



Gynekologicko-porodnická klinika
Masarykova univerzita Brno a Fakultní nemocnice Brno

Přednosta: prof. MUDr. Pavel Ventruba, DrSc., MBA.

**Klinické inovativní postupy v terapii děložní
myomatózy ve vztahu k reprodukčním dysfunkcím**

HABILITAČNÍ PRÁCE

komentovaný soubor prací

prim. MUDr. Robert Hudeček, Ph.D.

Brno – 2015

OBSAH

1. Předmluva autora.....	5
2. Poděkování	7
3. Historické souvislosti a inovativní postupy v reprodukční medicíně.....	9
3.1. Historické souvislosti asistované reprodukce.....	9
3.2. Komplikace v reprodukční medicíně v souvislosti s in vitro fertilizací	15
3.3. Inovativní postupy v ART	66
3.4. Myomatóza a děložní faktor	131
3.5. Literatura	143
4. Vliv děložní myomatózy na reprodukční funkce	148
4.1. Demografie děložní myomatózy	148
4.2. Etiologie děložní myomatózy	150
4.3. Klinické projevy děložní myomatózy.....	150
4.4. Myomy a sterilita.....	151
4.5. Myomy a infertilita.....	152
4.6. Myomy a asistovaná reprodukce	153
4.7. Myomektomie a reprodukce.....	153
4.8. Myomy a porodnictví	154
4.9. Literatura	156
5. Klasifikace děložních myomů	158
5.1. Topograficko-anatomická klasifikace děložních myomů.....	158
5.2. Klinická klasifikace myomů.....	161
5.3. Histopatologická klasifikace děložních myomů.....	164
5.4. Korelace histopatologických typů myomů a klasifikace	173
5.5. Literatura	187
6. Diagnostika děložních myomů	189
6.1. Anamnestická data.....	189

6.2. Objektivizace klinické symptomatologie	190
6.3. Klinické vyšetření myomatózy	201
6.4. Neinvazivní zobrazovací metody v diagnostice myomatózy	202
6.5. Invazivní vyšetřovací metody v diagnostice myomatózy	211
6.6. Literatura.....	216
7. Aktuální možnosti terapie děložní myomatózy.....	218
7.1. Observační režimy, nespecifická terapie a jejich pozice v klinické praxi.....	218
7.2. Specifické farmakologické možnosti léčby myomů – přehled	220
7.3. Chirurgické možnosti léčby myomů	223
7.4. Literatura.....	224
8. Specifické farmakologické možnosti léčby myomů	226
8.1. Analoga gonadoliberinu	226
8.2. Selektivní modulátory progesteronových receptorů	227
8.3. Multicentrické studie PEARL I, II, III, IV	229
8.4. Literatura.....	296
9. Chirurgická léčba myomatózy	297
9.1. Chirurgická léčba myomatózy – obecný přehled.....	297
9.2. Inovativní farmakologicko-chirurgické postupy v řešení myomatózy	302
9.3. Literatura.....	341
10. Soubor komentovaných prací autora zařazených v textu.....	345
10.1. Kapitoly v monografiích.....	345
10.2. Původní vědecké články v časopisech	345
11. Vědecko-výzkumné projekty autora	347
11.1. Vědecko-výzkumné projekty autora – hlavní řešitel	347
11.2. Vědecko-výzkumné projekty autora – spoluřešitel.....	348
12. Souhrn	349
13. Summary	351

1. Předmluva autora

Reprodukční medicína reprezentuje velmi pestrý a široký lékařský obor založený na úzké interdisciplinární spolupráci řady subspecializací. Od laboratorních technik asistované reprodukce a in vitro fertilizace, endokrinologie, imunologie a genetiky až po klinické metody minimálně invazivní chirurgické léčby, ochrany reprodukčních funkcí a řešení komplikací léčebných postupů. Neopomenutelnou její součástí je i dynamicky se rozvíjející oblast farmakoterapie. Tento prosperující vědní obor přináší do klinické praxe již po desítky let nové diagnostické postupy a terapeutické možnosti při řešení reprodukčních potíží současné populace.

Vývojové demografické trendy reprodukce a porodnosti v České republice a ve vyspělých zemích západní Evropy dokladují stále významnější kombinaci negativních zdravotních faktorů.

Dramatická je především změna v posunu věkové kategorie žen při porodu v průběhu posledních 20 let. Dle zdrojů ÚZIS v roce 1993 rodilo v České republice pouze 17 % žen ve věku nad 30 let a v roce 2013 tato skupina představovala již 60 % porodů, z toho 20 % ve věku nad 35 let. Stále se zvyšující věk rodiček s sebou přináší rostoucí incidenci mateřských komorbidit a těhotenských i peripartálních komplikací.

Protipólem tohoto stavu je neustále rostoucí procento páru s reprodukční dysfunkcí, které vyhledávají léčebnou intervenci v centrech asistované reprodukce. Dle údajů Národního registru asistované reprodukce vzrostl počet těchto center v České republice za posledních dvacet let z původních pěti center v roce 1995 na téměř čtyřicet v roce 2014.

Reprodukční potenciál ženské populace dramaticky zhoršuje incidence děložního faktoru neplodnosti, především v souvislosti s přítomností myomů. Děložní myomy postihují 30–50 % žen ve věku nad 30 let a stoupající frekvence jejich výskytu mezi ženami plánujícími koncepci představuje vysoce aktuální demografický problém.

Z prognostického hlediska se reprodukční medicína stává oborem, jehož uplatnění bude v budoucnosti nabývat stále většího významu. Každý posun ve vývoji laboratorních technik in vitro fertilizace, klinických metod farmakologické nebo intervenční terapie přináší naději stále většímu počtu neplodných párů na dosažení vytouženého cíle – vlastního dítěte.

2. Poděkování

Klinické inovativní postupy prezentované v předložené práci jsou výsledkem mnohaleté odborné činnosti na poli reprodukční medicíny, která od prvopočátku našla úrodnou půdu pro svůj rozvoj v centru asistované reprodukce Gynekologicko-porodnické kliniky LF MU a FN Brno.

Mé upřímné poděkování patří přednostovi pracoviště a vedoucímu Centra asistované reprodukce prof. MUDr. Pavlu Ventrubovi, DrSc., MBA, za jeho dlouholeté vedení, spolupráci v oblasti Národního Registru Asistované Reprodukce ČR, za podporu a důvěru ve výsledky mé práce, jakožto i za cenné rady a připomínky v průběhu osobního odborného růstu. Poděkování patří předním členům kolektivu Centra asistované reprodukce, doc. MUDr. Igoru Crhovi, CSc., za spolupráci v oblasti andrologické problematiky, doc. RNDr. Janě Žákové, Ph.D., za pomoc v oblasti embryologie a laboratorních technik. Doc. MUDr. Martinu Huserovi, Ph.D., za tvůrčí spolupráci při řešení grantových úkolů na poli onkofertility a prim. MUDr. Martinovi Petrenkovi, CSc., za pomoc při rozvoji endoskopické operativy na pracovišti a při realizaci projektů velkokapacitních přenosů digitálních obrazových dat. Nelze opomenout ani pečlivou spolupráci širokého týmu spoluřešitelů mezinárodních klinických studií a jejich praktickou pomoc při uvedení nových farmakologických léčebných preparátů do klinické praxe. Díky inspirující spolupráci s doc. Michalem Márou, CSc., z Všeobecné fakultní nemocnice v Praze, se minimálně invazivní chirurgické výkony staly standardem léčby myomů. Mé poděkování patří i doc. RNDr. Janě Šarmanové, CSc., z Fakulty elektrotechniky a informatiky, VŠB – Technické univerzity Ostrava, za spolupráci při aplikaci metod pro dolování znalostí z databází v asistované reprodukci, dále RNDr. Jiřímu Jarkovskému, Ph.D., z Institutu biostatistiky a analýz MU Brno a Mgr. Filipu Daňkovi, Ph.D., z LF MU Brno za analytickou a technickou podporu.

Závěrem bych ze srdce rád poděkoval své rodině za neutuchající podporu, trpělivost a pochopení pro mou práci.



prim. MUDr. Robert Hudeček, Ph.D.

3. Historické souvislosti a inovativní postupy v reprodukční medicíně

3.1. Historické souvislosti asistované reprodukce

Podle definice světové zdravotnické organizace (WHO) je partnerská dvojice považována za neplodnou, pokud žena neotěhotní po dobu dvou let při pravidelném nechráněném pohlavním styku. Z praktického hlediska lze tento interval (training time) individuálně modifikovat a to především s přihlédnutím k věku nechtěně neplodného páru a jeho zdravotní anamnéze. Délka snahy o spontánní graviditu před absolvováním prvního léčebného cyklu asistované reprodukce (AR) je důležitým prognostickým faktorem, který ovlivňuje výsledek následné terapie dysfertility. Páry zařazené do programu AR nejpozději v průběhu tří let neúspěšné snahy o spontánní koncepci mají v programu AR signifikantně vyšší procento oplozených oocytů (fertilisation rate – FR) a vyšší procento získaných klinických gravidit (Pregnancy rate – PR) než páry léčené technikami asistované reprodukce po více než tříletém intervalu [1].

Za jednu z hlavních příčin dysfertility lze považovat poruchy činnosti vaječnicků – tzv. ovariální faktor, jehož incidence se pohybuje kolem 40 % nechtěně neplodných párů. Stejným dílem (40 %) se na etiologii poruch plodnosti podílí andrologický faktor. Tubární faktor neplodnosti (25–30 %), reprezentující patologické stavy vejcovodů, patří ke klíčovým příčinám ženské neplodnosti především v počáteční éře technik in vitro fertilizace. Mezi faktory s nižší incidencí, ale přinejmenším stejným klinickým významem, lze zařadit endometriózu (10 %), děložní a cervikální faktor (5 %) a imunologický faktor neplodnosti (1 %). Pojem tzv. idiopatické sterility v sobě skrývá především genetické faktory neplodnosti či inkompletní diagnostický algoritmus.

Význam technik asistované reprodukce, jako nejprogresivnějšího způsobu léčby poruch plodnosti, se netýká jen České republiky, ale je vpravdě celosvětový [2]. Globálně zasahuje dysfertilita negativně do životů 60–80 milionů párů, přičemž prevalence poruch plodnosti se v jednotlivých státech Evropy i světa výrazně liší (5 % Čína, 17,6 % Švédsko) [3, 4]. Techniky asistované reprodukce (AR) se v České republice během svého více než třicetiletého vývoje staly nedílnou součástí reprodukční medicíny. Metody léčby a techniky in vitro fertilizace (IVF) zaznamenaly obrovský rozvoj a představují logickou reakci na celosvětový nárůst počtu párů s poruchou fertility.

Z historických dat Evropské společnosti pro lidskou reprodukci a embryologii (ESHRE) vyplývá, že již v průběhu roku 1998 bylo v zemích Evropské unie, které dodávají data o technikách AR do evropského registru, provedeno celkem 232 225 léčebných cyklů asistované reprodukce v 521 centrech AR. Spektrum provedených technik reprezentuje 103 919 cyklů (44,7 %) in vitro fertilizace (IVF), 89 196 cyklů (38,4 %) intracytoplazmatické injekce spermie (ICSI) a 34 036 cyklů (14,7 %) s transferem rozmražených embryí po kryokonzervaci (KET). Úspěšnost jednotlivých technik vyjádřena procentem dosažených klinických gravidit/embryotransfer – PR byla za sledované období u techniky IVF = 27,0 %, ICSI = 26,8 % a KET = 14,7 %.

Dle údajů Národního registru asistované reprodukce (NRAR) bylo již na konci minulého století v České republice 16 centrech asistované reprodukce, ve kterých bylo v roce 2000 provedeno celkem 7 158 monitorovaných cyklů AR a dosaženo 1 742 klinických gravidit. Efektivita všech metod v uvedeném roce (PR = 26,3 %) byla zcela srovnatelná s úspěšností center AR v zemích Evropské unie. Závěry Národního registru asistované reprodukce České republiky [5, 6, 7] a publikovaných tuzemských demografických studií [8] potvrzují, že metody léčby neplodnosti a techniky asistované reprodukce v ČR zaznamenaly koncem minulého století obrovský rozvoj a korespondují s celosvětovým nárůstem počtu párů s poruchou fertility. Z prognostického hlediska se asistovaná reprodukce stává oborem, jehož uplatnění bude v budoucnosti nabývat stále většího významu.

Historický význam v rozvoji metod mimotělního oplození v České republice má nezpochybnitelně Gynekologicko-porodnická klinika MU a FN Brno. Nezdolné úsilí průkopníků tohoto oboru vedlo v roce 1982 k porodu prvního dítěte za pomoci metod asistované reprodukce v České republice a bývalém východním bloku [9]. Unikátního výsledku bylo dosaženo po transferu vajíček a spermií do vejcovodu během mikrochirurgického výkonu. Tato celosvětově prioritní modifikace mimotělního oplození byla v roce 1984 prezentována v literatuře a uznána odbornou veřejností pod názvem Gamete Intra Fallopian Transfer (GIFT) [10]. Našemu pracovišti se dařilo i nadále udržet kontakt se světem. Prvního porodu po klasickém IVF/ET, tedy metodě oplození oocyty mimo organizmus ženy, kultivaci in vitro a následném embryotransferu, zde bylo dosaženo v roce 1984 [11]. U zrodu asistované reprodukce stál v 80. letech minulého století vědecko-výzkumný kolektiv pracovníků Gynekologicko-porodnické kliniky MU a FN v Brně. Prof. MUDr. Zdeněk Čupr, DrSc., prof. MUDr. Ladislav Pilka, DrSc. a prof. MUDr. Pavel Ventruba, DrSc., MBA vytvořili v průběhu třiceti pěti let existence metod asistované reprodukce v České republice vědeckou, odbornou i legislativně-ekonomickou základnu pro vývoj tohoto významného lékařského oboru. Nositeli tradice rozvoje, vědy a výzkumu v oblastech asistované reprodukce na Gynekologicko-porodnické klinice MU a FN v Brně se v následujícím období stali pracovníci centra asistované reprodukce CAR 01. Doc. MUDr. Igor Crha, CSc., se zasloužil o rozvoj andrologické problematiky ve vztahu k reprodukci. Doc. RNDr. Jana Žáková, Ph.D., přispěla významnou měrou k zavedení nových technologií a metod v oblasti embryologie. Doc. MUDr. Martin Huser, Ph.D., rozvinul a do klinické praxe zavedl metody ochrany reprodukčních funkcí u onkologických pacientek. Prim. MUDr. Robert Hudeček, Ph.D., rozvinul metody reprodukční chirurgie, především ve vztahu k děložní myomatóze, infertilitě a endometrióze.

Národní registr asistované reprodukce: výsledky a analýza komplikací

Čes. Gynek.
63, 1998, č. 2
s. 107 - 110

National Register of Assisted Reproduction: Results and Analysis of Complications

P. Ventruba¹, T. Mardešič², L. Pilka³, I. Crha¹, H. Višňová¹, R. Hudeček¹

¹I. gynek.-porod. klinika LF MU, Brno, přednosta doc. MUDr. P. Ventruba, DrSc.

²Sanatorium Pronatal, Praha, vedoucí MUDr. T. Mardešič, CSc.

³II. gynek.-porod. klinika LF MU, Brno, přednosta prof. MUDr. L. Pilka, DrSc.

Summary: 1. Analysis of achieved results of assisted reproduction provides evidence of a steadily increasing success of ART methods in the Czech Republic.

2. Analysis of results and complications makes it possible

a) to prove optimal therapeutic procedures in different groups of patients

b) to recommend preventive measures to avoid complications

c) assess possible side-effects on women and the foetus

This work was supported by the Grant Agency of the Ministry of Health of the Czech Republic - grant No. 3804-3.

O.

V průběhu devadesátých let doznala asistovaná reprodukce významného rozšíření a zásadním způsobem změnila diagnostiku a léčbu neplodného páru. Snaha umožnit odborné i laické veřejnosti

reálně pohlížet na metody a techniky asistované reprodukce (ART) vyústila v založení centrálního registru.

V květnu 1991 byla uveřejněna první zpráva o asistované reprodukci v České a Slovenské republice shrnující dílčí výsledky 5 center (4 - ČR, 1 - SR) za rok 1989. Z celkového počtu 1 456 cyklů IVF a 60 cyklů GIFT bylo dosaženo 12,6 % těhotenství na transfer po IVF a 15,6 % po GIFT, celkem bylo porozeno 36 dětí. Již v listopadu 1991 byla na brněnském I. sympoziu asistované reprodukce uvedena zpráva z centrálního registru za rok 1990 sledující (A) metody a monitorované cykly a (B) těhotenství. Od roku 1992 jsou vykazována jen klinická těhotenství.

Naše sdělení nenahrazuje pravidelné roční zprávy uváděné v Asistované reprodukci (periodikum SAR ČGPS), které jsou vypracovány podle pravidel International Working Group for Registers on Assisted Reproduction a jsou součástí světových registrů. Cílem je informovat o vývoji a trendech ART a upozornit na rizika či komplikace související s prováděním umělého oplození.

METODIKA

1. Metody

IVF/ET	- in vitro fertilizace a transfer embrya
GIFT/ZIFT	- transfer gamet nebo zygot do vejcovodu
PZD	- parciální disekce - naříznutí zona pellucida mikrojehlou
SUZI	- subzonální inseminace: umístění 3 - 7 spermií do perivitelinálního prostoru
ICSI	- injekce spermií do cytoplazmy oocyty
AH	- asistovaný hatching: narušení zona pellucida embrya
KET	- kryoembryotransfer: transfer rozmrazeného embrya do dělohy

2. Pojmy

monitorované cykly	- všechny stimulované nebo nestimulované cykly s plánovanou AR
aspirace	- monitorované cykly s provedenou aspirací oocytů
transfer	- transfer gamet (zygot) embryí do dělohy nebo vejcovodu
klinická těhotenství	- přítomnost těhotenství prokázaná klinickými nebo ultrazvukovými parametry, vyžadující nejméně sonografickou vizualizaci gestačního vakuu; biochemické těhotenství s pouhým zvýšením hladin hCG (méně než 1 000 IU/l) se nepočítává

VÝSLEDKY

Počet IVF center v ČR

Do roku 1993 prováděly v ČR asistovanou reprodukci jen 4 centra a v roce 1994 již 10 pracovišť. V roce 1995

Tab. 1. Počet cyklů a klinických těhotenství: ČR 1993 - 1995.

IVF	1993		1994		1995	
	n	%	n	%	n	%
stimulované cykly	1685	100,00	2249	133,5	4090	242,7
aspirace	1382	100,00	1590	115,1	3461	250,4
cykly s transferem	1073	100,00	1226	114,3	2623	244,4
klinická těhotenství	176	100,00	217	123,3	531	301,7

vykázalo do Národního registru své výsledky 16 center, z toho 4 plně akreditovaná, 9 podmíněně akreditovaných a 3 transportní centra. V 5 centrech bylo provedeno méně než 100 výkonů, 8 center vykázalo 100 - 499 výkonů a 3 pracoviště provedly více než 500 výkonů za rok 1995.

Počet cyklů a klinických těhotenství

Od roku 1993 lze pozorovat výrazný vzestup celkového počtu prováděných cyklů ART (1993 - 1875 cyklů, 1994 - 2526 cyklů a 1995 - 4501 cyklů), stejně jako počtu dosažených klinických těhotenství (1993 - 180, 1994 - 272 a 1995 - 575 gravidit). Podíl na tom měla klasická IVF, tvořící více než 90 % všech cyklů (tab. 1). Je zaznamenán trvalý pokles prováděných transferů gamet nebo zygot do vejcovodu (pouze 8 výkonů v roce 1995).

Od roku 1993 se v ČR provádějí mikromanipulační techniky. Asistovaný hatching převládá od roku 1994 (1993 - 49 cyklů, 1994 - 114 a 1995 - 56 cyklů). V roce 1995 začala být prováděna metoda ICSI - ze 105 výkonů bylo 75 transferů a bylo dosaženo 15 klinických těhotenství. Narůstá počet kryoembryotransferů (1993 - 83, 1994 - 155 výkonů). Z 230 KETů po IVF v roce 1995 (5 % cyklů ART) bylo dosaženo 14 gravidit.

Úspěšnost metod asistované reprodukce

Podíl transferů po IVF na provedený odběr oocytů se nedaří zvýšit a pohybuje se kolem 75 %. Velmi příznivý je nárůst klinických těhotenství na aspiraci, 15,4 % v roce 1995 proti 12,0 % v roce 1993. Počet dosažených klinických těhotenství na transfer (pregnancy rate) po IVF v roce 1995 poprvé překročil hranici 20 % a zvýšil se o 4,7 % proti roku 1993. Pregnancy rate po ICSI v roce 1995 činil 20,0 %, resp. 21,4 % po asistovaném hatchingu. Srovnání dalších metod není validní pro malý soubor, popř. se v předchozích letech neprováděla.

Vzestupná tendence je i v počtu těhotenství s porodem živého plodu. V roce 1995 již bylo 74 % těhotenství po IVF ukončeno porodem a 80 % po ICSI, vůči 65 % po IVF v roce 1993. Počet porodů živého plodu na transfer po IVF dosáhl v roce 1995 téměř 15 % a stává se jedním z neobjektivnějších ukazatelů úspěšnosti asistované reprodukce (tab. 2).

Podstatný vliv na úspěšnost ART má kvalita ovariální stimulace. Výrazně se zvýšil podíl stimulovaných cyklů s GnRH analogy (44 % cyklů - 1995, 20 % - 1994 a 17 % v roce 1993). Na druhé straně

Tab. 2. Efektivita metody IVF: ČR 1993 - 1995.

IVF	1993	1994	1995
transfery/aspiraci (%)	76,6	77,1	75,8
klinická těhotenství/aspiraci (%)	12,0	13,6	15,4
klinická těhotenství/transfery (%)	15,6	17,7	20,3
porod živého plodu/ET (%)	9,8	12,2	14,9

Tab. 3. Skladba klinických těhotenství po IVF: ČR 1993 - 1995.

IVF	1993		1994		1995	
	n	%	n	%	n	%
spontánní potrat	39	25,3	54	24,9	110	20,9
mimoděložní těhotenství	18	11,7	13	6,0	27	5,1
indukovaný potrat	0	0,0	0	0,0	0	0,0
mrtvé rozené	0	0,0	1	0,5	2	0,4
živé rozené	97	63,0	149	68,7	392	73,7
Celkem	154	100,0	217	100,0	531	100,0

trvale klesá incidence ovariální stimulace klomifencitrátem.

Výsledky klinických těhotenství po ART

Časné těhotenské ztráty a mimoděložní těhotenství se řadí mezi rizika a vedlejší účinky asistované reprodukce a dosahují více než dvojnásobných hodnot proti obecné populaci. Z rozboru těhotenství po IVF vyplývá pokles spontánních potratů i mimoděložních těhotenství v ČR a blíží se k průměru uváděným ve světovém registru (tab. 3). Rozbor dosažených těhotenství po ICSI, AH a KET je dosud zatížen chybami malých čísel.

Snížení počtu vícečetných těhotenství po IVF za rok 1995 o 8,5 % proti roku 1994 je velmi příznivé (1994 - 31,5 %, 1995 - 23,0 %), a to vlivem poklesu podílu dvojčat z 30,2 % na 19,9 % všech porodů. Byl však zaznamenán vzestup počtu trojčat z 1,3 % v roce 1994 na 3,1 % v roce 1995. Negativní vliv vícečetné gravidity je patrný z rozboru gestačního věku a porodní hmotnosti, kdy se téměř 50 % dvojčat rodí předčasně a 75 % těhotenství trojčat bylo ukončeno do 37. týdne.

Vedlejší účinky a rizika ART

Až na výjimky souvisí vedlejší účinky a rizika ART s indukci ovulace. Důležitou prevencí je pečlivé monitorování cyklu, které musí být vedeno snahou minimalizovat možné vedlejší účinky.

Ovariální hyperstimulace

- ovariální hyperstimulační syndrom (OHS) se vyvíjí u 1 - 5 % cyklů. Vyšší výskyt je u žen se

syndromem PCO a v koncepčních cyklech. Obecně se doporučuje při OHS nepodávat hCG k indukci maturace. V 1 % cyklů se vyvíjí závažný OHS vyžadující hospitalizaci s adekvátní terapií a/nebo odlehčovací punkce.

Torze adnex

- souvisí s hyperstimulací a vyskytuje se u méně než 1 % cyklů. Často vyžadují chirurgický výkon, event. odstranění adnex.

Vícečetná těhotenství

- vyskytují se v 1 - 2 % v obecné populaci a ve 20 - 30 % těhotenství po ART. Vícečetné těhotenství přímo souvisí s počtem transferovaných embryí a je spojeno se zvýšeným rizikem těhotenských ztrát, předčasných porodů a mateřských komplikací.

Časné těhotenské ztráty

- uvádí se, že 30 až 50 % těhotenství po ART je patologických. Nejčastějšími příčinami je věk, receptivita endometria a hormonální dysbalance (E_2/P , vyšší E_2). Na těhotenských ztrátách se podílejí podmínky kultivace a abnormalita embrya. Preklinický potrat se podílí 10 - 25 % a časný klinický potrat 15 - 25 %. Je doporučena podpora luteální fáze gestageny.

Mimoděložní těhotenství

Incidence ektopické gravidity (GEU) se pohybuje mezi 1 až 2 % v obecné populaci, 2 - 3 % ve stimulovaných cyklech a 3 - 4 % v cyklech ART. Do roku 1993 Česká republika vykazovala nejvyšší procento GEU ze zemí participujících na světovém registru (téměř 12 % z dosažených těhotenství). Na výrazném poklesu se podílí vedle zlepšené stimulace ovaríí i rozšíření indikací.

Rovněž je častější výskyt heterotopické gravidity (kombinace tubární a intrauterinní GEU), kdy včasná laparoskopická nebo i medikamentózní terapie umožní úspěšné dokončení intrauterinního těhotenství.

Vrozené vývojové vady

Výskyt 2 - 3 % vrozených vývojových vad po ART se neliší od obecné populace. Cílená prenatální diagnostika je doporučena u všech těhotenství po ICSI.

Karcinom ovaria

Riziko ca ovaríí je částečně spojeno s počtem ovulací. I když neplodnost zvyšuje riziko, není jednoznačně prokázán vliv medikamentózní indukce ovulace. Na druhé straně těhotenství a kojení riziko karcinomu ovaria snižují.

SOUHRN

1. Rozbor dosažených výsledků asistované reprodukce prokazuje trvale vzestupnou úspěšnost metod ART v České republice.

2. Analýza výsledků a komplikací umožňuje
- a) prokázat optimální léčebné postupy u rozličných skupin pacientek,
 - b) doporučit preventivní opatření k zabránění vzniku komplikací,
 - c) stanovit možné vedlejší účinky na ženu a plod.

Projekt je součástí řešení grantu IGA MZ ČR reg. č. 3804-3.

*Doc. MUDr. P. Ventruba, DrSc.
Obilní trh 11
656 77 Brno*

3.2. Komplikace v reprodukční medicíně v souvislosti s in vitro fertilizací

Bezpečnost výkonů AR je základním požadavkem léčby. Maximální pozornost je proto třeba věnovat účinné prevenci komplikací

3.2.1. Ovariální hyperstimulační syndrom

Ovariální hyperstimulační syndrom (OHSS), především jeho závažný nebo kritický stupeň, je zásadní, potenciálně nebezpečnou iatrogení komplikací kontrolované ovariální stimulace v programu léčby neplodnosti technikami in vitro fertilizace. OHSS se nejčastěji klinicky projevuje mnohočetným cystickým zvětšením ovaríí, bolestmi v hypogastriu, hemokoncentrací a přesunem intravaskulárních tekutin do třetího prostoru s tvorbou ascitu eventuelně hydrothoraxu či hydroperikardu [12]. Právě vzestup kapilární permeability se podílí na vzniku sekundárních komplikací. Plně rozvinutý kritický OHSS může provázet alterace celkového stavu pacientky podmíněná renálním selháním s oligourií, hypovolemickým šokem, trombembolickou příhodou, nebo syndromem dechové tísně (ARDS).

Současné poznatky o patofyziologii OHSS poukazují především na vzestup kapilární permeability. Přestože existuje více teorií a definitivní patofyziologický mechanismus vzniku a rozvoje OHSS je i nadále předmětem výzkumu, porucha kapilární permeability pod vlivem uvolněných vasoaktivních látek produkovaných vaječnicí v průběhu ovariální stimulace stále hraje klíčovou roli ve vzniku OHSS [13]. Dříve se koncentrace zájmu upírala na roli a vliv histaminu, serotoninu, prostaglandinů a prolaktinu, v současnosti se považují za etiologicky zodpovědné systémy renin - angiotenzin, cytokiny a interleukiny, tumor nekrosis faktor alpha, endotelin – 1 a cévní endoteliální růstový faktor (VEGF). Dominantní role těchto systémů ve změně kapilární permeability vysvětluje převážnou většinu symptomů OHSS.

Dle literárních zdrojů se incidence OHSS pohybuje u středního stupně od 0,005 % do 7 % stimulovaných cyklů a těžký stupeň OHSS se vyskytuje u 0,008–10 % léčebných cyklů s gonadotropiny indukovanou ovulací v programu IVF. Tento velký rozptyl v incidenci OHSS dle jednotlivých literárních zdrojů je odrazem nejednotné klasifikace OHSS [14]. Tak jak se historicky v čase vyvíjí a postupně zlepšují techniky a možnosti léčby poruch plodnosti, tak doznala i klasifikační kritéria klinické obtížnosti OHSS řadu změn. Klasifikace dle Rabauna, Golana či Navota, vycházejí zpravidla z laboratorních ukazatelů, ultrazvukových kritérií a měření či klinického stavu pacientky s již rozvinutým OHSS. Tyto klasifikace však neodrážejí potenciálně rizikové parametry monitorovaných atributů samotného léčebného cyklu, tzn. klinické a laboratorní parametry, které jsou sledovány před zahájením léčby a v průběhu řízené ovariální stimulace. Klasifikační kritéria tak umožňují zařadit pacientku do příslušného stupně závažnosti až retrospektivně a neumožňují včasné nasazení preventivních opatření.

Řešení tohoto problému umožnila existence klinického registru léčebných cyklů AR na našem pracovišti v elektronické podobě programu PC PAR. Díky spolupráci s informatiky z FEI VŠB-TUO Ostrava jsme v průběhu grantu IGA MZ ČR č. 4916-3 úspěšně aplikovali metody pro dolování znalostí z databází v asistované reprodukci a takto získané zkušenosti pak využili k analýze a definování rizikových faktorů vzniku ovariálního hyperstimulačního syndromu v rámci řešení grantu IGA MZ ČR č. 7696-3 [15, 16].

První etapa výzkumu byla zaměřena na hledání rizikové skupiny infertilních pacientek, které jsou potenciálně nejvíce ohroženy vznikem ovariálního karcinomu. Pracovní hypotéza této etapy vychází z obou teorií etiologie ovariálního karcinomu „gonadotropi-

nové hypotézy“ a „hypotézy neustálé ovulace“. V souladu s těmito teoriemi i literárními odkazy lze za mimořádně ohroženou skupinu pacientek považovat ženy se syndromem polycystických ovarií, tudíž pacientky, které jsou v průběhu léčebného cyklu vystavené vzniku ovariálního hyperstimulačního syndromu (OHSS).

Analýza rizikových faktorů vzniku OHSS v průběhu léčebného cyklu asistované reprodukce byla provedena pomocí počítačového systému pro data mining SHLUK za použití metody analýzy četnosti neúspěchů (ACETN). Metoda ACETN analyzuje samostatně případy cyklů in vitro fertilizace, ve kterých došlo k rozvoji OHSS proti cyklům bez vzniku OHSS. Tato metoda hledá statisticky signifikantní rozdíly mezi vstupními atributy fáze „ovariální stimulace“ léčebného cyklu IVF. Zaznamenané diskrepance mezi vstupními parametry případů s výskytem OHSS a cyklů bez výskytu OHSS jsou statisticky testovány testem významnosti. Metoda ACETN automaticky vyhodnocuje a zobrazuje statisticky signifikantní vztahy. Pomocí metod pro dolování znalostí z databází byly definovány rizikové faktory vzniku OHSS v léčebném cyklu in vitro fertilizace.

Ovariální hyperstimulační syndrom a data mining

Klasifikace ovariálního hyperstimulačního syndromu, která byla přizpůsobena pro dolování z dat, je čtyřstupňová a vychází z maximálních laboratorních hodnot 17-beta estradiolu v séru pacientky v den aplikace hCG a počtu získaných oocytů při folikulocentéze ve stimulovaném cyklu AR. Jedná se o atributy, které jsou monitorované v průběhu fáze „ovariální stimulace“ léčebného cyklu AR a u kterých byla prokázána prostřednictvím metod pro dolování znalostí z databází prediktivní hodnota pro vznik OHSS.

Pro potřeby řešení I. etapy grantu IGA MZ ČR č. 7696-3 byl použit systém pro dolování znalostí z databází SHLUK, který v sobě zahrnuje celou řadu analytických metod. Před jeho použitím bylo nutné provést datovou a problémovou analýzu, data o léčebných cyklech AR bylo třeba předzpracovat a jednotlivé analyzované atributy byly rozříděny do skupin. Nedostatečná nabídka SW produktů na komerčním trhu a zkušenosti spoluautorů s řešením některých úloh analýzy dat vedly k využití již existujícího SW, který byl použit v rámci grantu IGA MZ ČR č. 4916-3 (programový systém SHLUK). Během řešení grantu se prokázaly výhody tohoto postupu. Volba možnosti naprogramovat několik nových typů analýz a zařadit je do existujícího systému pro dolování znalostí z databází byla nakonec časově i cenově nejvýhodnější. Především byl navržen a implementován informační systém ARDec pro evidenci dat souvisejících s léčbou metodami AR. Mimo vlastnosti moderního programového systému, jako jsou grafické uživatelské prostředí pod operačním systémem (OS) Windows, zajištění bezpečnosti dat systémem přístupových práv, provoz ve víceuživatelském prostředí počítačové sítě, umožňuje uživateli doplňovat podle potřeb výzkumu i další sledované atributy o léčebných cyklech AR. Programový systém SHLUK je již třetí verzí rozsáhlého systému pro analýzu mnohorozměrných dat. První verze (1985) obsahovala řadu metod shlukovací analýzy [17]. Odtud pochází také název systému. Druhá verze (1994) doplnila shlukovací metody o řadu metod pro předzpracování dat, o metody agregační, o metody hledající asociace a implikace, o metody prezentace a vizualizace výsledků a o jednoduchý expertní systém, který umožňuje i laickému uživateli používat metody analýz [18]. Třetí verze systému SHLUK (2003) je implementována v prostředí Delphi 4 pro OS Windows NT/95/98/2000. Jde o plně integrovaný systém obsahující metody předchozí verze a navíc je systém podporován databází zdrojových dat (datovým skladem), popsáných metadaty a využívající databázi i pro uložení výsledků analýz. Odtud se pak prezentují výsledky uživateli v grafickém, tabulkovém a textovém formátu. Z metod dolování obsahuje metody předzpracování, hlavní komponenty, metody shlukovací, metody pro hledání asociací a implikací grupovaných implikací, analýzu výjimek a metody prezentační. Systém

SHLUK je stavěn jako otevřený systém, do kterého lze postupně doplňovat další metody, které budou teoreticky formulovány, nebo jejichž vývoj si vyžádá praxe. V průběhu řešení grantu byla tato skutečnost několikrát využita. Pro zpracování dat o léčebných cyklech AR se předpokládalo hlavně využití metod pro hledání příčin a následků pro přímé formulování hypotéz.

SCRIPTA MEDICA

FACULTATIS MEDICAE UNIVERSITATIS BRUNENSIS MASARYKIANAE
SPISY LÉKAŘSKÉ FAKULTY MASARYKOVY UNIVERZITY V BRNĚ



6

TOMUS 78 / 2005

ANALYSIS OF OVARIAN HYPERSTIMULATION SYNDROME DEVELOPMENT USING DATA MINING

HUDEČEK R.¹, VENTRUBA P.¹, UNZEITIG V.¹, VAVRUŠKOVÁ R.¹, RAČANSKÁ E.¹,
ŠARMANOVÁ J.²

¹ Department of Gynaecology and Obstetrics, Faculty of Medicine, Masaryk University, Brno

² Department of Electrical Engineering and Computer Science, Technical University, Ostrava

Received after revision December 2005

Abstract

The aim of this study is to define the risk factors of ovarian hyperstimulation syndrome onset during assisted reproduction treatment using the in vitro fertilisation technique. Exploratory computer analysis of electronically stored data on assisted reproduction treatment cycles in clinical registry with the use of the data mining system.

The analysed file included data of 12527 monitored cycles from 1989 to 2003. Cycles which led to the development of the ovarian hyperstimulation syndrome were analysed (2456 cases, 19.6 % of cycles).

Both the ovarian hyperstimulation syndrome-complicated cases and cases without ovarian hyperstimulation were tested by the data mining method, which is designed to find statistically significant differences among the input attributes of the ovarian stimulation phase of therapeutic cycles. The observed differences between the input attributes were statistically tested and the value of statistical significance was evaluated.

A significantly higher incidence of a clinically important form of ovarian hyperstimulation syndrome development was observed among patients under 30 years old, who had been affected by the hyperstimulation syndrome in previous treatment cycles. We can predict a higher risk in patients with oligomenorrhoea and in cases of immunological and andrological sterility factors. A higher incidence of the clinically significant form of the hyperstimulation syndrome is noticed with stimulation protocols with highly effective gonadotropin hormones where the total dose of gonadotropins is greater than 1125 IU and the maximum 17-beta estradiol levels are greater than 20 nmol/l.

We have proved the applicability of the data mining system for the analysis of the risk factors with influence on the assisted reproduction treatment results. The data mining method can be used to define statistically significant relations among all attributes of the ovarian stimulation part of the therapeutic cycle and to define the risk factors of hyperstimulation syndrome occurrence.

Key words

Ovarian hyperstimulation syndrome, Risk factors, Sterility treatment, Data mining

Abbreviations used

ACETN, frequency of failure analysis; ARDS, acute respiratory distress syndrome; ART, assisted reproduction technology; CC, clomiphene citrate; FSH, follicle-stimulating hormone; GnRH, gonadotropin-releasing hormone; hMG, human menopausal gonadotropin; HP, high-purified; IU, international units; IUI, intrauterine insemination; IVF, in vitro fertilization; OHSS, ovarian hyperstimulation syndrome; rFSH, recombinant follicle-stimulating hormone; SP/LP, Short protocol /Long protocol; VEGF, vascular endothelial growth factor; WHO, World Health Organisation

INTRODUCTION

Assisted reproduction technology (ART) in the Czech Republic has become an integral part of reproductive medicine and the techniques of in vitro fertilisation (IVF) have experienced great development. According to the outputs of the National Registry of ART in the Czech Republic (1, 2, 3), a similar situation is also observed in other countries of the European Union (4, 5, 6). From the prognostic point of view, ART is becoming a subject with growing importance.

The ovarian hyperstimulation syndrome (OHSS), especially its critical grade, is the most relevant and potentially dangerous iatrogenic complication of controlled ovarian stimulation in the infertility treatment by IVF techniques. OHSS is characterised by multiple cystic augmentation of the ovaries, hypogastric pain, haemoconcentration, and extravasation of the intravascular fluid with ascites or hydrothorax formation (7). The increase of capillary permeability is the main cause of secondary complications. A fully developed and critical OHSS can be accompanied by general deterioration of the patient's condition, renal failure with oliguria, hypovolemic shock, occurrence of thromboembolia, or acute respiratory distress syndrome (ARDS).

The main goal of the study is to define the risk factors of ovarian hyperstimulation syndrome onset during assisted reproduction treatment using the in vitro fertilisation (IVF) technique. Exploratory computer analysis of electronically stored data on assisted reproduction treatment cycles in clinical registry with the use of the database data mining system SHLUK. Processing of the acquired data with the ACETN method (Frequency of Failure Analysis).

MATERIALS AND METHODS

We reported 2456 cases of OHSS in 12527 performed stimulated IVF cycles (19.7 %) during the years 1989 - 2003. The following types of stimulation protocols were used:

- Protocols without stimulation - natural cycles;
- Protocols with clomiphene citrate (CC);
- Protocols with CC + human menopausal gonadotropin (hMG);
- Protocols with CC + follicle-stimulating hormone (FSH);
- Protocols with agonists:
 - hMG/FSH + gonadotropin-releasing hormone (GnRH) - Short protocol/Long protocol (SP/LP)
 - FSH-high purified (HP) + GnRH - SP/LP
 - recombinant FSH (rFSH) + GnRH - SP/LP;
- Protocols with antagonists:

rFSH + ganirelix
rFSH + cetrorelix.

The classification system of a clinical severity of OHSS for data mining (10) has four grades and arises from 17-beta estradiol laboratory levels in the patient's serum on the day of hCG application and from the number of oocytes retrieved through folliculocentesis in a stimulated ART cycle (Table 1).

According to our own system of OHSS classification the incidence of serious OHSS (614 cases, 4.9 %) and critical OHSS (488 cases, 3.9 %) is 8.8 % altogether. This incidence is influenced by the intensive hormonal support of folliculogenesis to retrieve a sufficient number of oocytes (Table 2). All the 12257 stimulated IVF cycles were analysed by the SHLUK data mining system.

Table 1
Classification of ovarian hyperstimulation syndrome (OHSS)

Grade of OHSS	Rabau (1967) Major kriteria	Golan (1989) Major kriteria	Navot (1992) Major kriteria	Hudeček (2004) Major kriteria
Mild Grade I	laboratory evidence of OHSS only ovarian size ≤ 5x5 cm	ovarian size ≤ 10cm abdominal distension nausea, vomitus, diarrhoea		17βE2 max: 10–15 mmol /l oocytes No: <10
Moderate Grade II	abdominal distension ovarian size ≤12x12 cm	Addition ascites on ultrasound ovarian size ≥ 10cm		17βE2 max: 10–15 mmol /l oocytes No: 10–15
Severe Grade III	ascites or hydrothorax ovarian size ≥12x12 cm hemoconcentration with coagulation failure	additionClinical sign of ascites or hydrothorax (dyspnoe) ovarian size ≥ 12cm haemoconcentration, hypercoagulation, homeostasis failure, oliguria, renal insufficiency	various ovarian size increase ascites Hydrothorax haematocrit > 45 % leukocytes > 15.000 oliguria Creatinine > 100–150 mmol/l, creatinine clearance > 50 ml/min hepatic dysfunction	17βE2 max: 16–20 mmol /l oocytes No: 16–20
Critical Grade IV			various ovarian size increase excessive ascites or hydrothorax or hydropericard haematocrit > 55 % leukocytes > 25.000 oligo-anuria kreatinine > 160 renal insufficiency	17βE2 max: >21 mmol /l oocytes No: >21

Table 2
The frequency of ovarian hyperstimulation syndrome (OHSS) according to clinical and laboratory relevance

Grade of OHSS	OHSS No.	% / cycles (12 527)
Grade I	592	4,7 %
Grade II	762	6,1 %
Grade III	614	4,9 %
Grade IV	488	3,9 %
Total	2 456	19,6 %

Table 3
The test of significance (ACETN)

$T(X) = (u_i - c_{ui}) / \sqrt{c_{ui} * (1 - c_{ui})} * \sqrt{P}$	The significance of the difference is described either by the p-value itself or by graphical symbols describing the value of u_i as follows:
--	strongly below the global average = statistically significant
-	below the average
.	approximately the average
+	above the average
++	strongly above the global average = statistically significant

Methods

With the use of the SHLUK data mining system, statistically significant relationships between the particular parameters of the IVF cycle and the potential risk factors of OHSS will be defined.

Both the OHSS-complicated cases and cases without ovarian hyperstimulation were tested by the ACETN data mining method, which is designed to find statistically significant differences among the input attributes of the ovarian stimulation phase of ART cycles. The differences observed between the input attributes were statistically tested and the value of statistical significance was evaluated (Table 3).

The ACETN method tests all theoretical combinations of the factor values that influence the result of the treatment. For each group, the method evaluates predefined indicators that characterise the success of the result. It also determines the statistical significance of the mean value deviation for the whole set. The database of numerical data on the phenomena under investigation contains the possible reasons (e.g. A, B, C) that assume the values of (a, b, c). The ACETN method successively generates all the possible expressions of the form:

if $A=a \wedge B=b \wedge C=c$, then $U1=u1 (S1) \wedge U2=u2 (S2)$

where $U1, U2$ are the defined indicators, and $u1, u2$ their corresponding values characterised by the left side of the implication for a tested group. The values $S1, S2$ either symbolically or numerically denote whether the indicator U_i is the average or no average with respect to the basic set. Here is a description of the ACETN method:

Significant indicators (U_i) that characterise the group tested are defined.

The values c_{ui} of all the indicators U_i are computed for the whole basic set.

For a given set of possible reasons, all the combinations of the reasons are generated.

For each such combination, the following is computed:
the number (P) of cases,
the value of all the indicators ($U_i = u_i$),
the test of significance of the difference between the global indicator c_{ui} and the indicator u_i .
Finally, statistically significant differences are signalised.
According to the demand of the user, all the results or only the statistically significant differences are printed out in the form of a table containing all the indicators or in the form of hypotheses.
The test of significance
Since every group tested has an arbitrary number of cases (the value of P), test statistics T(X) are used for testing the significance of the differences.
$$T(X) = (u_i - c_{ui}) / \sqrt{(c_{ui} * (1 - c_{ui})) * P}$$

For carrying out the test, the following values are needed:

c_{ui}	...	the average value of the indicator in the whole basic set
u_i	...	the average value of the indicator for the i-th group
P	...	the number of cases in the i-th group

Using these values, the p-value is determined for each group, which determines whether the probability u_i can be considered as being the same as the probability c_{ui} , or whether u_i significantly differs from the average probability. The testing rule is the following:
if p-value > 0.05 then $u_i = c_{ui}$
p-value \in <0.01, 0.05 then it is an unconvincing interval
p-value < 0.01 then $u_i \neq c_{ui}$
The significance of the difference is described either by the p-value itself or by using graphical symbols that describe the value of u_i (Table 3).

RESULTS

Statistically significant risk factors of ovarian hyperstimulation syndrome development:

- Age of patient
- Length of menstrual cycle
- Factor of sterility
- Incidence of OHSS in previous ART cycles
- Type of stimulation protocol
- Total dose of gonadotropins

1. Age of patient and risk of OHSS

Based on analysis, there is an evident key role of the patient's age in the development of OHSS. A significantly higher incidence of the ovarian hyperstimulation syndrome was observed among patients under 30 years old (Table 4). This group of patients is often represented by couples with a male factor of sterility. On the other hand, the incidence of OHSS, especially serious and critical grades, is significantly lower in the group of patients over 30 years old.

2. Length of menstrual cycle and risk of OHSS

The length and character of the menstrual cycle is the next predictive factor of OHSS development. Analysis focused on the type of the menstrual

Table 4
The incidence of clinically significant forms of ovarian hyperstimulation syndrome (OHSS)

ACETN (++)						ACETN (-)						
Grade of OHSS	Age of patient (years)	Menstr. Cycle Length (days)	Factor of sterility	OHSS before	Stimulat. type	Dose (IU)	Age of patient (years)	Menstr. Cycle Length (days)	Factor of sterility	OHSS before	Stimulat. Type	Dose (IU)
Low	N.S.	27-29	Male Immunol.	1 ≤	HMG + GnRH SP/LP *	> 975	N.S.	N.S.	Ovarian	N.S.	Sine *	< 975
Grade I Middle	< 30	30-35	Male Immunol.	1 ≤	FSH + GnRH SP/LP *	> 975	> 35	N.S.	Ovarian	N.S.	CC *	< 975
Grade II Serious	< 30	30-35	Male Immunol.	1 ≤	rFSH + GnRH SP/LP *	> 1125	> 30	N.S.	Ovarian	N.S.	HMG/FSH *	< 975
Grade III Critical	< 30	30-35	Male Immunol.	1 ≤	rFSH + Antagonist *	> 1125	> 30	22 - 27	Ovarian	N.S.	CC+ HMG/FSH *	< 975
Grade IV	< 30	30-35	Male Immunol.	1 ≤								

* all grades of OHSS

cycle proved a significantly higher incidence of the ovarian hyperstimulation syndrome among women with 30–35 days' cycles (*Table 4*). No protective influence of menstrual cycle with normal length was observed.

3. Factor of sterility and risk of OHSS

Based on the data mining methods, a significantly higher incidence of the ovarian hyperstimulation syndrome was proved in cases of an immunological sterility factor – seropositive antibodies:

Anti – ovary Ig

Anti – sperm Ig

Anti – zona pellucida

Anti – cardiolipin IgG, IgA, IgM

Allergic intercourse reaction – IgE/S, Anti – latex, Anti – sperm, Anti – ejaculate, Anti – seminal plasma and sediment.

A significantly higher incidence of OHSS was noted in cases of an andrological factor of sterility according to WHO criteria (sperm count ≤ 20 mil/1ml, sperm motility ≤ 40 %, sperm morphology ≤ 40 %). A protective role of ovarian factors against OHSS development in stimulated ART cycles was proved by the data mining methods. In a group of low responders, women with hypergonadotropic hypogonadism according to serum levels of 17- β estradiol, LH and FSH on days 2 and 3 of menstrual cycle before initiation of stimulation, a significantly lower incidence of OHSS was observed (*Table 4*).

4. OHSS in previous ART cycles and risk of OHSS recurrence

The data mining methods noted a significantly higher risk of repeated OHSS development in the group of patients with OHSS history of any grade in previous stimulated cycles (*Table 4*).

5. Type of stimulation protocol and risk of OHSS

A significantly higher OHSS incidence was detected in therapeutic protocols with hMG/FSH+GnRH-SP/LP, FSH-HP+GnRH-SP/LP, rFSH+GnRH-SP/LP, and in protocols with rFSH /antagonists as compared with natural cycles, protocols with CC, and protocols with CC+hMG/FSH (*Table 4*).

6. Total dose of gonadotropins and risk of OHSS

The total dose of gonadotropins used for folliculogenesis stimulation is closely associated with OHSS development. The data mining methods noted a significantly lower risk of OHSS in protocols with a total dose of gonadotropins under 975 IU. When the total dose of gonadotropins was greater than 1125 IU, a significantly higher risk of OHSS development was noted. Considering the frequent clinical

dosage over 1125 IU of gonadotropins in most therapeutical protocols – the so-called controlled ovarian hyperstimulation – the evaluation of other risk factors and careful monitoring of stimulation plays a key role (*Table 4*).

DISCUSSION

Current knowledge of the pathophysiology of OHSS points to an increase of capillary permeability. Disturbance of capillary permeability under the influence of released vasoactive substances produced by ovaries during ovarian stimulation plays a key role in OHSS development, in spite of the fact that there are more theories about the mechanism of OHSS pathogenesis and development and that they are still under research (8). Previous interest was focused on the role and the effect of histamine, serotonin, prostaglandins, and prolactin. The renin-angiotensin system, cytokines, interleukins, the tumour necrosis factor alpha, endothelin-1, and the vascular endothelial growth factor (VEGF) are thought to be aetiologically responsible at present. A dominant role of these systems in the change of capillary permeability explains most of the OHSS symptoms.

The incidence of OHSS is from 0.005 to 7% in the low and middle grades of OHSS of stimulated cycles and from 0.008 to 10% in the serious and critical grades of OHSS cycles with ovulation induced by gonadotropins. The wide scattering of OHSS incidence reflects non-uniform classifications of OHSS (9).

The classification criteria of the clinical grade of OHSS were changed greatly. *Rabauna's* (1967), *Galana's* (1989), and *Navot's* (1992) classifications arise from laboratory markers, ultrasound criteria, and clinical performance of a patient with already developed OHSS (*Fig 1*). These classifications do not reflect the parameters of a potential risk of the monitored attributes of a curative cycle itself, that means clinical and laboratory parameters which were monitored before the initiation of a treatment and during controlled ovarian stimulation. The classification of the clinical severity of OHSS for data mining has four grades and arises from 17-beta estradiol laboratory levels in the patient's serum on the day of hCG application and from the number of oocytes retrieved through folliculocentesis in a stimulated ART cycle. (*Table 1*.)

The existence of a clinical register of curative cycles of assisted reproduction on our department in an electronic form of the SW program PC PAR enables the solution of this problem. The database of the clinical register includes over 12500 curative cycles of 6000 patients of the Centre of Assisted Reproduction, Gynaecology and Obstetrics Department of the Faculty of Medicine of Masaryk University in Brno. The data volume and its electronic form provide an adequate source of information from the point of view of mathematical and statistical analysis. Thanks to a close co-operation with the information scientists from the Department of Electrical Engineering and Computer Science, Technical University of Ostrava (10), we were able to apply methods of data mining from the database of assisted reproduction

w(11, 12) and to use the knowledge gained to analyse and define risk factors of ovarian hyperstimulation syndrome development within the grant of the Ministry of Health of the Czech Republic, No. 7696-3.

The data analysis from the early beginning of assisted reproduction in the Czech Republic, when there was a lack of efficient gonadotropin preparations for the stimulation of folliculogenesis, shows a significantly lower incidence of all grades of OHSS. If we currently use antiestrogens (clomiphene citrate - CC), urine gonadotropins (human menopausal gonadotropin - HMG, the follicle-stimulating hormone - FSH) or their combinations in the induction of ovulation, we can notice a significantly lower risk of OHSS incidence. This type of stimulation has now been used in low doses, especially before intrauterine insemination (IUI). These preparations used in the conventional IVF protocols were replaced with highly purified (FSH-HP) and recombinant (rFSH) gonadotropins in a combination with GnRH analogues in a short or long protocol (SP/LP), or with GnRH antagonists.

The advantages and limitations of data mining analysis:

Analysis of multidimensional data by means of data mining represents a modern and progressive way of finding generally true cause-consequence relationships. Methods of data mining have been used in various fields not related to medicine, mainly in economics, sociology, etc., representing an alternative attitude to medical data evaluation.

The usage of these analytical methods is limited only by the sufficient size of the study database and its electronic form. The methods enable postulation in a shorter real time interval than do conventional clinical studies, of the basic hypotheses defining issues of particular speciality. The methods of multidimensional analysis automatically generate and formulate all theoretically possible hypotheses of a certain type and test them. Hypotheses with an adequate significance level are presented to analysts for further evaluation. These are mainly exploration analyses. They conduct reference data studies and discover new findings, provide answers with lower levels of significance, but also answer questions such as: "What is interesting and beyond the average about these data?". As a result, they form hypotheses supported by researched data and present them for further verification and testing.

A causative treatment of OHSS still does not exist despite of extensive knowledge of the pathogenesis of this serious iatrogenic complication of the infertility treatment (13). What is available is only a symptomatic therapy of complications with an instability of the internal milieu and a limited variety of actions which alleviate the OHSS course. We must lay more stress on preventive movements and early diagnosis of incipient forms of the early ovarian hyperstimulation syndrome through ultrasound folliculometry. The possibilities of an effective prevention are limited by the fact that the generally valid classification criteria for OHSS severity rise from laboratory results and the clinical stage of a patient with an already developed syndrome, and it is usually very difficult to find laboratory results and overall parameters of the treatment of an ART cycle from the period before the treatment

initiation (14). The elementary step of an active prevention of OHSS development at high-risk patients is still focused on the particular patient's risk factors and the following correction of the type of stimulation protocol, doses of gonadotropins (15), and mainly careful monitoring of 17- β estradiol levels in the patient's serum (16) by a physician responsible for the conduction and course of the IVF treatment cycle.

CONCLUSION

As a high-risk patient, who is in a potential danger of a clinically significant form of OHSS development during the treatment course of assisted reproduction, is considered a woman of 30 years or younger, who was affected by OHSS in previous treatment cycles. We can predict a higher risk of OHSS development in women with 30–35 days' cycles and in cases of immunological and andrological sterility factors. A higher incidence of clinically significant forms of OHSS is noticed in stimulation protocols with highly effective gonadotropin hormones (hMG/FSH + GnRH-SP/LP, FSH-HP + GnRH-SP/LP, rFSH + GnRH-SP/LP, rFSH + GnRH/antagonists) where the total dose of gonadotropins is greater than 1125 IU.

The usage of data mining methods is limited by the sufficient size of a study database and its electronic form. The methods enable the postulation in a shorter real time interval than do conventional clinical studies, of basic hypotheses defining issues of particular speciality.

Acknowledgement

Supported by IGA, No. 7696-3, Ministry of Health of the Czech Republic.

Hudeček R., Ventruba P., Unzeitig V., Vavrušková R., Račanská E., Šarmanová J.

OVARIÁLNÍ HYPERSTIMULAČNÍ SYNDROM V PROGRAMU ASISTOVANÉ REPRODUKCE – ANALÝZA RIZIKOVÝCH FAKTORŮ POMOCÍ DOLOVÁNÍ Z DAT

Souhrn

Cílem práce bylo definování rizikových faktorů vzniku ovariálního hyperstimulačního syndromu v průběhu léčby neplodnosti technikami in vitro fertilizace. Explorační počítačová analýza elektronických dat o léčebných cyklech z klinického registru AR pomocí počítačového systému pro získávání znalostí z databázi SHLUK. Rozbor dat metodou analýzy četnosti neúspěchů.

Bylo registrováno 2456 případů ovariálního hyperstimulačního syndromu v průběhu 12527 provedených stimulačních cyklů (19,7 %) za období 1989 – 2003. Výskyt klinicky závažného těžkého stupně OHSS (614 případů, 4,9 %) a kritického stupně OHSS (488 případů, 3,9 %) tvoří dohromady 8,8 %. Mírný a střední stupeň OHSS se vyskytuje celkem v 10,8 % případů stimulovaných cyklů.

Metoda ACETN analyzuje samostatně případy cyklů s rozvojem OHSS proti cyklům bez vzniku OHSS a hledá statisticky signifikantní rozdíly mezi vstupními atributy úvodní etapy „ovariální stimulace“. Diskrepance mezi vstupními parametry úspěšných a neúspěšných případů jsou statisticky testovány testem významnosti a automaticky jsou zobrazeny signifikantní vztahy a rizikové faktory vzniku OHSS.

Statisticky signifikantně častější výskyt ovariálního hyperstimulačního syndromu byl zaznamenán u pacientek do 30 let věku a u pacientek s výskytem OHSS v předchozích cyklech AR, u pacientek s oligomenoreou a v případech imunologického a andrologického faktoru neplodnosti. Vyšší výskyt

klinicky závažných forem OHSS je zaznamenán ve stimulačních protokolech s gonadotropními hormony (hMG/FSH+GnRH-SP/LP, FSH-HP+GnRH-SP/LP, rFSH+GnRH-SP/LP, rFSH+GnRH/antagonisté), jejichž celková dávka přesahuje 1125 IU a maximální hodnota sérové hladiny 17- estradiolu je vyšší než 20 nmol/l.

Byla prokázána použitelnost systému pro dolování znalostí z dat SHLUK pro analýzu faktorů, které ovlivňují výsledky metod asistované reprodukce. Metoda umožňuje definovat statisticky významné vztahy mezi jednotlivými atributy etapy „ovariální stimulace“ v léčebném cyklu AR a definuje rizikové faktory vzniku OHSS.

REFERENCES

1. *Ventruba P, Višňová H, Hudeček R.* Where is the aim of ART in Czech Republic? National Register of ART 1993 - 1996. *Prakt Gyn* 1997; 5 (Issue 5): 20-26.
2. *Ventruba P, Mardesic T, Pilka L, Crha I, Višňová H, Hudeček R.* Register of Assisted Reproduction: Results and analysis of complications. *Ces Gynek* 1998; 63: 39-41.
3. *Ventruba P, Višňová H, Hudeček R, Lokajová J.* 10 years of National Register of Assisted Reproduction in Czech Republic. *Asist Reprod* 2000; 10 (Issue 1): 5-6.
4. International Working Group for Registers on Assisted Reproduction: World Collaborative Report on In Vitro Fertilization. Preliminary Data for 1995. *J Assist Reprod Genet* 1997 (Suppl.): 251S-265S.
5. International Working Group for Registers on Assisted Reproduction: World Collaborative Report on In Vitro Fertilization. Preliminary Data for 1996. *J Assist Reprod Genet* 1999; 16 (Suppl.): 251S - 265S.
6. International Working Group Edit. Jones HW, Cohen J: IFFS - Surveillance 98. *Hum Reprod* 1999; 14: 251-265.
7. *Beerendonk CC, Van Dop PA, Braat DD, Mercus JM.* Ovarian hyperstimulation syndrome: facts and fallacies. *Obstet Gynecol Surv* 1998; 53 (7): 439-449.
8. *Elchalal U, Schenker JG.* The pathophysiology of ovarian hyperstimulation syndrome - views and ideas. *Hum Reprod* 1997; 12: 1129-1137.
9. *Aboulghar MA, Mansour RT.* Ovarian hyperstimulation syndrome: classification and critical analysis of preventive measures. *Hum Reprod Update* 2003; 9 (3): 275-289.
10. *Hudeček R, Huser M, Ventruba P, Šarmanová J.* Risk factors of ovarian hyperstimulation syndrome development in assisted reproduction. *Prakt Gyn* 2004; Issue 4: 6-10.
11. *Hudeček R, Ventruba P, Šarman Z, Šarmanová J, Solár T.* Data mining in assisted reproduction using methods for data analysis SHLUK and artificial neural network NEUL 3. *Asist Reprod* 2000; 10 (Issue 1): 10-11.
12. *Hudeček R, Ventruba P, Crha I, Šarmanová J, Šarman Z, Solár T.* Analysis of factors with influence on assisted reproduction outcome using system for data mining SHLUK. *Ces Gynek* 2001; 66: 270-276.
13. *Navot D, Relou A, Birkenfeld A.* Risk factors and prognostic variables in the ovarian hyperstimulation syndrome. *Am J Obstet Gynecol* 1993; 159: 210-215.
14. *Navot D, Bergh PA, Laufner N.* Ovarian hyperstimulation syndrome in novel reproductive technologies: prevention and treatment. *Fertil Steril* 1998; 58: 249-261.
15. *Delvigne A, Dubois M, Battheu B, et al.* The ovarian hyperstimulation syndrome in in-vitro fertilization: a Belgian multicentric study. II. Multiple discriminant analysis for risk prediction. *Hum Reprod* 1993; 18: 1361-1366.
16. *Delvigne A, Rozenberg S.* Preventive attitude of physicians to avoid OHSS in IVF patients. *Hum Reprod* 2001; 16: 2491-2495.

3.2.2. Extrauterinní a heterotopická gravidita

Mimoděložní těhotenství (Graviditas extrauterina – GEU) je závažnou komplikací ohrožující život ženy. Všechny etiologické faktory tohoto stavu zatím neznáme, proto nejsme schopni dopředu eliminovat rizikové faktory, případně při přítomných rizikových faktorech včas extrauterinní těhotenství diagnostikovat a terapeuticky zasáhnout. Za predisponující rizikové faktory lze považovat prodělaný zánět v malé pánvi, zavedené nitroděložní tělíčko a konzervativní operační zákrok na vejcovodech v anamnéze. Jedním z nejzávažnějších rizikových faktorů pro vznik extrauterinní gravidity je přítomnost saktosalpingu či hydrosalpingu [19]. Naopak významně nižší riziko vzniku ektopické gravidity mají ženy s úspěšně dokončenou intrauterinní graviditou v anamnéze [20, 21].

Ženy se sníženou plodností léčené v programu ART jsou statisticky ve vyšším riziku vzniku extrauterinního těhotenství [22]. Existuje několik hypotéz vysvětlujících vývoj mimoděložního těhotenství po embryotransferu. Možnou příčinou je zavedení transferového katetru do vejcovodu, zvýšená kontraktilita děložní, která po ET vypudí embryo retrográdně do vejcovodu, spontánní migrace embrya, souvislost s množstvím kultivačního média či vysoká sérová koncentrace estradiolu nepříznivě ovlivňující ciliární transport ve vejcovodu [23]. Vzhledem k dnes běžnému transferu dvou embryí do dělohy pak může dojít k současné implantaci jednoho embrya v děloze a druhého v alterované tubě. K implantaci embrya ve vejcovodu dojde také častěji při použití některých specifických metod umělého oplození, konkrétně zavedení embryí metodou ZIFT (intratubární transfer zygoty). Naproti tomu ženy podstupující embryotransfer dárcovských gamet (darované oocyty či embrya) mají nižší riziko vzniku GEU než běžná populace [20]. Skupinu léčených dysfertilních žen lze rozdělit dle výše rizika vzniku mimoděložního těhotenství ve vztahu k faktoru neplodnosti. Nejvyšší riziko implantace embrya mimoděložně mají ženy s tubárním faktorem neplodnosti. Je-li při tubárním faktoru sterility přítomen saktosalpinx, pak se riziko mimoděložního těhotenství zvyšuje dva a půl násobně oproti skupině neplodných žen s izolovanou diagnózou andrologického faktoru [20]. Ve skutečnosti se však většinou jedná o kombinaci několika faktorů neplodnosti. Dalšími známými rizikovými faktory jsou počet a kvalita transferovaných embryí a délka jejich kultivace. Primární prevencí vzniku této komplikace po metodách asistované reprodukce je odstranění saktosalpingů před plánovanou IVF.

Heterotopická gravidita je definovaná jako současný výskyt intrauterinní a ektopické gravidity. Její výskyt je extrémně vzácný a včasná diagnostika této koincidence dvou a více gravidit je velmi důležitá. Nejčastěji citovaná incidence heterotopické gravidity se pohybuje v rozmezí 1/25 000 až 1/30 000 intrauterinních těhotenství. S rostoucí efektivitou asistované reprodukce je možná implantace více embryí a riziko heterotopické gravidity je vyšší. Proto je nutné s nebezpečím této vážné komplikace počítat hlavně v souvislosti s IVF a embryotransferem více embryí. Výskyt heterotopické gravidity v rámci technik AR kolísá mezi 0,75–2,9 % [24, 25, 26]. Vzhledem k dnes běžnému embryotransferu 2 embryí do dělohy může jedno implantovat v děloze a druhé v tubě. Proto pro diagnostiku heterotopické gravidity nelze použít klasický algoritmus diagnostiky ektopické gravidity, podle něhož nález plodového vejce v děloze vylučuje přítomnost mimoděložního těhotenství.

I přes rozvoj příznaků náhlé příhody břišní s poškozením vejcovodu je prognóza pro nitroděložní těhotenství velmi dobrá. V současné době, při rutinním využití minimálně invazivních endoskopických metod, je šance na zachování intrauterinní gravidity velká. Okolo 76 % plodů lokalizovaných in utero v době operační intervence pro heterotopickou graviditu se rodí v termínu porodu [27].

Heterotopická gravidita se může projevit také krvácením z rodidel v incipientní graviditě pod obrazem spontánního abortu, kdy po revizi dutiny děložní je zjištěn nárůst hladin hCG a dle ultrazvukového vyšetření vysloveno podezření na současně probíhající mimoděložní těhotenství. Léčba je opět chirurgická, spočívající v laparoskopickém odstranění tuby destruované ektopickou graviditou.

Primární prevencí vzniku mimoděložního těhotenství je sanace vaginálních infekcí a operační odstranění saktosalpingů před plánovaným IVF cyklem. V rámci terapie androgického faktoru pomocí inseminace (IUI) je vhodné volit cykly s minimální stimulací ovarií k zabránění polyovulace a nebo provést IUI v přirozeném cyklu. Při růstu většího počtu folikulů lze zabránit vzniku vícečetné gravidity a tím i snížit riziko vzniku heterotopické gravidity provedením odlehčovací punkce oocytů pod transvaginální ultrazvukovou kontrolou. V rámci cyklu IVF/ET je preventivním krokem transfer maximálně dvou embryí ke snížení rizika mimoděložního těhotenství, nejlépe však provedení přenosu jediného kvalitního embrya (single embryo transfer – SET). V rámci sekundární prevence je nutné u všech incipientních gravidit po IVF/ET ale i po IUI myslet na riziko vzniku heterotopické gravidity. Výskyt heterotopické gravidity se vlivem léčby sterility metodami asistované reprodukce stává významnou a život ohrožující komplikací gravidity. I přes stoupající incidenci této patologie těhotenství je tematika v odborné literatuře prezentována pouze ojedinělými kazuistikami (poprvé byla popsána v roce 1708 Duverneyem při pitevním nálezu) [28].

Léčba neplodnosti metodami asistované reprodukce je spojena se zvýšeným rizikem vzniku mimoděložního těhotenství. U všech incipientních gravidit po IVF/ET, kde byl proveden transfer více než jednoho embrya nebo po IUI je nutné myslet na riziko vzniku heterotopické gravidity. Základní strategií je pečlivá diagnostika topiky počínajícího těhotenství. Dominantní roli v diferenciální diagnostice ektopické a heterotopické gravidity má nadále endoskopie v kombinaci s transvaginálním ultrazvukovým vyšetřením malé pánve a sledováním sérových hladin hCG. Vždy je nutné posuzovat celý komplex vyšetření a korelovat všechny dostupné výsledky s klinickým stavem pacientky, který je vždy rozhodující. Diagnostika nejasných stavů by měla být dokončena v průběhu 24 hodin za využití všech dostupných metod.

Prezentovaný soubor Centra asistované reprodukce LF MU a FN Brno a Centra asistované reprodukce LF UP a FN Olomouc dokládá častější výskyt extrauterinní a heterotopické gravidity po použití metod asistované reprodukce při léčbě neplodnosti metodou IVF/ET ve srovnání s běžnou populací.

**Incidence ektopické gravidity po technikách in vitro
fertilizace ve dvacetiletém klinickém materiálu
Centra asistované reprodukce CAR 01 LF MU a FN Brno**

Čes. Gynek.
72, 2007, č. 6
s. 389-392

**Evaluation of the Ectopic Pregnancies Developed after in vitro Fertilisation
in the Center of Assisted Reproduction CAR 01 Brno between 1988 – 2006**

Kuřecová B., Hudeček R., Ventruba P., Crha I., Žáková J.

Gynekologicko-porodnická klinika LF MU a FN Brno, přednosta prof. MUDr. P. Ventruba, DrSc.

Structured Abstract

Objective: To review prevalence and management of ectopic and heterotopic pregnancies developed after in vitro fertilisation and embryo transfer in the Center of Assisted Reproduction CAR 01 LF MU a FN Brno in a 20 – year period. An analysis of their management and therapy.

Design: A retrospective analysis.

Setting: Obstetrics and Gynecology Department, University Hospital Brno.

Methods: The collection of 1487 pregnancies arisen after IVF/ET cycles accomplished in the period of 1988 – 2006 in the Center of Assisted Reproduction CAR 01 Brno, in which the prevalence and the therapy of extrauterine and heterotopic pregnancies was observed. Also the therapeutic procedures of ectopic pregnancies and development of heterotopic pregnancies were analysed.

Results: In the follow-up file the numbers of ectopic pregnancies was 84 from 1487 (5.65%) clinical pregnancies. Heterotopic pregnancy occurred in seven cases (0.47%). Both ectopic and heterotopic pregnancy rate is higher than in a common population. From the seven heterotopic pregnancies two resulted in the delivery of the intrauterine pregnancy. From the total number of 84 ectopic pregnancies 68 (88.10%) resulted in laparoscopic salpingectomy as the therapy, only nine of them (11.90%) were treated conservatively with the tube preservation.

Conclusion: Evaluation of the ectopic and heterotopic rate prevalence after assisted conception treatment in the Centre of Assisted Reproduction CAR 01 Brno in the period of 1988 - 2006 shows higher appearance of these complications in pregnancies, which origin is in IVF and ET as an infertility treatment.

Key words: ectopic pregnancy; heterotopic pregnancy; in vitro fertilisation; embryo transfer; kryoembryo transfer

Strukturovaný souhrn

Cíl práce: Zhodnotit výskyt mimoděložních a heterotopických těhotenství vzniklých po in vitro fertilizaci a embryotransferu a rozbor managementu jejich terapie v Centru asistované reprodukce CAR 01 LF MU a FN Brno ve dvacetiletém klinickém materiálu.

Typ studie: Retrospektivní studie.

Název a sídlo pracoviště: Gynekologicko-porodnická klinika LF MU a FN Brno.

Materiál a metodika: Soubor 1487 těhotenství vzniklých po cyklech IVF/ET provedených v letech 1988 až 2006 v Centru asistované reprodukce CAR 01 Brno, u nichž byla sledována četnost výskytu extrauterinní a heterotopické gravidity. Rozbor terapeutických postupů řešení ektopické gravidity a vývoj gravidit heterotopických.

Výsledky: Ve sledovaném období byl výskyt ektopické gravidity 84 z 1487 klinických gravidit (5,65 %). Heterotopická gravidita se vyskytla v sedmi případech (0,47 %). Jak v případě mimoděložního, tak v případě heterotopického těhotenství je výskyt častější než v běžné populaci. Ze sedmi heterotopických těhotenství 2 skončily porodem intrauterinně uloženého plodu. Ze sledovaných 84 mimoděložních těhotenství byla u 68 (88,10 %) postižená tuba odstraněna laparoskopickou salpingektomií, pouze u 9 (11,90 %) byl zvolen konzervativní postup se zachováním vejcovodu.

Závěr: Zhodnocení výskytu ektopické a heterotopické gravidity po metodách asistované reprodukce v Centru asistované reprodukce CAR 01 Brno za období 1988 – 2006 ukazuje na vyšší prevalenci těchto komplikací u těhotenství vzniklých po IVF a ET v rámci léčby poruch plodnosti ve srovnání s incidencí ektopické a heterotopické gravidity u spontánních koncepcí.

Klíčová slova: extrauterinní gravidita; heterotopická gravidita; in vitro fertilizace; embryotransfer; kryoembryo transfer

ÚVOD

Extraterinní gravidita (GEU), definovaná jako těhotenství vznikající po implantaci embrya mimo děložní dutinu, je jednou z možných komplikací časné gravidity. Riziko vzniku mimoděložního těhotenství v běžné populaci, tedy mezi ženami bez poruch plodnosti, se pohybuje okolo dvou případů na sto intrauterinních gravidit. Četnost mimoděložních těhotenství po metodách asistované reprodukce (AR) je prokazatelně vyšší, nejčastěji citovaná incidence se pohybuje od 2,2 do 8,6 na 100 vzniklých těhotenství [3]. Svou roli v etiopatogenezi ektopické gravidity hrají podmínky, ve kterých k otěhotnění dochází (např. dysfunkce vejcovodů u tubárního faktoru dysfertyly), současně však nelze vyloučit ani vliv technik oplození pomocí metod AR. Nejpravděpodobněji se jedná o kombinaci více faktorů souvisejících jak s příčinou neplodnosti, tak s její terapií.

Paralelně se vzrůstem prevalence mimoděložních těhotenství v souvislosti s léčbou neplodnosti se také mnohonásobně zvýšila prevalence heterotopických gravidit. Heterotopická gravidita je definována jako současný výskyt gravidity intrauterinní a ektopické, k jejíž koincidenci dochází vzácně. Četnost výskytu této těhotenské komplikace je v populaci 1/25 000 až 1/30 000, u léčených dysfertálních žen je incidence několikanásobně vyšší 1/50 až 1/150 (0,75-2,9 %) [2, 6, 8, 14, 17]. Riziko vzniku heterotopické nidace embryí se zvyšuje v souvislosti s transferem více embryí nebo nitroděložní inseminací při stimulaci ovulace v programu AR [3].

