό, καθώς λόγω της ισοζυγισμένης χρωμοσωματικής μετάθεσης παράγουν πέραν από τους ισοζυγισμένους γαμέτες και γαμέτες μη ισοζυγισμένους γενετικά, οι οποίοι είναι ουσιαστικά παράγωγα της μετάθεσης και οδηγούν σε παθολογικά έμβρυα, τα όποια μπορούν να επιβιώσουν μόνο για μερικές εβδομάδες στη μήτρα, ενώ τελικά αποβάλλονται αφού γενετικά δεν είναι συμβατά με την ζωή.



Παράδειγμα για χρωμοσωματικές μεταθέσεις.



Παραδείγματα για χρωμοσωματικές ανακατατάξεις.

Η παρούσα μελέτη αποσκοπεί στη συστέγαση ενός εργαστηρίου γενετικής μέσα σε ένα κέντρο υποβοηθούμενης αναπαραγωγής. Σκοπός είναι να διευκολυνθούν τα υπογόνιμα ζευγάρια και να τους δοθεί μία ολοκληρωμένη διάγνωση, χωρίς να χρειαστεί να ταλαιπωρηθούν ανάμεσα στο κέντρο υποβοηθούμενης αναπαραγωγής και σε κάποιο εργαστήριο γενετικής, αποφεύγοντας με αυτό τον τρόπο τυχόν σύγχυση των πληροφοριών και οδηγιών που δίνονται στα ζευγάρια. Προϊόν των ανωτέρω είναι η καλή ψυχολογία και η ασφάλεια που θα νιώθει το ζευγάρι κατά την διάρκεια του κύκλου της εξωσωματικής τους.

Επίσης, θα βοηθηθεί και ο γυναικολόγος ο οποίος στη μονάδα του θα έχει δυο συντονισμένες ομάδες επιστημόνων, ομάδα εμβρυολόγων και ομάδα γενετιστών, τις οποίες θα εμπιστεύεται για την διεκπεραίωση της διάγνωσης της υπογονιμότητας του κάθε ζεύγους που θα απευθύνεται σε αυτόν.

Ακόμα περισσότερο, θα προκύψει μείωση κόστους δεδομένου ότι όλες οι εξετάσεις που θα χρειαστούν για την διάγνωση της υπογονιμότητας του έκαστου ζεύγους θα πραγματοποιούνται εντός της ίδιας μονάδας υποβοηθούμενης αναπαραγωγής & γενετικής διάγνωσης, το οποίο καθιστά την τελευταία περισσότερο ανταγωνιστική.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3^ο

ΣΥΣΤΑΣΗ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟΥ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΒΕΛΤΙΣΤΗΣ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑΣ ΜΟΝΑΔΑΣ ΥΠΟΒΟΗΘΟΥΜΕΝΗΣ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗΣ

Όπως αναφέρθηκε στο προηγούμενο Κεφάλαιο 2, η συλλειτουργία ενός εργαστηρίου γενετικής στο χώρο λειτουργίας μονάδας υποβοηθούμενης αναπαραγωγής θα αποφέρει μείωση κόστους. Καθαυτών τον τρόπο παρουσιάζουμε την δομή του εργαστηρίου αυτού.

Για την σύσταση ενός εργαστηρίου γενετικής με ειδικότητα στην διερεύνηση της υπογονιμότητας θα χρειαστούν ουσιαστικά τα παρακάτω περιγραφόμενα τμήματα.

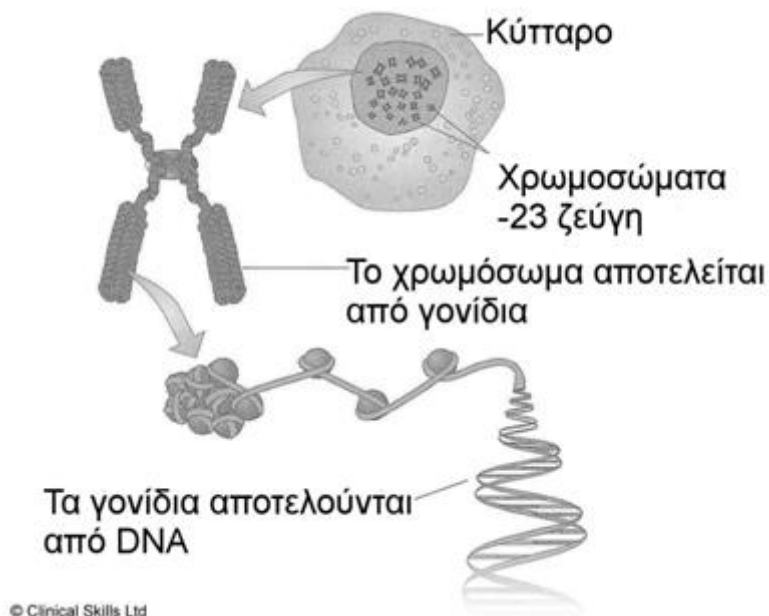
3.1 Τμήμα Κυτταρογενετικής

Στο Τμήμα Κυτταρογενετικής όπου θα διεκπεραιώνεται η ανάλυση των χρωμοσωμάτων του υπό-γόνιμου ζεύγους (Ανάλυση Καρυοτύπου).

Στο τμήμα αυτό θα πραγματοποιείται αρχικά καλλιέργεια των λευκοκυττάρων του περιφερικού αίματος και κατόπιν, από αυτά, θα απομονώνονται τα χρωμοσώματα, τα όποια θα αναλύονται στο μικροσκόπιο υπό μεγέθυνση x1000.

Αναλόγως του αποτελέσματος της κυτταρογενετικής ανάλυσης θα εξαρτηθεί και η συνέχεια της διερεύνησης ή η πορεία της υποβοηθούμενης αναπαραγωγής.

