

Univerzita Karlova Praha

1. lékařská fakulta

DISERTAČNÍ PRÁCE

**Vliv některých toxických látek z prostředí
na reprodukci**

2009

MUDr. Simona Jirsová

Univerzita Karlova Praha

1. lékařská fakulta

DISERTAČNÍ PRÁCE

Vliv některých toxických látek z prostředí na reprodukci

MUDr. Simona Jirsová

Oborová rada: Fyziologie a patofyziologie člověka

Školitel: Doc. MUDr. Jaromír Mašata, CSc.

Praha 2009

PODĚKOVÁNÍ

Předem své práce si dovoluji poděkovat všem, kteří se podíleli na její realizaci a své rodině za vytvoření podmínek k jejímu dokončení.

Mému školiteli Doc. MUDr. Jaromíru Mašatovi, CSc. za trpělivé vedení a všestrannou pomoc při vědecké práci a při tvorbě publikací i samotné disertační práce.

Přednostovi Gynekologicko-porodnické kliniky 1.LF UK a VFN v Praze Prof. MUDr. A. Martanovi, DrSc. za vytvoření podmínek pro vědeckou práci.

Všem spolupracovníkům z Centra asistované reprodukce, kteří se na sbírání dat a tvorbě výsledků podíleli.

Prof. MUDr. V. Benckovi, DrSc. z Ústavu hygieny a epidemiologie 1.LF UK za podněty k dalšímu výzkumu a odborné konzultace.

OBSAH

Úvod.....	5
Popis projektu.....	12
Cíle a hypotézy projektu.....	13
Metodika.....	15
Popis statistických metod.....	17
Výsledky projektu	
• Vztah mezi PCB a OCP v krvi a folikulární tekutině neplodných žen.....	19
• <u>Vztah hladin PCB a OCP k anamnestickým údajům</u>	<u>22</u>
• <u>Vztah hladin PCB a OCP k indikaci k léčbě sterility.....</u>	<u>26</u>
• <u>Vztah hladin PCB a OCP k výsledkům léčby.....</u>	
Diskuze.....	32
Závěry.....	35
Conclusions.....	37
Seznam použité literatury.....	38
Seznam příloh.....	41
• Kopie publikovaných prací.....	42
• Seznam publikací s tématikou vztahující se k disertační práci.....	43
• Seznam dalších publikací.....	44
• Seznam posterových a ústních prezentací.....	45
Seznam použitých zkratk.....	47

Odstraněno: Cíle 2-

Odstraněno: Cíle 3-

Odstraněno: Cíle 4-

ÚVOD

Neplodnost má velký dopad na kvalitu života páru. Jak vyplývá z definice zdraví podle světové zdravotnické organizace (WHO), zdraví není pouhá absence nemoci, ale stav úplné fyzické, psychické a sociální pohody jedince.

Specializované ambulance pro léčbu neplodnosti proto vyhledává v současné době 15 - 20 % párů.

1.1. In vitro fertilizace a její současný stav

Základní metodou **asistované reprodukce (AR)** je mimotělní oplodnění a přenos embrya do dělohy - **in vitro fertilizace a embryotransfer (IVF+ET)**.

První dítě bylo počaté technikou mimotělního oplození v roce 1978 a v současné době počet dětí počatých metodou IVF+ET dosahuje více než 2% všech narozených.

Úspěšnost tohoto léčebného programu se pohybuje okolo 40-50% dosažených těhotenství na přenos embrya.

V popředí současného zájmu lékařů zabývajících se metodami asistované reprodukce je zvyšování úspěšnosti této metody, tj. zvyšování pravděpodobnosti otěhotnění. K tomu je nutné zmapovat faktory, které úspěšnost ovlivňují a snažit se eliminovat všechny negativní vlivy, které se mohou podílet na neúspěchu metod AR.

1.2. Základní fáze léčby metodou IVF+ET

1. fáze: **řízená hyperstimulace vaječnicků (COH - controlled ovarian hyperstimulation)**. Jejím účelem je dosáhnout optimálního počtu zralých vajíček (oocytů). V léčebných protokolech se využívá efektu analog hypothalamického hormonu GnRH (gonadotrophin releasing hormon), kteří svojí vyšší vazebnou kapacitou k hypofyzárním receptorům způsobují pokles produkce endogenních hypofyzárních hormonů - folikulostimulačního (FSH) a luteinizačního (LH) hormonu. Jejich použitím dosahujeme kontroly nad stimulací ovarii a zabráníme

Odstraněno: ¶

¶

JEDNOSTRÁNKOVÝ SOUHRN V ČEŠTINĚ
CÍL STUDIE: PROKÁZAT MOŽNOST DETEKCE POLYCHLOROVANÝCH BIFENYLŮ (PCB) A ORGANOCHEMICKÝCH PESTICIDŮ (OCP) V KRVI A FOLIKULÁRNÍ TEKUTINĚ NEPLODNÝCH ŽEN. PROKÁZAT JEJICH KUMULACI VE FOLIKULÁRNÍ TEKUTINĚ A ZJISTIT, JAK JEJICH HLADINY OVLIVŇUJÍ ÚSPĚŠNOST LÉČBY NEPLODNOSTI.
METODIKA: HLADINY PCB A OCP JSME STANOVILI NEJPRVE V KRVI A FOLIKULÁRNÍ TEKUTINĚ 30 ŽEN ZAŘAZENÝCH DO PROGRAMU MIMOTĚLNÍHO OPLOZENÍ A PŘENOSU EMBRYA (IVF+ET) A POTVRDILI MOŽNOST JEJICH DETEKCE. BYLA PROKÁZÁNA KUMULACE TĚCHTO XENOBIOTIK VE FOLIKULÁRNÍ TEKUTINĚ. V DALŠÍM SLEDOVÁNÍ JSME ANALYZOVALI SOUVISLOST S ANAMNESTICKÝMI ÚDAJI A VLIV TĚCHTO LÁTEK NA ÚSPĚŠNOST PROGRAMU LÉČBY NEPLODNOSTI U CELKOVÉHO SOUBORU 99 PACIENTEK.
VÝSLEDKY: U PCB 153, PCB 138, PCB 118+123, PCB 1 (... [1]

Odstraněno: ¶

SUMMARY
THE AIM OF THIS STUDY: TO CONFIRM THE POSSIB (... [2]

Odstraněno: narozených

Odstraněno: ě

Odstraněno: 3

Odstraněno: .

Odstraněno: K tomu se používají lidské menopauzální gonadotropiny (hMG)- směs luteinizačního (LH) a (... [3]

Odstraněno: Současně se v

Odstraněno: příznivého

Odstraněno: . Tyto hormony

Odstraněno: několiknásobně

Odstraněno: a sekrece

Odstraněno: sou aplikovány, aby bylo

Odstraněno: ženo

Odstraněno: a eliminován vliv endogen

ovulaci před odběrem zralých oocytů. Ke stimulaci růstu folikulů se používají lidské menopauzální gonadotropiny (hMG) - směs LH a FSH, nebo samotné FSH. V posledních letech se ke kontrole produkce endogenních hypofyzárních hormonů rozšířilo i používání antagonistů GnRH.

Odstraněno: ní

Léčebné protokoly se liší dobou zahájení a délkou aplikace analog GnRH. Nejčastěji využívaný je v současnosti dlouhý protokol s použitím agonistů GnRH a krátký protokol s použitím antagonistů GnRH.

Odstraněno: využívají účinků analog či antagonistů GnRH a exogenních gonadotropních hormonů. Liší

Odstraněno: se

Odstraněno: t

Odstraněno: m

Odstraněno: měřením

Odstraněno: oocytu

Průběh stimulace je kontrolován ultrazvukovým sledováním růstu folikulů. Cílem této kontroly je odhadnout optimální dobu aplikace hCG (lidský choriový gonadotropin), kterým je zahájeno zrání ovocytu a spuštění ovulace (uvolnění oocytu z folikulu).

Odstraněno: Po aplikaci hCG je nutno do 36-38 hodin provést aspiraci folikulární tekutiny s oocytem.

2. fáze: **aspirace folikulární tekutiny.** Po aplikaci hCG je nutno do 36-38 hodin provést aspiraci folikulární tekutiny s oocytem. Dnes dominuje ambulantní metoda, kdy je pod ultrazvukovou kontrolou aspirována folikulární tekutina se zralým oocytem cestou přes klenby poševní.

Odstraněno:

Odstraněno: je

Odstraněno: v

3. fáze: **laboratorní část.** V této fázi jsou získané oocyty izolovány z folikulární tekutiny a oplozeny spermii. Následuje kultivace embrya, která standardně trvá 48 hodin. Ve snaze přiblížit se fyziologickým podmínkám lze tuto dobu prodloužit.

4. fáze: **embryotransfer** (zavedení embrya do dutiny děložní). Zvýšení efektivity IVF programu je limitováno nízkým „implantation rate“. Proto se v minulosti transferoval do dělohy větší počet embryí. Tím se však zvyšovalo riziko vícečetné gravidity. V současnosti se v našich podmínkách zavádějí maximálně dvě embrya. Zbylá lze zamrazit a použít v dalších léčebných cyklech (1).

Odstraněno: Proto se v

1.3. Faktory ovlivňující úspěšnost IVF+ET programu

Odstraněno: 5

Odstraněno: :

Embryonální faktor

Kromě genetických faktorů je možný i vliv prostředí obklopujícího oocyt ve folikulu. Jsou to buňky granulózy a po jejich rozvolnění folikulární tekutina. Tato tekutina

může obsahovat plazmatické bílkoviny, proteiny transportující steroidy (SHBP), enzymy, plazminogen, heparin sulfát, steroidní hormony, hypofyzární hormony, nesteroidní ovariální faktory a také lipofilní toxické látky.

Mateřský faktor

Odstraněno: m

Na ovlivnění výsledků léčby se podílí věk pacientky, ovariální rezerva, doba trvání neplodnosti, způsob ovariální stimulace, plazmatická hladina hypofyzárních hormonů, kvalita luteální fáze, děložní faktor (kvalita sliznice děložní, myomy, polypy, krevní průtok dělohou), celkový zdravotní stav ženy a infekce genitálního traktu.

Mužský faktor

Na kvalitu embryí a úspěšnost IVF metody má vliv i kvalita spermií. Horší kvalita spermií, či faktory omezující jejich schopnost oplodnit oocyty mohou limitovat počet a kvalitu získaných embryí.

Odstraněno: -

Odstraněno: í a jejich kvalitu

1.4. Vliv toxických látek z prostředí na reprodukci

Odstraněno: Vliv některých faktorů ovlivňujících úspěšnost IVF + ET programu je již evidentně prokázán, některé jsou zatím diskutabilní. Vzhledem k vysoké finanční náročnosti IVF+ET programu vede každé zvýšení úspěšnosti tohoto programu k finančním úsporám. Proto jsme se soustředili na faktory, jejichž vliv na úspěšnost IVF+ET programu je předpokládán, ale zatím ne zcela pro

Vědecko technický rozvoj přispěl k usnadnění životních podmínek. Současně však podstatnou měrou vzrostlo ohrožení zdraví člověka i celého životního prostředí, zvířat i rostlin.

Již déle než půl století jsou sledovány negativní důsledky znečištění životního prostředí na lidské zdraví. V současné době se dostává do popředí otázka možného vlivu znečištění prostředí na poruchy reprodukce člověka (2, 3).

Odstraněno: 6

Odstraněno: 1

Normální ženská reprodukce je ovlivňována také chemickými látky a dalšími vlivy prostředí (ultrafialové záření, elektromagnetické pole atd). Žena je během svého reprodukčního období stále více vystavena vlivu chemikálií na pracovišti a v životním prostředí. Stejně faktory ovlivňují i fertilitu mužů (4, 5).

Odstraněno: 2

Odstraněno: 0

Odstraněno: 32

Velké množství syntetických chemických látek přítomných v prostředí je podezřelých z negativního vlivu na reprodukci - reprodukční toxiny. Poškozují

reprodukční orgány (ovaria, dělohu, prsy, mozek) během embryogeneze, puberty, reprodukčního života a menopauzy (6, 7). Jsou popisovány poruchy implantace, poruchy menstruačního cyklu, anovulace, patologický vývoj embrya a vyšší výskyt spontánních potratů.

Odstraněno: 31

Působí v organismu jako tzv. endokrinní disruptory (endokrinní modulátory). Patří k nim organochlorované pesticidy, polyhalogenované a polycyklické uhlovodíky, některé těžké kovy (8, 9), ftaláty, organická rozpouštědla, látky spojené s kouřením a další.

Do potravinového řetězce se dostávají aplikací průmyslových hnojiv, průmyslovými emisemi a odpady, závlahovými vodami a podobně. Jsou dále kumulovány v organismu a to i v reprodukčním traktu.

Odstraněno: Zvláště těžké kovy

Odstraněno: (6)

Účinek toxických chemických látek (TCHL) na funkci ženského reprodukčního systému je závislý na době a intenzitě expozice a vnímavosti cílové tkáně. Ta je určována stupněm vývoje organismu. Nadprahová dávka toxických či škodlivých látek způsobuje alteraci reprodukčního systému působením na endokrinní a imunitní systém.

Ovlivněním imunitního systému může být porušena sekrece cytokinů makrofágy a aktivovanými T buňkami. Může dojít k poškození komunikace mezi imunitními buňkami a ke změně normální imunitní odpovědi (10).

Odstraněno: 31

1.5. Endokrinní disruptory (ED)

Jsou to exogenní chemické látky, které po vstupu do buňky a po vazbě na receptor mohou vstoupit do interakce s genomem buňky. Ovlivněním specifických genů pak mohou měnit funkci genomu ve smyslu stimulace, či inhibice. Mohou ovlivnit normální buněčný proces, jako je diferenciace, mitóza, meióza, apoptóza, migrace, intercelulární komunikace, oprava nukleových kyselin či mitochondriální funkce. Mohou se navázat na hormonální receptor s rozdílnou afinitou, než přirozený hormon. K dosažení stejné estrogení aktivity, musí být koncentrace chemické látky až 100 000 krát vyšší než u endogenního estrogenu. Je třeba vzít v úvahu jejich rozpustnost v tucích, rezistenci na metabolický rozpad a dlouhodobou expozici (několik desetiletí) jako výsledek bioakumulace v potravinovém řetězci.

Odstraněno: často napodobují hormony, blokují jejich účinek či spouští odchýlnou hormonální aktivitu.

Odstraněno: Někteří autoři proto zlehčují nebezpečí těchto TCHL s odkazem na přirozeně se vyskytující estrogény v naší potravě (v ovoci, zelenině, oříškách). Ty se vyskytují v řádově několikrát vyšší koncentraci než mezi TCHL a přesto nemají nepříznivý účinek (28).

Organochlorované pesticidy (OCP) - jako je např. DDT (1,1,1-trichlor-2,2-bis(4-chlorfenyl)ethan) a jeho metabolity DDD (1,1-dichlor-2,2-bis(4-chlorfenyl)ethan) a DDE (1,1-dichlor-2,2-bis(4-chlorfenyl)ethen), patří do skupiny reprodukčních toxinů. Hlavním degradačním produktem DDT je DDE. Tyto produkty a meziprodukty chemické výroby jsou považovány za potenciální původce endokrinních poruch.