SOUBOR PACIENTEK A METODIKA

Soubor tvoří 1487 těhotenství vzniklých po metodách AR v letech 1988 až 2006 v Centru asistované reprodukce CAR 01 Lékařské fakulty Masarykovy Univerzity a Fakultní nemocnice Brno. Všechna těhotenství vznikla metodou mimotělního oplodnění in vitro fertilizace (IVF), tedy metodami, při kterých jsou gamety oplozovány v laboratoři, mimo tělo pacientky. Těhotenství vzniklá po nitroděložní inseminaci (IUI) nebyla do souboru zařazena. Ve 1478 případech (99,4 %) byla embrya do dělohy zaváděna transcervikálně transferovým katétreem – metody IVF/ET, eventuálně KET (kryoembryotransfer). Pouze devět transferů bylo provedeno metodou GIFT (intrauterinní transfer gamet). Maximální počet zavedených embryí byl čtyři, nejčastěji byla zavedena tři embrya. Ektopická gravidita byla po klinickém nálezů prokázána histopatologickou verifikací. Sledován byl i současný výskyt extrauterinní a intrauterinní gravidity prokázané histologicky či ultrazvukovým (UZ) vyšetřením.

VÝSLEDKY

Z celkového počtu 1487 těhotných bylo u 77 (5,65 %) žen prokázáno těhotenství v jednom z vejcovodů

a u 7 (0,41 %) žen těhotenství současně v děloze a v jednom vejcovodu. Po GIFT se vyskytlo mimoděložní těhotenství jednou, nebyla ani jedna heterotopická gravidita. Prevalence ektopické a heterotopické gravidity se lišila v jednotlivých letech (tab. 1).

Tab. 1. Terapie ektopických gravidit po IVF/ET v CAR 01 Brno

Rok	Gravidity po IVF	Ektopické celkem (GEU+heterotopické)		Heterotopické gravidity	
	n	n	%	n	%
1988	9	0	0	0	0
1989	26	1	3,85	0	0
1990	32	1	3,13	0	0
1991	35	6	17,14	2	5,71
1992	38	4	10,53	0	0
1993	29	5	17,24	1	3,45
1994	8	0	0	0	0
1995	29	3	10,34	0	0
1996	79	5	6,33	0	0
1997	85	2	2,35	0	0
1998	61	3	4,92	0	0
1999	110	8	7,23	0	0
2000	131	6	4,58	0	0
2001	181	10	5,52	0	0
2002	177	8	4,52	1	0,56
2003	114	5	4,39	0	0
2004	114	8	7,02	0	0
2005	118	5	4,24	1	0,85
2006	111	4	3,60	2	1,80
Celkem	1487	84	5,65	7	0,47

V roce 1988 byl celkový počet těhotných po IVF 9, všechna těhotenství byla prokázána intrauterinně. V roce 1989 z celkového počtu 26 těhotných byla prokázána 1 extrauterinní gravidita (3,85 %), heterotopická gravidita zjištěna nebyla. V roce 1990 byl výskyt mimoděložního těhotenství 1 z 32 těhotných po IVF (3,13 %). V roce 1991 bylo zaznamenáno 35 těhotných, z nichž 4 otěhotněly mimoděložně a 2 těhotenství byla heterotopická (5,75 %). Jedno z těchto heterotopických těhotenství se po terapii tubárního těhotenství laparoskopickou salpingektomií dále intrauterinně vyvíjelo a bylo ukončeno císařským řezem pro nepostupující porod v termínu porodu. V roce 1992 se vyskytla 4 mimoděložní těhotenství z celkem 38 těhotných po IVF (10,53 %). V roce 1993 bylo dosaženo 29 těhotenství, z nichž 4 mimoděložní a 1 heterotopické (3,45 %). V roce 1994 otěhotnělo 8 žen, všechna těhotenství byla intrauterinní. V roce 1995 z 29 těhotenství byla mimoděložní 3 (10,34 %), heterotopická žádná. V roce 1996 se počet těhotenství po IVF zvýšil na 79, 5 z nich bylo mimoděložních (6,33 %). V roce 1997 byla zjištěna pouze 2 mimoděložní těhotenství (2,35 %) z 85 klinických gravidit. V roce 1998 vzniklo 61 gravidit, z nich mimoděložní byly 3 (4,92 %). V roce 1999 z celkového počtu 110 těhotných po IVF 8 bylo prokázáno mimoděložně (7,23 %). V roce 2000 bylo ze 131 těhotenství 6 extrauterinních (4,58 %). V roce 2001 bylo dosaženo 181 těhotenství po IVF, 10 bylo mimoděložních (5,52 %). V roce 2002 bylo dosaženo 177 gravidit, z nich 7 bylo mimoděložních a 1 hete-

rotopická (0,56 %). V roce 2003 i 2004 bylo dosaženo 114 gravidit, z nich mimoděložních bylo zjištěno 5 v roce 2003 (4,39 %) a 8 v roce 2004 (7,02 %). V roce 2005 bylo 118 těhotných, z toho 4 s mimoděložní a 1 s heterotopickou graviditou (0,85 %). V roce 2006 bylo z celkem 111 těhotenství pouze 2 mimoděložní a 2 heterotopické (1,80 %). Ze všech mimoděložních těhotenství bylo v deseti případech postupováno konzervativně, tedy s ponecháním vejcovodu, u ostatních byla provedena laparoskopická salpingektomie (tab. 2).

Tab. 2. Terapie ektopických gravidit po IVF/ET v CAR 01 Brno

	n	Salping-ektomie	%	Konzervativní postup	%
GEU	77	68	88,31	9	11,69
heterotopické gravidity	7	6	85,71	1	14,29
Celkem	84	74	88,10	10	11,90

Z celkově sedmi heterotopických těhotenství registrovaných v letech 1988 – 2006 bylo pět ukončeno laparoskopickou salpingektomií a instrumentální revizí dutiny děložní pro inkompletní abort v časně graviditě (tab. 3).

Tab. 3. Vývoj heterotopických gravidit po IVF/ET v CAR 01 Brno

Rok	Počet	Salping-ektomie	Abort v I. trimestru	Porod
1991	2	2	1	1
1993	1	1	1	0
2002	1	1	1	0
2005	1	1	1	0
2006	2	2	1	1
Celkem	7	7	5	2

ve dvou případech se těhotenství dále vyvíjelo (jedno po laparoskopické salpingektomii a jedno po laparotomické salpingektomii) a bylo ukončeno porodem – v prvním případě císařským řezem v termínu porodu, v druhém případě předčasným porodem ve 27. týdnu gravidity po odtoku plodové vody.

DISKUSE

Mimoděložní těhotenství je závažnou komplikací ohrožující život ženy. Všechny příčiny vývoje tohoto stavu zatím neznáme, proto nejsme schopni dopředu eliminovat rizikové faktory, případně při přítomných rizikových faktorech včas extrauterinní těhotenství diagnostikovat a terapeuticky zasáhnout. Některé predisponující faktory již známe. Za rizikové lze považovat ženy s prodělaným zánětem v malé pánvi, při zavedeném nitroděložním tělísku a ženy s konzervativním operačním zákrokem na vejcovodech. Jedním z nejzávažnějších

rizikových faktorů pro vznik extrauterinní gravidity je přítomnost saktosalpingu [13]. Naopak významně nižší riziko vzniku ektopické gravidity mají ženy s úspěšně dokončenou intrauterinní graviditou v anamnéze [3, 18].

Ženy se sníženou plodností léčené v programu AR jsou statisticky ve vyšším riziku vzniku extrauterinního těhotenství [3, 11]. Existuje několik hypotéz vysvětlujících vývoj mimoděložního těhotenství po embryotransferu. Možnou příčinou je zavedení transferového katétru do vejcovodu, spontánní migrace embrya, souvislost s množstvím kultivačního média či vysoká sérová koncentrace estradiolu nepříznivě ovlivňující ciliární transport ve vejcovodu [17]. Vzhledem k dnes běžnému transferu dvou embryí do dělohy pak může dojít k současné implantaci jednoho embrya v děloze a druhého v alterované tubě. K implantaci embrya ve vejcovodu dojde též častěji při použití některých specifických metod umělého oplození, konkrétně zavedení embryí metodou ZIFT (intrauterinní transfer zygoty). Naproti tomu ženy podstupující embryotransfer dárcovských gamet (darované oocyty či embrya) jsou v riziku nižším než běžná populace [3]. I skupinu léčených dysfertilit lze podle výše rizika vzniku mimoděložního těhotenství rozdělit dle faktoru neplodnosti. Nejvyšší riziko implantace embrya mimoděložně mají ženy s tubárním faktorem neplodnosti. Je-li při tubárním faktoru sterility přítomen saktosalpinx, pak se riziko mimoděložního těhotenství zvyšuje dva a půlnásobně oproti skupině neplodných žen s izolovanou diagnózou andrologického faktoru [3]. Ve skutečnosti se však většinou jedná o kombinaci několika faktorů neplodnosti. Dalšími známými rizikovými faktory jsou počet a kvalita transferovaných embryí a délka jejich kultivace.

Z uvedené retrospektivní analýzy vyplývá, že riziko nidace embrya ve vejcovodu je vyšší u žen podstupujících léčbu poruch plodnosti, a to i v případě současné nidace embrya v děložní dutině. Jedná se o závažnou komplikaci, protože mimoděložní těhotenství je nejčastější náhlou příhodou břišní v gynekologii a důležitou příčinou mateřské mortality, a to často v důsledku mylné nebo pozdě stanovené diagnózy. Zejména diagnostika heterotopické gravidity je obtížná. Výskyt heterotopické gravidity je i přes stoupající prevalenci v odborné literatuře prezentován pouze ojedinělými kazuistikami, neboť včasná diagnostika je téměř nemožná a k nálezům dochází až při komplikacích – nejčastěji ruptuře tubární moly či hemoperitonea s následným hemoragickým šokem [15].

Pouhým sledováním růstu hormonálních hladin hCG, progesteronu a estradiolu v prvním trimestru nebyla nalezena žádná kritéria vhodná k vyloučení či potvrzení mimoděložního těhotenství [7, 11]. Lépe nám situaci dovolí posoudit spojení krevních hormonálních vyšetření s vaginální ultrasonografií. Při hodnotách hCG mezi 1000 a 2000 IU (diskriminační hodnota) by měly být jednoznačně prokázány známky intrauterinní gravidity vaginálním UZ a není-li tomu tak, pak je zapotřebí aktivně pátrat po jiné lokalizaci implantace embrya. Nezanedbatelnou součástí diagnostického algoritmu zůstává palpační gynekologické vyšetření. Je-li vysloveno

podezření na mimoděložní těhotenství, je možno postupovat několika způsoby podle klinických příznaků, laboratorních a UZ vyšetření. Nález plodového vejce v děloze nevylučuje přítomnost mimoděložního těhotenství. Při klinických obtížích nezbyvá než daný stav vyloučit laparoskopicky.

Více než 90 % žen s mimoděložním těhotenstvím vyžaduje operační léčbu vzniklého stavu [7]. Je však možno vyčkat a pečlivě monitorovat sérové hladiny hCG, obzvláště jedná-li se o těhotenství chtěné. V některých zemích se dává přednost medikamentózní léčbě GEU aplikací metotrexátu intramuskulárně, je však zapotřebí dodržet jasná vymezení pro tuto léčbu: hemodynamická stabilita, hCG do 5000 IU, neprokázaná srdeční akce plodu mimo dělohu a nepřítomnost vitální intrauterinní gravidity. V České republice je metodou volby laparoskopické ošetření mimoděložního těhotenství, nejčastěji salpingektomií při fyziologickém vzhledu druhostranného vejcovodu. V ojedinělých případech pak salpingotomie s expresí tubární moly nebo lokální aplikace metotrexátu či prostaglandinu intramolárně. Při ruptuře tubární moly v případě heterotopické gravidity vzniká akutní prudká bolest v podbřišku s hemoperitoneem a následným hemoragickým šokem. Terapie je obdobná jako při ektopickém těhotenství s dobrou prognózou pro nitroděložní těhotenství. V dnešní době při použití minimálně invazivní endoskopie je šance zachování intaktní intrauterinní gravidity vysoká. Až 76 % plodů po operační intervenci pro heterotopickou graviditu se rodí v termínu porodu [12]. Sekundární prevencí vzniku těchto komplikací po metodách asistované reprodukce je odstranění saktosalpingů před plánovaným IVF. Preventivním krokem je též efektivní transfer jednoho kvalitního embrya do dělohy (single embryotransfer – SET). Aní přes tato preventivní opatření však nelze vyloučit nidaci blastocytů na příklad v děložním rohu [7, 12].

ZÁVĚR

Prezentovaný soubor Centra asistované reprodukce CAR 01 LF MU a FN Brno dokladuje častější výskyt extrauterinní a heterotopické gravidity po použití metod asistované reprodukce při léčbě neplodnosti metodou IVF/ET. U všech gravidit, kde byl proveden transfer více než jednoho embrya musíme na tuto možnost myslet a počínající těhotenství monitorovat všemi dostupnými metodami. Možnou prevencí heterotopické gravidity je transfer jednoho kvalitního embrya.

LITERATURA

1. Bello, G., Schonholz, D., Moshirpur, J., et al. Combined pregnancy: the Mount Sinai Experience. *Obstet Gynecol Surv*, 1986, 41, p. 603-613.
2. Cario, G.M., Carlton, M.A. An unusual set of triplets: twin intrauterine pregnancy with singleton extrauterine pregnancy. *Austr N Zeal J Obst Gynaecol*, 1984, 24, p. 51-54.
3. Clayton, H.B., Schieve, L.A., Peterson, H.B., et al. Ectopic pregnancy risk with assisted reproductive technology procedures. *Obstet Gynecol*, 2006, 3, 107, p. 595-604.
4. Citterbart, K., et al. *Gynekologie*. Praha: Galén, 2001.
5. Dickey, R.P., Holtkamp, D.E. Development, pharmacology and clinical experience with clomiphene citrate. *Hum Reprod Update*, 1996 2, p. 483-506.
6. Fernandez, H., Fournet, P., Leclaidier, C., et al. Nonsurgical treatment of heterotopic pregnancy: a report of six cases. *Fertil Steril*, 1993, 60, p. 428-432.
7. Fernandez, H., Gervaise, A. Ectopic pregnancies after infertility treatment: modern diagnosis and therapeutic strategy. *Hum Reprod Update*, 2004, 10, p. 503-513.
8. Franke, C., Rohrborn, A., Thiele, H., et al. Combined intrauterine and extrauterine gestation. A rare cause of acute abdominal pain. *Arch Gynecol Obstet*, 2001, 265, p. 51-52.
9. Glassner, M.J., Aron, E., Eskin, B.A. Ovulation induction with clomiphene and rise heterotopic pregnancies: a report of two cases. *J Reprod Med*, 1990, 35, p. 175-178.
10. Goldberg, J.M., Bedaiwy, M.A. Transvaginal local injection of hyperosmolar glucose for the treatment of heterotopic pregnancies. *Obstet Gynecol*, 2006, 107, p. 509-510.
11. Hudeček, R. Analýza faktorů ovlivňujících výsledky AR pomocí systémů pro dolování znalostí z databází SHLUK a neuronové sítě Neul 3. Závěrečná zpráva grant IGA MZČR č.: 4916-3; 2001.
12. Hulvert, J., Mardešić, T., Vobořil, J., et al. Heterotopická gravidita a její výskyt v souvislosti s asistovanou reprodukcí. *Čes Gynek*, 1999, 64, s. 299-301.
13. Magdoliníč, M., Lukáč, V., Kubalík, L. Heterotopická gravidita – úspěšný laparoskopický management s pokračujícíou intrauterinnou graviditou. *Gynekolog*, 1998, 2, s. 28-31.
14. Murray, H., Baakdah, H., Bardell, T., Tulandi, T. Diagnosis and treatment of ectopic pregnancy. *JAMC*, 2005, 11, 173, 8, p. 905-912.
15. Peršín, J., Pospíchal, J., Hanousek, I. Úspěšná laparoskopická léčba heterotopické gravidity po spontánním otěhotnění. *Gynek po prom*, 2004, 6, s. 55-56.
16. Reece, E.A., Petrie, R.H., Sirmans, M.F. *Am J Obstet Gynecol*, 1983, 146, p. 323-329.
17. Vavrušová, R., Hudeček, R., Kuřecová, B., Ventruba, P. Diagnosticko-terapeutický algoritmus heterotopické gravidity. *Prakt Gyn*, 2007, 2, s. 66-69.
18. Ventruba, P., Čupr, Z., Pilka, L., et al. Faktory sdružené se vznikem mimoděložního těhotenství po fertilizaci in vitro a transferu embrya. *Asist Reprod*, 1992, 2, s. 10-11.
19. Veselý, J., Ventruba, P., Veselá, K. Duplicitní intrauterinní a ektopická gravidita po IVF/ET. *Asist Reprod*, 1992, 2, s. 12-13.

MUDr. Barbora Kuřecová
Gynekologicko-porodnická klinika
LF MU a FN Brno
Jihlavská 20
625 00 Brno
e-mail: bkurecova@centrum.cz

Michal Mára a kol.

Vybrané kazuistiky z gynekologické endoskopie

Vyloučení odpovědnosti

Autoři i vydavatel věnovali maximální možnou pozornost tomu, aby informace uvedené v knize odpovídaly aktuálnímu stavu znalostí v době přípravy díla k vydání. I když tyto informace byly pečlivě kontrolovány, nelze s naprostou jistotou zaručit jejich úplnou bezchybnost. Z těchto důvodů se vylučují jakékoli nároky na úhradu at již přímých, či nepřímých škod.

Tato kniha ani žádná její část nesmí být kopírována, rozmnožována ani jinak šířena bez písemného souhlasu vydavatele.



© Michal Mára a kol., 2013

Cover © Renata Brtnická, 2013

© Mladá fronta a. s., 2013

Vydalo nakladatelství Mladá fronta a. s., Mezi Vodami 1952/9

143 00 Praha 4, www.mf.cz

ISBN: 978-80-204-2901-8

Literatura

1. Levy G, Dehaene A, Laurent N, et al. An update on adenomyosis. *Diagn Interv Imaging* 2013;94:3-25.
2. Gordts S, Brosens JJ, Fusi L, et al. Uterine adenomyosis: a need for uniform terminology and konsensus classification. *Reprod Biomed Online* 2008;17:244-8.
3. Kim MD, Kim S, Kim NK, et al. Long-term results of uterine artery embolization for symptomatic adenomyosis. *Am J Roentgenol* 2007;188:176-81.
4. Osada H, Silber S, Kakinuma T, et al. Surgical procedure to conserve the uterus for future pregnancy in patients suffering from massive adenomyosis. *Reprod Biomed Online* 2011;22:94-9.
5. Nishida M, Takano K, Arai Y, Ozone H, Ichikawa R. Conservative surgical management for diffuse uterine adenomyosis. *Fertil Steril* 2010;94:715-9.
6. Kennedy S, Hadfield R, Westbrook C, et al. Magnetic resonance imaging to assess familial risk in relatives of women with endometriosis. *Lancet* 1998;352:1440-1.
7. Salim R, Riris S, Saab W, Abramov B, Khadum I, Serhal P. Adenomyosis reduces pregnancy rates in infertile women undergoing IVF. *Reprod Biomed Online* 2012;25:273-7.
8. Thalluri V, Tremellen KP. Ultrasound diagnosed adenomyosis has a negative impact on successful implantation following GnRH antagonist IVF treatment. *Hum Reprod* 2012;27:3487-92.
9. Dueholm M, Lundorf E. Transvaginal ultrasound or MRI for diagnosis of adenomyosis. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2007;19:505-12.
10. Pepas L, Deguara C, Davis C. Update on the surgical management of adenomyosis. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2012;24:259-64.

Seznam autorů

Hlavní autor a editor:

Doc. MUDr. Michal Mára, CSc.

Gynekologicko-porodnická klinika VFN a 1. LF UK v Praze

Autoři:

Prim. MUDr. Zdeněk Adamík, Ph.D.

Gynekologicko-porodnické oddělení Krajské Nemocnice Tomáše Bati, a. s., Zlín

Doc. MUDr. Tíbor Bielik, Ph.D.

II. gynekologicko-porodnická klinika SZU pri FNŠP F. D. Roosevelta, Banská Bystrica

As. MUDr. Michael Fanta, Ph.D.

Gynekologicko-porodnická klinika VFN a 1. LF UK v Praze

MUDr. Zdeňka Fartáková

Gynekologicko-porodnická klinika VFN a 1. LF UK v Praze

MUDr. Kristýna Hlinecká

Gynekologicko-porodnická klinika VFN a 1. LF UK v Praze

Prim. MUDr. Robert Hudeček, Ph.D.

Gynekologicko-porodnická klinika MU a FN Brno

As. MUDr. Martin Charvát

Gynekologicko-porodnická klinika 2. LF UK a FN Motol

Prim. MUDr. Radek Chvátal

Gynekologicko-porodnické oddělení, Nemocnice Znojmo

Prim. MUDr. Peter Kašćák, Ph.D.

Gynekologicko-porodnická klinika FN Trenčín

9 | Heterotopická gravidita – závažná komplikace asistované reprodukce

R. Hudeček, P. Ventruba, I. Crha

Úvod

Heterotopická gravidita je definována jako současný výskyt intrauterinní a ektopické gravidity. Incidence heterotopické gravidity se pohybuje v rozmezí 1/25 000 až 1/30 000 [1] děložních těhotenství. S rostoucí efektivitou asistované reprodukce (AR) je možná implantace více embryí intra- i extrauterinně. Výskyt heterotopické gravidity v rámci technik AR kolísá mezi 0,75-2,9% [2]. Riziko vzniku heterotopické gravidity se zvyšuje v případech gravidit vzniklých po transferu více než jednoho embrya, po intrauterinní inseminaci se stimulací folikulogeneze exogenními gonadotropiny nebo i u spontánních koncepcí vzniklých po podpoře ovulace antiestrogeny, tedy v těch případech, kde dochází vlivem stimulace vaječnicků k polyovulaci [1].

U heterotopické gravidity neplatí diagnostický algoritmus mimoděložního těhotenství, kde přítomnost plodu in utero vylučuje možnost ektopické gravidity. Diagnostika heterotopické gravidity se opírá o klinické palpační vyšetření, ultrazvukový nález a stanovení dynamiky sérových hladin lidského choriového gonadotropinu (hCG). Klíčovou roli hraje včasná endoskopická intervence. Klinické projevy heterotopické gravidity jsou zpočátku chudé a zpravidla se manifestují až obrazem náhle příhody břišní v souvislosti s rupturou tuby [3]. Zde dominuje náhle vzniklá bolest v podbřišku, známky

peritoneální dráždění a případně kardiopulmonální dekompenzace s hypotenzí a tachykardií v souvislosti s rozvojem hemoragického šoku. Ultrazvukové vyšetření detekuje přítomnost volné tekutiny v dutině břišní a intrauterinní graviditu. Laparoskopie potvrzuje nejčastěji tubární nidací moly a podle stupně poškození vejcovodu zpravidla vyústí v homolaterální salpingektomii. I přes rozvoj příznaků náhle přehody břišní a endoskopickou intervencí je prognóza pro další vývoj nitroděložní těhotenství dobrá a 76 % gravidit lokalizovaných in utero v době operační intervence pro heterotopickou graviditu končí porodem v termínu [4,5].

Heterotopická gravidita se může projevit také krvácením z rodidel v incipientní graviditě pod obrazem spontánního abortu, kdy po revizi dutiny děložní je zjištěn nárůst sérových hladin hCG a podle ultrazvukového vyšetření je vysloveno podezření na současně probíhající mimoděložní těhotenství. Léčba spočívá v laparoskopickém odstranění tuby destruované ektopickou graviditou. Pestrost klinických projevů heterotopické gravidity, možnosti jejich detekce a vývoj intrauterinně lokalizovaných těhotenství ilustrují vybrané kazuistické případy Gynekologicko-porodnické kliniky Masarykovy univerzity a Fakultní nemocnice Brno z let 1990-2012.

Popis případů

Kazuistika 1: Primigravida, 34 let, přijata pro bolesti v podbříšku v 9. týdnu těhotenství po prvním cyklu IVF a transferu 3 embryí. Anamnesticky před rokem laparoskopická bilaterální salpingo-ovariolýza pro adheze a endometriózu malé pánve II.-III. stupně. Objektivní nález při přijetí: Bez známek krvácení z rodidel, silná bolest celého břicha, laboratorně vyjádřená mírná anemie, pacientka orientovaná, kardiopulmonálně komponovaná. Při vaginálním vyšetření bolestivá palpce v oblasti pravých adnex, výrazné vyklenutí CD, naznačeny známky peritoneálního dráždění. Vaginální ultrasonografií zjištěna vitální intrauterinní gravidita dle CRL 8+2 a vysloveno podezření na koincidenci extrauterinní gravidity v pravé tubě a intrauterinní gravidity, přítomna volná tekutina v CD.

Pacientka referována k diagnostické laparoskopii, kde detekováno hemoperitoneum (celkem 550 ml) a destrukce ampulární části pravé tuby s arteriálním krvácením v místě defektu. Bipolární koagulací a stříhem provedena salpingektomie vpravo. Následně po

akvapuraci dutiny břišní revidován stav levostranné tuby, kde pozorováno lividní zesílení střední části vejcovodu s konglutinací ampulárních fimbrií. Pro podezření na hematosalpinx či endometriózu tuby provedena bipolární koagulací a stříhem salpingektomie vlevo. Histologie potvrzuje bilaterální tubární graviditu. Čtvrtý den po výkonu pacientka udává bolesti v podbříšku charakteru menses a špinění. Sonograficky potvrzeno zmlklé jednočetné těhotenství in utero, které histologicky potvrzeno po kyretáži dutiny děložní. Pacientka referována pro absolutní tubární faktor k druhému cyklu IVF/ET.

Kazuistika 2: Secundigravida, 28 let, snažící se o koncepci sedm let, přijata pro metroragii v incipientní graviditě po čtvrtém cyklu asistované reprodukce s transferem 3 embryí in utero. Na sektoru před přijetím sonograficky prokázána intrauterinní gravidita 6+2 se srdeční akcí. Anamnesticky u pacientky laparoskopicky provedena



Obr. 1 Heterotopická gravidita v pravé tubě po asistované reprodukci

před dvěma lety salpingektomie vlevo pro tubární těhotenství. Objektivní nález při přijetí: koagula v pochvě, hrdlo pootevřeno se silným krvácením, děloha zbytnělá, prosáklá, adnexitální krajiny oboustranně bez palpačního nálezu. Vaginální sonografie: v dutině děložní dilatace anizochogenním obsahem na 8 mm bez známek vitální intrauterinní gravidity, ovaria zvětšená po předchozí stimulaci gonadotropiny, v CD malé množství volné tekutiny. U pacientky provedena revize dutiny děložní v celkové anestezii pro pracovní diagnózu spontánního inkompletního abortu v počínající graviditě po ICSI/ET (intracytoplazmatická injekce spermie, embryotransfer). Histologicky potvrzena rezidua post abortum.

Pacientka po zákroku klinicky bez obtíží. Den po revizi dutiny děložní detekována elevace sérových hladin hCG z 4081 U/l na 6116

76

77

U/l, podle ultrazvukového vyšetření detekován vpravo za dělohou vaskularizovaný útvar, v CD detekce volné tekutiny, palpační nález bez hmatné rezistence v adnexitálních krajinách, břicho klidné bez známek peritoneálního dráždění. Při laparoskopické revizi malé pánve zjištěna dilatace isthmické části pravého vejcovodu molou, bez přítomnosti hemoperitonea, pouze seriózní výpotek v CD (obr. 1). Bipolární koagulací a stříhem provedena salpingektomie vpravo s histologickým nálezem tubární gravidity. Pacientka pro absolutní tubární faktor referována k dalšímu cyklu IVF/ET.

Kazuistika 3: Secundigravida, 36 let, přijata v klapovém stavu po traumatismu břicha v 10. týdnu těhotenství po druhém cyklu IVF a transferu 2 embryí. Anamnesticky před rokem spontánní abort v incipientní graviditě po IVF/ET s revizí dutiny děložní. Objektivní nález při přijetí: Bez známek krvácení z rodidel, náhle vzniklá silná bolest celého břicha po pádu na břicho, laboratorně vyjádřená těžká anemie, porucha orientace, hypotenze, tachykardie, nitkovitý pulz. Při vaginálním vyšetření bolestivá palpce v oblasti pravých adnex, výrazné vyklenutí CD, vyjádřeny známky peritoneálního dráždění. Vaginální ultrasonografií zjištěna vitální intrauterinní gravidita dle CRL 10+2 a vysloveno podezření na hemoperitoneum chirurgické etiologie po traumatu. Chirurgické konzilium potvrzuje pomocí sonografie podezření na hemoperitoneum, ale vylučuje zdroj krvácení chirurgického origa (játra, slezina intaktní).

Pacientka statim referována za současné substituce erymasou k diagnostické laparoskopii, při níž gynekolog detekuje rozsáhlé hemoperitoneum a rupturu střední části pravé tuby s potrácející se molou a arteriálním krvácením v místě defektu. Bipolární koagulací a stříhem provedena salpingektomie vpravo s toaletou dutiny břišní. Celková krevní ztráta 1500 ml. Histologie potvrzuje tubární graviditu. Třetí den po výkonu sonograficky potvrzeno prosperující jednočetné těhotenství in utero, a pacientka s farmakologickou gestagenní podporou dále sledována ambulantně.

Diskuse

Mimoděložní těhotenství je nejčastější náhlou příhodou břišní v gynekologii. Graviditas extrauterina je závažnou příčinou mateřské mortality, a to často v důsledku mylné nebo pozdě stanovené

diagnózy. Frekvence ektopické gravidity se v posledních letech zvyšuje a je přibližně v 0,5-1 % všech gravidit. Rýhující se vejce šestý den po oplození ve stadiu blastocytu nabývá nidáčnické schopnosti a usídlit se může kdekoli ve vnitřním genitálu nebo i na serózech břišní dutiny. Topograficky nejčastější je ektopická nidace embrya ve vejcovodu. Heterotopická gravidita po léčbě neplodnosti metodami asistované reprodukce představuje sice raritní, ale vzhledem ke své obtížné diagnostice významnou, život ohrožující komplikaci počínajícího těhotenství [6]. Na Gynekologicko-porodnické klinice MU a FN Brno bylo v letech 1990-2012 diagnostikováno a řešeno celkem 97 extrauterinních gravidit vzniklých po technických asistované reprodukce v klinickém Centru asistované reprodukce CAR 01. Z celkového počtu 2386 dosažených klinických gravidit po AR v tomto období tvoří extrauterinní gravidity 4,07 %. V uvedeném období bylo v tomto souboru diagnostikováno 9 heterotopických těhotenství (0,38 % z celkového počtu všech gravidit po AR a 9,28 % z celkového počtu extrauterinních gravidit po AR) (tab. 1).

V rámci programu asistované reprodukce je popisováno zvýšené riziko mimoděložního těhotenství v souvislosti s vyšší hladinou estrogenu vyvolanou podáváním antiestrogenů při indukce ovulace u subfertálních žen [7]. Po podání klomifenitrátu je vyšší incidence klinických a preklinických abortů ve srovnání se spontánně vzniklými graviditami. Riziko heterotopické gravidity po léčbě klomifenitrátem se zvyšuje na 1/900 [8]. Při ultrazvukovém nález absence gestačního vakuu v dutině děložní v kombinaci se sérovou hladinou hCG nad 3000 U/l je ektopická lokalizace těhotenství velmi pravděpodobná a je indikována diagnostická laparoskopie. V případě kombinace intrauterinní a extrauterinní gravidity je včasná diagnostika mimoděložního těhotenství při absenci klinických příznaků málo pravděpodobná [9]. Většina kazuistik heterotopické gravidity referuje případy diagnostikované až ve stadiu ruptury tubární gravidity, hemoperitonea a hemoragického šoku [10]. Primární prevenci vzniku mimoděložního těhotenství po technických asistované reprodukce je profylaktické operační odstranění saktosalpingů před plánovaným cyklem in vitro fertilizace. V rámci terapie androgického faktoru pomocí intrauterinní inseminace (IUI) je vhodné volit cykly s minimální stimulací ovarií k zabránění polyovulace anebo provést IUI v nativním cyklu. Při růstu většího počtu folikulů lze zabránit vzniku vícečetné gravidity a tím i snížit riziko vzniku hete-

78

79

Tab. 1 Incidence ektopické a heterotopické gravidity po asistované reprodukci v CAR 01 Gynekologicko-porodnické klinice Masarykovy univerzity a FN Brno

Rok	Gravidity po IVF			Ektopické		Heterotopické	
	n	n	%	n	%	n	%
1990	32	1	3,13	0	0,00		
1991	35	6	17,14	2	5,71		
1992	38	4	10,53	0	0,00		
1993	29	5	17,24	1	3,45		
1994	8	0	0,00	0	0,00		
1995	29	3	10,34	0	0,00		
1996	79	5	6,33	0	0,00		
1997	85	2	2,35	0	0,00		
1998	61	3	4,92	0	0,00		
1999	110	8	7,23	0	0,00		
2000	131	6	4,58	0	0,00		
2001	181	10	5,52	0	0,00		
2002	177	8	4,52	1	0,56		
2003	114	5	4,39	0	0,00		
2004	114	8	7,02	0	0,00		
2005	118	5	4,24	1	0,85		
2006	111	4	3,60	2	1,80		
2007	170	1	0,58	0	0,00		
2008	207	5	2,41	1	0,48		
2009	161	4	2,48	0	0,00		
2010	148	1	0,68	0	0,00		
2011	117	1	0,85	0	0,00		
2012	131	2	1,53	1	0,76		
Celkem	2386	97	4,07	9	0,38 %		

rotopické gravidity provedením odlehčovací punkce nadpočetných folikulů pod transvaginální ultrazvukovou kontrolou. V rámci cyklu IVF/ET je preventivním krokem provedení transferu jediného embrya in utero (single embryo transfer - SET). V rámci sekundární prevence je nutné u všech incipientních gravidit po IVF s transferem více než jednoho embrya, ale i gravidit po intrauterinní inseminaci se stimulací gonadotropními hormony, myslet na riziko vzniku

heterotopické gravidity. Z vlastního klinického souboru CAR 01 vyplývá, že prakticky každá desátá extrauterinní gravidita po IVF je gravidita heterotopická.

Závěr

Léčba neplodnosti metodami asistované reprodukce je spojena se zvýšeným rizikem vzniku mimoděložního těhotenství. U všech incipientních gravidit po IVF/ET, kde byl proveden transfer více než jednoho embrya, nebo po IUI se stimulací folikulogeneze exogenními gonadotropiny, je nutné myslet na riziko vzniku heterotopické gravidity. Základní strategií je včasná diagnostika topiky počínajícího těhotenství. Dominantní roli v diferenciální diagnostice ektopické a heterotopické gravidity má endoskopie v kombinaci s transvaginálním ultrazvukovým vyšetřením malé pánve a monitorováním dynamiky sérových hladin hCG. Je nutné posuzovat celý komplex vyšetření a korelovat všechny dostupné výsledky s klinickým stavem pacientky, který je rozhodující. Diagnostika nejasných stavů by měla být realizována pomocí endoskopie malé pánve, která umožňuje provedení terapeutického výkonu v jedné době. I přes endoskopickou intervenci z důvodů heterotopické gravidity je prognóza pro další vývoj nitroděložní těhotenství dobrá a 76 % gravidit lokalizovaných in utero v době operace končí porodem. Přesto, že incidence spontánně vzniklých heterotopických gravidit je vysoce raritní, v souvislosti s rozvojem technik léčby neplodnosti v České republice lze v současnosti očekávat vyšší incidenci heterotopických gravidit po asistované reprodukci.

Práce byla podpořena MZ ČR RVO (FNBr, 65269705).

Literatura

1. Nasreen N, Imam B, Shazia P. Heterotopic pregnancy with successful pregnancy outcome. *J Hum Reprod Sci* 2012;5:213-4.
2. Franke C, Rohrborn A, Thiele H. Combined intrauterine and extrauterine gestation. A rare cause of acute abdominal pain. *Arch Gynecol Obstet* 2001;265:51-2.
3. Ibrahim AG, Badawi F, Tahlak M. Heterotopic pregnancy: a growing diagnostic challenge. *BMJ Case Rep* 2009; doi: 10.1136/bcr.08.2008.0779.

4. Hoshino T, Kita M, Imai Y, Kokeguchi S, Shiotani M. Successful pregnancy outcome in a case of heterotopic intrauterine and cervical pregnancy and a literature review. *J Obstet Gynaecol Res* 2009;35:1115-20.
5. Lavanya R, Deepika K, Patil M. Successful pregnancy following medical management of heterotopic pregnancy. *J Hum Reprod Sci* 2009;2:35-40.
6. Lukášová T, Ventruha T, Ventruha P, Žáková J, Sochorová K. Těhotenství a porod zdravého dítěte komplikované koincencí heterotopické gravidity po IVF a placenty perkrety s následnou hysterektomií. *Čes Gynek* 2012;77:152-5.
7. Dickey RP, Holtkamp DE. Development, pharmacology and clinical experience with clomiphene citrate. *Hum Reprod Update* 1996;2:483-506.
8. Glassner MJ, Aron E, Eskin BA. Ovulation induction with clomiphene and rise heterotopic pregnancies: a report of two cases. *J Reprod Med* 1990;35:175-8.
9. Michal M, Marian M, Marek M, Ewa WO. Heterotopic pregnancy in the absence of risk factors diagnostics difficulties. *Ginekol Pol* 2011;82:866-8.
10. Gibson KR, Horne AW. Ruptured heterotopic pregnancy: an unusual presentation of an uncommon clinical problem. *BMJ Case Rep* 2012; doi: 10.1136/bcr-2012-007423.

3.2.3. Ashermanův syndrom

Ashermanův syndrom je definovaný jako částečný nebo úplný adhezivní proces v dutině děložní nebo v děložním kanále, který se projevuje menstruačními obtížemi, infertilitou nebo opakovanými těhotenskými ztrátami a je v přímé souvislosti s nitroděložním traumatem [29]. Ashermanův syndrom ve středně těžkém až těžkém stadiu se v populaci vyskytuje s nízkou incidencí. Vzhledem k jeho raritnímu výskytu chybí v dostupné literatuře přesné guideline pro zvolení optimálního terapeutického postupu. Cílem terapie je obnova poškozeného endometria a nastolení fyziologického stavu vhodného ke koncepci.

Incidenci Ashermanova syndromu je v obecné populaci obtížné hodnotit – závisí zejména na úrovni zdravotnické péče a obecném zdravotnickém povědomí ve společnosti, na diagnostických možnostech, frekvenci legálních, popř. ilegálních potratů, na technice prováděných intrauterinních zákroků (využití tupé, ostré kyrety a sukční evakuace dutiny děložní po porodu a potratu), incidenci tuberkulózy atd. U infertilních pacientek, které byly vyšetřovány sonohysterograficky byla popsána prevalence 0,3 % [30]. U žen s opakovanými těhotenskými ztrátami vyšetřených hysteroskopicky byly intrauterinní adheze diagnostikovány u 7 až 21,8 % [30]. Obecně lze říci, že Ashermanův syndrom v středně těžkém až těžkém stadiu se v populaci vyskytuje s nízkou incidencí. Vzhledem k jeho raritnímu výskytu chybí v dostupné literatuře přesné doporučené postupy pro zvolení optimálního terapeutického postupu. Rovněž hodnocení efektivity jednotlivých metod terapie se v literatuře vyskytuje pouze sporadicky a s nejednoznačnými závěry. Nízkou prevalenci středně těžkých až těžkých forem Ashermanova syndromu potvrzuje i naše klinické hodnocení.

Terapie Ashermanova syndromu musí být komplexní. Cílem je obnova zničeného endometria a nastolení fyziologického stavu vhodného ke koncepci. Terapie spočívá ve znovuvytvoření prostorné dutiny děložní normálního tvaru nejefektivněji pomocí hysteroskopické adheziolýzy (často pod laparoskopickou kontrolou). Další fáze terapie spočívá v zábraně recidivy intrauterinních adhezí. Nedílnou součástí terapie je minimálně 3měsíční estrogen-progestinová terapie, která stimuluje regeneraci endometria a reepitelizaci traumatizovaných povrchů. Riziko recidivy adhezí je vysoké (3–20 %), zvláště v případě těžkých adhezí (20 až 60 %) [31]. V prevenci intrauterinních adhezí lze využít zavedení nitroděložního tělíska (nebo intrauterinního balonku) na konci hysteroskopické operace. Moderní alternativou je zavedení 100% hyaluronové kyseliny ve formě gelu intrauterinně. V literatuře nacházíme pouze ojedinělé práce, které by se zaměřovali na porovnání efektivity jednotlivých metod.

Předmětem vlastní klinické studie bylo porovnání efektivity terapie Ashermanova syndromu u pacientek léčených pomocí hysteroskopické (HSK) adheziolýzy s inzercí 100% kyseliny hyaluronové (100% KH) se skupinou pacientek se zavedením nitroděložního tělíska IUD a kontrolní skupinou. Primárním cíle bylo vyhodnocení úpravy menstruačního cyklu, návrat pravidelnosti a normální intenzity menstruace a sekundárním cílem bylo vyhodnocení incidence gravidity po spontánní koncepci do 1 roku od ukončení hormonální terapie (implantation rate – IR, take home baby rate – THBR). Retrospektivní klinické hodnocení zahrnuje 60 pacientek léčených v letech 1997–2014 pro Ashermanův syndrom ve stadiu II a III dle American Fertility Society. U všech pacientek byla provedena HSK adheziolýza. U 20 pacientek byl výkon ukončen intrauterinní instilací 100% KH ve formě gelu (skupina A), u 18 pacientek bylo na konci operace zavedeno do děložní kavity nehormonální intrauterinní tělísko IUD (skupina B) a ve 22 případech byla operace

ukončena bez zavedení antiadhezivních prostředků (skupina C). U všech pacientek následovala 3měsíční hormonální podpůrná terapie.

Návrat k pravidelnému menstruačnímu cyklu normální intenzity byl sledován ve skupině A u 12 z 20 pacientek (60,0 %), ve skupině pacientek B u 10 z 18 (55,5 %) a v kontrolní skupině C u 8 z 22 pacientek (36,3 %). Spontánní otěhotnění do jednoho roku od ukončení léčby bylo dosaženo ve skupině A u 14 z 18 pacientek (IR: 77,7 %), ve skupině B u 6 z 10 pacientek (IR: 60,0 %) a ve skupině C 6 z 14 pacientek (IR: 42,8 %). Ve skupině A porodilo 10 pacientek (THBR: 55,5 %), ve skupině B úspěšně porodili 4 pacientky (THBR: 40,0 %) a ve skupině pacientek C úspěšně porodily 4 pacientky (THBR: 28,5 %). Nejlepší výsledky byly dosaženy ve skupině pacientek s inzercí 100% KH a to ve všech sledovaných parametrech. Provedenou statistickou analýzou nebyl vzhledem k malému počtu zařazených pacientek sledován statisticky významný rozdíl v žádné ze sledovaných skupin pacientek.

Aplikace 100% KH do dutiny děložní po provedení rozrušení středně těžkých až těžkých intrauterinních adhezí umožňuje efektivní návrat normálního pravidelného menstruačního cyklu. Zavedení 100% KH rovněž zlepšuje implantation rate a take home baby rate v porovnání se skupinou pacientek, kterým bylo zavedeno IUD a se skupinou pacientek bez antiadhezivního prostředku. Výsledky klinického hodnocení potvrzují, že hysteroskopická adheziolýza ukončena inzercí 100% KH do dutiny děložní je efektivní metodou léčby středně těžkých a těžkých forem Ashermanova syndromu.

The Role of Hyaluronan in Asherman's Syndrome Therapy

Renáta Krajčovičová, MD, Robert Hudeček, PhD, Pavel Ventruba, DrSc, MBA, and Katarína Surgentová, MD

Abstract

Objective: Prospective clinical evaluation comparing the therapy of Asherman's syndrome in patients treated using hysteroscopic (HSK) adhesiolysis with insertion of 100% hyaluronic acid (HA) to a patient cohort with an inserted intrauterine device (IUD) and a control cohort. **Design:** Primary outcome—treatment for menstrual cycle problems. Secondary outcome—attainment of pregnancy after spontaneous conception within 1 year after the ending of hormonal therapy. **Materials and Methods:** Sixty patients treated from 1997 to 2014 for Asherman's syndrome (in Stage II and III). Cohort A: Insertion of 100% HA (20 patients). Cohort B: Insertion of an IUD (18 patients). Cohort C: Without insertion of antiadhesion agent (22 patients). Primary and secondary goals were evaluated for all patients after a 3-month hormonal therapy. **Results:** The normal menstrual cycle was restored in 12 out of 20 patients in cohort A (60.0%), in 10 out of 18 patients in cohort B (55.5%), and 8 out of 22 patients in control cohort C (36.3%). A spontaneous pregnancy within 1 year after the end of the treatment was achieved by 14 out of 18 patients (77.7%) in cohort A, by 6 out of 10 patients (60.0%) in cohort B, and by 6 out of 14 patients (42.8%) in cohort C. Ten patients (55.5%) gave birth in cohort A, 4 patients (40.0%) in cohort B, and 4 patients (28.5%) in cohort C. Given the small number of the included patients, there was no statistically significant difference identified in any of the followed cohorts through the completed statistical analysis. **Conclusion:** Intrauterine insertion of hyaluronan after the completed HSK adhesiolysis enabled the recovery of the normal menstrual cycle for 60.0% of the patients and improved the implantation rate (77.7%) and take home baby rate (55.5%), compared to the group of patients with insertion IUD and with the control group. (J GYNECOL SURG 31:250)

Introduction

ASHERMAN'S SYNDROME is defined as a partial or complete adhesion forming process in the cavity of the uterus or uterine canal, which is manifested by menstrual problems, infertility, or recurrent pregnancy loss, and it is directly related to intrauterine trauma.¹ Asherman's syndrome at the moderate to severe stage occurs with a low incidence among the population. Due to its rare occurrence, there are no exact guidelines in the available literature on selecting an optimum therapeutic procedure. The goal of the therapy is to restore the damaged endometrium and create a physiologic condition suitable for conception.

Objective

Comparison of the effectiveness of Asherman's syndrome therapy among patients treated by using hysteroscopic (HSK) adhesiolysis with insertion of 100% hyaluronic acid (HA) with a cohort of patients with insertion of intrauterine device (IUD) and a control cohort.

Primary outcome

Treatment of menstrual cycle disorders (recovery of regular and normal intensity menstruation).

Secondary outcome

Achieving pregnancy after spontaneous conception within one year after the end of the hormonal therapy (implantation rate [IR], take home baby rate [THBR]).

Inclusion criteria

1. Reproductive age: 28–39.
2. Presence of moderate to severe forms of intrauterine adhesions diagnosed by hysteroscopy (Stage II–III based on Asherman's syndrome classification according to the American Fertility Society), (Table 1).
3. Presence of regular menstrual cycle of normal intensity before intrauterine intervention leading to Asherman's syndrome.

HYALURONAN AND ASHERMAN'S SYNDROME

TABLE 1. CLASSIFICATION OF INTRAUTERINE ADHESIONS ACCORDING TO THE AMERICAN FERTILITY SOCIETY

Size of intracavitall uterus damage	< 1/3 1	1/3–2/3 2	> 2/3 4
Adhesion types	Soft 1	Moderate 2	Severe 4
Menstrual anamnesis	Normal 0	Oligomenorrhea 2	Amenorrhea 4
Classification:			
Stage I (light)	1–4		
Stage II (moderate)	5–8		
Stage III (severe)	9–12		

- Oligomenorrhea or amenorrhoea before the performance of HSK adhesiolysis.
- Presence of only the uterine factor of sterility.
- Spontaneous efforts to conception.

Exclusion criteria

- Presence of only light forms of intrauterine adhesions (Stage I based on Asherman's syndrome classification according to the American Fertility Society).
- Primary oligo-amenorrhea.
- Presence of uterine myomatosis, adenomyosis, or uterine polyps.
- Presence of other than uterine sterility factor.
- Use of assisted reproductive methods within the efforts to conception.

Materials and Methods

Prospective clinical trial of 60 patients treated from 1997 to 2014 for Asherman's syndrome. Inclusion in the clinical trial was possible after meeting the inclusion criteria and absence of exclusion criteria. All included patients had a regular menstrual cycle of normal intensity before intra-

uterine intervention caused the development of Asherman's syndrome. After the intrauterine intervention, a period of oligomenorrhea to amenorrhea followed in all patients. With suspicion of Asherman's syndrome, all patients underwent hysteroscopy, and stages of intrauterine adhesions, in accordance with the American Fertility Society, were evaluated. Subsequently, all patients underwent HSK adhesiolysis using scissors and electrocoagulation loop. In 20 patients, the operation was finished with intrauterine insertion of 100% HA (Cohort A), 18 patients had a nonhormonal IUD inserted in the uterine cavity at the end of surgery (Cohort B), and in 22 cases, the operation was ended without insertion of any antiadhesion devices (Cohort C). All patients underwent a 3-month hormonal support therapy in the pattern of 2 mg estradiol being administered orally or in patches from the 1st to the 25th day of cycle and with 200mg progesterone being added orally or vaginally from the 15th to 25th day of cycle. After the end of hormonal therapy, the recovery of a regular menstrual cycle with normal intensity (of 25–32 days' length with an intensity of bleeding similar to that before Asherman's syndrome diagnosis) was evaluated for all the patients. Also, the recovery time for return of regular menstruation cycle was evaluated. Regarding patients wishing to get pregnant again, we monitored whether spontaneous conception had been achieved within 1 year after the end of treatment as follows: IR, evaluated pregnancy results, and the frequency of abortions and child-births; THBR, obtained data were statistically processed using Fisher's exact test (Fig. 1).

Results

After the end of the hormonal therapy, a regular normal intensity menstrual cycle was restored in 12 out of 20 patients (60.0%) in cohort A, in 10 out of 18 patients (55.5%) in cohort B, and in 8 out of 22 patients (36.3%) in the control cohort C (Table 2). Obtained data were statistically processed with Fisher's exact test (Table 3). Given the small number of patients, there was no statistically significant difference proven in any of the followed cohorts. The

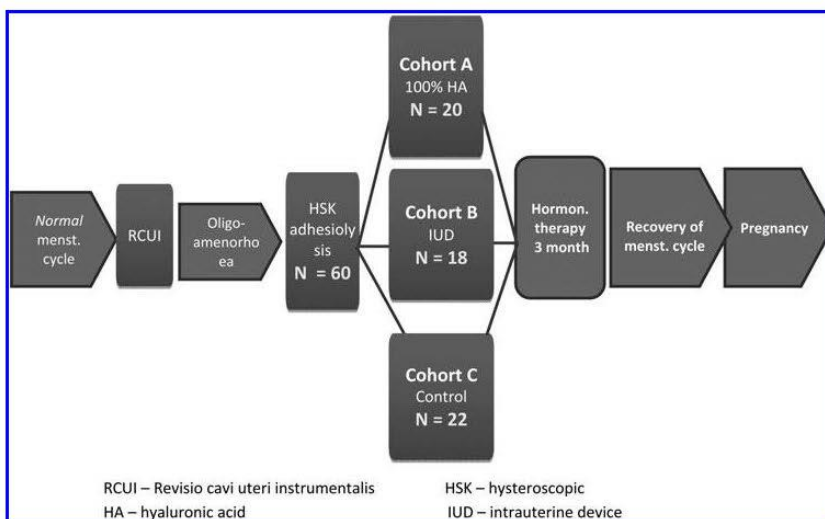


FIG. 1. Study design.

TABLE 2. PRIMARY AND SECONDARY OUTCOMES OF TREATMENT FOR ASHERMAN'S SYNDROME

	N	Normalization of menstruation		Pregnancy attempts		IR		THBR	
		N	%	N		N	%	N	%
A 100% HA	20	12	60.0	A1	18	14	77.7	10	55.5
B IUD	18	10	55.5	B1	10	6	60.0	4	40.0
C Control	22	8	36.3	C1	14	6	42.8	4	28.5

HA, hyaluronic acid; IR, implantation rate; IUD, intrauterine device; THBR, take home baby rate.

regular menstrual cycle was restored in all the cohorts ~4 weeks from the end of the hormone therapy. The efforts to achieve another pregnancy were present in 18 patients from cohort A (subgroup A1), in 10 patients from cohort B (subgroup B1), and in 14 patients from cohort C (subgroup C1). Spontaneous pregnancy within 1 year from the end of treatment was achieved by 14 out of 18 patients in subgroup A1 (IR: 77.7%), by 6 out of 10 patients in subgroup B1 (IR: 60.0%), and by 6 out of 14 patients in subgroup C1 (IR: 42.8%). In subgroup A1, three patients had a spontaneous abortion in the first trimester of pregnancy, one patient decided to get an interruption legalis (for personal reasons), and 10 patients gave birth to a healthy child (THBR: 55.5%). In subgroup B1, two patients had a spontaneous abortion in the first trimester and four patients successfully delivered (THBR: 40.0%). In subgroup C1, two patients had a spontaneous abortion and four successfully delivered (THBR: 28.5%), (Table 2). Acquired data were statistically processed using Fisher's exact test in the aforementioned way (Table 4). Given the small number of patients, there was no statistically significant difference proven in any of the followed cohorts. None of the followed patients (in all the subgroups) had an abortion in the second trimester and no congenital defect was found in their newborns.

Discussion

It is difficult to evaluate the incidence of Asherman's syndrome among the population at large—it mainly depends on the level of healthcare and a general health awareness in the society, on diagnostic possibilities, the frequency of legal or illegal abortions, the technology of performed intrauterine interventions (use of a blunt or sharp curette and suction evacuation of uterine cavity after childbirth and abortion), incidence of tuberculosis, and so on. A prevalence of 0.3%² was recorded in infertile patients examined by sonohysterography. Women with recurrent pregnancy losses, who were examined by hysteroscopy, have diagnosis of

intrauterine adhesions (7%–21.8%).³ Generally, we found that Asherman's syndrome at the moderate to severe stages occurs with a low incidence among the population. Due to its rare occurrence, exact guidelines are not provided in the available literature on selecting an optimal therapeutic procedure. The evaluation of effectiveness of individual therapeutic methods appears only sporadically in the literature and with ambiguous conclusions. The low prevalence of the moderate to severe forms of Asherman's syndrome was also confirmed with our clinical trial. During 16 years, we only observed 60 patients who met the inclusion criteria specified by us. The statistical processing of this small number did not register a statistically significant difference in any of the followed patient cohorts. The statistical analysis was calculated for a difference of 50% versus 25% (the approximate difference between subgroup A1 and C1, essentially the greatest difference in the entire analysis), the strength of the test was 0.8, and the limit of significance was 0.05. The difference of 25% would be statistically significant with a number of 58 patients in each cohort. The results of our clinical evaluation, given the small numbers, will have to be finally confirmed with continued clinical trial over the coming years and through involvement of other centers.

The treatment of Asherman's syndrome must be complex. Its aim is to recover the destroyed endometrium and create a physiologic state suitable for conception. The treatment consists in re-creating the spacious cavity of the uterus of a normal shape in the most effective way by means of HSK adhesiolysis. The next treatment stage consists in preventing relapse of intrauterine adhesions. An integral part of the therapy is also the estrogen–progesterin therapy lasting a minimum of 3 months, which stimulates regeneration of the endometrium and re-epithelialization of traumatized surfaces.

The risk of reformation of adhesions is high (from 3.1% to 23.5%), particularly in cases of severe adhesions (20%–62%).⁴ Insertion of an IUD (or intrauterine balloon) at the end of hysteroscopy surgery can be used in the prevention of

TABLE 3. PRIMARY OUTCOME—COMPARISON OF COHORTS FOR MENSTRUAL CYCLE NORMALIZATION

Primary outcome	Cohort					
	A vs. C		B vs. C		A vs. B	
Normalization of menstruation	A (N=20) 60%	C (N=22) 36%	B (N=18) 56%	C (N=22) 36%	A (N=20) 60%	B (N=18) 56%
	<i>p</i> = 0.216 ^a		<i>p</i> = 0.339 ^a		<i>p</i> = 0.999 ^a	

^aFisher's exact test (*p*-value).

A, cohort of patient with 100% HA; B, cohort of patients with IUD; C, control cohort of patients without insertion of antiadhesion agent.

TABLE 4. SECONDARY OUTCOME—COMPARISON OF SUBGROUPS REGARDING IMPLANTATION RATE AND TAKE HOME BABY RATE

Secondary outcome	Subgroup ^a					
	AI vs. CI		BI vs. CI		AI vs. BI	
IR	A1 (N=18) 78%	C1 (N=14) 43%	B1 (N=10) 60%	C1 (N=14) 43%	A1 (N=18) 78%	B1 (N=10) 60%
	$p=0.068^b$		$p=0.680^b$		$p=0.400^b$	
THBR	A1 (N=18) 56%	C1 (N=14) 29%	B1 (N=10) 40%	C1 (N=14) 29%	A1 (N=18) 56%	B1 (N=10) 40%
	$p=0.165^b$		$p=0.673^b$		$p=0.695^b$	

^aSubgroup: section of cohorts that included patients with pregnancy attempts.

^bFisher's exact test (p -value).

A1, subgroup of patient with 100% HA; B1, subgroup of patients with IUD; C1, subgroup of patients without insertion of antiadhesion agent.

intrauterine adhesions. A modern alternative is the insertion of 100% HA in the uterus. Details focusing on comparing the effectiveness of the individual methods are rarely found in literature.

One hundred percent HA

Recently, preparations containing 100% HA are very often used in antiadhesive therapy. They are natural products from an extracellular matrix and synovial fluid from joints and are mainly used as a barrier to prevent adhesions forming after abdominal and pelvic surgery. The antiadhesive effect depends on the molecular weight and concentration of the preparation. Preparations with 100% HA in the form of gel⁵ are designed for use in the uterine cavity. The gel with 100% HA is highly viscous. When applied into the uterine cavity, a mechanical barrier is created, which prevents adhesion formation. It stays in place for 7 days (adhesions typically develop from third to fifth days), after which time it is completely absorbed. In the prospective randomized controlled study,⁶ 100% HA was inserted into the uterine cavity after completion of adhesiolysis in 43 patients with Asherman's syndrome. The presence of gel was ultrasonographically controlled, and the gel was capable of keeping the uterine walls apart for 72 hours. When second HSK was performed 3 months later, a statistically significant reduction in postsurgery intrauterine adhesions was recorded, compared to the control cohort (14.0% vs. 31.7%).⁷ Our clinical evaluation confirmed the effectiveness of 100% HA insertion.

Intrauterine device

Insertion of IUD was described in many studies as an effective and frequently used method to prevent renewed formation of adhesions. The IUD in the uterine cavity keeps bloody surfaces apart in the initial phase of healing and is intended to reduce the amount of newly formed adhesions. In the last two decades, the use of different types of IUD was described in several studies.⁸

Forty-eight women with secondary amenorrhea included in a prospective observation study⁹ were treated by inserting an IUD with copper. Altogether, 40 women had normal periods in several weeks following the IUD insertion. The copper contained in the device caused an aseptic inflammatory reaction and stimulated the endometrium by releasing many types of prostaglandins. The effectiveness of

devices without a copper content, in terms of preventing intrauterine adhesions, depends on their shape. The IUD loop referred to as the best choice to prevent adhesions has, unfortunately, not been available on the Czech market for some time now.¹⁰ IUD insertion effectiveness in the prevention of intrauterine adhesions was also confirmed by a coherent retrospective study from 2013, where IUD insertion leads, compared with the control cohort, to a significantly higher reduction of intrauterine adhesions at a significance level of $p < 0.001$.¹¹ This study, however, does not deal with effects on reproduction. IUD insertion entails a small risk of uterine perforation and higher incidence of inflammatory complications.

Conclusion

Primary outcome

The insertion of 100% HA into the uterine cavity after the disruption of moderate to severe intrauterine adhesions enabled recovery of a normal regular menstrual cycle in 60.0% of patients, compared to the cohort of patients who had insertion of IUD (55.5%) and with the control cohort with no antiadhesive agent inserted (36.3%).

Secondary outcome

The insertion of 100% HA into the uterine cavity also improved the IR (77.7%) and THBR (55.5%), compared to the cohort of patients who had insertion of IUD (IR: 60.0%; THBR: 40.0%) and with the control cohort with no antiadhesive agent inserted (IR: 42.8%; THBR: 28.5%).

Given the small number of the included patients, there was no statistically significant difference identified in any of the followed cohorts after completion of statistical analysis.

Disclosure Statement

No competing financial interests exist.

References

1. Valle RF, Sciarra JJ. Intrauterine adhesions: Hysteroscopic diagnosis, classification, treatment and reproductive outcome. *Am J Obstet Gynecol* 1988;158:1459.
2. The American Fertility Society classifications of adnexal adhesions distal tubal occlusion, tubal occlusion secondary

- to tubal ligation, tubal pregnancies, Mullerian anomalies and intrauterine adhesions. *Fertil Steril* 1988;49:944.
3. Tur-Kaspa I, Gal M, Hatman M, et al. A prospective evaluation of uterine abnormalities by saline infusion sonohysterography in 1009 women with infertility or abnormal uterine bleeding. *Fertil Steril* 2006;86:1731.
 4. Weiss A, Shalev E, Romano S. Hysteroscopy may be justified after two miscarriages. *Hum Reprod* 2005;20:2628.
 5. Lin X, Wei M, Li TC, Huang Q, Huang D, Zhou F, Zhang S. A comparison of intrauterine balloon, intrauterine contraceptive device and hyaluronic acid gel in the prevention of adhesion reformation following hysteroscopic surgery for Asherman syndrome: A cohort study. *Eur J Obstet Gyn Reprod Biol* 2002;170:512.
 6. Amer MI, El Nadim A, Hassanein K. The role of intrauterine balloon after operative hysteroscopy in the prevention of intrauterine adhesion: A prospective controlled study. *MEFS J* 2005;10:125.
 7. Acunzo G, Giuda M, Pellicano M, et al. Effectiveness of auto-cross-linked acid gel in the prevention of intrauterine adhesions after hysteroscopic adhesiolysis: A prospective, randomised, controlled study. *Hum Reprod* 2003;18:1918.
 8. Yu D, Wong Y, Cheong Y, et al. Asherman syndrome- one century later. *Fertil Steril* 2008;89:759.
 9. Hrazdírová L, Kužel D, Žižka Z. Ashermanův syndrom II-historie, prevalence, histopatologie, klasifikace, etiologie, symptomatologie a vyšetřovací metody. *Čes Gynek* 2010;75:499.
 10. Vesce F, Jorizzo G, Bianciotto A, et al. Use of the copper intrauterine device in the management of secondary amenorrhoea. *Fertil Steril* 2000;73:162.
 11. March CM. Intrauterine adhesions. *Obstet Gynecol Clin North Am* 1995;22:491.

Address correspondence to:

Renáta Krajčovičová, MD

Department of Obstetrics and Gynecology

Masaryk University and University Hospital Brno

Obilní trh 11

Brno 625 00

Czech Republic

E-mail: rkrajcovicova@gmail.com

3.2.4. Onkologická rizika v asistované reprodukci Léčba neplodnosti a riziko ovariálního karcinomu

Ve světové literatuře existují práce upozorňující na hormonální situaci ženy ve vztahu k etiologii karcinomu ovaria. Pacientky s karcinomem ovaria jsou zpravidla nulipary, nebo ženy rodící své první dítě po třicátém roku věku. Jak naznačuje souhrn publikací zabývajících se danou problematikou, je infertilita považována za nezávislý rizikový faktor vzniku karcinomu ovaria. Přesto, že spojitost mezi indukcí ovulace a zvýšeným rizikem ovariálního karcinomu byla nalezena, není dosud specifikován vliv farmakologické stimulace činnosti vaječnicků, anovulace či chybění těhotenství. Definovat některé z těchto kauzálních vztahů je velmi obtížné [32].

Bristow ve své práci poukazuje na asociaci mezi indukcí ovulace a vyšším rizikem výskytu ovariálního karcinomu, a to především u infertilních pacientek, jejichž terapie nebyla úspěšná [33, 34]. Hardiman zdůrazňuje potencionální vliv mužského faktoru neplodnosti spojeného s chlamydiovou infekcí partnera jako etiologický faktor ovariálního karcinomu. Také koincidence infekce *Mycoplasma hominis* jako sexuálně přenosného onemocnění s rizikem vzniku ovariálního karcinomu je diskutována tímto autorem. Na základě studie Hardimana nelze přesně definovat vliv infertility či její terapie na vznik ovariálního karcinomu [35]. Další autoři uvádějí výskyt zhoubného tumoru u infertilních pacientek v souvislosti s endometriózou. Jedná se především o vztah endometriózy a endometroidního karcinomu, nádoru z jasných buněk a smíšeného ovariálního adenokarcinomu. Vercellini poukazuje na možnost maligní transformace epitelu v souvislosti s atypickou hyperplasií ektopicky lokalizovaného endometria [36].

Indukce ovulace v terapii infertility a karcinom ovária

V roce 1992 Whittemore a Collaborative Ovarian Cancer Group – COCG publikoval výsledky metaanalýzy 12 klinických studií ovariálního karcinomu provedených v letech 1956–1986 ve Spojených státech amerických a uvedl tak do souvislosti užívání fertilitních léků a riziko vzniku ovariálního karcinomu. Jmenovaná studie v následujících letech vyvolala celou řadu polemik a její oponenti vyčítali autorovi především řadu metodických chyb. Uváděná spojitost mezi užíváním fertilitních léků a rizikem vzniku ovariálního karcinomu je sice v citované metaanalýze značná, ale jednoznačně ji nelze považovat za prokázanou. Studie tohoto typu je spíše základem pro vytýčení určité hypotézy, než definitivním průkazem vztahu léků užívaných k indukci ovulace a rizikem vzniku ovariálního karcinomu [37, 38].

Za metodologicky optimálně provedenou studii lze považovat práci Rossinga z roku 1994. V této studii autor dokládá signifikantní korelaci mezi aplikací clomifencitrátu a karcinomem ovaria. Tato korelace se však prokázala pouze u těch žen, které užívaly clomifencitrát déle než dvanáct měsíců a jejichž terapie nebyla úspěšná. Jednalo se tedy o pacientky, které v programu asistované reprodukce neotěhotněly. Další autoři prokazují vyšší výskyt karcinomu ovaria u žen léčených pro poruchy plodnosti pomocí lidského menopauzálního gonadotropinu (hMG). Metodickou správnost těchto studií však sami autoři zpochybňují, jelikož uvádí, že se pravděpodobně jednalo o ženy neúspěšně léčené právě clomifencitrátem [39].

Za mimořádně ohroženou skupinu pacientek lze považovat ženy se syndromem polycystických ovarii. Tyto pacientky absolvují zpravidla při léčbě neplodnosti nejdříve 3 - 6 terapeutických cyklů s clomifencitrátem. Při neúspěšné léčbě a pokračování neplodnosti je pak v této skupině terapie antiestrogeny kombinována s kortikoidy či léky snižujícími hladinu prolaktinu. Přibližně 50 % pacientek z této skupiny i nadále není schopno počít a podstupují následnou terapii pomocí gonadotropních hormonů. Pacientky tak absolvují

v průměru 18–24 měsíců neúspěšné terapie neplodnosti, než jsou zařazeny do programu in vitro fertilizace [40].

Whittemore a řada dalších autorů zabývajících se problematikou souvislosti infertility a její terapie s ovariálním karcinomem upozorňují na potřebu dalších studií. Pozornost je třeba zaměřit na typ použité stimulace, terapeutickou dávku antiestrogenů a gonadotropních hormonů, délku jejich aplikace a dataci jejich podání vzhledem k věku pacientky. V neposlední řadě je třeba vzít v potaz i klinický výsledek léčebného cyklu IVF. Autoři zdůrazňují potřebu analýz velkých souborů v prospektivních studiích a vhodnost dlouhodobého sledování rizikové populace patientek po léčbě metodami IVF.

Na základě této studie se expertní skupina IFFS vyjadřuje k riziku ovariálního karcinomu ve spojitosti s použitím léků k terapii neplodnosti. Vliv infertility a její terapie je méně jasný [41]. Je třeba připustit relativně vyšší riziko vzniku ovariálního karcinomu u infertilních patientek, ale současně je obtížné na základě Whittemorovy studie definovat kauzální faktory. Pracovní skupina IFFS doporučuje rozšířit soubor a pokračovat v nových studiích. Jelikož randomizované prospektivní studie jsou prakticky neproveditelné, je možné se spokojit pouze s historickými prospektivními studiemi.

Novější práce světových autorů přináší aktuální poznatky, ale i další rozpory do této složité a eticky citlivé problematiky. Brinton s kolektivem spolupracovníků poukazuje na fakt, že u infertilních patientek je signifikantně zvýšené riziko ovariálního karcinomu proti běžné populaci. Přesto ve své práci neprokazuje souvislost mezi užitím léků podporujících ovulaci a vznikem ovariálního nádoru [42]. Doyle, který podrobuje analýze incidenci zhoubného nádoru prsu, těla děložního a ovaria rozborem dat Národního onkologického registru Velké Británie, nenachází signifikantní rozdíly u žen, které podstoupily stimulaci ovulace, a u žen bez léčby neplodnosti [43]. Podobně Dor neprokazuje ve své studii z roku 2002 zvýšené riziko ovariálního karcinomu u patientek po IVF [44].

Pouze v subpopulaci infertilních úspěšně léčených patientek bylo nalezeno nižší riziko vzniku ovariálního karcinomu proti subpopulaci infertilních patientek, které léčbu neabsolvovaly [45]. Aplikace léků k terapii neplodnosti u nuligravidních žen byla asociována s výskytem serózních tumorů ovaria hraniční malignity (OR = 2,43, 95 % CI: 1,01, 5,88), ale nikoliv s histologicky invazivními subtypy. Data poukazují na možnou roli specifických biologických faktorů souvisejících s neplodností, ale nikoliv na vztah mezi užitím fertilitních preparátů a ovariálním karcinomem [46]. Přesto, že závěry Rossingovy studie podporují hypotézu vyššího rizika vzniku ovariálního karcinomu u neúspěšně léčených infertilních patientek, nedaří se kauzální vztah těchto faktorů prokázat [47]. Většina publikovaných studií poukazuje, že riziko invazivního ovariálního karcinomu se u infertilních patientek nezvyšuje, ale je patrný vzestup rizika ovariálních tumorů s borderline malignitou [48].

Zhoubné novotvary ovaria v populaci infertilních pacientek České republiky: 1. část

R. Hudeček, P. Ventruha, M. Huser, E. Račanská,
R. Vavrušová, J. Šarmanová, J. Novák, A. Koukalová

Souhrn: Autoři práce se zaměřují na složitou problematiku vztahu dysfertility a léčby poruch plodnosti ve světě a v České republice vzhledem k riziku vzniku ovariálních nádorů. Poukazují na klíčovou roli in vitro fertilizace v terapii neplodnosti a shrnují etiologické faktory vzniku ovariálního karcinomu. Práce shrnuje základní hypotézy účinků léků k léčbě infertility ve vztahu k etiologii nádorů ovaria a data jsou dokládána přehledem současných i dřívějších světových prací. Autoři prezentují potenciální zdroje medicínsky relevantních dat o asistované reprodukci, které je vhodné podrobit dalším rozběrům.

Klíčová slova: neplodnost – asistovaná reprodukce – ovariální nádory

Summary: Ovarian Cancer in Infertile Females in the Czech Republic: part I. The study analyzes the complexity of infertility and impaired fertility treatment in relation to the risk of ovarian cancer in the Czech Republic and abroad. The key role of in vitro fertilization as an infertility treatment is pointed out as well as etiological factors increasing the risk of ovarian cancer. Basic hypotheses for effects of medicaments treating infertility in relation to the etiology of ovarian tumours are summarized in this study and all the findings are documented in a list of contemporary and prior international studies. The authors present prospective resources of relevant information on assisted reproduction, which are subjects to further analyses.

Key words: infertility – assisted reproduction – ovarian cancer

Poruchy plodnosti ve světě a České republice

Světová zdravotnická organizace (WHO) definuje partnerskou dvojici jako neplodnou, pokud žena neotěhotní po dobu 2 let při pravidelném nechráněném pohlavním styku. Z praktického hlediska lze tento interval (training time) individuálně modifikovat a to především s přihlédnutím k věku nechtěně neplodného páru a jeho zdravotní anamnéze. Délka snahy o spontánní graviditu před absolvováním prvního léčebného cyklu asistované reprodukce (AR) je důležitým prognostickým faktorem, který ovlivňuje výsledek následné terapie dysfertility. Páry zařazené do programu AR nejpozději v průběhu 3 let neúspěšné snahy o spontánní koncepci mají v programu AR signifikantně vyšší procento oplozených oocytů (fertilisation rate – FR) a vyšší procento získaných klinických gravidit (pregnancy rate – PR) než páry léčené technikami asistované reprodukce až po více než 3letém intervalu [27].

Za jednu z hlavních příčin dysfertility lze považovat poruchy činnosti vaječnicků – tzv. ovariální faktor, jehož incidence se u nechtěně neplodných párů pohybuje okolo 40 %. Stejným dílem (40 %) se na etiologii poruch plodnosti podílí andrologický faktor. Tubární faktor neplodnosti (25–30 %), reprezentující patologické stavy vejcovodů, patří ke klíčovým příčinám ženské neplodnosti především v počáteční éře technik in

vitro fertilizace. Mezi faktory s nižší incidencí, ale přinejmenším stejným klinickým významem, lze zařadit endometriózu (10 %), uterinní a cervikální faktor (5 %) a imunologický faktor neplodnosti (1 %). Pojem tzv. idiopatické sterility v sobě skrývá především genetické faktory neplodnosti či inkompletní diagnostický algoritmus.

Význam technik asistované reprodukce jako nejprogresivnějšího způsobu léčby poruch plodnosti se netýká jen České republiky, ale je vpravdě celosvětový [66]. Globálně zasahuje dysfertility negativně do životů 60–80 milionů párů, přitom prevalence poruch plodnosti se v jednotlivých státech Evropy i světa výrazně liší (5 % Čína, 17,6 % Švédsko) [32,33].

Dysfertility a asistovaná reprodukce

Z databáze Evropské společnosti pro lidskou reprodukci a embryologii (European Society of Human Reproduction and Embryology – ESHRE) vyplývá, že v průběhu roku 1998 bylo v zemích unie, které dodávají data o technikách AR do evropského registru, provedeno celkem 232 225 léčebných cyklů asistované reprodukce v 521 centrech AR. Spektrum provedených technik reprezentuje 103 919 cyklů (44,7 %) in vitro fertilizace (IVF), 89 196 cyklů (38,4 %) intracytoplazmatické injekce spermií (intracytoplasmic sperm injection – ICSI) a 34 036 cyklů (14,7 %) s transferem rozmražených embryí po kryokonzervaci (kryoembryotransferu –

KET). Úspěšnost jednotlivých technik vyjádřena procentem dosažených klinických gravidit/embryotransfer – PR byla za sledované období u techniky IVF = 27,0 %, ICSI = 26,8 % a KET = 14,7 %.

Dle údajů posledního kompletního Národního registru asistované reprodukce (NRAR) bylo v ČR v průběhu roku 2000 v 16 centrech provedeno celkem 7 158 monitorovaných cyklů AR a dosaženo 1 742 klinických gravidit. Efektivita všech metod (PR = 26,3 %) je zcela srovnatelná s úspěšností center AR v Evropské unii. Závěry Národního registru asistované reprodukce České republiky [60,61,62] a publikovaných tuzemských demografických studií [11] potvrzují, že metody léčby neplodnosti a techniky asistované reprodukce zaznamenaly v ČR za posledních 20 let obrovský rozvoj a korespondují s celosvětovým nárůstem počtu párů s poruchou fertility. Z prognostického hlediska se asistovaná reprodukce stává oborem, jehož uplatnění bude v budoucnosti nabývat stále většího významu.