Παραδείγματος χάριν: Αν η κυτταρογενετική ανάλυση του καρυοτύπου (των χρωμοσωμάτων) καταδεικνύει την ύπαρξη κάποιας ισοζυγισμένης μετάθεσης ή αναστροφής κάποιου χρωμοσώματος, σε έναν από το ζεύγος, τότε η πορεία της υποβοηθούμενης αναπαραγωγής θα καθοριστεί έτσι ώστε το ζεύγος να ξεκινήσει την εξωσωματική γονιμοποίηση και όταν το έμβρυο φτάσει στο στάδιο των 3 ημερών (αποτελείται από 8 κύτταρα ή αλλιώς 8 βλαστομερίδια) ή στο στάδιο των 5 ημερών (βλαστοκύστη) ο εμβρυολόγος προχωρεί στη βιοψία εμβρύου, ένα βλαστομερίδιο ή έως και 10 κύτταρα αντίστοιχα. Τα εμβρυικά αυτά κύτταρα θα αναλυθούν με την μέθοδο array CGH και μόνο τα φυσιολογικά και γενετικά ισοζυγισμένα έμβρυα είναι αυτά που τελικά θα επιλεγθούν για να εμφυτευτούν στη μήτρα.



Ένα άλλο συχνό γενετικό πρόβλημα που θα μπορούσε να αποκαλύψει ο καρυότυπος είναι να βρεθεί ότι ο σύζυγος φέρει ένα επιπλέον X

Narjes Beshari Y

χρωμόσωμα (Klinefelter Syndrome), γεγονός που τον καθίστα ολιγοσπερμικό ή και αζωοσπερμικό. Η μόνη λύση για να τεκνοποιήσει το ζευγάρι αυτό είναι μέσω βιοψίας όρχεων, που μπορεί να οδηγήσει σε απομόνωση σπέρματος από την βιοψία και κατόπιν σε εξωσωματική γονιμοποίηση.

Φυσικά υπάρχουν αρκετά άλλα προβλήματα γενετικής φύσεως που θα μπορούσαν να διερευνηθούν αλλά δεν είναι της παρούσης.

3.2 Τμήμα Μοριακής Κυτταρογενετικής

Το Τμήμα Μοριακής Κυτταρογενετικής όπου θα διεκπεραιώνεται η ανάλυση του σπερματικού υγρού με τη μέθοδο Fluorescent in situ hybridization FISH. Ήτοι, σε περίπτωση που ο καρυότυπος του ζεύγους εμφανίζει φυσιολογικά αποτελέσματα, τότε γίνεται διερεύνηση ποσοστού ανευπλοειδιών (υπεραριθμών χρωμοσωμάτων) στα σπερματοζωάρια, κάτι το οποίο θα σήμαινε ότι ο σύζυγος έχει πρόβλημα στον διαχωρισμό των χρωμοσωμάτων του κατά την κυτταρική διαίρεση και κατά την μείωση. Κατ' αποτέλεσμα, αυτός ο μη διαχωρισμός των χρωμοσωμάτων του θα δημιουργήσει ανευπλοειδή έμβρυα (έμβρυα με υπεράριθμο χρωμόσωμα), τα οποία είτε θα αποβάλλονται κατά τους πρώτους μήνες της κύησης, δεδομένο που θα εξηγεί την υπό-γονιμότητα του ζεύγους, είτε θα οδηγεί σε παθολογική κύηση.

Επιπλέον, ένας άλλος παράγοντας που προκαλεί αζωοσπερμία είναι ο σύζυγος να έχει κάποια απώλεια γενετικού υλικού στην περιοχή AZFa,b,c του Y χρωμοσώματος, που είναι υπεύθυνη για την παραγωγή του σπέρματος, ή να είναι φορέας ινοκυστικής νόσου, τα άτομα που πλήττονται από την οποία πάσχουν από ολιγοσπερμία ή αζωοσπερμία.

3.3 Τμήμα Arrays CGH- Μοριακής Κυτταρογενετικής

Το τμήμα Arrays CGH- Μοριακής Κυτταρογενετικής όπου θα διεκπεραιώνεται η διάγνωση του εμβρύου PGD προτού αυτό εμφυτευτεί στην μήτρα, δηλαδή η ανάλυση των χρωμοσωμάτων του βλαστομεριδίου (εμβρυϊκού κύτταρου) με την τεχνική των array CGh, και θα χρησιμοποιείται στις εξής περιπτώσεις:

- a) Σε περίπτωση που ένας από τους γονείς είναι φορέας ισοζυγισμένης μετάθεσης και
- b) σε περίπτωση που το ζεύγος έχει ιστορικό πολλαπλών αποβολών (από 3 και άνω).

Η προεμφυτευτική γενετική διάγνωση (PGD), είχε προταθεί σαν μια μέθοδος για την βελτίωση του ποσοστού των επιτυχημένων εξωσωματικών, καθώς γίνεται διαχωρισμός των φυσιολογικών εμβρύων από τα χρωμοσωματικά παθολογικά έμβρυα (δυσνητικά θανατηφόρες μορφές χρωμοσωματικών ανευπλοειδίων) (Munne et al., 1993), με στόχο:

- a) Την αύξηση του ποσοστού εμφύτευσης των εμβρύων και το ποσοστό εγκυμοσύνης για τα υπογόνιμα ζευγάρια
- b) Την ελάττωση του χρόνου που θα χρειαστεί ένα ζευγάρι για να επιτύχει μια εγκυμοσύνη, αφού θα μεταφερθούν στην μήτρα μόνο τα φυσιολογικά έμβρυα τα οποία έχουν πολύ περισσότερες πιθανότητες να εμφυτευτούν και να επιτύχει η εγκυμοσύνη
- c) Τη μείωση της συχνότητας των αποβολών και
- d) Τη μείωση του κινδύνου εμφάνισης ανευπλοειδίων, (Wilton et al., 2002), η οποία είναι μια χρωμοσωμική κατάσταση που

αναγνωρίζεται ως ένας σημαντικός παράγοντας που συμβάλλει στην αποτυχία εμφύτευσης και στην αποβολή (Lathi et al., 2008).