DDT bylo poprvé syntetizováno již v roce 1874, jeho insekticidní účinky však objevil až v roce 1939 Švýcar P. Miller, a zavedeno do praxe bylo v USA a Velké Británii počátkem 40tých let minulého století. Jeho produkce byla v průmyslově vyspělých zemích ukončena po roce 1972, kdy se prokázalo poškození reprodukce volně žijících druhů (11).

Odstraněno: (dichlorodifenylní chlorethan) b

Odstraněno: objeve

Odstraněno: no v

Odstraněno: 8

Odstraněno:

Odstraněno: 2

DDT a jeho metabolity působí na reprodukční systém a dávají se do souvislosti také s karcinomem prsu, potraty a předčasnými porody.

Polychlorované bifenyly (PCB) - jsou skupina chemických sloučenin stávající z 209 kongenerů od mono do delta chloro substituovaných. S nárůstem znalostí o jejich biologických účincích bylo zjištěno, že některé kongenery jsou více toxické než druhé. V roce 1998 WHO bylo definováno 12 kongenerů s toxicitu podobnou dioxinům (dioxin-like PCB, DLPCBs-non-ortho: 77, 81, 126, 169 and mono-ortho: 105, 114, 118, 123, 156, 157, 167 a 189). Jejich výroba začala v USA v roce 1929. Odhadované množství v sedmdesátých letech činilo v Evropě a USA 450 tisíc tun, v celém světě jeden milion tun PCB. Nyní je jejich produkce v mnoha zemích již výrazně omezena. Česká republika se řadila mezi státy a významnou produkcí PCB až do roku 1984, kdy byla jejich výroba zastavena.

Odstraněno: ¶ stále

Hlavním zdrojem naší expozice je konzumace ryb z kontaminovaných vod, mléčných výrobků a tučného masa.

Mezi možnými účinky, je popisována růstová retardace plodu, prenatální ztráty plodu a poruchy krátkodobé paměti dětí, PCB mohou negativně působit i na corpus luteum a snižovat produkci progesteronu, mají negativní vliv na implantaci embrya u zvířecích modelů (12, 13). Další studie na zvířecích modelech upozorňují na možný pokles hmotnosti dělohy a snížené hladiny estradiolu (14). Ovlivňují produkci hormonů štítné žlázy (15). Je u nich popisovaný i kancerogenní a teratogenní efekt (16, 17).

Odstraněno: poruchami reprodukce u žen

Odstraněno: infertilita,

Odstraněno: (19)

Ftaláty – jsou používány při výrobě některých částí automobilů, zdravotnických potřeb, plastů, nádob na nápoje atd. Zprávy o nepříznivém účinku na reprodukci vycházejí z pokusů na laboratorních zvířatech a poukazují na potraty, vrozené vývojové vady, prodloužení menstruačního cyklu, potlačení či opoždění ovulace, redukcii velikosti zrajícího folikulu.

Diethylstilbestrol (DES) - tento syntetický estrogen byl používán původně k prevenci potratů. Po té byla zjištěna jeho souvislost s vývojem vaginálního karcinomu z jasných buněk u děvčat, které byly během fetálního vývoje vystaveny transplacentárně působení DES. Dále se objevily zprávy o poruchách cyklu, infertilitě, karcinomu prsu, zvýšeném výskytu mimoděložní gravidity a poškození struktury dělohy (18).

Fytoestrogeny – přirozeně se vyskytují v obilovinách, sojových bobech a luštěninách. Jsou podezřelé z alterace reprodukčního systému laboratorních zvířat i žen. Poškozují vývoj dělohy, blokují ovulaci, implantaci a produkci hypofyzálních hormonů.

Těžké kovy, - jejich koncentrace v životním prostředí roste se zvyšující se průmyslovou produkcí kovů a metaloidů (8). Nepodléhají chemické degradaci a hromadí se v povrchových vrstvách půdy. Mezi nejvíce sledované toxické kovy patří kadmium, olovo a rtuť (9).

Organická rozpouštědla - se širokou škálou rozpouštědel se setkáváme v elektronice, zdravotnických potřebách, čistících prostředcích, laboratorních pomůckách, v lepidlech, nátěrových hmotách a dalších. Rozpouštědla známá jako perchlorethylen, toluen, xylen a styren jsou dávána do souvislosti s negativním vlivem na reprodukci laboratorních zvířat i člověka. Je popisována souvislost s redukcí fetální hmotnosti, snížením plodnosti, zvýšeným výskytem potratů, opožděním vývoje skeletu, snížením sérových hladin pohlavních hormonů a zabráněním ovulace. Dříve k nejběžnějším organickým rozpouštědlům patřící benzen, vyvolává leukémie u exponovaných osob.

- Odstraněno:** Původně byl používán k prevenci abortů.
- Odstraněno:** a častějších potratech
- Odstraněno:** 3
- Odstraněno:** Na druhé straně jsou zde i zprávy o příznivém účinku fytoestrogenů na ženský organizmus (1, 2) spočívající v redukcii incidence karcinomu dělohy, prsu a menopauzálních návalů .
- Odstraněno:** Z xenobiotik se do popředí zájmu dostávají toxické látky perzistující v prostředí a mezi nimi toxické kovy.
- Odstraněno:** . Je to závažný hygienický problém, jehož rozsah neustále vzrůstá
- Odstraněno:** 5
- Odstraněno:** ¶ Činnost vodních a půdních bakterií a plísní způsobuje, že organické látky kontaminující životní prostředí podléhají dříve či později chemickému rozkladu na rozdíly od kovů, které n
- Odstraněno:** Půdní mikroorganismy i vodní mikroflora způsobují , že část toxických kovů vstupuje do vazby s organickými látkami. Tímto se může znásobovat nebo významně měnit jejich toxicita.
- Odstraněno:** 11
- Odstraněno:** é
- Odstraněno:** lé
- Odstraněno:** é
- Odstraněno:** é
- Odstraněno:**
- Odstraněno:** e (22, 23, 29)
- Odstraněno:** používaným v průmyslu
- Odstraněno:** říl
- Odstraněno:** é
- Odstraněno:** jehož použití bylo omezeno po zjištění, že

Cigaretový kouř - obsahuje více jak 4 000 chemických složek, včetně 43 karcinogenů a více jak 300 polycyklických uhlovodíků. Dále se zde vyskytuje nikotin a jeho metabolity způsobující vasokonstrikci a snížení oxygenace tkání. Mohou se koncentrovat v reprodukčních orgánech.

Odstraněno: Jsou to karcinogeny či reprodukční toxické látky .

Odstraněno: redukcí

Kadmium se kumuluje v ovariích kuřáček a ve folikulární tekutině. Experimentální studie na zvířatech upozorňují na zvýšený výskyt chromozomálních anomálií oocytů a embryí.

Odstraněno: Jiná složka cigaretového kouře, benzo-a-pyrén, způsobuje u kuřáček poruchy formace DNA v luteálních buňkách a oocytů primordiálních folikulů.

Účinek kouření cigaret na ženskou reprodukci je znám podstatně méně než jeho další vlivy na zdraví člověka. Přesto několik epidemiologických studií ukazuje na významně sníženou plodnost u kuřáček než u nekuřících žen. Dokumentuje se 50% redukce implantace u kouřících žen a stejný pregnancy rate u žen, které přestaly kouřit před zahájením léčebného cyklu IVF jako u nekuřáček (19).

Odstraněno: (17)

Odstraněno: Několik studií ukazuje, že kouření může zhoršovat výsledky léčby metodami AR.

Odstraněno: 33

Odstraněno: Pravděpodobný mechanismus, kterým kouření cigaret vede k neplodnosti, spočívá zřejmě ve folikulární destrukci, urychlení ztráty reprodukční funkce (9, 24) a v časnějším zahájení klimakteria a menopauzy o jeden až čtyři roky. Projevem zmenšující se zásoby folikulů jsou vyšší hladiny FSH u kouřících žen. I pasivní kuřáčky mají vyšší hladinu FSH než nekuřáčky. Nedosahuje však takových hodnot jako u kuřáček.

Výsledky studií popisujících vliv xenobiotik na lidskou reprodukci jsou nejednoznačné.

Vliv některých chemických látek na reprodukci volně žijících živočichů i laboratorních zvířat je již evidentně prokázán (2, 7, 11, 14). Některé experimentální studie na zvířatech poukazují na redukcii fertility, abnormální sexuální vývoj či hermafroditismus. Humánní studie naznačují možný negativní účinek na reprodukci ženy i muže, jejich závěry jsou však často protichůdné (4, 5). V současnosti se dokonce objevují i názory, že negativní efekt na reprodukci je u některých látek zveličovaný a neopodstatněný. Proto jsme chtěli vyšetřit možný výskyt a účinky xenobiotik ve folikulární tekutině žen, která představuje prostředí bezprostředně obklopující oocyt při jeho vývoji v ovariu.

CÍLE A HYPOTÉZY PROJEKTU

Vztah mezi PCB a OCP v krvi a folikulární tekutině neplodných žen

Odstraněno: Cíle 1-

V první fázi studie jsme chtěli zjistit, zda je vůbec možné analytickými metodami prokázat přítomnost polychlorovaných bifenylnů (PCB) a organochlorovaných pesticidů (OCP) v krvi a hlavně folikulární tekutině žen zařazených do programu IVF + ET a určit hladiny jednotlivých xenobiotik v krvi a folikulární tekutině. Ve studiích na zvířecích modelech již byla prokázána možnost detekce některých z těchto xenobiotik (12, 13, 20), proto jsme předpokládali, že by měl být možný jejich průkaz dostupnými analytickými metodami.

Odstraněno: Pro

Odstraněno: kázat

Odstraněno: dostatečnost

Odstraněno: ch

Odstraněno: detekci

Dále jsme chtěli prokázat, zda se nekumulují v tukové složce folikulární tekutiny.

Vztah hladin PCB a OCP k anamnestickým údajům (věk, BMI, parita)

Odstraněno: Cíle 2-

Hledali závislost mezi hladinami PCB a OCP a věkem pacientky a body mass indexem (BMI). Vzhledem k vysoké lipofilitě těchto látek a jejich kumulaci v tukové složce tkání jsme předpokládali nález pozitivní korelace mezi věkem a hladinou xenobiotik v séru. Tento fakt byl již u některých xenobiotik zaznamenán (21). Předpokládáme vyšší výskyt u pacientek, které jsou jejich působením vystaveny delší dobu (starší pacientky). Snažili jsme se vyšetřit, zda se jejich hladiny liší u pacientek, které nebyly v minulosti těhotné (primární sterilita) a která již těhotenství prodělaly (sekundární sterilita).

Odstraněno: Nalezení

Odstraněno: i

Odstraněno: polychlorovaných bifenylnů a organochlorovaných pesticidů

Odstraněno: na

Odstraněno: ¶
Nalezení závislosti mezi hladinami polychlorovaných bifenylnů a organochlorovaných pesticidů

Chtěli jsme zjistit, zda se uplatňuje protektivní vliv gravidity u žen, kdy by eliminace xenobiotik při porodu a mateřským mlékem (22) mohla snižovat hladiny těchto látek u žen, které již rodily. V některých studiích byly prokázány nižší hladiny xenobiotik v séru u žen ve srovnání s muži (23), což může také souviset s prodělanou graviditou.

Vztah hladin PCB a OCP k indikaci k léčbě sterility

Odstraněno: Cíle 3-

Očekávali jsme rozdílné hladiny PCB a OCP ve folikulární tekutině u jednotlivých indikací k léčbě neplodnosti v programu IVF + ET. Vzhledem k souvislosti mezi výskytem endometriosis a poruchou imunomodulačních mechanismů, které mohou

Odstraněno: Potvrzení či vyloučení rozdílů mezi hladinami

endokrinní disruptory způsobovat, je předpoklad vyšší hladiny xenobiotik u pacientek s endometriosou. Endometriososa je stav charakterizovaný výskytem ektopických ložisek endometria mimo dutinu děložní. Onemocnění je spojeno s pánevní bolestí, infertilitou a dyspareunií. Mění se i parametry buněčné a humorální imunity.

Závěry jiných prací jsou ale nejednoznačné, některé souvislost s endometriosou potvrzují, jiné vyvracejí (24, 25, 26).

Domnívali jsme se také, že vzhledem k možné interakci nesteroidními receptory by hladiny xenobiotik mohly mít vliv na průběh ovulace a vyskytovat se ve vyšší míře i u anovulační sterility.

Odstraněno: .

Vztah hladin PCB a OCP k výsledkům léčby (kvalita oocytů, procento oplozených oocytů, pravděpodobnost dosažení těhotenství, počet kryvokonzervovaných embryí)

Odstraněno: Cíle 4-

Odstraněno: y

Vzhledem k prokazatelnému negativnímu vlivu na reprodukci v některých experimentálních zvířecích studiích jsem předpokládali možnou souvislost s výsledky programu IVF + ET. V jiných studiích již bylo prokázáno i nižší procento oplozených oocytů u párů, kde byl partner vystaven vlivu pesticidů (27) a negativní vliv na integritu chromatinu v mužských spermiích (28).

METODIKA

Hladiny xenobiotik byly vyšetřeny u neplodných žen léčených metodou IVF + ET na Gynekologicko-porodnické klinice v období od srpna 2003 do února 2004. Vyšetřovali jsme hladiny PCB a OCP - DDT (1,1,1-trichlor-2,2-bis(4-chlorfenyl)ethan) a jeho metabolity DDD (1,1-dichlor-2,2-bis(4-chlorfenyl)ethan) a DDE (1,1-dichlor-2,2-bis(4-chlorfenyl)ethen), HCH (hexachlorcyklohexan) a jeho konformery a HCB (hexachlorcyklobenzen) u 30 pacientek v pilotní studii našeho souboru, abychom potvrdili možnost jejich detekce v krvi a folikulární tekutině. Vyšetřovali jsme možnost kumulace xenobiotik ve folikulární tekutině. Dále jsme vyšetřovali vzorky folikulární tekutiny u celkového množství 99 žen, stanovili hladiny PCB a OCP a analyzovali jejich vliv na výsledky léčby IVF+ ET.

Indikace k léčbě sterility byla anovulace (34 pacientek), tubární faktor (17 pacientek), endometriosa (6 pacientek), idiopatická sterilita (29 pacientek) a andrologický faktor sterility (13 pacientek). V minulosti bylo již gravidních 52 pacientek (sekundární sterilita), 47 pacientek gravidních nikdy nebylo (primární sterilita). Gravidity jsme dosáhli u 44 pacientek (u 5 z nich skončilo těhotenství samovolným potratem, u 1 pacientky mimoděložní graviditou). Neotěhotnělo 55 pacientek.

U všech pacientek byla před zařazením do programu IVF + ET provedena diagnostická laparoskopie k potvrzení, či vyloučení patologií v dutině břišní.

Pacientky souhlasily se zařazením do programu IVF + ET i se zařazením do studie.

Podepsaly podrobný informovaný souhlas a byly poučeny lékařem provádějícím punkci folikulární tekutiny o průběhu studie. Studie byla schválena místní etickou komisí.