Etiologie ovariálního karcinomu

Příčina vzniku ovariálních nádorů je pravděpodobně multifaktoriální. Asi 5–10 % epitelálních zhoubných nádorů je geneticky vázáno a za většinu z nich odpovídá mutace genů BRCA1 a BRCA2. Tyto geneticky vázané karcinomy ovaria bývají velmi agresivní. Mezi řadu rizikových faktorů vzniku ovariálního karcinomu, jako jsou dietické

faktory, expozice radiačnímu záření a vlivy životního prostředí, patří zcela jednoznačně počet ovulačních cyklů v životě ženy.

Zatím co incidence ovariálního karcinomu v České republice stále stoupá a v roce 1997 představovala 23,1 na 100 tisíc žen, v západní Evropě začíná pod vlivem masivního dlouhodobého užívání hormonální antikoncepce incidence ovariálního karcinomu klesat [51]. V České republice lze očekávat podobný pokles nejdříve za 10 let. Mortalita je stále vysoká, a to především pro obtížnost včasné diagnostiky ovariálních nádorů – až 80 % karcinomů ovaria je diagnostikováno ve stadiu III a IV. Ovariální nádory představují nejčastější příčinu úmrtí ve skupině pacientek s gynekologickými nádory. Hlavní skupinou ovariálních nádorů jsou zhoubné epitelální karcinomy, které tvoří přibližně 90 % ovariálních nádorů. U této skupiny nádorů je průměrný věk pacientek v době diagnózy 57 let, zatímco u neepitelálních nádorů ovaria přibližně 33 let

Na potenciální vztah mezi léčbou poruch plodnosti metodami IVF a zvýšeným rizikem vzniku ovariálních nádorů upozorňuje celá řada tuzemských i zahraničních autorů [33,34].

Animální modely a etiologie karcinomu ovaria

Spojitost ovariálního karcinomu a léků ovlivňujících fertilitu, především gonadotropních hormonů, prokazují některé publikované experimentální práce. Ze závěrů těchto prací jednoznačně vyplývá výrazná role gonadotropních hormonů v etiopatogenezi ovariálního karcinomu. Dostupná epidemiologická data o úloze gonadotropinů v etiologii ovariálního karcinomu u člověka tuto teorii podporují. Klasické animální modely ovariálního karcinomu spočívají v arteficiální blokaci zpětné vazby hypotalamohypofyzární osy. Experimenty prokázaly, že ovariální karcinom nevzniká u samic hlodavců, u nichž byla provedena hypofyzektomie [15]. V experimentu na zvířecím modelu se podařilo prokázat, že alfa-inhibin snižuje sérovou hladinu gonadotropinů a gonadální tumory vznikají konstantně u hlodavců s cílenou delecí genu pro alfa-inhibin [43]. Dříve než se u hlodavců tohoto modelu tumor vyvine, vykazují myši s delecí genu pro alfa-inhibin 2násobný až 3násobný vzestup sérových hladin gonadotropinů.

Na rozdíl od hlodavců jsou u člověka cirkulární procesy ovulace spojeny s vývojem cyst za významné spoluúčasti ovariálního stromatu. V důsledku toho je u člověka prioritní manifestací ovariální stimulace epitelální diferenciace a proliferace stro-

matu ovaria. Gonadotropinovou teorií podporují i epidemiologická data. Výskyt karcinomu ovaria stoupá prudce u pacientek ve věku 45–54 let a zůstává pak zvýšen po celý zbytek života, stejně jako sérové hladiny gonadotropinů.

Animálnímu modelu odpovídá i zvýšené riziko vzniku ovariálního karcinomu u pacientek po ozařování malé pánve pro carcinoma cervicis uteri za 10–15 let po primární léčbě [50].

Geneze ovariálního karcinomu v souvislostech

Etiologii ovariálního karcinomu se v podstatě snaží vysvětlit 2 základní teorie.

Gonadotropinová hypotéza

Tato hypotéza považuje za příčinu vzniku karcinomu ovaria chronicky zvýšené hladiny gonadotropních hormonů, které stimulují ovariální epitel, a podporují tak vznik a vývoj karcinomu. Gonadotropinovou etiologii podporují i epidemiologická data ze západní Evropy, kde dochází v populaci vlivem dlouhodobého plošného užívání hormonální antikoncepce ke snížení incidence ovariálního karcinomu. Spornou otázkou zůstává, zda je protektivní účinek hormonální antikoncepce způsoben zábranou ovulace, nebo spíše supresí produkce gonadotropních hormonů. Epidemiologická data svědčí spíše pro možnost gonadotropinové suprese. Pokles incidence ovariálního karcinomu lze například pozorovat u žen užívajících pro dysmenoreu dlouhodobě paracetamol, který snižuje koncentraci gonadotropinů v séru, ale neovlivňuje schopnost ovulace [16].

Hypotéza neustálé ovulace

Tato hypotéza se opírá o předpoklad, že zvýšený počet ovulací způsobuje iterativní mikrotraumatizaci povrchového epitelu ovaria, která může rezultovat v maligní zvrát a kancerogenezi. Během ovulace se kromě mikrotraumat povrchového epitelu uplatňuje i současná expozice epitelálních buněk proliferacímu vlivu vysokých hladin estrogenů. Epitelální ovariální buňky jsou ve zvýšené míře vystaveny pro ně nepřirozenému peritoneálnímu prostředí. Riziko, že se proliferace buněk vymkne kontrole, stoupá s počtem ovulačních cyklů [15].

Léčba neplodnosti a riziko ovariálního karcinomu

Ve světové literatuře existují práce upozorňující na hormonální situaci ženy ve vztahu k etiologii karcinomu ovaria. Pacientky s karcinomem ovaria jsou zpravidla nulipary, nebo

ženy porodivší své první dítě po 30. roku věku. Jak naznačuje souhrn publikací zabývajících se danou problematikou, je infertilita považována za nezávislý rizikový faktor vzniku karcinomu ovaria. Přesto, že byla spojitost mezi indukci ovulace a zvýšeným rizikem ovariálního karcinomu nalezena, není dosud specifikován vliv farmakologické stimulace činnosti vaječníků, anovulace či chybění těhotenství. Definovat některé z těchto kauzálních vztahů je velmi obtížné [3].

Bristow poukazuje ve své práci na asociaci mezi indukci ovulace a vyšším rizikem výskytu ovariálního karcinomu, a to především u infertilních pacientek, jejichž terapie nebyla úspěšná [9,10]. Hardiman zdůrazňuje jako etiologický faktor ovariálního karcinomu potenciační vliv mužského faktoru neplodnosti spojeného s chlamydiovou infekcí partnera. Tímto autorem je diskutována také koincidence infekce bakterií *Mycoplasma hominis*, původce sexuální přenosného onemocnění, s rizikem vzniku ovariálního karcinomu. Na základě studie Hardimana nelze přesně definovat vliv infertilitu nebo její terapie na vznik ovariálního karcinomu [26]. Další autoři uvádějí výskyt zhoubného tumoru u infertilních pacientek v souvislosti s endometriózou. Jedná se především o vztah endometriózy a endometroidního karcinomu, nádoru z jasných buněk a smíšeného ovariálního adenokarcinomu. Vercellini poukazuje na možnost maligní transformace epitelu v souvislosti s atypickou hyperplazií ektopicky lokalizovaného endometria [59].

Indukce ovulace v terapii infertility a karcinom ovaria

V roce 1992 Whittemore a Collaborative Ovarian Cancer Group (COCG) publikovali výsledky metaanalýzy 12 klinických studií ovariálního karcinomu provedených v letech 1956–1986 ve Spojených státech amerických. Na podkladě těchto výsledků uvedli do souvislosti užívání léků k léčbě infertility a riziko vzniku ovariálního karcinomu. Jmenovaná studie vyvolala v následujících letech celou řadu polemik a její oponenti vyčítali autorovi především řadu metodických chyb. Uváděná spojitost mezi užíváním léků k léčbě infertility a rizikem vzniku ovariálního karcinomu je sice v citované metaanalýze značná, ale jednoznačně ji nelze považovat za prokázanou. Studie tohoto typu je spíše základem pro vytyčení určité hypotézy, než definitivním průkazem vztahu léků užívaných k indukci ovulace a rizikem vzniku ovariálního karcinomu [81,82].

Za metodologicky optimálně provedenou studií lze považovat práci Rossinga z roku

1994. V této studii autor dokládá signifikantní korelaci mezi aplikací klomifencitrátu a karcinomem ovaria. Tato korelace se však prokázala pouze u těch žen, které užívaly klomifencitrát déle než 12 měsíců a jejichž terapie nebyla úspěšná. Jednalo se tedy o pacientky, které v programu asistované reprodukce neotěhotněly [52]. Další autoři prokazují vyšší výskyt karcinomu ovaria u žen léčených pro poruchy plodnosti pomocí lidského menopauzálního gonadotropinu (human menopausal gonadotropin – hMG). Metodickou správnost těchto studií však sami autoři zpochybňují, jelikož uvádějí, že se pravděpodobně jednalo o ženy neúspěšně léčené právě klomifencitrátem [54].

Za mimořádně ohroženou skupinu pacientek lze považovat ženy se syndromem polycystických ovarii. Tyto pacientky absolvují zpravidla při léčbě neplodnosti nejdříve 3–6 terapeutických cyklů s klomifencitrátem. Při neúspěchu léčby a pokračování neplodnosti je pak v této skupině terapie antiestrogeny kombinována s kortikoidy či léky snižujícími hladinu prolaktinu. Přibližně 50 % pacientek z této skupiny i nadále netěhotní a podstupují následnou terapii pomocí gonadotropních hormonů. Pacientky tak absolvují v průměru 18–24 měsíců neúspěšné terapie neplodnosti, než jsou zařazeny do programu in vitro fertilizace [55].

Whittemore a řada dalších autorů zabývajících se problematikou souvislosti infertility a její terapie s ovarialním karcinomem upozorňují na potřebu dalších studií. Pozornost je třeba zaměřit na typ použité stimulace, terapeutickou dávku antiestrogenů a gonadotropních hormonů, délku jejich aplikace a dataci jejich podání vzhledem k věku pacientky. V neposlední řadě je třeba vzít v potaz i klinický výsledek léčebného cyklu IVF. Autoři zdůrazňují potřebu analýz velkých souborů v prospektivních studiích a vhodnost dlouhodobého sledování rizikové populace pacientek po léčbě metodami IVF.

Na základě této studie se vyjádřila k riziku ovarialního karcinomu ve spojitosti s použitím léků k terapii neplodnosti expertní skupina IFFS (International Federation of Fertility Societies) a konstatovala, že vliv infertility a její terapie na riziko vzniku karcinomu ovaria je méně jasný [12], že je třeba připustit relativně vyšší riziko vzniku ovarialního karcinomu u infertilních pacientek, ale současně je obtížné na základě Whittemorovy studie definovat kauzální faktory. Pracovní skupina IFFS proto doporučuje rozšířit soubor a pokračovat v nových studiích. Jelikož randomizované prospektivní studie jsou prakticky neproveditelné, je možno se spo-

jit pouze s historickými prospektivními studiemi.

Novější práce světových autorů přinášejí aktuální poznatky, ale i další rozpory do této složité a eticky citlivé problematiky.

Brinton se spolupracovníky poukazuje na fakt, že u infertilních pacientek je signifikantně zvýšeno riziko ovarialního karcinomu oproti běžné populaci. Přesto ve své práci neprokazuje souvislost mezi užitím léků podporujících ovulaci a vznikem ovarialního nádoru [7].

Doyle, který podrobuje analýze incidenci zhoubného nádoru prsu, těla děložního a ovaria rozbořením dat Národního onkologického registru Velké Británie, nenachází signifikantní rozdíly u žen, které podstoupily stimulaci ovulace a u žen bez léčby neplodnosti [22]. Podobně Dor neprokazuje ve své studii z roku 2002 zvýšené riziko ovarialního karcinomu u pacientek po IVF [21].

Pouze v subpopulaci infertilních úspěšně léčených pacientek byla nalezeno nižší riziko vzniku ovarialního karcinomu proti subpopulaci infertilních pacientek, které léčbu neabsolvovaly [34]. Aplikace léků k terapii neplodnosti u nuligravidních žen byla asociována s výskytem serózních tumorů ovaria hraniční malignity (OR = 2,43, 95% CI: 1,01, 5,88), ale nikoliv s histologicky invazivními subtypy. Data poukazují na možnou roli specifických biologických faktorů souvisejících s neplodností, ale nikoliv na vztah mezi užitím fertilitních preparátů a ovarialním karcinomem [49].

Přestože závěry Rossingovy studie podporují hypotézu vyššího rizika vzniku ovarialního karcinomu u neúspěšně léčených infertilních pacientek, nedaří se prokázat kauzální vztah těchto faktorů [53]. Většina publikovaných studií poukazuje, že riziko invazivního ovarialního karcinomu se u infertilních pacientek nezvyšuje, ale je patrný vzestup rizika ovarialních tumorů s hraniční (borderline) malignitou [80].

Databázové systémy AR a jejich validita

Databáze klinického registru CAR 01

Tato databáze léčebných cyklů centra asistované reprodukce CAR 01 reprezentuje téměř 25 let léčby neplodnosti na Gynekologicko-porodnické klinice LF MU a FN Brno. Tato databáze představuje reprezentativní soubor medicínsky vysoce validních dat o AR v elektronické podobě.

Databáze Národního registru AR (NRAR)

Databáze je přístupná v elektronické podobě v dostatečném objemu, formě i struktuře dat. Zahnuje ovšem kompletní data pouze z let 1995–1999 včetně. Časový interval předchází léčby technikami in vitro fertilizace je tedy maximálně 10 let, a pro analýzy vlivu terapie infertility na riziko vzniku ovarialního karcinomu není tedy tento interval dostatečně dlouhý.

Databáze EIM ESHRE – Evropského registru asistované reprodukce

Zahnuje pouze sumární údaje o počtu cyklů a počtu center AR v jednotlivých zemích Evropy. Dále shromažďuje údaje o efektivitě léčebných technik IVF, ale neobsahuje údaje sloužící ke konkrétní identifikaci pacienta. Tato databáze je proto pro analýzy vztahu terapie neplodnosti technikami IVF prakticky nevyužitelná.

Národní onkologický registr (NOR) České republiky

Registr představuje z pohledu diskutované problematiky vysoce validní databázi medicínských dat v optimální formě a rozsahu a tato data lze ve spolupráci s Úsekem regionální správy NOR na Masarykově onkologickém ústavu analyzovat.

Zhodnocení stavu

Řada provedených klinických studií dosud nedokázala odpovědět na kauzální otázky. Příčinou je jednak malý rozsah sledovaných dat, nedostatečný follow-up-process a nejednotnost v klasifikaci, specifikaci a dávkování léků k indukci ovulace. Tyto práce však určily směr a další orientaci výzkumu v této složité oblasti. Zájem je třeba koncentrovat v prospektivních studiích s dlouhodobým sledováním především na neúspěšně léčené infertilní pacientky [8].

Řešeno za podpory grantu IGA MZ ČR 7696-3.

Literatura

1. Aboulghar MA, Mansour RT. Ovarian hyperstimulation syndrome: classification and critical analysis of preventive measures. Hum Reprod Update 2003; 9: 275–289.
2. Aleksander I, Morton H. An introduction to Neural Computing. London: Chapman Hall 1993.
3. Balasch J, Barri NP. Follicular stimulation and ovarian cancer? Hum Reprod 1993; 8: 990–996.
4. Beerendank CC, Van Dop PA, Braat DD, Mercus JM. Ovarian hyperstimulation syndrome: facts and fallacies. Obstet Gynecol Surv 1998; 53: 439–449.
5. BertoneJohnson ER. Epidemiology of ovarian cancer: a status report. Lancet 2005; 365 [8]: 101–102.
6. Brinsden PR, Rainsbury PA. A textbook of in vitro fertilisation and assisted reproduction. Lancaster: The Parthenon Publishing Group 1992: 451.

Zhoubné novotvary ovaria v populaci infertilních pacientek České republiky: 1. část

7. Brinton LA, Lamb EJ, Moghissi KS et al. Ovarian cancer risk after the use of ovulation-stimulating drugs. 2004; 103(6): 1194-1203.
8. Brinton LA, Moghissi KS, Scoccia B et al. Ovulation induction and cancer risk. 2005; 83(2): 261-74, 525-526.
9. Bristow RE, Beth ZK. Ovulation induction, infertility and ovarian cancer risk. *Fertil Steril* 1996; 66: 499-507.
10. Bristow RE, Karlan BY. The risk of ovarian cancer after treatment of infertility. *Curr Opin Obstet Gynecol* 1996; 8: 32-37.
11. Burcin B, Caihamlová E, Kučera T et al. Demografické souvislosti asistované reprodukce v České republice a na Slovensku. *Prakt Gyn* 2005; 5: 11-12.
12. Cohen J, Forman R, Harlap S et al. IFFS expert group report on the Whittemore study related to the risk of ovarian cancer associated with use of fertility agents. *Hum Reprod* 1993; 8(7): 996-999.
13. Collaborative Report on In Vitro Fertilization. Preliminary Data for 1995. *J Assist Reprod Genet* 1995; 12: 251S-265S.
14. Črha I, Ventruba P. GnRH Analogs in the Treatment of IVF Patients with Endometriosis - Anticardiolipin and Antithrombin Profiles. In: *Abstrakt book of IXth World Congress on In Vitro Fertilisation and Assisted Reproduction*. Bologna: Monduzzi Editore S.p.A: 677-681.
15. Cramer DW, Welch WR. Determinants of ovarian cancer risk. Inferences regarding pathogenesis. *J Natl Cancer Inst* 1983; 71: 717-721.
16. Cramer DW, Liberman RF, Hornstein MD. Basal hormone levels in women who use acetaminofen pro menstrual pain. *Fertil Steril* 1998; 70: 731-733.
17. Delvigne A, Rozenberg S. Preventive attitude of physicians to avoid OHSS in IVF patients. *Hum Reprod* 1993; 16: 2491-2495.
18. Delvigne A, Dubois M, Batheux B et al. The ovarian hyperstimulation syndrome in in-vitro fertilization: a Belgian multicentric study. II. Multiple discriminant analysis for risk prediction. *Hum Reprod* 2001; 18: 1361-1366.
19. Delvigne A, Vandromme J, Barlow P et al. Are there predictive criteria of complicated ovarian hyperstimulation in IVF? *Hum Reprod* 1991; 6: 959-962.
20. De Mouzon J, Bachelot A, Spira A. Establishing a national in vitro fertilisation registry: methodological problems and analysis of success rates. *Statistics in medicine* 1993; 12: 39-50.
21. Dor J, Lerner-Geva L, Rabinovici J et al. Cancer incidence in a cohort of infertile women who underwent in vitro fertilization. 2002; 77(2): 324-327.
22. Doyle P, Maconochie N, Beral V et al. Cancer incidence following treatment for infertility at a clinic in the UK. 2002; 17(8): 2209-2213.
23. Elchalal U, Schenker JG. The pathophysiology of ovarian hyperstimulation syndrome - views and ideas. *Hum Reprod* 1997; 12: 1129-1137.
24. Folsom AR, Sellers TA, Kaye SA et al. Infertility linked to breast cancer. *BMJ* 1993; 17(306): 1065.
25. Güverin HA, Demiroz G, Ilter N. Learning Differential Diagnosis of Erythematous Squamous Diseases Using Voting Feature Intervals. *Artificial Intelligence in Medicina* 1998.
26. Hardiman P, Nieto JJ, McLaren BA. Infertility and ovarian cancer. *Gynecol Oncol* 2000; 76: 1-2.
27. Hudeček R. Závěrečná zpráva Grantu IGA MZ ČR 4696-3/2001: Analýza faktorů ovlivňujících výsledky asistované reprodukce pomocí systému pro dolování znalostí z dat SHLUK a neuronové sítě NEUL 3.
28. Hudeček R, Ventruba P, Šarmanová J. Data mining in assisted reproduction using methods for data analysis SHLUK and artificial neural network NEUL 3. *Asist. Reprod* 2000; 1: 10-11.
29. Hudeček R, Ventruba P, Črha I et al. Analysis of Factors with Influence on Assisted Reproduction Outcome using System for Data Mining SHLUK. *Ces Gynecol* 2001; 66: 270-276.
30. Hudeček R, Huser M, Ventruba P, Šarmanová J. Risk factors of ovarian hyperstimulation syndrome development in assisted reproduction. *Prakt Gyn* 2004; 4: 6-12.
31. Hudeček R, Ventruba P, Petrenko M. Počítačový software v gynekologii a porodnictví. *Prakt Gynecol* 1998; 1: 66-69.
32. International Working Group for Registers on Assisted Reproduction: World Collaborative Report on In Vitro Fertilization. Preliminary Data for 1996. *J Assist Reprod Genet* 1997; 14: 251S-265S.
33. International Federation of Fertility Societies International Conference. IFFS Surveillance 98. *Fertil Steril* 1999; 71(5 Suppl 2): 1S-34S.
34. Kashyap S, Moher D, Fung MF, Rosenwaks Z. Assisted reproductive technology and the incidence of ovarian cancer: a meta-analysis. 2004; 103(4): 78S-794.
35. Kaufman L, Rousseeuw PJ. Finding Groups in Data: an Introduction to Cluster Analysis. John Wiley & Sons 1990.
36. Kaufmann SJ, Eastaugh JL, Snowden S et al. The application of neural networks in predicting the outcome of in vitro fertilisation. *Human reproduction* 1997; 12(7): 1454-1457.
37. Kempers RD, Cohen J, Haney AF, Yonga JB. Fertility and reproductive medicine. Amsterdam: Excerpta medica 1998.
38. Kohonen T. Self-Organizing Maps. Berlin: Springer Verlag 1995.
39. Lukášová A, Šarmanová J. Metody shlukové analýzy. Praha: SNTL 1985.
40. Mardešić T. Hyperstimulační syndrom - klasifikace, patofyziologie, prevence a léčba. *Cs Gynecol* 1993; 58: 23-27.
41. Matřík V, Štěpánková O, Lažanský J. Umělá inteligence 1. Praha: Academia 1993.
42. Matřík V, Štěpánková O, Lažanský J. Umělá inteligence 2. Praha: Academia 1993.
43. Matzuk MM, Finegold MJ, Su JG. Alpha inhibin is a tumor-suppressor gene with gonadal specificity in mice. *Nature* 1992; 360: 313-319.
44. Michalski R, Kaufmann K. Data Mining and Knowledge Discovery: A Review of Issues and a Multistrategy Approach. In: *Machine Learning and Data Mining: Methods and Applications*. John Wiley & Sons Ltd 1997.
45. Navot D, Bergh PA, Laufner N. Ovarian hyperstimulation syndrome in novel reproductive technologies: prevention and treatment. *Fertil Steril* 1993; 58: 249-261.
46. Navot D, Relou A, Birkenfeld A. Risk factors and prognostic variables in the ovarian hyperstimulation syndrome. *Am J Obstet Gynecol* 1988; 159: 210-215.
47. Novák M, Kufudaki O. Umělá neuronová síť - teorie a aplikace. Praha: C.H. Beck 1998.
48. Novák M, Faber J, Kufudaki O. Neuronové síť a informační systémy živých organismů. Praha: Grada 1993.
49. Ness RB, Cramer DW, Goodman MT et al. Infertility, fertility drugs, and ovarian cancer: a pooled analysis of case-control studies. 2002; 155(3): 217-224.
50. Pettersson F, Folkou S, Einhorn N. Cohort study of the long-term effect of irradiation for carcinoma of the cervix. *Acta Radiol Oncol* 1985; 24: 145-151.
51. Robová H, Rob L, Pluta M, Kačírek J. Zhoubné nádory ovaria. *Moderní gynekologie* 2000; 9(4): 679-693.
52. Rossing MA, Dalling JR, Weis NS. Ovarian tumors in a cohort of infertile women. *N Engl J Med* 1994; 331: 771-776.
53. Rossing MA, Tang MT, Flagg EW et al. A case-control study of ovarian cancer in relation to infertility and the use of ovulation-inducing drugs. 2004; 160(11): 1070-1078.
54. Shusman A, Paltiel O, Iscovitch J. Human menopausal gonadotropin and the risk of epithelial ovarian cancer. *Fertil Steril* 1996; 65: 13-18.
55. Schildkraut JM, Schwingl PJ, Bastos E. Epithelial ovarian cancer risk among women with polycystic ovary syndrome. *Obstet Gynecol* 1996; 88: 554-559.
56. Šarmanová J. Systém pro automatizované získávání znalostí. In: *Sb. Mezinárodní vědecká konference VŠB '95, sekce Informatika*. Ostrava 1995: 463.
57. Šarmanová J. Systém generování hypotéz nad mnohozbořnými daty. [Habilitation práce] Ostrava.
58. Šarmanová J. Dolování znalostí z lékařských dat. *Medsoft* 1999; 1: 39-41.
59. Vercellini P, Parazzini F, Bolis G. Endometriosis and ovarian cancer. *Am J Obstet Gynecol* 1993; 169: 181-182.
60. Ventruba P, Višňová H, Hudeček R. Where is the aim of ART in Czech Republic? National register of ART 1993-1996. *Prakt Gyn* 1997; 5: 20-26.
61. Ventruba P, Mardešić T, Pilka L et al. Register of Assisted Reproduction: Results and analysis of complications. *Ces Gynecol* 1998; 63: 39-41.
62. Ventruba P, Višňová H, Hudeček R, Lokajová J. 10 years of National Register of assisted reproduction in Czech Republic. *Asist Reprod* 2000; 10: 5-6.
63. Ventruba P, Višňová H, Hudeček R. Where is the aim of ART in Czech Republic? National register of ART 1993-1996. *Prakt Gyn* 1997; 5: 20-26.
64. Ventruba P, Mardešić T, Pilka L et al. Register of Assisted Reproduction: Results and analysis of complications. *Ces Gynecol* 1998; 63: 39-41.
65. Ventruba P, Višňová H, Hudeček R, Lokajová J. 10 years of National Register of assisted reproduction in Czech Republic. *Asist Reprod* 2000; 10: 5-6.
66. Ventruba P, Višňová H, Hudeček R. Kam směřuje vývoj asistované reprodukce v České republice? Národní registr ART 1993-1996. *Prakt Gyn* 1997; 1(15): 20.
67. Ventruba P, Mardešić T, Pilka L. Registr asistované reprodukce: výsledky a analýza komplikací. *Ces Gynecol* 1998; 63: 39-41.
68. Ventruba P, Višňová H, Hudeček R, Lokajová J. 10 let národního registru asistované reprodukce v ČR. *Asistovaná reprodukce* 2000; 10(1): 5-6.
69. Ventruba P. Klinické metody asistované reprodukce. *Doktorská disertační práce*. 3. LF UK Praha 1992: 324.
70. Ventruba P, Veselý J, Rejdová I et al. Early Diagnosis and Outcome Prediction of Pregnancy Following In Vitro Fertilisation. *Scripta medica Fac med Brun* 1992; 65: 323-332.
71. Ventruba P. Závěrečná zpráva Grantu IGA MZ ČR 0388-2/1991: Klinická realizace nových metod asistované reprodukce.
72. Ventruba P. Závěrečná zpráva Grantu IGA MZ ČR 1770-2/1993: Asistovaná reprodukce II. Realizace metod v oblasti imunol., mikrobiol., kryokonzervace.
73. Ventruba P. Závěrečná zpráva Grantu IGA MZ ČR 1820-2/1994: Optimalizace in vitro fertilizace kokultivací embrií s lidskými tubárními epitelii.
74. Ventruba P. Závěrečná zpráva Grantu IGA MZ ČR 1821-2/1994: Asistovaná reprodukce - mikromanipulace v oblasti zona pellucida zvyšující úspěšnost oplodnění.
75. Ventruba P. Závěrečná zpráva Grantu IGA MZ ČR 2703-2/1995: Vztah mezi buňkami kumulus oophorus a časným embryem při kultivaci in vitro.

76. Ventruba P. Závěrečná zpráva Grantu IGA MZ ČR 2705-2/1995: Lokální imunologické faktory ovlivňující tvorbu adhezí.
77. Ventruba P, Višňová H, Hudeček R. Kam směřuje vývoj asistované reprodukce v České republice? Národní registr ART 1993–1996. *Prakt Gyn* 1997; 1(5): 20.
78. Ventruba P, Višňová H, Hudeček R. Asistované reprodukce v Evropě v roce 1999. Parametry kvality a výsledky registru ESHRE. *Reprod Medic* 2002; 1: 10.
79. Ventruba P, Veselý J, Unzeitig V et al. Klinické využití osobního počítače v léčbě neplodnosti. *Čes gynekol* 1991; 1: 194.
80. Venn A, Healy D, McLachlan R. Cancer risks associated with the diagnosis of infertility. 2003; 17(2): 343–367.
81. Whittemore SA. Fertility drugs and risk of ovarian cancer. *Hum Reprod* 1993; 8(7): 999–1000.
82. Whittemore SA. The Collaborative Ovaria Cancer Group: Characteristics relating to ovaria cancer risk: collaborative analysis of 12 US case-control studies. II Invasive epithelial ovaria cancer in white women. *Am J Epidemiol* 1992; 136: 1184–1203.
83. Zytkow JM, Rauch J. Principles of Data Mining and Knowledge Discovery, September 1999. Third European Conference, PKDD '99, Prague, Czech Republic.

as. MUDr. Robert Hudeček¹
prof. MUDr. Pavel Ventruba, DrSc.¹
MUDr. Martin Huser¹
MUDr. Eva Račanská¹
MUDr. Radka Vavrušová¹
MUDr. J. Šarmanová²
doc. MUDr. Jan Novák³
A. Koukalová³

¹Gynekologicko-porodnická klinika
LF MU a FN Brno

²Fakulta elektrotechniky a informatiky,
VSB, Ostrava

³Národní onkologický registr, MOÚ Brno

Zhoubné novotvary ovaria v populaci infertilních pacientek České republiky: 2. část

R. Hudeček, P. Ventruha, M. Huser, E. Račanská,
R. Vavrušová, J. Šarmanová, J. Novák, H. Koukalová

Souhrn: Cíl práce: Definice incidence ovariálního karcinomu ve sledovaném souboru dysfertilních pacientek, které byly léčeny metodami in vitro fertilizace (IVF). **Materiál:** Zdrojovou databázi představuje soubor dat z 12 527 léčebných cyklů asistované reprodukce provedených u 4 360 pacientek v letech 1982–2004 v Centru asistované reprodukce (CAR) 01. **Metodika:** Klinická databáze byla porovnána s databází Národního onkologického registru České republiky (NOR ČR) a byl definován počet hlášení karcinomu ovaria ve sledovaném souboru. Výsledky byly srovnány s hlášením případů onemocnění karcinomem ovaria v kontrolním souboru databáze NOR ČR. Statistická signifikance rozdílů ve výskytu malignit ve sledovaném souboru a v kontrolním souboru byla vyhodnocena pomocí testovací statistiky χ^2 (p-value). **Výsledky:** Incidence ovariálního karcinomu ve sledovaném souboru je šestkrát vyšší v porovnání s incidencí ovariálního karcinomu u kontrolního souboru (p-value = 0,0001). Statistické vyhodnocení incidence ovariálního karcinomu v porovnání s incidencí ostatních malignit ve sledovaném souboru a kontrolním souboru populace v ČR definuje statisticky signifikantní rozdíl v incidenci ovariálního karcinomu ve sledovaném souboru proti kontrolnímu souboru při p-value = 0,004, Odds ratio = 3,454, při 95% intervalu spolehlivosti [1,625–6,715]. **Závěr:** Analýzy potvrzují vyšší incidenci ovariálního karcinomu ve sledovaném souboru oproti kontrolní skupině. Problematika rizika vzniku ovariálního karcinomu jako potenciálního důsledku léčby poruch plodnosti technikami IVF, nabývá na zásadním klinickém i společenském významu. Těto problematice je třeba věnovat pozornost a uplatňovat efektivní metody analýz k další specifikaci kauzálních vztahů a rizikových faktorů.

Klíčová slova: neplodnost – asistovaná reprodukce – ovariální nádory

Summary: Malignant ovarian neoplasms in infertile females in Czech Republic: part II. **Objective:** Definition of ovarian carcinoma occurrence in the examined group of infertile women after treatment by in vitro fertilization (IVF). **Material:** Collection of data containing 12,527 cycles of assisted reproduction in 4,360 females treated during 1982–2004 in the Centre of Assisted Reproduction (CAR) 01 was applied, creating the source database of the study. **Methodics:** Clinical database was compared with database of the National Oncology Register of Czech Republic (NOR CZ) and number of ovarian carcinoma in the suspense file was found out. The results were compared with the reported ovarian carcinoma in the control database of NOR CZ. Statistical significance of the difference between the occurrence of malignant neoplasms in the suspense file and controls was evaluated by test statistics χ^2 (p-value). **Results:** Occurrence of ovarian carcinoma in the suspense file is six times higher than occurrence of ovarian carcinoma in controls (p-value = 0,0001). Statistical evaluation of the occurrence of ovarian carcinoma compared to occurrence of other malignant neoplasms in the suspense file and controls in the Czech population defines a statistically significant difference in the occurrence of ovarian carcinoma in the suspense file in contrast to controls by p-value = 0,004, Odds ratio = 3,454, by 95% reliability interval [1,625–6,715]. **Conclusion:** The analysis confirms higher occurrence of ovarian carcinoma in the examined group in contrast to controls. The problem of ovarian carcinoma risk as a potential effect of infertility treatment by IVF is becoming more and more clinically and socially important. This problem has to be taken into account and effective analysis methods specifying causal relations and risk factors shall be done.

Key words: infertility – assisted reproduction – ovarian carcinoma

Monitorované atributy léčebného cyklu asistované reprodukce

Komplexní a důkladná analýza vztahu terapie neplodnosti metodami in vitro fertilizace (IVF) a výskytu ovariálního karcinomu je nepochybně velmi obtížná. Příčinu tohoto stavu lze hledat v obrovském množství proměnlivých atributů, které charakterizují jednotlivé etapy léčebného cyklu mimotělního oplodnění a multifaktoriální etiologii vzniku ovariálních nádorů. V souboru, který jsme podrobili analýzám pomocí data mining, je průběh terapeutického cyklu IVF charakterizován více než 130 proměnlivými faktory s definovatelným, nebo předpokládaným vlivem na výsledek léčby neplodnosti. Testovat vlivy těchto faktorů a jejich nejrůznějších kombinací standardními statistickými metodami nebo prostřednictvím prospektivních klinických studií je velmi obtížné a časově vysoce náročné [29].

Dysfertilita a incidence ovariálního karcinomu

Rada prací ve světové literatuře poukazuje na souvislost mezi užíváním fertilitních léků a rizikem vzniku ovariálního karcinomu. Whittemore a COCG v roce 1992 v pilotní metaanalýze 12 klinických studií ovariálního karcinomu provedených v letech 1956–1986 ve Spojených státech amerických položili základ pro pracovní hypotézu [81,82]. Rossing v roce 1994 prokazuje signifikantní korelaci mezi aplikací klomifencitrátu a karcinomem ovaria [52]. Shusman v roce 1996 upozorňuje na vyšší výskyt karcinomu ovaria u žen léčených pro poruchy plodnosti pomocí lidského menopauzálního gonadotropinu (hMG) [54].

Otázkou však zůstává, jaká je skutečná incidence ovariálního karcinomu u dysfertilních pacientek léčených metodami in vitro fertilizace v našich podmínkách? Zdali je rozdíl

v incidenci ovariálního karcinomu u léčených dysfertilních pacientek a v incidenci ovariálního karcinomu v populaci České republiky statisticky signifikantní? Hledání odpovědi na tyto otázky bylo jedním z cílů řešení projektu IGA MZ ČR č. 7696-3.

Cíl práce

Cílem jedné z etap projektu IGA MZ ČR č. 7696-3 bylo definovat skutečnou incidenci ovariálního karcinomu ve sledovaném souboru dysfertilních pacientek, které byly léčeny metodami in vitro fertilizace v CAR 01. Cílem byl specifikován rozdíl mezi incidencí ovariálního karcinomu u léčených dysfertilních pacientek sledovaného souboru a incidencí ovariálního karcinomu v populaci České republiky. Statistická signifikance výskytu malignit ve sledovaném souboru byla vyhodnocena pomocí testu významnosti.

Materiál – základní charakteristika souboru dat

Od roku 1982 do současnosti jsou data o léčebných cyklech Centra asistované reprodukce (CAR 01) na Gynekologicko-porodnické klinice LF MU a FN Brno systematicky zaznamenávána do klinického registru v programovém SW-systému PC PAR [79]. Tato zdrojová databáze představuje reprezentativní soubor medicínsky vysoce validních údajů o léčebných cyklech asistované reprodukce (AR) za posledních 25 let léčby neplodnosti. Data klinického registru jsou dlouhodobě a průběžně aktualizována a jsou archivována v elektronické podobě [31].

Celá databáze studovaného souboru zahrnuje data z 14 576 léčebných cyklu AR provedených u 6 865 pacientek v letech 1982–2005. Zdrojová databáze obsahuje několik základních souborů s údaji o pacientkách a řadu číselníků, v nichž jsou zakódovány, očíslovány některé zaznamenané údaje z hlavních souborů.

Základní statistické charakteristiky dat korespondují s dynamickým rozvojem technik AR v České republice (graf 1). Výrazná akcelerace počtu léčebných cyklů a statisticky signifikantní zvýšení efektivity terapie je patrné především od roku 1996 [27]. Další výrazný vzestup úspěšnosti léčby následuje v roce 1999. Jistý podíl na tomto vzestupu souvisí se zavedením vysoce účinných purifikovaných gonadotropních preparátů do klinické praxe, a hlavně pak použití rekombinantních gonadotropních hormonů k stimulaci ovarii v léčebných cyklech AR [64].

Sledovaný soubor

Tvoří jej pacientky léčené metodami AR v Centru asistované reprodukce CAR 01. Data o léčebných cyklech jsou archivována v počítačové databázi klinického registru.

Analyzovaný soubor zahrnuje data z 12 527 léčebných cyklů asistované reprodukce provedených u 4 360 pacientek v letech 1982–2004.

Kontrolní soubor

Tvoří 469 813 žen evidovaných v databázi NOR ČR s hlášením zhoubného novotvaru (ZN) v letech 1982–2002.

Metodika

Předzpracovaný soubor dat o pacientkách z klinického registru CAR 01 byl analyzován Ústavem zdravotnických informací a statistiky ČR (ÚZIS). Klinická databáze byla prokřížením porovnána s databází NOR ČR a byl definován počet hlášení ZN, včetně výskytu karcinomu ovaria ve sledovaném souboru. Výsledky byly srovnány s hlášením ZN, včetně karcinomu ovaria v kontrolním souboru databáze NOR ČR. Statistická signifikace rozdílů ve výskytu malignit ve sledovaném souboru a v kontrolním souboru byla vyhodnocena pomocí testovací statistiky χ^2 (p-value).

Mezioborová spolupráce

Metodické řešení této citlivé problematiky si vyžádalo úzkou spolupráci řady specializovaných institucí a pracovišť. Soubor dat o pacientkách z klinického registru CAR 01, který poskytla Gynekologicko-porodnická klinika LF MU a FN Brno, bylo nutno upravit pro potřeby následných analýz. Předběžné zpracování dat sledovaného souboru zajišťovali spolupracovníci na Fakultě elektrotechniky a informatiky VŠB-TU v Ostravě.

Předběžně zpracovaný soubor dat o pacientkách z klinického registru CAR 01 byl cestou regionálního pracoviště Národního onkologického registru Masarykova onkologického ústavu (MOÚ) v Brně předán ke zpracování

Ústavu zdravotnických informací a statistiky ČR (ÚZIS). Studovaná databáze byla porovnána s databází Národního onkologického registru (NOR) ČR a ÚZIS definoval počet hlášení zhoubných novotvarů (ZN) ve sledovaném souboru. Statistické vyhodnocení výskytu malignit ve sledovaném souboru bylo provedeno opět na Fakultě elektrotechniky a informatiky, VŠB v Ostravě.

Právní stanovisko k použití údajů z databáze NOR pro vědecké účely

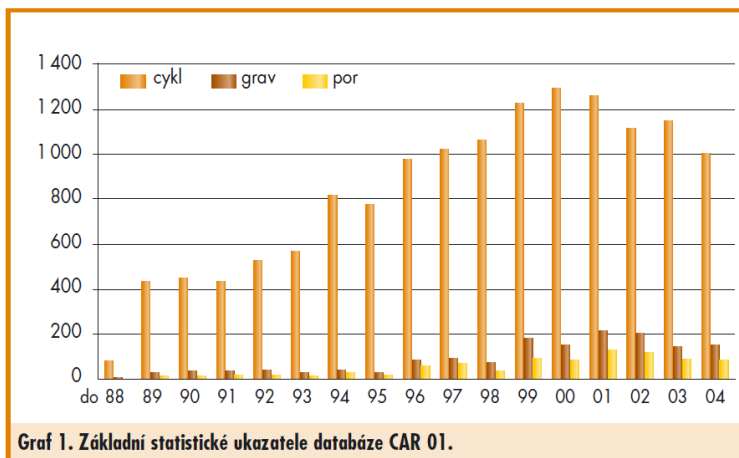
Sledovaná problematika a zapojení řady specializovaných institucí a pracovišť do řešení uvedeného projektu, vedly k nutnosti pečlivé legislativní přípravy. Výstupem analýz databáze NOR ČR nesmí být poskytnutí údaje o výskytu nádorového onemocnění u konkrétní, identifikované osoby. Porovnáním obou databází lze získat pouze souhrnné údaje (počty) o nádorovém onemocnění a jeho základních charakteristikách (lokalizace, histopatologický typ apod).

Podle § 67d odst. 9 zákona č. 20/1966 Sb. lze ze zdravotnických registrů poskytovat údaje v anonymizované podobě pro statistické a vědecké účely. Proto Gynekologicko-porodnická klinika FN Brno požadovala předání údajů shromažďovaných v NOR ČR, které se týkají sledovaných pacientek, pouze pro vědecké účely (grant IGA MZ ČR), a to v podobě souhrnné a anonymizované. Regionální pracoviště NOR (MOÚ) je oprávněno předávat FN Brno pouze anonymní údaje, tj. údaje, které nelze vztáhnout k určenému nebo určitému subjektu údajů. Nejedná se tedy o osobní údaje chráněné zákonem č. 101/2000 Sb. o ochraně osobních údajů.

Výsledky

Incidence zhoubných novotvarů ve skupině pacientek s IVF

V analyzovaném souboru pacientek léčených pro poruchy plodnosti technikami IVF byla za sledované období vyhodnocena data celkem u 4 360 žen. Celkem bylo v tomto souboru žen provedeno 12 527 terapeutických cyklů in vitro fertilizace. V průměru absolvovala každá pacientka 2,87 IVF cyklů. Ve sledovaném souboru bylo registrováno celkem 41 hlášení zhoubného novotvaru (ZN). Celkem 22 zhoubných nádorů ve sledovaném souboru bylo gynekologického původu (53,7 %). Spektrum gynekologických ZN reprezentoval ZN vulvy (1krát, 2,3 %), ZN cervixu (9krát, 22,2 %), ZN ovaria (6krát, 14,6 %) a ZN prsu (6krát, 14,6 %), tab. 1.



Graf 1. Základní statistické ukazatele databáze CAR 01.

Zhoubné novotvary ovaria v populaci infertilních pacientek České republiky: 2. část

Tab. 1. Incidence zhoubných novotvarů ve skupině pacientek léčených technikami IVF.

IVF (1982–2004)	počet	
pacientky	4 360	
IVF cyklů	12 527	2,87 cyklů na pacientku
hlášeno ZN	41	100,0 %
gynekologické ZN	22	53,7 %
z toho ZN vulvy	1	2,3 %
ZN cervixu	9	22,2 %
ZN ovaria	6	14,6 %
ZN prsu	6	14,6 %

Tab. 2. Incidence zhoubných novotvarů v kontrolní skupině pacientek bez IVF.

NOR (1982–2002)	počet	
pacientky	469 813	
IVF cyklů	0	
hlášeno ZN	527 439	100 %
ZN ovaria	22 346	4,24 %

Incidence zhoubných novotvarů ve skupině pacientek bez IVF

V kontrolním souboru pacientek NOR ČR neléčených technikami IVF byla za sledované období registrována data celkem u 469 813 žen. V tomto souboru nebyla provedena léčba neplodností technikou in vitro fertilizace. V kontrolním souboru bylo registrováno celkem 527 439 hlášení zhoubného novotvaru. Celkem 22 346 zhoubných nádorů v kontrolním souboru bylo hlášeno v NOR ČR jako ZN ovaria. Toto číslo představuje 4,24 % všech hlášených ZN (tab. 2).

Incidence zhoubných novotvarů ovaria – statistické vyhodnocení

Incidence ovariálního karcinomu u populace v ČR za sledované období je dle zdrojů NOR České republiky 22,7/100 000. Předpokládaná incidence ovariálního karcinomu ve sledovaném souboru pacientek léčených pro poruchy plodnosti technikami IVF je 1,028 dle incidence ovariálního karcinomu u populace v ČR. Skutečný výskyt ZN ovaria ve sledovaném souboru byl však 6krát vyšší. Rozdíl je statisticky významný (p -value = 0,0001), tab. 3.

Statistické vyhodnocení incidence ovariálního karcinomu v porovnání s incidencí ostatních malignit ve sledovaném souboru a kontrolním souboru populace v ČR za sledované období bylo provedeno pomocí statistického testu χ^2 . Tento test definuje statisticky významný rozdíl v incidenci ovariálního karcinomu ve sledovaném souboru proti kontrolnímu souboru při p -value = 0,004, odds ratio (OR) = 3,454, při 95% intervalu spolehlivosti [1,625–6,715], tab. 4.

zdravotnických registrů. Dále znění zákona č. 101/2000 Sb o ochraně osobních údajů.

Závěr – dysfertilita a incidence ovariálního karcinomu

Incidence ovariálního karcinomu ve sledovaném souboru 4 360 pacientek léčených pro poruchy plodnosti technikami in vitro fertilizace je 6krát vyšší v porovnání s incidencí ovariálního karcinomu u kontrolního souboru populace České republiky. Tento rozdíl je statisticky významný (p -value = 0,0001). Statistické vyhodnocení incidence ovariálního karcinomu v porovnání s incidencí ostatních malignit ve sledovaném souboru a kontrolním souboru populace v ČR definuje statisticky významný rozdíl v incidenci ovariálního karcinomu ve sledovaném souboru proti kontrolnímu souboru při p -value = 0,004, odds ratio = 3,454, při 95% intervalu spolehlivosti [1,625–6,715].

Oba statistické testy tak potvrzují vyšší incidenci ovariálního karcinomu ve sledovaném souboru oproti kontrolní skupině. Problematika rizika vzniku ovariálního karcinomu, jako potenciálního důsledku léčby poruch plodnosti technikami IVF, tak nabývá na zásadním klinickém i společenském významu. Jmenované problematice je třeba věnovat i nadále pozornost a uplatňovat efektivní metody analýz k další specifikaci kauzálních vztahů a rizikových faktorů.

Závěry projektu IGA MZ ČR č. 7696-3

V rámci projektu IGA MZ ČR č. 7696-3 byly cíleně aplikovány metody dolování znalostí z databázi v oblasti asistované reprodukce. Na základě těchto analýz byly definovány hypotézy o vztazích mezi rizikovými faktory vzniku ovariálního karcinomu v souvis-

Diskuse

Metodické řešení problematiky dysfertility a ovariálního karcinomu si vyžádalo úzkou spolupráci řady specializovaných institucí a pracovišť. Tato spolupráce se stala bazální podmínkou k získání validních výsledků. Vzájemná kooperace CAR 01 Gynekologicko-porodnické klinika LF MU a FN Brno, Fakulty elektrotechniky a informatiky VŠB-TU Ostrava, regionálního pracoviště Národního onkologického registru MOÚ Brno s Ústavem zdravotnických informací a statistiky ČR a Národním onkologickým registrem ČR představuje, dle našich zkušeností, nejefektivnější přístup k řešení problematiky vztahu léčby neplodností a vzniku ovariálního karcinomu v České republice. Koordinace pracovního postupu mezi jmenovanými institucemi je organizačně i časově náročná, ale je technicky možná a vysoce efektivní.

Sledovaná problematika představuje eticky velmi citlivé téma. Vzhledem k tomu, že do řešení uvedeného projektu se zapojila řada specializovaných institucí a pracovišť, je bezpodmínečně nutná pečlivá legislativní příprava celého projektu na všech úrovních. Je třeba vzít v úvahu a respektovat znění zákona č. 20/1966 Sb o poskytování informací ze

Tab. 3. Incidence zhoubných novotvarů ovaria.

	IVF (1982–2004)	NOR (1982–2002)
pacientky	4 360	469 813
IVF cyklů	12 527	0
hlášeno ZN	41	527 439
ZN ovaria – předpoklad	1,0028	23/100 000
ZN ovaria – hlášeno	6	22 346
p -value	0,0001	

Tab. 4. Incidence zhoubných novotvarů ovaria – χ^2 -test.

pacientky s ZN	ZN ovaria	bez ZN ovaria	celkem
pacientky s IVF	6	35	41
pacientky bez IVF	22 346	505 093	527 439
celkem	22 352	505 128	527 480
p -value	0,004		
OR	3,454		
CI	95 %		

OR= odds ratio; CI = interval spolehlivosti [1,625–6,715]; p -value = 0,004 corrected by Yates.

losti s léčbou neplodnosti technikami in vitro fertilizace. Tyto metody byly doplněny o komparační analýzu dat Národního onkologického registru a databáze klinického registru AR.

Doporučení pro klinickou praxi center asistované reprodukce

Doporučení pro klinickou praxi vzhledem k sledované problematice lze formulovat do následujících tezí:

- Preventivní opatření v rámci léčebného cyklu IVF:
 - včasné zařazení dysfertilní pacientky do programu IVF
 - léčebné protokoly s minimální stimulací folikulogeneze
 - použití kvalitních r-FSH v nízkých dávkách
 - minimalizace počtu cyklů s antiestrogeny
 - individuální monitorování cyklu
 - prevence OHSS s přihlédnutím na předchozí terapii
 - flexibilní stimulační protokol s přihlédnutím na riziko vzniku OHSS
 - zvyšování efektivity IVF kvalitní laboratorní embryologickou fází cyklu
- Dlouhodobá dispenzarizace pacientek je málo efektivní.

- Anamnéza gynekologického vyšetření zaměřená na absolvování IVF-cyklu.

Doporučení pro užití metod pro data mining

Na základě porovnání výsledků počítačové analýzy s klinickými zkušenostmi v oblasti in vitro fertilizace a v korelaci se znalostmi z literárních zdrojů a se závěry předešlých grantových úkolů IGA MZ ČR [27,71,72, 73,74,75,76] řešených na Gynekologicko-porodnické klinice LF MU a FN Brno byla prověřena použitelnost systému pro získávání znalostí z databáze v oblasti lékařských dat a v lékařské praxi.

- Informační systémy pro evidenci léčebných cyklů asistované reprodukce jsou bazálním předpokladem pro kolekci dostatečně reprezentativní klinické databáze. Jako vhodná se jeví možnost rozšiřovat seznam evidovaných atributů léčebného cyklu AR podle potřeby lékařů specialistů bez přímé asistence programátora.
- Provedená problémová analýza léčebného cyklu AR informatikem je základním předpokladem pro správnou definici vývojových fází IVF-cyklu a charakterizaci potenciálních příčin a následků jednotlivých fází cyklu IVF. Vyžaduje úzkou spolupráci mezi specialisty s dostatečnými zkuše-

nostmi s exploračními mnohorozměrnými analýzami dat a klinickými experty na techniky asistované reprodukce [44,83].

- Systémem pro dolování znalostí z databáze SHLUK lze vysoce efektivně formulovat hypotézy o vztazích mezi výskytem ovariálního karcinomu a terapií dysfertilních žen metodami in vitro fertilizace.

Perspektivy získávání dat z databází v asistované reprodukci

Perspektiva řešení problematiky dlouhodobých komplikací terapie neplodnosti technikami IVF se jeví ve využití systémů pro data mining především při analýzách celonárodních databází ÚZIS MZ ČR. Jedná se především o komparační analýzy dlouhodobě evidovaných údajů. Národní onkologický registr ČR se jeví jako vhodná kontrolní, validní a plně dostupná databáze. Analyzované klinické databáze by měly být perspektivně nahrazeny celorepublikovou databází Národního registru asistované reprodukce (NRAR). Tento registr se však musí opírat o validní, dlouhodobý zisk dat z jednotlivých center AR v ČR, který bude pevně zakotven v příslušné legislativní úpravě.

Řešeno za podpory grantu IGA MZ ČR 7696-3.

Zhoubné novotvary ovaria v populaci infertilních pacientek České republiky: 2. část

Literatura

1. Aboulghar MA, Mansour RT. Ovarian hyperstimulation syndrome: classification and critical analysis of preventive measures. *Hum Reprod Update* 2003; 9: 275–289.
2. Aleksander I, Morton H. An introduction to Neural Computing. London: Chapman & Hall: 1993.
3. Balasch J, Barri NP. Follicular stimulation and ovarian cancer? *Hum Reprod* 1993; 8: 990–996.
4. Beerendonk CC, Van Dop PA, Braat DD, Mercus JM. Ovarian hyperstimulation syndrome: facts and fallacies. *Obstet Gynecol Surv* 1998; 53: 439–449.
5. Bertone-Johnson ER. Epidemiology of ovarian cancer: a status report. *Lancet* 2005; 8: 101–102.
6. Brinsden PR, Rainsbury PA. A textbook of in vitro fertilisation and assisted reproduction. New York: The Parthenon Publishing Group: 1992: 451.
7. Brinton LA, Lamb EJ, Moghissi KS et al. Ovarian cancer risk after the use of ovulation-stimulating drugs. *Obstet Gynecol* 2004; 103(6): 1194–1203.
8. Brinton LA, Moghissi KS, Scoccia B et al. Ovulation induction and cancer risk. *Fertil Steril* 2005; 83(2): 261–274.
9. Bristow RE, Beth ZK. Ovulation induction, infertility and ovarian cancer risk. *Fertil Steril* 1996; 66: 499–507.
10. Bristow RE, Karlan BY. The risk of ovarian cancer after treatment of infertility. *Curr Opin Obstet Gynecol* 1996; 8: 32–37.
11. Burcin B, Caihnamlová E, Kučera T et al. Demografické souvislosti asistované reprodukce v České republice a na Slovensku. *Prakt Gyn* 2005; 5: 11–12.
12. Cohen J, Forman R, Harlap S et al. IFFS expert group report on the Whittemore study related to the risk of ovarian cancer associated with use of fertility agents. *Hum Reprod* 1993; 8(7): 996–999.
13. De Mouzon J, Lancaster P. World collaborative report on in vitro fertilization: preliminary data for 1995. *J Assist Reprod Genet* 1997; 14: 251S–265S.
14. Črha I, Ventruba P. GnRH Analogs in the Treatment of IVF Patients with Endometriosis – Anticardiolipin and Antihistone Profiles. In: Abstract book of IXth World Congress on In Vitro Fertilisation and Assisted Reproduction. Bologna. Monduzzi Editore 1995: 677–681.
15. Cramer DW, Welch WR. Determinants of ovarian cancer risk. Inferences regarding pathogenesis. *J Natl Cancer Inst* 1983; 71: 717–721.
16. Cramer DW, Liberman RF, Hornstein MD. Basal hormone levels in women who use acetaminofen pro menstrual pain. *Fertil Steril* 1998; 70: 731–733.
17. Delvigne A, Rozenberg S. Preventive attitude of physicians to avoid OHSS in IVF patients. *Hum Reprod* 1993; 16: 2491–2495.
18. Delvigne A, Dubois M, Battheu B et al. The ovarian hyperstimulation syndrome in in-vitro fertilization: a Belgian multicentric study. II. Multiple discriminant analysis for risk prediction. *Hum Reprod* 2001; 18: 1361–1366.
19. Delvigne A, Vandromme J, Barlow P et al. Are there predictive criteria of complicated ovarian hyperstimulation in IVF? *Hum Reprod* 1991; 6: 959–962.
20. De Mouzon J, Bachelot A, Spira A. Establishing a national in vitro fertilisation registry: methodological problems and analysis of success rates. *Stat Med* 1993; 12: 39–50.
21. Dor J, Lerner-Geva I, Rabinovic J et al. Cancer incidence in a cohort of infertile women who underwent in vitro fertilization. *Fertil Steril* 2002; 77(2): 324–327.
22. Doyle P, Maconochie N, Beral V et al. Cancer incidence following treatment for infertility at a clinic in the UK. *Hum Reprod* 2002; 17(8): 2209–2213.
23. Elchahal U, Schenker JG. The pathophysiology of ovarian hyperstimulation syndrome – views and ideas. *Hum Reprod* 1997; 12: 1129–1137.
24. Folsom AR, Sellers TA, Kaye SA et al. Infertility linked to breast cancer. *BMJ* 1993; 306(17): 1065.
25. Güverin HA, Demiroz G, Ilter N. Learning Differential Diagnosis of Erythematous Squamous Diseases Using Voting Feature Intervals. *Artificial Intelligence in Medicine* 1998; 13(3): 147–165.
26. Hardiman P, Nieto JJ, MacLaren BA. Infertility and ovarian cancer. *Gynecol Oncol* 2000; 76: 1–2.
27. Hudeček R. Závěrečná zpráva Grantu IGA MZ ČR 4696-3/2001: Analýza faktorů ovlivňujících výsledky asistované reprodukce pomocí systému pro dolování znalostí z dat SHLUK a neuronové sítě NEUL 3. 2001.
28. Hudeček R, Ventruba P, Šarman Z et al. Data mining in assisted reproduction using methods for data analysis SHLUK and artificial neural network NEUL 3. *Asist Reprod* 2000; 1: 10–11.
29. Hudeček R, Ventruba P, Črha I et al. Analysis of Factors with Influence on Assisted Reproduction Outcome using System for Data Mining SHLUK. *Čes Gynek* 2001; 66: 270–276.
30. Hudeček R, Huser M, Ventruba P, Šarmanová J. Risk factors of ovarian hyperstimulation syndrome development in assisted reproduction. *Prakt Gyn* 2004; 4: 6–12.
31. Hudeček R, Ventruba P, Petrenko M. Počítačový software v gynekologii a porodnictví. *Prakt Gynekol* 1998; 1: 66–69.
32. International Working Group for Registers on Assisted Reproduction: World Collaborative Report on In Vitro Fertilization. Preliminary Data for 1996. *J Assist Reprod Genet* 1997; 14: 251S–265S.
33. International Federation of Fertility Societies International Conference. IFFS Surveillance 98. *Fertil Steril* 1999; 71(5, Suppl 2): 1S–34S.
34. Kashyap S, Moher D, Fung MF, Rosenwaks Z. Assisted reproductive technology and the incidence of ovarian cancer: a meta-analysis. *Obstet Gynecol* 2004; 103(4): 785–794.
35. Kaufman L, Rousseeuw PJ. Finding Groups in Data: an Introduction to Cluster Analysis. New York. John Wiley & Sons 1990.
36. Kaufmann SJ, Eastaugh JL, Snowden S. The application of neural networks in predicting the outcome of in vitro fertilisation. *Hum Reprod* 1997; 7: 1454–1457.
37. Kempers RD, Cohen J, Haney AF, Yonga JB. Fertility and reproductive medicine. *Excerpta medica* 1998.
38. Kohonen T. Self-Organizing Maps. Berlin: Springer 1995.
39. Lukášová A, Šarmanová J. Metody shlukové analýzy. Praha: SNTL 1985.
40. Mardesic T. Hyperstimulační syndrom – klasifikace, patofyziologie, prevence a léčba. *Čs Gynek* 1993; 58: 23–27.
41. Mařík V, Štěpánková O, Lažanský J. Umělá inteligence 1. Praha: Academia: 1993: vol. 1.
42. Mařík V, Štěpánková O, Lažanský J. Umělá inteligence 2. Praha: Academia: 1993: vol. 2.
43. Matzuk MM, Finegold MJ, Su JG. Alpha inhibin is a tumor-suppressor gene with gonadal specificity in mice. *Nature* 1992; 360: 313–319.
44. Michalski R, Kaufmann K. Data Mining and Knowledge Discovery: A Review of Issues and a Multistrategy Approach. In: Machine Learning and Data Mining: Methods and Applications. New York. John Wiley & Sons 1997.
45. Navot D, Bergh PA, Laufner N. Ovarian hyperstimulation syndrome in novel reproductive technologies: prevention and treatment. *Fertil Steril* 1993; 58: 249–261.
46. Navot D, Relou A, Birkenfeld A. Risk factors and prognostic variables in the ovarian hyperstimulation syndrome. *Am J Obstet Gynecol* 1988; 159: 210–215.
47. Novák M, Kufudaki O. Umělé neuronové sítě – teorie a aplikace. Praha: CH Beck: 1998.
48. Novák M, Faber J, Kufudaki O. Neuronové sítě a informační systémy živých organismů. Praha: Grada 1993.
49. Ness RB, Cramer DW, Goodman MT et al. Infertility, fertility drugs, and ovarian cancer: a pooled analysis of case-control studies. *Am J Epidemiol* 2002; 155(3): 217–224.
50. Pettersson F, Folkou S, Einhorn N. Cohort study of the long-term effect of irradiation for carcinoma of uterine cervix. *Acta Radiol Oncol* 1985; 24: 145–151.
51. Robová H, Rob L, Pluta M, Kačírek J. Zhoubné nádory ovaria. Moderní gynekologie a porodnictví 2000; 9(4): 679–693.
52. Rossing MA, Dalling JR, Weis NS. Ovarian tumors in a cohort of infertile women. *N Engl J Med* 1994; 331: 771–776.
53. Rossing MA, Tang MT, Flagg EW et al. A case-control study of ovarian cancer in relation to infertility and the use of ovulation-inducing drugs. *Am J Epidemiol* 2004; 160(11): 1070–1078.
54. Shusman A, Paltiel O, Iscovitch J. Human menopausal gonadotropin and the risk of epithelial ovarian cancer. *Fertil Steril* 1996; 65: 13–18.
55. Schildkraut JM, Schwingl PJ, Bastos E. Epithelial ovarian cancer risk among women with polycystic ovary syndrome. *Obstet Gynecol* 1996; 88: 554–559.
56. Šarmanová J. Systém pro automatizované získávání znalostí. In: Sb. Mezinárodní vědecká konference VŠB' 95, sekce Informatika. Ostrava: 1995: 463. 10. 4. 1995.
57. Šarmanová J. Systém generování hypotéz nad mnohorozměrnými daty. [Habilitační práce] VŠB TU Ostrava 1996.
58. Šarmanová J. Dolování znalostí z lékařských dat. *Medssoft* 1999; 1: 39–41.
59. Vercellini P, Parazzini F, Bolis G. Endometriosis and ovarian cancer. *Am J Obstet Gynecol* 1993; 169: 181–182.
60. Ventruba P, Višňová H, Hudeček R. Where is the aim of ART in Czech Republic? National register of ART 1993–1996. *Prakt Gyn* 1997; 5: 20–26.
61. Ventruba P, Mardesic T, Pilka L et al. Register of Assisted Reproduction: Results and analysis of complications. *Čes Gynek* 1998; 63: 39–41.
62. Ventruba P, Višňová H, Hudeček R, Lokajová J. 10 years of National Register of assisted reproduction in Czech Republic. *Asist Reprod* 2000; 10: 5–6.
63. Ventruba P, Višňová H, Hudeček R. Where is the aim of ART in Czech Republic? National register of ART 1993–1996. *Prakt Gyn* 1997; 5: 20–26.
64. Ventruba P, Mardesic T, Pilka L. Register of Assisted Reproduction: Results and analysis of complications. *Čes Gynek* 1998; 63: 39–41.
65. Ventruba P, Višňová H, Hudeček R, Lokajová J. 10 years of National Register of assisted reproduction in Czech Republic. *Asist Reprod* 2000; 10: 5–6.
66. Ventruba P, Višňová H, Hudeček R. Kam směřuje vývoj asistované reprodukce v České republice? Národní registr ART 1993–1996. *Prakt Gyn* 1997; 1(5): 20.
67. Ventruba P, Mardesic T, Pilka L et al. Registr asistované reprodukce: výsledky a analýza komplikací. *Čes Gynek* 1998; 63: 39–41.
68. Ventruba P, Višňová H, Hudeček R, Lokajová J. 10 let národního registru asistované reprodukce v ČR. *Asistovaná reprodukce* 2000; 10(1): 5–6.
69. Ventruba P. Klinické metody asistované reprodukce. *Doktorská disertační práce*. 3. LF UK. Praha 1992: 324.
70. Ventruba P, Veselý J, Rejdová I et al. Early Diagnosis and Outcome Prediction of Pregnancy Following In Vitro Fertilisation. *Scripta Medica Fac Med Brun* 1992; 65: 323–332.

Zhoubné novotvary ovaria v populaci infertilních pacientek České republiky: 2. část

71. Ventruba P. Závěrečná zpráva Grantu IGA MZ ČR 0388-2/1991: Klinická realizace nových metod asistované reprodukce. 1991.
72. Ventruba P. Závěrečná zpráva Grantu IGA MZ ČR 1770-2/1993: Asistovaná reprodukce II. Realizace metod v oblasti imunol., mikrobiol., kryokonzervace. 1993.
73. Ventruba P. Závěrečná zpráva Grantu IGA MZ ČR 1820-2/1994: Optimalizace in vitro fertilizace kokultivací embryí s lidskými tubárními epitelii. 1994.
74. Ventruba P. Závěrečná zpráva Grantu IGA MZ ČR 1821-2/1994: Asistovaná reprodukce – mikromanipulace v oblasti zona pellucida zvyšující úspěšnost oplodnění. 1994.
75. Ventruba P. Závěrečná zpráva Grantu IGA MZ ČR 2703-2/1995: Vztah mezi buňkami kumulus oophorus a časným embryem při kultivaci in vitro. 1995.
76. Ventruba P. Závěrečná zpráva Grantu IGA MZ ČR 2705-2/1995: Lokální imunologické faktory ovlivňující tvorbu adhezí. 1995.
77. Ventruba P, Višňová H, Hudeček R. Kam směřuje vývoj asistované reprodukce v České republice? Národní registr ART 1993–1996. *Prakt Gyn* 1997; 1(5): 20.
78. Ventruba P, Višňová H, Hudeček R. Asistované reprodukce v Evropě v roce 1999. Parametry kvality a výsledky registru ESHRE. *Reprod Medic* 2002; 1: 10.
79. Ventruba P, Veselý J, Unzeitig V et al. Klinické využití osobního počítače v léčbě neplodnosti. *Čes Gynecol* 1991; 1: 194.
80. Venn A, Healy D, McLachlan R. Cancer risks associated with the diagnosis of infertility. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2003; 17(2): 343–367.
81. Whittemore SA. Fertility drugs and risk of ovarian cancer. *Hum Reprod* 1993; 8(7): 999–1000.
82. Whittemore SA. The Collaborative Ovaria Cancer Group: Characteristics relating to ovaria cancer risk: collaborative analysis of 12 US case-control studies. II Invasive epithelial ovaria cancer in white women. *Am J Epidemiol* 1992; 136: 1184–1203.
83. Zytow JM, Rauch J. Principles of Data Mining and Knowledge Discovery. Praha: Springer 1999: 593.

as. MUDr. Robert Hudeček¹
prof. MUDr. Pavel Ventruba, DrSc.¹
MUDr. Martin Huser¹
MUDr. Eva Račanská¹
MUDr. Radka Vavrušová¹
doc. RNDr. Jana Šarmanová, CSc.²
MUDr. Jiří Novák³
MUDr. Hana Koukalová³

¹Gynekologicko-porodnická klinika

LF MU a FN Brno

²Fakulta elektrotechniky a informatiky
Vysoké školy báňské-Technické univerzity,
Ostrava

³Národní onkologický registr MOÚ, Brno

Η επίπτωση των κακοηθειών σε ασθενείς αντιμετωπιζόμενες για υπογονιμότητα με IVF

Robert Hudecek¹, Pavel Ventruba¹, Κωνσταντίνος Ν. Τσόμπος¹, Eva Racanska¹, Radka Vavrusova¹,
Jana Sarmanova², Jiri Novak³

¹Μαιευτική και Γυναικολογική Κλινική Πανεπιστημίου Masaryk, Brno, Τσεχία

²Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό Ίδρυμα Ηλεκτρολόγων Μηχανικών και Πληροφορικής, Ostrava, Τσεχία

³Τοπική Υπηρεσία Τσέχικου Αρχείου Ογκολογίας, Brno, Τσεχία

Αλληλογραφία: Robert Hudecek, Gynekologicko - porodnicka klinika,
Fakultni Nemocnice Brno, Jihlavská 20, 62500 Brno, Ceska Republika,
Τηλ.: 0042602546610, Fax: 00420532238306, E-mail: rhudecek@fnbrno.cz

Περίληψη

Η ανάλυση της δυνητικής σχέσεως μεταξύ των τεχνικών υποβοηθούμενης αναπαραγωγής και του αυξημένου κινδύνου καρκίνου ωοθήκης (ΚΩ) διερευνήθηκε από την ανάλυση των δεδομένων του κλινικού αρχείου του Τμήματός μας και του Τσέχικου Αρχείου Ογκολογίας (ΤΑΟ). Το αναλυμένο αρχείο μας, περιλαμβάνει δεδομένα από 12527 θεραπευτικούς κύκλους υποβοηθούμενης αναπαραγωγής διεκπεραιωμένους σε 4360 ασθενείς μεταξύ των ετών 1982-2004. Μετά τον καθορισμό του αριθμού των αναφερθεισών κακοηθειών από τα δεδομένα των υπό παρατήρηση ομάδων (δική μας και του ΤΑΟ), ακολούθησε περαιτέρω επεξεργασία και στατιστική ανάλυση των στοιχείων από το Τσέχικο Ινστιτούτο Πληροφοριών και Στατιστικής της Υγείας και σύγκριση των αποτελεσμάτων τους. Η στατιστική σημαντικότητα ενδεχομένου κακοήθειας αξιολογήθηκε στο επίπεδο του $p\text{-value} < 0.01$. Στο αρχείο μας των 4360 ασθενών αναφέρθηκαν 41 κακοήθειες μεταξύ των οποίων 6 ΚΩ, ήτοι 3.454 φορές 95%CI[1.625 – 6.715] υψηλότερη από την προσδοκώμενη επίπτωση σε αυτήν την επίνοση ομάδα γυναικών. Οι επίνοσες γυναίκες μάρτυρες ήταν αυτές του ΤΑΟ με 4.236% τεκμηριωμένου ποσοστού ΚΩ επί του συνόλου των κακοηθειών. Με κάθε επιφύλαξη οφείλουμε λοιπόν να διερευνήσουμε αν ο ίδιος κίνδυνος 3.454 φορές ανάπτυξης ΚΩ, ελλοχεύει και στις υγιείς γυναίκες που υποβάλλονται σε θεραπεία υπογονιμότητας και ανήκουν στο γενικό πληθυσμό ($p\text{-value}=0.004$ διορθωμένο κατά Yates).

Λέξεις κλειδιά: υπογονιμότητα, υποβοηθούμενη αναπαραγωγή, καρκίνος ωοθηκών

Εισαγωγή

Οι τεχνικές υποβοηθούμενης αναπαραγωγής (ΤΥΑ) στην Τσεχία έχουν γίνει σήμερα αναπόσπαστο μέρος μιας ολοκληρωμένης αναπαραγωγικής ιατρικής. Σύμφωνα με στοιχεία του Τσέχικου Αρχείου ΤΥΑ (Ventruba et al., 1997, 1998, 2000) και εγχώριων δημογραφικών μελετών (Burcin et

al., 2005), οι τεχνικές εξωσωματικής γονιμοποίησης (IVF) έχουν λάβει τεράστια ανάπτυξη. Το ίδιο φαινόμενο εξάλλου παρατηρείται και σε άλλες χώρες της Ευρωπαϊκής Ένωσης (IWG, 1995,1997; IFFS, 1999). Τα τελευταία 25 έτη οι μέθοδοι θεραπείας υπογονιμότητας και οι ΤΥΑ σημείωσαν τρομακτική πρόοδο και ανταποκρίνονται σε όλο και αυξανόμενο αριθμό υπογόνιμων ζευγαριών. Προγνωστικά αναφέρεται ότι η υποβοηθούμενη αναπαραγωγή είναι ένας κλάδος, ο οποίος τείνει να γίνει όλο και περισσότερο το επίκεντρο του «παιχνιδιού».

Οι σχέσεις μεταξύ του κινδύνου ανάπτυξης καρκίνου ωοθήκης (ΚΩ) και θεραπειών υπογονιμότητας είναι ακόμη ασαφείς. Η ύπαρξη υψηλότερου κινδύνου αναπτύξεως ΚΩ μετά θεραπεία IVF δεν μπορεί αξιόπιστα να αποκλειστεί. Είναι δύσκολο να οριστούν με σαφήνεια οι παράγοντες κινδύνου που προκαλούνται από μια θεραπεία IVF και να εξειδικευθεί η επίδρασή τους στην ανάπτυξη ΚΩ. Η ομάδα εμπειρογνομόνων της International Federation of Fertility & Sterility (IFFS) που είναι αρμόδια για τον κίνδυνο ΚΩ σε σχέση με τη χρήση φαρμάκων για τη θεραπεία υπογονιμότητας, συνιστά οι ασχολούμενοι με το θέμα να εστιάσουν την προσοχή τους στον τύπο διέγερσης, στη δόση των ορμονών, στη διάρκεια εφαρμογής τους και στο χρόνο της χορηγήσεως σύμφωνα με την ηλικία της ασθενούς (Cohen et al., 1993). Πρέπει επίσης να συνεκτιμάται το κλινικό αποτέλεσμα κάθε κύκλου IVF. Η συνδυαστική ανάλυση της σχέσεως μεταξύ θεραπείας υπογονιμότητας και της επιπτώσεως ΚΩ είναι χωρίς αμφιβολία πολύ δύσκολη. Η αιτία του καθορισμού της δυσκολίας αυτής έγκειται στο ότι πρέπει να διερευνηθεί ένας πολύ μεγάλος αριθμός ποικίλων υποκειμένων παραγόντων, οι οποίοι χαρακτηρίζουν κάθε ιδιαίτερο στάδιο της θεραπείας IVF και από την άλλη η πολυπαραγοντική αιτιολογία του ΚΩ. Σε αναλυμένη βάση δεδομένων κύκλων IVF χαρακτηρίστηκαν πάνω από 130 μεταβλητές ως τώρα με βεβαιωμένη επίδραση στην κλινική έκβαση θεραπείας υπογονιμότητας. Η επίδραση αυτών των μεταβλητών στην ανάπτυξη ΚΩ δεν είναι γνωστή ακόμη, μολονότι πιθανολογείται. Ο έλεγχος της επίδρασης όλων αυτών των μεταβλητών και των συνδυασμών τους με τις έγκριτες στατιστικές δοκιμασίες ή χρησιμοποιώντας κλινικές προοπτικές μελέτες θα ήταν πολύ περίπλοκος και χρονοβόρος.

Η μέθοδος λήψεως δεδομένων που χρησιμοποιεί σύγχρονους υπολογιστικούς αλγόριθμους προσφέρει μια ενδιαφέρουσα εναλλακτική λύση εύρεσης

σχέσεων μεταξύ θεραπειών υπογονιμότητας που χρησιμοποιούν τεχνικές IVF και του ηυξημένου κινδύνου ΚΩ.

Υλικό και Μέθοδοι

Ο στόχος της μελέτης είναι η αναδρομική διερευνητική υπολογιστική ανάλυση των βάσεων δεδομένων των στοιχείων των γυναικών που υποβλήθηκαν σε ΤΥΑ στο Τμήμα Μαιευτικής – Γυναικολογίας του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου του Βрно, και η συνακόλουθη σύγκρισή τους με την ανάλογη βάση δεδομένων του Τσεχικού Αρχείου Ογκολογίας (TAO). Στην ανάλυση έγινε προσπάθεια να εντοπιστούν πιθανές δυνητικές σχέσεις μεταξύ της επιπτώσεως ΚΩ και θεραπείας υπογονιμότητας με τη χρήση τεχνικών IVF.