Οι Ανευπλοειδίες είναι κοινές στα αρχικά στάδια των ανθρώπινων εμβρύων (Harper et al., 1995, Munne et al., 1998). Τα ανευπλοειδικά έμβρυα αντιπροσωπεύουν ποσοστό $\geq 10\%$ των ανθρώπινων κυήσεων, και για τις γυναίκες που πλησιάζουν στο τέλος της αναπαραγωγικής τους ηλικίας η επίπτωση αυτών μπορεί να υπερβαίνει το 50% (Nagaoka et al., 2012).

Ως εκ τούτου, τα ανευπλοειδικά έμβρυα είναι πιθανό να είναι ο κύριος παράγοντας που ευθύνεται για την ταυτόχρονη μείωση στα ποσοστά εμφύτευσης σε σχέση με την ηλικία της μητέρας.

3.4 Τμήμα Μοριακής

Το τμήμα Μοριακής σε περίπτωση που στην οικογένεια του ζεύγους (είτε από την πλευρά της μητέρας είτε από την πλευρά του πατέρα) υπάρχει κάποιο κληρονομικό νόσημα όπως μεσογειακή αναιμία ή κάποια κληρονομική νεοπλασία ή κυστική ίνωση ή κάποια μυϊκή δυστροφία είτε οποιαδήποτε άλλη κληρονομική νόσος, τότε πραγματοποιείται ανάλυση του εμβρυικού DNA για τη μετάλλαξη που προκαλεί την κληρονομική νόσο, και μόνον τα έμβρυα που δεν φέρουν τη μετάλλαξη επιλέγονται για εμφύτευση στην μήτρα.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4^ο

ΛΕΠΤΟΜΕΡΗΣ ΚΑΤΑΓΡΑΦΗ ΣΥΣΤΑΣΗΣ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΩΝ & ΚΟΣΤΟΙ ΕΞΕΤΑΣΕΩΝ ΠΟΥ ΔΙΕΝΕΡΓΟΥΝ

Για την επαρκή αξιολόγηση της εν λόγω επένδυσης χρήζει η λεπτομερής παρουσίαση της δομής και των όποιων τροποποιήσεων στα εργαστήρια αλλά και η παρουσίαση τους κόστους όλων των εξετάσεων που διενεργούν τα οποία θα εμφανίσουν το όποιο πιθανό όφελος.

4.1 Εργαστήριο κυτταρογενετικής

Ο χώρος του εργαστηρίου απαιτεί τρία δωμάτια, το δωμάτιο για της κυτταροκαλλιέργειες, το δωμάτιο για την συγκομιδή των κύτταρων και την απομόνωση των χρωμοσωμάτων και το δωμάτιο για την ανάλυση των χρωμοσωμάτων. Ο απαραίτητος εξοπλισμός του εργαστηρίου αποτελείτε από τις αντίστοιχες εξετάσεις που διενεργούνται:

I. Για τις κυτταροκαλλιέργειες

- ✓ Ένας στείρος θάλαμος
- ✓ Δυο επωαστήρες με σταθερή θερμοκρασία στους 37 βαθμούς

II. Για την συγκομιδή των κύτταρων και απομόνωση των χρωμοσωμάτων

- ✓ Ένας θάλαμος εργασίας με εξαερισμό και φίλτρα για τα χημικά (fume hood)

- ✓ Μία φυγόκεντρος για την πραγματοποίηση της απομόνωσης των λευκοκύτταρων
- ✓ Ένα υδατόλουτρο με θερμοκρασία ύδατος στους 37 βαθμούς, όπου τα κύτταρα επωάζονται σε υπότονο διάλυμα για την διευκόλυνση της επίστρωσης των χρωμοσωμάτων
- ✓ Ένας θάλαμος σταθερών συνθηκών υγρασίας και θερμοκρασίας για την επίστρωση των χρωμοσωμάτων

III. Για την ανάλυση των χρωμοσωμάτων

- ✓ Ένα οπτικό μικροσκόπιο (light microscope) με σύστημα ανάλυσης Ikaros

4.2 Εργαστήριο μοριακής κυτταρογενετικής

Ο εξοπλισμός για το εργαστήριο μοριακής κυτταρογενετικής μπορεί να τοποθετηθεί στο δωμάτιο της συγκομιδής και απομόνωσης των λευκοκύτταρων.

Ο εξοπλισμός για πραγματοποίηση της μεθόδου Fluorescent in situ hybridization FISH στα σπερματοζώαρια είναι:

- ✓ Ένας θάλαμος εργασίας με εξαερισμό και φίλτρα για τα χημικά (fume hood)
- ✓ Υδατόλουτρο
- ✓ Φυγόκεντρος
- ✓ Μία πλάκα υβριδισμού

Τα τρία πρώτα ανωτέρω μηχανήματα μπορούν να είναι κοινά με αυτά της κυτταρογενετικής.

4.3 Κατάλογος εξετάσεων εργαστηρίου κυτταρογενετικής και εργαστηρίου μοριακής κυτταρογενετικής

Στον παρακάτω πίνακα 1 παρουσιάζονται τα κόστη των εξετάσεων που διενεργούνται στο εν λόγω εργαστήριο.