Ovariální stimulace byla provedena standardními protokoly (dlouhý protokol s agonisty GnRH nebo krátký protokol s antagonisty GnRH), ke stimulaci bylo použito hMG či FSH.

Odběr oocytů se prováděl v celkové narkose, transvaginální punkcí pod ultrazvukovou kontrolou. Po vyhledání oocytů byla zamražená folikulární tekutina odeslána ke stanovení hladiny xenobiotik.

Vzorky byly po extrakci a vyčištění analyzovány metodami plynové chromatografie a hmotnostní spektrometrie.

Při analýze byl použit vysokorozlišující hmotnostní spektrometr AutoSpec Ultima (Waters, UK) spojený s plynovým chromatografem HP 6890 GC vybaveným dávkovačem split – splitless a autosamplerem CTC-A200SE (Agilent technologies, USA). Sběr dat a vyhodnocení byly prováděny pomocí softwaru MassLynx version 4.0 a doplňku QuanLynx (Waters, UK). Analýzu prováděla laboratoř AXYS Varilab,

Vrané nad Vltavou.

POPIS STATISTICKÝCH METOD

Statistické vyhodnocení bylo provedeno pracovištěm EuroMISE centrum, Praha.

Při analýze souboru bylo zadáno porovnat hladiny jednotlivých xenobiotik v krvi a ve folikulární tekutině, nalézt jejich vztah k věku pacientky, BMI, typu sterility (primární nebo sekundární), indikací k léčbě (tubární, anovulační, andrologické, endometriose, idiopatické), průběhu a výsledku léčby (kvalita oocytů, procento oplozených oocytů, pravděpodobnost dosažení těhotenství, počet zamražených embryí). Byly statisticky analyzovány vztahy mezi hladinami PCB a OCP a těmito anamnestickými údaji.

Jako korelační koeficient byl použit Spearmanův korelační koeficient. Do statistické analýzy byly zahrnuty původní hodnoty bifenyly, tj. bifenyly v ng na gram tuku. Síla závislosti byla udávána velikostí korelačního koeficientu. Ten nabýval hodnot mezi -1 a 1. Hodnota 1 znamenali perfektní závislost - přímou úměrnost, 0 nezávislost, hodnota -1 znamenali perfektní závislost- nepřímou úměrnost.

Bylo provedeno množství testů podrobující statistické analýze velké množství anamnestických údajů. K průkazu statistické významnosti dané korelace je třeba, aby q-hodnota (modifikace p-hodnoty) byla nižší, než 0,05. Jako hraniční statistickou významnost hodnotíme p-hodnoty menší než 0,05.

Rozdílnost koncentrací PCB a OCP pro různé skupiny pacientek byla v případě dvou skupin zkoumána pomocí Wilcoxoova testu a Kruskal-Wallisova testu, který je zobecněním předešlého testu pro více než dvě skupiny. V případě porovnávání pouze dvou skupin byl Wilcoxův test doplněn ještě o t-test. Pro dosažení přibližné normality hladin bifenyly a pesticidů byla použita logaritmická transformace.

Dále jsme pracovali se zobecněnými lineárními modely a to s tzv. poissonovskou regresí, ale zejména s logistickou regresí. Poissonovská regrese byla použita pouze v případech pro analýzu celkového počtu oocytů a počtu zamražených embryí. Ve zbylých případech (analýza procenta diploidních oocytů, analýza dosažení těhotenství) byla použita logistická regrese. V uvedených případech se vyskytl problém nadměrné disperze. Proto byl použit přístup pomocí tzv. kvazivěrnosti.

Statistická významnost byla posuzována pomocí q- hodnoty, která odhaduje FDR (False Discovery Rate) metodou, kterou navrhli Benjamini a Hochberg (29).

Výpočty byly provedeny pomocí procedury q-value knihovny q-value programu R

[\(http://www.r-project.org/\)](http://www.r-project.org/) s volbou parametru $\lambda=0$. Testy v nichž vyšla q-hodnota menší než 5 % byly označeny jako statisticky významné. Testy, v nichž vyšla individuální p-hodnota menší než 5%, ale upravená q-hodnota přihlížející k počtu provedených testů na stejných datech byla větší než 5%, byly označeny jako podezřelé.

Odstraněno: INDIKACE K LÉČBĚ STERILITY BYLA ANOVULACE (34 PACIENTEK), TUBÁRNÍ FAKTOR (17 PACIENTEK), ENDOMETRIOZA (6 PACIENTEK), IDIOPATICKÁ STERILITA (29 PACIENTEK) A ANDROLOGICKÝ FAKTOR STERILITY (13 PACIENTEK). GRAVIDITY JSME DOSÁHLI U 49 PACIENTEK (U 5 Z NICH SKONČILO TĚHOTENSTVÍ SAMOVOLNÝM POTRATEM, U JEDNÉ MIMODĚLOŽNÍ GRAVIDITOU). NEOTĚHOTNĚLO 55 PACIENTEK. VĚTŠINOU BYLY MULTIGRAVIDY (52 PACIENTEK). SPONTÁNNĚ PORODILO 26 Z NICH, OSTATNÍ MĚLY V ANAMNESE POTRAT, NEBO MIMODĚLOŽNÍ GRAVIDITU. OPLOZENÍ PROBĚHLO METODOU IVF (66 PACIENTEK) NEBO ICSI (33 PACIENTEK). U VŠECH PACIENTEK BYLA PŘED ZAŘAZENÍM DO PROGRAMU IVF + ET PROVEDENA DIAGNOSTICKÁ LAPAROSKOPIE K POTVRZENÍ, ČI VYLOUČENÍ PATOLOGIÍ V DUTINĚ BŘÍŠNÍ. PACIENTKY SOUHLASILY SE ZAŘAZENÍM DO PROGRAMU IVF + ET I SE ZAŘAZENÍM ... [4]

Odstraněno: POPIS STATISTICKÝCH METOD PŘI ANALÝZE SOUBORU BYLO ZADÁNO POROVNAT HLADINY JEDNOTLIVÝCH NOX VE FOLIKULÁRNÍ TEKUTINĚ. NALÉZT VZTAH HLADIN NOX K VĚKU PACIENTKY. BMI, TYPU STERILITY (PRIMÁRNÍ NEBO SEKUNDÁRNÍ), INDIKACI K LÉČBĚ (TUBÁRNÍ, ANOVULAČNÍ, ANDROLOGICKÉ, ENDOMETRIOSE, IDIOPATICKÉ), PRŮBĚHU A VÝSLEDKU LÉČBY (POČET A KVALITA OOCYTŮ (POČET DIPLOIDNÍCH OOCYTŮ), FERTILIZACE, KVALITA EMBRYÍ, DOSAŽENÉ TĚHOTENSTVÍ, POČET ZAMRAŽENÝCH EMBRYÍ, VÝSLEDKU TĚHOTENSTVÍ. BYLY STATISTICKY ANALYZOVÁNY VZTAHY MEZI HLADINAMI POLYCHLOROVANÝCH BIFENYLŮ A ORGANOCHLOROVANÝCH PESTICIDŮ A ANAMNESTICKÝMI ÚDAJI JAKO KORELAČNÍ KOEFICIENT BYL POUŽIT SPEARMANŮV KORELAČNÍ KOEFICIENT. DO STATIS ... [5]

[Charakteristiku souboru 99 pacientek ukazuje Tabulka 1.](#)

[Tabulka 1. Charakteristika souboru pacientek](#)

	Minimum	1.kvartil	Medián	Průměr	SD	3.kvartil	Maximum
Věk/roky	25,3	28,1	30,9	31,4	3,7	33,2	41,3
Výška/cm	157	161,5	165	166,1	5,9	170	186
Váha/kg	48	54	62	62	8,6	68	85
BMI (kg/m2)	17,6	19,9	22	22,5	3,2	24,5	31,3
Celkový počet oocytů	1	7	10	10,9	6,5	15	36
Počet diploidních oocytů	0	4	7	7,2	4,4	10	18
Počet kryokonzervovaných embryí	0	0	2	2,9	3,2	5	12

[SD - směrodatná odchylka](#)

BMI - body mass index

Vztah mezi PCB a OCP v krvi a folikulární tekutině neplodných žen

Odstraněno: Výsledky 1 -

[Současné analýzy mohou identifikovat a kvantifikovat přítomnost jednotlivých známých endokrinních disruptorů. Možnost jejich detekce v krvi i ve folikulární tekutině jsme potvrdili](#) v souboru 30 pacientek naší pilotní studie.

[Ve výsledcích uvádíme hladiny](#) nejvíce prokazatelných [PCB](#) a OCP v krvi a folikulární tekutině.

[Tabulka 2](#) zachycuje hladiny nejvíce zastoupených PCB a OCP v tukové složce folikulární tekutiny v ng/g tuku. Hladiny PCB v krvi se pohybují od nedetekovatelných do 344,5 ng/g tuku. Hladiny PCB ve folikulární tekutině se pohybují od nedetekovatelných do 7 118,8 ng/g tuku.

Odstraněno: 8

Hladiny toxických PCB ([77](#), [81](#), [126](#), [169](#), [105](#), [114](#), [118](#), [123](#), [156](#), [157](#), [167](#) a [189](#)) v krvi se pohybují od nedetekovatelných do 133,4 ng/g tuku. Hladiny toxických PCB ve folikulární tekutině se pohybují od nedetekovatelných do 422,4 ng/g tuku. Hladiny OCP se pohybují v krvi od nedetekovatelných do 5 985,2 ng/g tuku, ve folikulární tekutině od 0,3 ng/g tuku do 35 228,8 ng/g tuku. Nejvíce prokazatelná kumulace xenobiotik byla patrna v případě DDE - nejvýznamnějšího metabolitu DDT - [Tabulka 3](#).

Tabulka 2. Koncentrace nejvýznamnějších PCB, DDT a jeho metabolitů ve

folikulární tekutině v ng/g tuku

	Minimum	1.kvartil	Medián	Průměr	SD	3.kvartil	Maximum
PCB28	1,3	4,3	8,4	12,2	13,6	14,6	95,8
PCB52	0,1	1	1,7	3,5	5,2	3,8	31,4
PCB101	0,3	2,7	5	8,1	9,1	10	46,4
PCB153	57,2	470,8	964,5	1171,7	1141,5	1378,1	7118,8
PCB138	39,9	316,3	648,2	800,7	750,2	971,9	4608,1
PCB180	54,7	470,1	799,9	1094,3	1121	1255,9	6659,4
PCB81	0	0,1	0,2	0,4	0,6	0,3	4,1
PCB77	0,1	0,2	0,4	0,7	1,1	0,7	9,6
PCB118+123	3,2	29,8	56,6	68,2	52,6	91,7	274,8
PCB114	0,2	0,7	1,4	1,8	1,6	2,3	9,5
PCB105	0,3	3	5,8	7,3	6	9,2	36,7
PCB126	0,1	0,3	0,7	1,5	2	1,8	11,2
PCB167	1,1	12,4	19,5	28,4	25,4	31,6	124,8
PCB156	3,1	28	47,4	68,4	74,2	77	422,4
PCB157	0,2	3,7	6,2	8,8	9,3	9,8	51,9
PCB169	0	0,2	0,3	0,5	0,5	0,5	3,7
PCB189	0,6	5,1	8,7	12,4	12,8	14	71,2
PCB47	0,1	1,8	4,8	13,1	34	9,2	254,6
PCB44	0,1	0,5	1	1,8	2,5	2,4	17
PCB74	0,2	15	29,8	38,3	35,9	46,1	233,3
PCB66	0,2	3,8	5,4	7,9	6,7	10,4	29
PCB95	0,1	3,8	6,6	13,8	17,8	18,5	98,1
PCB99	0,9	8,5	16,6	19,8	17,5	25,1	98,1
PCB87	0,2	1,2	2	2,7	3	3	18,2
PCB110	0,3	1,3	2,4	3,7	4,3	4,6	31,3
PCB146	2,1	23,6	43,6	60,1	56	74,8	342,5
PCB158	0,1	2,7	7,2	10,2	10,9	13,5	57
PCB187	6,3	61	112,4	165,6	167,8	193,1	1021,9
PCB183	5,8	46,4	86,4	117,7	113,6	134,4	703,8
PCB177	2	21,1	36,3	52,1	47,9	65,5	269,4
PCB171	1,6	15,7	27,5	36,4	36,1	40,3	216,2
PCB172	1	11,6	19,7	26,8	25,8	31,6	152,5
PCB193	2,7	24,9	44,4	63,5	67,3	68,8	380,6
PCB191	1,3	9,8	17,9	24,7	26,2	27,8	160
PCB170	19,2	162,9	274	387,9	388,6	451,5	2173,1
DDE	122,7	1153,7	2322,0	3303,3	4205,2	4031,5	35228,8
DDD	0,3	4,9	8,3	13,1	15,6	16,6	120,0
DDT	0,9	46,4	80,3	98,1	75,9	127,6	486,9

Tabulka 3. Koncentrace DDT a jeho metabolitů v krvi a ve folikulární tekutině v ng/g tuku