Η βάση δεδομένων του κλινικού αρχείου του συγκεκριμένου κέντρου υποβοηθούμενης αναπαραγωγής αντιπροσωπεύει μια ιστορία 25 ετών θεραπειών υπογονιμότητας και εντός αυτού επίσης ανευρίσκεται μια εξίσου αντιπροσωπευτική συλλογή αξιόπιστης ιατρικής πληροφορίας περί την υποβοηθούμενη αναπαραγωγή σε ηλεκτρονική μορφή. Η σύγκριση του αρχείου του κέντρου μας με αυτήν του TAO προσφέρει μια λύση στο περίτεχνο αυτό πρόβλημα.

Στο αρχείο μας δηλώθηκαν 12527 διεκπεραιωμένοι κύκλοι διέγερσης IVF σε 4360 ασθενείς κατά τη διάρκεια των ετών 1982 έως 2004.

Οι τύποι πρωτοκόλλων διέγερσης που χρησιμοποιήθηκαν αφορούσαν:

Πρωτόκολλα με ζιτρινική κλομφαίνη (CC).

Πρωτόκολλα με CC + ανθρωπίνη εμμηνοπαυσιακή γοναδοτροπίνη (hMG).

Πρωτόκολλα με CC + ωοθυλάκιο διεγερτική ορμόνη (FSH).

Πρωτόκολλα με αγωνιστές:

* hMG/ FSH+γοναδοτροπino-εκλυτική ορμόνη (GnRH)-Βραχύ πρωτόκολλο / Μακρύ πρωτόκολλο (BΠ/ΜΠ)

* FSH υψηλής καθαρότητας (high purified [HP])+GnRH - BΠ/ΜΠ

* ανασυνδυασμένη FSH (rFSH)+GnRH-BΠ/ΜΠ

Πρωτόκολλα με ανταγωνιστές:

* rFSH + ganirelix

* rFSH + cetrorelix

Τα δεδομένα των θεραπευτικών κύκλων διασώζονται σε ηλεκτρονική μορφή στο αρχείο κλινικών δεδομένων PC-PAR. Τα επεξεργασμένα στοιχεία

ΕΛΛΗΝΙΚΟ ΠΕΡΙΟΔΙΚΟ ΓΥΝΑΙΚΟΛΟΓΙΑΣ & ΜΑΙΕΥΤΙΚΗΣ ΤΟΜ. 5, ΤΕΥΧ. 1, ΣΕΛ. 79-85, 2006

περιλαμβάνουν 12527 διεκπεραιωμένους κύκλους διέγερσης ΥΥΑ σε 4360 ασθενείς κατά τη διάρκεια των ετών 1982 ως 2004 στο Κέντρο Υποβοηθούμενης Αναπαραγωγής CAR 01 του Τμήματος Μαιευτικής - Γυναικολογίας του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου του Βηπο.

Τη βάση δεδομένων επεξεργάστηκε το Τσέχικο Ινστιτούτο Πληροφοριών και Στατιστικής της Υγείας. Μεταξύ άλλων αυτή διασταυρώθηκε όσον αφορά τον αριθμό των αναφερομένων ΚΩ κατά τη διάρκεια των ετών 1982 - 2002. Στο πλήρως αναλυμένο αρχείο δεδομένων των 527439 καρδιοπαθών γυναικών του ΤΑΟ εντοπίστηκαν 22346 κρούσματα ΚΩ σε ισάριθμες ασθενείς, ήτοι ποσοστό 4.236%. Με βάση το τεκμηριωμένο αυτό ποσοστό, η προσδοκώμενη επίπτωση ΚΩ στο δικό μας δείγμα των 41 γυναικών θα ήταν 1.73 - 2 ΚΩ, όμως αναφέρθηκαν 6 τέτοια κρούσματα. Τα ποσοστά αυτά συγκρίθηκαν με τη δοκιμασία Χ² και η στατιστική σημαντικότητα αξιολογήθηκε στο επίπεδο $p < 0.01$.

Αποτελέσματα

Στο υπό μελέτη αρχείο αναφέρθηκαν 41 κακοήθειες, περιλαμβανομένων 6 ΚΩ. Στην ομάδα ελέγχου της βάσεως δεδομένων (ΤΑΟ) της Τσεχίας αναφέρθηκαν κατά τη διάρκεια των ετών 1982-2002, 527.439 κακοήθειες, περιλαμβανομένων 22346 ΚΩ σε 469.813 ασθενείς άνευ υποβολής σε θεραπεία υποβοηθούμενης αναπαραγωγής.

Η προσδοκώμενη επίπτωση ωοθηκικών καρκίνων στην παρατηρούμενη ομάδα των 4360 ασθενών ήταν 1.73 περιπτώσεις, νότιμο που όπως προανα-

φέρθηκε προκύπτει από το τεκμηριωμένο ποσοστό 4.236% σύμφωνα με την επίπτωση ΚΩ μεταξύ των γενικών καρδιοπαθών γυναικών του ΤΑΟ. Αναερέθησαν 6 περιπτώσεις ΚΩ στο υπό μελέτη αρχείο μας. Αυτό δείχνει άνω των 3 φορών υψηλότερη επίπτωση ωοθηκικών κακοηθειών σε σύγκριση με το άλλο δείγμα. Με κάθε επιφύλαξη οφείλουμε λοιπόν να διερευνήσουμε αν αυτό το συμπέρασμα μπορεί να γενικευθεί και για τον ευρύ πληθυσμό. Η ηλικιακή σύνθεση των δύο δειγμάτων δεν διέφερε επειδή η αναπαραγωγική ηλικία των 4360 γυναικών μετά τα 22 έτη που έλαβε χώρα η μελέτη, περιελάμβανε και την τρίτη ηλικία όπως του άλλου δείγματος. Η διαφορά είναι στατιστικώς σημαντική ($p=0.004$ διορθωμένο κατά Yates) όπως διαπιστώθηκε με την δοκιμασία Χ² (Πίνακας 1&2).

Συζήτηση

Πλήθος εγχώριων και διεθνών ειδικών υπαινίσσονται μια δυναμική σχέση μεταξύ υπογονιμότητας και της θεραπείας της με τεχνικές IVF και του υψηλότερου κινδύνου ΚΩ.

Στην Τσεχία η επίπτωση του ΚΩ είναι ακόμη ανώτερη και το 1997 ανήλθε στις 23.1.

/100000 γυναίκες. Στη Δ. Ευρώπη η ίδια επίπτωση αρχίζει να μειώνεται παρά τη μαζική και μακροπρόθεσμη χρήση από του στόματος αντισυλληπτικών (Robon et al., 2000). Η θνητότητα είναι ακόμη υψηλή πρωταρχικώς εξ αιτίας της δύσκολης έγκαιρης διάγνωσης των ωοθηκικών όγκων, αφού άνω των 80% των ΚΩ διαγιγνώσκονται στα στάδια III ή IV. Στην ομάδα γυναικών με γυναικολογικούς

Πίνακας 1: Επίπτωση ΚΩ σε ασθενείς με κακοήθεια θεραπευμένες και μη για υπογονιμότητα

	ΥΥΑ (1982 – 2004)	ΤΑΟ (1982-2002)
Ασθενείς Νο.	4360	469 813
IVF κύκλοι Νο.	12 527	0
Αναφερόμενες κακοήθειες	41	527 439
Προσδοκώμενοι ΚΩ	1.73	22 346
Αναφερόμενοι ΚΩ	6	22 346

Πίνακας 2: Τετράπτυχος πίνακας για την εφαρμογή της στατιστικής δοκιμασίας

Γυναίκες με κακοήθειες	Με ΚΩ	Χωρίς ΚΩ	Σύνολο
Υποβληθείσες σε IVF	6	35	41
Μη Υποβληθείσες σε IVF	22346	505093	527439
Σύνολο	22352	505128	527480

OR=3.454 με 95% CI [1.625 – 6.715]

($p=0.004$ διορθωμένο κατά Yates)

όγκους, ο ΚΩ εκπροσωπεί την συχνότερη αιτία θανάτου. Την κυριότερη κατηγορία όλων των κακοήθων ωοθηκικών όγκων εκπροσωπεί ο επιθηλιακός καρκίνος της ωοθήκης, ο οποίος αποτελεί το 90%. Στην κατηγορία αυτή των όγκων, η μέση ηλικία διαγνώσεως ήταν τα 57 έτη, ενώ στην κατηγορία των μη επιθηλιακών ωοθηκικών όγκων είναι περίπου τα 33 έτη.

Η πολυπαραγοντική αιτιολογία του ΚΩ πιθανολογείται. Περί το 5-10% των επιθηλιακών ΚΩ εξαρτάται γενετικά από παρουσία μεταλλάξεως στο γονίδιο BRCA1 ή BRCA2. Αυτά τα γενετικά καθοριζόμενα καρκινώματα είναι πολύ επιθετικά.

Μεταξύ των παραγόντων κινδύνου ΚΩ όπως οι διαιτητικές συνήθειες, οι περιβαλλοντικές επιδράσεις ή η έκθεση στην ακτινοβολία, θα πρέπει οπωσδήποτε να συμπεριληφθεί ο αριθμός των κύκλων ωορρηξίας κατά τη διάρκεια της ζωής μιας γυναίκας (Balasch et al., 1993). Οι μικροτραυματισμοί που επισυμβαίνουν στην επιθηλιακή στιβάδα της ωοθήκης κατά τη διάρκεια μιας ωορρηξίας και η έκθεση σε υψηλά επίπεδα οιστρογόνων παίζουν τον κύριο ρόλο στην παθολογία του ΚΩ. Κατά την ωορρηξία, λοιπόν, τα επιθηλιακά κύτταρα της ωοθήκης εκτίθενται σε αυτό το αφύσικο ενδοπεριτοναϊκό περιβάλλον. Ο κίνδυνος πολλαπλασιασμού των κυττάρων αυτών ανέρχεται με τον αριθμό κύκλων ωορρηξίας. Ο Balash et al. μελέτησαν την ορμονική κατάσταση μιας γυναίκας σε σχέση με την αιτιολογία του ΚΩ. Οι ασθενείς με ΚΩ είναι συνήθως άτοκες ή γυναίκες που απέκτησαν το πρώτο τους παιδί μετά την ηλικία των 30. Σύμφωνα με την υποκείμενη σχετική βιβλιογραφία, η υπογονιμότητα - αφ' εαυτής και χωρίς καμία θεραπευτική παρέμβαση - δηλώνεται ως ανεξάρτητος προδιαθεσικός παράγων για την ανάπτυξη ΚΩ. Παρά το γεγονός ευρέσεως σχέσεως μεταξύ προκλήσεως ωορρηξίας και υψηλότερου κινδύνου ανάπτυξης ΚΩ, η επίδραση της ανωθυλακιορρηξίας ή της έλλειψης τεκνογονίας δεν έχει ακόμη εξειδικευθεί. Σύμφωνα με τον Balash, ο ορισμός κάποιων από αυτές τις αιτιολογικές σχέσεις είναι πολύ δύσκολος.

Ο Bristow αναφέρεται στη σχέση μεταξύ ωοθηκικής διέγερσης και του υψηλότερου κινδύνου ΚΩ, ειδικά σε υπογόνιμες γυναίκες στις οποίες η θεραπεία δεν ήταν επιτυχής (Bristow et al., 1996). Από την άλλη ο Hardiman δείχνει την δυνητική επίπτωση του ανδρογόνου παράγοντα υπογονιμότητας σε σχέση με μια λοίμωξη από Chlamydia της συντρόφου σαν αιτιολογικό παράγοντα του ΚΩ (Hardiman et al., 2000). Επίσης, η συνεπίπτωση λοιμώξεως από Mycoplasma Hominis σαν μια σεξουαλικά μεταδι-

δόμη νόσος και ο κίνδυνος ΚΩ συζητείται από τον ίδιο συγγραφέα. Βασίζόμενοι στη μελέτη του Hardiman, η επίπτωση της υπογονιμότητας και η θεραπεία της στην επαύξηση του ΚΩ δεν μπορεί να προσδιοριστεί με σαφήνεια. Κάποιοι συγγραφείς συζητούν την επίπτωση της ενδομητρίωσης και ωοθηκικών όγκων, με προεξάρχοντα όλων το ενδομητριοειδές ωοθηκικό καρκίνωμα, το διανοζωτταρικό και το μεικτό ωοθηκικό αδενοκαρκίνωμα. Ο Vercellini εστιάζει τον πιθανό κακοήθη μετασχηματισμό των έκτοπα εντοπιζόμενων ενδομητρίων κυττάρων (Vercellini et al., 1993).

Ο Whittemore στην εργασία του αναφέρεται στην ανάγκη περαιτέρω μελέτης αναφορικά με το θέμα αυτό. Προσοχή θα πρέπει να αποδοθεί στον τύπο της διέγερσης, στη δόση των ορμονών, στη διάρκεια εφαρμογής τους και στο χρόνο χορήγησης αναφορικά με την ηλικία της ασθενούς. Τελευταία αλλά καθόλου αμελητέα θα πρέπει να συνεκτιμηθούν στην κλινική έμβαση και οι κύκλοι IVF. Όλοι οι προαναφερθέντες συγγραφείς τονίζουν την ανάγκη ανάλυσεως μεγάλων αρχείων δεδομένων σε προοπτικές μελέτες και επίσης τη συμβολή του μακροπρόθεσμου follow up ασθενών σε υψηλό κίνδυνο μετά τη θεραπεία με IVF (Whittemore, 1992). Βασίζόμενοι στα αποτελέσματα της μελέτης του Whittemore, η ομάδα εμπειρογνομόνων της IFFS δηλώνει τον υψηλότερο κίνδυνο ΚΩ από χρήση φαρμάκων για τη θεραπεία της στειρότητας. Η επίδραση της υπογονιμότητας και της θεραπείας της δεν είναι τόσο σαφής (Cohen et al., 1993). Ο πιθανά υψηλότερος κίνδυνος ΚΩ μεταξύ των υπογόνιμων ασθενών πρέπει να γνωστοποιείται σε αυτές, αλλά ταυτόχρονα είναι δύσκολο να οριστούν, βασίζόμενοι στα μέχρι τώρα αποτελέσματα μελετών, οι αιτιολογικοί παράγοντες κινδύνου. Γι' αυτό η ομάδα εμπειρογνομόνων της IFFS συνιστά να εκτιμηθεί μεγαλύτερο δείγμα πληθυσμού και να συνεχιστούν οι μελέτες.

Οι υπογόνιμες ασθενείς είχαν μια σημαντικά αυξημένη επίπτωση ΚΩ συγκρινόμενη με τον γενικό πληθυσμό. Τα αποτελέσματα της μελέτης του Brinton ήταν καθοριστικά, μη επιβεβαιώνοντα ισχυρή συσχέτιση μεταξύ φαρμάκων πρόκλησης ωορρηξίας και ΚΩ. Ελαφρές και σε καμία περίπτωση στατιστικώς σημαντικές αυξήσεις στην επίπτωση του κινδύνου παρατηρήθηκαν κατά τη χρήση τέτοιων φαρμάκων μεταξύ συγκεκριμένων υποομάδων χρηστών, όμως, υποστηρίζουν την ανάγκη για συνεχιζόμενη καταγραφή προς ανάγνωση πιθανών μακροπρόθεσμων κινδύνων (Brinton et al., 2004).

Οι κλινικές μελέτες έχουν προτείνει δυνητικές συσχετίσεις, αλλά αναλυτικότερες και πιο συγκεκριμένες διερευνήσεις είναι δύσκολο να καταδειχθούν δεδομένου του μικρού αριθμού τους, του βραχέος follow up τους, και της ανακριβούς πληροφόρησης περί της χρήσεως των φαρμάκων ή των ενδείξεών τους. Οι προοπτικές μελέτες έχουν περιοριστεί από αδυναμίες ελέγχου άλλων προγνωστικών παραγόντων για τον καρκίνο (περιλαμβανομένου του αύξητος αριθμού τόκου), ενώ η επιλεκτική ανάληψη υποβαθμίζει τις αναδρομικές μελέτες. Αναφορές μεγάλων αυξήσεων στον κίνδυνο ΚΩ εξαιτίας φαρμακοθεραπείας υπογονιμότητας δεν έχουν αναπαράχθει από πιο πρόσφατες διερευνήσεις. Κάποια ευρήματα βασισμένα σε μικρά δείγματα δεικνύουν μικρές αυξήσεις στον εν λόγω κίνδυνο μεταξύ απόρων γυναικών, ή κατόπιν εκτεταμένου follow up, ή για συγκεκριμένους υποτύπους όγκων, αλλά περαιτέρω επιβεβαίωση απαιτείται (Brinton et al., 2005). Τα ποσοστά επίπτωσης καρκίνου του μαστού, σώματος μήτρας και ωοθηκών δεν ήταν σημαντικός διαφορετικά από ό,τι προσδοκείτο βασισμένοι σε εθνικά ποσοστά κακοηθειών και ήταν όμοια για γυναίκες που είχαν λάβει ορμονική θεραπεία διεγέρσεως ωοθηκών σε σχέση με αυτές που δεν είχαν λάβει (Doyle et al., 2002). Σε μια μελέτη cohort γυναικών θεραπευθειών με IVF, δεν σημειώθηκε επιπλέον κίνδυνος κακοήθειας (Dor et al., 2002).

Ο ΚΩ δεν εμφανίζει αυξητική τάση σε θεραπευμένες υπογόνιμες ασθενείς σε σχέση με τις μη υποβαλλόμενες σε θεραπεία. Αντιθέτως, οι υποβαλλόμενες μπορεί να έχουν χαμηλότερη επίπτωση ΚΩ ως προς τις μη υποβαλλόμενες (Kashyap et al., 2004).

Τα φάρμακα γονιμότητας που χρησιμοποιήθηκαν σε άποκες γυναίκες συνοδεύθηκαν από αυξημένη επίπτωση οριακής κακοήθειας ορωδών όγκων (OR=2.43, CI=[1.01-5.88]) αλλά όχι από επιθετικότερης μορφής άλλους ιστολογικούς υποτύπους. Αυτά τα δεδομένα δεικνύουν έναν ρόλο για ειδικά βιολογικά αίτια της υπογονιμότητας, αλλά όχι για τα φάρμακα υπογονιμότητας στο συνολικό κίνδυνο ΚΩ (Ness et al., 2002).

Ενώ τα αποτελέσματα της μελέτης του Rossing υποστηρίζουν την υπόθεση ότι μια υποομάδα απόρων υπογόνιμων γυναικών μπορεί να εκτίθενται σε αυξημένο κίνδυνο ΚΩ, οι λόγοι για αυτόν τον αυξημένο κίνδυνο παραμένουν ασαφείς (Rossing et al., 2004).

Οι περισσότερες μελέτες δεν δείχνουν αύξηση στον κίνδυνο του διηθητικού καρκίνου ωοθηκών σε υπογόνιμες γυναίκες, αλλά ωοθηκικοί όγκοι ορια-

κής κακοήθειας εμφανίζονται συχνότερα. Αυτά φαίνεται να μην αυξάνουν συνολικά τον κίνδυνο καρκίνου που συνοδεύεται με τη θεραπεία φαρμάκων υπογονιμότητας, αλλά ερωτήσεις εγείρονται περί του κινδύνου σε υποομάδες υπογόνιμων γυναικών (Venn et al., 2003).

Οφείλουμε να σημειώσουμε ότι ο ΚΩ στις ανεπτυγμένες δυτικές κοινωνίες ακολουθεί φθίνουσα πορεία παρά την εκτεταμένη εφαρμογή μεθόδων IVF. Δεν έχει διευκρινιστεί όμως αν αυτό το εκπληκτικό αποτέλεσμα προέρχεται από τις τελευταίων ετών τελειοποιημένες μεθοδολογίες ευαισθητοποίησης και screening του γενικού πληθυσμού όπως π.χ. με κολπικούς υπερήχους, καρκινικούς δείκτες π.χ. Ca-125, δεδομένου ότι οι υπογόνιμες γυναίκες αποτελούν μια μειοψηφία του γενικού πληθυσμού, οπότε, οτιδήποτε και να συμβαίνει σε αυτές ελάχιστα επηρεάζει επιπτώσεις που αφορούν ολόκληρο τον πληθυσμό (Bertone, 2005).

Η ύπαρξη του κλινικού αρχείου θεραπευτικών κύκλων υποβοηθούμενης αναπαραγωγής σε ηλεκτρονική μορφή στην κλινική μας, μας δίνει τη δυνατότητα να επιλύσουμε μερικώς αυτό το πρόβλημα. Ο όγκος δεδομένων και η ηλεκτρονική τους μορφή στοιχειοθετεί μια διαρκή και επαρκή πηγή πληροφόρησης από την άποψη της μαθηματικής και στατιστικής ανάλυσης. Εξ αιτίας της στενής συνεργασίας με τους συναδέλφους Πληροφορικής του ΤΕΙ Ηλεκτρολόγων μηχανικών και Πληροφορικής της Ostrava, μπορούμε να εφαρμόσουμε μεθόδους λήψης δεδομένων για τη βάση δεδομένων υποβοηθούμενης αναπαραγωγής (Hudecek et al., 2000).

Συμπερασματικά, ο τρόπος ανάλυσης και τα παρατιθέμενα στοιχεία ίσως να μην συμβάλουν στην πιθανή ερευνητική σχέση μεταξύ τεχνικών IVF και ΚΩ. Απλά εξετάζουμε τη σχετική συχνότητα ΚΩ σε ασθενείς με κακοήθεια και ιστορικό IVF, σε σχέση με τον γενικό πληθυσμό γυναικών με κακοήθεια.

Υποθέτουμε ότι ο προαναφερόμενος τρόπος σύγκρισης θα μπορούσε να είναι μια νέα εναλλακτική πρόταση προσέγγισης, πρέπει να ακολουθείται από αναλυτικές λεπτομέρειες της ηλικίας εμφάνισης του ΚΩ στις δύο υπό σύγκριση ομάδες, τις μέσες ηλικίες ασθενών καθώς και από αναλυτική παρουσίαση άλλων επιδημιολογικών δεδομένων. Τελικός στόχος τίθεται η σύγκριση του ποσοστού εμφάνισης ΚΩ με το αναμενόμενο στον γενικό πληθυσμό για αυτά τα συγκεκριμένα έτη παρατηρήσεως γυναικών και την ηλικιακή ομάδα στην οποία ανήκουν.

Η επίπτωση ωοθηκικών κακοηθειών σε 4360 ασθενείς θεραπευόμενες για υπογονιμότητα χρησιμο-

ποιώντας τεχνικές IVF ήταν 3,454 φορές υψηλότερη εν συγκρίσει με τον γενικό πληθυσμό των γυναικών με κακοήθειες. Αυτή η διαφορά είναι στατιστικά σημαντική.

Το αρχείο αναλυμένων δεδομένων χρήζει περαιτέρω λεπτομερούς ανάλυσης στοχεύοντας στον τύπο των χρησιμοποιούμενων πρωτοκόλλων διέγερσης, στην ηλικία των ασθενών κατά τη θεραπεία και στο χρονικό διάστημα που πέρασε από τη λήξη της θεραπείας υπογονιμότητας με τη χρήση τεχνικών IVF.

Ευχαριστίες

Υπό την ευγενική χορηγία του Τσέχικου Υπουργείου Υγείας: IGA, No.:7696-3

Incidence of malignancy occurrence in patients treated for infertility with assisted reproduction techniques

Robert Hudecek¹, Pavel Ventruba¹, Κωνσταντίνος Ν. Τσόμπος¹, Eva Racanska¹, Radka Vavrusova¹, Jana Sarmanova², Jiri Novak³

¹Obstetrics and Gynecology Clinic of Masaryk University, Brno, Czech

²Technology Training Institute of Electrotechnology Engineers and Informatics, Ostrava, Czech Republic

³National Service of Czechish Oncology, Brno, Czech Republic Register

Correspondence: Robert Hudecek,
Gynekologicko-porodnicka klinika,
Fakultni Nemocnice Brno, Jihlavská 20,
62500 Brno, Ceska Republika,
Tel.: 0042602546610, Fax: 00420532238306,
E-mail: rhudecek@fnbrno.cz

Summary

The analysis of potential relation between assisted reproduction techniques (ART) and enhanced risk of ovarian carcinoma (OC) was explored by data analysis of our University-based clinical register and National Oncology Register of Czech republic (NOR). Analyzed file includes data from 12,527 assisted reproduction treatment cycles performed at 4360 patients within years 1982-2004. After the re-

ported malignancies number assessment from the observed group clinical database (ours and NOR), further processing, statistical analysis and results comparison was followed by the Institute of Health Information and Statistics of the Czech Republic. Statistical significance of malignancy occurrence was evaluated using p-value < 0.01. In the file of 4360 patients was reported 41 malignancies including 6 OC, this is, 3,454 times 95%CI[1.625 – 6.715] over the expected incidence to this diseased group of women. NOR offered the control diseased group of women. NOR offered the control diseased group of women. NOR offered the control diseased group of women. It must be investigated by any reservedness whether the same risk of 3,454 developing OC exists at healthy general population women submitted to infertility treatment (p-value = 0.004 Yates' correction).

Financial support: IGA, No.:7696-3, Ministry of Health of Czech Republic

Key words: infertility, assisted reproduction, ovarian cancer

Βιβλιογραφία

- Balash, J. and Barri, N. P. (1993) Follicular stimulation and ovarian cancer? Hum. Reprod. 8, 990 – 996.
- Bertone-Johnson, E.R. (2005) Epidemiology of ovarian cancer: a status report. Lancet, 9454, 101-102.
- Brinton, L.A., Lamb, E.J., Moghissi, K.S. et al. (2004) Ovarian cancer risk after the use of ovulation-stimulating drugs. Obstet. Gynecol. 103,1194-1203.
- Brinton, L.A., Moghissi, K.S., Scoccia, B. et al. (2005) Ovulation induction and cancer risk. Fertil. Steril. 83,261-274.
- Bristow, R.E. and Beth, Z.K. (1996) Ovulation induction, infertility and ovarian cancer risk. Fertil. Steril. 66, 499 - 507.
- Bristow, R.E. and Karlan, B.Y. (1996) The risk of ovarian cancer after treatment of infertility. Curr. Opin. Obstet. Gynecol. 8, 32-37.
- Burcin, B., Caithamlova, E., Kucera, T. et al. (2005) Demografické souvislosti asistované reprodukce v České republice a na Slovensku. Prakt. Gyn. 5, 11-12.
- Cohen, J.F.S., Johannisson, E., Lunenfeld, B. and de-Mouzon, J. (1993) IFFS expert group report on the Whittemore study related to the risk of ovarian cancer associated with use of fertility agents. Hum. Reprod. 7, 996 – 999.
- Dor J., Lerner-Geva, L., Rabinovici, J. et al. (2002) Cancer incidence in a cohort of infertile women who underwent in vitro fertilization. Fertil. Steril. 77,324-327.
- Doyle, P., Maconochie, N., Beral, V. et al. (2002) Cancer incidence following treatment for infertility at a clinic in the UK. Hum. Reprod. 17,2209-2213.

- Hardiman, P., Nieto, J.J. and MacLaren, B. A. (2000) Infertility and ovarian cancer. *Gynecol Oncol.* 76, 1-2.
- Hudecek, R., Ventruba, P., Crha, I. et al. (2001) Analysis of Factors with Influence on Assisted Reproduction Outcome using System for Data Mining SHLUK. *Ces. Gynek.* 66, 270-276.
- Hudecek, R., Ventruba, P., Sarman, Z. et al. (2000) Data mining in assisted reproduction using methods for data analysis SHLUK and artificial neural network NEUL 3. *Assist. Reprod.* 1, 10-11.
- International Federation of Fertility Societies International Conference (1999) IFFS Surveillance 98. *Fertil. Steril.* 71(5 Suppl 2), 1S-34S.
- International Working Group for Registers on Assisted Reproduction (1995) World Collaborative Report on In Vitro Fertilization. Preliminary Data for 1995. *J. Assist. Reprod. Genet.* 12, 251S - 265S.
- International Working Group for Registers on Assisted Reproduction (1997) World Collaborative Report on In Vitro Fertilization. Preliminary Data for 1996. *J. Assist. Reprod. Genet.* 14, 251S - 265S.
- Kashyap, S., Moher, D., Fung, MF. and Rosenwaks, Z. (2004) Assisted reproductive technology and the incidence of ovarian cancer: a meta-analysis. *Obstet. Gynecol.* 103,785-794.
- Ness, R.B., Cramer, D.W., Goodman, M.T. et al. (2002) Infertility, fertility drugs, and ovarian cancer: a pooled analysis of case-control studies. *Am. J. Epidemiol.* 155, 217-224.
- Robova, H., Rob, L., Pluta, M. et al. (2000) Zhoubné nádory ovaria. *Moderní gynekologie*, 4, 679 - 693.
- Rossing, M.A., Tang, M.T., Flagg, E.W. et al. (2004) A case-control study of ovarian cancer in relation to infertility and the use of ovulation-inducing drugs. *Am. J. Epidemiol.* 160,1070-1178.
- Venn, A., Healy, D. and McLachlan, R. (2003) Cancer risks associated with the diagnosis of infertility. *Best Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol.* 17,343-367.
- Ventruba, P., Mardesic, T., Pilka, L. et al. (1998) Register of Assisted Reproduction: Results and analysis of complications. *Ces. Gynek.* 63, 39-41.
- Ventruba, P., Visnova, H. and Hudecek, R. (1997) Where is the aim of ART in Czech Republic? National register of ART 1993 - 1996. *Prakt. Gyn.* 5, 20 - 26.
- Ventruba, P., Visnova, H., Hudecek, R. and Lokajova, J. (2000) 10 years of National Register of assisted reproduction in Czech Republic. *Assist. Reprod.* 10, 5-6.
- Vercellini, P., Parazzini, F., Bolis, G. et al. (1993) Endometriosis and ovarian cancer. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 169, 181 - 182.
- Whittemore, S. A.: The Collaborative Ovarian Cancer Group (1992) Characteristics relating to ovarian cancer risk: collaborative analysis of 12 US case-control studies. II Invasive epithelial ovarian cancer in white women. *Am. J. Epidemiol.* 136, 1184 - 1203.

3.3. Inovativní postupy v ART

3.3.1. Databázové systémy a dolování znalostí z databází v asistované reprodukci

Databázové systémy a systémy pro dolování znalostí z databází (data mining) představují alternativní a vysoce efektivní metodu analýzy multifaktoriálně podmíněných procesů v reprodukční gynekologii [49, 50].

Pro hledání souvislostí mezi příčinami a důsledky v léčebných cyklech asistované reprodukce (AR) pomocí analyzování dlouhodobě evidovaných údajů lze použít klasické metody matematické statistiky. Mezi tyto techniky patří:

- *korelační analýza* – pro danou dvojici atributů určit míru jejich (lineární) závislosti
- *regresní analýza* – pro danou dvojici atributů určit parametry nejlepší (elementární) funkce, vyjadřující jejich závislost
- *testování významnosti* formulovaných hypotéz o tom, zda zkoumaný výběr pochází ze základního souboru nebo ne.

Základním předpokladem těchto metod je, že předem položíme otázku o souvislosti nebo závislosti údajů a metody statistiky nám na ni kladně nebo záporně odpoví. Pokud je monitorovaných atributů nízký počet a máme několik málo otázek, nenastává žádný problém. Na nevyslovené otázky nedostaneme odpověď.

Pokud jsou však analyzovaná data rozsáhlá, souvislosti mezi příčinami a následky v datech mohou být výrazně komplikované. Složitost vztahů může být buď v nelineárních závislostech (neplatí např., že když je jeden údaj větší, druhý je také úměrně větší). Jiný typ složitosti spočívá v tom, že vztah neplatí pouze mezi dvěma faktory, ale až skupina několika vhodně nastavených parametrů vyvolává jisté následky. Hledání souvislostí mezi více atributy na jedné i druhé straně vztahu se říká mnohorozměrná analýza. Pokud testované závislosti nejsou lineární nebo předem předvídatelného typu a pokud jde o souvislosti mezi skupinami atributů, klasická statistika nemusí stačit.

Metody mnohorozměrné analýzy samy automaticky generují a formulují všechny teoreticky možné hypotézy jistého typu, testují tyto hypotézy a ty, které mají dostatečnou významnost, předkládají analytikovi k další úvaze. Takovým analýzám se také říká *explorační analýzy* (explore = prozkoumat, probádat). Provádějí tzv. orientační studie nad daty, objevují i nové poznatky. Dávají odpovědi s menší vahou, ale odpovídají i na otázky nevyslovené typu: „Co je v datech zajímavé a neprůměrné?“. Jako výsledek formulují hypotézy podporované zkoumanými daty a předkládají je k dalšímu ověřování a testování. Tyto analýzy patří k metodám umělé inteligence [51].

Tyto metody se nazývají metodami dolování znalostí z dat a databází - *Data mining*. K metodám dolování znalostí z dat patří především metody:

- hledání příčin a následků,
- hledání asociací,
- metody shlukovací,
- konstrukce rozhodovacích stromů,
 - časové a dimenzionální řady.

Databáze klinického registru léčebných cyklů centra asistované reprodukce CAR 01 PCPAR reprezentuje přes třicet let léčby neplodnosti na Gynekologicko-porodnické klinice MU a Fakultní nemocnice Brno. Tato databáze představuje reprezentativní soubor medicínsky vysoce validních dat o AR v elektronické podobě. Kombinace velikosti registrovaného souboru, spektra analyzovaných léčebných metod a použité metodiky dolování znalostí z databází je dosud v České republice v oblasti asistované reprodukce ojedinělá.

Cílem práce byla explorační počítačová analýza dat o léčebných cyklech asistované reprodukce (AR) a ověření použitelnosti systému pro dolování znalostí z dat SHLUK v dílčí analýze etapy fertilizace, která byla zaměřena na vztahy mezi parametry spermio-gramu a výsledkem procesu oplozování oocytů in vitro. Prostřednictvím systému SHLUK, který zahrnuje řadu metod mnohorozměrné analýzy dat, byly hledány okolnosti úspěšné léčby v jednotlivých etapách cyklu AR. Analýza vztahů mezi příčinami a následky léčebného cyklu AR byla provedena metodou IMPL a následně metodou skupinové implikace GRIMPL.

Soubor analyzovaný systémem SHLUK zahrnuje data z 8516 léčebných cyklů AR provedených u 4470 pacientek a údaje o 666 klinických graviditách po AR. Data o léčebných cyklech byla uložena v elektronické podobě v klinickém registru dat. Modelová analýza etapy fertilizace, je zaměřena na vztahy mezi parametry spermio-gramu a výsledkem procesu oplozování oocytů in vitro. Jako výstupní kritérium úspěšnosti etapy fertilizace v cyklu AR bylo hodnoceno procento oplozených oocytů z počtu získaných oocytů při aspiraci – fertilisation rate (FR). Výsledky analýz prokázaly signifikantně vyšší FR – 60,9 % ve skupině vyšetření s počtem spermií před zpracováním 41–60 mil/ml. Při počtu spermií před zpracováním pod 10 mil/ml bylo FR signifikantně nižší – 42,2 %. Při pohyblivosti spermií před zpracováním pod 10 % bylo FR signifikantně nižší – 45,3 %. Při pohyblivosti spermií před zpracováním 41 až 50 % bylo FR signifikantně vyšší – 56,9 %. Signifikantně vyšší FR – min. 56,0 % bylo zjištěno při počtu spermií po zpracování 4,1 mil/ml a více. Při pohyblivosti spermií po zpracování 41–90 % bylo FR signifikantně vyšší – min. 53,5 %. Ve skupině vyšetření, kde přežívalo v kultivačním mediu po 24 hodinové kultivaci s oocytem více než 30 % spermií, bylo FR signifikantně vyšší – min. 55,9 %.

V prezentované práci, která byla součástí Grantu IGA MZ ČR NH 4916-3: *Aplikace umělé inteligence neuronové sítě ke stanovení faktorů ovlivňujících asistovanou reprodukci*, realizovaného v letech 1998–2000 na Gynekologicko-porodnické klinice MU a FN Brno, byla prokázána použitelnost systému pro dolování znalostí z dat SHLUK pro analýzu faktorů, které ovlivňují výsledky metod asistované reprodukce. Systém pro dolování znalostí z databází SHLUK umožňuje definovat statisticky významné vztahy mezi jednotlivými atributy etapy fertilizace v léčebném cyklu AR a dokáže postulovat základní hypotézy o existujících příčinách a následcích v cyklech AR.

Analýza faktorů ovlivňujících výsledky asistované reprodukce pomocí systému pro dolování znalostí z databází SHLUK

Analysis of Factors with Influence on Assisted Reproduction Outcome Using System for Data Mining SHLUK

Čes. Gynek.,
66, 2001, č. 4,
s. 270 - 276

Hudeček R.¹, Ventruba P.¹, Crha I.¹, Šarmanová J.², Šarman Z.², Solár T.²

¹I. gynekologicko-porodnická klinika LF MU v Brně, přednosta prof. MUDr. Pavel Ventruba, DrSc.

²FEI, VŠB, Ostrava, vedoucí

Structured Abstract

Objective: To retrospective exploring computer analysis of data about therapeutic cycles in assisted reproduction technology (ART) to confirm applicability of system for data mining SHLUK in partial analysis of fertilisation phase of therapeutic cycle. Relations between parameters of sperm count analysis and outcome of in vitro fertilisation were analyzed.

Design: Retrospective analysis.

Setting: 1st Depart of Obstet. and Gynaecol., Masaryk University, Brno; FEI, VŠB, Ostrava.

Methods and material: Conditions of successful therapy in single phases of ART therapeutic cycles, were analysed using system SHLUK, which included a lot of methods for data mining. Analysis of relation between reasons and results in ART therapeutic cycles was done through method IMPL and method of group implication GRIMPL.

Analysed file included data about 8516 therapeutic cycles ART in 4470 patients and data about 666 clinical pregnancies stored in electronic form in clinical data register. The model analysis of fertilisation tested relations between parameters of sperm analysis and outcome of in vitro fertilisation. Fertilisation rate (FR) - ratio of fertilized oocytes/obtained oocytes was evaluated as fertilisation stage outcome.

Results: Significantly higher FR - 60.9 % was in the group with sperm concentration before preparation 41 - 60 mil/ml. When sperm concentration before preparation was under 10 mil/ml - FR was significantly lower - 42.2 %. Motility of sperm before preparation under 10 % - FR was significantly lower - 45.3 %. Motility of sperm before preparation 41 - 50 % - FR was significantly higher - 56.9 %. Significantly higher FR - minimal 56.0 % was in group of examinations with sperm after preparation was 41 - 90 %, then FR was significantly higher - 53.5 %. In sperm survival test, where more than 30 % of sperm survive 24 hours of cocultivation with oocytes FR was significantly higher - minimal 55.9 %.

Conclusion: Applicability of system for data mining SHLUK in the analysis of factors with influence on assisted reproduction outcome was proved. System for data mining SHLUK makes possible to define statistically significant relations between attributes of fertilisation stage of ART cycles and it is able to postulate basic hypothesis about existing reasons and results in therapeutic cycles of ART.

Key words: exploring computer analysis, assisted reproduction technology (ART), parameters of sperm, results in ART

Strukturovaný souhrn

Cíl studie: Cílem práce je explorační počítačová analýza dat o léčebných cyklech asistované reprodukce (AR) a ověření použitelnosti systému pro dolování znalostí z dat SHLUK v dílčí analýze etapy fertilizace, která byla zaměřena na vztahy mezi parametry spermiogramu a výsledkem procesu oplozování oocytů in vitro.

Typ studie: Retrospektivní analýza.

Název a sídlo pracoviště: I. gynek.-porod. klinika LF MU v Brně, FEI, VŠB, Ostrava.

Metodika a materiál: Prostřednictvím systému SHLUK, který zahrnuje řadu metod mnohorozměrné analýzy dat, byly hledány okolnosti úspěšné léčby v jednotlivých etapách cyklu AR. Analýza vztahů mezi příčinami a následky léčebného cyklu AR byla provedena metodou IMPL a následně metodou skupinové implikace GRIMPL.

Soubor analyzovaný systémem SHLUK zahrnuje data z 8516 léčebných cyklů AR provedených u 4470 pacientek a údaje o 666 klinických graviditách po AR. Data o léčebných cyklech byla uložena v elektronické podobě v klinickém registru dat. Modelová analýza etapy fertilizace, je zaměřena na vztahy mezi parametry spermiogramu a výsledkem procesu oplozování oocytů in vitro. Jako výstupní kritérium úspěšnosti etapy fertilizace v cyklu AR bylo hodnoceno procento oplozených oocytů z počtu získaných oocytů při aspiraci - fertilisation rate (FR).

Výsledky: Signifikantně vyšší FR - 60,9 % bylo zjištěno ve skupině vyšetření s počtem spermií před zpracováním 41 - 60 mil/ml. Při počtu spermií před zpracováním pod 10 mil/ml bylo FR signifikantně nižší - 42,2 %. Při pohyblivosti spermií před zpracováním 41 - 50 % bylo FR signifikantně vyšší - 56,9 %. Signifikantně vyšší FR - min. 56,0 % bylo zjištěno při počtu spermií po zpracování 41 - 90 mil/ml a více. Při pohyblivosti spermií po zpracování 41 - 90 % bylo FR signifikantně vyšší - min.

53,5 %. Ve skupině vyšetření, kde přeživalo v kultivačním mediu po 24hodinové kultivaci s oocytem více než 30 % spermií bylo FR signifikantně vyšší - min. 55,9 %.

Závěr: Byla prokázána použitelnost systému pro dolování znalostí z dat SHLUK pro analýzu faktorů, které ovlivňují výsledky metod asistované reprodukce. Systém pro dolování znalostí z databáze SHLUK umožňuje definovat statisticky významné vztahy mezi jednotlivými atributy etapy fertilizace v léčebném cyklu AR a dokáže postulovat základní hypotézy o existujících příčinách a následcích v cyklech AR.

Klíčová slova: explorační počítačová analýza, asistovaná reprodukce (AR), parametry spermioqramu, výsledky AR

ÚVOD

Asistovaná reprodukce (AR) se během svého více než dvacetiletého vývoje stala nedílnou součástí reprodukční medicíny. Techniky in vitro fertilizace (IVF) zaznamenaly obrovský rozvoj a korespondují s celosvětovým nárůstem počtu párů s poruchou fertility. Jak dokládají závěry Národního registru asistované reprodukce za posledních 5 let [10], podobná situace je i v České republice. Z prognostického hlediska se asistovaná reprodukce stává oborem, jehož uplatnění v budoucnosti bude pravděpodobně nabývat na stále větším významu.

Některé metody léčby neplodnosti, jako je např. intracytoplazmatická injekce spermie předběhly teoretické znalosti o patofyziologických mechanismech fertilizace gamet. Na druhou stranu existenci některých prognosticky významných faktorů lze jen tušit a je velmi obtížné podrobit je důkladné a komplexní analýze.

Příčinu lze hledat v obrovském množství proměnlivých atributů, které charakterizují jednotlivé etapy léčebného cyklu mimotělního oplodnění. V rámci grantu IGA MZ ČR č. 4916-3 byl analyzován soubor dat o léčebných cyklech AR, v nichž je průběh jednoho terapeutického cyklu charakterizován více než 130 proměnlivými faktory s předpokládaným vlivem na výsledek léčby. Testovat vlivy těchto faktorů a jejich nejrůznějších kombinací standardními statistickými metodami nebo prostřednictvím retrospektivních klinických studií by bylo pravděpodobně velmi obtížné a časově vysoce náročné.

Dolování znalostí z databází prostřednictvím moderních metod výpočetní techniky nabízí zajímavou možnost hledání souvislostí mezi příčinami a následky v tak složitém procesu, jakým je léčba neplodnosti technikami asistované reprodukce.

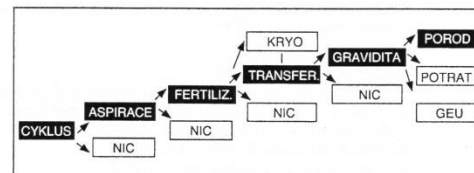
Databáze klinického registru léčebných cyklů centra asistované reprodukce 01, která zahrnuje více než patnáct let léčby neplodnosti na I. gynekologicko-porodnické klinice v Brně, představuje reprezentativní soubor medicínsky vysoce validních dat o AR v elektronické podobě. Kombinace velikosti studovaného souboru, spektra analyzovaných léčebných metod a použité metodiky dolování znalostí z databází je dosud v České republice v oblasti asistované reprodukce ojedinělá.

Cílem práce je provést explorační počítačovou analýzu dat o léčebných cyklech AR na I. gyneko-

logicko-porodnické klinice v Brně a prokázat použitelnost systému pro dolování znalostí z dat SHLUK k analýze faktorů, které ovlivňují výsledky metod asistované reprodukce. Funkčnost analytického systému SHLUK modelově demonstrujeme na jednoduchém příkladu. Jedná se o dílčí analýzu etapy fertilizace v léčebném cyklu AR, která byla zaměřena na vztahy mezi parametry spermioqramu a výsledkem procesu oplozování oocytů in vitro.

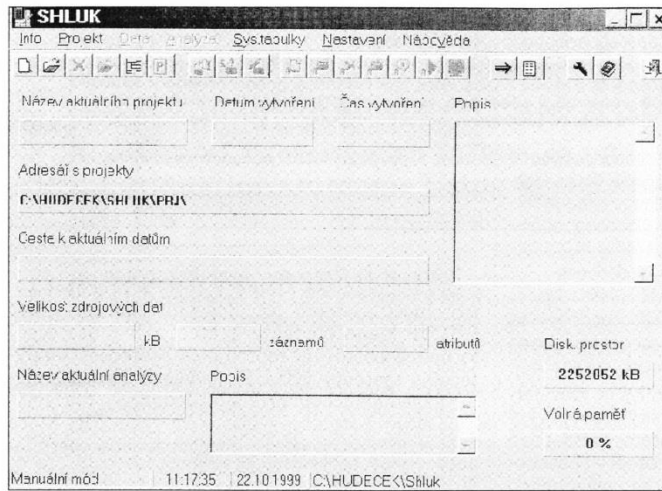
SOUBOR A METODIKA

Léčebný cyklus AR každé pacientky je členěn na jednotlivé vývojové etapy, které na sebe navazují (obr. 1). Průběh jednotlivých etap je charakterizován celou řadou následně analyzovaných atributů. Výsledky úspěšně ukončené předcházející etapy se stávají vstupními atributy následující etapy a řada vstupních atributů předcházející etapy zůstává vstupními i pro další etapy. Například počet předchozích gravidit (vstupní atribut) může významně ovlivnit výsledek aspirace oocytů i výsledek gravidity. Výskyt hyperstimulačního syndromu při aspiraci oocytů (výstupní atribut aspirace) může být významným aspektem pro etapu fertilizace a současně významně ovlivňuje úspěšnost transferu embryí apod.



Obr. 1.

Úkolem analytiků-informatiků bylo hledat okolnosti úspěšné léčby i okolnosti neúspěchů v jednotlivých etapách. K dolování znalostí z databáze byl použit systém pro analýzu dat SHLUK (obr. 2), který v sobě zahrnuje celou řadu metod sloužících k mnohorozměrné analýze dat. Analýza vztahů mezi příčinami a následky léčebného cyklu AR byla provedena metodou IMPL a následně metodou skupinové implikace GRIMPL.



Obr. 2.

1 Analýza příčin a následků metodou IMPL

Metoda IMPL hledá v datech hypotézy o možných příčinách úspěšné a neúspěšné léčby. Databáze numerických údajů o zkoumaných jevech obsahuje možné příčiny (např. A, B, C) a možné následky (např. X, Y, Z). Každý z údajů nabývá hodnot intervalu (např. 0, 1, 2, ..., k), ale pro každý údaj může být tento interval jiný. Metoda IMPL postupně generuje všechny možné výrazy tvaru: Jestliže $A=a \wedge B=b \wedge C=c$, pak $X=x \wedge Y=y \wedge Z=z$ s podporou P a vahou S, kde symbol \wedge znamená „a současně“, podpora P znamená počet případů ve zkoumaných datech s touto kombinací hodnot a, b, c, x, y, z, atributů A, B, C, X, Y, Z celkem a váha S znamená procento případů z počtu P, ve kterých platí celé toto tvrzení.

Příklad výsledku: *Jestliže věk = 20 - 25 a metoda AR = AH, pak výsledek AR = graviditě s podporou P = 112 a vahou S = 86 %.*

Interpretace výsledku: *V datech existuje 112 případů pacientek ve věku 20 - 25 let, u kterých byl na embryu před transferem proveden v cyklu mimotělního oplodnění asistovaný hatching (AH), a 86 % pacientek v této skupině otěhotnělo.*

Procento gravidit na embryotransfer v celém souboru AR je asi 17 %. Na základě těchto výsledků můžeme formulovat hypotézu: *U pacientek ve věku 20 - 25 let metoda AH pozitivně ovlivňuje výsledek AR.*

Metoda IMPL dále automaticky mění všechny věkové kategorie a všechny metody AR, pro každou určí P a hlavní výsledek S. Obdobně automaticky mění všechny kombinace možných příčin i možných následků, pro každou vypočte hodnoty P a S. Z testovaných implikací jsou nezájímavé ty výsledky, u kterých je P malé, byť by bylo S vysoké (např. jen 10 případů ze všech 8516), nejsou zajímavé ani výsledky, v nichž váha (též spolehlivost) výsledku

je nízká (např. 40 % případů testované skupiny). Proto je předem zadáno, jakých minimálních hodnot P a S musí implikace dosáhnout, aby byla formulována metodou IMPL jako hypotéza. Pro lékařská data bylo použito $P = 100$, $S = 80$ %. Pro data AR byla procedura IMPL použita pro 5 definovaných etap léčebného cyklu, pro každou byly zadány možné příčiny a atributy charakterizující výsledek etapy.

Jde o časově náročné výpočty a výsledných hypotéz je velké množství. Bohužel v datech o léčebných cyklech AR šlo většinou o výsledky triviální nebo věcně nevýznamné (např. za jakých kombinací okolností nedojde ke graviditě s vahou nad 80 %). Příčina tohoto stavu spočívá v tom, že

v analyzované databázi je velmi málo dostatečně četných případů, pro něž by byly platné zajímavé hypotézy s dostatečnou vahou. Pokud je váha zajímavé hypotézy dostatečná, je u ní většinou velmi nízká podpora (počet výskytů tohoto případu v datech).

2 Analýza příčin a následků metodou GRIMPL

Z výše uvedených důvodů byla v rámci grantu IGA MZ ČR 4916-3 vyvinuta pro dolování z dat o léčebných cyklech AR nová metoda hledání možných příčin úspěšné a neúspěšné léčby. Nazvali jsme ji GRIMPL (skupinové = GRupové IMPLikace) a vychází ze standardních ukazatelů úspěšnosti, používaných k hodnocení v AR, jakými jsou:

- počet oocytů/aspiraci (OOP/AS),
- fertilization rate (FR) - procento oplozených oocytů ze získaných oocytů,
- procento gravidit/embryotransfer (PR - pregnancy rate) atd.

Metoda GRIMPL opět testuje všechny teoretické kombinace hodnot možných příčin a pro každou skupinu vypočítá hodnoty předem definovaných ukazatelů úspěšnosti. Protí metodě IMPL navíc vypočte statistickou významnost odchylek těchto hodnot od průměrných hodnot ukazatelů za celý soubor. Metoda tedy testuje výrazy tvaru: Jestliže $A=a \wedge B=b \wedge C=c$, pak $U1=u1 (S1) \wedge U2=u2 (S2)$ s podporou P, kde A, B, C, a, b, c mají stejný význam jako u metody IMPL, U1, U2 jsou definované ukazatele, u1, u2 jejich hodnoty pro testovanou skupinu charakterizovanou levou stranou implikace. Hodnoty S1, S2, buď numericky, nebo symbolicky označují, zda je ukazatel Ui průměrný nebo neprůměrný vzhledem k základnímu souboru.

Příklad výsledku: *Jestliže počet předchozích EU = 1, pak FR = 56,9 % (++) \wedge EU/GR = 25,5 % (++) s podporou P = 985.*

Interpretace výsledku: V datech existuje 985 případů pacientek s předchozím počtem ektopických gravidit (EU) v anamnéze = 1. Pro tuto skupinu je výrazně nadprůměrné FR = 56,9 % a výrazně nadprůměrný poměr EU/GR = 25,5 %, ostatní ukazatele mají průměrnou hodnotu.

FR v celém souboru AR je 50,79 % a procento EU na graviditu je 5,86 %. Na základě těchto výsledků můžeme formulovat hypotézu: Jedno předcházející mimoděložní těhotenství pozitivně ovlivňuje FR a výrazně zvyšuje riziko dalšího mimoděložního těhotenství v cyklu *in vitro* fertilizace.

Podstatný rozdíl metody GRIMPL proti IMPL spočívá v tom, že metodou GRIMPL lze testovat významnost odchylky výsledných ukazatelů proti základnímu souboru a metoda najde významné „nepříměrnosti“ pro jakoukoliv hodnotu ukazatele. Metoda GRIMPL nehledá jen výsledky s vahou větší než dané S, ale všechny, ať je hodnota 10 % nebo 90 %.

2.1 Popis metody GRIMPL

- Definiují se významné ukazatele kvality U_i testovaných skupin.
- Vypočtou se hodnoty všech c_{ui} pro celý základní soubor.
- Pro zadanou množinu možných příčin a všechny jejich hodnoty se generují všechny jejich kombinace. Pro každou takovou skupinu se vypočte:
 - hodnota všech ukazatelů $U_i = u_i$,
 - test významnosti rozdílu mezi celkovým ukazatelem c_{ui} a ukazatelem u_i ,
 - statisticky významné rozdíly se vyznačí.
- Podle požadavku uživatele se vytisknou všechny výsledky nebo jen statisticky významné odchylky, a to formou přehledné tabulky se všemi ukazateli nebo formou hypotéz.

2.2 Test významnosti

Protože každá testovaná skupina má jiný počet případů (hodnota P), je nutné testování významnosti odchylky prostřednictvím testovací statistiky T(X):

$$T(X) = (ps - cp) / \sqrt{cp * (1cp)} * \sqrt{P}$$

K provedení testu je nutné vypočítat hodnoty:

cp = průměrná hodnota ukazatele v celém základním souboru,

ps = průměrná hodnota ukazatele u skupiny s,

P = počet případů u skupiny s.

Z těchto hodnot se vypočte pro každou skupinu *p-value*, jejíž hodnota rozhoduje o tom, zda je možno považovat pravděpodobnost *ps* za stejnou jako pravděpodobnost *cp*, nebo zda se *ps* významně liší od průměrné pravděpodobnosti. Testovací pravidlo - je-li:

$p\text{-value} > 0,05$, pak $ps = cp$;

$p\text{-value} \leq 0,01, 0,05 >$ pak jde o nepřesvědčivou oblast;

$p\text{-value} < 0,01$, pak $ps \neq cp$.

Významnost odchylky se vypisuje buď vypočtenou hodnotou *p-value*, nebo graficky s významem:

— silně podprůměrná hodnota *ps* (proti celkovému průměru)

- podprůměrná hodnota

. průměrná hodnota nebo nerozhodnutelný případ

+ nadprůměrná hodnota

++ silně nadprůměrná hodnota

VÝSLEDKY

Soubor analyzovaný systém pro dolování znalostí z databázi SHLUK zahrnuje data z 8516 léčebných cyklů AR provedených u 4470 pacientek a údaje o 666 klinických graviditách po AR. Data o léčebných cyklech byla uložena v elektronické podobě v klinickém registru dat, v programovém systému ARDec v. 1.0. Modelová analýza etapy fertilizace je zaměřena na vztahy mezi parametry spermogramu a výsledkem procesu oplozování oocytů *in vitro*.

Je analyzováno 5243 případů vyšetření počtu spermií před zpracováním, 5193 případů vyšetření procenta pohyblivosti spermií před zpracováním, 3980 případů vyšetření počtu spermií po zpracování a 3925 případů vyšetření procenta pohyblivosti spermií po zpracování. Dále bylo analyzováno 4913 výsledků testu přežívání spermií v kultivačním médiu po 24hodinové kultivaci s oocytem.

Jako výstupní kritérium úspěšnosti fertilizační etapy cyklu AR bylo hodnoceno procento oplozených oocytů z počtu získaných oocytů při aspiraci - fertilization rate (FR).

Na základě výsledků analýzy pomocí systému pro dolování znalostí z databázi SHLUK byly definovány statisticky významné vztahy mezi faktory, které ovlivňují výsledek cyklu AR. Modelově demonstrujeme výstupy analýzy vztahů mezi parametry spermogramu a výsledkem procesu oplozování oocytů *in vitro*.

1. Počet spermií před zpracováním a FR

Signifikantně vyšší FR - 60,9 % a 53,8 % - bylo zjištěno ve skupině 907 vyšetření, kde počet spermií před zpracováním činil 41 - 60 mil/ml. Dále bylo zjištěno signifikantně vyšší FR - 58,6 % ve skupině 285 vyšetření, kde počet spermií před zpracováním dosáhl 71 - 80 mil/ml. Ve skupině 642 vyšetření, kde počet spermií před zpracováním byl pod 10 mil/ml, bylo FR signifikantně nižší - 44,6 % a 42,2 % (tab. 1).

2. Pohyblivost spermií před zpracováním a FR

Ve skupině 1086 vyšetření, kde pohyblivost spermií před zpracováním byla pod 10 %, bylo FR signifikantně nižší - 45,3 %. Ve skupině 841 vyšetření, kde pohyblivost spermií před zpracováním byla 41 - 50 %, bylo FR signifikantně vyšší - 56,9 % (tab. 2).

Tab. 1. Počet spermií před zpracováním a FR

Spg mil/ml	Četnost	FR (%)	T (X)
< 5	371	44,6	--
6-10	271	42,2	--
11-15	165	53,3	.
16-20	247	47,6	.
21-25	168	50,1	.
26-30	319	46,2	--
31-35	614	48,6	.
36-40	646	51,6	.
41-50	504	60,9	++
51-60	403	53,8	+
61-70	376	52,1	.
71-80	285	58,6	++
81-90	503	46,9	--
90<	371	52,4	.
	5243	50,8	

Tab. 2. Pohyblivost spermií před zpracováním a FR

Spg (%)	Četnost	FR (%)	T (X)
<10	1086	45,3	--
11-20	646	48,8	.
21-30	773	52,3	.
31-40	993	51,8	.
41-50	841	56,9	++
51-60	456	53,4	.
61-70	249	49,9	.
71-80	127	48,8	.
81-90	15	40,9	.
91-100	7	15,4	.
	5193	50,8	

Tab. 3. Počet spermií pro zpracování a FR

Spg mil/ml	Četnost	FR (%)	T (X)
<1	572	43,7	--
1,1-2	405	40,2	--
2,1-3	541	44,6	--
3,1-4	460	47,5	--
4,1-5	843	58,6	++
5,1-6	491	63,1	++
6,1-7	224	62,7	++
7,1-8	150	64,5	++
8,1-9	34	65,4	++
9,1<	258	56,0	++
	3980	50,8	

3. Počet spermií po zpracování a FR

Signifikantně nižší FR (max. 47,5 %) bylo zjištěno ve skupině 1978 vyšetření, kde počet spermií po zpracování byl pod 4 mil/ml včetně. Signifikantně vyšší FR (min. 56,0 %) bylo zjištěno ve skupině 2000 vyšetření, kde počet spermií po zpracování činil 4,1 mil/ml a více (tab. 3).

4. Pohyblivost spermií po zpracování a FR

Ve skupině 985 vyšetření, kde pohyblivost spermií po zpracování byla pod 30 %, bylo FR signifikantně nižší - max. 45,8 %. Ve skupině 2541 vyšetření, kde pohyblivost spermií po zpracování byla 41 - 90 %, bylo FR signifikantně vyšší - min. 53,5 % (tab. 4).

Tab. 4. Pohyblivost spermií po zpracování a FR

Spg (%)	Četnost	FR (%)	T (X)
<10	499	45,8	--
11-20	203	38,3	--
21-30	283	41,3	--
31-40	396	48,5	.
41-50	660	53,5	++
51-60	634	59,8	++
61-70	556	57,5	++
71-80	543	58,5	++
81-90	148	57,4	++
91-100	3	40,9	.
	3925	50,8	

5. Test přežívání spermií a FR

Ve skupině 1608 vyšetření, kde přežívalo v kulturačním médiu po 24hodinové kultivaci s oocytem méně než 30 % spermií, bylo FR signifikantně nižší - max. 47,6 %. Ve skupině 3305 vyšetření, kde přežívalo v kulturačním médiu po 24hodinové kultivaci s oocytem více než 30 % spermií, bylo FR signifikantně vyšší - min. 55,9 % (tab. 5).

Tab. 5. Test přežívání spermií a FR

Spg (%)	Četnost	FR (%)	T (X)
<10	751	43,4	--
11-20	373	44,1	--
21-30	484	47,6	--
31-40	699	56,1	++
40<	2606	55,9	++
	4913	50,8	

DISKUSE

Analýza mnohorozměrných dat prostřednictvím dolování znalostí z databází (data mining) představuje moderní progresivní přístup k hledání

obecně platných vztahů mezi příčinami a následky. Metody dolování z dat nacházejí uplatnění v řadě nemedicinských oborů, především v ekonomice, sociologii a dalších.

Tyto metody představují alternativní přístup k hodnocení medicínských dat. Aplikáční spektrum těchto analytických metod je prakticky limitováno pouze dostatečnou velikostí studované databáze a její elektronickou formou. Metody umožní v reálně výrazně kratším čase postulovat základní hypotézy, definující problematiku příslušného oboru, než klasické klinické studie. Modelově tuto problematiku demonstruje na hodnocení parametrů spermioqramu a jejich vlivu na výsledek oplození oocytů in vitro.

Při vyšetřování neplodného páru je důležité posouzení plodnosti muže. K tomuto účelu jsou využívána základní vyšetření standardních parametrů spermioqramu včetně různých funkčních testů [11], která mají spolehlivě rozlišit mezi plodným a neplodným mužem. Zatím však nebyl nalezen parametr spermioqramu nebo funkční test, který by sám o sobě spolehlivě definoval bezchybnou či porušenou plodnost muže. Je to dáno tím, že komplexní sekvenci procesů potřebných pro úspěšnou fertilizaci nelze snadno změřit.

Velké možnosti pro posouzení fertilizačního potenciálu spermii přináší metoda in vitro fertilizace, při které lze výsledky oplozování přímo sledovat a porovnávat s výsledky vyšetření spermatu. Největší pozornost je v literatuře věnována především morfologii spermii [5, 7], která bývá považována za nejlepší odraz funkční kompetence spermie. Bylo stanoveno mnoho složitých systémů detailní klasifikace popisujících rozdíly mezi normální a abnormální spermii [4, 6]. Nejznámější jsou studie Krugera a spolupracovníků [7]. Menší pozornost v porovnání s morfologií je v literatuře věnována koncentraci [2, 8] a motilitě [1, 8, 9].

Z výsledků analýzy dat studovaného souboru na I. gynekologicko-porodnické klinice v Brně metodou GRIMPL vyplývá zásadní rozdíl ve výsledcích fertilizačního procesu in vitro u hodnocení parametrů spermioqramu před zpracováním a po zpracování spermatu. Rovněž predikční hodnota testu přežívání spermii po 24hodinové kultivaci s oocytem má výrazně vyšší hodnotu než hodnocení nativního spermioqramu. Zatímco demarkační linie dělící prognosticky příznivé a nepříznivé případy u spermioqramu po zpracování a po kokultivaci s oocytem je zcela jasná, u spermioqramů hodnocených před zpracováním spermii je tato vágní či zcela chybí.

Další otázkou je definování hranice normy. Zatímco podle manuálu WHO [11] je za normální počet spermii před zpracováním považováno 20

a více mil/ml, v souboru analyzovaném systémem SHLUK skupina vyšetření s počtem spermii od 20 do 25 mil/ml vykazuje statisticky nevýznamný vliv na FR a ve skupině vyšetření s počtem spermii od 26 do 30 mil/ml je FR dokonce statisticky významně nižší. Teprve ve skupině vyšetření s počtem spermii od 41 do 80 mil/ml bylo zjištěno statisticky významně vyšší FR.

Výraznou změnu ve výsledcích fertilizačního procesu vykazuje hodnocení počtu spermii po zpracování. Z analýzy našeho souboru vyplývá, že ve skupině vyšetření počtu spermii po zpracování 4,1 ml/ml a více a pohyblivosti spermii po zpracování 40 % a více je statisticky významně vyšší FR. Dickey a kol. [3] ve své práci, hodnotící parametry spermioqramu a výsledek 4056 intrauterinních inseminací, udává nejvyšší pregnanacy rate (PR) při hodnotách spermioqramu po zpracování 5 mil/ml a více a pohyblivosti spermii po zpracování 30 % a více.

Podobně při testu přežívání spermii po 24hodinové kultivaci s oocytem zjišťujeme ostrou hranici mezi hodnotami prognosticky příznivými a prognosticky nepříznivými.

ZÁVĚR

Na základě provedené explorační počítačové analýzy dat o léčebných cyklech AR byla prokázána použitelnost systému pro dolování znalostí z dat SHLUK pro analýzu faktorů, které ovlivňují výsledky metod asistované reprodukce. Systém pro dolování znalostí z databázi SHLUK umožňuje definovat statisticky významné vztahy mezi jednotlivými atributy etapy fertilizace v léčebném cyklu AR a dokáže postulovat základní hypotézy o existujících příčinách a následcích v cyklech AR.

Závěry dle analýzy etapy fertilizace v léčebném cyklu AR zaměřené na vztahy mezi parametry spermioqramu a výsledkem procesu oplozování oocytů in vitro.

- Parametry spermioqramu po zpracování a test přežívání spermii v kultivačním médiu s oocytem mají vyšší výpovědní hodnotu o výsledku fertilizační etapy léčebného cyklu než vyšetření nativního spermioqramu.

- Za prognosticky příznivé parametry spermioqramu po zpracování lze považovat hodnoty 4 spermii/ml a více a pohyblivost spermii po zpracování více než 40 %.

- Za prognosticky příznivý výsledek testu přežívání spermii po 24hodinové kokultivaci s oocytem in vitro lze považovat hranici 30 % přežívajících spermii a více.

Práce řešena za podpory IGA MZ ČR č. 4916-3.

LITERATURA

1. Alper, M. M., Lee, G. S., Seibel, M. M.: The relationship of semen parameters to fertilization in patients par-

ticipating in a program of in vitro fertilization. In Vitro Fertil. Embryo Transfer, 1985, 2, s. 217-223.

2. **Biljan, M. M., Taylor, C. T., Manasse, P. R.:** Evaluation of different sperm function tests as screening methods for male fertilization potential - the value of the sperm migration test. *Fertil. Steril.*, 1994, 62, s. 591-598.
3. **Dickey, R., P., Pyrzak, R., Lu, P. Z., Taylor, S. N., Rye, P. H.:** Comparison of the sperm quality necessary for successful intrauterine insemination with World Health Organization threshold values for. Normal sperm. *Fertil. Steril.*, 1999, 71, s. 684-689.
4. **Eliasson, R.:** Standards for investigation of human semen? *Andrologia*, 1971, 3, s. 49-64.
5. **Grow, D., Oehninger, S.:** Strict criteria for the evaluation of human sperm morphology and its impact on assisted reproduction. *Andrologia*, 1995, 27, s. 325-333.
6. **Hofmann, N., Hilscher, B., Morchem, B. et al.:** Comparative studies on various modes of classification of morphology of sperm heads and results of IVF - a preliminary report. *Andrologia*, 1995, 27, s. 19-23.
7. **Kruger, T. F., Menkveld, R., Stander, F. S. H. et al.:** Sperm morphologic features as a prognostic factor in in vitro fertilization. *Fertil. Steril.*, 1986, 46, s. 1118-1123.
8. **Robinson, J. N., Lockwood, M., Dokras, A. et al.:** Does isolated teratozoospermia affect performance in in vitro fertilization and embryo transfer? *Human. Reprod.*, 1994, 9, s. 870-874.
9. **Ron-El, R., Nachum, H., Herman, A. et al.:** Delayed fertilization and poor embryonic development associated with impaired semen quality. *Fertil. Steril.*, 1991, s. 338-344.
10. **Ventruba, P., Višňová, H., Hudeček, R.:** Kam směřuje vývoj asistované reprodukce v České republice? *Národní registr ART 1993-1996, Prakt. Gyn.*, 1, 1997, s. 20.
11. **World Health Organisation:** WHO Laboratory Manual for the Examination of Human Semen and Semen - Cervical Mucus Interaction, 3rd edn. 1992, Cambridge University Press, Cambridge.

*MUDr. Robert Hudeček
I. gynek.-porod. klinika MU Brno
Obilní trh 11
656 77 Brno*

3.3.2. Infertilita a endokrinopatie

Pod pojmem infertilita rozumíme neschopnost ženy donosit graviditu do viability plodu. Diferenciálně diagnosticky odlišujeme od sterility, což je neschopnost ženy otěhotnět. Pokud žena opakovaně potratí konsekutivně nejméně třikrát, jedná se o habituální potrácení. Nižší výskyt chromozomálních aberací u plodů opakovaně potrácejících žen než u nahodilých spontánních potratů a větší pravděpodobnost uplatnění peristatických faktorů jako příčiny této porodnické patologie, dovoluje považovat habituální potrácení za samostatnou nozologickou jednotku a nikoli za pouhou kumulaci nahodilých faktorů [52]. Pokud u ženy došlo v I. nebo ve II. trimestru těhotenství opakovaně konsekutivně ke ztrátě všech těhotenství, jde o primární opakované potrácení, pokud opakovaným potratům předcházelo těhotenství ukončené porodem nebo arteficiálním potratem, jde o sekundární opakované potrácení. Předpokládá se, že habituální potrácení postihuje asi 1 % žen v reprodukčním věku. Nejméně u jedné třetiny partnerských dvojic, u nichž došlo ke třem konsekutivním potratům, pokud nejsou adekvátně vyšetřeny a léčeny eventuální pravděpodobné příčiny těchto potratů, lze očekávat, že dojde k dalšímu spontánnímu potratu. Potratem končí asi 15–38 % těhotenství [53]. Ve skutečnosti bude toto číslo mnohem vyšší, neboť více než 40 % koncepcí končí ještě v době před stanovením diagnózy gravidity. Frekvence samovolných potratů stoupá s věkem matky [54].

Endokrinopatie jsou častou a závažnou příčinou infertility. Jedná se o primárně gynekologické endokrinopatie (z hypofunkce ovaria) nebo endokrinopatie negynekologického původu. Mezi endokrinopatie, které mají jednoznačný vliv na fertilitu, patří tyreotoxikóza, hypotyreóza, diabetes mellitus, hyperprolaktinémie [55]. Porucha poměru folikulostimulačního a luteinizačního hormonu (FSH/LH) a hyperandrogenismus při syndromu polycystických ovarii jsou také považovány za faktory související se zvýšeným rizikem opakovaných reprodukčních ztrát [56]. Počet potratů v I. trimestru u žen se syndromem polycystických ovarii je o 30–50 % vyšší než u zdravých žen [57]. Další studie poukazují na roli inzulinové rezistence v etiologii infertility. Hyperinzulinemie se vyskytuje až u 27 % žen s anamnézou opakovaných abortů [58] a ovlivňuje funkci endometria redukcí hladin dvou hlavních endometriálních proteinů, glykodelinu a IGFBP (insulin-like growth factor binding protein). Hyperinzulinemii zjišťujeme u 40–50 % žen se syndromem polycystických ovarii [57]. Názorové rozdíly v příčinách opakovaných potratů jsou v otázce luteální insuficience tzv. faktoru implantačního či nidálního, při němž dochází k diskrepanci mezi adekvátní sekreční produkcí endometria a vysokou nutritivní potřebou rýhujícího se oplozeného vajíčka, buď ještě v době jeho tzv. volného transportu dělohou před nidací či v období histiotrofé. Tato diskrepance pak může vést k zástavě vývoje embrya a těhotenství končí potratem v I. trimestru [59]. Spontánní potrat častěji souvisí s dekompenzací diabetes mellitus (DM) na počátku těhotenství. Vyskytuje se častěji u špatně kompenzovaných pacientek s DM I. typu, někdy u pacientek s DM II. typu, který není diagnostikován před těhotenstvím. Těhotenství je považováno za diabetogenní stav a vznik gestačního diabetes mellitus souvisí s rostoucí inzulinovou rezistencí [60]. Problematická zůstává otázka obezity ve vztahu ke schopnosti žen donosit plod do viability. Prokázána hormonální dysbalance u obézních žen vede ke kvalitativním změnám endometria. Bylo prokázáno, že v důsledku endometriálních změn mají pacientky s body mass indexem (BMI) ≥ 30 signifikantně vyšší výskyt endometriálních polypů než neobézní populace. V důsledku endometriálních polypů a dysfunkčního endometria mají obézní ženy prokazatelně vyšší tendenci k časným těhotenským ztrátám [61].

Adekvátní diferenciální diagnostika usnadňuje stanovení etiologického faktoru infertility a následnou cílenou kauzální terapii. V souladu s nárůstem našich poznatků o mechanismech podmiňujících fyziologický průběh gravidity dochází k přehodnocování jed-

notlivých etiologických faktorů ve vztahu k habituálnímu potrácení. Dominantní role anatomických a infekčních příčin ustupuje narůstající incidenci imunologicky, geneticky a hematologicky podmíněných habituálních potratů. Diagnostika příčin habituálního potrácení vyžaduje komplexní diagnostický algoritmus a interdisciplinární terapeutický přístup. V první vlně je vhodná preference základních, jednoduchých a plošně dostupných vyšetřovacích metod. Pokud tyto nepřinesou jednoznačné řešení diferenciálně diagnostického problému, přistupujeme k metodám specifickým a technicky náročnějším. Adekvátní diferenciální diagnostika umožní stanovení pravděpodobného etiologického faktoru, na jehož léčbu je nutno cíleně zaměřit terapii. U genetických, environmentálních a psychologických příčin jsou naše terapeutické možnosti značně omezené. U pacientek v období perimenopauzy využíváme v terapii metody asistované reprodukce. Rozšíření terapeutických možností u dysfertility perimenopauzálních žen přináší program dárcovství oocytů spolu s estrogenní a gestagenní substitucí. Trombofilní stavy léčíme dle doporučení hematologa podáváním kyseliny acetylsalicylové a/nebo nízkomolekulárními hepariny, u defektu MTHFR (mutace v genu pro enzym 5,10-methylentetrahydrofolat-reduktasu) substituujeme vitamíny skupiny B. U myomatózy je vhodná předoperační příprava GnRH agonisty. Při zjištění endokrinní poruchy je důležitá suplementace nebo blokování působení příslušných hormonů, důsledná kompenzace diabetes mellitus (dietní režim, inzulinoterapie). Při zjištěné hyperinzulinemii a u žen se syndromem polycystických ovaríí (PCOS) aplikujeme metformin [62]. Při pozitivním nálezu potvrzujícím akutní nebo chronickou infekci podáváme antibiotika dle zjištěné citlivosti původce infekce. Dle zjištěného typu imunologicky podmíněného habituálního potrácení aplikujeme kyselinu acetylsalicylovou v kombinaci s heparinem, případně se středně vysokými dávkami glukokortikoidů. Patologické protilátky lze také dočasně odstranit opakovanou plazmaferézou. Příznivou odezvu vyvolává intravenózní aplikace vysokých dávek imunoglobulinů. [63]. V současnosti se intenzivně studují nové terapeutické možnosti embryoprotektivní imunomodulace a systémové enzymoterapie. Finální úspěch léčby je podmíněn důslednou mezioborovou spoluprací gynekologa, hematologa, imunologa, endokrinologa, psychologa a dalších specialistů. Dominantní role ve vedení procesu diagnostiky a terapie habituálního potrácení by však měla zůstat v rukou erudovaného reprodukčního gynekologa.