ΕΙΔΟΣ ΕΞΕΤΑΣΗΣ	ΚΟΣΤΟΣ ΑΝΑΛΩΣΙΜΩΝ ΑΝΑ ΔΕΙΓΜΑ (Ευρώ) (χωρίς ΦΠΑ)	ΕΝΔΕΙΚΤΙΚΗ ΧΡΕΩΣΗ ΕΞΕΤΑΣΗΣ (Ευρώ)
Καρυότυπος περιφερικού αίματος	4.5€	175€ /άτομο 250€/ζεύγος
Καρυότυπος εμβρυϊκού αίματος	4.5€	175€
Προγεννητική διάγνωση χρωμοσωματικών ανωμαλιών σε αμνιακό υγρό, χοριακές λάχνες και προϊόντα αποβολής	15/17/17 Αντίστοιχα	180 – 300€
FISH για σύνδρομα μικρο-ελλείψεων	20€	315€
FISH σπέρματος	100€	350€
Απόπτωση σπέρματος	10€	150€
FISH ανίχνευση υποτελομεριδιακών ανακατατάξεων	30€	400€
FISH ανίχνευση κεντρομερικών ανακατατάξεων	30€	400€
PGS ανευπλοειδιών με FISH	45/βλαστομερίδιο	800€ για 6 βλαστομερίδια και 120€ για κάθε ένα επιπλέον
PGD χρωμοσωματικών ανωμαλιών με FISH (3 ανιχνευτές)	Εξαρτάται από την ανακατάταξη και το χρεώνεται ο πελάτης	2200€
PGD χρωμοσωματικών ανωμαλιών με FISH (2 ανιχνευτές)	Εξαρτάται από την ανακατάταξη και το χρεώνεται ο πελάτης	2200€

Πίνακας 1

Σύμφωνα με τα στοιχεία που παρουσιάζονται στον πίνακα 1 ο χρόνος απόσβεσης για το εργαστήριο κυτταρογενετική, με έναν μέσο όρο 1000 περιστατικών ανά έτος, είναι περίπου ένας χρόνος.

4.4 Εργαστήριο μοριακής και arrays CGH

Στο εργαστήριο αυτό θα γίνονται αναλύσεις των εμβρυϊκών κύτταρων (από ένα έως το πολύ δέκα κύτταρα). Για τον λόγο αυτό ο χειριστής/γενετιστής θα πρέπει να είναι πάρα πολύ προσεκτικός, αφού ο κίνδυνος της επιμόλυνσης με το DNA του χειριστή/γενετιστή είναι εξαιρετικά μεγάλος και ο κίνδυνος έγκειται στην απομόνωση και τον πολλαπλασιασμό του DNA του χειριστή/γενετιστή αντί για το εμβρυϊκό DNA.

Αναλυτικότερα, τα νεκρά κύτταρα του δέρματος μας πέφτουν συνεχώς πάνω στις διάφορες επιφάνειες και συνεπώς αν θέλουμε να απομονώσουμε το DNA από ένα εμβρυϊκό κύτταρο θα πρέπει να καλύψουμε προσεκτικά το δέρμα μας ώστε να μην πέσουν κύτταρα από αυτό μέσα στο σωληνάριο στο οποίο περιέχεται το ένα εμβρυϊκό κύτταρο, γιατί τελικά θα γίνει απομόνωση και πολλαπλασιασμός του DNA από τα δερματικά κύτταρα και όχι του εμβρυϊκού κυττάρου που θέλουμε να εξετάσουμε.

Κατόπιν των ανωτέρω προκύπτει ότι το πρωτόκολλο θα πρέπει να πραγματοποιείται σε ένα δωμάτιο (καθαρό δωμάτιο) στο οποίο θα υπάρχει η δυνατότητα ακτινοβολίας με UV ακτινοβολία για τον κατακερματισμό του DNA, οπότε και της “αποστείρωσης” του δωματίου από το DNA μετά από το τέλος κάθε περαστατικού, έτσι ώστε ο χώρος να είναι απόλυτα καθαρός από DNA για το επόμενο περιστατικό. Έτι περαιτέρω, οποιοσδήποτε εισέρχεται στο δωμάτιο αυτό θα πρέπει να

Narjes Beshari Y

είναι καλυμμένος πλήρως με ειδική στολή μιας χρήσεως για τη μείωση της επιμόλυνσης του χώρου με το DNA του.

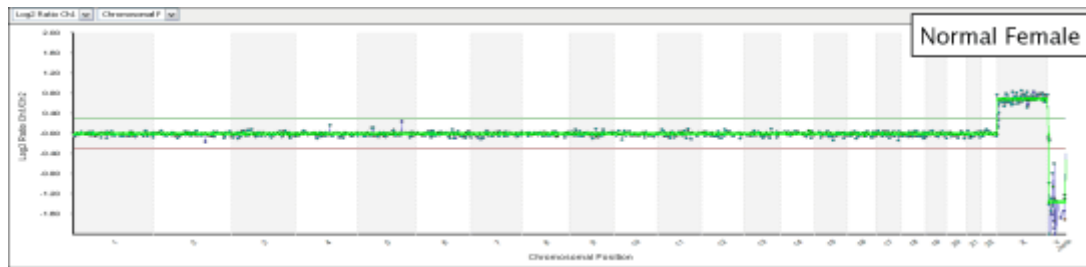
Συνεπώς για τον εξοπλισμό του εργαστηρίου arrays CGH θα χρειαστεί:

A. Ένα καθαρό δωμάτιο με λάμπες UV ακτινοβολίας τοποθετημένες πάνω από τους πάγκους εργασίας και το οποίο θα πρέπει να είναι εξοπλισμένο με τα κάτωθι:

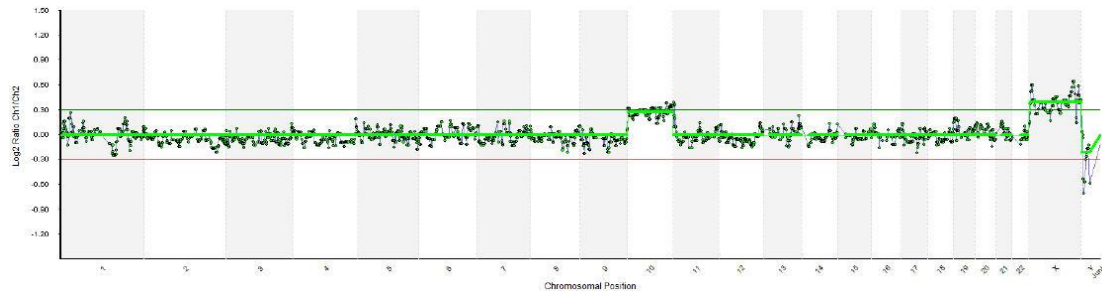
- Ένα fume hood με ενσωματωμένη λάμπα UV ακτινοβολίας για την πραγματοποίηση των μοριακών σταδίων του πρωτοκόλλου.
- Έναν κυκλοποιητή PCR για την πραγματοποίηση της λύσης των εμβρυϊκών κύτταρων και του πολλαπλασιασμού του εμβρυϊκού DNA.

B. Ένα δωμάτιο για τη συνέχιση του πρωτοκόλλου μετά τον πολλαπλασιασμό του εμβρυϊκού DNA και το οποίο θα πρέπει να είναι εξοπλισμένο με τα εξής:

- Ένα fume hood με ενσωματωμένη λάμπα UV ακτινοβολίας για την πραγματοποίηση των μοριακών σταδίων του πρωτοκόλλου.
- Έναν κυκλοποιητή PCR για την πραγματοποίηση του πολλαπλασιασμού του εμβρυϊκού DNA.
- Ένα θάλαμο υβριδισμού για την υβριδοποίηση του εμβρυϊκού DNA με το φυσιολογικό DNA αναφοράς, καθώς η βάση της τεχνικής αυτής είναι η σύγκριση του προς εξέταση εμβρυϊκού DNA με ένα φυσιολογικό DNA αναφοράς το οποίο παρέχεται από τον προμηθευτή.
- Ένα scanner που θα χρησιμοποιείται για τη σάρωση και το διάβασμα του υβριδοποιημένου πια εμβρυϊκού DNA και την σύγκριση του με το DNA αναφοράς.



Φυσιολογικό αποτέλεσμα: το εμβρυϊκό DNA και το φυσιολογικό DNA αναφοράς ταυτίζονται.



Παθολογικό αποτέλεσμα: έμβρυο με τρισωμία του χρωμοσώματος 10.

4.5 Κατάλογος εξετάσεων εργαστηρίου μοριακής κυτταρογενετικής - Arrays CGH

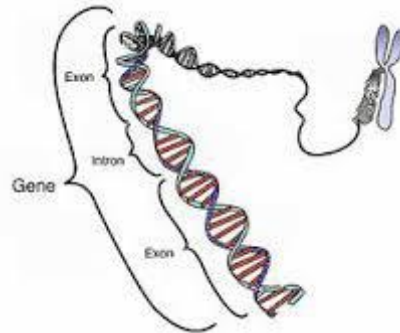
Στον παρακάτω πίνακα 2 παρουσιάζονται τα κόστη των εξετάσεων που διενεργούνται στο εν λόγω εργαστήριο.

ΕΙΔΟΣ ΕΞΕΤΑΣΗΣ	ΚΟΣΤΟΣ ΑΝΑΛΩΣΙΜΩΝ ΑΝΑ ΔΕΙΓΜΑ (Ευρώ) (χωρίς ΦΠΑ)	ΕΝΔΕΙΚΤΙΚΗ ΧΡΕΩΣΗ ΕΞΕΤΑΣΗΣ (Ευρώ)
PGS ανευπλοειδιών	100€/βλαστομερίδιο	1200€ για 6 βλαστομερίδια και 120€ για κάθε ένα επιπλέον
PGD χρωμοσωματικών μεταθεσεων	250€/ βλαστομερίδιο	3000€ για 6 βλαστομερίδια και 275€ για κάθε ένα επιπλέον

Πίνακας 2

4.6 Εργαστήριο Μοριακής

Στο εργαστήριο αυτό θα πραγματοποιούνται αναλύσεις DNA σε επίπεδο γονιδίων.



Κατ' αυτό τον τρόπο θα γίνεται ανάλυση και προσδιορισμός των μεταλλάξεων που προκαλούν μια συγκεκριμένη νόσο η οποία κληρονομείται μέσα σε μια οικογένεια. Άρα, αφού προσδιοριστεί η κληρονομούμενη μετάλλαξη, κατόπιν μπορούν να ελεγχθούν τα έμβρυα του ζεύγους και να εμφυτευτούν μόνο εκείνα που δεν φέρουν την συγκεκριμένη μετάλλαξη.

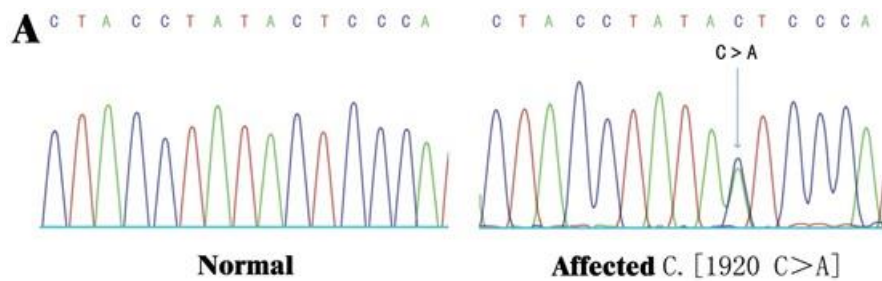
Και στην περίπτωση της μοριακής ανάλυσης ισχύει ότι και στην ανάλυση με την τεχνική array GCH, συνεπώς ο χώρος και ο εξοπλισμός είναι κοινά:

A. Ένα καθαρό δωμάτιο με λάμπες UV ακτινοβολίας τοποθετημένες πάνω από τους πάγκους εργασίας, με τον εξής εξοπλισμό:

- Ένα fume hood με ενσωματωμένη λάμπα UV ακτινοβολίας για την πραγματοποίηση των μοριακών σταδίων του πρωτοκόλλου
- Ένας κυκλοποιητής PCR για την πραγματοποίηση της λύσης των εμβρυϊκών κύτταρων και πολλαπλασιασμού του εμβρυϊκού DNA

B. Ένα δωμάτιο για τη συνέχιση του πρωτοκόλλου μετά τον πολλαπλασιασμό του εμβρυϊκού DNA εξοπλισμένο ως κάτωθι:

- Ένα fume hood με ενσωματωμένη λάμπα UV ακτινοβολίας για την πραγματοποίηση των μοριακών σταδίων του πρωτοκόλλου
- Ένας κυκλοποιητής PCR για την πραγματοποίηση του πολλαπλασιασμού του εμβρυϊκού DNA
- Ένας sequencer που θα χρησιμοποιείται για την σάρωση και το διάβασμα της αλληλουχίας του DNA.



Αλληλουχία DNA όπως διαβάζεται από τον sequencer .

4.7 Κατάλογος εξετάσεων εργαστηρίου Μοριακής

Στους παρακάτω πίνακες 3-8 παρουσιάζονται τα κόστη των εξετάσεων που διενεργούνται στο εν λόγω εργαστήριο.

ΕΙΔΟΣ ΕΞΕΤΑΣΗΣ	ΚΟΣΤΟΣ ΑΝΑΛΩΣΙΜΩΝ ΑΝΑ ΔΕΙΓΜΑ (Ευρώ) (χωρίς ΦΠΑ)	ΕΝΔΕΙΚΤΙΚΗ ΧΡΕΩΣΗ ΕΞΕΤΑΣΗΣ (Ευρώ)
QF-PCR (AMNIO – PCR)	10*	80
Απομόνωση και φύλαξη DNA	5,4- 7,6	100
β-μεσογειακή αναιμία (προγεννητική διάγνωση)	68	250
β-μεσογειακή αναιμία –sequencing	14*	300
β-μεσογειακή αναιμία-ανίχνευση μεταλλάξεων	72	200/άτομο
Κυστική ίνωση - ανίχνευση μεταλλάξεων	96	250/άτομο 360/ζεύγος
Κυστική ίνωση- sequencing	37*	500
Κυστική ίνωση-(προγεννητική διάγνωση)	96	260
Κυστική ίνωση- ΔF508 μετάλλαξη	10*	50
Κυστική ίνωση- ανίχνευση μεγάλων ελλείψεων/διπλασιασμών	36	240

Πίνακας 3

ΕΙΔΟΣ ΕΞΕΤΑΣΗΣ	ΚΟΣΤΟΣ ΑΝΑΛΩΣΙΜΩΝ ΑΝΑ ΔΕΙΓΜΑ (Ευρώ) (χωρίς ΦΠΑ)	ΕΝΔΕΙΚΤΙΚΗ ΧΡΕΩΣΗ ΕΞΕΤΑΣΗΣ (Ευρώ)
Αχονδροπλασία – υποαχονδροπλασία	13*	220
Ανίχνευση μικροελλείψεων/μικροδιπλασιασμών (διευρυμένο πακέτο-MLPA)	40	230
Ανίχνευση υποτελομεριδιακών ανακατατάξεων (αγνώστου αιτιολογίας πνευματική καθυστέρηση- MLPA)	40	230
α1 αντιθρυψίνη	20*	220
Αιμοχρωμάτωση	20*	220
Μεσογειακός πυρετός –FMF	22*	300
HLA B-27	10*	100
Μοριακή ανάλυση Υ χρωμοσώματος (ανίχνευση μικροελλείψεων)	17*	240
Ανίχνευση του γονιδίου SRY (καθορισμός φύλλου)	10*	90
Ανίχνευση φύλλου (φυλοσύνδετα νοσήματα)	10*	150
Αποκλεισμός πατρότητας και συγγενικών σχέσεων	20	270
Προσδιορισμός HLA DQA1 αντιγόνων ιστοσυμβατότητας	80	240
Έλεγχος μητρικής πρόσμιξης	20	125
sequencing	Κατά περίπτωση	Κατά περίπτωση
Νόσος του Huntington	50*	260
Νόσος του Alzheimer- sequencing του γονιδίου PSEN1	35*	500
Ανάλυση σύνδεσης για τη μυϊκή δυστροφία Duchenne/Becker	80*	220

Πίνακας 4

ΕΙΔΟΣ ΕΞΕΤΑΣΗΣ	ΚΟΣΤΟΣ ΑΝΑΛΩΣΙΜΩΝ ΑΝΑ ΔΕΙΓΜΑ (Ευρώ) (χωρίς ΦΠΑ)	ΕΝΔΕΙΚΤΙΚΗ ΧΡΕΩΣΗ ΕΞΕΤΑΣΗΣ (Ευρώ)
Έλεγχος ελλείψεων/διπλασιασμών για τη μυϊκή δυστροφία Duchenne/Becker	74	300
Ανάλυση παραγόντων θρομβοφιλίας (πακέτο 12 παραγόντων)	57	310
Ανάλυση παραγόντων θρομβοφιλίας (πακέτο 3 παραγόντων)	37	200
Ανάλυση απολιποπρωτεΐνης Β	37	200
Ανίχνευση μετάλλαξης στη γλυκοπρωτεΐνη GP1A	10*	150
BCR/ABL ποσοτικός προσδιορισμός	140	350
PML/RARA μετάθεση	130	330
AML1-ETO μετάθεση	130	330
Bcl1-IgH μετάθεση	110	330
Bcl2-IgH μετάθεση	120	330
Γονίδιο FLT3 (ITD και 835)	20*	165
Γονίδιο NPM1 (εξώνιο 12)	20*	165
Γονίδιο CEBPA – sequencing	16*	270
JAK-2 V617F ποσοτικός προσδιορισμός	140	230
Γονίδια BRCA1/BRCA2 -πλήρες sequencing	80*	1000
Γονίδια BRCA1/BRCA2 – έλεγχος μεγάλων ελλείψεων/διπλασιασμών	76 ανά γονίδιο	500
Ανίχνευση συγκεκριμένης μετάλλαξης του γονιδίου BRCA1	14	220
Ανίχνευση συγκεκριμένης μετάλλαξης του γονιδίου BRCA2	14	220