	DDE		DDD		DDT	
	<u>krv</u>	<u>fol.tekutina</u>	<u>krv</u>	<u>fol.tekutina</u>	<u>krv</u>	<u>fol.tekutina</u>
<u>1.</u>	<u>251,6</u>	<u>1142,9</u>	<u>2,2</u>	<u>5,6</u>	<u>25,9</u>	<u>61,8</u>
<u>2.</u>	<u>399,0</u>	<u>454,6</u>	<u>4,3</u>	<u>4,2</u>	<u>29,5</u>	<u>29,5</u>
<u>3.</u>	<u>457,3</u>	<u>1164,5</u>	<u>3,5</u>	<u>9,9</u>	<u>16,1</u>	<u>32,0</u>
<u>4.</u>	<u>506,1</u>	<u>907,0</u>	<u>1,7</u>	<u>5,7</u>	<u>27,3</u>	<u>64,7</u>
<u>5.</u>	<u>522,1</u>	<u>750,7</u>	<u>6,4</u>	<u>7,5</u>	<u>46,2</u>	<u>45,8</u>
<u>6.</u>	<u>566,4</u>	<u>1055,3</u>	<u>2,4</u>	<u>8,9</u>	<u>21,8</u>	<u>36,5</u>
<u>7.</u>	<u>588,7</u>	<u>1968,9</u>	<u>5,5</u>	<u>18,7</u>	<u>43,7</u>	<u>82,1</u>
<u>8.</u>	<u>630,5</u>	<u>6193,3</u>	<u>4,5</u>	<u>17,6</u>	<u>24,5</u>	<u>248,6</u>
<u>9.</u>	<u>641,0</u>	<u>1839,9</u>	<u>6,5</u>	<u>19,5</u>	<u>37,6</u>	<u>70,5</u>
<u>10.</u>	<u>709,8</u>	<u>2605,8</u>	<u>7,6</u>	<u>18,7</u>	<u>42,2</u>	<u>78,6</u>
<u>11.</u>	<u>717,8</u>	<u>995,7</u>	<u>1,9</u>	<u>3,5</u>	<u>16,4</u>	<u>33,4</u>
<u>12.</u>	<u>797,0</u>	<u>2252,7</u>	<u>3,7</u>	<u>10,2</u>	<u>47,9</u>	<u>109,3</u>
<u>13.</u>	<u>812,7</u>	<u>2322,0</u>	<u>8,7</u>	<u>34,9</u>	<u>60,3</u>	<u>98,4</u>
<u>14.</u>	<u>963,7</u>	<u>12884,4</u>	<u>4,4</u>	<u>33,2</u>	<u>23,9</u>	<u>190,0</u>
<u>15.</u>	<u>1031,8</u>	<u>3281,0</u>	<u>2,1</u>	<u>10,0</u>	<u>28,7</u>	<u>106,0</u>
<u>16.</u>	<u>1055,0</u>	<u>1880,5</u>	<u>2,4</u>	<u>4,1</u>	<u>24,1</u>	<u>44,4</u>
<u>17.</u>	<u>1057,7</u>	<u>6757,1</u>	<u>6,2</u>	<u>15,2</u>	<u>26,6</u>	<u>201,0</u>
<u>18.</u>	<u>1171,7</u>	<u>1388,8</u>	<u>17,5</u>	<u>5,3</u>	<u>111,0</u>	<u>120,5</u>
<u>19.</u>	<u>1178,2</u>	<u>3936,7</u>	<u>3,8</u>	<u>7,1</u>	<u>19,8</u>	<u>79,6</u>
<u>20.</u>	<u>1188,9</u>	<u>2822,6</u>	<u>3,9</u>	<u>4,7</u>	<u>57,9</u>	<u>63,4</u>
<u>21.</u>	<u>1226,5</u>	<u>2248,8</u>	<u>10,6</u>	<u>16,9</u>	<u>43,3</u>	<u>58,6</u>
<u>22.</u>	<u>1809,9</u>	<u>2822,6</u>	<u>3,7</u>	<u>4,7</u>	<u>52,3</u>	<u>63,4</u>
<u>23.</u>	<u>2015,0</u>	<u>6835,9</u>	<u>10,4</u>	<u>7,9</u>	<u>56,9</u>	<u>156,6</u>
<u>24.</u>	<u>2459,0</u>	<u>5754,3</u>	<u>11,8</u>	<u>22,5</u>	<u>81,8</u>	<u>112,3</u>
<u>25.</u>	<u>2771,5</u>	<u>3998,3</u>	<u>3,7</u>	<u>6,1</u>	<u>45,0</u>	<u>78,0</u>
<u>26.</u>	<u>2924,3</u>	<u>3254,5</u>	<u>10,4</u>	<u>6,3</u>	<u>44,2</u>	<u>72,5</u>
<u>27.</u>	<u>3114,8</u>	<u>4311,9</u>	<u>6,1</u>	<u>12,0</u>	<u>45,0</u>	<u>51,3</u>
<u>28.</u>	<u>3393,5</u>	<u>35228,8</u>	<u>6,7</u>	<u>120,0</u>	<u>42,4</u>	<u>268,8</u>
<u>29.</u>	<u>4792,1</u>	<u>8086,7</u>	<u>33,1</u>	<u>74,1</u>	<u>193,4</u>	<u>267,2</u>
<u>30.</u>	<u>5985,2</u>	<u>9784,8</u>	<u>8,1</u>	<u>11,8</u>	<u>106,4</u>	<u>177,8</u>

Vztah hladin PCB a OCP k anamnestickým údajům (věk, BMI, parita)

Odstraněno: Cíle 2-

Všechny vyšetřované látky jsou vysoce rozpustné v tucích a vyznačují se poločasem rozpadu i několik desetiletí. Proto je vysoce pravděpodobná jejich kumulace v tukové tkáni a závislost na době expozice těmto látkám.

Závislost PCB a OCP na věku byla u některých xenobiotik prokázána. S věkem korelovaly hladiny v ng/g tuku u PCB 118+123, PCB 156, PCB 172, HCB a beta HCH - Tabulka 1. Souvislost s věkem je u některých bifenylnů silná (vysoký korelační koeficient, nízká p-hodnota i q-hodnota), u jiných v podstatě nulová (korelační koeficient blízký nule, vysoká p-hodnota).

Odstraněno: Hladina OCP a PCB ve folikulární tekutině byla signifikantně závislá na věku pacientek u PCB 118+123, PCB 156, PCB 172, HCB a beta HCH (tab. 1.) v ng/g tuku a u PCB 153, PCB 138 v g / kg navážky (tab. 2.). U těchto PCB se dá předpokládat závislost na věku. Koncentrace na navážku více souvisí s věkem.

Hladiny xenobiotik korelují s procentem tukové tkáně v organismu. To souvisí s jejich vysokou rozpustností v tukové tkáni. Mezi koncentrací xenobiotik a BMI je nepřímá úměrnost – Tabulka 2. Vysoký obsah tuků snižuje jejich koncentraci. Opět nacházíme v některých případech vysoký korelační deficienc, u jiných téměř nulový. Byla nalezena vyšší koncentrace bifenylnů PCB 47 a PCB 158 u pacientek s primární sterilitou - Tabulka 3, Tabulka 4. Výsledek však není statisticky signifikantní.

Odstraněno: Potvrdili jsme statisticky signifikantní závislost mezi celkovou toxicitou PCB a věkem, která je výraznější u koncentrace na navážku (tab. 3.) Hladiny PCB jsou nepřímo úměrné BMI. Závislost je více vyjádřena při hodnocení hladin v ng/g tuku navážky (tab. 4., tab. 5.). Tomu odpovídá i zvyšující se celková toxicita vzorku (tab. 6.). Parita neovlivňuje koncentrace PCB a OCP. Nelze vyloučit vyšší koncentrace PCB 47 a 158 u nulipar (tab. 7., tab. 8.).

Tabulka 1. Závislost hladiny PCB a OCP na věku v ng/g tuku

	Kor. koeficient	p-hodnota	q-hodnota	Signifikance
PCB28	0,01	0,931	0,936	
PCB52	-0,09	0,371	0,456	
PCB101	-0,15	0,134	0,213	
PCB153	0,21	0,038	0,097	
PCB138	0,16	0,112	0,198	.
PCB180	0,26	0,011	0,066	.
PCB81	0,18	0,145	0,223	
PCB77	0,01	0,917	0,936	
PCB114	0,16	0,113	0,198	
PCB118+123	0,31	0,002	0,033	*
PCB105	0,12	0,255	0,342	
PCB126	0,12	0,239	0,331	
PCB167	0,09	0,368	0,456	
PCB156	0,28	0,005	0,049	*
PCB157	0,21	0,036	0,097	.
PCB169	0,24	0,030	0,085	.
PCB189	0,27	0,007	0,052	.
PCB47	-0,04	0,705	0,798	
PCB44	-0,17	0,132	0,213	
PCB74	0,22	0,027	0,085	.
PCB66	0,01	0,936	0,936	
PCB95	0,08	0,403	0,481	
PCB99	0,17	0,096	0,188	
PCB87	0,03	0,743	0,819	
PCB110	-0,18	0,087	0,178	
PCB146	0,24	0,019	0,081	.
PCB158	-0,19	0,066	0,149	
PCB187	0,24	0,017	0,081	.
PCB183	0,15	0,150	0,223	
PCB177	0,13	0,201	0,289	
PCB171	0,22	0,029	0,085	.
PCB172	0,28	0,006	0,049	*
PCB193	0,23	0,024	0,085	.
PCB191	0,18	0,084	0,178	
PCB170	0,24	0,018	0,081	.
HCb	0,42	0,000	0,002	**
a.HCH	0,26	0,025	0,085	.
b.HCH	0,31	0,002	0,033	*
Lindane	0,03	0,811	0,871	
d.HCH	-0,15	0,459	0,534	
DDE	0,19	0,060	0,143	
DDD	0,16	0,115	0,198	
DDT	0,10	0,339	0,442	

Tabulka 2. Závislost hladiny PCB a OCP na BMI v ng/g tuku

	Kor. koeficient	p-hodnota	q-hodnota	Signifikance
PCB28	-0,16	0,118	0,236	
PCB52	-0,16	0,131	0,236	
PCB101	-0,16	0,130	0,236	
PCB153	-0,27	0,006	0,027	*
PCB138	-0,24	0,016	0,047	*
PCB180	-0,28	0,004	0,027	*
PCB81	-0,20	0,120	0,236	
PCB77	-0,06	0,566	0,636	
PCB118+123	-0,10	0,339	0,460	
PCB114	-0,14	0,161	0,276	
PCB105	-0,03	0,749	0,799	
PCB126	-0,21	0,039	0,105	
PCB167	-0,16	0,106	0,236	
PCB156	-0,26	0,008	0,030	*
PCB157	-0,30	0,003	0,027	*
PCB169	-0,11	0,319	0,458	
PCB189	-0,28	0,006	0,027	*
PCB47	0,03	0,762	0,799	
PCB44	-0,03	0,807	0,807	
PCB74	-0,13	0,204	0,313	
PCB66	-0,10	0,434	0,549	
PCB95	-0,13	0,185	0,294	
PCB99	-0,14	0,167	0,276	
PCB87	-0,15	0,132	0,236	
PCB110	-0,19	0,067	0,169	
PCB146	-0,26	0,011	0,035	*
PCB158	-0,06	0,569	0,636	
PCB187	-0,27	0,006	0,027	*
PCB183	-0,24	0,016	0,047	*
PCB177	-0,27	0,008	0,030	*
PCB171	-0,28	0,006	0,027	*
PCB172	-0,29	0,003	0,027	*
PCB193	-0,33	0,001	0,027	*
PCB191	-0,29	0,003	0,027	*
PCB170	-0,31	0,002	0,027	*
HCB	-0,10	0,342	0,460	
a.HCH	-0,14	0,218	0,324	
b.HCH	-0,06	0,558	0,636	
Lindane	0,13	0,356	0,464	
d.HCH	-0,11	0,577	0,636	
DDE	-0,18	0,084	0,202	

Odstraněno: Tab. 3. Vztah věku a celkové toxicity

Odstraněno: 4

DDD	-0,03	0,783	0,801	
DDT	-0,08	0,453	0,557	

Odstaněno: Tab. 6. Souvislost mezi BMI a celkovou toxicitou

Odstaněno: 8

Tabulka 3. Hladiny PCB 47 u pacientek s primární a sekundární sterilitou

PCB47	Minimum	1. kvartil	Medián	Průměr	SD	3. kvartil	Maximum
Primární sterilita	0,1	1,1	2,7	7,9	16,7	5	85,8
Sekundární sterilita	0,2	0,6	1,9	3,4	5,6	3,2	27,8

SD-směrodatná odchylka

Odstaněno:

Odstaněno: 9

Tabulka 4. Hladiny PCB 158 u pacientek s primární a sekundární sterilitou

PCB158	Minimum	1. kvartil	Medián	Průměr	SD	3. kvartil	Maximum
Primární sterilita	0	1,7	2,9	5,6	6,1	7,7	25
Sekundární sterilita	0,3	1	2,2	2,8	2,4	3,6	10,4

SD-směrodatná odchylka

Vztah hladin PCB a OCP k indikaci k léčbě sterility

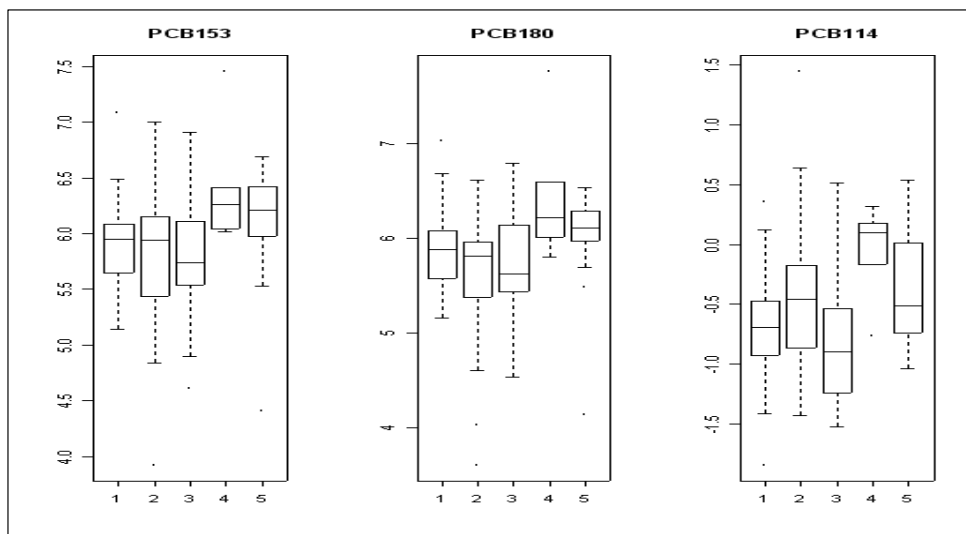
Odstraněno: Výsledky 3-

Hladiny kongenerů PCB 118+123, 153, 156, 157, 180 a 189 se liší u různých indikací k léčbě sterility Graf 1 a 2. V porovnání s ostatními indikacemi byla prokázána jejich signifikantně vyšší hladina u skupiny žen s endometriosou. Také kontrolní skupina žen s andrologickým faktorem sterility vykazovala nižší hladinu bifenylů než tomu bylo u pacientek s indikací k IVF endometriosou.

Vyšší hladiny xenobiotik u anovulační sterility jsme nepotvrdily.

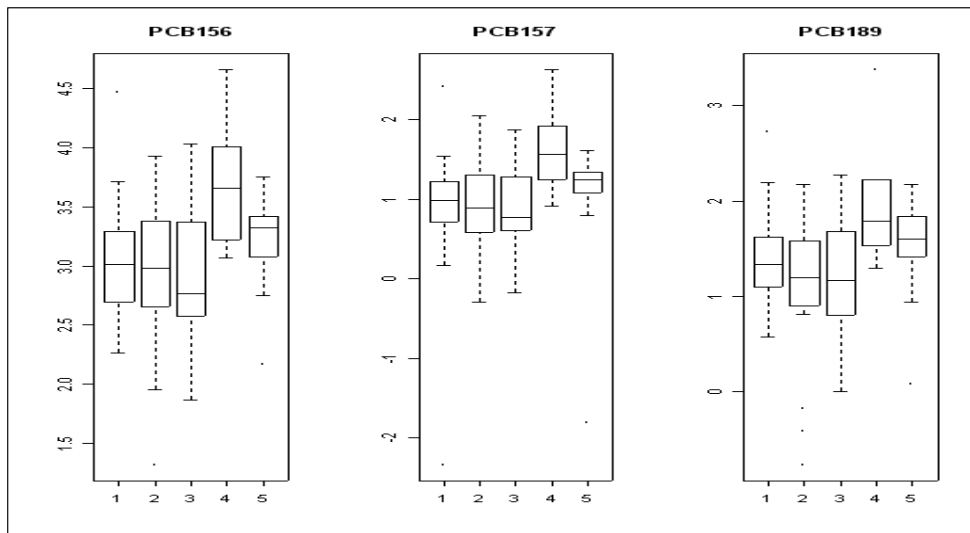
Odstraněno: .