POLYCYSTIC OVARY SYNDROME

Edited by **Srabani Mukherjee**

INTECH

Polycystic Ovary Syndrome

Edited by Srabani Mukherjee

Published by InTech

Janeza Trdine 9, 51000 Rijeka, Croatia

Copyright © 2012 InTech

All chapters are Open Access distributed under the Creative Commons Attribution 3.0 license, which allows users to download, copy and build upon published articles even for commercial purposes, as long as the author and publisher are properly credited, which ensures maximum dissemination and a wider impact of our publications. After this work has been published by InTech, authors have the right to republish it, in whole or part, in any publication of which they are the author, and to make other personal use of the work. Any republication, referencing or personal use of the work must explicitly identify the original source.

As for readers, this license allows users to download, copy and build upon published chapters even for commercial purposes, as long as the author and publisher are properly credited, which ensures maximum dissemination and a wider impact of our publications.

Notice

Statements and opinions expressed in the chapters are those of the individual contributors and not necessarily those of the editors or publisher. No responsibility is accepted for the accuracy of information contained in the published chapters. The publisher assumes no responsibility for any damage or injury to persons or property arising out of the use of any materials, instructions, methods or ideas contained in the book.

Publishing Process Manager Molly Kaliman

Technical Editor Teodora Smiljanic

Cover Designer InTech Design Team

First published February, 2012

Printed in Croatia

A free online edition of this book is available at www.intechopen.com
Additional hard copies can be obtained from orders@intechweb.org

Polycystic Ovary Syndrome, Edited by Srabani Mukherjee

p. cm.
ISBN 978-953-51-0094-2

Embryoprotective Therapy of Infertile Women with Polycystic Ovary Syndrome

Robert Hudeček and Renata Krajčovičová

*Dept. Obstetrics and Gynecology, Masaryk University and University Hospital, Brno
Czech Republic*

1. Introduction

1.1 Definition of infertility and habitual abortion

Infertility is defined as an inability of a woman to carry a pregnancy to a viable foetus. From the perspective of differential diagnosis, infertility differs from sterility, i.e. an inability of a woman to get pregnant. If a woman miscarries on at least three consecutive occasions, this is termed habitual abortion (or habitual pregnancy loss, HPL). Habitual abortion is a stand-alone nosological unit rather than an accumulation of circumstantial factors, as is confirmed by the lower incidence of foetal chromosomal aberrations in repeatedly miscarrying women compared to spontaneous abortions and a greater involvement of peristatic factors. A loss of all consecutive pregnancies in the first or second trimester is termed primary recurrent miscarriage. Secondary recurrent miscarriage is a situation when repeated miscarriages are preceded by a pregnancy leading to childbirth or an induced abortion. The term dysfertility is used if a woman miscarries on two consecutive occasions only (Zwinger, 2004).

1.2 Epidemiology and etiology of habitual abortion

Habitual abortion occurs in 1% of women in reproductive age and 15–38% of pregnancies result in spontaneous abortion. This number is, nevertheless, likely to be much higher as more than 40% of conceptions end before pregnancy is diagnosed (Madar, 2002). The frequency of spontaneous abortions increases with mother's age. Up to 90% of the first spontaneous abortions result from, usually de novo, chromosomal aneuploidy, whereas the risk of recurrence of the same abnormality is minimal (Roztočil, 2001). Causes of habitual abortion include age, anatomy factors, genetic factors, haematology factors, endocrine factors, infections, immunology factors, environmental factors, psychological factors, idiopathic factors.

1.3 Prerequisites of successful treatment of habitual abortion

Successful therapy of infertile women is subject to a careful and individualised differential diagnosis of habitual abortions. Comprehensive evaluation aimed at identification of the specific cause of infertility should be performed in the pregnant women who have previously repeatedly lost their pregnancy. Rigorous approach to diagnose the causes of repeated miscarriage is essential when an effective therapy is to be selected. Causal therapy

of habitual pregnancy loss includes conservative pharmacological treatment, surgery and lifestyle changes.

2. Endocrine causes of recurrent pregnancy losses

An endocrinopathy is a common and severe cause of infertility. These are either gynaecology-related endocrinopathies and gynaecology-unrelated endocrinopathies. Gynaecology-related endocrinopathies results from ovarian hypofunction. Abnormal follicle stimulating/luteinizing hormone (FSH/LH) ratio and hyperandrogenism in the polycystic ovary syndrome are also considered as factors associated with an increased risk of habitual abortions. The proportion of first trimester miscarriages in women with the polycystic ovary syndrome is about 30–50% higher than in healthy women (Kauffman, 2003)

Gynaecology-unrelated endocrinopathies with unequivocal impact on fertility include thyreotoxicosis, hypothyreosis, diabetes mellitus, hyperprolactinaemia and obesity (Krajčovičová, 2007).

2.1 Gynaecology-related endocrinopathies

Epidemiologically, polycystic ovary syndrome is a highly prevalent gynaecology-related endocrinopathy. However, it is not solely a gynaecological condition but rather a disease with a range of metabolic and endocrine findings, including diabetes (Moller, 1993, Toscano, 1998). Ovarian hypofunction as a cause of habitual miscarriages represents another separate nosological unit of endocrinopathies with an impact on female reproductive function.

2.1.1 Polycystic ovary syndrome

It is estimated that polycystic ovary syndrome affects 5 – 10% of women of childbearing potential, with 35 – 45% of polycystic ovary syndrome patients being obese (Svačina, 2001). The real incidence of this syndrome in the population depends on the diagnostic criteria used and is probably higher than that published in the literature. Complications of pregnancy associated with maternal PCOS include increased prevalence of early pregnancy loss (EPL), gestational diabetes (GDM), pregnancy-induced hypertensive disorders (PET/PIH), and the birth of small-for-gestational-age (SGA) babies. Increased risk of EPL has been attributed to obesity, hyperinsulinaemia, elevated luteinizing hormone concentrations, and endometrial dysfunction. Avoiding obesity before pregnancy and treatment with metformin are therapeutic options, also for the increased prevalence of GDM (Homburg, 2006). Administration of metformin throughout pregnancy is a contentious issue. Screening pregnant women with PCOS for GDM and PET/PIH-especially if they are obese-is recommended, although data for a firm association between PCOS and PET/PIH is weak. Impaired insulin-mediated growth and foetal programming are possible explanations for a higher prevalence of SGA infants in mothers with PCOS (Homburg, 2006).

2.1.1.1 Polycystic ovary syndrome - pathophysiology

The mechanism behind metabolic and hormonal disposition for polycystic ovary syndrome, or what the primary disorder is, is rather unclear. Over the recent years, large groups of researchers have been involved in polycystic ovary syndrome research but the results are often controversial and confusing. Insulin resistance and the status of insulin receptors have

frequently been investigated. Page: 3 Higher insulin independent autophosphorylation of insulin receptor at serine residue was observed. The role of IRS substrate disorders is also discussed as is the role of TNF- α , e.g. IRS-1 phosphorylation induced by TNF- α (Svačina, 2001). Defects of the glycoprotein PC-1 are being considered as another potential factor. Insulin resistance in male relatives has recently been shown. Phosphorylation of serine is a process that explains hyperandrogenism as well as insulin resistance. This is a key process of androgen secretion in an ovary and adrenal glands and there also is important serine phosphorylation on insulin receptors (Svačina, 2001).

A number of studies focused on the clear association with abdominal obesity (even though some of the patients are not particularly obese) and it seems that it is only the women with higher abdominal fat that are insulin resistant and hyperandrogenemic. SHBG reduction is typical, particularly in obese patients. Sex hormone-binding globulin (SHBG) is the primary plasma transport protein for sex steroid hormones and regulates the bioavailability of these hormones to target tissues. The gene encoding SHBG is complex and any of several polymorphisms in SHBG have been associated with alterations in circulating SHBG levels (Chen, 2010). Epidemiological studies have revealed that low plasma SHBG levels are an early indicator of insulin resistance and predict the development of type 2 diabetes mellitus (T2DM) in both men and women. Although association between low SHBG levels and risk of diabetes could be explained by the observation that elevations in insulin suppress hepatic SHBG production. Recent studies documenting that the SHBG-altering polymorphisms are associated with risk of T2DM suggest that SHBG may have a more direct physiologic role in glucose homeostasis (Chen, 2010). However, the exact mechanism(s) underlying this association is not known (Chen, 2010). Non-diabetic women with the polycystic ovary syndrome (PCOS), a common endocrine disorder that is associated with insulin resistance, similarly demonstrate lower levels of SHBG. In light of studies investigating polymorphisms in SHBG and T2DM, our group and others have hypothesized that SHBG may represent a candidate gene for PCOS. In this manuscript, we review studies investigating the association between SHBG polymorphisms and PCOS. In summary, multiple studies in women with PCOS confirm that certain genetic polymorphisms are associated with circulating SHBG levels, but they are not consistently associated with PCOS per se. (Chen, 2010)

According to some authors, insulin resistance can be found in women with anovulation cycles only. Women with polycystic ovary syndrome have lower basal energy expenditure as well as postprandial thermogenesis. This is an analogy with android obesity, metabolic syndrome and diabetes. A relative lack of gestagens and, consequently, dominance of cortisol on receptors in abdominal fat may also contribute to the pathogenesis. This results in higher level of free fatty acids and insulin resistance.

To assess the diabetes risk score in polycystic ovary syndrome (PCOS) and in different phenotypes of PCOS and controls was observed and evaluated by overweight premenopausal women with PCOS, non PCOS or controls following factors: Finnish Diabetes Risk Score, anthropometrics, oral glucose tolerance test (OGTT), glucose, insulin, and reproductive hormone levels. The women with PCOS had higher adiposity, abdominal adiposity and 120-minute OGTT glucose. The women with PCOS and non-PCOS had elevated 120-minute OGTT insulin compared with controls. The women with PCOS and non-PCOS had similar diabetes risk scores, but both had higher diabetes risk score compared with controls after matching age and BMI. The women with PCOS (4%) and non-PCOS (12%) had a lower prevalence of low risk of diabetes scores compared with controls

(50%) and they have similar Finnish Diabetes Risk Scores and elevated scores relative to controls independent of age and adiposity. Similar clinical screening and treatment practices for type 2 diabetes are warranted for both phenotypes of PCOS (Moran, 2011)

Another research study compared pregnancy outcome, specifically the prevalence of gestational diabetes mellitus (GDM), in a group of patients with polycystic ovary syndrome (PCOS) to a group of healthy weight-matched women. Pregnancies of women with PCOS, who had been treated for infertility were compared with a group of age- and weight-matched controls. There were no significant differences in the prevalence of pregnancy complications such as gestational diabetes mellitus, pregnancy-induced hypertension (PIH) and premature deliveries between the group of PCOS patients and the controls. When differences in age and weight between PCOS patients and controls are negligible, PCOS is not associated with a higher risk of pregnancy complications. (Hašková, 2003)

2.1.1.2 Polycystic ovary syndrome - diagnosis

The international conference in Bethesda in 1990 have recommended three diagnostic criteria: hyperandrogenism, chronic anovulation (enzyme deficits at a level of adrenal glands, e.g. 21-hydroxylase deficit as well as hyperprolactinaemia and androgen-producing tumours should be excluded) and hyperinsulinemia (Svačina, 2001). Frequent, although not exclusive, symptoms include hirsutism, alopecia and acne. There may be no morphological changes on the ovaries. An older definition assumed the presence of at least eight subcapsular cysts in the ovaries of 10 cm in diameter. Higher LH/FSH ratio (usually above 2,0), previous important endocrine diagnostic criterion, is not anymore required for the diagnosis (Toscano, 1998).

2.1.1.3 Polycystic ovary syndrome - treatment

Management of polycystic ovary syndrome (PCOS) usually spans woman's reproductive years. While treatment of androgenic symptoms is often a primary concern, periodically, the regimen has to be modified because of a desire for pregnancy. At this time the couple should be evaluated for factors that may contribute to infertility and this should include semen analysis. However, for many, anovulation is likely to be the cause of infertility and ovulation induction is generally required. The premise on which ovulation induction in PCOS is based is two-fold: increasing ovarian exposure to follicle stimulating hormone (FSH) and/or correcting hormonal derangements. Potential differences in pathogenesis, evidenced clinically by phenotypic diversity, would suggest that treatment should be individualized. These options include the use of clomiphene citrate, insulin sensitizers, and the combination. Protocols for ovulation induction with FSH injections are outlined and the relative risks of multiple gestation and severe ovarian hyperstimulation syndrome. The use of aromatase inhibitors and the occasional use of glucocorticoids are briefly reviewed, and indications for in vitro fertilization and laparoscopic ovarian diathermy outlined (Nader, 2010).

2.1.1.3.1 Clomiphene citrate and insulin sensitizers

The knowledge on the role of insulin resistance in the pathogenesis of PCOS has led to the use of insulin sensitizers in PCOS treatment. Metformin was the first to be used in 1994. Administration of metformin results in decreased androgen and LH levels, improvement in insulin sensitivity and normalization of menstrual cycle (Legro, 2007). Metformin decreases liver gluconeogenesis and reduces oxidation of free fatty acids. It increases uptake of glucose

by skeletal muscles and fat tissue, improves dyslipidemia and it has other specific effects in the ovaries (Mansfield, 2003). Metformin impacts on ovarian steroidogenesis by reducing androgen production, improving the adverse environment of the endometrium and improves ovarian function. It seems so far that metformin (and glitazones) has no or insignificantly positive effect on hirsutism (Šarapatková, 2008). A meta-analysis of metformin studies showed that, compared to placebo, metformin significantly increases the occurrence of ovulation (Lord, 2003). However, it is not clear yet whether treating women with PCOS and with normal BMI and insulin sensitivity with metformin is beneficial. Also, there is a question whether clomiphene should be used alone or in combination with metformin or whether metformin monotherapy should be used to enable infertile women with PCOS to become pregnant and deliver a healthy baby. In a 6-month study comparing all three approaches, clomiphene led to the highest pregnancy and live birth rates. Addition of metformin to therapy in this study did not show a significant advantage over clomiphene monotherapy. However, possible positive effect of this combination cannot be excluded. Induction of ovulation itself does not mean higher likelihood of conceiving and giving birth to a healthy child. Metformin provided, in line with previous findings, an improvement in parameters of insulin sensitivity, BMI, insulin and proinsulin levels, while insulin resistance and testosterone levels declined. Nevertheless, these effects may not be associated with higher rate of live births (Legro, 2007).

Recently, glitazones, other insulin resistance modifying agents, have been tested in women with PCOS. They improve the effects of insulin in the liver, skeletal muscles and fat tissue. Similar to metformin, they also directly impact on ovarian steroidogenesis (Mansfield, 2003). Decrease in insulin levels results in decline in the levels of circulating androgens. Glitazones also reduce the levels of plasminogen activator inhibitor-1. Glitazones are not widely used in clinical practice and they are contraindicated in pregnancy (Šarapatková, 2008). The use of metformin in patients diagnosed with hyperinsulinaemia and in women with the polycystic ovary syndrome represents a therapeutic use of an insulin sensitizer with promising effects in anovulation sterility and dysfertility.

2.1.1.3.2 Protocols for ovulation induction with FSH and in vitro fertilisation

Women with PCOS and a history of habitual abortions or a history of sterility due to anovulation frequently undergo IVF cycles requiring ovarian stimulation with follicle-stimulating hormone (FSH). In his retrospective study, Kdous compared standard long GnRH agonist protocol (Triptolerin) and GnRH antagonist regimens (Cetrorelix) in polycystic ovary syndrome (PCOS) patients undergoing controlled ovarian stimulation (COS) for ICSI cycles. He found that GnRH antagonist protocol is a short and simple protocol with a significant reduction in the incidence of OHSS and gonadotropin levels. However, GnRH antagonist protocol provides a lower live birth rate and an increased risk of early pregnancy loss compared to the GnRH agonist long protocol (Kdous 2009). Well-established micromanipulation techniques, the ICSI and PICSI methods, are successfully used for IVF in women with PCOS. Ovarian hyperstimulation syndrome (OHSS) is a feared complication of IVF. Women with PCOS are at a greater risk of developing OHSS because of the higher number of follicles produced in the ovaries following FSH stimulation (Moosová, 2011).

2.1.1.3.3 Aromatase inhibitors

Aromatase inhibitors block the final step in the enzymatic estrogen production: aromatization of the A-cycle of aromatizable androgens, specifically androstendione and

testosteron. Substances interfering with aromatase activity have been available for many years. However, the substances used during the aminoglutethimide era were non-specific and had a poor safety profile. The third generations of aromatase inhibitors are highly specific and virtually free of adverse events. These substances are licensed for treatment of breast cancer in postmenopausal women with advanced disease or as adjuvant treatment. Temporary inhibition of estradiol production in women with active ovaries leads to increased gonadotropin concentrations and, consequently, stimulation of follicle growth. This is undesirable in patients with ovarian cancer and thus aromatase inhibitors are not used in premenopausal women unless the production of gonadotropins is blocked. On the other hand, this effect is highly desirable in infertile women. Aromatase inhibitors may be used in women who do not ovulate but their no meaning (PCOS-type oligo-ovulation) or in ovulating women in whom higher number of follicles are required (idiopathic infertility, age factor, or prior to IVF). Preliminary studies published thus far show rather convincingly that aromatase inhibitors are effective in inducing ovulation in infertile women (Mitwally, 2006). Letrozole (one of aromatase inhibitors), though reported to be an effective ovulation inducing agent, warrants larger randomized trials. The purpose of this study is to compare the efficacy of letrozole with that of rFSH and clomiphene citrate (CC)/rFSH for ovarian stimulation in IUI cycles. In randomized, prospective, single-blinded clinical trial. 1387 PCOS women after CC failure were randomized into three groups: Group A received letrozole, Group B received CC with two doses rFSH and Group C received continuous rFSH day 2 onwards until hCG injection. RESULTS: Group A, B and C had an ovulation rate of 79.30%, 56.95% and 89.89% and cycle cancellation rate of 20.70%, 43.05% and 10.11%, respectively. Pregnancy rates in Group A, B and C were 23.39%, 14.35% and 17.92%, while the miscarriage rates were 13.80%, 16.67% and 14.52%, respectively. CONCLUSION: Letrozole appears to be a suitable ovulation inducing agent in PCOS women with CC failure and is found to be most effective when baseline estradiol level >60 pg/ml. (Ganesh, 2009).

2.1.1.3.4 Glucocorticoids

In recurrently miscarrying women with PCOS, the presence of high titres of antizonal and antisperm antibodies should be excluded and potential insufficiency of sperm cell head's enzymatic status considered. Patients in whom implantation is a problem, the presence of antizonal and antiendometrial antibodies has to be excluded. High levels of antiphospholipid antibodies and other mechanisms aimed at immunological mother-semi-allogeneic graft tolerance might adversely affect the entire IVF process. Therapy is often carefully selected with respect to a patient's age, character and type of antibodies and the number of IVF cycles. Most frequently, micromanipulation is combined with temporary immunosuppression (short-term administration of glucocorticoids, e.g. Prednison 5mg dosed 1-1/2-0 daily) and long-term antioxidant treatment (Ulčová-Gallová, 2001).

2.1.1.3.5 Treatment by laparoscopic ovarian diathermy

Laparoscopic ovarian drilling is used as one of the options for surgical management of infertility in patients with polycystic ovary syndrome. This method is performed as laparoscopic electrocautery with monopolar needle. Ovarian surface is systematically perforated with a needle and the surgery is frequently combined with a test of tubal patency or hysteroscopy as part of a comprehensive diagnostic laparoscopy. The effect of drilling on

reproductive function was evaluated by a number of studies. Kong compared the effects of laparoscopic ovarian drilling in treating infertile polycystic ovarian syndrome in patients with and without metabolic syndrome. A total of 89 infertile anovulatory polycystic ovarian syndrome patients, who underwent laparoscopic ovarian drilling with completed metabolic screening and seen over a 5-year period. The main outcome measures were clinical, hormonal and metabolic characteristics, as well as spontaneous ovulation rates, reproductive outcomes, and a risk of gestational diabetes after laparoscopic ovarian drilling. Approximately one fifth (21%) of polycystic ovary syndrome patients had metabolic syndrome. There were no differences in spontaneous ovulation rates (68% vs 61%, $P=0.76$), cumulative pregnancy rates (68% vs 61%, $P=0.77$), and a risk of gestational diabetes (64% vs 42%, $P=0.13$) between patients with and without metabolic syndrome. Laparoscopic ovarian drilling was equally effective in inducing ovulation in polycystic ovary syndrome patients with metabolic syndrome. Thus, patients with metabolic syndrome should not be excluded from laparoscopic ovarian drilling, which has an additional advantage of enabling concurrent full tubo-peritoneal assessment (Kong, 2010).

In randomized double-blind placebo-controlled pilot study Nasr evaluated N-acetylcysteine (NAC) as an adjunctive therapy following unilateral laparoscopic ovarian drilling (LOD) for clomiphene citrate-resistant women with polycystic ovary syndrome (PCOS). Patients with clomiphene citrate-resistant PCOS who underwent unilateral LOD were assigned randomly to receive either NAC 1.2 g/d or placebo for 5 days starting at day 3 of the cycle for 12 consecutive cycles. The primary outcome was pregnancy rate; secondary outcomes were ovulation rates, endometrial thickness and pregnancy outcome. Baseline clinical, endocrine, and sonographic characteristics were similar in the two groups. A significant increase in both ovulation and pregnancy rates was observed in the NAC group, compared with placebo [87% versus 67% (RR 1.3; 95% CI 1.2-2.7) and 77% versus 57% (RR 1.4; 95% CI 1.1-2.7), respectively, $P<0.01$]. Moreover, miscarriage rates were significantly lower and live birth rates were significantly higher in the NAC group [8.7% versus 23.5% (RR 0.4; 95% CI 0.1-3.7) and 67% versus 40% (RR 1.7; 95% CI 0.3-3.5), respectively, $P<0.01$]. NAC, a novel adjuvant therapy to be used following unilateral LOD, might improve overall reproductive outcome (Nasr, 2010).

2.1.2 Ovarian hypofunction

The main therapeutic aim of ovarian hypofunction management is to treat fertility disorders and to substitute the lacking hormones. Treatment of ovarian hypofunction-related dysfertility by assisted reproduction methods represents a complex issue. This group of patients ("low responders") typically presents with low ovarian response to stimulation of folliculogenesis in *in vitro* fertilization cycles.

2.1.2.1 Ovarian hypofunction - pathophysiology

When discussing causes of recurrent miscarriages, experts differ in their opinion on the role of luteal insufficiency, the so called implantation factor. This is when a discrepancy occurs between adequate endometrial secretion and high nutritional needs of the fertilized egg, either during its free transport through the uterus before implantation or during histiotrophic nutrition. This discrepancy may lead to a suppression of embryonic development and the pregnancy ends in miscarriage in the first trimester (Erlebacher, 2004).

2.1.2.2 Ovarian hypofunction - diagnosis

During a pre-conception assessment, luteal insufficiency should be considered in patients with very short secretory phase by basal temperature readings, recurrent severe retardation of secretory transformation of the endometrium by microabrasion, or a significant reduction in serum progesterone in the secretory phase of the menstrual cycle (Zwinger, 2004).

2.1.2.3 Ovarian hypofunction - treatment

No optimal, universal and adequately effective IVF stimulation protocol can be found in the literature (Mardesic, 1995). In these stimulation cycles, higher doses of gonadotropic hormones are usually used and a lower number of oocytes are obtained. Whilst fertilization rate is within the norm, there is significantly lower percentage of obtained clinical pregnancies. With higher incidence of early pregnancy losses (mainly in women above 40 years of age), the percentage of pregnancies ending in a delivery of a healthy foetus in women with reduced ovarian reserve is significantly lower than in dysfertile couples with other than ovarian factors of infertility.

Stimulation protocols in this group of patients should use higher doses of rFSH (max. 300 IU/D), in combination with GnRH antagonists (from 6th DC). Follicular phase of the cycle should not be prolonged because of the risk of premature ovulation and ovulation should be induced by an administration of 10 000 IU hCG when a minimum of 3 follicles \geq 17mm are visible by UZ folliculometry. Oocytes should be withdrawn no later than 16th day of a menstrual cycle. Embryos obtained through prolonged cultivation and assisted hatching should be transferred under gestagen facilitation of luteal phase no longer than 20th DC. The most reliable and most successful method of achieving pregnancy in POF women is *in vitro* fertilization using a donated oocyte together with oestrogen-gestagen preparation of the endometrium (Hudeček, 2004). Stimulation of ovulation with gonadotropins in women with POF is ineffective. Centres of assisted reproduction report pregnancy rate in women with POF around 40 - 50% per cycle. Even though the child is genetically related to the father only, not to the mother, this method of infertility treatment in women with POF is generally acceptable, especially because the woman has a chance to carry the pregnancy to term herself and is able to breast feed the child (Žáková, 2006). There is about 5% chance in women who do not accept donated oocytes that they are able to get spontaneously pregnant despite the diagnosis of POF. The likelihood of this depends mainly on aetiology of POF (Altchek, 2003).

There are discussions in the literature on utilization of native IVF cycles, protocols with minimum stimulation, including a possibility to convert a stimulation cycle into intrauterine insemination (Shahine, 2009, Schimberni, 2009). Even though these techniques of assisted reproduction show significantly lower efficacy, they may be considered as a treatment option in individual specific cases.

A long-term hormonal therapy leading to pseudopregnancy followed by an administration of gestagens during a subsequent pregnancy (usually during the first trimester) is indicated in patients with luteal insufficiency. Decrease in estrogen receptors as progesterone receptor promoters can be modulated by the means of gestagen substitution (supra-physiological doses of progesterone - 150 mg per day) (Hudeček, 2004).

2.2 Gynaecology-unrelated endocrinopathies

2.2.1 Thyrotoxicosis

Thyrotoxicosis (hyperthyreosis) is a clinical syndrome caused by an overproduction of thyroid hormones. The main signs and symptoms of thyrotoxicosis result from hypermetabolism due to intensified oxidative processes in the body caused by excessive concentrations of these hormones. Graves-Basedow disease is the most frequent form of hyperthyreosis (60-85% of thyrotoxicoses) with a production of anti-thyroid peroxidase autoantibodies and anti-thyrotropin receptor antibodies. Approximately 10 - 30% of hyperthyreoses involve toxic multinodular goitre with autoimmune production of thyroid hormones (T3, T4). Inflammations also frequently cause hyperthyreosis by provoking T3 and T4 secretion (Ďuriš, 2001).

Clinical signs of thyrotoxicosis include nervousness, hand tremor, weight loss with increased appetite, palpitations, heat intolerance and hyperhidrosis. Other subjective symptoms include emotional lability, muscle weakness and diarrhoea.

Objective symptoms include tachycardia or atrial fibrillation, high pulse pressure (the difference between systolic and diastolic pressure), precordial pulsation, and accentuated first sound above the apex of the heart. Gynaecological symptoms include polymenorrhoea, metrorrhagia, sometimes amenorrhoea or sterility. Warm, soft skin, goitre and increased psychomotor reactivity or restlessness may all contribute to the complete clinical picture of hyperthyreosis.

2.2.1.1 Pathophysiology of thyrotoxicosis

Hyperthyreosis might be accompanied by an increased level of gonadotropins, SHBG, estrogens and androgens (although the free fraction of these steroids is lowered due to the increased SHBG levels). A change to the concentration of free steroids and direct effect of thyroid hormones frequently causes anovulation and luteal insufficiency. Hyperthyreosis might be associated with polymenorrhoea and metrorrhagia as well as amenorrhoea and sterility. Some studies have shown that the autoimmune thyroiditis (AT) itself, without obvious or subclinical thyroid gland dysfunction, diagnosed before conception, is associated with infertility, recurring miscarriages and more frequent failure of assisted reproduction methods (Stagnaro-Green, 2004, Poppe 2003).

One theory uses immunological mechanisms to explain the association between infertility and AT without thyroid gland dysfunction (Poppe, 2003). Some published papers identified concurrent occurrence of anti-thyroid and anti-ovarian antibodies; this may contribute to explain the association between AT and ovarian dysfunction (Sterlz, 1997). However, cell immunity is more likely to be responsible for recurring miscarriages. According to this theory, AT is one of the symptoms of a systemic autoimmune disease and represents an indicator of an alteration of the woman's immune system responsible for recurring miscarriages. Elevated levels of CD 5/20 lymphocytes identified in women with AT and an increased risk of miscarriage supports this theory (Roberts, 1996).

2.2.1.2 Diagnosis of thyrotoxicosis

Thyrotoxicosis is diagnosed from the patient's medical history and an assessment of the clinical picture and laboratory parameters. Thyrotoxicosis is characterised by decreased and

even undetectable TSH level and hyperthyroxinemia. TSH levels above 0.1 mU/L exclude a significant form of thyrotoxicosis. An optimal way of treatment should be decided from serum autoantibody levels (anti-thyroid peroxidase autoantibodies, anti-thyrotropin receptor antibodies). Imaging methods and gammagraphy of the thyroid gland are also important (Ďuriš, 2001).

2.2.1.3 Treatment of thyrotoxicosis

Treatment of hyperthyreosis includes lifestyle changes (regular, substantial food intake, avoiding extreme temperatures and excessive physical activity), thyreostatic treatment, subtotal strumectomy and treatment with radioiodine. Pharmacological thyreostatic treatment suppresses the overproduction of thyroid hormones by the thyroid gland. The thiouracil derivatives and carbimazole represent the first line treatment. A surgical treatment, subtotal strumectomy, can be applied when remission was achieved using a thyreostatic agent (florid thyrotoxicosis is a contraindication to any surgery as the patient is at risk of developing thyrotoxic crisis). An administration of a therapeutic dose of radioiodine is indicated when thyrotoxicosis is a co-morbidity to cardiopathy and when thyrotoxicosis recurred following strumectomy (Ďuriš, 2001).

2.2.2 Hypothyreosis

Hypothyreosis is a disorder characterized by decreased thyroid hormone levels. The prevalence of hypothyreosis in the population is about 5-8%, higher in women than men (8:1) and increases with age. Hypothyreosis should always be thought of in older women (prevalence 15 - 20%), not only if the patient presents with specific symptoms but also if they report general complaints such as fatigue, depression and myalgia. Autoimmune thyroid gland disease as well as, understandably, post-thyroidectomy states or treatment with radioiodine are among the most frequent causes. The clinical picture is diverse and includes fatigue, inefficiency, somnolence, depression, poor cold tolerance, weight gain, feeling of pressure on the neck (may also occur if the thyroid gland is not enlarged during AIT), dry skin, myalgia and arthralgia.

The thyroid gland may be enlarged, nodular as well as reduced, thinking and motor functions are slowed down, hypomimia, oedema of the face, eye lid oedema, macroglosy, deep voice. Anaemia is usually normochromic, pernicious in about 10% of cases and associated with autoimmunity, gynaecological symptoms include menstrual cycle disorders, menorrhagia, infertility and galactorrhoea (Brunová, 2008).

2.2.2.1 Pathophysiology of hypothyreosis

Hypothyreosis is one of the most important endocrine primarily non-gyneacological endocrinopathies that affect female fertility. Untreated hypothyreosis reduces fertility, increases the incidence of spontaneous abortions and increases the incidence of premature deliveries (Ďuriš, 2001). Manifest hypothyreosis is frequently linked to anovulation, oligomenorrhoea or amenorrhoea and infertility. Thyroid hormones directly impact on the correct function of oocytes, lutein cells and granulosa cells. In addition, hypothyreosis is associated with a reduction of gonadotropins (particularly the luteinizing hormone) and with an increase in prolactin levels; this results in a decreased production of ovarian steroids. Reduced levels of thyroid hormones result in their reduced production and, consequently, the sex hormone binding globulin (SHBG) levels also decline, the level of free

testosterone increases as does peripheral aromatization of androstendione to estrone (Krassas, 2000). Thyroid hormones are very important for intrauterine foetal development, particularly for the development of the brain and for the development of the hypothalamic-pituitary-thyroid axis. Gravity represents a period when an increased production of thyroid hormones is required. The foetus depends completely on the mother during the first trimester, and the contribution of the mother to foetal hormonal levels remains significant throughout (maternal productions after birth represent about 30% of thyroxin in the umbilical cord blood) and its importance increases during foetal thyreopathies and insufficient production of thyroid hormones by the foetus. Total production of thyroid hormones in gravidity increases by about 25 - 30% (Karásek, 2007). A tendency to subclinical hypothyreosis during pregnancy was observed in a significant proportion of women with normal free thyroxin and TSH levels. The impact of subclinical or even manifest hypothyreosis during pregnancy on recurrent miscarriages is evidenced by the time when miscarriages occur - usually during the first trimester when the foetus is completely dependent on its mother's production of thyroid hormones (Poppe, 2003).

2.2.2.2 Diagnosis of hypothyreosis

Primary hypothyreosis by increased TSH levels and reduced free T3 and free T4 levels, central hypothyreosis is then characterized by decreased or normal (i.e. not adequately increased) TSH levels (Brunová, 2008).

2.2.2.3 Treatment of hypothyreosis

Treatment of hypothyreosis is initiated with small doses of 25 µg/day and sometimes just 12.5 µg/day of thyroxin. The dose is increased every 7 - 14 days to the expected maintenance dose. The dose is reduced again if the patient poorly tolerates the treatment, i.e. suffers from palpitations, angina pectoris or has signs of heart failure. The demand for thyroid hormone secretion increases during pregnancy and thus thyroxin dose in mothers previously treated for hypothyreosis should be increased during pregnancy by 30% or even 50% (Brunová, 2008).

2.2.3 Diabetes mellitus

Diabetes mellitus is a group of metabolic diseases characterized by chronic hyperglycaemia developing as a result of insulin secretion disorder or as an effect of insulin or a combination of these factors. The main symptom is hyperglycaemia. From biochemical perspective, diabetes influences metabolism of carbohydrates, lipids and proteins. Clinically, it is responsible for the development of microvascular and macrovascular complications associated with organ specific degenerative processes and leading to neuropathic complications (diabetic ketoacidosis, cardiovascular complications, diabetic retinopathy, neuropathy, nephropathy), (Ďuriš, 2001).

Classification of diabetes mellitus:

- a. Diabetes mellitus
 1. Type 1 diabetes mellitus - insulin-dependent
 2. Type 2 diabetes mellitus - non-insulin-dependent
 3. Malnutrition-related diabetes mellitus
 4. Other specific types (secondary) of diabetes mellitus - hyperglycaemia associated with another cause (e.g. pancreatic disease, endocrinopathy).

- b. Impaired glucose tolerance
- c. Gestational diabetes mellitus

2.2.3.1 Pathophysiology of diabetes mellitus

Diabetic female patients are more frequently diagnosed with an ovulatory disorder leading to infertility. A comparison of hormonal profile of diabetic patients suffering from amenorrhoea and women with regular menses suggests different pathophysiological mechanisms, specifically the presence of hyperandrogenism. The effects of hyperinsulinaemia are particularly important. Hyperinsulinaemia stimulates androgenesis in the ovaries. This stimulation is via IGF receptors found in the ovaries present in sufficient amount. This is either a traditional example of the linkage between insulin and steroidogenesis or a hyperreactivity of ovarian receptors for a different reason (Svačina, 1997). According to this theory, changes to pituitary hormones might be secondary, determined by higher level of androgens. Defect of serine phosphorylation with a common manifestation on peripheral insulin receptors, ovaries and adrenal glands represents another significant theory. A slight increase in total testosterone and androstendione levels occur despite concurrent increase in catabolism of androgens. Under normal circumstances, around 66% of the circulating testosterone is bound to the *sex-hormone-binding globulin* (SHBG). When fasting (e.g. anorexia), SHBG concentration increases. On the contrary, SHBG level decreases with increasing BMI, mainly in android obesity and polycystic ovary syndrome (particularly if associated with obesity) and in association with diabetes mellitus; this further increases android hormone concentrations. Hyperinsulinism that is associated with this disease, is one of the possible explanations. Experimental *in vitro* studies show that insulin has an inhibitory effect on SHBG synthesis in the liver (Cogswell, 2001).

Hyperinsulinaemia is diagnosed in as many as 27% of women with a history of habitual abortion (Carrington, 2005). Hyperinsulinaemia influences endometrial functions by reducing the levels of the two main endometrial hormones, glycodeilin and IGFBP (insulin-like growth factor binding protein). Hyperinsulinaemia is diagnosed in 40-50% of women with the polycystic ovary syndrome (Kauffman, 2003).

Spontaneous abortion is seen more often in women with decompensated diabetes mellitus (DM) during early pregnancy. It is more frequent in poorly compensated type 1 DM patients, although it is sometimes diagnosed in patients with type 2 DM that had not been diagnosed prior to their pregnancy. Pregnancy is considered a diabetogenic state and the onset of gestational diabetes mellitus is associated with an increased insulin resistance (Hájek, 2004).

Decompensated type 1 diabetic females suffer more frequently from spontaneous abortions (even repeatedly), particularly as a consequence of higher incidence of diabetic embryopathy DE (2-3x more frequent in diabetics in comparison to healthy population). Diabetic embryopathy is a congenital developmental defect or a malformation of the foetus not compatible with life. Etiopathogenesis of DE has not been elucidated yet. Clinical and experimental knowledge confirm that hyperglycaemia is the main metabolic teratogen. Direct link between HbA1c level at the beginning of pregnancy and the incidence of diabetic embryopathy has been confirmed (Ďuriš, 2001).

2.2.3.2 Diagnosis of diabetes mellitus

Diagnosis of diabetes mellitus is made from patient's urine glucose levels and blood testing with oral Glucose Tolerance Testing (oGTT). Prior to conception, current metabolic compensation – glycaemic profile, glycosylated haemoglobin (HbA1C) and diabetic complications assessment – is reviewed. Pregnancy is not recommended in women with severe diabetic organ complications (Hájek, 2004)

2.2.3.3 Treatment of diabetes mellitus

Treatment should focus on supplementing or inhibiting the effects of the relevant hormones and careful diabetes mellitus control (dietary regimen, insulinotherapy).

Classification of DM therapies:

1. Non-pharmacological therapy
 - Patient education
 - Diet
 - Physical activity
2. Pharmacological treatment
 - Insulin (in insulin-dependent type 1 DM and always during pregnancy with any type of diabetes)
 - Oral antidiabetics (non-insulin dependent type 2 DM)

Treatment should be comprehensive, managed by an experienced diabetologist (Ďuriš, 2001). Prescribing metformin, an insulin sensitizer, in women with PCOS represents therapeutic application of an agent with promising effects in the area of anovulation sterility and dysfertility (Višňová, 2003).

2.2.4 Hyperprolactinaemia

Prolactin is a polypeptide hormone synthesised by lactotropic cells of the anterior pituitary. The main effect of this hormone is ensuring adequate postpartum lactation. In collaboration with other hormones, prolactin influences the growth of mammary glands during pregnancy. Prolactin levels in women who do not breast feed decline quickly within two weeks after birth and ovulation is likely to restart within 10 weeks. Hyperprolactinaemia is a disease with a pathological increase in prolactin levels out of postpartum period (Ďuriš, 2001).

2.2.4.1 Pathophysiology of hyperprolactinaemia

Excessive prolactin levels reduce the effects of hypothalamic GnRH and thus normal pulsate secretion of luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone. Elevated prolactin levels also have a negative effect on luteinizing hormone increase in the middle of a menstrual cycle (peak LH). Basal levels of gonadotropins are within the norm. Lack of pulsate gonadotropin secretion leads to the functional hypogonadism with anovulation. Anovulation cycles are clinically manifested as oligomenorrhoea or amenorrhoea with subsequent reduction in fertility. The clinical picture typically also includes galactorrhoea, symptoms of estrogen insufficiency (reduced vaginal secretion, osteoporosis), mood swings and hirsutism. Hyperprolactinaemia is found in women with chronic renal insufficiency, with liver cirrhosis and those using certain drugs (psychotropics, antiemetics, antihypertensives, H1 and H2 receptor antagonists). It is found in patients with

hypothalamic disease (cranial and nasopharyngeal irradiation), pituitary disease (tumours – prolactinoma, metastases, meningioma), with primary hypothyreosis or it may be idiopathic (Ďuriš, 2001).

2.2.4.2 Diagnosis of hyperprolactinaemia

The diagnosis of hyperprolactinaemia is made from rigorous medical history, detailed clinical assessment and blood prolactin levels. Prolactin levels above 16 ng/mL are considered as hyperprolactinaemia. Levels exceeding 200 ng/mL suggest prolactinoma, 200 - 500 ng/mL is pathognomonic for prolactinoma and the levels exceeding 1000 ng/mL evidence an invasive tumour expanding to sinus cavernosum. Levels below 100 ng/mL are usually not a symptom of a pituitary tumour (Ďuriš, 2001).

2.2.4.3 Treatment of hyperprolactinaemia

Treatment of hyperprolactinaemia is determined by the primary cause. Surgery, specifically the transsphenoidal hypophysectomy (transcranial approach is required when large macroprolactinomas are treated), is the method of choice for diagnosed microprolactinomas and macroprolactinomas. Radiation therapy is a complementary method in patients with incurable microprolactinomas. Pharmacological treatment is used in patients with hyperprolactinaemia caused by hypothalamo-pituitary dysfunction or in those with idiopathic hyperprolactinaemia. Pharmacological agents used include dopamine agonists that normalize prolactin secretion in about 85 - 90% of patients and reduce the tumour in about 50%. The most frequently used agents include ergoline derivatives bromocryptine, lisuride and terguride (Ďuriš, 2001).

3. Conclusion

A comprehensive and interdisciplinary approach is required to diagnose the causes of habitual miscarriage in a woman. The use of simple and widely available assessment methods in the basic differential diagnosis algorithm is preferred. If these do not provide a clear identification of aetiology of infertility, it is suitable to use more specific and technically demanding techniques. Adequate differential diagnosis enables determination of likely aetiology and a use of an appropriately targeted therapy.

4. References

- Altchek, A., Deligdisch, L., Kase, N.G. (2003). *Diagnosis and management of ovarian disorders*. ISBN 0120536420, New York, United States
- Brunova, J. (2008). *Diagnostics and therapy of disorders thyroid function*. Med Pro Praxi, ISSN - 1214-8687, Olomouc, Czech Republic
- Carrington, B., Sacks, G., Regan, L. et al. (2005). *Recurrent miscarriage: pathophysiology and outcome*. Obstet Gyn, ISSN 1040-872X, Washington, USA
- Cogswell, ME. et al. (2001). *Obesity in women of childbearing age: risks, prevention and treatment*. Prim Care Update Ob/Gyn, ISSN: 1068-607X Elsevier, New York, USA
- Ďuriš, I.; Hulín, I., Bernadič, M. et al. (2001). *Principles of internal medicine*. SAP, ISBN 80-88908-69-8, Bratislava, Slovakia
- Erlebacher, A., Zhang, D., Parlow, AF. et al. (2004). *Ovarian insufficiency and early pregnancy loss*. T Jour of Clinic Invest, ISSN 00219738, New York, USA

- Ganesh, A., Goswami, SK., Chattopadhyay, R., Chaudhury, K., Chakravarty, B. (2009). *Comparison of letrozole with continuous gonadotropins and clomiphene-gonadotropin combination for ovulation induction in 1387 PCOS women after clomiphene citrate failure: a randomized prospective clinical trial.* Journal of Assisted Reproduction & Genetics. PMID: PMC2649330 Kharakpur, India
- Hájek, Z. (2004). *High-risk and pathologic pregnancy.* Grada, ISBN 8024704188, Praha, Czech Republic
- Haškova, L., Cibula, D., Rezabek, K., Hill, M., Fanta, M., Zivny, J. (2003). *Pregnancy outcome in women with PCOS and in controls matched by age and weight.* Human Reproduction, ISSN 1460-2350, Oxford, UK
- Homburg, R. (2006). *Pregnancy complications in PCOS.* Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism, ISSN 1521-690x Amsterdam, The Netherlands
- Hudeček, R., Ventruba, P., Juránková, E. et al. (2004). *Therapeutic possibilities of assisted reproduction at perimenopausal women.* Prakt Gyn, ISSN 1801-8750, Brno, Czech Republic
- Chen, C., Smothers, J., Lange, A., Nestler, J E., Strauss, J F., Wickham, E P. (2010) *Sex hormone-binding globulin genetic variation: associations with type 2 diabetes mellitus and polycystic ovary syndrome.* Minerva Endocrinologica, ISSN 0391-1977, Shanghai, China
- Kauffman, RP., Castracane, D., Kosasa, T. (2003). *Polycystic ovary syndrome.* Gynek po prom. ISSN 1213-2578, Praha, Czech Republic
- Karásek, D.; Oborná, I.; Fryšták, Z (2007) *Autoimmune thyroiditis and sterility.* Int Med; 9(9): 394-397. ISSN - 1212-7299, Olomouc, Czech Republic
- Kdous, M., Chaker, A., Bouyahia, M., Zhioua, F., Zhioua, A. (2009). *Increased risk of early pregnancy loss and lower live birth rate with GnRH antagonist vs. long GnRH agonist protocol in PCOS women undergoing controlled ovarian hyperstimulation.* Tunisie Medicale, ISSN 0041-4131, Hôpital Sadiki, Tunis
- Kong, GW., Cheung, LP., Lok, IH. (2011). *Effects of laparoscopic ovarian drilling in treating infertile anovulatory polycystic ovarian syndrome patients with and without metabolic syndrome.* Medical Journal, ISSN 1024-2708, Hong Kong
- Krajčovičová, R., Hudeček, R., Kalvodová, J. (2007). *Differential diagnostics and treatment of habitual miscarries.* Prakt Gyn. ISSN 1801-8750, Brno, Czech Republic
- Krassas, G.E. (2000). *Thyroid disease and female reproduction.* Fertil Steril, ISSN: 0015-0282, Thessaloniki, Greece
- Legro, R., S., et al. (2007). *Clomiphene, metformin, or both for infertility in the polycystic ovary syndrome.* N Eng J Med, ISSN 0028-4793, Massachusetts Medical Society, Boston
- Lord, J.,M., Flight, I. Norman, R., J(2003). *Insulin-sensitizing drugs (metformin, troglitazone, rosiglitazone, pioglitazone, D-chiro-inositol) for polycystic ovary syndrome.* Cochrane Database Syst Rev, CD003053.
- Madar, J., Nouza, D., Nováková, D. (2002). *Immunological aspects of habitual miscarries.* Moderni gynekologie a porodnictví. ISSN 1211-1058, Praha , Czech Republic
- Mansfield, R., Galea, R., Brincat, M., Hole, D., Mason, H. (2003). *Metformin has direct effects on human ovarian steroidogenesis.* Fertil Steril, ISSN 0015-0282, Elsevier, New York, USA
- Mardesic, T., Muller, P., Zeřová, L., Mikova, M., Stroufová, A. (1995). *Factors affecting the results of in vitro fertilization. Importance of the stimulation protocols combining GnRH analogs and HMG in women with unsuccessful stimulation with combinations of clomiphene citrate-HMG.* Ces Gyn. ISSN 1803-6597 Praha, Czech Republic

- Mitwally, M. F., Casper. (2006). *Aromatal inhibitors in ovary stimulation*. Gynek. po prom. ISSN 1213-2578 Praha, Czech Republic
- Moller, DE. (1993). *Insulin resistance*, Willey, Chichester; ISBN 0471939773, Chichester New York
- Moran, LJ., Strauss ,BJ., Teede, HJ. (2011). *Diabetes risk score in the diagnostic categories of polycystic ovary syndrome*. Fertil Steril. ISSN 0015-0282, Clayton, Victoria, Australia
- Nader, S. (2010). *Infertility and pregnancy in women with polycystic ovary syndrome*. Minerva Endocrinologica. ISSN 0391-1977, Torino, Italy
- Nasr, A. (2010). *Effect of N-acetyl-cysteine after ovarian drilling in clomiphene citrate-resistant PCOS women: a pilot study*. Reproductive Biomedicine Online, ISSN 1472-6491, New Your, NY, USA
- Poppe, K., Glinoeer, D. (2003). *Thyroid autoimmunity and hypothyroidism before and during pregnancy*. Hum Reprod Update, ISSN 1460-2369, Brussels, Belgium
- Roberts, J., Jenkins, C., Wilson, R., et al. (1996). *Recurrent miscarriage is associated with increased numbers of CD5/20 positive lymphocytes and an increased incidence of thyroid antibodies*. Eur J Endocrinol, ISSN 0804-4643, Glasgow, UK
- Roztočil, A. (2001). *Disorders of pregnancy lenght*. Porodnictví, ISBN 80-7013-339-2, Brno, Czech Republic
- Schimberni, M., Morgia, F., Colabianchi, J., Giallonardo, A., Piscitelli, C., Giannini, P. (2009). *Natural-cycle in vitro fertilization in poor responder patients: a survey of 500 consecutive cycles*. Fertility & Sterility, ISSN, 0015-0282, Elsevier, New York, USA
- Shahine, L.,K., Lathi, R.,B., Baker, V.,L. (2009). *Oocyte retrieval versus conversion to intrauterine insemination in patients with poor response to gonadotropin therapy*. Fertility & Sterility, ISSN: 0015-0282, Birmingham, UK
- Stagnaro-Green, A., Glinoeer, D. (2004). *Thyroid autoimmunity and the risk of miscarriage*. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab, 18: 167-181. ISSN: 1521-690x, Athens, Greece
- Sterzl, I., Novakova, D., Vavrejnova, V. et al. (1997) *Thyroid, ovarian and adrenal antibodies in female patients with autoimmune thyroiditis*. Cas Lek Cesk, 1997, 136(8):249, ISSN 0008-7335, Prague, Czech republic
- Svačina, S. et al. (1997). *Insulin steroids and steroidogenesis*. Čs Fyziologie, ISSN: 12106313, Praha, Czech Republic
- Svačina, Š. (2001). *Metabolic syndrome*. Triton, ISBN-10: 80-7254-782-8, Praha, Czech Republic
- Šarapatková, H. (2008). *Actual look on polycystic ovary syndrome*. Interní Med. Pro Praxi ISSN 1212-7299 Olomouc, Czech Republic
- Toscano, V. et al. (1998). *Polycystic ovary syndrome*. J of Endocr Invest, ISSN PRINT: 0391-4097, Milano, Italy
- Vašičková, Z. (2003). *Obesity in gynecology and obstetrick*. Prakt Gyn, ISSN 1801-8750, Brno, Czech Republic
- Višňová, H., Ventruba, P., Crha, I. (2003). *Metformin in treatment of PCOS women*. Asist Reprod, Brno, Czech Republic
- Zwinger, A. (2004). *Recurrent miscarriage*. In: Zwinger A et al. *Porodnictví*. Galén, ISBN 8072622579, Praha, Czech Republic
- Žáková, J., Vetruba, P., Crha, I., Bulínová, E., Lousová, E. (2006). *Donors gamets and embryos using in infertility treatment*. Prakt Gyn, ISSN 1801-8750, Brno, Czech Republic

3.3.3. Asistovaná reprodukce v perimenopauze

Uplatnění léčebných postupů asistované reprodukce (AR) v období perimenopauzy je významnější, než je na první pohled patrné. Jak naznačují demografická data, dochází ve vyspělých zemích Evropské unie, včetně České a Slovenské republiky, souběžně s celkovým poklesem porodnosti k posunu těžiště reprodukce populace do vyšších věkových skupin. Tento proces dosud není ukončen [64]. Rostoucí věková hranice porodu prvního dítěte je patrná i ve Spojených státech amerických, kde po 35. roku života rodí své první dítě každá pátá žena. Dle údajů American Fertility Society (AFS) je právě období těsně po 35. roku věku ženy považováno za horní hranici pro optimální koncepci. Dokazuje to mimo jiné i standardní efektivita léčby neplodnosti metodami in vitro fertilizace (IVF), která je limitována věkem pacientky. Jedná se o období 36–37 let věku ženy [65]. „Take home baby rate“, čili procento donošených gravidit po IVF ukončených porodem zdravého plodu, je dramaticky sníženo u skupiny žen starších 40 let (činí 10,8 %) proti skupině žen ve věku pod 40 let, v níž je take home baby rate 30,4 %. Rovněž kumulativní úspěšnost AR u pacientek, které absolvovaly celkem 5krát cyklus mimotělního oplození byla signifikantně nižší ve skupině nad 40 let (14,4 %) proti skupině pacientek do 40 let věku (45–54 %) [66].

Patofyziologie reprodukce v perimenopauze

Pokles přirozené fertility v období perimenopauzy je multifaktoriální komplexní proces, který je podmíněn snižující se koitální aktivitou ženy i nižší frekvencí ovulačních cyklů. Negativně se uplatňují faktory genetické, které v souvislosti s věkem výrazně snižují kvalitu vznikajících embryí a které rezultují v jejich aneuploidii. Uterinní faktor snižuje schopnost nidace a implantace zárodku [67].

Věkový faktor je považován za jeden z nejdůležitějších prognostických ukazatelů úspěšnosti léčby neplodnosti. U pacientek nad 40 let věku je typická nedostatečná ovariální odpověď na terapii gonadotropními hormony, přistupuje snížená receptivita endometria a při adekvátní úspěšnosti oplozovacího procesu in vitro – standardní fertilisation rate je pozorováno nižší procento implantací embryí in utero.

Ovariální faktor a ART. Dle literárních zdrojů je tzv. reprodukční stárnutí – reproductive aging – charakterizováno především poklesem kvality vznikajících oocytů. Dle Navota je u žen starších 40 let více než 50 % embryí vznikajících cestou IVF aneuploidních. Na druhou stranu je registrováno signifikantně vyšší procento klinických gravidit po embryotransferu v programu darovaných oocytů, pokud věk dárkyně vajíček je nižší 30 let [68]. Využití metod preimplantační genetické diagnostiky k selekci kvalitních embryí signifikantně zvyšuje u perimenopauzálních žen úspěšnost IVF.

Děložní faktor a ART. Pokles receptivity endometria nad 40 let věku je charakterizován sníženou reaktivitou s nedostatečnou sekreční transformací sliznice. Za tento proces zodpovídá především celkový pokles estrogenových receptorů coby „promotorů progesteronových receptorů“. Situace je farmakologicky řešitelná aplikací suprafyziologických dávek progesteronu (150 mg/D) v průběhu léčebného cyklu AR [69]. S děložním faktorem úzce souvisí pokles „implantation rate“ u pacientek starších 40 let. Kromě snížené receptivity endometria se uplatňuje i nižší vaskularizace děložní sliznice a anatomicko-mechanické vlivy myomatózy. Chronický zánětlivý proces pod obrazem endometritidy spolu s nižší kvalitou embryí rezultuje u perimenopauzálních pacientek ve vyšší incidenci spontánních abortů (41–62 %) [70].

Předmětem analýzy klinického souboru bylo porovnání efektivity jednotlivých terapeutických postupů v programu asistované reprodukce u pacientek starších 40 let a definování optimální léčby neplodnosti v této věkové kategorii. V centru asistované reprodukce CAR 01 Gynekologicko-porodnické kliniky FN Brno je prakticky každý desátý léčebný cyklus proveden u pacientky v perimenopauze. Jedná se tedy o aktuální problematiku, se kterou se lékaři v centru setkávají téměř denně. Program dárcovství oocytů spolu s estrogenní a gestagenní přípravou endometria se v této věkové kategorii jeví jako optimální léčebný postup. Tento postup se jeví jako vysoce racionální i vzhledem k limitům ze strany zdravotních pojišťoven, které léčbu neplodnosti nad 40 let věku nehradí. Vzhledem k nízké efektivitě klasické in vitro fertilizace [71] v této skupině pacientek, kterou navíc komplikuje i vyšší incidence spontánních abortů [72] a vyšší náklady na léčbu, byla věková hranice úhrady ART ze stran zdravotních pojišťoven stanovena na 40 let [73]. Ženy nad 40 let věku nebo pacientky, které již absolvovaly 3 kompletní léčebné cykly mimotělního oplození včetně embryotransferu, nesou náklady na terapii jako samoplátci. Program dárcovství oocytů byl historicky zahájen referencí o první graviditě po oplození darovaného oocytu, a to již v roce 1984 [74]. V počátcích této metodiky byly do programu indikovány pouze pacientky s primární ovariální insuficiencí. Indikační spektrum rozšířil v roce 1989 Serhal, a to právě na skupinu perimenopauzálních žen s nízkou odpovědí na indukci ovulace v programu IVF, tzv. „low responders“. Jeho práce pak byly rozšířeny o poznatky Antinoriho [75] a Sauera [69]. Zásadní výhodou tohoto postupu, kromě vysoké efektivity, je ten fakt, že příjemkyně nemusí podstupovat vlastní stimulaci vaječníků a odběr oocytů v celkové anestezii. Program dárcovství embryí v principu umožňuje využití kryokonzervovaných embryí nebo tzv. čerstvých embryí z programu IVF. Kryokonzervovaná embrya jsou poskytnuta k darování zpravidla páry, u kterých byla předchozí léčba zdárně ukončena porodem zdravého dítěte nebo dětí a „nadpočetná“ uskladněná embrya již pár dále nehodlá pro vlastní potřebu využít. Za dodržení přísných etických a klinických i legislativních pravidel mohou být tato embrya použita v donorském programu. Tzv. čerstvá embrya z programu IVF vznikají oplozením darovaných oocytů spermiiem dárce a za současné synchronizace menstruačního cyklu dárkyně a příjemkyně jsou po prodloužené kultivaci transferována. Tento postup je vhodný pro páry s kombinací ovariálního a andrologického faktoru neplodnosti. Výhodou je výrazně vyšší pregnancy rate u čerstvého embryotransferu proti přenosu embryí po rozmrazení. ART v perimenopauze je problematika, které se žádné větší centrum asistované reprodukce ve své praxi nevyhne. Stále více pacientek se bude obracet na svého registrujícího gynekologa s žádostí o radu v této situaci. Současné možnosti AR v perimenopauze se jeví jako eticky přijatelné s přihlédnutím na všechna související rizika potenciální gravidity v dané věkové kategorii. Uplatnění metod AR v období menopauzy je považováno za postup kontroverzní. Cost benefit léčby v této skupině je třeba korelovat s „ovariálním“ a „biologickým“ věkem ženy a léčbu přísně individualizovat.

Program dárcovství oocytů spolu s estrogenní a gestagenní substitucí rozšiřuje terapeutické možnosti řešení dysfertility perimenopauzálních žen. Při zachování vysoké úspěšnosti léčby se v této věkové skupině jeví jako optimální léčebný postup. Dárcovství oocytů představuje racionální postup, který z etického hlediska reprezentuje naprosto samostatnou a specifickou problematiku.

Terapeutické možnosti asistované reprodukce u perimenopauzálních žen

R. Hudeček, P. Ventruha, E. Juránková, D. Petrovová, J. Žáková, E. Bulínová

Souhrn: Cíl práce: Autoři shrnují terapeutické možnosti programu asistované reprodukce (AR) u pacientek starších 40 let podložené vlastním klinickým souborem a současnými literárními údaji. **Materiál:** Sledovaný soubor tvoří pacientky centra asistované reprodukce CAR 01 Gynekologicko-porodnické kliniky (GPK) FN Brno, starší 40 let, které v období od 1. 1. 2003 do 30. 9. 2004 absolvovaly léčebný cyklus AR (celkem 118 cyklů, 11,5 % všech cyklů AR na CAR 01 GPK FN Brno). Pacientky v souboru jsou členěny na podskupiny dle způsobu léčby neplodnosti. **Skupina IVF:** pacientky, které absolvovaly cyklus (IVF) s indukci ovulace a odběrem vlastních oocytů (38 cyklů, 3,7 % všech AR cyklů). **Skupina DO:** pacientky, které využily program dárčovství oocytů (65 cyklů, 6,4 % všech AR cyklů). **Skupina DE:** pacientky, které využily program dárčovství embryí (15 cyklů, 1,4 % všech AR cyklů). **Metodika:** Byla vyhodnocena efektivita léčebných postupů v jednotlivých skupinách – celková spotřeba gonadotropních hormonů (FSH), procento cyklů s aspirací oocytů (OR), průměrný počet získaných oocytů (OO), průměrné procento oplozených oocytů (fertilisation rate – FR), procento cyklů ukončených přenosem embryí (ET), procento cyklů s kryokonzervací nadpočetných embryí (KRYO) a procento dosažených klinických gravidit na ET (GR/ET). Byl definován optimální terapeutický postup u pacientek ve věkové kategorii nad 40 let. **Výsledky:** **Skupina IVF:** Celkem 38 cyklů u pacientek, které absolvovaly indukci ovulace, při průměrné spotřebě 35 amp. rec-FSH, odběr vlastních oocytů u 89,5 % případů s průměrným ziskem 6 oocytů na aspiraci. Při fertilisation rate 76,2 % absolvovalo 74,3 % pacientek embryotransfer. V 15,8 % cyklů byla kvalitní nadpočetná embrya kryokonzervována. Pregnancy rate v této skupině je 7,00 %. **Skupina DO:** Celkem 65 cyklů u pacientek, které využily program dárčovství oocytů. Pacientky recipovaly průměrně 4,5 oocytů na cyklus a při standardním fertilisation rate 76,2 % absolvovalo 100,0 % pacientek embryotransfer. V 1,5 % cyklů byla kvalitní nadpočetná embrya kryokonzervována. Pregnancy rate v této skupině je 26,2 %. **Skupina DE:** Celkem 15 cyklů u pacientek, které využily program dárčovství embryí. Celkem absolvovalo 100 % pacientek embryotransfer. Žádná embrya nebyla kryokonzervována. Pregnancy rate v této skupině je 13,3 %. **Závěr:** Program dárčovství oocytů spolu s estrogenní a gestagenní substitucí rozšiřuje terapeutické možnosti řešení dysfertility perimenopauzálních žen. Při zachování vysoké úspěšnosti léčby se v této věkové skupině jeví jako neoptimálnější léčebný postup. Dárčovství oocytů představuje racionální postup, který z etického hlediska reprezentuje naprosto samostatnou a specifickou problematiku.

Klíčová slova: asistovaná reprodukce – perimenopauza – in vitro fertilizace – dárčovství oocytů – dárčovství embryí

Summary: Aim of the work: The authors summarize the therapeutic possibilities of the assisted reproduction (AR) programme in the patients above 40 years based on their own clinical set and contemporary literary data. **Material:** The monitored set involved the patients of assisted reproduction center CAR 01 of gynaecologic-obstetric clinic of Faculty hospital in Brno, above 40 years, who during the period from 1st January 2003 to 30th September 2004 underwent the AR therapeutic course (totally 118 cycles, 11,5 % of all AR cycles at CAR 01 GOC FH Brno). The patients in the set have been segmented into the subgroups according to the type of infertility therapy. **IVF group:** patients who underwent the cycle with ovulation induction and the collection of their own oocytes (38 cycles, 3,7 % of all AR cycles). **DO group:** patients, who utilized the programme of donor oocytes programme (65 cycles, 6,4 % of all AR cycles). **DE group:** patients, who utilized the donor embryo programme (15 cycles, 1,4 % of all AR cycles). **Methodics:** There was evaluated the effectivity of therapeutical methods in individual groups – total gonadotropic hormones expenditure (FSH), % of cycles with oocytes aspiration (OR), average number of oocytes gained (OO), average % of oocytes fertilized (Fertilisation rate – FR), % of cycles completed by embryo transfer (ET), % of cycles with cryoconservation of supernumerary embryos (KRYO) and % of achieved clinical pregnancies per ET (GR/ET). There was defined an optimal therapeutic method in patients at the age category above 40 years. **Results: IVF group:** Totally 38 cycles in patients, who underwent ovulation induction, at the average expenditure of 35 amp. rec-FSH, collection of their own oocytes in 89,5 % of cases with average gain of 6 oocytes per aspiration. At the fertilisation rate 76,2 %, 74,3 % of patients underwent embryo transfer. In 15,8 % of cycles the quality supernumerary embryos were cryoconserved. Pregnancy rate in this group is 7,00 %. **DO group:** Totally 65 cycles in patients, who utilized the donor oocytes programme. The patients received in average 4,5 oocytes per cycle and at the standard fertilisation rate 76,2 % 100,0 % of patients underwent embryo transfer. In 1,5 % of cycles the quality supernumerary embryos were cryoconserved. Pregnancy rate in this group is 26,2 %. **DE group:** Totally 15 cycles in patients, who utilized the donor embryo programme. Totally 100 % of patients underwent embryo transfer. No embryos were cryoconserved. Pregnancy rate in this group is 13,3 %. **Conclusion:** Donor oocytes programme along with an estrogen and gestagen substitution widens the range of therapeutic possibilities of the solution of dysfertility in perimenopausal women. Preserving high effectivity of the treatment it appears to be the most optimal therapeutic method for this age group. Donor oocytes constitutes a rational method representing – as for the ethic aspect – an entirely separate and specific issue.

Key words: assisted reproduction – perimenopause – in vitro fertilization donor oocytes – donor embryo

Perimenopauza a asistovaná reprodukce

Uplatnění léčebných postupů asistované reprodukce (AR) v období perimenopauzy je významnější, než je na první pohled patrné. Jak naznačují demografická data, dochází ve vyspělých zemích Evropské unie, včetně České a Slovenské republiky, souběžně s celkovým poklesem porodnosti k posunu těžší reprodukce populace do vyšších věkových skupin. Tento proces dosud není ukončen [3]. Rostoucí věková hranice porodu prvního dítěte je patrná i ve Spojených státech amerických, kde po 35. roku života rodí své první dítě každá pátá žena. Dle údajů American Fertility Society (AFS) je

právě období těsně po 35. roku věku ženy považováno za horní hranici pro optimální koncepci. Dokazuje to mimo jiné i standardní efektivita léčby neplodnosti metodami in vitro fertilizace (IVF), která je limitována věkem pacientky. Jedná se o období 36–37 let věku ženy [2].

„Take home baby rate“, čili procento donosených gravidit po IVF ukončených porodem zdravého plodu, je dramaticky sníženo u skupiny žen starších 40 let (činí 10,8 %) proti skupině žen ve věku pod 40 let, v níž je take home baby rate 30,4 %. Rovněž kumulativní úspěšnost AR u pacientek, které absolvovaly celkem 5krát cyklus mimotěl-

ního oplození byla signifikantně nižší ve skupině nad 40 let (14,4 %) proti skupině pacientek do 40 let věku (45–54 %) [4].

Patofyziologie reprodukce v perimenopauze

Pokles přirozené fertility v období perimenopauzy je multifaktoriální komplexní proces, který je podmíněn snižující se kóitální aktivitou ženy i nižší frekvencí ovulačních cyklů. Negativně se uplatňují faktory genetické, které v souvislosti s věkem výrazně snižují kvalitu vznikajících embryí a které rezultují v jejich aneuploidii. Uterinní faktor

Terapeutické možnosti asistované reprodukce u perimenopauzálních žen

snižuje schopnost nidace a implantace zárodku [11].

Věkový faktor a ART

Věkový faktor je považován za jeden z nejdůležitějších prognostických ukazatelů úspěšnosti léčby neplodnosti. U pacientek nad 40 let věku je typická nedostatečná ovariální odpověď na terapii gonadotropními hormony, přistupuje snížená receptivita endometria a při adekvátní úspěšnosti oplozovacího procesu in vitro – standardní fertilisation rate je pozorováno nižší procento implantací embryí in utero.

Ovariální faktor a ART

Dle literárních zdrojů je tzv. reprodukční stárnutí – reproductive aging – charakterizováno především poklesem kvality vznikajících oocytů. Dle Navota je u žen starších 40 let více než 50 % embryí vznikajících cestou IVF aneuploidních. Na druhou stranu je registrováno signifikantně vyšší procento klinických gravidit po embryotransferu v programu darovaných oocytů, pokud věk dárkyně vajíček je nižší 30 let [6]. Využití metod preimplantační genetické diagnostiky k selekci kvalitních embryí signifikantně zvyšuje u perimenopauzálních žen úspěšnost IVF.

Děložní faktor a ART

Pokles receptivity endometria nad 40 let věku je charakterizován sníženou reaktivitou s nedostatečnou sekreční transformací sliznice. Za tento proces zodpovídá především celkový pokles Estrogenových receptorů *cob* „promotorů progesteronových receptorů“. Situace je medikamentózně řešitelná aplikací suprafyziologických dávek progesteronu (150 mg/D) v průběhu léčebného cyklu AR [9]. S děložním faktorem úzce souvisí pokles „Implantation rate“ u pacientek starších 40 let. Kromě snížené receptivity endometria se uplatňuje i nižší vaskularizace děložní sliznice a anatomicko-mechanické vlivy myomatózy. Chronický zánětlivý proces pod obrazem endometritidy spolu s nižší kvalitou embryí rezultuje u perimenopauzálních pacientek ve vyšší incidenci spontánních abortů (41–62 %) [7].

Cíl práce

Předmětem analýzy klinického souboru bylo porovnání efektivity jednotlivých terapeutických postupů v programu asistované reprodukce u pacientek starších 40 let a definování optimální léčby neplodnosti v této věkové kategorii.

Material

Sledovaný soubor tvoří pacientky centra asistované reprodukce CAR 01 Gynekologicko-porodnické kliniky FN Brno starší 40 let. Tyto pacientky v období od 1. 1. 2003 do 30. 9. 2004 absolvovaly léčebný cyklus AR. Celkem se jednalo o 118 léčebných cyklů u perimenopauzálních pacientek (11,5 % všech cyklů AR na CAR 01 GPK FN Brno). Pacientky v souboru jsou členěny na podskupiny dle způsobu léčby neplodnosti (tab. 1).

Skupina IVF (in vitro fertilizace) – pacientky, které absolvovaly léčebný cyklus s indukcí ovulace pomocí gonadotropních hormonů a odběrem vlastních oocytů. Jednalo se celkem o 38 cyklů (3,7 % všech AR cyklů) (obr. 1).

Skupina DO (darovaná oocyty) – pacientky, které využily program dárcovství oocytů. Celkem využily pacientky této možnosti v 65 léčebných cyklech (6,4 % všech AR cyklů) (obr. 2,3).

Skupina DE (darovaná embrya) – pacientky, které využily program dárcovství embryí. Celkem v 15 cyklech byla příjemkyním po estro-gestagení přípravě endometria trans-

ferována darovaná embrya (1,4 % všech AR cyklů) (obr. 4).

Metodika

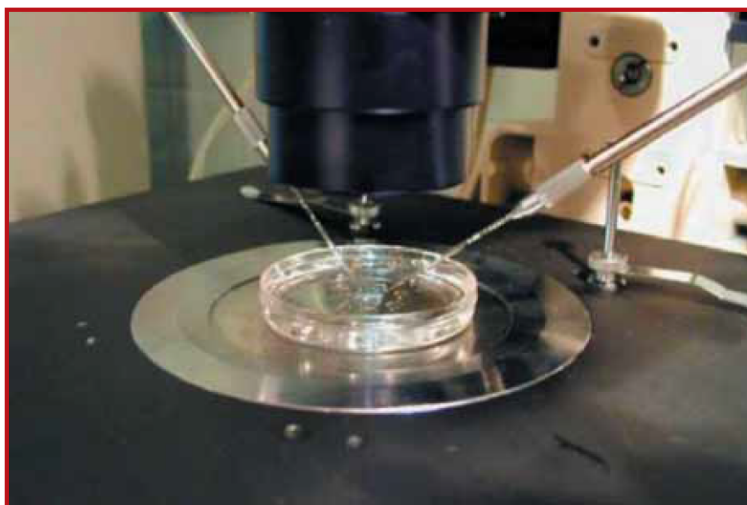
V jednotlivých terapeutických skupinách byla vyhodnocena efektivita léčebných postupů. Mezi kritéria evaluace byla zařazena:

- celková spotřeba gonadotropních hormonů nutných k indukcí ovulace (FSH),
- procento stimulačních cyklů ukončených aspirací oocytů (OR),
- průměrný počet získaných oocytů při folikulocentéze (OO),
- průměrné procento oplozených oocytů (fertilisation rate – FR) vzhledem k počtu získaných oocytů
- procento léčebných cyklů ukončených přenosem embryí (ET) z celkového počtu provedených cyklů
- procento léčebných cyklů s kryokonzervací nadpočetných kvalitních embryí (KRYO) z celkového počtu provedených cyklů
- procento dosažených klinických gravidit na ET (GR/ET)

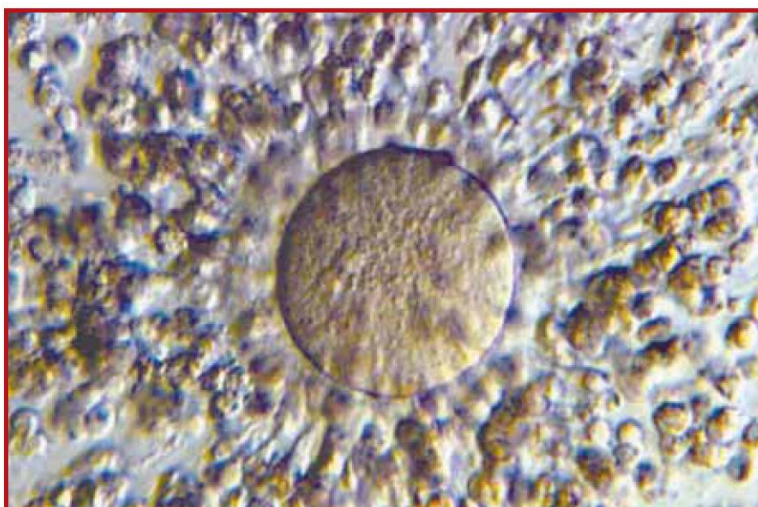
Tab. 1. Soubor perimenopauzálních dysfertálních žen.

Celkem 1 023 ART cyklů CAR 01 GPK FN Brno 2003–2004

Pacientky	> 40 let:	N cyklů	%/ART cyklů
	IVF	38	3,7 %
	DO	65	6,4 %
	DE	15	1,4 %

**Obr. 1. In vitro fertilizace – mikromanipulátor.**

Terapeutické možnosti asistované reprodukce u perimenopauzálních žen



Obr. 2. Oocyt s corona radiata.



Obr. 3. Oocyt s pólóvým tělískem.



Obr. 4. Embrya ve fázi expandované blastocysty.

Výsledky

Skupina IVF - in vitro fertilizace

Ve skupině IVF bylo provedeno za sledované období celkem 38 cyklů u pacientek, které absolvovaly indukci ovulace. Průměrná spotřeba rekombinantního FSH byla v této skupině 35 ampulí na cyklus. Odběr vlastních oocytů byl realizován v 89,5 % cyklů a průměrně bylo během folikulocentézy získáno 6 oocytů. Při standardním fertilisation rate 76,2 % absolvovalo 74,3 % pacientek čerstvý embryotransfer. V 15,8 % cyklů v této skupině byla kvalitní nadpočetná embrya kryokonzervována. Procento klinických gravidit na ET (pregnancy rate) v IVF skupině bylo 7,00 % (tab. 2).

Skupina DO - darované oocyty

Ve skupině DO bylo realizováno celkem 65 cyklů. Pacientky této skupiny využily program dárcovství oocytů. Recipientky získaly od dárkyně v průměru 4,5 oocytů na cyklus a při adekvátním fertilisation rate 76,2 % jich plných 100,0 % absolvovalo čerstvý přenos embrya. Pouze v 1,5 % cyklů byla kvalitní nadpočetná embrya kryokonzervována. Procento klinických gravidit na ET (pregnancy rate) ve skupině darovaných oocytů bylo 26,2 % (tab. 3).

Skupina DE - dárcovství embryí

Za sledované období bylo provedeno celkem 15 léčebných cyklů u pacientek, které využily program dárcovství embryí. Celkem absolvovalo 100 % pacientek přenos embrya po rozmražení – kryoembryotransfer. Žádná embrya nebyla po rozmražení znovu kryokonzervována. Procento klinických gravidit na ET (pregnancy rate) v této skupině byl 13,3 % (tab. 4).