Πίνακας 5

ΕΙΔΟΣ ΕΞΕΤΑΣΗΣ	ΚΟΣΤΟΣ ΑΝΑΛΩΣΙΜΩΝ ΑΝΑ ΔΕΙΓΜΑ (Ευρώ) (χωρίς ΦΠΑ)	ΕΝΔΕΙΚΤΙΚΗ ΧΡΕΩΣΗ ΕΞΕΤΑΣΗΣ (Ευρώ)
Ανίχνευση της μετάλλαξης 1100delC του γονιδίου CHEK2	14*	220
Γονίδιο APC -πλήρες sequencing	57*	500
Γονίδιο APC – έλεγχος μεγάλων ελλείψεων/διπλασιασμών	76	300
Ανίχνευση συγκεκριμένης μετάλλαξης του γονιδίου APC	14	220
Σύνδρομο Lynch-HNPCC ανίχνευση μεταλλάξεων στα γονίδια MLH1,MSH2,MSH6	81*	1400
Σύνδρομο Lynch-HNPCC έλεγχος μεγάλων ελλείψεων/διπλασιασμών στα γονίδια MLH1,MSH2,MSH6	150	500
Μικροδορυφορική ασταθεια –MSI	20*	170
Ανίχνευση συγκεκριμένης μετάλλαξης των γονιδίων MLH1,MSH2,MSH6	14	220
Ανίχνευση μεταλλάξεων στο K-RAS	16*	220
Ανίχνευση μεταλλάξεων στο EGFR	22*	300
Ανίχνευση μεταλλάξεων στο c-KIT	22*	300
Ανίχνευση μεταλλάξεων στο PDGFRa	16*	220
Ανίχνευση μεταλλάξεων στο B-RAF	16*	220
Ανθεκτικότητα /τοξικότητα σε διάφορα φάρμακα	16- 20*	120-220
IgH clonality	150	330
EBV	9*	140
CMV	9*	140

Πίνακας 6

ΕΙΔΟΣ ΕΞΕΤΑΣΗΣ	ΚΟΣΤΟΣ ΑΝΑΛΩΣΙΜΩΝ ΑΝΑ ΔΕΙΓΜΑ (Ευρώ) (χωρίς ΦΠΑ)	ΕΝΔΕΙΚΤΙΚΗ ΧΡΕΩΣΗ ΕΞΕΤΑΣΗΣ (Ευρώ)
CMV ποσοτικός προσδιορισμός	26	220
HSV 1 / 2	10*	140
HHV6 / 7	10*	140
HHV 8	9*	140
VZV	9*	220
HBV	9*	140
HBV ποσοτικός προσδιορισμός	37	320
HCV	40	250
HCV ποσοτικός προσδιορισμός	40	320
HCV προσδιορισμός γονοτύπου	78	320
HIV 1 / 2	36	250
Parvovirus 19	10*	220
HPV τυποποίηση	55± 10	140
Candida	9*	140
Toxoplasma	9*	200
Leishmania	10*	220
Brucella	32	275
Πακέτο ανάλυσης σπέρματος για ερπητοϊούς (CMV,EBV,HSV1,2,HHV6,7)	36	300
Μυκόπλασμα (Mycoplasma hominis)	9*	140
Ουρεόπλασμα	9*	140
Χλαμύδια (Chl.trachomatis)	9*	140

Πίνακας 7

Narjes Beshari Y

«Αξιολόγηση Επένδυσης: Κέντρο προγεννητικού ελέγχου και εξωσωματικής γονιμοποίησης»

ΕΙΔΟΣ ΕΞΕΤΑΣΗΣ	ΚΟΣΤΟΣ ΑΝΑΛΩΣΙΜΩΝ ΑΝΑ ΔΕΙΓΜΑ (Ευρώ) (χωρίς ΦΠΑ)	ΕΝΔΕΙΚΤΙΚΗ ΧΡΕΩΣΗ ΕΞΕΤΑΣΗΣ (Ευρώ)
Πακέτο ανάλυσης μυκόπλασμα/ουρεόπλασμα/χλαμύδια	25	200
Πακέτο ανάλυσης μυκόπλασμα/ουρεόπλασμα/χλαμύδια/ ερπητοϊό	62	360
Μυκοβακτηρίδιο φυματίωσης (M.Tuberculosis)	29	220
Μυκοβακτηρίδιο φυματίωσης (Avium comlex)	29	220
Mycobacterium Paratuberculosis	29	330
Pneumonocystis carinii	34	220
Chlamydia pneumonia	35	220
Mycoplasma pneumonia	35	220
Chlamydia/ Mycoplasma pneumonia	41	300
H1N1	50	130
PGD Προεμφυτευτική διάγνωση: β-μεσογειακή αναιμία/ ινοκυστική νόσος/σύνδρομο Marfan/ οικογενής καρκίνος παχέος εντέρου/ νευροϊνωμάτωση κ.α	Κατά περίπτωση το κόστος επιβαρύνει τον πελάτη	1200 έως 8 βλαστομερίδια και 100 για κάθε ένα επιπλέον βλαστομερίδιο

Πίνακας 8

*Σημείωση 1: Στον υπολογισμό του κόστους αναλωσίμων ανά περιστατικό για τις εξετάσεις της μοριακής δεν έχει συνυπολογιστεί το κόστος των primers.