Graf 1. Hladiny PCB 153, 180 a 114 u jednotlivých indikací



1. anovulace
2. tubární faktor
3. andrologický faktor
4. endometriosa
5. idiopatická sterilita

Graf 2. Hladiny PCB 156, 157 a 189 u jednotlivých indikací



1. anovulace
2. tubární faktor
3. andrologický faktor
4. endometriososa
5. idiopatická sterilita

Vztah hladin PCB a OCP k výsledkům léčby (kvalita oocytů, procento oplozených oocytů, pravděpodobnost dosažení těhotenství, počet kryvokonzervovaných embryí)

Odstraněno: Cíle 4-

Odstraněno: y

Mezi hladinami PCB a OCP a kvalitou získaných oocytů ani pravděpodobností oplození není statisticky signifikantní závislost. Na počet diploidních oocytů by mohl mít vliv pesticid DDT - Tabulka 1. Vztah je pouze podezřelý, není statisticky významný. Ve statistické modelové situaci nám však odds ratio (poměr šancí) vyjadřuje, kolikrát se změní poměr diploidních oocytů při zdvojnásobení hladiny. Pro DDT při zdvojnásobení hladiny poklesne poměr diploidních oocytů k nediploidním na 0,82, tj. o 18 %. Procento oplozených oocytů by mohl ovlivňovat PCB 158 Tabulka 2.

Odstraněno: (hodnoceno jako počet diploidních oocytů)

Hladiny PCB a OCP neovlivnily pravděpodobnost dosažení gravidity. Hraniční statistická závislost byla nalezena u PCB 47 a Lindane (γ -hexachlorcyklohexan) - Tabulka 3.

Odstraněno: Kvalita embryí byla hodnocena jako poměr embryí kvality A k celkovému počtu embryí (součet embryí kvality A+B+C). Kvalita embryí se neliší u různých stimulačních protokolů.¶ Výsledky 6-

Počet zamražených embryí může negativně ovlivňovat hladina PCB 47. Vztah je opět pouze podezřelý, není statisticky významný. Ve statistické modelové situaci je znázorněna průměrná relativní změna v počtu zamražených embryí při dvojnásobném zvýšení koncentrace PCB 47. Při dvojnásobném zvýšení PCB 47 na tuk jsme sledovali v průměru pokles počtu zamražených embryí na 73%, tj. pokles o 27%. Počet zamražených embryí nebyl rozdílný u jednotlivých stimulačních protokolů. Ovlivnění nelze vyloučit ani u PCB 101, PCB 47. Statistické významnost však opět nebyla prokázána.

Tabulka 1. Vztah mezi hladinami PCB a OCP a procentem diploidních oocytů v ng/g tuku

	odds ratio	p-hodnoty	q-hodnota
PCB101	0,89	0,018	0,296
PCB47	0,90	0,032	0,296
PCB158	0,90	0,023	0,296
DDE	0,86	0,034	0,296
DDT	0,82	0,007	0,296

Tabulka 2. Vztah mezi hladinami PCB a počtem oplozených oocytů v ng/g tuku

	odds ratio	p-hodnoty	q-hodnota
PCB101	0,85	0,006	0,137
PCB47	0,88	0,013	0,19
PCB44	0,88	0,044	0,468
PCB158	0,85	0,005	0,137

Tabulka 3. Vztah mezi PCB 47 a dosažením gravidity v ng/g tuku

	odds ratio	p-hodnoty	q-hodnota
PCB47	0,73	0,022	0,944
Lindane	0,71	0,093	0,953

Tabulka 4. Vztah hladiny PCB 47 k počtu zamražených embryí v ng/g tuku

	Odds ratio	p-hodnoty	q-hodnota
PCB47	0,73	0,060	0,896
PCB 47	0,73	0,060	0,896

Odstraněno: DISKUZE
1- Vztah mezi PCB a OCP v krvi a folikulární tekutině

neplodných Člověk a celá příroda jsou vystaveni během života negativním vlivům mnoha chemických látek, které jsou široce rozšířeny a kumulují se v životním prostředí. In vitro a u některých živočišných druhů in vivo bylo negativní až toxické působení některých chemických látek z prostředí (xenobiotik) již potvrzeno. Mezi xenobiotika patří některé toxické kovy a organohalogenované sloučeniny, jako jsou polychlorované bifenylly a pesticidy. Nejpravděpodobnější mechanismus jejich účinku je interference s hormonálním systémem. Tyto látky působí jako tzv. endokrinní disruptory (ED). Sloučeniny po vstupu do buňky a po vazbě na receptor mohou vstoupit do interakce s genomem buňky. Ovlivněním specifických genů pak mohou funkci genomu ovlivňovat buď ve smyslu stimulace, či inhibice. ¶ Současné analýzy mohou identifikovat a kvantifikovat přítomnost jednotlivých známých ED, ale hodnocení zdravotního rizika je velice komplikované. Tyto látky jsou většinou strukturálně odlišné sloučeniny, kde je nutno zvažovat i možnost interakcí ... [6]

Odstraněno: Závislost PCB a OCP na věku byla u některých pacientek prokázána. S věkem korelovaly hladina v ng/g tuku u PCB 118+123, PCB 156, PCB 172, HCB a beta HCH. Při hodnocení koncentrace ng/g navážky byla tato závislost nalezena u PCB 153, PCB 138. U těchto PCB se dá předpokládat závislost na věku. Je zajímavé, že souvislost s věkem je u některých bifenylů silná (vysoký korelační koeficient, nízká p-hodnota i q-hodnota), u jiných v podstatě nulová (korelační koeficient blízký nule, vysoká p-hodnota). Hladiny PCB korelují s procentem tukové tkáně v organismu. Tento fakt byl prokázán i v jiných studiích. PCB mají vysokou rozpustnost v tukové tkáni [3]. Mezi koncentrací PCB a BMI je nepřímá úměrnost. Pozorujeme rozdílnou sílu závislosti u jednotlivých bifenylů, u některých je silná (vysoký korelační koeficient, nízká p-hodnota) a u jiných slabá (korelační koeficient blízký nule, vysoká p-hodnota). ¶ U pacientek s primární sterilitou by mohla být vyšší koncentrace bifenylů PCB 47 a PCB 158 vysvětlena protektivním vlivem gravidity na kumulaci bifenylů v organismu. Ženy, které již ... [7]

DISKUZE

[Přítomnost xenobiotik ve folikulární tekutině neplodných žen poukazuje na jejich kumulaci v potravinovém řetězci a následně i ve všech živočišných organismech včetně člověka a jeho tělních tekutinách. Tyto látky jsou široce rozšířeny a kumulovány v lidském těle díky jejich vysoké chemické resistenci a lipofilitě. I po několikaletém omezení jejich použití jsou stále přítomny v lidském organismu.](#) Jejich kumulace v tukové složce folikulární tekutiny, která bezprostředně obklopuje lidské pohlavní buňky může být pro budoucí generace významná.

Hladiny xenobiotik jsou přímo úměrné době expozice, po kterou je organismus jejich účinku vystaven, zde nacházíme přímou úměrnost s věkem stejně jako jiné práce (21). Nepřímá úměrnost s BMI je v souladu s jejich rozpustností v tukové tkáni.

Porod a kojení se zdají být možnými cestami eliminace xenobiotik z organismu. Pronikají transplacentárně a po porodu i do mateřského mléka (30) a byly detekovány i v pupečnickové krvi (31, 32) a krvi novorozenců. [U pacientek s primární sterilitou byla nalezena vyšší hladina bifenyly PCB 47 a PCB 158. Tento fakt je nutno ještě podrobit další analýze, v našem projektu vyšší hladiny xenobiotik u žen, které nebyly těhotné nebyly statisticky významné. Srovnávali jsme však pacientky, které byly a nebo nebyly těhotné. Do těhotenství byly však zahrnuty i gravidity, které nekončily porodem plodu a kojením \(spontánní potraty, mimoděložní gravidita\).](#)

Vyšší hladiny xenobiotik u pacientek s endometriosou mohou být v souvislosti s jejich vlivem [na imunitní odpověď organismu a s jejich účinky na hladiny pohlavních hormonů a růstových faktorů](#). Etiologie tohoto onemocnění je však zřejmě multifaktoriální. [Byla pozorována pozitivní korelace mezi věkem populace a hladinou PCB v séru \(23\), což může souviset se zvýšeným výskytem endometriisy u sterilních pacientek, které často podstupují léčbu ve vyšším věku.](#)

[Naše zjištění, kdy byly nalezeny vyšší hladiny xenobiotik pacientek s endometriosou, potvrzuje zvýšený výskyt endometriisy u infertilních žen zaznamenaný v Belgii, kde je také dokumentován nejvyšší stupeň znečištění prostředí dioxiny \(24\). Závěry ostatních studií jsou ale nejednoznačné \(25, 26\).](#)

Odstraněno: Endometriosia je stav charakterizovaný výskytem ektopických ložisek žlázek i stromatu endometria mimo dutinu děložní. Existuje mnoho teorií o etiologii tohoto onemocnění. Onemocnění je spojeno s pánevní bolestí, infertilitou a dyspareunií. Mezi toxické látky z vnějšího prostředí, u kterých se předpokládá spojení s endometriosou, patří polyhalogenované aromatické uhlovodíky. K nim se řadí polychlorované dibenzo-p-dioxiny (PCDDs), dibenzofurany (PCDFs) a polychlorované bifenyly (PCBs). Etiologie endometriisy je zřejmě multifaktoriální. Možný vliv těchto látek na riziko endometriisy se předpokládá pro jejich známý vliv na imunitní odpověď organismu. Dále jsou u nich známy účinky na hladiny pohlavních hormonů a růstových faktorů. Ovlivňují tkáňově specifickou odpověď na steroidní hormony reakcí s hormonálními receptory [18]. Působí jako tzv. rozpojovači hormonů (rozpojovači signálů - signal disruptors). Mohou po vstupu do buňky a po vazbě na specifický receptor (arylhydrokarbonový receptor-AhR) měnit odpověď buňky na hormonální stimul ve smyslu stimulace či inhibice [4, 5, 6, 14]. U mnoha PCB byl již kromě ovlivnění hormonálních systémů prokázán vliv na imunitní systém, teratogenní a kancerogenní účinek. [1]. Ovlivňují také buněčnou membránu a zvyšují tvorbu volných radikálů [10]. Prokázána byla i jejich kumulace ve folikulu [7]. Tyto všechny faktory se mohou podílet na vzniku endometriisy. Vliv jednotlivých kongenerů PCB na pokles fertility u lidské populace je nejednoznačný. Většinou se zabývají negativním vlivem těchto sloučenin na kvalitu spermatu či na fertilizaci oocytů při léčbě neplodnosti metodou IVF+ET [3, 4]. Byl prokázán signifikantní vliv na produkci estradiolu, testosteronu i progesteronu ve zrajícím folikulu i v corpus luteum [11, 12]. Právě tyto hormonální změny se mohou výrazně uplatňovat v etiopatogenezi endometriisy. U ložisek endometriisy nalézáme odlišné zastoupení estrogenních a progesteronových receptorů. Je u ní popisována změněná aktivita natural killer (NK) buněk, které se podílejí na lýze ektopických ložisek endometria a porucha jejich funkce může vést ke vzniku endometroidních ložisek na peritoneu [9]. Mění se i parametry buněčné a humorální imunity ... [8]

V mnoha studiích jsou již dokládány negativní vlivy na reprodukční schopnosti laboratorních zvířat i volně žijících živočichů (2, 7, 14, 16, 33). Popsána byla i feminizace a demaskulinizace zvěře. V oblasti jezera Apopka na Floridě byl prokázán účinek DDT a jeho metabolitů na embryonální sexuální vývoj a narušení reprodukčních pochodů u plazů (11).

Studie popisující účinky na lidskou reprodukci jsou zatím nejednoznačné (27, 28, 34). Ovlivnění vývoje zrajícího folikulu látkami obsaženými ve folikulární tekutině (PCB 123 a PCB 156) bylo však již popisováno na zvířecích studiích (12, 13). Proto se domníváme, že mohou mít vliv i na vývoj lidského ovocytu, ale jejich vliv na pravděpodobnost dosažení gravidity není zatím jednoznačně prokázán. V naší studii jsme prokázali ovlivnění reprodukce pouze ve statistických modelových situacích. Hladiny xenobiotik, které jsme vyšetřovali, mohou ale v následujících letech ve folikulární tekutině stoupat a dosáhnout hladin takových, jako v těchto statistických modelech. Proto, i když se zátěž pro lidský organismus v současnosti pohybuje v jednotkách řádově nižších než v laboratorních pokusech, je nutné přistupovat k dalšímu používání látek typu endokrinních disruptorů s opatrností, [vzhledem k dlouhodobé kumulaci xenobiotik tukové složce a jejich dlouhému poločasu rozpadu, který je 10 a více let.](#)

[Některé látky jako DDT, které již přestaly být v minulosti](#) masivně používány se však z ekonomických důvodů do biologického oběhu vracejí. V roce 2001 se ve Stockholmu konala ekologická konference OSN, na které byla přijata úmluva o zákazu nebo minimalizaci užívání dvanácti chemických látek, označovaných jako perzistentní organické polutanty (POP). Mezi nimi bylo i DDT, které jako jediné z nich dostalo na Stockholmské konferenci přijatelnou výjimku. Může být tedy dále vyráběno a za určitých, většinou jen administrativních podmínek i používáno (35).

[Kritická pro obyvatelstvo nemusí být současná expozice, ale spíše expozice ze 40-70. let minulého století, kdy bylo DDT v širokém měřítku používáno.](#)

K tomu se ovšem bude přidávat další zvyšování hladin v tukové složce organismů vlivem nové expozice těmto látkám.

DDT se opět používá v nižších dávkách v boji proti malárii v rozvojových zemích. Je na místě zamyšlení, jaké může mít jeho opětovné používání celosvětové důsledky a jak by mohlo po další kumulaci v lidském organismu ovlivňovat procesy spojené nejen s lidskou reprodukcí.

Přestože náš soubor byl dost rozsáhlý, bylo by v další práci vhodné rozšířit počet vyšetření folikulární tekutiny a zaměřit se na vyšetření těch xenobiotik, která jevila podezřelý vliv na vyšetřované parametry.

Odstraněno: PCB se kumulují ve folikulární tekutině. Kumulace polychlorovaných bifenylů ve folikulární tekutině nepřímo ukazuje na jejich kumulaci ve folikulárních buňkách. Tento faktor se může podílet na zhoršující se reprodukční schopnosti lidské populace a zhoršovat výsledky programu IVF + ET.

ZÁVĚRY

Vztah mezi PCB a OCP v krvi a folikulární tekutině neplodných žen

Odstraněno: Výsledky 1-

Prokázali jsme možnost detekce polychlorovaných bifenyly (PCB) a organochlorovaných pesticidů (OCP) v krvi a folikulární tekutině neplodných žen a jejich kumulaci ve folikulární tekutině.