Diskuse

V centru asistované reprodukce CAR 01 Gynekologicko-porodnické kliniky FN Brno byl za sledované období prakticky každý 10. léčebný cyklus proveden u pacientky v perimenopauze. Jedná se tedy o aktuální problematiku, se kterou se lékaři v centru setkávají téměř denně. Program dárcovství oocytů spolu s estrogenní a gestagenní přípravou endometria se v této věkové kategorii jeví jako optimální léčebný postup. Tento postup se jeví jako vysoce racionální i vzhledem k limitům ze strany zdravotních pojišťoven, které léčbu neplodnosti nad 40 let věku nehradí. Vzhledem k nízké efektivitě klasické in vitro fertilizace [12] v této skupině pacientek, kterou navíc komplikuje i vyšší incidence spontánních abortů [13] a vyšší náklady na léčbu, byla věková hranice úhrady ART ze stran zdravotních pojišťoven

Terapeutické možnosti asistované reprodukce u perimenopauzálních žen

stanovena na 39 let + 364 dnů [14]. Ženy nad 40 let věku nebo pacientky, které již absolvovaly 3 kompletní léčebné cykly mimořádného oplázní včetně embryotransferu, nesou náklady na terapii jako samoplátcí.

Program dárcovství oocytů byl historicky zahájen referencí o první graviditě po oplázní darovaného oocytu, a to již v roce 1984 [5]. V počátcích této metodiky byly do programu indikovány pouze pacientky s primární ovariiální insuficiencí. Indikační spektrum rozšířil v roce 1989 Serhal, a to právě na skupinu perimenopauzálních žen s nízkou odpovědí na indukci ovulace v programu IVF, tzv. „low responders“. Jeho práce pak byly rozšířeny o poznatky Antinoriho [1] a Sauera [8]. Zásadní výhodou tohoto postupu, kromě vysoké efektivity, je ten fakt, že příjemkyně nemusí podstupovat vlastní stimulaci vaječnicků a odběr oocytů v celkové anestezii.

Program dárcovství embryí v principu umožňuje využití kryokonzervovaných embryí nebo tzv. čerstvých embryí z programu IVF. Kryokonzervovaná embrya jsou poskytnuta k darování zpravidla páry, u kterých byla předchozí léčba zdárně ukončena porodem zdravého dítěte nebo dětí a „nadpočetná“ uskladněná embrya již pár dále neholdá pro vlastní potřebu využít. Za dodržení přísných etických a klinických i legislativních

pravidel mohou být tato embrya použita v donorském programu. Tzv. čerstvá embrya z programu IVF vznikají oplázním darovaných oocytů spermii dárcí a za současné synchronizace menstruačního cyklu dárkyně a příjemkyně jsou po prodloužené kultivaci transferována. Tento postup je vhodný pro páry s kombinací ovariiálního a andrologického faktoru neplodnosti. Výhodou je výrazně vyšší pregnancy rate u čerstvého embryotransferu proti přenosu embryí po rozmražení.

ART v perimenopauze je problematika, které se žádné větší centrum asistované reprodukce ve své praxi nevyhne. Stále více pacientek se bude obracet na svého registrujícího gynekologa s žádostí o radu v této situaci. Současné možnosti AR v perimenopauze se jeví jako eticky přijatelné s přihlédnutím na všechna související rizika potenciální gravidity v dané věkové kategorii. Uplatnění metod AR v období menopauzy je považováno za postup kontroverzní. Cost benefit léčby v této skupině je třeba korelovat s „ovariálními“ a „biologickými“ věkem ženy a eventuelní léčbu přísně individualizovat.

Závěr

Program dárcovství oocytů spolu s estrogenní a gestagenní substitucí rozšiřuje tera-

peutické možnosti řešení dysfertility perimenopauzálních žen. Při zachování vysoké úspěšnosti léčby se v této věkové skupině jeví jako optimální léčebný postup (tab. 5). Dárcovství oocytů představuje racionální postup, který z etického hlediska reprezentuje naprosto samostatnou a specifickou problematiku.

Literatura

1. Antinori S, Versaci C, Gholami GH, Panci C, Caffa B. Oocyte donation in menopausal women. Hum Reprod 1993; 8: 1487–1490.
2. Belaisch-Allart J, Devaux A, Ayel JP, de Mouzon J. FIVNAT. Women of 40 and older in i.v.f. and i.c.s.i.: the FIVNAT data. Gynecol Obstet Fertil 2004; 32 (9): 730–6.
3. Burcin B, Caithamlová E, Kučera T, Mardešić T, Ventruba P. Demografické souvislosti asistované reprodukce v České republice a na Slovensku. Prakt Gyn 2004; 5: 11–12.
4. Cicinelli E, Cignarelli M, Resta L, Scordia P, Petruzzi D. Effects of the repetitive administration of progesterone by nasal spray in postmenopausal women. Fertit Steril 1993; 60 (6): 1020–4.
5. Lutjen P, Trounson A, Leeton J, Findlay J, Wood C, Renou P. The establishment and maintenance of pregnancy using in vitro fertilization and embryo donation in a patient with primary ovarian failure. Nature 1984; 307 (5947): 174–5.
6. Navot D, Bergh PA, Williams MA, Garrisi GJ, Guzman I. Poor oocyte quality rather than implantation failure as a cause of age-related decline in female fertility. Lancet 1991; 337 (8754): 1375–7.
7. Padilla SL, Bayati J, Garcia JE. Prognostic value of the early serum estradiol response to leuprolide acetate in in vitro fertilization. Fertit Steril 1990; 53 (2): 288–94.
8. Sauer MV, Paulson RJ, Lobo RA. N Engl J Med 1990; 323: 1157–1160.
9. Sauer MV, Paulson RJ, Lobo RA. Pregnancy after age 50: application of oocyte donation to women after natural menopause. Lancet 1993; 341 (8841): 321–3.
10. Serhal PF, Craft IL. Oocyte donation in 61 patients. Lancet 1989; 1 (8648): 1185–7.
11. Schwartz D, Mayaux MJ. N Engl J Med 1982; 306: 409–412.
12. Ventruba P, Višňová H, Hudeček R. Kam směřuje vývoj asistované reprodukce v České republice? Národní registr ART 1993–1996. Prakt Gyn 1997; 1: 20.
13. Ventruba P, Mardešić T, Pilka L, Črha I, Višňová H, Hudeček R. Registr asistované reprodukce: výsledky a analýza komplikací. Čes Gynek 1998; 63: 39–41.
14. Ventruba P, Višňová H, Hudeček R, Lokajová J. 10 let národního registru asistované reprodukce v ČR. Asistovaná reprodukce 1997; 1: 6–7.

Tab. 2. In vitro fertilizace u perimenopauzálních žen.

IVF	cyklů	FSH	OR	OO	FR	ET	KRYO	GR/ET
	n	amp	(%)	n	(%)	(%)	(%)	(%)
	38	35	89,5	6	76,2	74,3	15,8	7,0

Tab. 3. Program darovaných oocytů u perimenopauzálních žen.

DO	cyklů	FSH	OR	OO	FR	ET	KRYO	GR/ET
	n	amp	(%)	n	(%)	(%)	(%)	(%)
	65	-	-	4,5	76,2	100,0	1,5	26,2

Tab. 4. Program darovaných embryí u perimenopauzálních žen.

DE	cyklů	FSH	OR	OO	FR	ET	KRYO	GR/ET
	n	amp	(%)	n	(%)	(%)	(%)	(%)
	15	-	-	-	-	100,0	0,0	13,3

Tab. 5. Efektivita ART u perimenopauzálních žen.

	cyklů	FSH	OR	OO	FR	ET	KRYO	GR/ET
	n	amp	(%)	n	(%)	(%)	(%)	(%)
IVF	38	35	89,5	6	76,2	74,3	15,8	7,0
DO	65	-	-	4,5	76,2	100,0	1,5	26,2
DE	15	-	-	-	-	100,0	0,0	13,3

as. MUDr. Robert Hudeček
 prof. MUDr. Pavel Ventruba, DrSc.
 MUDr. Eva Juránková
 MUDr. Denisa Petrovová
 MUDr. Jana Žáková
 MUDr. Eva Bulínová

Gynekologicko-porodnická klinika
 LF MU a FN Brno

3.3.4. Onkofertilita – ochrana reprodukčních funkcí

Nádorová onemocnění patří hned po kardiovaskulárních chorobách mezi nejčastější příčiny smrti v reprodukčním věku žen i mužů, i přes obrovský rozmach diagnostiky a léčby v onkologii. S rozvojem nových diagnostických metod dochází k záchytu nádorového bujení ve stále časnějších stadiích a s použitím moderních metod chemo a radioterapie přibývá pacientů, které se podaří trvale vyléčit či dosáhnout u nich dlouhodobé remise onemocnění. Chemoterapie jako jedna ze základních modalit onkologické léčby zanechává často trvalé následky a mezi nejčastější patří právě neplodnost na základě ireverzibilního poškození gonád. Typickým příkladem nemocí s dobrou odezvou na chemoterapii a s dobrou prognózou quod vitam je Hodgkinův lymfom (HL) [76].

V závislosti na druhu chemoterapie a počtu podaných cyklů dochází k poruchám funkce gonád u žen ve fertilmím věku v 70–100 % případů [77] U mužů dokážeme těmto následkům předejít včasným odběrem spermatu a jeho kryokonzervací ještě před zahájením systémové protinádorové léčby. Přesto je zajímavé, že na základě výsledků vyšetření spermioqramu u našich pacientů s HL pozorujeme různě závažné poruchy spermatogeneze ještě před zahájením cytostatické léčby. To upozorňuje na možnou souvislost kvality spermatu se základním onemocněním [78]. U žen není otázka ochrany ovariálních funkcí dosud zcela vyřešena, přičemž se zdaleka nejedná pouze o onkologické pacientky, ale také o ženy podstupující z různých důvodů cytostatickou či imunopresivní léčbu (systémová autoimunitní onemocnění, revmatická onemocnění, vaskulitidy, transplantace orgánů).

Předčasné ovariální selhání (premature ovarian failure, POF) je častým dlouhodobým následkem léčby chemoterapií a radioterapií. Klinicky je definováno jako zástava menzes delší než 6 měsíců u ženy mladší 40 let s vysokou elevací gonadotropinů (FSH a LH nad 15 IU/l). Na rozdíl od jiných, rychle proliferujících tkání organismu, bývá poškození ovarií většinou nevratné, a to v důsledku předem determinovaného počtu ovariálních folikulů při narození. Destrukce folikulů vede k primární ovariální insuficienci a následné sterilitě s příznaky klimakterického syndromu [79]. Mechanismus účinku chemoterapie na ovaria dosud není zcela objasněn, i když se předpokládá toxické působení na buňky membrana granulosa nebo oocyt, vedoucí ke konečné atrezii folikulu [80]. Alkylační cytostatika, zasahující do buněčného cyklu převážně rychle se množících buněk, působí na buňky membrana granulosa, jejichž dělení probíhá pod kontrolou hypofyzárních gonadotropinů. Nepřímé důkazy naznačují, že právě gonadotropní stimulace je předpokladem pro účinek chemoterapeutika na ovarium. Podávání alkylačních substancí vede k rychlému zániku již zralých folikulů, následnému nástupu dozrávání ještě nezralých folikulů a urychlení deplece počtu primordiálních folikulů [81]. Riziko rozvoje předčasného ovariálního selhání u žen po chemoterapii závisí zejména na věku pacientky, typu použitého gonadotoxického agens, použitém léčebném režimu a celkové kumulativní dávce [82].

Metody ochrany ovariální funkce

Moderní metody asitované reprodukce mohou dnes nabídnout vyléčeným onkologickým pacientkám šanci na vlastní rodinu, ale v posledních letech jsou usilovně vyvíjeny i postupy k prevenci neplodnosti již před zahájením a v průběhu onkologické léčby.

Kryokonzervace gamet

Rutině používanou metodou, která vede k záchraně fertility u mužů je kryokonzervace spermatu před onkologickou léčbou, která má na našem pracovišti dlouholetou tradici a je hojně využívána lékaři většiny klinických oborů, což svědčí o jejím širokém povědomí mezi odbornou i laickou veřejností. Analogií výše popsané metody u žen je kryokonzervace oocytů. Jedná se o metodu intenzivně rozvíjenou zejména v posledním desetiletí, nicméně jejímu rutinní rozšíření do běžné praxe zatím brání poměrně malá úspěšnost při dosažení fertility z kryokonzervovaných oocytů [83]. Přestože významných úspěchů v této oblasti již bylo dosaženo, je potřeba dořešit ještě mnoho otázek při standardizaci procesu kryokonzervace i rozmrazování lidských oocytů.

Kryokonzervace embryí

Další běžně používaný postup, který muže vést k záchraně fertility před zahájením onkologické léčby, je provedení IVF cyklu s oplozením a následně kryokonzervace embryí po jejich kultivaci v podmínkách *in vitro* [84]. Tato metoda je technicky již dobře zvládnuta a zavedena do běžné praxe, nicméně její využití je limitováno několika závažnými podmínkami. Nejvíce limitujícím požadavkem je poměrně časná stadium onkologického procesu a s tím související dobrý zdravotní stav pacientky, který dovolí odsunutí zahájení onkologické léčby o přibližně 3–4 týdny, a podstoupení ovariální stimulace s následným odběrem oocytů. Dalším převážně legislativně-etickým omezením je existence partnera pacientky a jeho písemný souhlas s provedením IVF cyklu a poskytnutí jeho spermií k oplození získaných oocytů.

Kryokonzervace ovariální tkáně

Metodou volby u pacientek, které nesplňují některé z výše uvedených podmínek je možnost kryokonzervace ovariální tkáně před zahájením onkologické léčby. Technika odběru a kryokonzervace je již poměrně dobře propracovaná, základní limitací metody je ovšem proces *in vitro* maturace nezralých oocytů v takto získané ovariální tkáni [85]. Pokroky v kryobiologii ovariální tkáně vyzkoušené na laboratorních zvířatech odstartovaly mnoho projektů bank ovariální tkáně, které mohou urychlit rozvoj této prozatím experimentální metody v běžné klinické praxi [86].

Ochrana reprodukčních funkcí aplikací GnRH analog

Všechny výše popsané metody vycházejí s rozvinutých metod AR a využívají zkušeností s kryokonzervací lidských gamet či embryí. Zásadní otázkou zůstává možnost prevence ovariálního poškození agresivní chemoterapeutickou léčbou. Bylo opakovaně pozorováno, že dívky léčené pro nádorové onemocnění v prepubertálním věku nevykazují tak častá poškození ovariálních funkcí ve srovnání s dospělými ženami, jejichž zárodečné buňky podléhají cyklické hormonální stimulaci a proliferaci. Základní vlastností oocytů je jejich rozsáhlý germinální potenciál a dělicí schopnosti, které je předurčují jako jednu z prvních obětí agresivní chemoterapie. Na druhé straně proces folikulogeneze a maturace oocytu je vysoce hormonálně závislý a je ovlivňován celou řadou endokrinních i parakrinních látek. Mezi hormony, které hrají hlavní roli v těchto procesech, patří zejména folikuloestimulační (FSH) a luteinizační hormon (LH), jejichž sekrece je řízena působením gonadoliberinu (GnRH). Působením výše uvedených hormonálních látek je možné oocytů zastavit ve vývoji na úrovni primordiálních folikulů, jako je tomu v prepubertálním období vývoje ženy. Takto inhibované oocytů pak vykazují výrazně nižší senzitivitu na chemoterapii, jak bylo již potvrzeno v pilotních studiích izraelských autorů Blumenfelda a spol [87]. Lékem, který zastaví cyklickou sekreci FSH a LH, jsou analoga GnRH (GnRH-a) v dlouhodobém kontinuálním podání, která jsou běžně používanými léky v protokolech

ovariální stimulace při IVF [88]. Nevýhodou jejich použití je přechodné zvýšení sekrece gonadotropinů po dobu 7–10 dnů tzv. flare-up fenomén, kdy je naopak senzitivita ovariální tkáně na chemoterapii zvýšena. Metodou volby je také využití GnRH antagonistů, jejichž aplikace v kombinaci s GnRH analogem, zajistí ovariální supresi do 4–5 dnů [89].

Ovarian tissue cryopreservation - new opportunity to preserve fertility in female cancer patients

M. Huser¹, I. Crha¹, R. Hudecek¹, P. Ventruba¹, J. Zakova¹, L. Smardova², Z. Kral²

¹Department of Obstetrics and Gynecology; ²Department of Internal Medicine and Hematooncology
Brno University Hospital and Masaryk University School of Medicine, Brno (Czech Republic)

Summary

Introduction: Malignant disease and the therapy are major factors that may result in complete loss of fertility. There are several strategies for fertility preservation in fertile women faced with cancer. A modern and potentially effective method of reproductive function protection is ovarian tissue cryopreservation.

Materials and Methods: This paper summarizes the medical and scientific knowledge in this interesting multidisciplinary medical field. Furthermore, the authors' own experience with this novel and interesting method of ovarian tissue protection is presented. Ovarian tissue was obtained during laparoscopic surgery in five nuliparous women (aged 19-33) with a diagnosis of lymphoma before chemotherapy from 2004 to 2006. After laboratory preparation, tissue was frozen by a slow cooling technique and stored in liquid nitrogen.

Results: In total 75 women with malignant lymphoma before chemotherapy were referred to our center for consultation - 68 chose ovarian inactivation by GnRH analogues during chemotherapy, two IVF cycles with embryo or oocyte cryopreservation and five ovarian tissue cryopreservation. In these five women one to two slices of ovarian cortex from both ovaries were recovered. Totally 20 cryotubes with three pieces of tissue in each were cryopreserved. In no case was metastasis of cancer cells found by histological evaluation.

Conclusions: Cryopreservation of ovarian tissue represents an effective alternative or addition to the cryopreservation of embryos or oocytes for women at risk of premature ovarian failure due to chemotherapy. Reproductive function protection requires close cooperation between oncology departments and assisted reproduction centers.

Key words: Cancer, Infertility, Chemotherapy, Ovary, Cryopreservation.

Introduction

After cardiovascular diseases, tumor diseases are the second major cause of death in both men and women of reproductive age despite significant developments in cancer diagnostics and therapy. According to data published by the American Cancer Society, 600,000 women are newly diagnosed with cancer in the USA every year, of whom 60,000 (10%) are of reproductive age [1]. The situation in the Czech Republic is similar. According to data collected by the Czech National Oncology Registry (NOR), 58,000 women of reproductive age were diagnosed with cancer in 2003 [2]. Newly developed diagnostic methods are increasingly effective at detecting cancer growth at earlier stages and due to advanced methods of chemotherapy and radiotherapy the number of patients who have been cured successfully or who are in long-term remission of the disease is on the rise.

The American National Cancer Institute (NCI) has estimated that in 2010 one in 250 adults will have a history of successful treatment of a malignant tumor [3]. Chemotherapy as one of the basic modalities of cancer therapy often leaves permanent side-effects in patients including infertility as a result of irreversible damage to the gonads [4]. The current methods of assisted reproduction can give cured cancer patients a chance of having their own children. In addition, intensive efforts over the past few years have also been made to develop procedures to prevent infertility during the course of cancer therapy.

Materials and Methods

Chemotherapy and infertility

The mechanism of the action of chemotherapeutics on ovaries has not yet been fully explained. Most theories assume the toxic effect on membrana granulosa cells or the oocyte leading to the terminal atresia of the follicle. Cytostatic agents largely interfere with the cell cycle of fast growing cells, including membrana granulosa cells, the division of which takes place under the control of pituitary gonadotropins. There is some indirect evidence that gonadotropic stimulation in particular is a prerequisite for the effect

Revised manuscript accepted for publication March, 2007

of a chemotherapeutic agent on the ovary. The administration of alkylating substances results in the fast destruction of follicles with the subsequent maturation of immature follicles and accelerated depletion of primordial follicles [5].

Cytostatics differ in their gonadotoxic effects. Whereas alkylating cytostatics are some of the substances with the most aggressive effects, methotrexate and 5-fluorouracil show minimal adverse effects on the follicular apparatus of ovaries or spermatogenesis. Clinical consequences of ovarian damage in women of reproductive age are manifested as secondary amenorrhea or oligomenorrhea, which may be corrected spontaneously after the completion of therapy. Some women, particularly those over 30 years of age, may show permanent amenorrhea and may develop premature ovarian failure with a hormone profile indicating hypergonadotropic hypogonadism [6].

The risks of premature ovarian failure in women who have undergone chemotherapy depend on the patient's age, gonadotoxic agent used, therapeutic regimen, and the total cumulative dose. An overview of gonadotoxic chemotherapeutics is provided in Table 1 and the cumulative gonadotoxic dosage of selected chemotherapeutic agents is presented in Table 2.

Gamete damage prevention methods

Sperm cryopreservation prior to cancer therapy has been a routinely used method for protecting male fertility at our department for a number of years [7]. This procedure is frequently employed by physicians in the majority of clinical fields, which shows that both the professional and non-professional communities are well aware of it. Oocyte cryopreservation in female patients appears to be an analogous method to the above-mentioned sperm cryopreservation in male patients. This method has undergone intensive development particularly over the last ten years. However, its routine use in practice is prevented due to a relatively low success rate in achieving fertility from cryopreserved oocytes [8]. Technological procedures of cryopreservation and thawing, which would be capable of preventing zona pelucida hardening and damage to the assembly of microtubules (meiotic spindle, which an essential factor for completing meiosis in the mature oocyte) [9], are currently being investigated very intensively.

Another clinically used procedure to protect fertility prior to cancer therapy is the performance of an IVF cycle with fertilization followed by the cryopreservation of embryos after they have been cultured in vitro [10]. This method has been well elaborated from a technological point of view and has been introduced in practice. However, its use is limited by several serious conditions. One of the most limiting factors is that cancer in a patient must be detected at a relatively early stage and the patient should be in good health allowing postponement of the initiation of cancer therapy by approximately three to four weeks in order to undergo ovarian stimulation followed by oocyte retrieval. Another limitation that is of importance from a legislative and ethical perspective is the existence of the patient's partner who should give his written consent for the performance of an IVF cycle and provide his sperm to be used to fertilize the patient's retrieved oocytes.

Ovarian tissue cryopreservation (OTC) is an analogous method to the cryopreservation of sperm, oocytes, and embryos. This method has been investigated intensively over the last few years. One of the major advantages of this method is that it can be performed during clinical staging of the tumor disease without the need to postpone the start of anticancer treatment. Another huge advantage of this method is that the patient does not need to undergo hormone treatment, which could affect the biological behavior of some types of malignant cells.

All of the above-mentioned methods are based on the developed AR methods and knowledge obtained in the cryopreservation of human gametes and embryos. With their significant germinant potential, gametes are predetermined to become the first victims of aggressive chemotherapy. The process of folliculogenesis and the maturation of an oocyte are controlled particularly by hormones. Gonadoliberin analogues (GnRH-a) belong to a group of clinically used drugs capable of affecting these processes. Pilot studies show that by using these drugs the development of oocytes can be stopped at the stage of primordial follicles (as seen in the prepubertal development of a female). The resulting oocytes inhibited in this way will then show a significantly lower sensitivity to chemotherapy [11]. The protective effect of GnRH analogues on ovarian tissue is now being verified in a prospective cohort study in patients with Hodgkin's lymphoma (being conducted at our department).

In 2004, the birth of the first healthy child after orthotopic autotransplantation of ovarian tissue was reported [12], showing the clinical utilization of the procedure and giving young women diagnosed with malignant tumors a chance to have their own children. The following text contains an overview of the knowledge and successful treatments achieved in this interesting multidisciplinary area.

Indication for ovarian tissue cryopreservation

Ovarian tissue cryopreservation is an alternative to the prevention of ovarian damage or failure in patients who have recently been diagnosed with a tumor disease and who should undergo chemotherapy as soon as possible [13, 14]. The main goal of the whole

Table 1. — Overview of gonadotoxic cytostatics.

Alkylating substances	Cyclophosphamide
	Chlorambucil
	Melphalan
	Busulphan
	Carbustine (BCNU)
	Lomustine (CCNU)
	Methoxamine
Anti-metabolites - platinum derivatives, Vinca alkaloids,	Cisplatine, carboplatine
Taxanes	Vinblastine, Vincristine
	Paclitaxel
	Docetaxel
	Cytosine arabinoside
	Procarbazine

Table 2. — Cumulative dose of cytostatics that induced permanent azoospermia in more than 50% of patients.

Adapted according to Schrader M. et al.: "Oncology", 2001, 24, 326 [32].

Cyclophosphamide	7.5 g/m ²
Procarbazine	2.5 g/m ²
Chlorambucil	1.4 g/m ²
Vincristine	1.0 g/m ²
Paclitaxel	1.3 g/m ²
Cisplatine	4.0 g/m ²
Carbustine	2.5 g/m ²

process is to offer a patient who has completed anticancer treatment and shows no signs of remission of the basic disease the possibility of reimplanting the cryopreserved ovarian tissue either into the small pelvis or into another part of her body (heterotopic autotransplantation).

In addition, this method can also be employed for a number of benign systemic diseases that require cytotoxic chemotherapy (e.g., systemic lupus and some other diseases, particularly diseases of the immune system). Furthermore, this method can be used in some ovarian diseases such as recurrent ovarian cysts and extensive pelvic endometriosis [15, 16].

Ovarian tissue cryopreservation procedure (OTC)

This topic has been addressed in a number of experimental studies over the past ten years. In their 1996 pilot study, Hovatt and Newton tested cryopreservation procedures using different cryoprotective agents and confirmed that ovarian tissue resists deep freezing [17, 18]. Later, Newton and particularly Gook found that it is primordial follicles that show the greatest resistance to the overall freezing and thawing process, allowing mature MII oocytes to develop from originally frozen and subsequently thawed ovarian tissue implanted in immunodeficient mice [19, 20].

Until now, successful transplantation of ovarian tissue that underwent a freezing-thawing cycle has been reported not only in mice, but also in sheep, rabbits, and marmoset monkeys [21-23]. These studies show a clear correlation between tissue damage and the duration of ischemia during tissue retrieval and processing. The decrease in the number of primordial follicles due to hypoxia was estimated to be 50-65%. Some of the studies indicate that the cells of ovarian tissue are able to survive ischemia for a period of up to three hours.

The potential use of substances such as antioxidants (ascorbic acid) and vascular endothelial growth factors (VEGFs), which would allow a decrease in the number of cells damaged due to cryopreservation [24], is currently under investigation.

These positive results have prompted the development of cryopreservation procedures and protocols in human medicine. Two basic types of cryopreservation protocols differing by cryoprotectant used are currently being utilized. Their advantages and limitations are summarized in Table 3. Evaluation of the success of cryopreservation procedures (the survival of primordial follicles and

the rate of fibrotization of the graft after transplantation) is based on methods of histological examination of tissues.

In 2004, the first euploid embryo generated after autotransplantation of a frozen sample of ovarian tissue followed by the birth of a child after orthotopic transplantation in a patient treated for lymphoma [12, 25] was reported. In the latter paper [25], the ovarian tissue was transplanted orthotopically, i.e., in the area next to the original ovary destroyed by chemotherapy. The patient showed sporadic ovulation. It is therefore possible from a theoretical point of view that the pregnancy might have resulted from the original ovary left in situ rather than from the transplanted ovarian tissue. In their paper published in 2005, Israeli authors reported the pregnancy and birth of a healthy child after orthotopic autotransplantation of ovarian tissue followed by an IVF cycle in a 28-year-old woman three years after she had undergone chemotherapy for non-Hodgkin's lymphoma [26].

The whole OTC procedure is more complex than the cryopreservation of an embryo or oocyte. Unlike routine freezing of gametes, it resembles procedures of the cryopreservation of organs and other tissues

Table 3. — *Cryopreservation protocols - ovarian tissue cryopreservation.* Adapted according to Gook DA et al.: "European Journal of Obstetrics, Gynaecology and Reproductive Biology", 2004, 113S, 41 [33].

Protocol with dimethylsulfoxide (DMSO)	Protocol with 1,2-propanediol (PROH)
Developed in 1994	Developed in 1996
Ovarian cortical strips with a thickness of 1 mm	Ovarian cortical strips (2 mm x 4 mm x 1 mm)
Dehydration: solution 1.5M DMSO + 10% Leibovitz L-15 medium, 15 minutes	Dehydration: solution 1.5M PROH + 0,1M sucrose-phosphate + 10 mg/ml human serum albumin, 90 minutes
Slow freezing: 2°C/min to -7°C, 0.3°C/min to -40°C, 10°C/min to -140°C, stored in liquid nitrogen	Slow freezing: 2°C/min to -7°C, 0.3°C/min to -30°C, 50°C/min to -150°C, stored in liquid nitrogen
Fast thawing: 2 min in air 24°C, 3 x 2 min in water bath 22°C	Fast thawing: 2-3 min in water bath 37°C

Table 4. — *Patients who underwent ovarian tissue cryopreservation at the Clinic of Gynaecology and Obstetrics in Brno.*

Patient no.	Age	Parity	Cancer diagnosis	Subsequent cancer therapy	Dispenz.
1	24	0	NHL	CHT (R-CHOP) + RT 30 Gy	Relapse
2	19	0	HL	CHT (BEACOPP) + RT 30 Gy	Remission
3	31	0	HL	CHT (ABVD) + RT 35 Gy	Remission
4	28	0	Ca cerv. uteri	Radical trachelectomy + RT	?
5	22	0	HL	CHT (BEACOPP) + RT	?

HL: Hodgkin's lymphoma; NHL: Non-Hodgkin's lymphoma; CHT (x): chemotherapy (regimen); RT: radiotherapy.

(e.g., kidneys, liver, etc.) used in transplantology, as it requires the preservation of more types of cells. More than 90% of ovarian cortical cells consist of primordial follicles surrounded by a layer of granulous cells and fibrous tissue. Most follicles are located up to 1 mm under the cortical epithelium of the ovary. To use this tissue for transplantation and preserve the growth potential of follicles it is assumed that the integrity of the adjacent structures of ovarian tissue should also be preserved.

Tissue retrieval and processing

Laparoscopy in combination with short-term general anesthesia is the best way to perform biopsy. Due to the localization of primordial follicles in the ovary, several slices of the ovarian cortex with a thickness of 1-3 mm have to be collected. The total volume of the tissue collected and the extent of resection has to be decided. The literature describes several procedures ranging from the removal of the whole ovary or its parts to the collection of small samples of tissue using bioptic forceps. The optimum method with

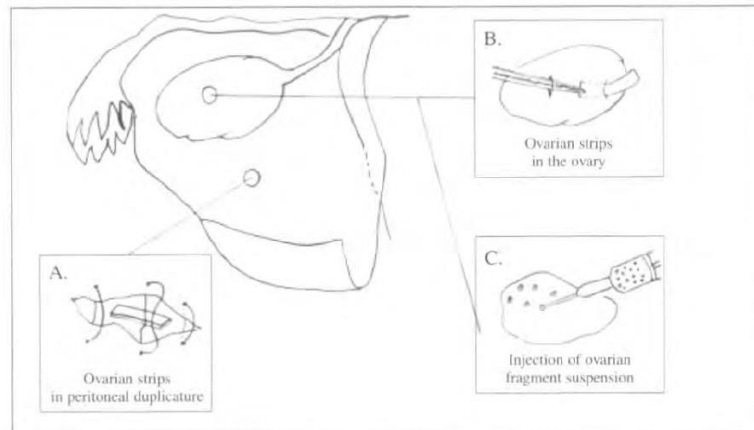


Figure 1. — Orthotopic ovarian tissue transplantation techniques (own material).
A) Ovarian strip placement in peritoneal duplicature; B) Placement of ovarian strips in the ovarian cortex; C) Injection of ovarian fragment suspension into ovarian cortex.

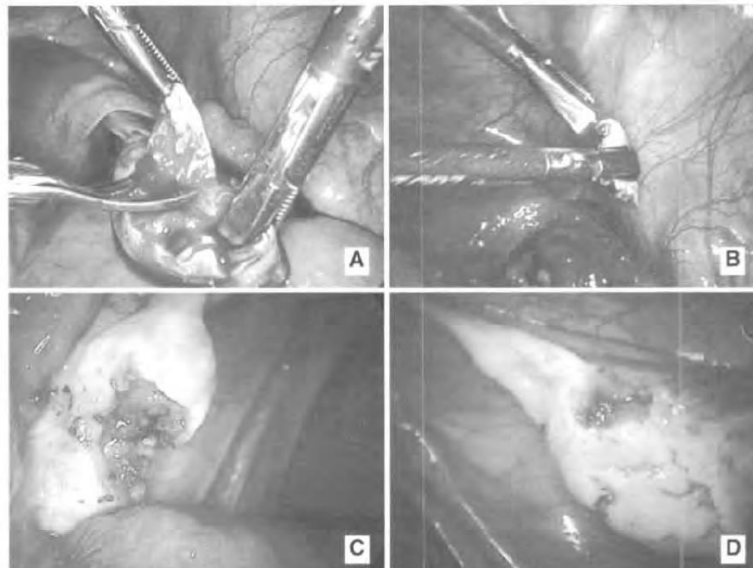


Figure 2. — Laparoscopic biopsy of ovarian tissue (own materials).
A) Cortical ovarian biopsy; B) The sample collected; C) The ovary after biopsy and coagulation of the edges of the wound; D) Random ovarian biopsy after treatment by coagulation.

regard to further processing appears to be the retrieval of two to three strips of tissue from both ovaries followed by processing to smaller pieces sized approximately 10 x 3 x 2 mm ("cortical strips") prior to cryopreservation.

The duration of ischemia is the principal limiting factor for the survival of follicles in the bioptic sample. To minimize ischemia-induced damage in experiments with animal models, the perfusion of the whole ovary was performed using cryoprotectants followed by freezing of the sample as a whole [27]. However, observations made by the authors showed that survival rates of follicles after freezing of the whole ovary did not differ much from those obtained using the method of freezing cortical strips.

Ovarian tissue autotransplantation

Methods of ovarian tissue autotransplantation in humans can be divided into orthotopic and heterotopic. Orthotopic transplantation means that the graft is placed in the small pelvis in the ovarian fossa or directly in the hormone-inactive ovary. Samples can be

placed either in the peritoneal duplicature and fixed by a suture or directly in the ovary using different techniques [12] (Figure 1). The most promising appears to be placement of the ovarian strips directly to the ovarian cortex and fixation through a suture (Figure 1B) [26].

Some authors have also demonstrated that compared to other regions (subcutis, muscle tissue) peritoneal tissue is better suited to transplantation since the loss of primordial follicles is smaller [28]. One disadvantage of orthotopic transplantation is that the surgery is more invasive and sometimes requires laparotomy. However, use of the laparoscopic approach prevails, particularly due to the advanced nature of this surgical method.

Heterotopic transplantation of the graft into hypodermis is another option. With this option the surgery is a far less invasive procedure, without the need of general anesthesia in most cases. Transplantation techniques into the subcutis of the forearm and hypogastrum have been described. Studies with monkeys have also confirmed the ability of the ovarian graft to form mature oocytes in a foreign environment of subcutis outside the small pelvis. Human medicine has succeeded in developing a diploid embryo in the autotransplant but pregnancy after embryo transfer has not yet been achieved [29].

Monitoring and further use of the autotransplant

Restoration of the menstrual cycle in a patient with iatrogenic amenorrhea after chemotherapy (hypergonadotropic hypogonadism) provides clinical evidence that the transplant is functioning. According to papers published so far, menstruation started spontaneously in an interval of six to 12 months after transplantation.

The simplest way of monitoring the function of the transplanted ovarian graft is to examine the levels of ovarian steroids and gonadotropins. This laboratory method is readily available and inexpensive. Another approach which is quite advanced and offers higher sensitivity is to monitor new markers and parameters of ovarian function and pool - inhibins (INH-A, INH-B) and antimüllerian hormone (AMH). Their levels in the blood start to rise several weeks before significantly decreased levels of gonatropin are detected.

Another way of monitoring the function of the autotransplant is bioptic verification combined with subsequent histopathological analysis or some molecular biology methods (FISH or PCR probe on the structures of ovarian tissue). The principal disadvantage of this approach is that it is invasive and there is a risk that the functional pool of the transplant sample will decrease.

In the case of long-time remission of cancer, the use of the autotransplant can be considered to obtain oocytes, followed by fertilization and the development of an embryo. In the case of orthotopic transplantation, spontaneous conception is theoretically possible although the chances of success are low. In the case of heterotopic transplantation it seems necessary as well as effective to use stimulation using gonadotropins followed by the application of oocyte retrieval techniques (OR) and in vitro fertilization techniques (IVF).

Safety of ovarian tissue cryopreservation

The retrieval of ovarian tissue is performed laparoscopically under general anesthesia and the risks associated with this intervention usually do not lead to major complications that would necessitate the postponement of cancer therapy. However, these risks should not be underestimated and the patient has to be properly informed by the surgeon and sign an informed consent.

The risk of relapse of tumor disease after autotransplantation because of the transfer of tumor cells present in ovarian tissue has to be taken into account. The majority of solid tumors in the ovary do not form metastases. Some tumor diseases have been described as forming metastases in the ovary (e.g., lobular breast carcinoma, some intestinal tumors – Krukenberg's tumor). Such risk in systemic hematopoiesis-associated tumor diseases as leukemia is not accurately known, and other options of protecting ovarian function such as those described in the introduction of this paper should be considered. Prior to freezing and particularly prior to autotransplantation, it is highly recommended to perform histological or immunohistochemical analysis of a part of the sample for the possible presence of malignant cells related to the respective type of the basic cancer disease. A contraindication for this method will certainly be in patients with a genetic predisposition for the development of breast or ovarian carcinoma, i.e., gene-positive for breast cancer antigen (BRCA1, 2).

Recommendations for practice

Ovarian tissue cryopreservation is a method that has been intensively studied over the last few years. In some countries a number of specialized laboratories and centers have been established offering this method to female patients of reproductive age. The scientific debate on the advantages and potential risks led to the foundation of the expert working group and the approach recommended by the American Society for Reproductive Medicine (ASRM) [30]. Although the guideline was issued in 2004, the following is some of what is included:

- Until now the method has only been experimental;
- Written consent from the patient and approval of the Ethics Committee are required;
- Interdisciplinary cooperation is essential - gynecologist, pathologist, oncologist, embryologist, geneticist, psychologist;
- The method should not be offered commercially as an insurance against reproductive ageing.

EU Directive No. 2004/23/EC setting standards of quality and safety for the donation, procurement, testing, processing, preservation, storage, and distribution of human tissues and cells came into force in Europe in April 2004. This directive defines the minimum standards and conditions for centres that deal with these procedures. The application of these standards may significantly reduce the availability of these medical procedures and services; on the other hand it ensures maximum safety and quality.

Our experience with ovarian tissue cryopreservation techniques

In cooperation with the Internal Clinic of Hematooncology at the Faculty Hospital, Brno, five cancer patients have undergone the biopsy and freezing of ovarian tissue at our department since January 2005. Table 4 provides an overview of indications of the intervention and detailed characteristics of patients. In all cases, the laparoscopic method was used to obtain 1-2 ovarian cortical strips with a maximum size of 5 x 10 mm and a thickness of up to 2 mm from each ovary (Figure 2). Furthermore, random biopsies from two different locations in both ovaries were performed. The samples sized up to 1 x 1 mm were examined histologically to determine the number of primordial follicles as the ovarian pool indicator and to exclude the presence of malignant cells.

The tissue retrieved was processed and frozen according to the cryopreservation protocol using 1,2-propanediol (Table 3). The retrieved ovarian tissue was placed in G Fert medium (Vitrolife) and transported to the laboratory within three minutes in a heat-insulated container. The tissue was cut in the same medium into pieces 2 x 4 x 1 mm. Pieces were frozen in EFS2 medium (Freezing Kit -Vitrolife) by a slow cooling technique using Planer freezer. The cryotubes were finally plunged into liquid nitrogen and stored. Totally 20 cryotubes with three pieces of tissue in each were cryopreserved. No cases of metastatic cancer cells were found by histological evaluation. The mean number of primordial follicles was 15.5 per 2 mm.

All patients included in the study were informed about the method and signed the informed consent. The project was approved by the Ethics Committee of the Faculty Hospital of Brno. None of the frozen samples have been used in transplantation so far. Currently, the running of this financially and organizationally demanding project is possible due to financial support from the Czech Republic Ministry of Health.

Discussion

Ovarian tissue cryopreservation as compared to cryopreservation of oocytes and embryos after fertilization has one major advantage: it does not require ovarian stimulation using gonadotropins and poses no typical risks such as ovarian hyperstimulation syndrome, or possible inflammatory or thromboembolic complications. Furthermore, ovarian stimulation is relatively contraindicated in hormone-sensitive tumors (breast carcinoma is discussed in particular) where this therapy might lead to the faster progression or dissemination of a primary tumor. Another important factor is that the start of cancer therapy does not have to be postponed for two to three weeks because of ovarian stimulation.

The minimization of ischemic damage to tissue during retrieval and processing is a very important factor for the functioning of the graft. Primordial follicles show lower sensitivity to ischemic damage while more extensive damage due to ischemia can be observed in adjacent granulosa cells. The survival rate was shown to depend on the level of cell differentiation and the number and type of cellular organelles. In spite of this, the results obtained with ovarian tissue are far more encouraging as compared to oocyte cryopreservation. Further improvement is possible with the use of new cryobiological techniques such as vitrification (very fast freezing after covering the sample with liquid nitrogen). The improvement of freezing techniques to freeze the whole ovary is also a promising topic to be investigated in the future. Recently, Martinez-Madrid *et al.* have reported very good survival rates of primordial follicles after freezing and subsequent thawing of a whole human ovary [31]. In his work performed with bovine ovaries, Bedaiwy and Falcony also achieved excellent results in autotransplantation of the whole ovary using microvascular anastomosis techniques [27]. This approach is associated with one particular difficulty - finding a suitable method to preserve the whole ovary including its blood supply structures.

The size of the functional ovarian pool after transplantation of ovarian tissue is the basic prerequisite of long-term functional grafts. Histological studies have shown very uneven distribution of primordial follicles in the ovarian cortex, which are a morphological correlate of its function. As yet it has not been possible to predict how long a graft of ovarian tissue or an ovary damaged by chemotherapy or any other treatment will function after autotransplantation.

Prior to the use of frozen ovarian tissue the question will necessarily arise as to how soon after the successful completion of anticancer treatment it is suitable to perform the transplantation of ovarian tissue in a female patient. The decision depends particularly on the patient's state of health and test results during follow-up at the particular oncological clinic. Generally, it is recommended that transplantation should only be performed if the remission of cancer has not occurred for a period of two years.

Conclusion

Although many new studies describe the restoration of the function of ovarian tissue after autotransplantation and despite the birth of a child being repeatedly described after the use of these methods, it should be understood that there are a number of questions concerning this procedure that have to be answered. Before indicating this procedure, the general status of physical and mental health of a patient should be considered and proceeding should be strictly on an individual basis. Despite major progress in cryobiology, ovarian tissue cryopreservation should still be regarded as an experimental method. The practical performance of this procedure certainly requires early and close cooperation of the clinical oncologist, gynecologist-specialist in reproductive medicine, and embryologist.

Acknowledgement

This work was supported by a scientific research grant from the Czech Republic Internal Grant Agency (IGA CR) No. NR/8469-3.

References

- [1] Ries L.G., Pollack E.S., Young J.L. Jr: "Cancer patient survival: Surveillance, epidemiology, and end results program, 1973-79". *J. Natl. Cancer Inst.*, 1983, 70, 693.
- [2] The Institute of Health Information and Statistics of the Czech Republic: "Cancer Incidence in Czech Republic 2003". *NOR*, 2006, 44, 1.
- [3] Blatt J.: "Pregnancy outcome in long-term survivors of childhood cancer". *Med. Pediatr. Oncol.*, 1999, 33, 29.
- [4] Lutchman Singh K., Davies M., Chatterjee R.: "Fertility in female cancer survivors: pathophysiology, preservation and the role of ovarian reserve testing". *Hum. Reprod. Update*, 2005, 11, 69.
- [5] Ataya K., Rao L.V., Lawrence E., Kimmel R.: "Luteinizing hormone-releasing hormone agonist inhibits cyclophosphamide-induced ovarian follicular depletion in rhesus monkeys". *Biol. Reprod.*, 1995, 52, 365.
- [6] Goswami D., Conway G.S.: "Premature ovarian failure". *Hum. Reprod. Update*, 2005, 11, 391.
- [7] Črha I., Ventruba P., Petrenko M. *et al.*: "Cryopreservation of sperm before neoplasm therapy-7 years' experience". *Ceska Gynekol.*, 2002, 67, 324.
- [8] Tucker M., Morton P., Liebermann J.: "Human oocyte cryopreservation: a valid alternative to embryo cryopreservation?". *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.*, 2004, 113 (suppl. 1), S24.
- [9] Bonni A., Bonu M.A., Coticcchio G., Bianchi V., Cattoli M., Flamigni C.: "Pregnancies and births after oocyte cryopreservation". *Fertil. Steril.*, 2004, 82, 601.
- [10] Marrs R.P., Greene J., Stone B.A.: "Potential factors affecting embryo survival and clinical outcome with cryopreserved pronuclear human embryos". *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 2004, 190, 1766.
- [11] Blumenfeld Z., Eckman A.: "Preservation of fertility and ovarian function and minimization of chemotherapy-induced gonadotoxicity in young women by GnRH-a". *J. Natl. Cancer Inst. Monogr.*, 2005, 40.
- [12] Donnez J., Dolmans M.M., Demylle D. *et al.*: "Livebirth after orthotopic transplantation of cryopreserved ovarian tissue". *Lancet*, 2004, 364, 1405.
- [13] Donnez J., Godin P.A., Qu J., Nisolle M.: "Gonadal cryopreservation in the young patient with gynaecological malignancy". *Curr. Opin. Obstet. Gynecol.*, 2000, 12, 1.
- [14] Meirov D., Fasouliotis S.J., Nugent D., Schenker J.G., Gosden R.G., Rutherford A.J.: "A laparoscopic technique for obtaining ovarian cortical biopsy specimens for fertility conservation in patients with cancer". *Fertil. Steril.*, 1999, 71, 948.
- [15] Donnez J., Bassil S.: "Indications for cryopreservation of ovarian tissue". *Hum. Reprod Update*, 1998, 4, 248.
- [16] Gosden R.G., Baird D.T., Wade J.C., Webb R.: "Restoration of fertility to oophorectomized sheep by ovarian autografts stored at -196 degrees C". *Hum. Reprod.*, 1994, 9, 597.
- [17] Hovatta O.: "Methods for cryopreservation of human ovarian tissue". *Reprod. Biomed. Online*, 2005, 10, 729.
- [18] Newton H., Aubard Y., Rutherford A., Sharma V., Gosden R.: "Low temperature storage and grafting of human ovarian tissue". *Hum. Reprod.*, 1996, 11, 1487.
- [19] Newton H., Fisher J., Arnold J.R., Pegg D.E., Faddy M.J., Gosden R.G.: "Permeation of human ovarian tissue with cryoprotective agents in preparation for cryopreservation". *Hum. Reprod.*, 1998, 13, 376.
- [20] Gook D.A., Edgar D.H., Borg J., Archer J., Lutjen P.J., McBain J.C.: "Oocyte maturation, follicle rupture and luteinization in human cryopreserved ovarian tissue following xenografting". *Hum. Reprod.*, 2003, 18, 1772.
- [21] Candy C.J., Wood M.J., Whittingham D.G.: "Restoration of a normal reproductive lifespan after grafting of cryopreserved mouse ovaries". *Hum. Reprod.*, 2000, 15, 1300.
- [22] Almodin C.G., Minguetti-Camara V.C., Meister H. *et al.*: "Recovery of fertility after grafting of cryopreserved germinative tissue in female rabbits following radiotherapy". *Hum. Reprod.*, 2004, 19, 1287.
- [23] Candy C.J., Wood M.J., Whittingham D.G.: "Follicular development in cryopreserved marmoset ovarian tissue after transplantation". *Hum. Reprod.*, 1995, 10, 2334.
- [24] Kim S.S., Yang H.W., Kang H.G. *et al.*: "Quantitative assessment of ischemic tissue damage in ovarian cortical tissue with or without antioxidant (ascorbic acid) treatment". *Fertil. Steril.*, 2004, 82, 679.
- [25] Oktay K., Tilly J.: "Livebirth after cryopreserved ovarian tissue autotransplantation". *Lancet*, 2004, 364, 2091, author reply 2092.
- [26] Meirov D., Levron J., Eldar-Geva T. *et al.*: "Pregnancy after transplantation of cryopreserved ovarian tissue in a patient with ovarian failure after chemotherapy". *N. Engl. J. Med.*, 2005, 353, 318.
- [27] Bedaiwy M.A., Falcone T.: "Ovarian tissue banking for cancer patients: reduction of post-transplantation ischaemic injury: intact ovary freezing and transplantation". *Hum. Reprod.*, 2004, 19, 1242.
- [28] Torrents E., Boiso I., Barri P.N., Veiga A.: "Applications of ovarian tissue transplantation in experimental biology and medicine". *Hum. Reprod. Update*, 2003, 9, 471.
- [29] Oktay K., Buyuk E., Veeck L. *et al.*: "Embryo development after heterotopic transplantation of cryopreserved ovarian tissue". *Lancet*, 2004, 363, 837.
- [30] Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine: Ovarian tissue and oocyte cryopreservation. *Fertil. Steril.*, 2004, 82, 993.
- [31] Martinez-Madrid B., Dolmans M.M., Van Langendonck A., Defrere S., Donnez J.: "Freeze-thawing intact human ovary with its vascular pedicle with a passive cooling device". *Fertil. Steril.*, 2004, 82, 1390.
- [32] Schrader M., Heicappell R., Muller M., Straub B., Miller K.: "Impact of chemotherapy on male fertility". *Onkologie*, 2001, 24, 326.
- [33] Gook D.A., Edgar D.H., Stern C.: "Cryopreservation of human ovarian tissue". *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.*, 2004, 113 (suppl. 1), S41.

Address reprint requests to:
M. HUSER, M.D.
Brno University Hospital
Department of Obstetrics & Gynecology
Assisted Reproduction Center
Obilni Trh 11
60200 Brno (Czech Republic)

Prevention of ovarian function damage by a GnRH analogue during chemotherapy in Hodgkin lymphoma patients

M. Huser^{1,4}, I. Crha¹, P. Ventruba¹, R. Hudecek¹, J. Zakova¹, L. Smardova², Z. Kral²
and J. Jarkovsky³

¹Department of Obstetrics and Gynecology, Brno University Hospital and Masaryk University School of Medicine, Brno, Czech Republic;

²Department of Internal Medicine and Hematooncology, Brno University Hospital and Masaryk University School of Medicine, Brno, Czech Republic; ³Institute of Biostatistics and Analyses of the Masaryk University, Brno University Hospital and Masaryk University School of Medicine, Brno, Czech Republic

⁴Correspondence address. E-mail: martin.huser@gmail.com

BACKGROUND: Frequent negative consequence of chemotherapy (CHT) is ovarian damage and premature ovarian failure (POF). Aim of this prospective case–control study is evaluation of GnRH analogue (GnRH-a) administration to patients with Hodgkin lymphoma (HL) during CHT and prevention of ovarian damage depending upon CHT regimen. **METHODS:** Study group consists of 72 patients in fertile age (18–35 years) with HL diagnosis treated in 2004–2005 by curative CHT together with GnRH analogue (Triptorelin) administration according to a standardized protocol. Patients were divided into three groups according to the stage of disease and treated by three types of CHT regimens (A,B,C) with increased cytotoxicity. Ovarian function of all patients was assessed by gonadotrophin levels (FSH, LH) analysis from peripheral blood before treatment and also 6 and 12 month after it. The number of women with POF after CHT in study group was compared with control group ($n = 45$, age 18–35 years) of patients treated in 2002–2003 according to the same protocol but without protective GnRH analogue application. **RESULTS:** In study group with GnRH analogue administration during CHT, there was significantly ($P < 0.001$) fewer cases with POF 6 and 12 month after the end of CHT (37.5% and 20.8%, respectively) than in control group (73.3% and 71.1%, respectively). Comparative analysis depending on cytotoxicity of CHT regimen used showed significant differences in percentage of patient with acquired POF between study and control group only in less aggressive CHT protocols. **CONCLUSIONS:** Study showed a significant reduction of ovarian failure risk in women with HL treated with less aggressive CHT regimens plus a GnRH analogue.

Keywords: GnRH-agonists; infertility; ovarian failure; Hodgkin lymphoma; chemotherapy

Introduction

Tumour diseases are the second most frequent cause of death in humans. Despite the rapid development of oncology, earlier interception of the disease and the modern very effective chemotherapeutics, oncological therapy often leaves permanent after-effects. In the Czech Republic, 58 000 women of pre-reproductive or reproductive age contract cancer in a year, which is ~0.5% of the whole population (Nor, 2006). In 2003, the American National Cancer Institute estimated the number of patients who survived cancer in their childhood in USA as 270 000, i.e. one in a thousand (Jemal *et al.*, 2006). It is estimated that 1 in 250 people will have cancer therapy in their childhood medical history (in 2010) (Bleyer, 1990). According to some epidemiological studies, damage to ovarian function with subsequent sterility and premature ovarian failure (POF) has been observed in 70–80% of cases after successful antitumour therapy (Seli and Tangir, 2005).

Functional damage to the ovary is due to the destruction of primordial follicles, particularly by the action of some commonly used chemotherapeutics. The exact mechanism of ovarian damage by chemotherapy (CHT) is not yet completely understood. Toxic action of chemotherapeutics on membrana granulosa cells or oocytes leading to rapid follicular atresia is assumed. Cytostatics act in particular on rapidly multiplying cells of the organism, thus also on ovarian cells, especially on those of the membrana granulosa (Sonmezer and Oktay, 2004). Risk of the development of POF depends to a large extent on the patient's age, on the chemotherapeutics and therapeutic regimen used and on the total cumulative dose (Huser *et al.*, 2006). Damage to ovarian functions is caused most frequently by alkylating cytostatics (cyclophosphamide, busulphan, chlorambucil, cytarabine), by vinca alkaloids (vinblastine, vincristine) and the taxans (paclitaxel, docetaxel) (Schrader *et al.*, 2001).

Huser *et al.*

In women, there are several methods of fertility preservation before CHT with heterogenous outcomes. The most successful are ovarian stimulation and oocyte or embryo freezing and ovarian tissue harvesting and cryopreservation (Oktay, 2006a,b). One of the methods for protecting female reproductive function and for preventing ovarian damage is the administration of GnRH analogues (GnRH-a) during CHT. It is assumed that, due to the administration of GnRH-a, the quiescent (inactive) ovary is less sensitive to the cytotoxic effects of the CHT (Blumenfeld and Eckman, 2005). The protective effect of GnRH-a has been repeatedly demonstrated in animal models (Bokser *et al.*, 1990; Ataya *et al.*, 1995) and also in several human studies (Blumenfeld *et al.*, 1996; Dann *et al.*, 2005; Recchia *et al.*, 2006). These results have been subjected to criticism owing to the heterogeneous patient sets and follow-up protocols, and different regimens and lengths of the CHT used.

Objective of the submitted study (OVARONKO) is the evaluation of the protective effect of GnRH-a administration on ovarian function in patients with Hodgkin's lymphoma (HL) treated with CHT in comparison with a control group, without GnRH-a. This is experimental case-control study with historical controls. Both experimental and control groups were age-comparable and treated by the same CHT protocols. Ovarian functions of control group were evaluated while new patients (Case group receiving GnRH-a) were recruited to the study. Fertility potential of both group were assessed by standardized methods and then compared. Patient recruitment and follow-up is illustrated on timeline flowchart (Fig. 1). The degree of damage to ovarian function has also been evaluated with respect to the dose and type of the cytostatic used.

Materials and Methods

The study was conducted in the years 2004–2007 at the Department of Obstetrics and Gynecology and Department of Internal Medicine and Hematooncology at the Brno University Hospital and Masaryk University School of Medicine, Brno, Czech Republic. The set comprised 72 women with newly diagnosed HL in the period from January 2004 to January 2006. Study has been carried out on Caucasian Czech

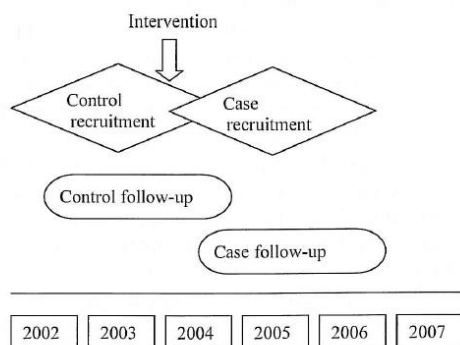


Figure 1: Study design diagram: timeline flowchart of case (CHT plus GnRH analogue) and control (CHT alone) group recruitment and follow-up

864

(central European) population. All women included into the study were of fertile age from 18 to 35 years. The next inclusion criteria were presence of both ovaries and absence of ovarian tumours or cysts over 40 mm in diameter demonstrated by vaginal ultrasound examination. Another study inclusion criteria was physiological functioning of the ovaries assessed by determining the FSH and LH levels in peripheral blood taken on the 1st–5th day of the menstrual cycle. Women with LH or FSH values over 15 IU/l were excluded from the study. The cut-off value was established based on definition of ovarian factor of infertility (ASRM, 2006), laboratory definition of POF (Goswami and Conway, 2005) and our experience (Huser *et al.*, 2007a). None of the women included and monitored in the study was on hormonal replacement therapy or hormonal contraception.

All patients underwent the clinical evaluation of the stage of the HL disease according to the standard German Hodgkins Lymphoma Group (GHLG) protocol (Klimm *et al.*, 2005; Draube *et al.*, 2006). On the basis of staging results, the women were distributed into three arms and then treated with three types of chemotherapeutic regimen with increasing cytotoxicity (Table I). Throughout the course of CHT, patients in the experimental (Case) group were administered triptorelin (Diphereline SR 3 mg, Ibsen) in the form of i.m. injections, always once a month and simultaneously with the CHT, in order to inhibit the hormonal functions of the ovaries. The first injection of GnRH-a has been timed to 1st–5th day of the menstrual cycle and the CHT started at least 7 days later to overcome the gonadotrophins flare-up. If the CHT could not be postponed due to risk of HL progression, first dose not triptorelin was given immediately at the end of staging and the flare-up was suppressed by GnRH antagonist cetrorelix (Cetrotide 3 mg, Serono) 6 h after triptorelin administration (Mardesic *et al.*, 2004). The administration of GnRH-a ended with the last series of CHT. In addition to GnRH analog co-treatment, if the start of CHT could be postponed during staging, women were given the option of laparoscopic harvesting and ovarian tissue cryopreservation, or ovarian stimulation with cryopreservation of oocytes or embryos (Huser *et al.*, 2007b).

After the completion of oncological therapy, lasting an average 5.3 months, all women included in the study were monitored not only by an oncologist but also by a gynaecologist at intervals of 6 and 12 months after the end of the antitumour therapy. In both visits, the presence or absence of the menstrual cycle was determined, the LH, FSH and estradiol levels were determined always on the 1st–5th day of the menstrual cycle (the sampling was not timed if menstruation was absent), and endometrial thickness and primordial ovarian follicles were examined using vaginal ultrasonography. Normal ovarian function after CHT was determined as the presence of regular menstrual bleeding and on the basis of levels of FSH < 15 IU/l and LH < 15 IU/l in peripheral blood. Where this was not the case, reproductive function was evaluated as POF.

The control set consisted of 45 women of reproductive age (18 to 35 years), who underwent treatment for HL according to the same therapeutic protocol (GHLG) in the years 2002–2004. Control group was recruited partly retrospectively in 2003 and followed-up at the time of recruitment of experimental (Case) group receiving GnRH-a during CHT (see timeline flowchart, Fig. 1). The same inclusion/exclusion criteria were used as in the experimental (Case) group. Vaginal ultrasound examination records were obtained from family doctor providing preventive gynaecological check-ups and women with ovarian tumours or cysts over 40 mm were excluded. Assessment of FSH and LH levels taken on the 1st–5th day of the menstrual cycle was performed during oncological staging, as the recommended test for fertility status according to the GHLG protocol (Draube *et al.*, 2006). Women with LH or FSH values over 15 IU/l were excluded

Table I. Type of chemotherapy in relation to result of Hodgkin lymphoma staging (according to German Hodgkins Lymphoma Group protocol—GHLG)

Arm	Description	No. of cycles	Chemotherapeutics
A	ABVD	4	Adriamycin, bleomycin, vinblastin and dacarbazin
B	Combination of ABVD+BEACOPP regimens	4	Adriamycin, bleomycin, vinblastin and dacarbazin+bleomycin, etoposide, adriamycin, cyclophosphamide, vincristine, procarbazine and prednisone
C	BEACOPP regimen	8	Bleomycin, etoposide, adriamycin, cyclophosphamide, vincristine, procarbazine and prednisone

Table II. Distribution of female patients included in the study in individual groups and arms

	Group	Group		Total			
		Case	Control				
Chemotherapy type (GHLG protocol)	A	20	27.8%	19	42.2%	39	33.3%
	B	25	34.7%	10	22.3%	35	29.9%
	C	27	37.5%	16	35.5%	43	36.8%
Total		72	100.0%	45	100.0%	117	100.0%

from the study. These women were also followed-up by a gynaecologist 6 and 12 months after completion of CHT, at which points the same data were obtained as for the investigational (Case) group of patients. Use of hormonal replacement therapy or hormonal contraception was avoided during surveillance.

A two-sample binomial test with $\alpha = 0.05$ was adopted for comparison of groups of patients (Case and Control groups). As several parameters were compared at several time intervals, Bonferroni correction for multiple tests was used for adjusting the level of statistical significance, i.e. $\alpha = 0.05$ was divided by number of statistical tests to obtain α for individual test.

Results

The main division of the patient set into experimental (Case) and control (Control) groups was based on the administration or non-administration of GnRH-a for the protection of ovarian functions. Furthermore, both groups were divided into arms A, B and C according to their respective chemotherapeutic regimen, whereby women were treated with increasing cytotoxicity of the therapy in that order. The number of patients and the percentage representation in individual groups and arms is summarized in Table II. The mean age of patients across the whole set was 30.4 years (median of 30 years). In the experimental group it was 29.0 years, and in the control group it was 32.5 years. There was no significant difference between the two groups with respect to age.

After the general comparison of the Case and the Control groups, fewer cases of POF were found in the group with the administration of GnRH-a during CHT than in the control group. Moreover, the difference in the rate of incidence was statistically significant. Results of the overall comparison of the Case and Control groups at all intervals investigated (before the CHT, 6 and 12 months after CHT) are summarized in Table III. Six months following the termination of therapy, fewer cases of POF according to FSH levels were demonstrated in the group with application of GnRH-a during CHT than in

Table III. Results from the overall comparison of the Case and Control groups undergoing chemotherapy (CHT)

		Percentage of women with the given hormone level outside normal (average hormonal levels)		P-value
		Case % (IU/l)	Control % (IU/l)	
Status before CHT	FSH	0.0% (3.5)	0.0% (3.3)	1
	LH	0.0% (4.5)	0.0% (4.9)	1
Status six months after CHT	FSH	37.5% (18.1)	73.3% (35.0)	<0.001
	LH	27.8% (16.2)	71.1% (27.9)	<0.001
Status a year after CHT	FSH	20.8% (13.3)	71.1% (31.6)	<0.001
	LH	20.8% (12.3)	66.7% (25.5)	<0.001

the control set (37.5% and 73.3%, respectively; $P < 0.001$). After 12 months, 20.8% cases of POF were found in the Case group in comparison with 71.1% in the Control group ($P < 0.001$).

The protective effect of GnRH-a on ovarian function in both groups of patients (Control and Case) was further evaluated with respect to the degree of toxicity of the chemotherapeutic regimen used. In patients with chemotherapeutic regimen A, the difference between the Case and Control groups in the percentage of women with POF symptoms was statistically significant at both 6 and 12 months after the completion of the CHT, fewer cases of ovarian failure being found in women after the administration of the GnRH-a (Table IV). In patients with chemotherapeutic regimen B, the difference between groups appeared as statistically significant only 12 months after the CHT, and this only in the levels of the FSH hormone (Table V). In chemotherapeutic regimen C, the difference in POF occurrence between the Case and the Control groups was not significant either at 6 or 12 months following the end of CHT (Table VI).

The average ultrasound parameters (endometrial thickness and primordial follicle count on both ovaries) in Case and Control group of patients monitored during gynaecology follow-up 6 and 12 month after CHT are summarized in Table VII. The statistical evaluation of these data was not performed due to incomplete data records and risk of different interpretation by multiple ultrasonographers and ultrasound machines used.

Discussion

In our experience, the risk of ovarian damage during CHT depends, in particular, on the toxicity and type of the

Huser *et al.*

Table IV. Results from the comparison of the Case and Control groups of patients with chemotherapeutic regimen A (as defined in Table I)

CHT—regimen A		Percentage of women with the given hormone level outside normal (average hormonal levels)		P-value
		Case % (IU/l) n = 20, age 30.1	Control % (IU/l) n = 19, age 31.4	
Status before CHT	FSH	0.0% (3.9)	0.0% (3.5)	1
	LH	0.0% (4.0)	0.0% (4.9)	1
Status 6 months after CHT	FSH	5.0% (6.4)	84.2% (38.0)	<0.001
	LH	7.2% (6.2)	84.2% (30.7)	<0.001
Status a year after CHT	FSH	0.0% (4.2)	73.7% (22.4)	<0.001
	LH	0.0% (4.3)	57.9% (20.6)	<0.001

Table V. Results from the comparison of the Case and Control groups of patients with chemotherapeutic regimen B (as defined in Table I)

CHT—regimen B		Percentage of women with the given hormone level outside normal (average hormonal levels)		P-value
		Case % (IU/l) n = 25, age 29.7	Control % (IU/l) n = 10, age 33.2	
Status before CHT	FSH	0.0% (3.3)	0.0% (3.1)	1
	LH	0.0% (4.1)	0.0% (5.0)	1
Status 6 months after CHT	FSH	24.0% (10.0)	70.0% (28.0)	0.016
	LH	20.0% (12.8)	60.0% (26.4)	0.028
Status a year after CHT	FSH	8.0% (7.8)	70.0% (37.2)	<0.001
	LH	24.0% (11.2)	70.0% (29.5)	0.016

chemotherapeutic regimen used, and on the reserve of primordial follicles, which is determined in particular by the age of the patient.

Most probably, the crucial factor for success is the size of the ovarian reserve of primordial follicles (Huser *et al.*, 2007b). The so far best known laboratory marker of ovarian reserve expressing the function of the ovary is basal FSH assessment in peripheral blood (Meskhi and Seif, 2006). There are also new laboratory markers of ovarian reserve, e.g. inhibins (INH A, B) and anti-Mullerian hormone or assessment by transvaginal ultrasonography (antral follicle count or volume). These new markers of ovarian reserve are either more costly or not routinely available and are not considered better or markedly more precise than the gold standard represented by basal FSH (van Rooij *et al.*, 2005). Ovarian reserve can also be influenced by major pathologies of the ovary—suspicious ovarian masses, endometriosis, dermoidal cysts, inborn errors, etc. On the other hand, small ovarian follicular cysts do not influence ovarian function.

Women's age plays important role in the risk of POF after CHT usually explained by follicle 'numerus fixus' hypothesis taught for many decades that the number of primordial follicles in a woman's ovary is predetermined and falls over the duration of her lifetime. There was no significant difference between the Case and the Control groups with respect to women's age. Within age limit chosen in the study (18–35 years), the differences in ovarian reserve should not have major impact on the

Table VI. Results from the comparison of the Case and Control groups of patients with chemotherapeutic regimen C (as defined in Table I)

CHT—regimen C		Percentage of women with the given hormone level outside normal (average hormonal levels)		P-value
		Case % (IU/l) n = 27, age 30.6	Control % (IU/l) n = 16, age 31.4	
Status before CHT	FSH	0.0% (3.3)	0.0% (3.2)	1
	LH	0.0% (5.2)	0.0% (5.0)	1
Status 6 months after CHT	FSH	74.1% (34.2)	62.5% (35.8)	0.428
	LH	51.9% (26.7)	62.5% (25.4)	0.503
Status a year after CHT	FSH	48.1% (25.1)	68.8% (39.0)	0.194
	LH	33.3% (19.3)	75.0% (28.8)	0.012

Table VII. Ultrasound findings before and after CHT in Case and Control group

Average ultrasound parameters		Case group n = 72, age 29.0 years	Control group n = 45, age 32.5 years
Status before CHT	Endometrial thickness (mm)	4.8	-
	Follicle count (n)*	7.5	-
Status six months after CHT	Endometrial thickness (mm)	2.3	2.1
	Follicle count (n)*	4.2	5.3
Status a year after CHT	Endometrial thickness (mm)	4.2	3.8
	Follicle count (n)*	6.4	4.6

* - number of primordial follicles (2–4 mm in diameter) in both ovaries.

results. The age differences between the arms according to CHT type have not been calculated mainly due to low number of patients within arms. This fact could represent the confounding factor and explain different result in different types of CHT regimen.

Another positive effect of the GnRH-a administration during CHT is a marked reduction in the intensity and frequency of menstrual bleeding or irregular bleeding from the genital tract, often in pancytopenic women, with the subsequent necessity for blood transfusion. As the cost of supportive therapy with products containing GnRH-a is several times lower than hemotherapy, significant economic savings can be made.

The presented study was performed on 72 patients in the experimental group and 45 controls. The size of case group is quite large and homogenous in comparison with already published studies (Blumenfeld, 2002; Blumenfeld *et al.*, 2002). The controls were historically selected, but followed-up by gynaecologist and hormonally during recruitment of experimental group. The authors were not able to recruit more controls with complete medical records fulfilling the same inclusion/exclusion criteria as the experimental (Case) group, especially presence of basal FSH and LH levels. After consultations with statisticians, the size of control group was finally resolved as sufficient, if proper and sufficient statistical tools were used (as described in Materials and Methods section).

The exact mechanism of protective effect of GnRH-a of ovarian function is unclear. It is assumed that the mechanism of action is based on the fact that the hormone-inactivated ovary is less sensitive to the cytotoxic effect of the CHT. The GnRH-a inhibition of the hypothalamo-pituitary axis creates a temporary 'pre-pubertal' hormonal environment in the body of a woman of reproductive age during the CHT. Nevertheless, the exact mechanism of this protective effect of GnRH-a in humans at the molecular level is not entirely clear (Blumenfeld, 2002; Blumenfeld *et al.*, 2002). There is, according to Meirou *et al.* (2004), a physiological FSH increase during CHT followed by subsequent increase in the number of maturing primordial follicles. The administration of GnRH-a disrupts the FSH increase and thus fewer primordial follicles are destroyed by the action of chemotherapeutics (Meirou *et al.*, 2004). Another theory emphasizes the decrease *in utero* ovarian perfusion after the administration of GnRH-a, and the resulting lower sensitivity of the ovary to CHT (Falcone and Bedaiwy, 2005). According to the papers by Meduri *et al.* (2003), GnRH receptors were found on the granulosa cells of primordial follicles; the activation of these receptors prevents cellular apoptosis. Other anti-apoptotic molecules acting on a different population of ovarian cells are also being investigated, e.g. the sphingosine-1-phosphate (S-1-P) (Hancke *et al.*, 2007).

Very interesting observations have been published by Johnson *et al.* (2005): they demonstrate the development of new primordial follicles from specific bone marrow stem cells in a mouse model (stage-specific embryonic antigen 1) and their nidation in the ovary. One might speculate that the GnRH-a used during CHT have a favourable effect on the development of new primordial follicles. This theory would explain sporadic cases where a healthy child is born to a woman with clearly demonstrated ovarian failure following CHT, often many years after undergoing antitumour therapy. In 2006, a case report was published describing the spontaneous conception and birth of a healthy child to a woman with lost ovarian function after CHT, several months after autotransplantation of ovarian tissue into the forearm subcutis (Oktay, 2006a,b). The insertion of healthy frozen-thawed ovarian tissue into the body could activate oocyte production in the ovary by a still unknown mechanism.

It should be realized that the suppression of ovarian function with GnRH-a only starts 7–10 days after administration. During this short time interval, folliculogenesis is temporarily activated owing to the flare-up phenomenon, and therefore the sensitivity of the ovary to the cytotoxic effect of the CHT is temporarily increased (Mordel and Schenker, 1993). Therefore, the administration of GnRH-a must start sufficiently early, preferably ~10 days before the start of CHT. The rapid onset of the suppression of the hypothalamo-pituitary axis due to the administration of GnRH-a also depends on the menstrual cycle phase (approximately within 10 days from the first day of menstruation), and it is fastest in the early follicular phase. In order to suppress the undesirable flare-up phenomenon after the GnRH-a administration, semi-depot GnRH antagonists (cetorelix, Cetrotide 3 mg, Merck-Serono) may also be used within several hours after the GnRH-a administration (Mardesic *et al.*, 2004). The only

problem of GnRH antagonist use in practice is their high price in comparison with GnRH agonists and the need of administration much more frequently—the semi-depot cetorelix lasts in blood only 4–5 days. The planning and timing of the supportive therapy with GnRH-a in cooperation with an oncologist is thus very important as early as the first day of diagnosis of cancer. The comprehensive protection of the reproductive functions of fertile women requires early and close cooperation of the oncological centre with the department of reproductive medicine. In our practice, this cooperation could be ensured by the creation of the interdisciplinary Fertility Protection Centre at the Brno University Hospital and Masaryk University School of Medicine.

The presented OVARONKO study demonstrated the positive effect of the administration of GnRH-a on ovarian functions during CHT, and a statistically significant reduction in POF risk due to the administration of chemotherapeutics in women treated for HL. In the overall comparison, there were fewer cases of POF in the group with GnRH-a administration during the CHT than in the control group, both 6 and 12 months after the end of CHT. However, the protective effect of GnRH-a on ovarian function is weak, if high-dose and combination chemotherapeutic regimens must be used in advanced stages of the HL. The result was confirmed on cancer patients by case-control study, whose design is ethically acceptable. Randomized controlled trial would be definitely helpful to further support our findings. The mechanism of protective effect of GnRH agonists on human ovary is still unknown and further investigation is needed.

Funding

Grant Agency of the Ministry of Health of the Czech Republic-No. NR/8469-3.