*Σημείωση 2: Στις παραπάνω εξετάσεις μοριακής καθώς και στην προεμφυτευτική διάγνωση μπορεί να προστεθεί η ανάλυση και άλλων νοσημάτων εφόσον ζητηθούν.

4.8 Οικονομική αποτύπωση επένδυσης

Δεδομένου της ύπαρξης συγκεκριμένου κόστους για την προμήθεια και κατασκευή των εν λόγω εργαστηρίων, το ποσό των δυο Τμημάτων θα φθάσει περί τα 450.00,00€. Ακόμα ο απαιτούμενος χώρος για το εργαστήριο φθάνει περίπου 250 m² χωρίς σε αυτά να συνυπολογίζονται οι χώροι της γραμματείας, της αποθήκης και των γραφείων. Δεδομένης της ύπαρξης του χώρου αλλά και του ποσού επένδυσης αρκεί να βρεθεί η κύρια πηγή εσόδων ώστε να γίνει η κάλυψη της εν λόγω επένδυσης.

Η κύρια πηγή εσόδων των εργαστηρίων για την κάλυψη της εν λόγω επένδυσης συνίσταται από τον αριθμό των εξετάσεων που θα πραγματοποιήσουν όπου σύμφωνα με τα κόστη που αναφέρονται στους πίνακες 1 έως 8 θα εμφανίσουν το σχετικό διάστημα απόσβεσης της επένδυσης.

Με βάση το ιστορικό κίνησης των εργαστηρίων και σύμφωνα με τα προαναφερθέντα κόστη εκτιμάται πως ο χρόνος απόσβεσης της εν λόγω επένδυσης θα φθάσει περίπου τα δύο χρόνια.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5^ο

ΑΝΑΚΕΦΑΛΑΙΩΣΗ – ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η εξωσωματική γονιμοποίηση είναι μια διαδικασία δύσκολη και ψυχοφθόρα, που ενίοτε επαναλαμβάνεται.

Βασικό μέλημα κάθε ιατρικής μονάδας είναι να εκμεταλλευτεί στο έπακρο όλες της δυνατότητες που της προσφέρει η επιστήμη, αντιμετωπίζοντας εν τη γενέσει τα όποια προβλήματα, λαμβάνοντας υπόψη της ιδιαιτερότητες της κάθε εξωσωματικής γονιμοποίησης και του κάθε ζευγαριού ξεχωριστά. Η ανάγκη επιτυχίας μιας εγκυμοσύνης καθιστά αυτά τα κέντρα σαφώς σε πλεονεκτικότερη θέση προσφέροντας ολοκληρωμένες ιατρικές υπηρεσίες, όπως επίσης και την καλύτερη δυνατή εξυπηρέτηση και διάγνωση στους ασθενείς, που τελικά θα οδηγήσουν στην πιο στοχευόμενη και αποτελεσματική θεραπεία. Όταν λοιπόν τρεις ομάδες επιστημόνων ειδικευμένων στην διερεύνηση και την επίλυση του προβλήματος της υπό-γονιμότητας που συνεργάζονται στενά και γνωρίζουν ο ένας την επιστήμη του άλλου, τελικά σχηματίζουν μια σφαιρική εικόνα για το κάθε περιστατικό υπό-γονιμότητας, πετυχαίνοντας πιο γρήγορα μια εγκυμοσύνη, αυτό καθίσα την μονάδα **επιστημονικά επιτυχημένη**. Επιπρόσθετα, από οικονομικής πλευράς όταν όλες οι εξετάσεις που θα χρειαστεί το ζευγάρι κατά την διερεύνηση πραγματοποιούνται μέσα στην μονάδα και όλα τα κέρδη επιστρέφουν σε αυτήν, αυτό καθίσα την μονάδα **οικονομικά επιτυχημένη**.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Specific Constitutional Cytogenetic Guidelines, EUROPEAN CYTOGENETICISTS ASSOCIATION NEWSLETTER, No. 30, July 2012.
- Munne S., Lee A., Rosenwaks Z., Grifo J., Cohen J., 1993, Diagnosis of major chromosome aneuploidies in human pre-implantation embryos, Hum Reprod 8: 2185–2191.
- Wilton L. Pre-implantation genetic diagnosis for aneuploidy screening in early human embryos: a review, PrenatDiagn 2002; 22:512-8.
- Lathi RB, Westphal MD, Milki AA, Aneuploidy in the miscarriages of infertile women and the potential benefit of pre-implantation genetic diagnosis, FertilSteril 2008; 89-353-7.
- Harper JC, Coonen E, Handyside AH, Winston RM, HopmanAH, Delhanty JD, Mosaicism of autosomes and sex chromosomes in morphologically normal, monospermic pre-implantation human embryos, Prenat Diagn1995; 15:41–9.
- Munne S, Cohen J, Chromosome abnormalities in human embryos, HumReprod Update 1998; 4:842–55.
- Nagaoka SI, Hassold TJ, Hunt PA, Human aneuploidy: mechanisms and new insights into an age-old problem, Nat Rev Genet 2012; 13:493–504.
- Hassold T, Chen N, Funkhouser J, Jooss T, Manuel B, Matsuura J, et al, A cytogenetic study of 1000 spontaneous abortions, Ann Hum Genet 1980; 44:151–78.
-

- Lamb NE, Freeman SB, Savage-Austin A, Pettay D, Taft L, Hersey J, et al., Susceptible chiasmate configurations of chromosome 21 predispose to non-disjunction in both maternal meiosis I and meiosis II, Nat Genet 1996;14:400–5.