Vztah hladin PCB a OCP k anamnestickým údajům (věk, BMI, parita)

Odstraněno: Cíle 2-

Statistickou analýzou jsme vyšetřovali souvislost s anamnestickými údaji a vliv těchto látek na léčbu neplodnosti. U PCB 118+123, PCB 156, PCB 172, HCB a beta HCH byla potvrzena závislost na věku pacientky. U velké části polychlorovaných bifenyly je prokázána nepřímá závislost na body mass indexu (BMI). Byla nalezena vyšší koncentrace bifenyly PCB 47 a PCB 158 u pacientek s primární sterilitou. Výsledek však není statisticky signifikantní.

Vztah hladin PCB a OCP k indikaci k léčbě sterility

Odstraněno: Výsledky 3-

Ve studii byly prokázány statisticky signifikantně zvýšené hladiny PCB 118+123, 153, 156, 157, 180 a 189 ve folikulární tekutině u žen s endometrií. Hladiny OCP se u různých indikací k léčbě nelišily.

Vztah hladin PCB a OCP k výsledkům léčby (kvalita oocytů, procento oplozených oocytů, pravděpodobnost dosažení těhotenství, počet kryokonzervovaných embryí)

Odstraněno: Cíle 4-

Odstraněno: γ

Počet diploidních oocytů může ovlivnit DDT, pravděpodobnost oplození oocytů může ovlivnit PCB 158. Výsledek léčby a počet zamražených embryí mohou ovlivnit PCB 47 a

Lindane. Tyto vztahy však nebyly na 5% hladině významnosti statisticky signifikantní, pouze podezřelé. Nalezené hladiny xenobiotik neměly statisticky signifikantní vliv na výsledky IVF programu, ale ze statistických modelových situací vyplývá, že další kumulace těchto látek v prostředí a zvyšování jejich hladin ve folikulární tekutině by mohlo vést k poškození reprodukční schopnosti populace.

CONCLUSIONS

- We confirmed the possibility of detection of polychlorinated biphenyls (PCBs) and organohalogen pesticides (OCPs) in blood and follicular fluid of infertile women and their cumulation in follicular fluid.
- PCB 118+123, PCB 156, PCB 172, HCB and beta HCH are dependent on the age of patients. The most part of PCBs is also higher in patients with high BMI. We found the higher concentrations of PCB 47 and PCB 158 in patients with primary sterility. This correlation was not statistically significant.
- We confirmed statistically significant higher levels of PCB in follicular fluid of patients with endometriosis. The levels of OCPs didn't differ.
- A correlation has been ascertained between the number of diploid oocytes and the levels of DDT, fertilization of oocytes and levels of PCB 158 and the pregnancy rate and the number of embryos cryoconserved and levels of PCB 47 and Lindane. These correlations were suspicious, though it was not statistically significant on the 5% level. These concentrations do not have a statistically significant effect on the results of IVF+ET program, but from statistical modeling it is obvious that if the concentration doubled, the results would be affected. Further accumulation in the environment and increase in levels in follicular fluid could significantly affect fertility.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

1. Drbohlav P. Závěrečná zpráva o řešení programového projektu podpořeného IGA MZ ČR č.:NH 6990-3. VFN, Praha (2004).
2. [Harrington N. The effects of social and enviromental toxins on reproduction. Nineth National Conference for Nurses and Support Personnel in reproductive Medicine. Scottsdale, Arizona, USA, 1996, p.33-41.](#)
3. [Laudanski T., Sipovitz M., Modzelewski P. Influence of high lead and cadmium soil content on human reproductive outcome. Int. J.Gynecol.Obstet., 36/4, 1991, p. 309-15.](#)
4. [Kelce W.R., Wilson E.M. Environmental antiandrogens: developmental effects, molecular mechanisms, and clinical implications. J. Mol. Med., 75, 1997, p. 198-207.](#)
5. [Somkuti S.G Environmental and behavioral factors associated with decreased female fertility. Applications for the Generalist, 6, 1995, p. 77-93.](#)
6. [Sharara F.I., Seifer B.B., Flaws J.A. Environmental toxicants and female reproduction. Fertil.Steril., 70, 1998, p.613-22.](#)
7. [Colborn T., Vom Saal F.S., Soto A.M. Developemental effects of endocrine-disrupting chemicals in wildlife and humans. Environ. Health Perspect., 101, 1993, p. 378-84.](#)
8. [Bláha K., Bencko V., Cikrt M. Exposure to lead and human health in the Czech republic. Centr. Eur. J. Publ.Helth, 4, 1996, p. 233-41.](#)
9. [Drbohlav P., Bencko V., Hálková E., Mašata J. et al. Detekce kadmia a zinku v krvi a folikulární tekutině žen zařazených do programu IVF + ET. Čes. Gynek., 63, 1998, p. 301-5.](#)
10. [Sharara F.I., Seifer B.B., Flaws J.A. Environmental toxicants and female reproduction., Fertil. Steril., 70, 1998 , p.613-22.](#)
11. [Giullette L.J., Gross T.S., Masson G.R.et al. Developmental abnormalities of the gonad and abnormal sex hormone concentration in juvenile alligators from contaminated and control lakes in Florida. Environ. Health Persp., 102, 1994, p. 680-8.](#)
12. [Gregoraszcuk E.L., Augustowska K. Congener-specific mechanism of polychlorinated biphenyls \(PCB 126 and PCB 153\) action on the corpus luteum. Organohalogen Comp., 55, 2002, p. 391-4.](#)

13. [Gregoraszczyk E.L., Grochowalski A., Chrzaszcz R. Effect of single repeated in vitro exposure of ovarian follicles to PCB 126 and PCB 153. *Organohalogen Comp.*, 55, 2002, p. 367-70.](#)
14. [Kui L.P., Soon S.K., So H.K. et al. Antiestrogenicity of polychlorinated biphenyls \(PCBs\) in immature female rat. *Organohalogen Comp.*, 56, 2002, p. 91-3.](#)
15. [Langer P., Kocan A., Tajtakova M. et al. Possible effects of polychlorinated biphenyls and organochlorinated pesticide on the thyroid after long-term exposure to heavy environmental pollution. *J. Occup. Environ. Med.*, 45, 2003, p. 526-32.](#)
16. Akita M., Kato M., Endo J. et al. Teratogenic effect of organohalogen contaminants extracted from small cetacean products on in vitro rat embryos during organogenesis. *Organohalogen Comp.*, 55, 2002, p. 421-4.
17. Birnbaum L.S., Fenton S.E. Role of developmental exposure to endocrine disruptors in cancer, *Organohalogen Comp.*, 56, 2002, p. 65-9.
18. [Giusti R.M., Iwamoto K., Hatch G.C. Diethylstilbestrol revisited: a review of the long-term health effect. *Ann. Intern. Med.*, 122, 1995, p. 778-88.](#)
19. [Van Voorhis B.J., Dawson J.D., Stovall D.W. et al. The effects of smoking on ovarian function and fertility during assisted reproduction cycles. *Obstet. Gynecol.*, 88, 1996, p. 785-91.](#)
20. Kamarianos A., Karamanlis X., Goulas P. et al. The presence of environmental pollutants in the follicular fluid of farm animals (cattle, sheep, goats and pigs) *Reprod. Toxicol.*, 17 (2), 2003, p. 185-90.
21. Černá M., Bajgar L., Crhová Š. et al. Levels of PCDDs, PCDFs and PCBs in the blood of the non-occupationally exposed residents living in the vicinity of chemical plant, comparison with a background level for the Czech population. *Organohalogen Comp.*, 66, 2004, p. 2667-71.
22. Bencko V., Černá M., Jech L. Dioxins and Dioxin – Like chemicals in Breast Milk, Czech Republic Data in a European Context., *Fol. Histochem. et Cytobiol.*, 39, 2001, p. 8.
23. Crhova Š., Černá M., Grabic R., Tomšej T., Ocelka T. Polybrominated flame retardants in human adipose tissue in Czech Republic inhabitants. The pilot study. *Organohalogen Comp.*, 58, 2002, p. 241-4.
24. [Koninckx P.R., Breat P., Kennedy S.H. et al. Dioxin pollution and endometriosis in Belgium. *Hum. Reprod.*, 9, 1994, p. 1001-2.](#)

25. [Mayani A., Barel S., Soback S. et al. Dioxin concentrations in women with endometriosis. Hum. Reprod., 12, 1997, p. 373-5.](#)
26. [Pauwels A., Schepens P.J.C., Hooghe T.D. et al. The risk of endometriosis and exposure to dioxins and polychlorinated biphenyls: a case- control study of infertile women, Hum. Reprod., 16, 2001, p. 2050-5.](#)
27. [Pflieger-Bruss P. and Schill W.B. Effects of chlorinated hydrocarbons on sperm function in vitro. Andrologia, 32, 2000, p. 311-5.](#)
28. [Spano M., Toft G., Hagmar L., Eleuteri P., Rescia M., Rignell-Hydbom A. et al. Exposure to PCB and p, p'-DDE in European and Inuit populations: impact on human sperm chromatin integrity. Hum. Reprod., 20, 2005, p. 3488-99.](#)
29. [Benjamini Y. and Hochberg Y. Controlling the False Discovery Rate: a Practical and Powerful Approach to Multiple Testing. J R Statistical Soc B, 57, 1995, p. 289-300.](#)
30. Černá M., Bencko V., Brabec M. et al. Exposure assessment of breast-fed infants in the Czech Republic to indicator PCBs and selected chlorinated pesticides: Area-related differences. Chemosphere, 2009, doi: 0.1016/j.chemosphere.2009.09.062- article in press.
31. Covaci, A., Jorens, P., Jacquemyn, Y. et al. Distribution of PCBs and Organochlorine pesticides in umbilical cord and maternal serum. Sci. Total Environ., 298 (1-3), 2002, p. 45-53.
32. Sala M., Ribas-Fito N., Cardo E. et al. Levels of hexachlorobenzene and other organochlorine compounds in cord blood: exposure across placenta. Chemosphere, 43, 2001, p. 895-901.
33. Steinhardt G.F. Endocrine disruption and hypospadias, Adv. Exp. Med. Biol., 545, 2004, p. 203-15.
34. Pflieger-Bruss S., Schill W.B. Effects of chlorinated hydrocarbons on sperm function in vitro. Andrologia, 32, 2000, p. 311-5.
35. [Text of the Stockholm Convention on Persistent Organic Pollutants for adoption by the Conference of Plenipotentiaries 2001; 35: United Nations.](#)

Odstraněno: ¶

¶
¶
¶
¶
¶
¶
¶

Odstraněno: POPIS
POUŽITÝCH METOD

SEZNAM PŘÍLOH

- Kopie publikovaných prací
- Seznam publikací s tematikou vztahující se k disertační práci
- Seznam dalších publikací
- Seznam posterových a ústních prezentací

Odstraněno: MATERIÁLA METODIKA

Hladiny xenobiotik byly vyšetřeny u neplodných žen léčených metodou in vitro fertilizace a embryotransferu (IVF + ET). Nejprve jsme stanovili hladiny PCB a OCP u 30 pacientek v pilotní studii našeho souboru, abychom stanovili možnost detekce těchto xenobiotik v krvi a folikulární tekutině. Dále jsme vyšetřovali možnost kumulace xenobiotik v těchto kompartmentech a dospěli k závěru, že ve folikulární tekutině dochází ke kumulaci PCB a OCP. Dále jsme zpracovávali a vyšetřovali vzorky folikulární tekutiny u 99 žen, byla stanovena hladina PCB a OCP. V tomto souboru 99 vyšetřovaných žen bylo 47 pacientek s primární sterilitou a 52 pacientek se sekundární sterilitou. Charakteristiku souboru ukazuje tab 1. ¶
Tab. 1. Charakteristika souboru pacientek¶

KOPIE PUBLIKOVANÝCH PRACÍ

SEZNAM PUBLIKACÍ S TÉMATIKOU VZTAHUJÍCÍ SE K DISERTAČNÍ PRÁCI

1. Jirsová S., Mašata J., Jech L., Zvárová J. Effect of Polychlorinated Biphenyls (PCBs) and 1,1,1-trichloro-2,2,-bis (4-chlorophenyl)-ethane (DDT) in Follicular Fluid on the Results of In Vitro Fertilization and Embryo Transfer (IVF + ET) Programs, *Fertil Steril*, 2009 Feb 5, v tisku, **IF 4,167**, ISSN 1556-5653.
2. Jirsová S., Mašata J., Jech L., Drbohlav P., Jaržembovská M., Pavelková J., Moosová M., Řežábek K., Bencko V., Zvárová J. Hladiny chlorovaných organických pesticidů ve folikulární tekutině neplodných žen, *Chem. Listy*, 2009, 103, p. 589-94, **IF 0,593**, ISSN 1213-7103, 0009-277.
3. Jirsová S., Mašata J., Drbohlav P., Pavelková J., Jech L., Omelka M., Zvárová J. Jak se liší hladiny polychlorovaných bifenyly (PCB) ve folikulární tekutině u jednotlivých typů sterilít?, *Čes Gynek* 2005, 70, 4, s.262-9. **Komentář [Drbohlav1]:**
4. Drbohlav P., Jirsová S., Mašata J., Jech L., Bencko V., Omelka M., Zvárová J.: Vztah mezi hladinami toxických polychlorovaných bifenyly (PCB) v krvi a folikulární tekutině sterilních žen, *Čes Gynek* 2005, 70, 5, s. 377-83. **Komentář [Drbohlav2]:**
5. Mašata J., Drbohlav P., Jirsová S., Jech L., Bencko V., Omelka M., Zvárová J. Vztah mezi hladinami organochlorovaných pesticidů v krvi a folikulární tekutině infertilních žen zařazených do programu in vitro fertilizace a embryotransferu (IVF + ET), *Čes Gynek* 2005, 70, 6, s. 440-6. **Komentář [Drbohlav3]:**
6. Jirsová S., Drbohlav P., Bencko V., Jech L. Polyhalogenované uhlovodíky ve folikulární tekutině a krvi neplodných žen v programu IVF + ET, *Sborník Analytická chemie a toxikologie*, Praha 2004, s. 15-23.
7. Drbohlav P., Bencko V., Mašata J., Jirsová S. Vliv toxických látek ze životního prostředí na reprodukci, *Čes Gynek* 2004, 69, 1, s. 20-6.