References

- ASRM. Optimal evaluation of the infertile female. *Fertil Steril* 2006;**86**: S264–S267.
- Ataya K, Rao LV, Lawrence E, Kimmel R. Luteinizing hormone-releasing hormone agonist inhibits cyclophosphamide-induced ovarian follicular depletion in rhesus monkeys. *Biol Reprod* 1995;**52**:365–372.
- Bleyer WA. The impact of childhood cancer on the United States and the world. *CA Cancer J Clin* 1990;**40**:355–367.
- Blumenfeld Z, Avivi I, Linn S, Epelbaum R, Ben-Shahar M, Haim N. Prevention of irreversible chemotherapy-induced ovarian damage in young women with lymphoma by a gonadotrophin-releasing hormone agonist in parallel to chemotherapy. *Hum Reprod* 1996;**11**:1620–1626.
- Blumenfeld Z. Preservation of fertility and ovarian function and minimalization of chemotherapy associated gonadotoxicity and premature ovarian failure: the role of inhibin-A and -B as markers. *Mol Cell Endocrinol* 2002;**187**:93–105.
- Blumenfeld Z, Eckman A. Preservation of fertility and ovarian function and minimization of chemotherapy-induced gonadotoxicity in young women by GnRH-a. *J Natl Cancer Inst Monogr* 2005;**40**:40–43.
- Blumenfeld Z, Dann E, Avivi I, Epelbaum R, Rowe JM. Fertility after treatment for Hodgkin's disease. *Ann Oncol* 2002;**13**(Suppl 1):138–147.
- Bokser L, Szende B, Schally AV. Protective effects of D-Trp6-luteinising hormone-releasing hormone microcapsules against cyclophosphamide-induced gonadotoxicity in female rats. *Br J Cancer* 1990;**61**:861–865.
- Dann EJ, Epelbaum R, Avivi I, Ben Shahar M, Haim N, Rowe JM, Blumenfeld Z. Fertility and ovarian function are preserved in women treated with an intensified regimen of cyclophosphamide, adriamycin, vincristine and

Huser *et al.*

- prednisone (Mega-CHOP) for non-Hodgkin lymphoma. *Hum Reprod* 2005;20:2247–2249.
- Draube A, Behringer K, Diehl V. German Hodgkin's Lymphoma Study Group trials: lessons from the past and current strategies. *Clin Lymphoma Myeloma* 2006;6:458–468.
- Falcone T, Bedaiwy MA. Fertility preservation and pregnancy outcome after malignancy. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2005;17:21–26.
- Goswami D, Conway GS. Premature ovarian failure. *Hum Reprod Update* 2005;11:391–410.
- Hancke K, Strauch O, Kissel C, Gobel H, Schafer W, Denschlag D. Sphingosine 1-phosphate protects ovaries from chemotherapy-induced damage in vivo. *Fertil Steril* 2007;87:172–177.
- Huser M, Jurankova E, Crha I, Ventruba P, Hudecek R, Zakova J, Smardova L, Kral Z. Fertility preservation strategies in women undergoing chemotherapy for haematological malignancy. *Eur Clinics Obstet Gynecol* 2006;2:77–81.
- Huser M, Crha I, Hudecek R, Ventruba P, Zakova J, Smardova L, Kral Z. Ovarian tissue cryopreservation. *Eur J Gynaecol Oncol* 2007a;28:249–255.
- Huser M, Jurankova E, Crha I, Ventruba P, Hudecek R, Zakova J, Smardova L, Kral Z. Ovarian tissue cryopreservation—an opportunity to preserve fertility in women with cancer. *Ceska Gynekol* 2007b;72:68–73.
- Jemal A, Siegel R, Ward E, Murray T, Xu J, Smigal C, Thun MJ. Cancer statistics, 2006. *CA Cancer J Clin* 2006;56:106–130.
- Johnson J, Bagley J, Skaznik-Wikiel M, Lee HJ, Adams GB, Niikura Y, Tschudy KS, Tilly JC, Cortes ML, Forkert R *et al.* Oocyte generation in adult mammalian ovaries by putative germ cells in bone marrow and peripheral blood. *Cell* 2005;122:303–315.
- Klimm B, Diehl V, Pfistner B, Engert A. Current treatment strategies of the German Hodgkin Study Group (GHSG). *Eur J Haematol* 2005;75:125–134.
- Mardesic T, Snajderova M, Sramkova L, Keslova P, Sedlacek P, Stary J. Protocol combining GnRH agonists and GnRH antagonists for rapid suppression and prevention of gonadal damage during cytotoxic therapy. *Eur J Gynaecol Oncol* 2004;25:90–92.
- Meduri G, Touraine P, Beau I, Lahuna O, Desroches A, Vacher-Lavenu MC, Kuttann F, Misrahi M. Delayed puberty and primary amenorrhea associated with a novel mutation of the human follicle-stimulating hormone receptor: clinical, histological, and molecular studies. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88:3491–3498.
- Meirow D, Assad G, Dor J, Rabinovici J. The GnRH antagonist cetrorelix reduces cyclophosphamide-induced ovarian follicular destruction in mice. *Hum Reprod* 2004;19:1294–1299.
- Meskhi A, Seif MW. Premature ovarian failure. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2006;18:418–426.
- Mordel N, Schenker JG. Gonadotrophin-releasing hormone agonist and ovarian hyperstimulation syndrome in assisted reproduction. *Hum Reprod* 1993;8:2009–2014.
- NOR. The Institute of Health Information and Statistics of the Czech Republic: Cancer Incidence in Czech Republic 2003. *NOR* 2006;44:1–242.
- Oktay K. An individualized approach to fertility preservation in women with cancer. *J Support Oncol* 2006a;4:181–182, 184.
- Oktay K. Spontaneous conceptions and live birth after heterotopic ovarian transplantation: is there a germline stem cell connection? *Hum Reprod* 2006b;21:1345–1348.
- Recchia F, Saggio G, Amiconi G, Di Blasio A, Cesta A, Candeloro G, Rea S. Gonadotropin-releasing hormone analogues added to adjuvant chemotherapy protect ovarian function and improve clinical outcomes in young women with early breast carcinoma. *Cancer* 2006;106:514–523.
- Schrader M, Heicappell R, Muller M, Straub B, Miller K. Impact of chemotherapy on male fertility. *Onkologie* 2001;24:326–330.
- Seli E, Tangir J. Fertility preservation options for female patients with malignancies. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2005;17:299–308.
- Sonmezer M, Oktay K. Fertility preservation in female patients. *Hum Reprod Update* 2004;10:251–266.
- van Rooij IA, Broekmans FJ, Scheffer GJ, Looman CW, Habbema JD, de Jong FH, Fauser BJ, Themmen AP, te Velde ER. Serum antimüllerian hormone levels best reflect the reproductive decline with age in normal women with proven fertility: a longitudinal study. *Fertil Steril* 2005;83:979–987.

Submitted on August 5, 2007; resubmitted on December 23, 2007; accepted on January 8, 2008

FERTILITY PRESERVATION

Survival and infertility treatment in male cancer patients after sperm banking

Igor Crha, M.D.,^a Pavel Ventruba, M.D.,^a Jana Zakova, M.Sc.,^a Martin Huser, M.D.,^a Barbara Kubesova, M.D.,^b Robert Hudecek, M.D.,^a and Jiri Jarkovsky, M.Sc.^c

^a Department of Gynecology and Obstetrics, Faculty of Medicine, Masaryk University, and Faculty Hospital; ^b Tissue Bank, Faculty Hospital; and ^c Institute of Biostatistics and Analyses, Brno, Czech Republic

Objective: To evaluate the relationship between sperm pathology and cancer diagnosis, determine the mortality rate, and evaluate the outcomes of the use of frozen sperm from the sperm bank.

Design: Prospective study.

Setting: University fertility center.

Patient(s): A total of 619 male patients were referred for sperm freezing before gonadotoxic therapy from 1995 to 2006.

Intervention(s): Semen analysis, data verification in the National Oncologic Register, assisted reproduction technologies, and statistical evaluation.

Main Outcome Measure(s): Cancer diagnosis and sperm pathology analysis, survival of patients, and infertility treatment success.

Result(s): Malignant testicular cancer was diagnosed in 43.6% of patients, and malignant neoplasms of the lymphatic and hematopoietic tissues were found in 31.7% of patients. Azoospermia or severe oligospermia (≤ 1 million/mL) was detected in 9.7% and 22.6% of patients, respectively. To date, 32 patients (5.2%) sought infertility treatment. Cryopreserved semen was used in 28 couples (87.5%), and 44 intracytoplasmic sperm injection (ICSI) cycles resulted in 13 pregnancies. In total, 74 deaths (11.9%) were reported, 61 of them (82.4%) within 30 months of the cryopreservation of their sperm.

Conclusion(s): A significant number of patients survived. Intrauterine insemination and ICSI with cryopreserved sperm resulted in deliveries. (Fertil Steril® 2009;91:2344–8. ©2009 by American Society for Reproductive Medicine.)

Key Words: Cryopreservation, semen, cancer survivors, male infertility

Damage to reproductive function is a very frequent and well documented side effect associated with the treatment of malignant tumors. The first work describing chemotherapy-induced azoospermia was published in 1948 (1). Variation in sperm quality in relation to the type of malignant tumor was also investigated (2). The increasing success of cancer treatment and determined efforts to improve the quality of life after successful treatment has turned attention to the preservation of reproductive function in young men (3, 4). The development of assisted reproduction technologies has brought about effective qualitative changes in this field (5,

6). The collection, freezing, and long-term storage of sperm is currently considered to be the most effective method.

The Assisted Reproduction Center of the Department of Gynecology and Obstetrics, Faculty of Medicine, Masaryk University, and the Faculty Hospital in Brno launched a program of freezing sperm for long-term storage in 1995. The main aim of the present paper was to analyze the sperm counts of cancer patients, examine possible correlation between sperm pathology and cancer diagnosis, determine the mortality rate, and provide an overview of the use of the frozen sperm during the twelve years of sperm banking.

Received November 6, 2007; revised and accepted March 20, 2008; published online June 12, 2008.

I.C. has nothing to disclose. P.V. has nothing to disclose. J.Z. has nothing to disclose. M.H. has nothing to disclose. B.K. has nothing to disclose. R.H. has nothing to disclose. J.J. has nothing to disclose.

Supported by the Internal Grant Agency (IGA) of the Ministry of Health of the Czech Republic no. NR/8469-3 and IGA FN Brno Grant 10/05.

Reprint requests: Igor Crha, M.D., Department of Gynecology and Obstetrics, Faculty of Medicine, Masaryk University, Obilni trh 11, 602 00 Brno, Czech Republic (FAX: +420 541 213 225; E-mail: icrha@seznam.cz).

MATERIALS AND METHODS

Between October 1995 and the end of December 2006, a total of 619 male adolescents and adults aged 13 to 64 years (mean 26.2 ± 6.8 years, median 26 years) were referred to the Assisted Reproduction Center for sperm cryopreservation before treatment for malignant tumours using chemotherapy, actinotherapy, or orchidectomy. Sperm

counts were evaluated according to the World Health Organization laboratory manual using the Neubauer counting chamber (7).

Commercial media, including Medi-Cult (Jyllinge, Denmark) and Vitrolife (Kungsbacka, Sweden), were used. Semen was mixed with a cryopreservation medium and placed in 2-mL Nunclon Cryotubes (Roskilde, Denmark) and followed by freezing. Cryopreservation technology and the procedures used in the storage of frozen sperm samples were aimed at minimizing the potential risks, including mistaken identity and transmission of infection. Sperm samples were frozen in the programmable Planer Kryo F10 (Sunbury-On-Thames, U.K.) instrument using a standard cooling curve or in nitrogen vapor (used only in the absence of the instrument). Samples from 1–3 collections before starting cancer treatment were frozen. The cryotubes were stored in liquid nitrogen at a temperature of -196°C in an LS 4800 container (Tailor-Wharton Harsco, Husum, Germany) with an indicator of the surface level and an alarm.

The assisted reproduction methods used comply with the respective standards of the department. Diagnosis and the time of death were verified with the database of the National Oncologic Register of the serving area, in compliance with personal data protection.

The study group was described using basic descriptive statistics, where categoric variables were characterized using the percentage representations of individual categories and continuous variables (age, sperm concentration and motility) were described using the mean, the median, standard deviation, and the range of values.

Statistical testing was used to confirm the hypothesis of whether or not the results of sperm counts correlate with the patient's diagnosis. The differences among a group of patients were tested using the Kruskal-Wallis test. When the influence of the diagnosis on the sperm count was significant,

partial hypotheses were tested to see which particular diagnoses differ by their values (i.e., multiple comparisons of mean ranks). The critical limit for the level of significance was set to $P=.05$.

The project of fertility protection in male cancer patients was approved by the Brno Faculty Hospital scientific council and ethics commission.

RESULTS

Malignant testicular tumor (a total of 270 patients, 43.6%) was the most common diagnosis in patients who were referred for sperm cryopreservation, followed by patients with Hodgkin lymphoma (103 patients, 16.6%), leukemia (50 patients, 8.1%), or non-Hodgkin lymphoma (44 patients, 7.1%). Forty-one men were treated for malignant tumors of bone and cartilage (6.6%). Other malignant diseases occurred only sporadically.

A concentration of spermatozoa <20 million/mL was found in 53.1% of patients, and 22.6% showed a concentration ≤ 1 million/mL. The lowest mean values of sperm count were found in men with malignant testicular tumors (17.2 ± 21.4 million/mL, median 8.0 million/mL), as shown in Table 1. Azoospermia was found in 60 men (9.7%), with the highest incidence in leukemia patients (24.0%). Progressive sperm motility $\geq 40\%$ was found in only 4.4%, asthenospermia $\leq 10\%$ in 64.6%, and sperm motility $<1\%$ in 6.8% of cases. The lowest mean percentage of progressive motility was also seen in patients with malignant testicular tumours, namely $9.8 \pm 11.3\%$, median 5.0%.

A statistically significant correlation was found between the concentration of spermatozoa and the diagnosis (Kruskal-Wallis test: $P<.001$). Detailed analysis revealed a difference between testicular tumors and malignant tumors of the digestive tract ($P=.012$) and Hodgkin disease ($P=0.003$). No statistically significant correlation was confirmed between

TABLE 1

Sperm counts ($\times 10^6/\text{mL}$) with type of malignancies.

Diagnosis	Mean	Median	Min.	Max.	SD
Testicular cancer	17.2	8.0	0	122	21.4
Hodgkin disease	29.9	25.8	0	100	26.3
Leukemia	32.6	23.5	0	130	35.4
Non-Hodgkin lymphoma	29.4	23.0	0	172	31.1
Bone and cartilage MT	29.5	32.0	0	86	27.2
Digestive system MT	44.1	37.5	0	110	35.4
CNS MT	44.7	33.0	0	130	46.4
Urinary system MT	25.9	14.0	1.5	82	26.0
Respiratory system MT	48.0	36.0	2	93	33.9
Unspecified cancer	28.4	22.0	0	125	26.9
Total	25.3	16.0	0.0	172	27.7

Note: CNS = central nervous system; MT = malignant tumor.

Crha. Sperm banking for cancer patients. Fertil Steril 2009.

the diagnosis and progressive sperm motility (Kruskal-Wallis analysis of variance: $P= .149$).

The Department of Pediatric Oncology was established in the Brno Faculty Hospital in 2000 and adolescent boys began to be referred for sperm cryopreservation to our center. In the years 2000–2006, 36 young men aged 13–16 years were referred. The most frequent diagnosis was malignant tumor of bone and cartilage (25.0%), followed by leukemia (16.7%), Hodgkin lymphoma (13.9%), and testicular tumor (11.1%). Azoospermia was detected in 8 cases (22.2%). The mean concentration of spermatozoa was 14 million/mL (median 1.8 million/mL), with mean sperm motility of 5.2% (median 2%) —significantly lower compared with the mean values for the whole group.

Of all the 619 patients referred for sperm cryopreservation, 74 (11.9%) died. The average time interval between the referral and death was 20.5 ± 17.3 months, median 16 months (Fig. 1). The lowest mortality rate was found in patients with malignant testicular tumor (3.0%) and Hodgkin lymphoma (4.9%) (Table 2).

Out of the 32 men treated, 56.3% were successful in their treatment for testicular cancer, 28.1% were successful in treating Hodgkin lymphoma, and 15.6% successful in treating leukemia. The interval between cryopreservation and infertility treatment was in the range of 7–70 months (mean 22.2 ± 14.7 months, median 18 months). Cryopreserved samples were used in 28 couples (nine cycles of intrauterine insemination, 38 intracytoplasmic sperm injection [ICSI] cycles), and fresh sperm was used in four cases (six ICSI cycles). Intrauterine insemination was performed for four couples (12.5%) and ICSI for 28 couples (87.5%). ICSI (44 cycles) resulted in 13 pregnancies and nine deliveries. Intrauterine insemination

TABLE 2
Incidence of malignancies and number of deceased patients (n = 619).

Diagnosis	n	Deceased	%
Testicular cancer	270	8	3.0
Hodgkin disease	103	5	4.9
Leukemia	50	18	36
Non-Hodgkin lymphoma	44	7	15.9
Bone and cartilage MT	41	11	26.8
Digestive system MT	20	5	25.0
CNS MT	13	3	23.1
Urinary system MT	9	2	22.2
Respiratory system MT	7	3	42.9
Unspecified cancer	62	12	19.4
Total	619	74	12.0

Note: 100% = patients with the same diagnosis. Abbreviations as in Table 1.

Crha. Sperm banking for cancer patients. *Fertil Steril* 2009.

(nine cycles) resulted in two clinical pregnancies and two deliveries.

After the failure of two ICSI cycles, four couples (12.5% of men seeking infertility treatment after sperm cryopreservation) decided to use intrauterine insemination with donor sperm, from which seven cycles resulted in two pregnancies and deliveries.

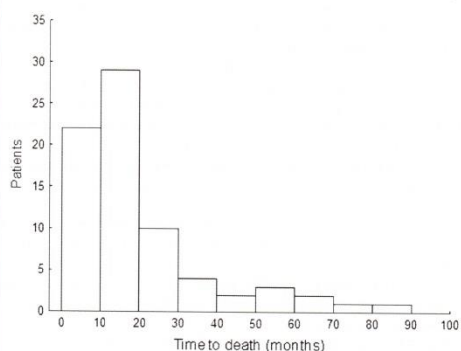
DISCUSSION

The frequency of certain diagnoses in this group of patients, the prevalent ones being malignant testicular tumors and tumors of lymphatic and hematopoietic tissue, corresponds to the high incidence rate of such diagnoses in men of a fertile age. Similar findings are reported by other clinics (6, 8, 9). Tumors of bone and cartilage, Hodgkin lymphoma, and leukemia were the most frequently diagnosed malignancies in young men under 16 years.

Azoospermia was found in 9.7% of males referred for sperm cryopreservation, compared with Lass et al., who reported 17.3% (10). Severe abnormalities in sperm concentration (≤ 5 million/mL in 36.4%) and progressive motility ($\leq 10\%$ in 64.6%) were frequently detected. Similarly to other studies (11, 12), the lowest concentration of spermatozoa and the lowest progressive sperm motility were found in men with malignant testicular tumors. The etiology of impaired spermatogenesis in cancer patients is not fully understood and is thought to be associated with involvement of the immune system (13). Furthermore, damage to the DNA of sperm due to the malignancy has been confirmed (14). The correlation between sperm pathology and testicular tumors is also known. The impaired quality of sperm production is most likely associated with disturbed differentiation of the testicle during the embryonic development of the gonad (15). Testicular dysgenesis

FIGURE 1

Time interval from sperm banking to the death (in months) and number of deceased patients (n = 74).



Crha. Sperm banking for cancer patients. *Fertil Steril* 2009.

syndrome is manifested by the increased incidence of developmental defects of the genitals (cryptorchism, hypospadias), spermatogenesis disorders, and testicular carcinomas. Testicular dysgenesis is caused by alteration in the development of the testicle, determined by the factors affecting endocrine regulation ("endocrine disruptors"). Because spermatogenesis disorders correlate well with testicular carcinoma, close urologic examination of men with severe sperm abnormalities is of particular importance (16).

When analyzing impaired spermatogenesis in relation to the type of malignancy, we found a significant difference only between testicular tumors and malignant tumors of the digestive tract. Some studies have shown that the concentration of spermatozoa and sperm motility in men with Hodgkin lymphoma is significantly lower compared with patients with non-Hodgkin lymphoma (17). However, like Agarwal et al., we failed to confirm such a difference (18).

We succeeded in obtaining and freezing sperm samples from young men aged 13–16 years (77.8%), which is similar to other studies (19). Sperm samples were collected by masturbation. We did not perform electroejaculation or surgical collection. Although sperm count and sperm motility were very low, sperm cryopreservation may also be used in this age group. One of the major tasks of assisted reproduction is to preserve reproduction in patients who undergo childhood treatment for malignant tumors.

After the completion of gonadotoxic therapy, the quality of sperm was significantly impaired (20, 12). The resulting function of the gonad is affected by a number of factors, such as the diagnosis of the malignant disease, the chemotherapy regimens used, and the sperm count as determined before the start of therapy. In the case of azoospermia, the methods of assisted reproduction based on the surgical collection of sperm provide inferior results; however, recovery of spermatogenesis has also been described (21, 22). Sperm cryopreservation performed before cancer therapy is therefore a prerequisite for the successful treatment of subsequent infertility.

In the present group, only 5.2% of the men had come for infertility treatment as of the time of writing. This finding corresponds with data from other published studies (2). The reasons are not only in the area of patient health, but also in the social area, i.e., patients usually plan to start a family long after they have successfully completed therapy. Another important aspect is that patients are afraid of the increased risk of congenital defects and malignant tumors in their offspring. Many detailed studies that have investigated this risk have failed, however, to prove its increase (23, 24). Most men from the present group who came for infertility treatment were around 29 years old, had undergone successful treatment for testicular cancer or lymphoma, and usually presented 18 months after sperm cryopreservation. Intrauterine insemination was performed in our clinic much less frequently (17.0%) compared with Agarwal et al. (6); ICSI was used in 83.0% of treatment cycles.

Intrauterine insemination with donor sperm was used after failure of ICSI cycles. Couples electing to use donor sperm preferred its improved pregnancy rate, easier procedure, and decreased risk of malignant disease in the offspring.

The mortality rate of the present group of patients was analyzed also. According to the data obtained from the Oncologic Register, 11.9% of the men referred for sperm cryopreservation died; 82.4% of these died within 30 months of referral. The lowest mortality rate was found in patients with malignant testicular tumors and Hodgkin lymphomas, which corresponds to a total survival rate in patients with the early stage of testicular seminoma surpassing 95% (25).

Sperm cryopreservation before gonadotoxic therapy is the basic method used to preserve reproductive potential for the survivors of cancer treatment. It can also be used in the period of adolescence. The lowest sperm counts were found in men with malignant testicular tumors. Cancer patient sperm banking programs require close cooperation between the respective assisted reproduction centers and the cancer clinics. Sperm cryopreservation should be offered to every patient before therapy that causes the destruction of spermatogenesis.

REFERENCES

1. Spitz S. The histologic effects of nitrogen mustard on human tumours and tissues. *Cancer* 1948;1:383–98.
2. Chung K, Irani J, Knee G, Efyomov B, Blasco L, Patrizio P. Sperm cryopreservation for male patients with cancer: an epidemiological analysis at the University of Pennsylvania. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2004;113(Suppl 1):S7–11.
3. Tournaye H, Van Steirteghem A, Devroey P. Semen cryobanking for men with cancer. *Fertil Steril* 1993;60:197.
4. Howell SJ, Shalet SM. Spermatogenesis after cancer treatment: damage and recovery. *J Natl Cancer Inst Monogr* 2005;34:12–7.
5. Palermo G, Joris H, Devroey P, Steirteghem AC. Pregnancies after intracytoplasmic injection of single sperm into an oocyte. *Lancet* 1992;340:1718.
6. Agarwal A, Ranganathan P, Kattal N, Pasqualotto F, Hallak J, Khayal S, et al. Fertility after cancer: a prospective review of assisted reproductive outcome with banked specimens. *Fertil Steril* 2004;81:342–8.
7. World Health Organization. Laboratory manual for the examination of human semen and sperm–cervical mucus interaction. 3rd ed. Cambridge, U.K.: Cambridge University Press, 1992.
8. Neal MS, Nagel K, Duckworth J, Bissessar H, Fischer MA, Portwine C, et al. Effectiveness of sperm banking in adolescents and young adults with cancer: a regional experience. *Cancer* 2007;110:1125–9.
9. Hallak J, Kolettis PN, Sekhon VS. Sperm cryopreservation in patients with testicular cancer. *Urology* 1999;54:894–9.
10. Lass A, Akagbosu F, Brinsden P. Sperm banking and assisted reproduction treatment for couples following cancer treatment of the male partner. *Hum Reprod Update* 2001;7:370–7.
11. Fossa SD, Theodorsen L, Norman N, Aabyholm T. Recovery of impaired pretreatment spermatogenesis in testicular cancer. *Fertil Steril* 1990;54:493–6.
12. Colpi GM, Contalbi GF, Nerva F, Sagone P, Piediferro G. Testicular function following chemo-radiotherapy. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2004;13(Suppl 1):S2–6.
13. Barr RD, Clark DA, Booth JD. Dyspermia in men with localized Hodgkin disease. A potentially reversible, immune-mediated disorder. *Med Hypoth* 1993;40:165–8.

14. Kobayashi H, Larson K, Sharma RK, Nelson DR, Evenson DP, Toma H, et al. DNA damage in patients with untreated cancer as measured by the sperm chromatin assay. *Fertil Steril* 2001;75:469–75.
15. Skakkebaek NE, Rajpert-De Meys E, Main KM. Testicular dysgenesis syndrome: an increasingly common developmental disorder with environmental aspects: opinion. *Hum Reprod* 2001;16:972–8.
16. Jacobsen R, Bostofte E, Engholm G, Hansen J, Olsen JH, Skakkebaek N, et al. Risk of testicular cancer in men with abnormal semen characteristics: cohort study. *Br Med J* 2000;321:781–2.
17. Botchan A, Hauser R, Yogeve L, Gamzu R, Lessing JB, Paz G, et al. Sperm quality in Hodgkin's disease versus non-Hodgkin's lymphoma. *Hum Reprod* 1997;12:73–6.
18. Agarwal A, Shekariz M, Sidhu RK, Thomas AJ. Value of clinical diagnosis in predicting the quality of cryopreserved sperm from cancer patients. *J Urol* 1996;155:934–8.
19. Bahadur G, Ling KLE, Hart R, Ralph D, Wafa R, Ashraf A, et al. Semen quality and cryopreservation in adolescent cancer patients. *Hum Reprod* 2002;17:3157–61.
20. Meseguer M, Molina N, García-Velasco JA, Remohí J, Pellicer A, Garrido N. Sperm cryopreservation in oncological patient: a 14-year follow-up study. *Fertil Steril* 2006;85:640–5.
21. Chan PT, Palermo GD, Veeck LL, Rosenwaks Z, Schlegel PN. Testicular sperm extraction combined with intracytoplasmic sperm injection in the treatment of men with persistent azoospermia postchemotherapy. *Cancer* 2001;15:1632–7.
22. Ragni G, Arnoldi M, Somigliano E, Paffoni A, Brambilla ME, Restelli L. Reproductive prognosis in male patients with azoospermia at the time of cancer diagnosis. *Fertil Steril* 2005;83:1674–5.
23. Meirrow D, Schiff E. Appraisal of chemotherapy effects on reproductive outcome according to animal studies and clinical data. *J Natl Cancer Inst Monogr* 2005;34:21–5.
24. Sankila R, Olsen JH, Anderson H, Garwicz, Glatte E, Hertz H, et al. Risk of cancer among offspring of childhood-cancer survivors. *New Engl J Med* 1998;338:1339–44.
25. Sant M, Aareleid T, Artioli ME, Berrino F, Coebergh JW, Colonna M, et al. Ten-year survival and risk of relapse for testicular cancer: EURO-CARE high resolution study. *Eur J Cancer* 2007;43:585–92.

Combination of fertility preservation strategies in young women with recently diagnosed cancer

M. Huser¹, J. Zakova¹, L. Smardova², I. Crha¹, P. Janku¹, R. Hudecek¹, P. Ventruba¹

¹Department of Obstetrics and Gynecology, ²Department of Internal Medicine and Hematooncology
Brno University Hospital and Masaryk University School of Medicine, Brno (Czech Republic)

Summary

Background/Aims: The study describes clinical management and outcomes of currently available fertility preservation techniques in a set of 154 young female cancer patients. **Methods:** Patients in reproductive age with newly diagnosed cancer were offered embryo or oocyte cryopreservation, ovarian tissue cryopreservation and the administration of GnRH analogues during chemotherapy. Particular attention was given to the technical aspects and clinical application of these fertility preservation techniques. **Results:** During the study period (2004-2009), 154 young female cancer patients were offered fertility preservation counseling. Patient's average age was 29.4 years and average parity was 0.7 children. Administration of GnRH analogues (n = 123, 79.9%) and ovarian tissue cryopreservation (n = 15, 9.7%) were the most commonly used fertility preservation strategies. In 20 cases (16.1%), the combination of several fertility preservation techniques was offered to individually selected patients. **Conclusions:** Combination of fertility preservation techniques gives young cancer patients the best chance for future fertility and should be concentrated in specialized centers.

Key words: Cancer; infertility; Fertility preservation; Oocyte cryopreservation; Ovarian tissue cryopreservation.

Introduction

Incidence of cancer in reproductive age and childhood is on the rise. However, today more and more cancer patients can be completely cured due to earlier diagnosis and the availability of very effective anti-cancer therapies. One of the most common long-term consequences of cancer treatment is infertility due to the destruction of gonadal cells. Of the different modalities of oncology treatment, chemotherapy represents the greatest threat to reproductive function. The most gonadotoxic chemotherapeutics are alkylating agents, platina derivatives and taxans. Some of these drugs, especially cyclophosphamide, are also widely used for immunotherapy in rheumatology (systemic lupus erythematosus, rheumatoid arthritis, etc.) [1].

The destruction of ovarian follicles by chemotherapy leads to a disruption of ovarian function. The degree of ovarian function disruption depends on the actual number of *primordial follicles (PMF)* in the ovary before the onset of chemotherapy. The number of ovarian follicles slowly decreases in life due to follicle maturation in reproductive age and also as a result of their ongoing apoptosis [2]. The actual number of follicles in the ovary is mainly determined by the patient's age at the time of cancer diagnosis. A complete loss of ovarian follicles leads to *acute ovarian failure (AOF)*. AOF is characterized by amenorrhea and acute menopausal syndrome (hot flushes and night sweating), which occur due to absence of the ovarian steroids (mainly estrogens and progesterone) normally produced by the follicles. The impact of chemotherapy sometimes only causes a significant decrease of PMF (not complete loss). Such cases are asymptomatic with regular menstrual cycle and the nor-

mal production of ovarian steroids, but a patient's ovarian reserve of PMF is considerably reduced and she is at a high risk of the onset of *premature ovarian failure (POF)* in the years following treatment. That is why all cured cancer patients are strongly advised not to postpone motherhood for too long. POF is defined as the onset of menopause before the age of 40, with amenorrhea and acute menopausal symptoms. In cases where AOF or POF occur, the patient becomes completely infertile due to the absence of PMF containing oocytes, and the only chance of becoming pregnant is to use an oocyte donor.

In the last ten years, a lot of research and clinical effort have been devoted to developing fertility preservation strategies which would preserve the reproductive potential of successfully cured cancer patients. The importance of the future fertility of cancer patients has prompted the creation of a new subspecialty of reproductive medicine recently referred to as *oncofertility*. This term was suggested by Woodruff in 2004 mainly because this problem involves primarily oncologists and specialists in reproductive medicine. The main goal of this new 'inter' discipline is research and development into methods of fertility preservation for patients in connection to cancer diagnosis, treatment and survivorship [3]. Oncofertility amalgamates biomedical and translation research, clinical medicine and the social sciences. Preserving fertility in the face of other medical (non-cancer) conditions is also becoming more prevalent, and so is the postponement of future fertility for social reasons.

Several fertility preservation strategies are currently available for young cancer patients before embarking on their oncology therapy. The optimal approach is chosen on a strictly individual basis and depends on the type of cancer, the type of treatment (e.g., radiation and/or chemotherapy), time available till the onset of treatment,

Revised manuscript accepted for publication June 10, 2011

the patient's age, and whether the patient has a partner [4]. To date, the most effective technique, and also the oldest, is *embryo cryopreservation* (EC). The human embryo is very resistant to damage caused by cryopreservation and delivery rates per embryo transfer using cryopreserved embryos are promising (18-20%) [5]. *Oocyte cryopreservation* (OC) is an alternative to embryo storage. Freezing mature oocytes has been a technical challenge because mature human oocytes are extremely sensitive to temperature changes. An alternative cryobiology approach exists called oocyte vitrification, which consists of solidifying liquid by ultra-rapid cooling. This nascent and promising technique is becoming an effective alternative to conventional slow freezing protocols [6]. However, both approaches (EC and OC) require in vitro fertilization (IVF) with the need for ovarian stimulation (usually for 2 to 4 weeks), which delays cancer treatment. The EC method additionally requires the participation of the male partner of the cancer patient. When these criteria cannot be met, more experimental preservation methods must be considered. A young female patient with newly diagnosed cancer should be informed about the possibility of *ovarian tissue cryopreservation* (OTC). After the patient has been cured, thawed ovarian tissue may be later auto-transplanted back to the pelvis to attempt spontaneous conception or carry out ovarian stimulation and subsequent IVF. Other emerging treatment options for fertility preservation include medication to prevent chemotherapy-induced oocyte damage. Clinically the most successful is the *administration of gonadotropin-releasing hormone analogues* (GnRH-a) during systemic cancer treatment (gonadotoxic chemotherapy or total body irradiation). Several human studies demonstrate that the GnRH-a are well tolerated and may protect long-term ovarian function [7-9]. Although the results of these studies are limited by sample size and lack of any randomized control group, randomized controlled trials are currently underway internationally to evaluate this strategy in young women with cancer. The *oocyte donor* (OD) program remains an established clinical option with a very high success rate for those who accept the use of non-parental genes or choose not to use experimental techniques or who fail to conceive with the above-mentioned methods.

The aim of this study is to describe the management and outcomes of currently available fertility preservation techniques in a set of 154 female cancer patients in reproductive age. The data presented here show that the most effective clinical results regarding the future fertility of young female cancer patients can be achieved using a combination of currently available fertility preservation techniques.

Materials and Methods

Female patients with newly diagnosed cancer in reproductive age (15-35 years) were referred by their oncologist for counseling at the Brno University Hospital Fertility Preservation Center (FPC) from January 2004 until November 2009. During their

appointment, patients were informed about the risk of fertility impairment or fertility loss due to planned cancer treatment and about the possibilities represented by the available fertility preservation techniques. After considering several parameters, such as the type of cancer, proposed treatment protocol (e.g., radiation and/or chemotherapy), time available till onset of treatment, patient's age and whether the patient had a partner, the individual risk of threat to their fertility was assessed. An individual optimal fertility preservation strategy was advised from one of the following options:

- ovarian stimulation with embryo or oocyte cryopreservation (EC,OC);
- ovarian tissue cryopreservation (OTC);
- administration of GnRH-a during cytotoxic chemotherapy.

In many cases, a combination of GnRH-a co-treatment and one of the cryopreservation techniques was recommended. Every patient signed an informed consent form, containing detailed information about proposed fertility preservation techniques approved by the institutional ethics committee. All patients also had an option to refuse any of the proposed fertility preservation techniques. All administrative and statistical data monitored in the study were processed and statistically evaluated by standard statistical software (SPSS). We shall describe below in greater detail all the techniques mentioned above.

Embryo cryopreservation

Before EC all patients were stimulated with recombinant FSH follitropin alfa (Gonal-F, Merck Serono) together with the gonadotrophin releasing hormone antagonist cetrorelix (Cetrotide 3 mg, Merck Serono) according to a standardized protocol. Ovarian stimulation started at day 2 of the patient's menstrual cycle with a daily dose of 75-225 IU of FSH according to basal FSH levels and vaginal ultrasound (US) results. On day 7, cetrorelix in a dose of 3 mg was added to FSH to prevent any premature LH surge and oocyte retrieval was planned for day 10-14 of the patient's menstrual cycle. Oocytes were collected by US-guided vaginal needle aspiration under short general anesthesia. Collected oocytes were assessed by an embryologist and mature oocytes were fertilized with spermatozoa from the patient's partner using the intracytoplasmic sperm injection (ICSI) technique. The partner of the patient gave written informed consent for the use of his spermatozoa which was collected before fertilization. All embryos created by fertilization were grown in vitro in an embryo culture (Vitrolife) for 2-4 days according to their growth potential, which was assessed daily by an embryologist. Usually at day 3 of culture, embryos were cryopreserved using the slow freezing technique by using a controlled rate freezer (Planer Kryo 10). The commercial freezing set Freeze-Kit 1TM (Vitrolife) was used for embryo preparation before the cryopreservation procedure. After successful cancer treatment, cryopreserved embryos can be used to achieve pregnancy by frozen-thawed embryo transfer (FET). To produce good pregnancy rates, the endometrium of recipient woman has to be prepared by administering estrogen and progesterone. We used estradiol valerate and micronized progesterone oral tablets for endometrium preparation according to standardized protocol [10]. FET was performed if endometrial thickness was at least 7 mm (measured by vaginal US). Embryos were always thawed one day prior embryo transfer by using the commercial embryo thawing kit Thaw-Kit 1TM (Vitrolife). After the thawing procedure, embryos were cultivated for 24 hours in a standard IVF medium and only those embryos that showed further development (50% or more of surviving blastomeres) were used for embryo transfer.

Oocyte cryopreservation

This second possible technique is suitable mainly for women without a regular male partner or adolescents. Ovarian stimulation and the oocyte collection process have been described in the previous paragraph. Collected mature oocytes containing both polar bodies (MII oocytes, metaphase of second meiotic division) can be cryopreserved by the conventional slow freezing technique or by vitrification (ultra-rapid cooling). The conventional slow freezing technique used in our study is described in detail by Fabri *et al.* [11]. Oocytes were prepared for freezing with the ready-to-use commercial media system Oocyte-Freeze (Medicult) containing 1,2-propanediol and sucrose as cryoprotectants and later cryopreserved in straws using a controlled rate freezer (Planer Kryo 10). The vitrification technique used by our lab is described by Kuwayama *et al.* [12]. For vitrification we also used the commercial media system Vitrification Cooling (Medicult) containing ethylene glycol, propandiol and sucrose as cryoprotectants and eight vitrification straws (High Security Vitrification Straw) for oocyte storage. According to strict European regulations (European Tissue Directive, 2004/23/EC), we used the so-called "closed" vitrification system, which avoids direct contact between the cryopreserved material and liquid nitrogen. The oocyte thawing process is analogous to the embryo thawing technique. Oocytes cryopreserved using the slow freezing technique were processed with the OocyteThaw (Medicult) thawing kit according to the manufacturer's instructions. Previously vitrified oocytes were thawed using a Vitrification Warming set (Medicult). Thawed oocytes were fertilized using standard ICSI and cultivated *in vitro* for 2-4 days according to their growth potential, which was assessed daily by an embryologist. Written informed consent of a patient's male partner allowing embryo transfer was required. Embryo transfer was performed by the standardized technique described in the previous paragraph.

Ovarian tissue cryopreservation

Ovarian tissue cryopreservation, the third technique available, was developed according to the previously published studies of several authors [13-16]. Ovarian tissue was obtained using the laparoscopic approach under general anesthesia. In a majority of cases, a sample of ovarian cortex sized 10 x 20 x 1-2 mm was obtained from both ovaries. In some patients with a severe risk of premature ovarian failure due to planned highly gonadotoxic chemotherapy, one entire ovary was removed. In all cases, a further 2-3 small (1 x 1 x 1 mm) samples of ovarian cortex were removed from both ovaries at random from the ovarian surface. These samples were assessed by a pathologist to exclude any metastatic involvement of the ovaries by primary diagnosed malignancy. Ovarian tissue intended for cryopreservation was transported to the embryology lab in a cryopreservation medium (G-Fert, Vitrolife) at human body temperature. The tissue was inspected under the microscope in a laminar box of the embryology lab. If 2-5 mm in diameter ovarian follicles were found to be growing in the sample, they were aspirated and oocytes were sought in the follicular fluid. Providing the patient had previously agreed, retrieved oocytes found in the follicular fluid could be matured *in vitro* and later cryopreserved as described in the previous paragraph. The acquired ovarian cortex tissue was cut lengthwise into smaller pieces, approximately 5 x 1 x 1 mm, with the help of scalpel. In cases of whole ovary removal, the ovarian cortex was separated from the ovarian medulla by digital dissection or with the help of scissors. Ovarian medulla is not suitable for cryopreservation

because it does not contain PMF. Small strips of ovarian cortex were incubated in the cryopreservation medium EFS2 Freezing Kit (Vitrolife) for 90 min and loaded into cryotubes (4-6 strips to each cryotube). After careful identification, cryotubes with ovarian tissue were inserted into a controlled rate freezer (Planer Cryo 10) and cryopreserved according to the protocol used for routine embryo freezing. Whenever the vitrification technique was applied, the following commercially made vitrification kits were used: RapidVit Cleave (Vitrolife) or Vitrification Cooling (Medicult). Cryoprotectant exposure was performed according to the manufacturer's instructions and cryotubes loaded with processed ovarian strips were plunged directly into liquid nitrogen.

Administration of GnRH-a during chemotherapy.

We advise the administration of GnRH-a to our young female cancer patients during chemotherapy in order to prevent or decrease the rate of ovarian damage. The administration of GnRH-a during chemotherapy to prevent ovarian damage is sufficiently effective, especially in cases where less gonadotoxic chemotherapy regimens are being administered. This was confirmed by our previous observational study on female Hodgkin lymphoma (HL) patients [8]. This technique is used separately or in combination with the other fertility preservation methods described above. If less gonadotoxic chemotherapy is planned to cure a patient's malignancy, then the administration of GnRH-a is advised as a stand-alone technique to prevent ovarian damage. If highly gonadotoxic chemotherapy protocols must be used to achieve a patient's complete cure (e.g., alkylating agents, high cumulative doses, myeloablative chemotherapy before bone marrow transplantation), the patient is advised to combine GnRH-a administration during chemotherapy with one of the cryopreservation fertility saving techniques. The GnRH-a triptorelin (Diphereline SR 3 mg, Ibsen) is administered to female cancer patients during the whole time of chemotherapy in the form of intramuscular injection once a month (usually together with the pulse of chemotherapy).

Results

Over a period of five years (2004-2009), a cohort of 154 patients scheduled for gonadotoxic chemotherapy or immunotherapy was referred for consultation to prevent fertility impairment. The basic characteristics of the patient set are described in Table 1. The average age of patients included in the study was 29.4 ± 6.3 years. All women were Caucasian. The average body mass index (BMI) in the set of patients was 23.8 ± 3.1 kg/m². The majority of women were nuliparas or primiparas. The mean parity in this set of patients was 0.7 ± 0.3 children per patient. The length of systemic chemotherapy or immunotherapy was 5.2 ± 1.8 months on average. The mean time from cancer diagnosis to the start of systemic cancer treatment (needed to perform the planned methods of ovarian protection) did not exceed 14 days.

The spectrum of oncology or rheumatology diagnoses of patients referred for fertility preservation counseling is described in Table 2. The majority of treated patients suffered from newly diagnosed malignancy of the blood or lymphatic system. The most common diagnosis was Hodgkin lymphoma. This malignancy has very good

Table 1. — Basic characteristics of the set of patients referred for consultation to prevent fertility impairment (Assisted Reproduction Center, Department of Obstetrics and Gynecology of Brno University Hospital, years 2004-2009).

Follow-up parameter	Mean value
Age	29.4 ± 6.3
Body mass index (BMI)	23.8 ± 3.1 kg/m ²
Parity	0.7 ± 0.3
Race	Caucasian (100%)
Length of systemic chemotherapy	5.2 ± 1.8 months
Time to treatment start	13.5 ± 2.6 days

Table 2. — The spectrum of oncology or rheumatology diagnoses of patients referred for fertility preservation counseling (Assisted Reproduction Center, Department of Obstetrics and Gynecology of Brno University Hospital, years 2004-2009).

Diagnosis	ICD 10 code	No. of patients	%
Hodgkin lymphoma (HL)	C81	101	65.6
Non-Hodgkin lymphoma (NHL)	C82-85	15	9.7
Leukemia	C91-97	12	7.8
Systemic lupus erythematosus (SLE)	M32	11	7.1
Breast malignancy	C50	5	3.2
Gynecology malignancy (vagina, uterus, ovary)	C51-56	4	2.6
Gastrointestinal malignancy	C18-20	1	0.6
Bone malignancy	C40-41	2	1.3
Malignancy of head and neck	C00-13	3	1.9
Total		154	100

ICD - International Classification of Diseases.

Table 3. — Representation of fertility preservation techniques chosen by the patient and their counseling physician (Assisted Reproduction Center, Department of Obstetrics and Gynecology of Brno University Hospital, years 2004-2009).

Fertility preservation technique	No. of patients	% from total
Embryo cryopreservation (EC)	4	2.6
Oocyte cryopreservation (OC)	3	1.9
Ovarian tissue cryopreservation (OTC)	16	10.4
GnRH analogues (GnRH-a)	123	79.9
No fertility protection	8	5.2
Total	154	100
Combination of fertility preservation techniques (cryopreservation+ GnRH analogues)	20	16.1 (20 from 124)

prognosis quod vitam – five-year survival is 85-98% [17]. The other commonly occurring diagnoses referred to FPC were systemic lupus erythematosus with visceral involvement, breast malignancies, gynecological malignancies and head or neck malignancies.

All referred patients were individually consulted regarding their risk of fertility impairment or loss due to planned gonadotoxic chemotherapy. All patients were offered one or more fertility preservation techniques described in the methodology section. Table 3 describes the fertility preservation techniques chosen by the patients and their counseling physician. The most commonly used technique of fertility preservation was

GnRH-a administration during chemotherapy (79.9%). Ovarian tissue cryopreservation was the second most preferred fertility preservation technique (10.4%). In 20 cases (16.1%), a combination of more than one fertility preservation technique was offered to individually selected patients. In these cases, administration of GnRH-a during chemotherapy or immunotherapy was combined with one of the cryopreservation strategies (EC, OC or OTC). Where a combination of fertility preservation techniques was applied, the case was categorized for statistical evidence into one of the cryopreservation sub-groups. A small number (5.2%) of referred patients decided not to use any of the offered fertility preservation supportive strategies before or during their oncology therapy. Detailed results of the fertility preservation techniques are summarized in Table 3 and analyzed in more detail in the following paragraphs.

Embryo cryopreservation

Embryo cryopreservation was the first technique implemented into our Fertility Preservation Program. This routinely available method in reproductive medicine was utilized by our first oncology patient in May 2004. The results of embryo cryopreservation and its usage by our women cancer patients are summarized in Table 4. Since 2004, we have used this technique in four patients and gained 18 oocytes suitable for fertilization. We have successfully frozen 12 embryos in total, with a mean number of 3.3 embryos per patient. The embryos of three patients, who successfully come through their oncology treatment, are still cryopreserved and ready for FET. In one case, cryopreserved embryos have been used for treating infertility caused by the oncologic therapy. This 21-year-old young woman was diagnosed with advanced stage Hodgkin lymphoma. Her chemotherapy was postponed for 16 days while her oocytes were acquired. Four embryos were cryopreserved for later use. After almost four years following successful cancer treatment the FET of three embryos was accomplished. These embryos were successfully thawed and transferred, but unfortunately the patient did not become pregnant. The FET was possible to carry out because the woman still had the same male partner, who agreed with the procedure. This patient is now dependent on hormonal replacement therapy and her infertility is being treated by oocyte donation.

Oocyte cryopreservation

During the study period, oocyte cryopreservation techniques were used by three cancer patients. Details of these cases are presented in Table 5. A total number of 15 oocytes were cryopreserved (5.0 oocytes per patient). Four of the 19 retrieved oocytes (21.0%) were not suitable for cryopreservation due to oocyte immaturity (diploid germinal vesicle oocytes) or their degeneration during the preparation procedure. None of these three cancer patients have yet asked to use their oocytes to become pregnant. The disadvantage of both this tech-

Table 6. — Ovarian tissue cryopreservation in cancer patients – cases overview (Assisted Reproduction Center, Department of Obstetrics and Gynecology of Brno University Hospital, years 2004-2009).

Pac. no.	Age at cryo	Pac. parity	Oncol. diag.	Time to chemo	Chemo length	Body mass	Cryo date	Cryo tubes	Cryo technique	Cryo media
	Years			Days	Months	kg/m ²	dd.mm.yy	No.		
1	23	0	HL	5	8	24	16.12.04	1	Planer	Vitrolife
2	22	0	HL	7	8	25	08.04.05	6	Planer	Vitrolife
3	28	0	NHL	4	6	22	23.03.06	3	Planer	Vitrolife
4	33	1	NHL	8	8	26	28.03.06	4	Planer	Vitrolife
5	19	0	HL	12	8	28	27.06.06	3	Planer	Vitrolife
6	20	0	HL	5	8	24	23.08.06	4	Planer	Vitrolife
7	19	0	HL	6	8	23	29.01.07	4	Planer	Vitrolife
8	33	0	SLE	6	6	22	21.05.07	6	Planer	Vitrolife
9	29	0	AML	8	7	21	24.05.07	4	Planer	Vitrolife
10	24	0	HL	5	8	28	16.10.07	3	Vitrifikace	MediCult
11	13	0	NHL	9	6	20	16.05.08	4	Vitrifikace	MediCult
12	31	0	HL	11	8	21	06.02.09	4	Vitrifikace	Vitrolife
13	30	0	HL	10	8	23	02.04.09	4	Vitrifikace	Vitrolife
14	28	0	HL relaps	6	6	25	15.04.09	4	Planer	Vitrolife
15	34	1	ovarian ca	8	6	26	19.05.09	9*	Vitrifikace	MediCult
16	31	0	tongue ca	7	5	22	07.07.09	7*	Vitrifikace	Vitrolife

HL: Hodgkin lymphoma; NHL: non-Hodgkin lymphoma; SLE: systemic lupus erythematoses; AML: acute myeloid leukemia.
* complete removal of one ovary (unilateral ovariectomy).

Table 7. — Ovarian tissue cryopreservation – patient's set characteristics and results. (Assisted Reproduction Center, Department of Obstetrics and Gynecology of Brno University Hospital, years 2004-2009).

Patient's set characteristics	Value (unit)
Average women's age in the time of cryopreservation	26.0 ± 6.2 years
Women's average parity	0.1 ± 0.3
Average body mass index (BMI)	23.7 ± 2.4 kg/m ²
Race	caucasian (100%)
Average length of chemotherapy	7.1 ± 1.0 months
Average time left to beginning of chemotherapy	7.3 ± 2.3 days
Ovarian tissue cryopreservation results	Value
Ovarian tissue harvestin technique	laparoscopy (100%), length of surgery - 60 min. max. no surgical complications
Amount of tissue collected	14x - ovarian cortex strips 2x - unilateral ovariectomy
Average no. of frozen cryotubes	4.3 ± 1.8
Cryopreservation technique used	10x Planner slow freezing 6x vitrification
Vitrification media used	3x Vitrolife 3x MediCult
Cases of ovarian tissue auto-transplantation	0

Discussion

Rapid advances in the field of oncofertility have been made in last decade [18]. Our study presents the clinical outcomes of quite a large cohort of female patients requiring fertility preservation counseling. The complete portfolio of fertility preservation techniques offered to patients is another important strength of our study. One of the limitations of results presented here is the difficulty in

following up the future fertility of the patients in the long term. The introduction of an international registry of patients who have used certain fertility preservation techniques and the later follow-up of their children could improve our knowledge about clinical efficacy.

Embryo cryopreservation has historically been the first available technique for preserving fertility in young female cancer patients. This technique became the gold standard of care with the best overall results for conception after successful cancer treatment. The pregnancy rate per embryo transfer varies between 10-30 % [19]. In our cohort, we reported embryo transfer of frozen-thawed embryos after successful cancer treatment, but the patient, unfortunately, did not conceive. The main disadvantage of this technique is the need for ovarian hyperstimulation with FSH and postponing the planned cancer treatment by an average of 2-4 weeks. Nevertheless, usage of "soft" hyperstimulation protocols (clomifene, tamoxifene, letrozole) is possible in cases of estrogen sensitive tumors [20]. A further drawback for this technique is its unavailability to young single women patients without any regular male partner, who would provide sperm for oocyte fertilization (analogically it is also unavailable for adolescents and children). This method is less preferred at our center because of the aforementioned inconveniences of embryo cryopreservation and the availability of new fertility preservation techniques. This technique has been especially relegated in favor of OTC, which does not require ovarian stimulation or postponing the cancer treatment.

The cryopreservation of oocytes could be the favored option for women without a male partner. On the other hand, ovarian stimulation and postponing the start of chemotherapy is still necessary. Conventional slow freezing with ice crystal formation inside the cell could seriously damage the oocyte (cytoskeleton breaks, zona pellucida hardening) and reduce its future fertility comple-

Table 4. — Results of embryo cryopreservation and their usage by women cancer patients. (Assisted Reproduction Center, Department of Obstetrics and Gynecology of Brno University Hospital, years 2004-2009).

Monitored parameters - embryo cryopreservation	Value
Number of patients (stimulated IVF cycles)	4 cycles
Total number of retrieved oocytes	18 oocytes
Mean number of oocytes per cycle	4.5 oocytes
Total number of created embryos	15 embryos
Fertilization rate	83%
Total number of cryopreserved embryos	12 embryos
Percentage of embryos not suitable for cryopreservation	20%
Méan number of cryopreserved embryos per cycle	3.3 embryos
Monitored parameters - embryo usage	Value
Number of patients decided for cryo-embryotransfer	1
Total number of thawed embryos	4
Mean number of thawed embryos per cycle	4
Number of vital embryos after thawing	3 (75%)
Number of vital embryos after thawing and 24h co-cultivation	3 (100%)
Number of performed cryo-embryotransfers	1
Mean number of embryos transferred to uterus	3
Number of pregnancies after cryo-embryotransfer	0
Pregnancy rate	0%

Table 5. — Results of oocyte cryopreservation in women cancer patients. (Assisted Reproduction Center, Department of Obstetrics and Gynecology of Brno University Hospital, years 2004-2009).

Oocyte cryopreservation - monitored parameters	Value
Number of patients (stimulated IVF cycles)	3 cycles
Oncology diagnoses	2x HL, 1x NHL*
Total number of retrieved oocytes	19 oocytes
Mean number of oocytes per cycle	6.3 oocytes
Total number of cryopreserved oocytes	15 oocytes
Mean number of cryopreserved oocytes per cycle	5.0 oocytes
Percentage of oocytes not suitable for cryopreservation (diploid GV oocytes, fragmented oocytes)	21%
Oocyte cryopreservation technique	slow freeze (Planer) 2x vitrification (MediCult) 1x
Mean time of chemotherapy postponement	18.6 days

* HL - Hodgkin lymphoma, NHL - non-Hodgkin lymphoma.

nique and EC is the need for ovarian stimulation and the postponement of planned cancer treatment. In this sub-set of patients, chemotherapy had to be postponed for an average of 18.6 days.

Ovarian tissue cryopreservation

The technique of ovarian tissue cryopreservation has been developed in our laboratory since 2005. Initially, we used a Planer controlled rate freezer; in 2007 we started to freeze ovarian tissue by the vitrification technique. During the period of this study the technique was applied in 16 cases of young female patients prior to highly gonadotoxic chemotherapy. In the majority of cases, patients suffered from blood or lymph node systemic

malignancy (81%) - Hodgkin lymphoma (9x), non-Hodgkin lymphoma (3x) and acute myeloid leukemia (1x). A summary of ovarian tissue cryopreservation cases is presented in Table 6. The average age of women taking advantage of this technique was 26 years. The youngest patient was 13 years old and she decided for the procedure after taking advice from her parents. The patient set consisted of mostly nulliparous women (88%). All women were Caucasian. Average BMI in the sample was 23.7 kg/m². The length of systemic chemotherapy or immunotherapy averaged 7.1 months. Average time from fertility preservation counseling to the beginning of chemotherapy was very short, not exceeding one week. Ovarian tissue harvesting was conducted for all cases in this subgroup by laparoscopic surgery. The length of surgery did not exceed 60 min and no surgical complications were observed. The patient length of stay in hospital was two days at most. In the majority of cases (88%), only an ovarian cortex sample (approximately sized 10 x 20 x 1-2 mm) was removed from both ovaries. In the last two patients, where there was a very high risk of permanent ovarian failure, one entire ovary was removed. All of the ovarian tissue cryopreserved samples have yet to be thawed for the auto-transplantation and restoration of ovarian function. The digested characteristics of the patient set and the results of ovarian tissue cryopreservation are reported in Table 7.

GnRH analogues

The administration of GnRH analogues during chemotherapy to protect ovarian function was introduced into clinical practice in our center in 2003. During the follow-up period (2004-2009) of this study, we administered this medication to 123 patients during chemotherapy. This has been the most widely used method (79.9%) from the portfolio of fertility preservation techniques offered. Quite a large proportion of the women (n = 20, 16.1%) receiving GnRH analogues during chemotherapy have chosen to combine this approach with one of the cryopreservation techniques (EC, OC or OTC) (Table 3). The protective effect on ovarian function of administering GnRH analogue during chemotherapy has been described in detail in our previously published prospective case-control study on patients (n = 72) with newly diagnosed Hodgkin lymphoma. We documented a statistically smaller number of premature ovarian failure cases in the group of patients receiving GnRH analogues compared to the control patient group with follow-up periods of six and 12 months. After analyzing the study group according to the gonadotoxicity of chemotherapeutic regimens used, it was clear that the protective effects of GnRH analogue co-treatment were statistically significant only in the patient subgroups receiving less gonadotoxic chemotherapeutics [8]. These observations thus show the unsatisfactory protective effect of administering GnRH analogues to protect ovarian function in advanced cancer cases, where high dosage combined chemotherapy has to be administered.

tence. The renaissance of the vitrification freezing technique and development of new potent cryoprotectants (e.g., sucrose, propandiol) in the last decade have returned this method once again to clinical practice [21]. Before 2008, more than 35,000 oocytes were cryopreserved and more than 600 children were born, mostly using the conventional slow-cooling method. The overall live-birth rate per cryopreserved oocyte is approximately 2-10%, which is much lower than that of in vitro fertilization (IVF) using fresh oocytes [6]. The pregnancy outcomes reported in the literature are limited in terms of sample size and length of follow-up. They are also mostly meta-analyses of published cases rather than the comprehensive follow-up we present here. Oocytes could also be frozen in the diploid stage of folliculogenesis (germinal vesicle oocytes, metaphase I oocytes) and after thawing matured in vitro to their haploid metaphase II stage. With these advances in cryobiology, current oncofertility techniques could be pooled together. In our study, we have found that combining the cryopreservation of ovarian tissue together with immature diploid oocytes is very promising. This technique, which was first suggested by Revel [22] and has also been applied in our laboratory, could rapidly increase women's chances of becoming pregnant after a complete cure for their cancer.

The first reports of *ovarian tissue cryopreservation* date back to 1950. Their results were unsatisfactory, mostly due to the suboptimal laboratory procedures used. The technique was later significantly improved on animal models [23]. The main goal of this strategy is to save intact primordial follicles for later use, i.e., after the patient has been cured of cancer [13, 16, 24]. In comparison with EC or OC techniques, our patients who decided for OTC did not have to lose valuable time before starting chemotherapy and had no exposure to estrogens needed for ovarian hyperstimulation. Neither was it necessary to meet the requirement for having a regular male partner. If the tissue is harvested using a laparoscopic technique, it is possible to start systemic oncology treatment 2-3 days after surgery. The cryopreservation protocols used in our laboratory include slow freezing with previous exposure to cryoprotectants (1.5 M propandiol, 0.1 M sucrose) or the vitrification of ovarian cortex strips loaded into cryotubes. The vitrification technique is now preferred, because it is easier and faster to complete and the overall costs are comparable to conventional slow freezing. Despite the aforementioned advantages of this approach, OTC still remains an experimental method. In our center, clinical usage is approved by the ethics committee and the patient's written consent is required [25]. The risk of cancer recurrence can not be completely avoided following orthotopic auto-transplantation of ovarian cortex strips. Moreover, the period during which hormones of the transplanted ovarian tissue continue to function is limited. Auto-transplantation should be carefully scheduled to the time when childbearing is desired by the treated couple, and the oncology disease is in long-term complete remission. Ovarian hyperstimulation with a conventional IVF/ICSI cycle is usually required to achieve pregnancy

after auto-transplantation. The thawed ovarian tissue can be used for the auto-transplantation, xeno-transplantation or in vitro culture of primordial follicles. In human medicine, the best results were reported with the auto-transplantation of tissue avascular cortical fragments. Before 2008, 12 clinical pregnancies and the birth of five healthy children were reported by applying this novel technique on cancer patients [26]. In the patient set reported in our paper, we have not yet performed the auto-transplantation procedure. Those of our patients who wished to store their ovarian tissue are still involved in cancer treatment or post treatment follow-up, waiting for the recommendation from their oncologist regarding the optimal child-bearing time. Notable achievements have also been recorded with the xeno-transplantation of human ovarian tissue into immunodeficient mice. But the question is, however, who would agree with the embryo transfer of an embryo grown in vitro into the renal capsule of mice? In 2009, Xu *et al.* from Woodruff lab in Chicago, reported the first successful in vitro human primordial follicle culture. The isolated follicles were grown in a three-dimensional alginate matrix and after 30 days of culture the follicles reached the antral stage of folliculogenesis and contained haploid oocytes ready for fertilization [27]. In our opinion, this approach has great potential for future clinical usage and our lab has recently started to cooperate with colleagues at Northwestern University (Chicago, IL, USA) to implement the follicle culture technique into practice.

The use of GnRH analogues to protect ovarian function during chemotherapy is controversial and not generally accepted by all oncofertility specialists. The problem of the first human studies exploring this hypothesis was their retrospective design and the heterogeneity of patients and chemotherapy protocols used [28-30]. The results of better designed and prospective studies investigating the benefits of GnRH analogues in oncofertility are more promising. These studies have proved the protective effect of administering GnRH analogues during chemotherapy to save ovarian reserve [7, 9]. Our previously published results indicate the insufficient protective effect of GnRH analogues in preventing primordial follicle destruction by highly gonadotoxic myeloablative chemotherapeutic regimens before bone marrow transplantation [8]. Hopefully, we will be able to evaluate exactly the protective effect of GnRH analogues by double blind, multicenter, prospective, randomized trials, which are currently ongoing. The main advantage of this fertility preservation technique is its simplicity and non-invasiveness. In addition, the amenorrhea induced by administering GnRH analogues helps to protect pancytopenic and immuno-compromised patients during chemotherapy against heavy menstrual bleeding and any need for the extensive usage of expensive hematopoietic factors and blood derivatives. According to our clinical experience with fertility preservation counseling, we recommend offering GnRH-analogue co-treatment during chemotherapy to the majority of our young female cancer patients. This approach is strongly recommended in can-

cer patients with early-stage disease and patients where low-dose chemotherapy with an absence of alkylating agents is recommended by an oncologist. In advanced cancer stages, where highly gonadotoxic chemotherapy has to be applied (such as hematological malignancies with bone marrow transplantation planned, recurrent disease, early relapse after primary treatment, etc.), the patient is advised that administering GnRH analogue itself does not sufficiently protect ovarian reserve. In these cases, we recommend combining the GnRH analogue administration with one of the cryopreservation techniques (EC, OC or OTC) in order to increase the patient's fertility chances in future (see also Table 3). A combination of ovarian tissue cryopreservation before the start of chemotherapy, together with GnRH analogue administration during cancer treatment, has become especially popular with our cancer patients more recently [31].

Fertility preservation counseling requires *multidisciplinary cooperation* among various medical specialties. In our experience, primary roles should be taken by a reproductive medicine specialist, an oncologist and an embryologist. We recommend setting up interdisciplinary *fertility preservation centers*. These centers could easily connect various medical specialists, apply currently available fertility preservation techniques, gather and disseminate the latest knowledge in oncofertility and coordinate research and development in this field (www.oncofertility.northwestern.edu, www.fertilitypreservationcare.com, www.ivfbrno.cz/cor). This interdisciplinary cooperation between an oncologist and reproductive medicine clinician, however, should not be limited to the time of cancer diagnosis, but it should continue right throughout the patient's entire reproductive age.

Acknowledgements

This work was supported by Internal Grant Agency (IGA) of the Ministry of Health of the Czech Republic-No. NS/9661.

References

- [1] Huser M., Smardova L., Ventruba P., Mayer J.: "Impact of oncological treatment on human reproduction". *Klin. Onkol.*, 2010, 23, 165.
- [2] McLaughlin E.A., McIver S.C.: "Awakening the oocyte: controlling primordial follicle development". *Reproduction*, 2009, 137, 1.
- [3] Woodruff T.K.: "The emergence of a new interdisciplinary: oncofertility". *Cancer Treat. Res.*, 2007, 138, 3.
- [4] Jeruss J.S., Woodruff T.K.: "Preservation of fertility in patients with cancer". *N. Engl. J. Med.*, 2009, 360, 902.
- [5] Oktay K., Buyuk E., Davis O., Yermakova I., Veeck L., Rosenwaks Z.: "Fertility preservation in breast cancer patients: IVF and embryo cryopreservation after ovarian stimulation with tamoxifen". *Hum. Reprod.*, 2003, 18, 90.
- [6] Porcu E., Bazzocchi A., Notarangelo L., Paradisi R., Landolfo C., Venturoli S.: "Human oocyte cryopreservation in infertility and oncology". *Curr. Opin. Endocrinol. Diabetes Obes.*, 2008, 15, 529.
- [7] Blumenfeld Z., Avivi I., Eckman A., Epelbaum R., Rowe J.M., Dann E.J.: "Gonadotropin-releasing hormone agonist decreases chemotherapy-induced gonadotoxicity and premature ovarian failure in young female patients with Hodgkin lymphoma". *Fertil. Steril.*, 2008, 89, 166.
- [8] Huser M., Crha I., Ventruba P., Hudecek R., Zakova J., Smardova L. *et al.*: "Prevention of ovarian function damage by a GnRH analogue during chemotherapy in Hodgkin lymphoma patients". *Hum. Reprod.*, 2008, 23, 863.
- [9] Badawy A., Elnashar A., El-Ashry M., Shahat M.: "Gonadotropin-releasing hormone agonists for prevention of chemotherapy-induced ovarian damage: prospective randomized study". *Fertil. Steril.*, 2009, 91, 694.
- [10] Dal Prato L., Borini A., Cattoli M., Bonu M.A., Sciajno R., Flamigni C.: "Endometrial preparation for frozen-thawed embryo transfer with or without pretreatment with gonadotropin-releasing hormone agonist". *Fertil. Steril.*, 2002, 77, 956.
- [11] Fabbri R., Porcu E., Marsella T., Rocchetta G., Venturoli S., Flamigni C.: "Human oocyte cryopreservation: new perspectives regarding oocyte survival". *Hum. Reprod.*, 2001, 16, 411.
- [12] Kuwayama M., Vajta G., Kato O., Leibo S.P.: "Highly efficient vitrification method for cryopreservation of human oocytes". *Reprod. Biomed. Online*, 2005, 11, 300.
- [13] Meirou D., Levron J., Eldar-Geva T., Hardan I., Fridman E., Zalel Y. *et al.*: "Pregnancy after transplantation of cryopreserved ovarian tissue in a patient with ovarian failure after chemotherapy". *N. Engl. J. Med.*, 2005, 353, 318.
- [14] Amorim C.A., Van Langendonck A., David A., Dolmans M.M., Donnez J.: "Survival of human pre-antral follicles after cryopreservation of ovarian tissue, follicular isolation and in vitro culture in a calcium alginate matrix". *Hum. Reprod.*, 2009, 24, 92.
- [15] Isachenko V., Isachenko E., Reinsberg J., Montag M., Braun F., van der Ven H.: "Cryopreservation of human ovarian tissue: effect of spontaneous and initiated ice formation". *Reprod. Biomed. Online*, 2008, 16, 336.
- [16] Donnez J., Dolmans M.M., Demylle D., Jadoul P., Pirard C., Squifflet J. *et al.*: "Livebirth after orthotopic transplantation of cryopreserved ovarian tissue". *Lancet*, 2004, 364, 1405.
- [17] Ferme C., Eghbali H., Meerwaldt J.H., Rieux C., Bosq J., Berger F. *et al.*: "Chemotherapy plus involved-field radiation in early-stage Hodgkin's disease". *N. Engl. J. Med.*, 2007, 357, 1916.
- [18] Lamar C.A., DeCherney A.H.: "Fertility preservation: state of the science and future research directions". *Fertil. Steril.*, 2009, 91, 316.
- [19] Bedaiwy M.A., Shahin A.Y., Falcone T.: "Reproductive organ transplantation: advances and controversies". *Fertil. Steril.*, 2008, 90, 2031.
- [20] Oktay K., Hourvitz A., Sahin G., Oktem O., Safro B., Cil A., Bang H.: "Letrozole reduces estrogen and gonadotropin exposure in women with breast cancer undergoing ovarian stimulation before chemotherapy". *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2006, 91, 3885.
- [21] Schoolcraft W.B., Keller J.L., Schlenker T.: "Excellent embryo quality obtained from vitrified oocytes". *Reprod. Biomed. Online*, 2009, 19, 820.
- [22] Revel A., Revel-Vilk S., Aizenman E., Porat-Katz A., Safran A., Ben-Meir A. *et al.*: "At what age can human oocytes be obtained?". *Fertil. Steril.*, 2009, 92, 458.
- [23] Donnez J., Dolmans M.M.: "Cryopreservation of ovarian tissue: an overview". *Minerva Med.*, 2009, 100, 401.
- [24] Demeestere I., Simon P., Buxant F., Robin V., Fernandez S.A., Centner J. *et al.*: "Ovarian function and spontaneous pregnancy after combined heterotopic and orthotopic cryopreserved ovarian tissue transplantation in a patient previously treated with bone marrow transplantation: case report". *Hum. Reprod.*, 2006, 21, 2010.
- [25] American College of Obstetrics and Gynecology: "Essential elements of informed consent for elective oocyte cryopreservation: a Practice Committee opinion". *Fertil. Steril.*, 2008, 90, S134.
- [26] Donnez J., Squifflet J., Van Eyck A.S., Demylle D., Jadoul P., Van Langendonck A., Dolmans M.M.: "Restoration of ovarian function in orthotopically transplanted cryopreserved ovarian tissue: a pilot experience". *Reprod. Biomed. Online*, 2008, 16, 694.
- [27] Xu M., Barrett S.L., West-Farrell E., Kondapalli L.A., Kiesewetter S.E., Shea L.D., Woodruff T.K.: "In vitro grown human ovarian follicles from cancer patients support oocyte growth". *Hum. Reprod.*, 2009, 24, 2531.
- [28] Blumenfeld Z., Avivi I., Linn S., Epelbaum R., Ben-Shahar M., Haim N.: "Prevention of irreversible chemotherapy-induced ovarian damage in young women with lymphoma by a gonadotropin-releasing hormone agonist in parallel to chemotherapy". *Hum. Reprod.*, 1996, 11, 1620.

- [29] Dann E.J., Epelbaum R., Avivi I., Ben Shahar M., Haim N., Rowe J.M., Blumenfeld Z.: "Fertility and ovarian function are preserved in women treated with an intensified regimen of cyclophosphamide, adriamycin, vincristine and prednisone (Mega-CHOP) for non-Hodgkin lymphoma". *Hum. Reprod.*, 2005, 20, 2247.
- [30] Recchia F., Saggio G., Amiconi G., Di Blasio A., Cesta A., Candeloro G., Rea S.: "Gonadotropin-releasing hormone analogues added to adjuvant chemotherapy protect ovarian function and improve clinical outcomes in young women with early breast carcinoma". *Cancer*, 2006, 106, 514.
- [31] Huser M., Crha I., Hudecek R., Ventruba P., Zakova J., Smardova L., Kral Z.: "Ovarian tissue cryopreservation". *Eur. J. Gynaecol. Oncol.*, 2007, 28, 249.

Address reprint requests to:
M. HUSER, M.D., Ph.D.
Brno University Hospital and Masaryk
University School of Medicine
Department of Obstetrics and Gynecology
Jihlavska 20
62500 Brno (Czech Republic)
e-mail: martin.huser@gmail.com

3.4. Myomatóza a děložní faktor

Děložní myomy jsou monoklonální, hormonálně závislé mezenchymové nádory vycházející z hladké svaloviny děložního těla. Děložní myomy jsou diagnostikovány u 30–50 % žen ve fertilním věku. Incidence děložních myomů se zvyšuje s věkem, vrchol výskytu je mezi 35–40 rokem. Většina děložních myomů je asymptomatická. Přítomnost klinických projevů závisí na velikosti, lokalizaci a počtu myomů. Mezi nejčastější řadíme krvácivé projevy, pelipatii, dysmenoreu, dyspareunii, obtíže s močením či defekací.

Děložní myomy se vyskytují častěji u žen s anamnézou infertility, pokud jsou však vyloučeny jiné příčiny neplodnosti, jsou myomy odpovědné pouze za 2–3 % případů infertility. Myomy deformující děložní dutinu narušují proces implantace a nidace embrya. Mezi mechanismy, kterými myomy ovlivňují fertilitu, patří: nepravidelný růst či porušení celistvosti endometria, které může negativně ovlivňovat či znemožňovat proces implantace a nidace, poruchy děložní kontraktility znemožňující transport spermií a embrya (2–4). Myomy, obturující tubární ústí, mohou bránit normálnímu transportu spermií či embrya. Děložní myomy mohou taktéž způsobovat infertilitu porušením normálního cévního zásobení endometria, což vede k narušení normálního průběhu nidace. Obecně mají tedy submukózní a v určité míře i intramurální myomy negativní dopad na fertilitu ve srovnání s myomy subserózními. Přítomnost klinicky signifikantních děložních myomů může negativně ovlivňovat průběh gravidity. Myomy bývají spojovány s následujícími těhotenskými a porodnickými patologiemi: patologická poloha plodu, dystokia, vyšší riziko operačního vaginálního porodu, císařského řezu, postpartální hemoragie, retence placenty či puerperální infekce v důsledku nekrózy myomu.

V současné době existuje řada terapeutických možností v léčbě děložních myomů. Chirurgická léčba však hraje i v dnešní době dominantní roli v léčbě děložních myomů, a to především u pacientek s reprodukčními plány. Není pochyb o tom, že u žen s děložní myomatózou a neuzavřenými reprodukčními plány by naší snahou mělo být zachování dělohy.

Farmakologická léčba

Farmakologická léčba je vhodná pro všechny typy děložních myomů a k dispozici je celá řada hormonálních preparátů, mezi něž řadíme orální kontraceptiva, progestiny, mifepriston, selektivní modulátory progesteronových receptorů (SPRM) a GnRHa. Léčbu můžeme zjednodušeně rozdělit na léčbu symptomatickou s cílem ulevit symptomům, například u perimenopauzálních pacientek či u pacientek nevhodných k chirurgické léčbě, a dále léčbu kauzální, jejímž cílem je zmenšení objemu myomu a dělohy a redukce vaskularizace.

Do této skupiny řadíme například analoga gonadoliberinu (GnRHa). GnRHa indukují hypoestrinismus supresí produkce FSH, LH a ovariálních steroidů vazbou na GnRH receptory hypofýzy. Hlavním efektem léčby je redukce objemu myomu a dělohy a kontrola menstruačního krvácení. GnRHa indukovaný hypoestrinismus způsobuje typické klimakterické příznaky a v dlouhodobějším podání vede i ke snížení kostní denzity. Po ukončení léčby dochází rychle k návratu symptomů a opětnému nárůstu myomů do původní velikosti. Z výše uvedených důvodů je léčba GnRHa využívána jen krátkodobě v rámci pretreatmentu před plánovanou chirurgickou léčbou.

Ulipristal acetát (UPA) řadíme mezi takzvané selektivní modulátory progesteronových receptorů. Působí na progesteronové receptory myometria a endometria a inhibuje ovulaci, aniž by měl výraznější dopad na sérové hladiny estradiolu či antiglukokortikoidní aktivitu. UPA v 3měsíčním podání před plánovaným operačním zákrokem vede k signi-

fikantní redukcí menstruačního krvácení, objemové redukcí myomu a léčba není spojena s klimakterickými vedlejšími účinky.

Chirurgická léčba

Mezi chirurgické metody léčby děložních myomů obecně řadíme myomektomii, hysterektomii a metody ischemizující. Chirurgickou léčbu indikujeme v případě selhání léčby konzervativní, dále u pacientek s reprodukčními plány se symptomatickými myomy či myomy výrazně deformujícími děložní dutinu.