SEZNAM DALŠÍCH PUBLIKACÍ

1. Jirsova, S., Mardesic, T., Müller, P., Hüttelova, R., Zvarova, J., Jirkovsky, M. Multi - Fetal Pregnancy Reduction Does Not Influence Perinatal Results in Twin Pregnancies. *Twin Res.*, 2001, 4, No.6, p. 422-25, **IF 1,757**.
2. Jirsová S., Drbohlav P., Hájek Z., Binder T., Váchová D., Bláhová K., Čermák J., Živný J. Gravidita při myelodysplastickém syndromu, *Čes Gynek* 2003, 68, 3, s. 196-200.
3. Jirsová S., Drbohlav P., Hájek Z., Brejchová M., Mára M., Řežábek K. Úspěšný porod zdravého plodu v graviditě po IVF komplikované hyperstimulačním syndromem, flebotrombosou a resekci rohu děložního pro heterotopickou graviditu, *Čes Gynek* 2005, 70, 3, s. 216-21.
4. Jirsová S., Drbohlav P., Pařízek A., Žižka Z., Mardešić, T., Hájek Z., Lacheta J., Martan A. Hrozící děložní ruptura v graviditě po předchozí laparoskopické enukleaci myomu, *Čes Gynek* 2005, 70, 4, s. 316-9.
5. Jirsová S., Mardešić T., Hulvert J., Müller P., Vobořil J., Hüttelová R., Miková M., Bečvářová V., Zvářová J., Jirkovský M. Zhoršuje redukce vícečetné gravidity perinatální výsledky u dvoučetných gravidit? *Čes Gynek* 2000, 65, s. 230-5.
6. Jirsová S., Blovský J.: HELLP syndrom jako forma pozdní gestózy, *Čes Gynek* 1997, 62, 3, s. 158-60.
7. Hulvert J., Mardešić T., Müller, P., Vobořil J., Miková M., Hüttelová R., Bečvářová V., Jirsová S. Monochoriální dvojčata po léčbě sterility metodami asistované reprodukce, *Čes Gynek* 1999, 64, s. 295-9.
8. Mára M., Koryntová D., Řežábek K., Kaprál A., Drbohlav P., Jirsová S. Tromboembolické komplikace u pacientek v programu IVF-ET: retrospektivní studie, *Čes Gynek*, 2004, 69, 4, str. 312-6.
9. Jirsová S., Cibula D., Eretová V., Freitag P., Jančárková N., Hejlová P., Mareš P., Pavlišta D. Antiemetika v onkogynekologii, *Čes Gynek* 2003, 68, 4, s. 269-77.
10. Kolečka T., Srp B., Drbohlav P., Bartošová J., Jirsová S.: Aktokardiografie v porodnictví, *Čes Gynek* 1995, 60, 4, s. 191-6.

SEZNAM POSTEROVÝCH A ÚSTNÍCH PREZENTACÍ

1. Drbohlav P., Mašata J., Bencko V., Jech L., Jirsová S. Detection of some polyhalogenated hydrocarbons (pah) in infertile women undergoing the in vitro fertilization and embryo transfer program (IVF+ET), ESHRE Kongres, Berlin, 26.-29.7.2004.
2. Jirsová S., Drbohlav P., Bencko V., Jech L., Mašata J., Pavelková J., Řežábek K. Detekce některých polyhalogenovaných hydro-karbonátů (PHAH) u infertilních žen v programu In vitro fertilizace a embryotransferu (IVF + ET) Reprodukční medicína, 2003, 1, s. 35.
3. Drbohlav P., Bencko V., Jech L., Jirsová S. Polyhalogenated hydrocarbons (PHAH) in follicular fluid and blood of infertile women in the IVF +ET program. Central an Eastern European Chapter of International Society for Environmental Epidemiology, Maďarsko, Balatonfoldvar, 4.-6.9.2003.
4. Jirsová S., Mardešić T., Hulvert J., Müller P., Vobořil J., Hüttelová R., Miková M., Bečvářová V. Zhoršuje redukce vícečetné gravidity perinatální výsledky u dvoučetných gravidit? Asistovaná reprodukce, 1999, 9, s. 24-5.
5. Mardešić T., Hulvert J., Hüttelová R., Miková M., Müller P., Vobořil J., Bečvářová V., Jirsová S., Landová K. Dárcovství oocytů: možnosti, výsledky, limitující faktory. Reprodukční medicína, Brno, 27.-29.5.1999, Abstr., s. 19.
6. Miková M., Mardešić T., Hüttelová R., Bečvářová V., Landová K., Müller P., Vobořil J., Hulvert J., Jirsová S. Význam kryokonzervace v programu léčby sterility metodou mimotělního oplodnění. Reprodukční medicína, Brno, 27.-29.5.1999, Abstr., s. 25-6.
7. Moosová M., Pavelková J., Řežábek K., Koryntová D., Mára M., Drbohlav P., Jirsová S. Výsledky asistované reprodukce u onkologických pacientů za použití kryokonzervovaných spermií. Mezinárodní symposium asistované reprodukce 22.-23.10.2004, Sborník Abstrakt, s. 20.

8. Pavelková J., Moosová M., Řežábek K., Koryntová D., Mára M., Drbohlav P., Jirsová S. Vliv puchýřků na embryích na výsledek kryoprezervace. Mezinárodní symposium asistované reprodukce 22.-23.10.2004, Sborník Abstrakt, s. 31.
9. Řežábek K., Jaržembovská M., Pavelková J., Koryntová D., Moosová M., Mára M., Drbohlav P., Jirsová S. Parametry spermogramu důležité pro IUI. Mezinárodní symposium asistované reprodukce 22.-23.10.2004, Sborník Abstrakt, str. 35.

SEZNAM ZKRATEK

AR – asistovaná reprodukce

BMI - body mass index

COH - controlled ovarian hyperstimulation (řízená hyperstimulace vaječnicků)

DDD - [1,1-dichlor-2,2- bis\(4-chlorfenyl\)ethan](#)

DDE - [1,1-dichlor-2,2- bis\(4-chlorfenyl\)ethen](#)

DDT - [1,1,1-trichlor-2,2-bis\(4-chlorfenyl\)ethan](#)

DES – diethylstilbestrol

DL-PCBs - dioxin like polychlorované bifenyly

E2 – estradiol

ED – endokrinní disruptory

FSH – folikulostimulační hormon

GnRH – gonadotrophin releasing hormon

HCB - hexachlorcyklobenzen

hCG – lidský choriový gonadotrophin

HCH - hexachlorcyklohexan

hMG – lidský [menopauzální gonadotropin](#)

ICSI –intracytoplasmatická injekce spermie do vajíčka

IVF + ET - in vitro fertilizace a embryotransfer (mimotělní oplodnění a přenos embrya)

LH - luteinizační hormon

NK – natural killer buňky

OCP – organochlorované pesticidy

PCB – polychlorované bifenyly

Pg – progesteron

POP – persistentní organické polutanty

TCHL – toxické chemické látky

JEDNOSTRÁNKOVÝ SOUHRN V ČEŠTINĚ

CÍL STUDIE: PROKÁZAT MOŽNOST DETEKCE POLYCHLOROVANÝCH BIFENYLŮ (PCB) A ORGANOCHLOROVANÝCH PESTICIDŮ (OCP) V KRVI A FOLIKULÁRNÍ TEKUTINĚ NEPLODNÝCH ŽEN. PROKÁZAT JEJICH KUMULACI VE FOLIKULÁRNÍ TEKUTINĚ A ZJISTIT, JAK JEJICH HLADINY OVLIVŇUJÍ ÚSPĚŠNOST LÉČBY NEPLODNOSTI.

METODIKA: HLADINY PCB A OCP JSME STANOVILI NEJPRVE V KRVI A FOLIKULÁRNÍ TEKUTINĚ 30 ŽEN ZAŘAZENÝCH DO PROGRAMU MIMOTĚLNÍHO OPLOZENÍ A PŘENOSU EMBRYA (IVF+ET) A POTVRDILI MOŽNOST JEJICH DETEKCE. BYLA PROKÁZÁNA KUMULACE TĚCHTO XENOBIOTIK VE FOLIKULÁRNÍ TEKUTINĚ. V DALŠÍM SLEDOVÁNÍ JSME ANALYZOVALI SOUVISLOST S ANAMNESTICKÝMI ÚDAJI A VLIV TĚCHTO LÁTEK NA ÚSPĚŠNOST PROGRAMU LÉČBY NEPLODNOSTI U CELKOVÉHO SOUBORU 99 PACIENTEK.

VÝSLEDKY: U PCB 153, PCB 138, PCB 118+123, PCB 156, PCB 172, HCB A BETA HCH BYLA POTVRZENA ZÁVISLOST NA VĚKU PACIENTKY. U VELKÉ ČÁSTI POLYCHLOROVANÝCH BIFENYLŮ JE PROKÁZÁNA NEPŘÍMÁ ZÁVISLOST NA BODY MASS INDEXU (BMI).

BYLA NALEZENA VYŠŠÍ KONCENTRACE BIFENYLŮ PCB 47 A PCB 158 U PACIENTEK S PRIMÁRNÍ STERILITOU. VÝSLEDEK VŠAK NENÍ STATISTICKY SIGNIFIKANTNÍ.

VE STUDII BYLY PROKÁZÁNY STATISTICKY SIGNIFIKANTNĚ ZVÝŠENÉ HLADINY PCB VE FOLIKULÁRNÍ TEKUTINĚ U ŽEN S ENDOMETRIOSOU. HLADINY ORGANOCHLOROVANÝCH PESTICIDŮ SE U RŮZNÝCH INDIKACÍ K LÉČBĚ NELIŠILY.

POČET DIPLOIDNÍCH OOCYTŮ MŮŽE OVLIVNIT DDT, FERTILIZACI OOCYTŮ MŮŽE OVLIVNIT PCB 158. VÝSLEDEK LÉČBY A POČET ZAMRAŽENÝCH EMBRYÍ MOHOU OVLIVNIT PCB 47 A LINDANE. TYTO VZTAHY VŠAK NEBYLY NA 5% HLADINĚ VÝZNAMNOSTI STATISTICKY SIGNIFIKANTNÍ, POUZE PODEZŘELÉ.

ZÁVĚR: NALEZENÉ HLADINY XENOBIOTIK SICENEMĚLY STATISTICKY SIGNIFIKANTNÍ VLIV NA VÝSLEDKY IVF PROGRAMU, ALE ZE STATISTICKÝCH MODELOVÝCH SITUACÍ ALE VYPLÝVÁ, ŽE DALŠÍ KUMULACE TĚCHTO LÁTEK V PROSTŘEDÍ A ZVYŠOVÁNÍ JEJICH HLADIN VE FOLIKULÁRNÍ TEKUTINĚ MŮŽE VÉST K POŠKOZENÍ REPRODUKČNÍ SCHOPNOSTI POPULACE.

SUMMARY

THE AIM OF THIS STUDY: TO CONFIRM THE POSSIBILITY OF DETECTION OF POLYCHLORINATED BIPHENYLS (PCBS) AND ORGANOHALOGEN PESTICIDES (OCPS) IN BLOOD AND FOLLICULAR FLUID OF INFERTILE WOMEN. TO DETERMINE THE LEVELS OF SOME CONGENERS AND TO CONFIRME THEIR CUMULATION IN FOLLICULAR FLUID ANF THIER INFLUENCE ON THE RESULTS OF IVF +ET PROGRAM.

METHODS: WE DETECTED THE LEVEL OF PCBS AND OCPS AT FIRST IN BLOOD AND FOLLICULAR FLUID OF 30 INFERTILE WOMEN THERE WAS CONFIRMED THE POSSIBILITY OF THEIN DETECTION. IT WAS FOUND THE CUMULATION OF THIS XENOBIOTICS IN FOLLICULAR FLUID. AFTER THAT WE ANALYSED THE RELATIONSHIP BETWEEN THE PRESENCE OF THESE XENOBIOTICS AND ACHIEVING SUCCESFUL PREGNANCY.

RESULTS: PCB 153, PCB 138, PCB 118+123, PCB 156, PCB 172, HCB AND BETA HCH ARE DEPENDENT ON THE AGE OF PATIENTS. THE MOST PART OF PCBS IS ALSO HIGHER IN PATIENS WITH HIGH BMI.

WE FOUd THE HIGHER CONCENTRATIONS OF PCB 47 A PCB 158 IN PATIENTS WITH PRIMARY STERILITY. THIS CORRELATION WAS NOT STATISTICALLY SIGNIFICANT.WE CONFERMED STATISTICALLY SIGNIFICANT HIGHER LEVELS OF PCB IN FOLLICULAR FLUID OF PATIENTS WITH ENDOMETRIOSIS. THE LEVELS OF OCPS DIDN'T DIFFER. A CORRELATION HAS BEEN ASCERTAINED BETWEEN THE NUMBER OF DIPLOID OOCYTES AND THE LEVELS OF DDT, FERTILIZATION OF OOCYTES AND LEVELS OF PCB 158 AND THE PREGNANCY RATE AND THE NUMBER OF EMBRYOS CRYOCONSERVED AND LEVELS OF PCB 47. THESE CORRELATIONS WERE SUSPICIOUS, THOUGH IT WAS NOT STATISTICALLY SIGNIFICANT ON THE 5% LEVEL.CONCLUSION: THESE CONCENTRATIONS DO NOT HAVE A STATISTICALLY SIGNIFICANT EFFECT ON

THE RESULTS OF IVF+ET PROGRAM, BUT FROM STATISTICAL MODELING IT IS OBVIOUS THAT IF THE CONCENTRATION DOUBLED, THE RESULTS WOULD BE AFFECTED. FURTHER ACCUMULATION IN THE ENVIRONMENT AND INCREASE IN LEVELS IN FOLLICULAR FLUID MAY SIGNIFICANTLY AFFECT FERTILITY.ÚVOD

Stránka 5: [3] Odstraněno

Pavel

5.11.2009 22:33:00

K tomu se používají lidské menopauzální gonadotropiny (hMG)- směs luteinizačního (LH) a folikulostimulačního (FSH) hormonu.

Stránka 18: [4] Odstraněno

Pavel

6.11.2009 23:07:00

INDIKACE K LÉČBĚ STERILITY BYLA ANOVULACE (34 PACIENTEK), TUBÁRNÍ FAKTOR (17 PACIENTEK), ENDOMETRIOSA (6 PACIENTEK), IDIOPATICKÁ STERILITA (29 PACIENTEK) A ANDROLOGICKÝ FAKTOR STERILITY (13 PACIENTEK). GRAVIDITY JSME DOSÁHLI U 49 PACIENTEK (U 5 Z NICH SKONČILO TĚHOTENSTVÍ SAMOVOLNÝM POTRATEM, U JEDNÉ MIMODĚLOŽNÍ GRAVIDITOU). NEOTĚHOTNĚLO 55 PACIENTEK. VĚTŠINOU BYLY MULTIGRAVIDY (52 PACIENTEK). SPONTÁNNĚ PORODILO 26 Z NICH, OSTATNÍ MĚLY V ANAMNESE POTRAT, NEBO MIMODĚLOŽNÍ GRAVIDITU. OPLOZENÍ PROBĚHLO METODOU IVF (66 PACIENTEK) NEBO ICSI (33 PACIENTEK).

U VŠECH PACIENTEK BYLA PŘED ZAŘAZENÍM DO PROGRAMU IVF + ET PROVEDENA DIAGNOSTICKÁ LAPAROSKOPIE K POTVRZENÍ, ČI VYLOUČENÍ PATOLOGÍ V DUTINĚ BŘIŠNÍ.

PACIENTKY SOUHLASILY SE ZAŘAZENÍM DO PROGRAMU IVF + ET I SE ZAŘAZENÍM DO STUDIE. PODEPSALY PODROBNÝ INFORMOVANÝ SOUHLAS A BYLY POUČENY LÉKAŘEM PROVÁDĚJÍCÍM PUNKCI FOLIKULÁRNÍ TEKUTINY O PRŮBĚHU STUDIE. STUDIE BYLA SCHVÁLENA MÍSTNÍ ETICKOU KOMISÍ.

PACIENTKY PODSTOUPILY LÉČBU STERILITY V PROGRAMU IVF +ET NA NAŠÍ KLINICE V OBDOBÍ OD SRPNA 2003 DO ÚNORA 2004. OVARIÁLNÍ STIMULACE BYLA PROVEDENA STANDARDNÍMI PROTOKOLY (DLOUHÝ PROTOKOL, KRÁTKÝ S ANTAGONISTY GNRH, POUŽITO HMG ČI RFSH).

ODBĚR OOCYTŮ SE PROVÁDĚL V CELKOVÉ NARKOSE, TRANSVAGINÁLNÍ PUNKCÍ POD ULTRAZVUKOVOU KONTROLOU. PO VYHLEDÁNÍ OOCYTŮ BYLA ZAMRAŽENÁ FOLIKULÁRNÍ TEKUTINA ODESLÁNA KE STANOVENÍ HLADINY PCB. VZORKY BYLY PO EXTRAKCI A VYČIŠTĚNÍ ANALYZOVÁNY METODAMI PLYNOVÉ CHROMATOGRAFIE A HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIE.

POPIS STATISTICKÝCH METOD PŘI ANALÝZE SOUBORU BYLO ZADÁNO POROVNAT HLADINY JEDNOTLIVÝCH NOX VE FOLIKULÁRNÍ TEKUTINĚ, NALÉZT VZTAH HLADIN NOX K VĚKU PACIENTKY, BMI, TYPU STERILITY (PRIMÁRNÍ NEBO SEKUNDÁRNÍ), INDIKACÍ K LÉČBĚ (TUBÁRNÍ, ANOVULAČNÍ, ANDROLOGICKÉ, ENDOMETRIOSE, IDIOPATICKÉ), PRŮBĚHU A VÝSLEDKU LÉČBY (POČET A KVALITA OOCYTŮ (POČET DIPLOIDNÍCH OOCYTŮ), FERTILIZACE, KVALITA EMBRYÍ, DOSAŽENÉ TĚHOTENSTVÍ, POČET ZAMRAŽENÝCH EMBRYÍ, VÝSLEDKU TĚHOTENSTVÍ. BYLY STATISTICKY ANALYZOVÁNY VZTAHY MEZI HLADINAMI POLYCHLOROVANÝCH BIFENYLŮ A ORGANOCHLOROVANÝCH PESTICIDŮ A ANAMNESTICKÝMI ÚDAJI. JAKO KORELAČNÍ KOEFICIENT BYL POUŽIT SPEARMANŮV KORELAČNÍ KOEFICIENT. DO STATISTICKÉ ANALÝZY BYLY ZAHRNUTY PŮVODNÍ HODNOTY BIFENYLŮ, TJ. BIFENYLY V NG NA GRAM TUKU. SÍLA ZÁVISLOSTI BYLA UDÁVÁNA VELIKOSTÍ KORELAČNÍHO KOEFICIENTU. TEN NABÝVAL HODNOT MEZI -1 A 1. HODNOTA 1 ZNAMENALI PERFEKTNÍ ZÁVISLOST- PŘÍMOU ÚMĚRNOST, 0 NEZÁVISLOST, HODNOTA -1 ZNAMENALI PERFEKTNÍ ZÁVISLOST- NEPŘÍMOU ÚMĚRNOST. BYLO PROVEDENO MNOŽSTVÍ TESTŮ PODROBUJÍCÍ STATISTICKÉ ANALYSE VELKÉ MNOŽSTVÍ ANAMNESTICKÝCH ÚDAJŮ. K PRŮKAZU STATISTICKÉ VÝZNAMNOSTI DANÉ KORELACE JE TŘEBA, ABY Q-HODNOTA (TO JE MODIFIKACE P-HODNOTY) BYLA NIŽŠÍ, NEŽ 0,05. JAKO HRANIČNÍ STATISTICKOU VÝZNAMNOST HODNOTÍME P-HODNOTY MENŠÍROZDÍLNOST KONCENTRACÍ PCB A OCP PRO RŮZNÉ SKUPINY PACIENTEK BYLA ZKOUMÁNA POMOCÍ WILCOXOVA TESTU (V PŘÍPADĚ DVOU SKUPIN) A KRUSKAL-WALLISOVA TESTU, KTERÝ JE ZOBECNĚNÍM PŘEDEŠLÉHO TESTU PRO VÍCE NEŽ DVĚ SKUPINY. V PŘÍPADĚ POROVNÁVÁNÍ POUZE DVOU SKUPIN BYL WILCOXŮV TEST DOPLNĚN JEŠTĚ O T-TEST. PRO DOSAŽENÍ PŘIBLIŽNÉ NORMALITY HLADIN BIFENYLŮ A PESTICIDŮ BYLA POUŽITA LOGARITMICKÁ TRANSFORMACE.

DÁLE JSME PRACOVALI SE ZOBECNĚNÝMI LINEÁRNÍMI MODELY A TO S TZV. POISSONOVSKOU REGRESÍ, ALE ZEJMÉNA S LOGISTICKOU REGRESÍ. POISSONOVSKÁ REGRESE BYLA POUŽITA POUZE V PŘÍPADECH PRO ANALÝZU CELKOVÉHO POČTU OOCYTŮ, POČTU ZAMRAŽENÝCH EMBRYÍ. VE ZBYLÝCH PŘÍPADECH (ANALÝZA PROCENTA DIPLOIDNÍCH OOCYTŮ, ANALÝZA

DOSAŽENÍ TĚHOTENSTVÍ, ANALÝZA POČTU EMBRYÍ KVALITY A K CELKOVÉMU POČTU EMBRYÍ) BYLA POUŽITA LOGISTICKÁ REGRESE. V UVEDENÝCH PŘÍPADECH SE VYSKYTL PROBLÉM NADMĚRNÉ DISPERZE. PROTO BYL POUŽIT PŘÍSTUP POMOCÍ TZV. KVAZIVĚRNOSTI.

DISKUZE 1- Vztah mezi PCB a OCP v krvi a folikulární tekutině neplodných

Člověk a celá příroda jsou vystaveni během života negativním vlivům mnoha chemických látek, které jsou široce rozšířeny a kumulují se v životním prostředí. In vitro a u některých živočišných druhů in vivo bylo negativní až toxické působení některých chemických látek z prostředí (xenobiotik) již potvrzeno. Mezi xenobiotika patří některé toxické kovy a organohalogenované sloučeniny, jako jsou polychlorované bifenyly a pesticidy. Nejpravděpodobnější mechanismus jejich účinku je interference s hormonálním systémem. Tyto látky působí jako tzv. endokrinní disruptory (ED). Sloučeniny po vstupu do buňky a po vazbě na receptor mohou vstoupit do interakce s genomem buňky. Ovlivněním specifických genů pak mohou funkci genomu ovlivňovat buď ve smyslu stimulace, či inhibice.

Současné analýzy mohou identifikovat a kvantifikovat přítomnost jednotlivých známých ED, ale hodnocení zdravotního rizika je velice komplikované. Tyto látky jsou většinou strukturálně odlišné sloučeniny, kde je nutno zvažovat i možnost interakce jednotlivých látek mezi sebou. Jsou vysoce lipofilní a poločas jejich rozpadu je až 7-10 let. Výsledný biologický účinek může být zcela odlišný. Proto je vztah mnoha konkrétních látek např. s estrogení aktivitou stále nejasný.

Polychlorované bifenyly jsou skupina chemických sloučenin stávající z 209 kongenerů od mono do delta chloro substituovaných. S nárůstem znalostí o jejich biologických účincích bylo zjištěno, že některé kongenery jsou více toxické než druhé. V roce 1998 WHO bylo definováno 12 kongenerů s toxicitou podobnou dioxinům (dioxin-like PCB, DLPCBs-non-ortho: 77, 81, 126, 169 and mono-ortho: 105, 114, 118, 123, 156, 157, 167 a 189).

Prokázalo se, že PCB ovlivňují produkci prolaktinu, hormonů štítné žlázy [26], transport vitamínu A. Mohou mít estrogení i antiestrogení účinky [5, 16, 17, 19, 20]. Závažný je i jejich vliv na imunitní systém, jsou kancerogenní a mají

teratogenní efekt [1, 2, 15]. Ovlivňují buněčnou membránu a zvyšují tvorbu volných radikálů [10]. Mohou negativně ovlivňovat reprodukční procesy u živočichů i lidské populace.

U živočichů byl již prokázán pokles populace aligátorů či vodního ptactva v oblasti Velkých jezerech v USA v souvislosti s přítomností některých xenobiotik [6, 7]. Další studie upozorňují na negativní vliv PCB na reprodukční systém krys, kde byl potvrzen pokles hmotnosti dělohy a snížené hladiny estradiolu [16]. **U člověka je vliv jednotlivých kongenerů PCB na pokles fertility nejednoznačný. Existuje jen malé množství prací zabývajících se touto tematikou a jejich závěry jsou kontroverzní. Většinou se tyto práce zabývají možným negativním vlivem těchto sloučenin na kvalitu spermatu či na fertilizaci oocytů při léčbě neplodnosti metodou in vitro fertilizace a embryotransferu (IVF+ET). Byl prokázán signifikantní vliv na produkci estradiolu v buňkách zrajícího folikulu [11, 12]. Současně se změnami v produkci estradiolu byly pozorovány i změny v produkci testosteronu. PCB mohou negativně působit i na corpus luteum a snižovat produkci progesteronu - negativní vliv na implantaci embrya u zvířecích modelů [11, 12]. Vztah k reprodukčním schopnostem člověka může mít i fakt, že byla pozorována pozitivní korelace mezi věkem a hladinou PCB v séru [3]. To se jistě může uplatňovat ve faktoru sterility, hlavně je-li příčina sterility hormonální, imunologická, či andrologická.**

Diskuze 2-Vztah hladin PCB a OCP k anamnestickým údajům

Závislost PCB a OCP na věku byla u některých pacientek prokázána. S věkem korelovaly hladina v ng/g tuku u PCB 118+123, PCB 156, PCB 172, HCB a beta HCH. Při hodnocení koncentrace ng/g navážky byla tato závislost nalezena u PCB 153, PCB 138. U těchto PCB se dá předpokládat závislost na věku. Je zajímavé, že souvislost s věkem je u některých bifenyly silná (vysoký korelační koeficient, nízká p-hodnota i q-hodnota), u jiných v podstatě nulová (korelační koeficient blízky nule, vysoká p-hodnota). Hladiny PCB korelují s procentem tukové tkáně v organismu. Tento fakt byl prokázán i v jiných studiích. PCB mají vysokou rozpustnost v tukové tkáni [3]. Mezi koncentrací PCB a BMI je nepřímá úměrnost. Pozorujeme rozdílnou sílu závislosti u jednotlivých bifenyly, u některých je silná (vysoký korelační koeficient, nízká p-hodnota) a u jiných slabá (korelační koeficient blízky nule, vysoká p-hodnota).

U pacientek s primární sterilitou by mohla být vyšší koncentrace bifenyly PCB 47 a PCB 158 vysvětlena protektivním vlivem gravidity na kumulaci bifenyly v organismu. Ženy, které již byly těhotné, mohou eliminovat bifenyly z organismu při porodu (placenta) a při laktaci (mateřské mléko). Pro tuto domněnku však v literatuře neexistují žádné důkazy a tento fakt je nutno ještě podrobit další analýze.

Diskuze 3-Vztah hladiny PCB a OCP a indikací k léčbě sterility

Stránka 32: [8] Odstraněno

Pavel

7.11.2009 23:38:00

Endometriosia je stav charakterizovaný výskytem ektopických ložisek žlázek i stromatu endometria mimo dutinu děložní. Existuje mnoho teorií o etiologii tohoto onemocnění. Onemocnění je spojeno s pánevní bolestí, infertilitou a dyspareunií. Mezi toxické látky z vnějšího prostředí, u kterých se předpokládá spojení s endometriosou, patří polyhalogenované aromatické uhlovodíky. K nim se řadí polychlorované dibenzo-p-dioxiny (PCDDs), dibenzofurany (PCDBFs) a polychlorované bifenyly (PCBs). Etiologie endometriosy je zřejmě multifaktoriální. Možný vliv těchto látek na riziko endometriosy se předpokládá pro jejich známý vliv na imunitní odpověď organismu. Dále jsou u nich známy účinky na hladiny pohlavních hormonů a růstových faktorů. Ovlivňují tkáňově specifickou odpověď na steroidní hormony reakcí s hormonálními receptory [18]. Působí jako tzv. rozpojovači hormonů (rozpojovači signálů - signal disruptors). Mohou po vstupu do buňky a po vazbě na specifický receptor (arylhydrokarbonový receptor-AhR) měnit odpověď buňky na hormonální stimul ve smyslu stimulace či inhibice [4, 5, 6, 14].

U mnoha PCB byl již kromě ovlivnění hormonálních systémů prokázán vliv na imunitní systém, teratogenní a kancerogenní účinek. [1]. Ovlivňují také buněčnou membránu a zvyšují tvorbu volných radikálů [10]. Prokázána byla i jejich kumulace ve folikulu [7]. Tyto všechny faktory se mohou podílet na vzniku endometriosy.

Vliv jednotlivých kongenerů PCB na pokles fertility u lidské populace je nejednoznačný. Většinou se zabývají negativním vlivem těchto sloučenin na kvalitu spermatu či na fertilizaci oocytů při léčbě neplodnosti metodou IVF+ET [3, 4]. Byl prokázán signifikantní vliv na produkci estradiolu, testosteronu i progesteronu ve zrajícím folikulu i v corpus luteum [11, 12]. Právě tyto hormonální změny se mohou výrazně uplatňovat v etiopatogenezi endometriosis. U ložisek endometriosis nalézáme odlišné zastoupení estrogenních a progesteronových receptorů. Je u ní popisována změněná aktivita natural killer (NK) buněk, které se podílejí na lýze ektopických ložisek endometria a porucha jejich funkce může vést ke vzniku endometroidních ložisek na peritoneu [9]. Mění se i parametry buněčné a humorální imunity (zvýšené hladiny IgG a IgA imunoglobulinů, zvýšená hladina B buněk v periferní krvi, změny v hladinách tkáňových mediátorů). Endometriosa je popisována u zhruba 16% žen ve fertilním věku. V případě sterilních pacientek se s ní však setkáváme až u 30% žen. Tento fakt může být samozřejmě způsoben podrobnějšími vyšetřovacími metodami, která sterilní pacientky podstupují. Byla pozorována pozitivní korelace mezi věkem populace a hladinou PCB v séru [2], což může souviset se zvýšeným výskytem endometriosis u sterilních pacientek, které často podstupují léčbu ve vyšším věku.

Zvýšený výskyt endometriosis u infertilních žen byl zaznamenán v Belgii, kde je také dokumentován nejvyšší stupeň znečištění prostředí dioxiny [13]. V literatuře je názor na vliv PCB na výskyt endometriosis sporný. Některé studie tento fakt potvrzují [16], jiné souvislosti nenacházejí [15, 17].