Myomektomii řadíme mezi fertilitu šetřící výkony. Dle přístupu můžeme myomektomii rozdělit na laparoskopickou, laparotomickou, hysteroskopickou a vaginální myomektomii. Pro hysteroskopické ošetření jsou vhodné myomy submukózní, pro laparoskopické či laparotomické myomy intramurální a subserózní. Volba laparoskopického či laparotomického přístupu závisí na zkušenosti operátora, velikosti, počtu a lokalizaci myomu(ů). Limitem pro provedení laparoskopické myomektomie je logicky zkušenost operátora s prováděním laparoskopické sutury a dále velikost, počet a lokalizace myomu(ů).

Hysterektomie je definitivní léčebnou metodou u pacientek s děložní myomatózou. Ve Spojených státech amerických představují děložní myomy stále hlavní indikaci k provedení hysterektomie. Vzhledem ke ztrátě reprodukčního potenciálu po hysterektomii by měly u premenopauzálních žen, před provedením hysterektomie, být vždy zváženy reprodukční plány pacientky. Podrobnější popis chirurgických přístupů přesahuje rámec této publikace.

Závěr

V současné době existuje celé spektrum terapeutických možností v léčbě děložních myomů. Ne všechny postupy jsou však, vzhledem k nedostatku zkušeností a kvalitních dat, vhodné u pacientek s reprodukčními plány. U symptomatických pacientek s klinicky signifikantními myomy plánujících graviditu zůstává stále zlatým standardem léčby myomektomie. U všech pacientek je důležitý individuální přístup při hledání vhodné léčebné modality. Úkolem do budoucna je jistě hledání bezpečné, trvalé a neinvazivní léčby s nízkým či nulovým rizikem rekurence myomů.

PRO PRAXI

Evoluce v indikačním spektru a způsobu provedení hysterektomie v tříletém klinickém materiálu

Čes. Gynek.
66, 2001, č. 1
s. 52 - 56

Evolution in Indication's Spectrum and Method of Hysterectomy in 3-years Period

Hudeček R., Ventruba P., Roztočil A.

I. gynek.-porod. klinika LF MU v Brně, přednosta prof. MUDr. Pavel Ventruba, DrSc.

Structured Abstract

Objective: The computer analysis of indications, operating approaches and techniques in 1085 women undergoing hysterectomy was performed on our clinic. The evolution of indications, diagnosis and following operating approaches from 1997 to 1999 were analysed.

Material and methods: Retrospective computer data analysis of operating protocols using software PFANNENSTIEL 1.2. Results were obtained through filtering archive file's database.

Results: Type of hysterectomy: abdominal 65%, vaginal hysterectomy 15%, radical hysterectomy 12%, Laparoscopic assisted vaginal hysterectomy (LAVH) 8%.

Type of diagnosis: uterine leiomyomas 46%, metrorrhagia 25%, urogynaecological diagnosis 25%, malignant tumors 19%, pelvic inflammatory diseases (PID) 9%, pelvalgia 4%, combined diagnosis 28%. Metrorrhagia - operating approaches - abdominal hysterectomy 80%, LAVH 17%. Myomatosis - operating approaches - abdominal hysterectomy 83%, LAVH 13%, vaginal hysterectomy 4%. Pelvalgia - operating approaches - abdominal hysterectomy 68%, LAVH 28%, vaginal hysterectomy 3%. PID - operating approaches - abdominal hysterectomy 75%, LAVH 23%. Malignant tumors - operating approaches - radical hysterectomy sec. Wertheim or sec. Te-Linde 65%, abdominal hysterectomy 35%. Urogynaecological diagnosis - operating approaches - vaginal hysterectomy 59%, abdominal hysterectomy 37%.

Conclusion: The reduction of abdominal approach towards hysterectomy by women with non oncological diagnosis since 1997 to 1999 (1997 - 85.8%, 1998 - 69.9%, 1999 - 53.7%) and increase of vaginal hysterectomy (1997 - 10.4%, 1998 - 14.6%, 1999 - 17.5%) and LAVH was noted. Steep increase of LAVH (1997 - 0.7%, 1998 - 5.4%, 1999 - 13.0%) shows the introduction of this method into routine spectrum of operating techniques. Indication spectrum of diagnosis leading to the hysterectomy within three years did not change. Reduction of metrorrhagia (1997 - 26.9%, 1998 - 28.1%, 1999 - 16.9%) and increase of malignant tumors (1997 - 11.2%, 1998 - 16.0%, 1999 - 22.1%) and PID (1997 - 3.0%, 1998 - 10.3%, 1999 - 8.6%) was not significant.

Key words: hysterectomy, indication, operating approaches, operating techniques

Strukturovaný souhrn

Cíl studie: Rozbor indikací, operačních přístupů a technik 1085 hysterektomií na I. gynekologicko-porodnické klinice v Brně prostřednictvím výpočetní techniky. Práce analyzuje zastoupení indikačních kritérií a typů diagnóz a sleduje vztahy mezi základní diagnózou a použitou operační technikou a jejich vývoj v letech 1997 - 1999.

Typ studie: Retrospektivní studie

Název a sídlo pracoviště: I. gynek.-porod. klinika LF MU, Brno.

Materiál a metodika: Retrospektivní analýza dat z operačních protokolů evidovaných v počítačovém programu PFANNENSTIEL verze 1.2. Data byla získána filtrací databáze programu v modulu „Archiv“.

Výsledky: Zastoupení typů hysterektomie - abdominální přístup 65 % operačních výkonů, vaginální hysterektomie 15 %, radikální onkologické operace 12 %, laparoskopicky asistované vaginální hysterektomie (LAVH) 8 % výkonů.

Zastoupení typů diagnóz - myomatóza 46 %, metroragie 25 %, urogynekologické diagnózy 25 %, onkologické příčiny 19 %, zánětlivá etiologie 9 %, pelvalgie 4 %, sdružená indikace 28 %. Metroragie - operační přístup - 80 % případů řešeno abdominální cestou, LAVH byla pro diagnózu metroragie provedena v 17 %. Myomatóza - operační přístup - abdominální přístup 83 %, LAVH 13 %, vaginální cestou 4 %. Pelvalgia - operační přístup - abdominální hysterektomie 68 %, laparoskopicky řešeno 28 %, vaginální přístup 3 %. Zánětlivá etiologie - operační přístup - 75 % výkonů provedeno abdominální cestou, 23 % technikou LAVH. Onkologické diagnózy - operační přístup - 203 hysterektomií pro diagnózu zhoubného nádoru, 65 % výkonů tvořily radikální onkologické operace podle Wertheima a podle Te Lindeho, u 35 % pacientek provedena klasická abdominální hysterektomie. Urogynekologické diagnózy - operační přístup - 59 % případů je řešeno vaginální hysterektomií, 37 % je řešeno abdominálně.

Závěr: V letech 1997 - 1999 byl zaznamenán pokles prováděných abdominálních hysterektomií u pacientek s neonkologickou diagnózou (1997 - 85,8 %, 1998 - 69,9 %, 1999 - 53,7 %) ve prospěch vaginální hysterektomie (1997 - 10,4 %, 1998 - 14,6 %, 1999 - 17,5 %) a LAVH. Dynamický nástup techniky LAVH (1997 - 0,7 %, 1998 - 5,4 %, 1999 - 13,0 %) je odrazem zavedení metody do rutinního

spektra operačních technik pracoviště. Indikační spektrum diagnóz vedoucích k hysterektomii nezaznamenalo ve sledovaném souboru během tří let výrazné změny. Statisticky nevýznamný je pokles zastoupení metroragie (1997 - 26,9 %, 1998 - 28,1 %, 1999 - 16,9 %). Byl zaznamenán nesignifikantní vzestup zastoupení onkologických diagnóz (1997 - 11,2 %, 1998 - 16,0 %, 1999 - 22,1 %) a závažné etiologie (1997 - 3,0 %, 1998 - 10,3 %, 1999 - 8,6 %).

Klíčová slova: hysterektomie, indikace, operační přístupy, operační techniky

ÚVOD

Cílem práce je rozbor zastoupení jednotlivých operačních přístupů k hysterektomii (abdominální, vaginální, laparoskopicky asistovaná vaginální hysterektomie - LAVH) ve sledovaném souboru. Práce sleduje zastoupení indikačních kritérií a typů diagnóz ve vztahu k použité operační technice a jejich vývoj v letech 1997 - 1999. Po tříletém rutinním provozu počítačového programu PFANNENSTIEL verze 1.2 byla provedena retrospektivní analýza databáze modulu Archiv. Předmětem analýzy je 1085 hysterektomií provedených na I. gynekologicko-porodnické klinice MU v Brně od 1. 6. 1997 do 23. 11. 1999.

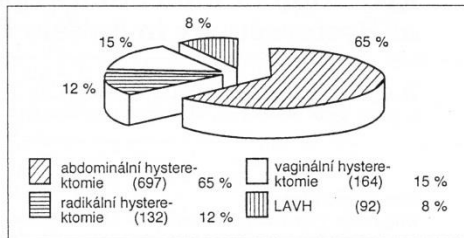
MATERIÁL A METODIKA

Práce analyzuje data z operačních protokolů evidovaná v počítačovém programu PFANNENSTIEL verze 1.2. Tento program je využíván na I. gynekologicko-porodnické klinice MU v Brně k psaní, evidenci a archivaci operačních protokolů a k vedení videokartotéky endoskopických operací. Data byla získána filtrací databáze programu PFANNENSTIEL verze 1.2. v modulu Archiv.

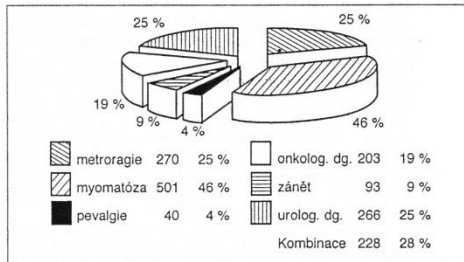
VÝSLEDKY

Zastoupení typů hysterektomie

Ve sledovaném souboru 1085 hysterektomií dominuje abdominální přístup k hysterektomii - 697 výkonů (65 %). Vaginální hysterektomie reprezentuje druhý nejčastěji volený operační přístup - 164 výkonů (15 %). Radikální onkologické operace pod-



Obr. 1. Typy hysterektomie v období 1997 - 1999



Obr. 2. Typy diagnóz u hysterektomií v období 1997 - 1999

le Wertheima a podle Te Lindeho - celkem 132 výkonů (12 %). Laparoskopicky asistovaná vaginální hysterektomie byla provedena u 92 žen (8 %) - obr. 1.

Zastoupení typů diagnóz

Největší zastoupení mezi indikačními kritérii k odstranění dělohy má myomatóza - 501 výkonů (46 %), dále metroragie - 270 výkonů (25 %), urogynekologické diagnózy - 266 operací (25 %), dále

Tab. 1. Typy diagnóz a operační přístup 1997 - 1999

1997-1999	Abdominální hysterektomie		Radikální hysterektomie		Vaginální hysterektomie		LAVH		Σ	
	N	%	N	%	N	%	N	%		
Metroragie	217	80,4	0	0,0	7	2,6	46	17,0	270	100,0
Myomatóza	417	83,2	3	0,6	18	3,6	63	12,6	501	100,0
Pelvalgie	27	69,2	0	0,0	1	2,6	11	28,2	39	100,0
Zánět	70	75,2	0	0,0	2	2,2	21	22,6	93	100,0
Onkol. dg.	70	34,5	131	64,5	1	0,5	1	0,5	203	100,0
Urolog. dg.	99	37,4	2	0,8	157	59,2	7	2,6	265	100,0

onkologické příčiny hysterektomie - 203 výkonů (19 %), zánětlivá etiologie - 93 hysterektomií (9 %), u 40 žen byla provedena hysterektomie pro diagnózu pelvalgie (4 %). Sdružená indikace výše uvedených příčin reprezentuje více než čtvrtinu provedených hysterektomií (28 %). Jde především o kombinaci těchto diagnóz: myomatóza - metroragie, onkologické diagnózy - metroragie (obr. 2).

Metroragie

Hysterektomie indikované pro děložní krvácení byly ve sledovaném souboru u 217 pacientek provedeny abdominální cestou (80 %). Technikou LAVH bylo odoperováno 46 žen (17 %). Vaginálně byla provedena hysterektomie u 7 pacientek (3 %). Radikální hysterektomie podle Wertheima nebo podle Te Lindeho nebyla pro samostatnou diagnózu metroragie ve výše uvedeném období provedena (tab. 1).

Uterus myomatosus

V operačním řešení děložní myomatózy zcela jednoznačně převažuje abdominální přístup 417 výkonů (83 %). Laparoskopicky asistovaná vaginální hysterektomie byla provedena u 63 žen (13 %). Vaginální cestou bylo ve sledovaném souboru operováno 18 pacientek pro hlavní diagnózu uterus myomatosus (4 %) - tab. 1.

Pelvalgie

Abdominální hysterektomie byla použita v 27 případech pelvalgií (69 %), laparoskopicky bylo operováno 11 žen (28 %) a vaginální přístup byl použit v 1 případě (3 %) - tab. 1.

Zánětlivé procesy v malé pánvi

Pro tato onemocnění bylo provedeno celkem 93 hysterektomií. Tři čtvrtiny žen byly operovány abdominální cestou - 70 výkonů (75 %), necelá čtvrtina technikou LAVH - 21 výkonů (23 %), pouze 2 operace byly provedeny vaginálně (2 %) - tab. 1.

Onkologické diagnózy

Ve sledovaném souboru bylo provedeno celkem 203 hysterektomií pro diagnózu zhoubného nádoru (cervix 85, 42 %, corpus 79, 39 %, ovarium 39, 19 %). Dvě třetiny výkonů tvořily radikální onkologické operace - 132 výkonů (65 %). Z nich hysterektomie radikální podle Te Lindeho 103 (79 %), hysterektomie radikální podle Wertheima 29

(21 %). U 70 pacientek s onkogynekologickou diagnózou byla provedena klasická abdominální hysterektomie s nebo bez adnexektomie (35 %), po jednom výkonu byla provedena LAVH a vaginální hysterektomie (tab. 1).

Urogynekologické diagnózy

Ve více než polovině urogynekologických indikací byl použit vaginální přístup - 157 hysterektomií (59 %). Tuto skupinu reprezentují především inkontinentní ženy se sestupem dělohy a cystokélou. Celkem 99 žen s urogynekologickou diagnózou bylo operováno abdominálně (37 %). Výkony této skupiny byly převážně kombinovány s kolposuspenzí podle Burche. Celkem byla pro urogynekologickou diagnózu provedena hysterektomie u 266 žen (tab. 1).

Indikace k jednotlivým přístupům Hysterektomie abdominální

Celkem byla provedena abdominální hysterektomie u 697 pacientek. Převažující indikací byla děložní myomatóza - 417 výkonů (60 %), dále metroragie - 217 výkonů (31 %). Urogynekologické indikace - 99 výkonů (15 %). Pacientky s onkologickou diagnózou a zánětlivou etiologií shodně po 70 operacích (10 %). Diagnóza pelvalgie tvořila necelé 4 % indikací k abdominální hysterektomii. Výše uvedené diagnózy se kombinovaly u 203 pacientek, u nichž byla provedena abdominální hysterektomie pro sdruženou indikaci (29 %) - tab. 2.

Hysterektomie radikální

Ze 132 radikálních hysterektomií (podle Te Lindeho 103 výkonů, podle Wertheima 29 výkonů) bylo provedeno 99,2 % pro onkogynekologickou diagnózu. Přidružené urogynekologické indikace - u 2 výkonů a myomatóza děložní - u 3 výkonů (tab. 2).

Hysterektomie vaginální

Vaginální hysterektomie byla za sledované období provedena u celkem 164 žen. Hlavní indikací k provedení vaginální hysterektomie byla ve 157 případech močová inkontinence (96 %). Přidružená diagnóza myomatózy děložní - u 18 výkonů, metroragie - u 7 výkonů, zánětlivá etiologie, pelvalgie a onkologické diagnózy - celkem u 4 výkonů. Tyto přidružené diagnózy patří do skupiny 22 vaginálních hysterektomií provedených pro sdruženou indikaci (13 % výkonů) - tab. 2.

Tab. 2. Typy hysterektomie a indikace 1997 - 1999

1997-1999	Metroragie		Myomatóza		Pelvalgie		Zánět		Onkolog. dg.		Urolog dg.		Sdružené dg.		Σ	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
Abdominální hysterektomie	217	31,1	417	59,8	27	3,8	70	10,0	70	10,0	99	14,2	203	28,9	697	100
Radikální hysterektomie	0	0,0	3	2,3	0	0,0	0	0,0	131	99,2	2	1,5	4	3,0	132	100
Vaginální hysterektomie	7	4,3	18	10,9	1	0,6	2	1,2	1	0,6	157	95,7	22	12,7	164	100
LAVH	46	50,0	63	68,5	11	11,9	21	22,8	1	1,1	7	7,6	57	61,9	92	100

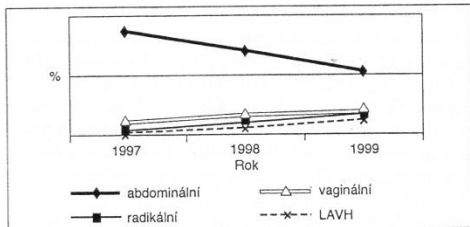
Laparoskopicky asistovaná vaginální hysterektomie

Celkem 92 pacientek podstoupilo laparoskopicky asistovanou vaginální hysterektomii. V tomto souboru je diagnóza děložní myomatózy zastoupena u 63 žen (69 %), přidružená diagnóza metrorragie u 46 pacientek (50 %) a přidružená diagnóza inflamatorního procesu v malé pánvi u 21 žen (23 %).

Více než polovina pacientek podstoupila LAVH - 57 výkonů (62 %) pro sdruženou diagnózu (uterus metriticomyomatosis cum metrorrhagia irregularis) - tab. 2.

Typ hysterektomie - vývoj 1997 - 1999

Tříletý vývoj zastoupení jednotlivých operačních přístupů k hysterektomii shrnuje graf 1 a tabulka 3.

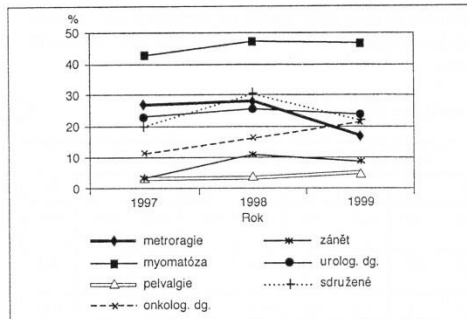


Graf 1. Typy hysterektomie - vývoj

Tab. 3. Typy hysterektomie - vývoj 1997 - 1999

Hysterektomie	1997		1998		1999	
	N	%	N	%	N	%
Abdominální	230	85,8	311	69,9	301	53,7
Radikální	8	2,9	45	10,1	89	15,9
Vaginální	28	10,4	65	14,6	98	17,5
LAVH	2	0,7	24	5,4	73	13,0

Indikace k hysterektomii - vývoj 1997 - 1999



Graf 2. Indikace k hysterektomii - vývoj

Změny ve spektru indikací k hysterektomii od roku 1997 do roku 1999 ukazuje graf 2 a tabulka 4.

Tab. 4. Indikace k hysterektomii - vývoj 1997 - 1999

	1997		1998		1999	
	N	%	N	%	N	%
Metrorragie	72	26,9	125	28,1	95	16,9
Myomatóza	114	42,5	210	47,2	263	46,9
Pelvalgie	8	3,0	15	3,4	26	4,6
Onkolog. dg.	30	11,2	71	16,0	124	22,1
Zánět	8	3,0	46	10,3	48	8,6
Urolog dg.	62	23,1	115	25,8	135	24,1
Sdružené dg.	52	19,4	137	30,7	130	23,2

DISKUSE

Hysterektomie je po císařském řezu druhou nejčastěji prováděnou gynekologickou operací v USA. Podle zdrojů National Hospital Discharge Survey (NHDS) jde v USA o 590 000 hysterektomií ročně. Více než třetina žen nad 60 let věku ve Spojených státech podstoupila operační odstranění dělohy a výdaje na jejich léčbu ročně překračují 5 miliard USD [1].

V rámci České republiky nejsou podobné komplexní údaje k dispozici. Na frekvenci hysterektomií se nepochybně podílejí regionální rozdíly, postoj gynekologa i pacientky. Operační škola jednotlivých pracovišť ovlivňuje typ operačního přístupu vzhledem k základní diagnóze.

Cílem práce bylo porovnat tyto vztahy v souboru pacientek I. gynekologicko-porodnické kliniky MU v Brně a výsledky srovnat s literárními údaji.

Celosvětové trendy v gynekologické operativě směřují k minimálně invazivní chirurgii s důrazem na upřednostnění operativy vaginální a laparoskopických technik. Holub a kol. prokazuje na souboru 95 provedených hysterektomií statisticky signifikantní rozdíly v poškození tkáně mezi klasickou abdominální hysterektomií a hysterektomií vaginální a LAVH a to prostřednictvím monitorování sérových hladin kreatinínázy (CK) [6]. Na roli interleukinů a imunologické aspekty prevence tvorby pooperačních adhezí při laparotomickém přístupu a laparoskopické operativě upozorňuje Crha a kol. [2]. Dorsey poukazuje na zkrácení doby pooperační hospitalizace pacientek po LAVH a vaginální hysterektomii (2,6 dne a 2,9 dne) proti abdominálně operovaným pacientkám (3,9 dne) [3]. Falcone uvádí časnější mobilizaci a aptabilitu u pacientek po LAVH a vaginální hysterektomii proti pacientkám po abdominální hysterektomii, při shodných nákladech na léčbu [4]. Diskutována je změna kvality života ženy před a po hysterektomii vzhledem k základní diagnóze vedoucí k operačnímu řešení. Rowe udává větší vliv hysterektomie na zlepšení kvality života u pacientek

operovaných primárně pro diagnózu pánevní bolesti, než u pacientek operovaných pro nepravidelné krvácení [11]. Podobně uzavírá Hillis efekt hysterektomie při řešení chronické pánevní bolesti [5].

Ve sledovaném souboru 1085 hysterektomií provedených na I. gynekologicko-porodnické klinice MU v Brně tvoří abdominální hysterektomie 65 %, což koresponduje s literárními údaji, zastoupení LAVH (8 %) je shodné s údaji NHDS (8 %) [4]. Zastoupení vaginální hysterektomie vykazuje výrazné rozdíly mezi jednotlivými pracovišti. Například Netto a kol. provádí odstranění neprolabované dělohy bez maligního tumoru v souboru 300 pacientek v 99 % případů vaginální cestou. 56,7 % z 300 operací řeší per morcellement. Střední délka operačního času v Nettově souboru je 51 minut [10]. Ve sledovaném souboru I. gynekologicko-porodnické kliniky v Brně tvoří vaginální hysterektomie 15 % výkonů. Po odečtení 132 radikálních hysterektomií provedených pro onkogynekologickou diagnózu je zastoupení vaginální hysterektomie 17 % (obr. 1).

Nejčastější diagnóza vedoucí k odstranění dělohy ve sledovaném souboru 1085 pacientek je myomatóza (46 %), což nekorresponduje s údaji National Center for Health Statistics (NCHS) USA, kde je tato diagnóza uváděna pouze ve 30 %. Metroragie tvoří 25 % diagnóz, NCHS udává 20 %. Urogynekologické potíže pacientek vedly k operačnímu řešení v 25 % případů, NCHS udává 15 %. Podle Carlsons je chronická pánevní bolest příčinou hysterektomie v necelých 10 %, což souhlasí s výsledky analýzy sledovaného souboru (zánětlivá etiologie 9 %, pelvalgie 4 %) [1] (obr. 2).

Retrospektivní analýza 1085 provedených hysterektomií na I. gynekologicko-porodnické klinice zachycuje v souladu s celosvětovým trendem přechod k šetrnějšímu vaginálnímu a kombinovanému laparoskopickému a vaginálnímu přístupu k hysterektomii.

ZÁVĚR

V letech 1997 - 1999 byl zaznamenán pokles zastoupení abdominálního operačního přístupu k hysterektomii u neonkologických diagnóz (1997 - 85,8 %, 1998 - 69,9 %, 1999 - 53,7 %) ve prospěch méně invazivního přístupu vaginálního (1997 - 10,4 %, 1998 - 14,6 %, 1999 - 17,5 %) a LAVH (1997 - 0,7 %, 1998 - 5,4 %, 1999 - 13,0 %). Dynamický nástup techniky LAVH je odrazem zavedení metody do rutinního spektra operačních technik pracoviště a koresponduje s celosvětovým trendem minimálně invazivní chirurgie (tab. 3).

Indikační spektrum diagnóz vedoucích k hysterektomii nezaznamenalo ve sledovaném souboru během tří let výrazné změny. Statisticky nevýznamný je pokles zastoupení metroragie (1997 - 26,9 %, 1998 - 28,1 %, 1999 - 16,9 %). Byl zaznamenán nesignifikantní vzestup zastoupení onkologických diagnóz (1997 - 11,2 %, 1998 - 16,0 %, 1999 - 22,1 %) a zánětlivé etiologie (1997 - 3,0 %, 1998 - 10,3 %, 1999 - 8,6 %).

Použití počítačového programu PFANNENSTIEL verze 1.2 umožňuje pohotově a přesně analyzovat výsledky pracoviště [7, 8, 9]. Rychlý a přesný rozbor umožňuje modifikaci klinických operačních postupů.

LITERATURA

1. Carlson, J. K., Nichols, H. D., Schiff, I.: Indications for hysterectomy. *N. Engl. J. Med.*, 328, 1993, s. 856-860.
2. Crha, I., Ventruba, P., Petrenko, M., Višňová, H.: Současné možnosti prevence adhezí a jejich imunologické aspekty. *Čes. Gynek.*, 64, 1999, s. 230-234.
3. Dorsey, H. J., Holtz, M. P., Griffiths, I. R., McGrath, M. M., Steinberg, P. E.: Costs and charges associated with three alternative techniques of hysterectomy. *N. Engl. J. Med.*, 335, 1996, s. 476-489.
4. Falcone, T., Paraiso, R. F. M., Mascha, E.: Prospective randomized clinical trial of laparoscopically assisted vaginal hysterectomy versus total abdominal hysterectomy. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 180, 1999, s. 955-962.
5. Hillis, D. S., Marchbanks, A. P., Peterson, H.: The effectiveness of hysterectomy for chronic pelvic pain. *Obstet. Gynecol.*, 86, 1995, s. 941-945.
6. Holub, Z., Jabor, A., Fischlová, D., Palásek, V.: Assessment of tissue damage associated with laparoscopic and conventional hysterectomies. *Gynaecological Endoscopy*, 7, 1998, s. 243-249.
7. Hudeček, R., Ventruba, P., Petrenko, M., Šarman, Z.: Program PFANNENSTIEL - software pro videodokumentaci a operativu v gynekologii. *Čes. Gynek.*, 63, 1998, s. 130-134.
8. Hudeček, R., Ventruba, P., Petrenko, M., Unzeitig, V., Crha, I., Chovanec, J.: Počítačový software v gynekologii a porodnictví. *Prakt. Gynekol.*, 1998, s. 66-69.
9. Hudeček, R., Ventruba, P., Petrenko, M., Šarman, Z.: Analýza operativy I. gynekologicko-porodnické kliniky MU v Brně pomocí počítačového programu Pfannenstiel. *Čes. Gynekol.*, 1999, s. 57-60.
10. Netto, F. O., Figueiredo, G. E., Figueiredo, G. P., Pelosi, A. M. III, Pelosi, A. M.: Vaginal removal of the benign nonprolapsed uterus: Experience with 300 consecutive operations. *Obstet. Gynecol.*, 1999, 94, s. 348-351.
11. Rowe, K. M., Kanouse, E. D., Mittman, S. B., Bernstein, J. S.: Quality of life among women undergoing hysterectomies. *Obstet. Gynecol.*, 1999, 93, s. 915-921.

MUDr. Robert Hudeček
I. gynek.-porod. klinika MU Brno
Obilní trh 11
656 77 Brno

PRO PRAXI

Program PFANNENSTIEL - software pro videodokumentaci a operativu v gynekologii

Čes. Gynek.
63, 1998, č. 2
s. 130 - 134

R. Hudeček, P. Ventruba, M. Petrenko, Z. Šarman
I. gynek.-porod. klinika LF MU, Brno, přednosta doc. MUDr. P. Ventruba, DrSc.

Videodokumentace laparoskopických a hysteroskopických výkonů byla zavedena do rutinní praxe na I. gynekologicko-porodnické klinice v Brně od března 1994. Rostoucí počet dokumentovaných výkonů si časem vyžádal systematické archivování videozáznamů. Časová náročnost spojená s ukládáním dat o jednotlivých záznamech do videoarchivu i nepružné vyhledávání materiálů nás vedly k myšlence vytvořit software, který tuto administrativní práci usnadní a zrychlí. Vývoj jmenovaného programu probíhal od ledna 1996.

Během roční spolupráce s programátory se otevřely možnosti na rozšíření vlastností programu a jeho využití. Výsledkem je program PFANNENSTIEL, který komplexně řeší administrativní problémy spojené s operativou v gynekologii a porodnictví. Uspadňuje psaní operačního protokolu, videodokumentaci, archivaci a statistické zpracování dat.

TECHNICKÉ PARAMETRY PROGRAMU

Program PFANNENSTIEL pracuje pod vývojovým prostředím BTRIEVE, které zaručuje vysokou rychlost, umožňuje práce s velkými objemy dat a minimálně zatěžuje počítačovou síť. Minimální požadavky na lokální jednotku jsou PC 486, 8MB, RAM 5MB. Požadavky na stanici v síti: nejméně PC 386, 4MB, server Novel 3.12.

VÝSLEDKY

Program tvoří čtyři soubory představující samostatné funkční jednotky (obr. 1).

1. Psaní operačního protokolu

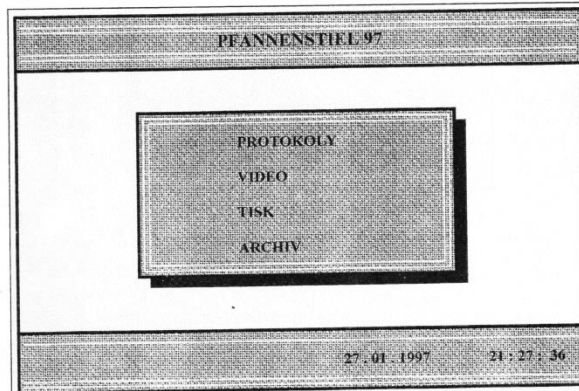
Operatér v běžné praxi používá nejčastěji soubor PROTOKOLY - psaní operačního protokolu. Jednotlivá data obsažená v operačním protokolu - jméno pacienta, rodné číslo, datum operace, jméno operátora a asistence, diagnóza a typ výkonu, představují sou-

časné klíčová hesla pro vyhledávání v archivu a statistické zpracování dat. Při psaní operačního protokolu program především urychluje a usnadňuje administrativní práci lékaře. Nabízí hned několik kroků, které mimo jiné zajistí i kompletnost a přesnost dat (obr. 2).

Především jde o možnost zadat jméno pacientky prostřednictvím vyplnění rodného čísla. Po vypsání prvního šestičíslí rodného čísla operatér vstupuje do číselníku patientek, který je napojen na ústavní databázi. Pohybem kurzorové klávesy v číselníku zvolí hledané jméno a klávesou Enter potvrdí jeho přepsání do protokolu. Napojením programu na nemocniční počítačovou síť, z níž kopíruje jméno a rodné číslo pacientky, odpadá možnost vypsání chybného rodného čísla nebo nepřesného jména pacientky. Program do dat ústavní sítě nezasahuje ani je nijak nemění.

Datum a hodina výkonu se automaticky zobrazí v protokolu podle data a času vstupu do programu, oba parametry lze měnit - editovat.

Jména operátů, asistentů, anesteziologů a sester jsou uspořádána v analogickém číselníku jako jména patientek. Jde o číselník lokální, který lze aktualizovat přímo v programu. V operačním protokolu stačí vpsat jen několik písmen jména bez ohledu na velikost počátečního písmena a PFANNENSTIEL zobrazí jméno hledaného lékaře, popřípadě abecedně nejbližší jméno. Kurzorem



Obr. 1.

OPERACNÍ PROTOKOL	
Chorobopis: 12345 I 97	Videozáznam (Y/N): 00:00:00
Pacient: Pavliková Marie	Rodné čís.: 6556010255
Datum: 27.01.1997	Čas: 20:30
Anesteziolog: MUDr. Antrátová	
Operator: MUDr. Rejčková	
Asistence: MUDr. Koukal	
Sestra: s. Dohnalová	
Diagnóza: Sactosalpinx vent. ldx	
Vykon: salp	
Popis:	

Obr. 2.

OPERACNÍ PROTOKOL	
Chorobopis: 12345 I 97	Videozáznam (Y/N): 00:00:00
Pacient: Pavliková Marie	Rodné čís.: 6556010255
Datum: 27.01.1997	Čas: 20:30
Anesteziolog: MUDr. Antrátová	
Operator: MUDr. Rejčková	
Asistence: MUDr. Koukal	
Sestra: s. Dohnalová	
Diagnóza: Sactosalpinx vent. ldx	
Vykon: salp	
Popis:	

Obr. 3.

OPERACNÍ PROTOKOL	
Chorobopis: 12345 I 97	Videozáznam (Y/N): 00:00:00
Pacient: Pavliková Marie	Rodné čís.: 6556010255
Datum: 27.01.1997	Čas: 20:30
Anesteziolog: MUDr. Antrátová	
Operator: MUDr. Rejčková	
Asistence: MUDr. Koukal	
Sestra: s. Dohnalová	
Diagnóza: sac	
Vykon: SAC	
Popis:	

Obr. 4.

OPERACNÍ PROTOKOL	
Chorobopis: 12345 I 97	Videozáznam (Y/N): 00:00:00
Pacient: Pavliková Marie	Rodné čís.: 6556010255
Datum: 27.01.1997	Čas: 20:30
Anesteziolog: MUDr. Antrátová	
Operator: MUDr. Rejčková	
Asistence: MUDr. Koukal	
Sestra: s. Dohnalová	
Diagnóza: Sactosalpinx vent. ldx	
Vykon: salp	
Popis:	

Obr. 5.

OPERAČNÍ PROTOKOL	
Egyes-por: kóduka FP. BEMO	
Chorobopis: 12345/197	Videozáznam (V / N) 00 : 00 : 00
Pacient: Pavliková Marie	Rodné čís.: 6556010255
Datum: 27.01.1997	Čas: 20:30
Anesteziolog: MUDr. Auřatová	
Operátor: MUDr. Rejdová	
Asistence: MUDr. Koukal	
Sestra: s. Dolnáťová	
Diagnóza: Sactosalpinx ventis. Ldx Sterilitas primaria	
Výkon: Salpingectomy Ldx per laparoscopiam	
<p>Popis: Při vytvoření pneumoperitonea pomocí 350ml CO₂ a zavedení laparoskopické optiky pozorujeme:</p> <p>Uterus: lalce normálního povrchu, norm. velikosti a tvaru, v AVF, mobilní</p> <p>Ovarium l dx: normálního tvaru a velikosti s corpus luteum, bez adhezi</p> <p>l sin: normálního tvaru a velikosti s corpus luteum, bez adhezi</p> <p>Salpinx l dx: vnitř. terminálně rozšířen v sactosalpinx, bez adhezi.</p> <p>l sin: kontrastní látka proniká pod tlakem vnitřní volby, finisire bpm, kontrastní látka proniká volně</p> <p>Mesosalpinx: bílá bpm</p> <p>Lig. sacrouterina: bílá bpm</p> <p>CD: 40 ml pantarové tekutiny, odsáto</p> <p>Apendix: bílý, krajina klidná</p> <p>Hepar: hladkého povrchu, naplněný žlučink.</p> <p>Výkon: Sřídavě elektrokoagulací bipolárními klemami a ostrou preparací odstraněna pravá tuba. Kontrola krvácení - neuděáno</p> <p>Tasleťta dutiny břišní, zrušení pneumoperitonea. Výkon bez komplikací.</p> <p>Ad. instel: pravá tuba</p> <p style="text-align: right;">MUDr. Rejdová</p>	
27. 01. 1997 21 : 30 : 15	

Obr. 6.

volíme a následně klávesou Enter potvrdíme jméno, které se v protokolu přepíše v plném znění včetně titulů (obr. 3).

Podobný princip je aplikován i při vyplnění diagnózy a typu výkonu (obr. 4, 5). Vytvořili jsme dva číselníky, do kterých jsme zahrnuli diagnózy a na ně navazující operační výkony v gynekologii a porodnictví. Diagnózy i výkony jsou psány v latině a v ustálené formě. V číselníku je vždy u příslušné diagnózy i kód mezinárodní klasifikace nemocí a u výkonu je uveden kód pro pojišťovnu. Textová forma slouží jako klíčové heslo pro vyhledávání v archivu a pro statistiky. Operátor má možnost dopsat za takto zvolenou diagnózu doplněk týkající se např. stranové specifikace apod. Pod diagnózou i pod výkonem jsou pole pro psaní volného textu. Oba číselníky lze editovat.

Následuje psaní vlastního textu popisujícího průběh operace. Lékař má možnost volit mezi předdefinovaným textem, který doplňuje a mění, a volným popisem (obr. 6). Při natočení operace na video potvrdí operátor tuto skutečnost do pole „videodokumentace“ v záhlaví protokolu (viz obr. 6).

Tímto krokem prakticky končí vstup operátora do programu.

2. Hromadný tisk protokolů

Program přenáší protokoly do souboru TISK (viz obr. 1), kde se hromadí operační protokoly příslušného dne. Tisknout tyto protokoly lze najednou po zadání potřebného počtu kopií. Po vytisknutí protokolů jsou data přenesena do souboru ARCHIV. Protokoly, které mají v záhlaví poznámku o videodokumentaci, jsou před zařazením do archivu koncentrovány v souboru VIDEO (viz obr. 1).

3. Videodokumentace

Archivování videodokumentace probíhá následovně. Před každým dokumentovaným výkonem je na video natočena hlavička chorobopisu pacientky a za ní navazuje 1 - 2minutový sestřih nálezu před operací, během operace a po operaci. Soubor VIDEO nabízí dokumentátorovi chronologicky seřazená jména pacientek s datem operace. Po potvrzení volby pacientky program zobrazí hlavičku operačního protokolu s dotazem na číslo videokazety a začátek záznamu. Při přehrávání kazety je zaznamenán začátek záznamu a následně je přepsán do nabízeného protokolu (obr. 7). Zkompletizovaná data v podobě operačního protokolu s odkazem na videokazetu a čas jsou přenesena do souboru „archiv“.

4. Archiv

Praktické využití uložených dat nabízí soubor ARCHIV (viz obr. 1). Jde především o vyhledání konkrétního protokolu a statistické přehledy operativy, vyhodnocení činnosti apod. Základním pracovním prostředkem v archivu je FILTR dat. Jde o tabulku obsahující následná filtrová pole (obr. 8): číslo chorobopisu, číslo videokazety, jméno pacientky, rodné číslo, časový interval, operátor, asistent, diagnóza, výkon. Při práci s archivem lze vyplnit libovolnou kombinaci filtrových polí

VIDEOZÁZNAMY															
Datum	Čas	Jméno	Rodné čís.	Kazeta	Začátek										
27.01.97	20 : 30	Pavliková Marie	6556010255	AR - 3	01 : 15 : 10										
<table border="1"> <thead> <tr> <th colspan="2">OPERAČNÍ PROTOKOL</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Chorobopis : 12345/197</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Pacient : Pavliková Marie</td> <td>Rod. čís.: 6556010255</td> </tr> <tr> <td>Datum : 27.01.1997</td> <td>Čas: 20:30</td> </tr> <tr> <td>Kazeta : AR - 3</td> <td>Začátek: 01 : 15 : 10</td> </tr> </tbody> </table>						OPERAČNÍ PROTOKOL		Chorobopis : 12345/197		Pacient : Pavliková Marie	Rod. čís.: 6556010255	Datum : 27.01.1997	Čas: 20:30	Kazeta : AR - 3	Začátek: 01 : 15 : 10
OPERAČNÍ PROTOKOL															
Chorobopis : 12345/197															
Pacient : Pavliková Marie	Rod. čís.: 6556010255														
Datum : 27.01.1997	Čas: 20:30														
Kazeta : AR - 3	Začátek: 01 : 15 : 10														
Záznamu : 1		27. 01. 1997 21 : 30 : 15													
1	2	3	4	5	6										
		Probl.		Změna	Kazeta										

Obr. 7.

a potvrdit zadání. Program z databáze souboru ARCHIV zobrazí hledané údaje. Nabízí se následující pracovní režimy:

4.1. Vyhledávání operačních protokolů

Ve filtru zadáme jméno pacientky nebo její rodné číslo. Program zobrazí hledaný operační protokol i s odkazem na videodokumentaci (byla-li operace dokumentována). Protokol lze tisknout a v kombinaci s videozáznamem, který se snáze hledá, tvoří dokument s vysokou výpovědní hodnotou. Nabízí se využití pro výukové, ale i forenzní účely, předání dokumentace odesílajícímu lékaři.

4.2. Individuální statistiky

Ve filtru vyplníme jméno operátora prostřednictvím číselníku lékařů, dále příslušný časový interval a sledovaný typ operace. Program předloží očíslovaný seznam pacientek v chronologickém pořadí podle data operace. Lze volit některá jména a zobrazit operační protokol nebo tisknout celý přehled.

4.3. Celkové přehledy operativy

Dlouhodobý přehled operativy všech lékařů lze vytvořit tak, že do pole časového intervalu zadáme sledované období a potvrdíme kombinaci. Program zobrazí přehlednou tabulku, kde na ose Y jsou abecedně seřazeni lékaři a na ose X typy výkonů. V polích tabulky jsou udány konkrétní počty v poměru operátor/asistent. Přehledy lze tisknout.

4.4. Obsah videokazety

Při zadání čísla videokazety ve FILTRU dat zobrazí program seznam jmen pacientek s datem operace, a to v chronologickém pořadí tak, jak jsou na kazetě zaznamenány. Nechybí údaj o začátku záznamu.

ARCHIV						
Datum	Čas	Jméno	Rodné čís.	Kazeta	Začátek	
26.01.97	8:30	Schlemova Dana	7586011312	AR-3	01:11:20	
27.01.97	10:15	Koucká Zdena	5315261254	AR-3	01:13:50	
27.01.97	20:30	Pavlíková Marie	6586010258	AR-3	01:15:10	

F I L T R D A T		Kazeta :	
Pacient :	Pavlíková Marie	Rod. čís. :	6586010258
Datum od :	00:00:0000	do :	00:00:0000
Operator :		Asistence :	
Diagnóza :		Výkon :	

Zaznamů : 3	27.01.1997	22:00:12
1	2	3
4	5	6
7		

Obr. 8.

4.5. Kombinace klíčových hesel filtrových polí

Zajímá-li nás např., jak často postupujeme při určité diagnóze jedním typem výkonu a jak často jiným, třeba radikálnějším, zvolíme ve filtru kombinaci „diagnóza a první výkon“ a pak „diagnóza a druhý výkon“. Získáme opět buď sestavy jmen s možností zobrazení jednotlivých protokolů, nebo statistické přehledy. Obecně platí, že kombinaci filtrových polí lze volit libovolně. Práce v archivu je v režimu „read only and print“, což zaručuje bezpečnost uložených dat.

4.6. Univerzálnost programu

Program pracuje jako samostatná jednotka. Na databázi nemocniční sítě je napojen jen prostřednictvím „čtecího programu“, který kopíruje jména a rodná čísla pacientek. Tento „čtecí program“ je flexibilní a lze jej přizpůsobit různým typům počítačových sítí a nemocničních informačních systémů. Psaní operačních protokolů, práci s archivem, tisk protokolů a práci s videokartotékou lze provádět na kterémkoli počítači v síti, přičemž v jednotlivých souborech může pracovat více účastníků současně. Program má i lokální verzi, kterou lze nainstalovat na jediný počítač, na kterém budou probíhat veškeré výše jmenované aktivity. Odpadá jen použití databáze pacientek. Je nutné vyplnit celé rodné číslo a jméno pacientky. Pohotovost a pružnost programu umožňuje rozšířit jeho využití (kromě endoskopických výkonů) i na veškerou operativu v gynekologii a v porodnictví.

DISKUSE

Na naší klinice máme dlouhodobé zkušenosti s tvorbou medicínských softwarů. Příkladem mohou být na našem pracovišti vyvinuté databázové programy pro oddělení asistované reprodukce PC PĀR, program pro screening vrozených vývojových vad plodu a prenatální diagnostiku PRENATAL a program andrologické ambulance využitý v rámci řešení grantového úkolu IGAMZ - ANDROLOG. Rovněž je na našem pracovišti vyvíjen software pro Národní Registr Asistované Reprodukce. Tyto počítačové programy patří do oblasti vysoce specializovaných softwarů „šitých na míru“. PFANNENSTIEL představuje univerzální program s možností široké aplikace v dalších lékařských oborech.

Program PFANNENSTIEL je „uživatelsky přátelský“ a jeho obsluha je jednoduchá i pro lékaře, kteří mají jen základní zkušenosti s prací na osobním počítači. Jeho nízká náročnost na kapacitu počítačové sítě, rychlost zpracování dat, snadná implementace do již zavedených počíta-

čových sítí a v neposlední řadě i nízká pořizovací cena jej činí dostupným pro řadu gynekologicko-porodnických pracovišť.

Operační moduly podobného charakteru bývají součástí komplexních nemocničních informačních systémů. Doba potřebná k implementaci těchto programů do sítě a jejich cenová relace je však o několik řádů náročnější.

Počítačový program PFANNENSTIEL byl vytvořen pro potřebu našeho oboru. Jeho flexibilita a univerzálnost nás však vede k jeho rozšíření i na ostatní operační obory. V současné době pracujeme na vytvoření číselníků operačních výkonů a diagnóz a tím i nových verzí programu pro obor chirurgie. Následovat bude ortopedie, ORL, oční lékařství a další obory.

ZÁVĚR

Program PFANNENSTIEL je výkonným pomocníkem lékaře operátora, kterého zbavuje tolik nepopulární administrativní práce. Zrychluje a zpřesňuje veškeré aktivity spojené s prací v archivu, statistikou a vyhodnocováním výsledků pracoviště. Umožňuje zpětnou kontrolu počtu proplacených operačních výkonů pojišťovnou vzhledem ke skutečnému stavu operativy apod. Nezanedbatelné je i zprůhlednění videokartotéky a rozšíření jejího využití nejen pro výukové a publikační aktivity, ale i pro běžnou rutinní praxi a forenzní účely.

Pozn.: Podrobnější informace o programu PFANNENSTIEL lze získat na vyžádání u autora.

LITERATURA

1. Ventruba, P., Veselý, J., Unzeitig, V. et al.: Klinické využití osobního počítače v léčbě neplodnosti. Čs. Gynek. 56, 1991, s. 194.
2. Ventruba, P., Pilka, L., Žáková, J. et al.: Asistovaná reprodukce II. Realizace nových metod v oblasti imunologické, mikrobiologické, výpočetní techniky a kryokonzervace. Závěrečná zpráva grantu IGA MZ ČR 1770-2, 1995, s. 32.

MUDr. R. Hudeček
I. gynek.-porod. klinika
Obilní trh 11
656 77 Brno



**HELP
LINE
AIDS**
0800 1 44444
NÁRODNÍ LINKA PREVENCE AIDS
ZDARMA

3.5. Literatura

1. Hudeček R. Závěrečná zpráva Grantu IGA MZ ČR 4696-3/2001. Analýza faktorů ovlivňujících výsledky asistované reprodukce pomocí systému pro dolování znalostí z dat SHLUK a neuronové sítě NEUL 3.
2. Ventruba P, Višňová H, Hudeček R. Kam směřuje vývoj asistované reprodukce v České republice? Národní registr ART 1993 -1996. *Prakt Gyn* 1997; 1(5): 20.
3. de Mouzon, J., Lancaster, P. International Working Group for Registers on Assisted Reproduction. World Collaborative Report on In Vitro Fertilization. Preliminary Data for 1995. *J Assist Reprod Genet* 1997; 14: 5251-5265.
4. International Federation of Fertility Societies International Conference. IFFS Surveillance 98. *Fertil Steril* 1999; 71(5 Suppl 2) S1-S34.
5. Ventruba, P, Višňová H, Hudeček R. et al 10 years of National Register of Assisted Reproduction in Czech Republic. *Asist Reprod* 2000; 10(1): 5-6.
6. Ventruba P, Mardesic T, Hudeček R et al. Register of Assisted Reproduction: Results and analysis of complications. *Čes Gynek* 1998; 63(1): 39-41.
7. Ventruba P, Višňová H, Hudeček R et al. 10 years of National Register of assisted reproduction in Czech Republic. *Asist Reprod* 2000; 10(1): 5-6.
8. Burcin B, Caithamlová E, Kučera, T et al: Demografické souvislosti asistované reprodukce v České republice a na Slovensku. *Prakt Gyn* 2005; 9(5): 11-12.
9. Pilka L, Tesařík J, Dvořák M et al. Narození dítěte po přenosu krátkodobě kultivovaného oocytu do vejcovodu. *Čes Gynek* 1983; 48: 324-326.
10. Asch R, Ellsworth L, Balmaceda J et al. Pregnancy after translaparoscopic gamete intrafallopian transfer. *Lancet* 1984; 1: 1034 -1035.
11. Pilka L, Trávník P, Dvořák M et al. Porod po nitroděložním přenosu embryí získaných fertilizací a kultivací oocytů in vitro. *Čes Gynek* 1985; 50: 452 - 459.
12. Aboulghar MA, Mansour RT. Ovarian hyperstimulation syndrome: classification and critical analysis of preventive measures. *Hum Reprod Update* 2003; 9: 275-289.
13. Elchalal U, Schenker JG. The pathophysiology of ovarian hypersumilation syndrome - views and ideas. *Hum Reprod* 1997; 12: 1129-1137.
14. Beerendonk CC, Van Dop PA, Braat, DD et al. Ovarian hyperstimulation syndrome: facts and fallacies. *Obstet Gynecol Surv* 1998; 53: 439-449.
15. Hudeček R, Ventruba P, Šarman Z et al. Data mining in assisted reproduction using methods for data analysis SHLUK and artificial neural network NEUL 3. *Asis Reprod* 2000; 1: 10-11.
16. Hudeček R, Huser. M, Ventruba P et al. Risk factors of ovarian hyperstimulation syndrome development in asisted reproduction. *Prakt Gyn* 2004; 8(4): 6-12.
17. Šarmanová J. Systém pro automatizované získávání znalostí. Sb. Mezinárodní vědecká konference VŠB' 95, sekce Informatika. Ostrava 1995.
18. Šarmanová J. Systém generování hypotéz nad mnohorozměrnými daty. [Habilitationní práce]. Ostrava 1995.
19. Magdoliň M, Lukáč,V, Kubalík L. Heterotopická gravidita - úspěšný laparoskopický management s pokračující intrauterinnou graviditou. *Gynekolog* 1998; 2: 28 - 31.

20. Clayton HB, Schieve LA, Peterson HB et al. Ectopic pregnancy risk with assisted reproductive technology procedures. *Obstetrics and Gynecology* 2006; 107(3): 595-604.
21. Ventruba P, Čupr Z, Pilka L et al. Faktory sdružené se vznikem mimoděložního těhotenství po fertilizaci in vitro a transferu embrya. *Asistovaná reprodukce* 1992; 2: 10-11.
22. Hudeček R. Analýza faktorů ovlivňujících výsledky AR pomocí systémů pro do-
lování znalostí z databází SHLUK a neuronové sítě Neul 3. Závěrečná zpráva
grant IGA MZČR 2001 č. 4916-3.
23. Vavrušová, R., Hudeček, R., Kuřecová, B., Ventruba, P.: Diagnosticko-
terapeutický algoritmus heterotopické gravidity. *Prakt Gyn* 2007; 11(2): 66-69.
24. Cario GM, Carlton MA. An unusual set of triplets: twin intrauterine pregnancy
with singleton extrauterine pregnancy. *Auster N Zeal J Opst Gynaecol* 1984; 24:
51-54.
25. Fernandez H, Fournet P, Leelaidier C et al. Nonsurgical treatment of heterotopic
pregnancy: a report of six cases. *Fertil Steril* 1993; 60: 428-432.
26. Franke C, Rohrborn A, Thiele H et al. Combined intrauterine and extrauterine
gestation. A rare cause of acute abdominal pain. *Arch Gynecol Obstet* 2001; 265:
51-52.
27. Hulvert J, Mardešič T, Vobořil J et al. Heterotopická gravidita a její výskyt v sou-
vislosti s asistovanou reprodukcí. *Čes Gynec* 1999; 64: 299-301.
28. Reece EA, Petrie RH, Sirmans MF. *Am J Obstet Gynecol* 1983; 146: 323-329.
29. Valle RF, Sciarra JJ. Intrauterine adhesions: hysteroscopic diagnosis, clasification,
tratment and reproductive outcome. *Am J Obstet Gynecol* 1988; 158: 1459-1470.
30. Tur-Kaspa I, Gal M, Hatman M et al. A prospective evaluation of uterine abnor-
malities by saline infusion sonohysterography in 1009 women with infertility or
abnormal uterine bleeding. *Fertil Steril* 2006; 86: 1731-1735.
31. Weiss A, Shalev E, Romano S. Hysteroscopy may be justified after two miscarri-
ages. *Hum Reprod* 2005; 20: 2628-2631.
32. Balasch J, Barri NP. Follicular stimulation and ovarian cancer? *Hum Reprod*
1993; 990-996.
33. Bristow RE, Beth ZK. Ovulation induction, infertility and ovarian cancer risk.
Fertil Steril 1996; 66: 499-507.
34. Bristow RE, Karlan BY. The risk of ovarian cancer after treatment of infertility.
Curr Opin Obstet Gynecol 1996; 8: 32-37.
35. Hardiman P, Nieto JJ, MacLaren A. Infertility and ovarian cancer. *Gynecol Oncol*
2000; 76: 1-2.
36. Vercellini P, Parazzini F, Bolis G. Endometriosis and ovarian cancer. *Am J Obstet*
Gynecol 1993; 169: 181-182.
37. Venn A, Healy D, McLachlan R. Cancer risks associated with the diagnosis of in-
fertility. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2003; 2: 343-367.
38. Whittemore SA. Fertility drugs and risk of ovarian cancer. *Hum Reprod* 1993; 7:
999-1000.
39. Shusman A, Paltiel O, Iscovitch J. Human menopausal gonadotropin and the risk
of epithelial ovarian cancer. *Fertil Steril* 1996; 65: 13-18.

40. Schildkraut JM, Schwingl PJ, Bastos E. Epithelial ovarian cancer risk among women with polycystic ovary syndrome. *Obstet Gynecol* 1996; 88: 554-559.
41. Cohen, J., Forman, R., Harlap, S et al. IFFS expert group report on the Whittemore study related to the risk of ovarian cancer associated with use of fertility agents. *Hum Reprod* 1993; 7: 996-999.
42. Brinton LA, Lamb EJ, Moghissi KS et al. Ovarian cancer risk after the use of ovulation-stimulating drugs. *Obstet Gynecol.* 2004; 103(6): 1194-1203.
43. Doyle P, Maconochie N, Beral V et al. Cancer incidence following treatment for infertility at a clinic in the UK. *Hum Reprod* 2002; 17(8): 2209-2213.
44. Dor J, Lerner-Geva L et al. Cancer incidence in a cohort of infertile women who underwent in vitro fertilization. *Fertil Steril* 2002; 77(2): 324-327.
45. Kashyap S, Moher D, Fung MF et al. Assisted reproductive technology and the incidence of ovarian cancer: a meta-analysis. *Obstet Gynecol* 2004; 103(4): 785-794.
46. Ness RB, Cramer DW, Goodman MT et al. Infertility, fertility drugs, and ovarian cancer: a pooled analysis of case-control studies. *Am J Epidemiol* 2002; 155(3): 217-224.
47. Rossing MA, Tang MT, Flagg EW et al. A case-control study of ovarian cancer in relation to infertility and the use of ovulation-inducing drugs. *Am J Epidemiol* 2004; 160(11): 1070-1078.
48. Whittemore SA. The Collaborative Ovarian Cancer Group. Characteristics relating to ovarian cancer risk: collaborative analysis of 12 US case-control studies. II Invasive epithelial ovarian cancer in white women. *Am J Epidemiol* 1992; 136: 1184-1203.
49. International Federation of Fertility Societies International Conference. IFFS Surveillance 98. *Fertil Steril* 1999; 71: 1-34.
50. Kaufman L, Rousseeuw PJ. *Finding Groups in Data: an Introduction to Cluster Analysis.* John Wiley & Sons: 1990.
51. Šarmanová J. Dolování znalostí z lékařských dat. *Medsoft* 1999; 1: 39-41 ISBN 80-86114-24-4.
52. Zwinger A. Opakované potrácení. Zwinger A et al. *Porodnictví.* Galén: Ptaha 2004: 173-183.
53. Madar J, Nouza D, Nováková D. Imunologické aspekty habituálního potrácení. *Moderní gynekologie a porodnictví. Sterilita a opakované potrácení* 2002; 11(4): 621-627.
54. Gaillyová R. *Genetické příčiny poruch reprodukce.* Brno 2006.
55. Erlebacher A, Zhang D, Parlow AF et al. Ovarian insufficiency and early pregnancy loss induced by activation of the innate immune system. *J Clin Invest* 2004; 114(1): 39-48.
56. Carrington B, Sacks G, Regan L et al. Recurrent miscarriage: pathophysiology and outcome. *Obstet Gyn* 2005; 17(6): 591-597.
57. Hájek Z. *Rizikové a patologické těhotenství.* Grada: Praha 2004.
58. Krajčovičová R, Hudeček R. Nadváha a reprodukční funkce ženy. *Prakt Gyn* 2008; 12(2): 109-116.
59. Višňová H, Ventruha P, Crha I. Metformin v léčbě sterility u žen s PCOS. *Asist reprod* 2003; 13(1): 12.

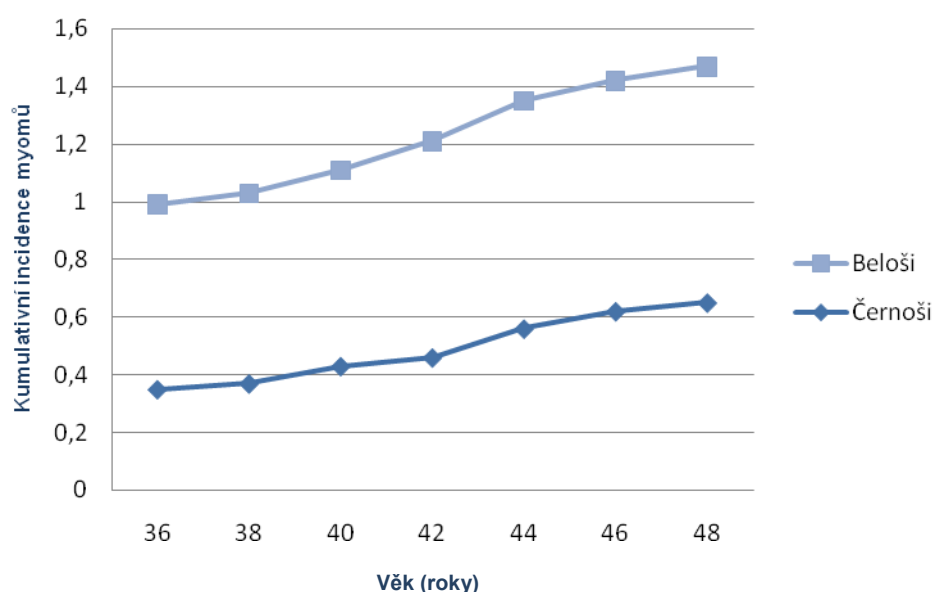
60. Krajčovičová R, Hudeček R, Kalvodová J: Diferenciální diagnostika a terapie opakovaných těhotenských ztrát - II. část. *Prakt Gyn* 2007; 11(5): 200-205.
61. Nouza K, Nouza M, Madar J. Prevence a léčba imunologicky podmíněného opakovaného potrácení. *Medicína* 2000, 6(7).
62. Hudeček R, Ventruba P, Crha I. Podpůrná hormonální léčba v programu asistované reprodukce. *Prakt Gyn* 2005; 9(5): 6-8.
63. Hudeček R, Krajčovičová R, Ventruba P. Imunologické aspekty habituálního potrácení a sterility. *Prakt Gyn* 2007; 11(6): 255.
64. Burcin B, Caithamlová E, Kučera T et al. Demografické souvislosti asistované reprodukce v České republice a na Slovensku. *Prakt Gyn* 2004; 8(5): 11 -12.
65. Belaisch-Allart J, Devaux A, Ayel JP et al. Women of 40 and older in i.v.f. and i.c.s.i.: the FIVNAT data. *Gynecol Obstet Fertil* 2004; 32(9): 730 -736.
66. Cicinelli E, Cignarelli M, Resta L et al. Effects of the repetitive administration of progesterone by nasal spray in postmenopausal women. *Fertil Steril* 1993; 60 (6): 1020-1024.
67. Schwartz D, Mayaux MJ. *N Engl J Med* 1982; 306: 409-412.
68. Navot D, Bergh PA, Williams, MA et al. Poor oocyte quality rather than implantation failure as a cause of age-related decline in female fertility. *Lancet* 1991; 337(8754): 1375-1377.
69. Sauer MV, Paulson RJ, Lobo RA. Pregnancy after age 50: application of oocyte donation to women after natural menopause. *Lancet* 1993; 341(8841): 321 -323.
70. Padilla SL, Bayati J, Garcia JE. Prognostic value of the early serum estradiol response to leuprolide acetate in in vitro fertilization. *Fertil Steril* 199; 53(2): 288-294.
71. Ventruba P, Višňová H, Hudeček R. Kam směřuje vývoj asistované reprodukce v České republice? Národní registr ART 1993 -1996. *Prakt Gyn* 1997; 1(1): 20.
72. Ventruba P, Mardešić T, Hudeček R. Registr asistované reprodukce: výsledky a analýza komplikací. *Čes Gynek* 1998; 63: 39-41.
73. Ventruba P, Višňová H, Hudeček R et al. 10 let národního registru asistované reprodukce v ČR. 10 let národního registru asistované reprodukce v ČR. *Asistovaná reprodukce* 1997; 1: 6-7.
74. Lutjen P, Trounson A., Leeton J et al. The establishment and maintenance of pregnancy using in vitro fertilization and embryo donation in a patient with primary ovarian failure. *Nature* 1984; 307(5947): 174 -175.
75. Antinori S, Versaci C, Gholami GH et al. Oocyte donation in menopausal women. *Hum Reprod* 1993; 8: 1487-1490.
76. Lutchman SK, Davies M, Chatterjee R. Fertility in female cancer survivors: pathophysiology, preservation and the role of ovarian reserve testing. *Hum Reprod Update* 2005; 11: 69-89.
77. Kim SS. Fertility preservation in female cancer patients: current developments and future directions. *Fertil Steril* 2006; 85: 1-11.
78. Crha I, Ventruba P, Žakova J et al. Cryopreservation of sperm before neoplasm therapy - 11 years' experience. *Česka Gynekol* 2007; 72: 324-328.
79. Goswami D, Conway GS. Premature ovarian failure. *Hum Reprod Update* 2005; 11: 391-410.

80. Sonmezer M, Oktay K. Fertility preservation in female patients. *Hum Reprod Update* 2004; 10: 251-266.
81. Ataya K, Rao LV, Lawrence, E et al. Luteinizing hormone-releasing hormone agonist inhibits cyclophosphamide-induced ovarian follicular depletion in rhesus monkeys. *Biol Reprod* 1995; 52: 365-372.
82. Huser M, Jurankova E, Crha I et al. Fertility preservation strategies in women undergoing chemotherapy for haematological malignancy. *Eur Clinics Obstet Gynecol* 2006; 2: 77-81.
83. Tucker M, Morton P, Liebermann J. Human oocyte cryopreservation: a valid alternative to embryo cryopreservation? *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2004; 113(1): 24-27.
84. Marrs RP, Greene J, Stone BA. Potential factors affecting embryo survival and clinical outcome with cryopreserved pronuclear human embryos. *Am J Obstet Gynecol* 2004; 190: 1766-1772.
85. Oktay K, Sonmezer M. Ovarian tissue banking for cancer patients: fertility preservation, not just ovarian cryopreservation. *Hum Reprod* 2004; 19:477-480.
86. Sonmezer M, Shamonki MI, Oktay K. Ovarian tissue cryopreservation: benefits and risks. *Cell Tissue Res* 2005; 322: 125-132.
87. Blumenfeld Z. Preservation of fertility and ovarian function and minimalization of chemotherapy associated gonadotoxicity and premature ovarian failure: the role of inhibin-A and -B as markers. *Mol Cell Endocrinol* 2002; 187: 93-105.
88. Schweppe KW. Guidelines for the use of GnRH-analogues in the treatment of endometriosis. *Zentralbl Gynakol* 2005; 127: 308-313.
89. Mardešič T, Šnajderová M, Šramková L et al. Protocol combining GnRH agonists and GnRH antagonists for rapid suppression and prevention of gonadal damage during cytotoxic therapy. *Eur J Gynaecol Oncol* 2004; 25: 90-92.

4. Vliv děložní myomatózy na reprodukční funkce

4.1. Demografie děložní myomatózy

Problematika děložní myomatózy ve vztahu k sterilitě a infertilitě žen představuje širokou oblast reprodukční medicíny zabývající se děložním faktorem neplodnosti. Děložní myom (leiomyom, fibroid) je nejčastější benigní nádor těla děložního. Postihuje 30–50 % žen ve věku mezi 30–50 lety [1], (Obr. 4-1). Stoupající frekvence výskytu děložních myomů mezi ženami plánujícími koncepci představuje vysoce aktuální demografický problém. Po pečlivém zhodnocení klinického obrazu a podrobné diagnostice počtu, lokalizace a typů myomů následuje otázka, zda děložní myomatóza je u konkrétní pacientky příčinným faktorem sterility nebo infertility, v jakém rozsahu a jaké jsou terapeutické možnosti.



Day Baird et al. Am J Obstet Gynecol 2003, 188: 100 – 107

Obr. 4-1 Incidence myomatózy v EU

Na základě výsledků dosavadních celosvětových studií se za příčinný faktor sterility považuje myom přesahující 5cm a/nebo jeho lokalizace v blízkosti cervixu či tubárního ústí [2]. Dopad na fertilitu je dán zejména intimním vztahem děložního myomu k dutině děložní. Statisticky významný vliv na počet klinických těhotenství a porodů živých plodů byl jasně prokázán pouze v souvislosti se submukózní a intramurální myomatózou [3]. Tradičně udávaný příčinný vztah myomů k potracení je některými novými studii zpochybňován, zejména pokud se jedná o myom solitární. Spíše než velikost a lokalizace leiomyomu je pro další osud těhotenství důležité místo nidace plodového vejce ve vztahu k myomu [4]. Studie publikované v posledních letech potvrzují i signifikantně horší výsledky v cyklech asistované reprodukce (implantation rate, pregnancy rate, delivery rate) a výraznou redukcí úspěšnosti cyklů in vitro fertilizace (IVF) u žen s leiomyomem proti kontrolním skupinám (nejčastěji v porovnání s ženami s tubárním faktorem sterility), a to i v případě myomů intramurálních, nedeformujících děložní dutinu [5, 6].

Dominantní léčebnou metodou intramurálních a subserozních myomů je laparoskopická nebo laparotomická myomektomie (Obr. 4-2). Její provedení je doporučováno u neplodných žen s diagnostikovaným myomem nad 4 cm. U žen s multifaktoriální příčinou neplodnosti je myomektomie vhodná u myomů velmi objemných (nad 7 cm) a u myomů symptomatických (menometroragie) [4]. Řešení submukózních myomů představuje hysteroskopická myomektomie, která se doporučuje provést u myomů přesahujících 3 cm nebo deformujících dutinu děložní. Dle literárních údajů vede tato metoda k signifikantnímu nárůstu donošených gravidit (live birth rate) [7]. Diskutován je vztah provedené myomektomie k výsledkům asistované reprodukce. Řada studií prokazuje prospěšnost myomektomie před zahájením cyklu in vitro fertilizace [6, 8, 9, 10, 11].



Obr. 4-2 Operační preparát myomu po morselaci při laparoskopické myomektomii

Vzhledem k složitosti vztahu děložní myomatózy k ženské reprodukci si každý konkrétní případ vyžaduje individuálního posouzení, pečlivé zhodnocení reprodukční anamnézy, vyloučení jiných faktorů sterility a podrobnou diagnostiku lokalizace, počtu a velikosti myomů. Až poté je možné správné zvolení terapeutického postupu „šitého na míru“ pro konkrétní pacientku.

V současné době vlivem řady socioekonomických a kulturních faktorů (zejména prodlužující se průměrný věk plánované první gravidity) bývají děložní myomy mnohem častěji diagnostikovány u žen gravidních nebo graviditu plánujících. Také metody asistované reprodukce dnes umožňují otěhotnět ženám podstatně starším než v minulosti, což přináší další nárůst výskytu myomů u koncepci plánujících a těhotných žen. Otázkou zůstává, zda děložní myomy ovlivňují plodnost a potratovost žen, v jakém rozsahu a jaké jsou naše terapeutické možnosti.

V posledních letech se zejména v zahraniční literatuře touto problematikou zabývá řada prací. Věnují se novým poznatkům jak z oblasti základního výzkumu (molekulární genetiky, etiopatogeneze), tak z oblasti klinické (nové možnosti

konzervativní i operační léčby, vztah myomů k dysfilitě). Řada otázek spojených s děložními myomy však teprve čeká na definitivní objasnění [12].

4.2. Etiologie děložní myomatózy

Přes velmi častý výskyt myomů je jejich etiopatogeneze nejasná. Předpokládá se působení řady faktorů genetických (Obr. 4-3). Je popsán častější výskyt myomů u dcer, jejichž matky nebo sestry dvojčata prodělaly operaci myomu. U části myomů lze prokázat estrogenové i progesteronové receptory a lze tedy předpokládat vliv hormonálních faktorů. Užívání antikoncepce však riziko vzniku myomu nezvyšuje. Za další etiologické faktory lze označit vlivy civilizační, vlivy okolního prostředí, antropometrické faktory jako je častější nadváha až obezita u žen s myomy a faktory reprodukční jako vyšší parita a nižší věk při prvním porodu u žen postižených myomy. Myomy se nevyskytují u premenarchálních dívek, častěji je diagnostikujeme u kuřáček a afroamerické populace (3x vyšší incidence než u Američanek jiných ras) [12]. Histologicky maligní variantou myomů jsou leiomyosarkomy. Dřívější představy o malignizaci již dříve existujících leiomyomů jsou však dnes překonány a převládá názor o primárně maligním růstu sarkomu [13].



Flake GP et al, *Environmental Health Perspective* 2003; 111(8):1037 – 54

Obr. 4-3 Rizikové faktory myomatózy

4.3. Klinické projevy děložní myomatózy

Klinické projevy myomatózy ovlivňuje především velikost, lokalizace a počet myomů [1]. Většina žen s menšími myomy je zpravidla asymptomatická. S jejich růstem a blížícím se klimakteriem příznaky často přibývají. Po menopauze se myomy obvykle spontánně zmenšují (podléhají involuci) a většinou již nevyžadují léčbu. Jako klinicky signifikantní (významné) lze označit takové myomy, které způsobují obtíže, jsou objemné (u solitárních nad 3–4 cm, u mnohočetných zvětšují – li dělohu více než odpovídá II. měsíci gravidity) či nápadně rostou nebo vyskytují-li se u ženy s neuzavřenou reprodukcí. Zvláště pak u žen sterilních či infertilních [12]. Symptomy v příčinném vztahu

k děložním myomům lze rozdělit na krvácivé, bolestivé a ostatní, z nichž k nejzávažnějším patří dysfertilita.

Krvácivé projevy myomatózy

Nejčastějším příznakem děložní myomatózy je nepravidelné děložní krvácení a poruchy menstruačního cyklu ve smyslu vyšší intenzity, zejména *hypermenorea* (nadměrné menstruační krvácení) a *menorágie* (prodloužená délka menses). Krvácivé projevy jsou ovlivněny zejména lokalizací myomu. Klenoucí se myom do dutiny děložní komprimuje endometrium, tím je porušena vaskularizace a nedochází k fyziologickému odlučování endometria. V některých případech i malý submukózní myom může být příčinou silného krvácení s následkem těžké sekundární sideropenické anemie [1].

Algické projevy myomatózy

Velké subserózní myomy mohou naopak růst dlouho asymptomaticky a projevují se až v pozdějším období zejména bolestmi. Mezi bolestivé příznaky patří *pelipathia* (chronická bolest v pánvi bez závislosti na cyklu – není u myomů zcela typická, spíše ji lze očekávat u endometriózy či pánevní zánětlivé nemoci), *dysmenorea a dyspareunie* (bolest při pohlavním styku). Dojde – li k akutní nekróze myomu nebo k torzi myomu stopkatého, může se myom projevit i akutně vzniklou bolestí a peritoneálním drážděním pod obrazem náhlé příhody břišní [12]. Ženy s objemnými či specificky lokalizovanými myomy někdy udávají nejasné tlakové obtíže a pocit prosáknutí podbříšku. Často ve spojení s obstipací a obtížným či častým močením. Tyto příznaky se někdy označují jako „*bulky symptoms*“ – obtíže vyplývající z objemné masy zvětšené dělohy. Vztah myomů k inkontinenci moči je diskutabilní, spíše přidružený než příčinný. Hysterektomie tak, přestože někdy bývá součástí urogynnekologických operací, rozhodně nepatří mezi operace určené k léčbě stresové inkontinence.

Dysfertilita a myomatóza

Specifickým problémem je vztah myomů k ženské neplodnosti. Obecně lze říci, že děložní myomy jsou za specifických podmínek jednou z příčin sterility, zvyšují incidenci habituálního potrácení [14] a jsou dávány do souvislosti s řadou komplikací těhotenství a šestinedělí [1]. Je známo, že se myomy vyskytují u 1–4 % všech donošených gravidit a že řada žen s myomy není sterilních. Podle výsledků četných studií se ale na druhé straně myomy nepochybně spolupodílí na sterilitě, opakovaném potrácení i mnoha těhotenských a porodnických komplikacích. Většina studií z poslední doby týkajících se vlivu myomů na výsledky metod asistované reprodukce prokázala signifikantně horší reprodukční výsledky u žen s intramurálně uloženými myomy [5, 6, 8]. Z toho lze usuzovat, že i myomy, které dutinu děložní nedeformují, negativně ovlivňují ženskou plodnost [4].

4.4. Myomy a sterilita

Přítomnost drobného děložního myomu rozhodně nelze označit za jeden ze zásadních faktorů sterility. Z praxe jsou známé případy žen, které při myomatózní děloze bez problémů otěhotněly a úspěšně těhotenství završily. Přesto je nález myomu, jako jediné verifikované patologie, udáván u téměř 10 % neplodných žen [15, 16].

Patofyziologické mechanismy, kterými mohou myomy ovlivňovat fertilitu:

- porušení celistvosti povrchu endometria ohrožuje implantaci
- nepravidelný růst endometria a poruchy jeho zrání může narušovat implantaci
- gravidita implantovaná přímo nad myomem může mít zhoršené cévní zásobení v rámci placentace

- změny v místních parakrinních faktorech mohou nepříznivě ovlivňovat podmínky pro spermie a embrya
- anatomická deformace vyvolaná myomem může ztěžovat vstup spermií do oblasti děložního hrdla a nepříznivě ovlivňovat transport spermií
- rozšíření děložní dutiny zvětšuje vzdálenost pro pohyb spermií
- poruchy děložní kontraktility mají nepříznivý vliv na transport spermií a embrya
- děložní myomy mohou být příčinou uzávěru vejcovodů

Skutečný vliv myomů na reprodukci a prospěch myomektomie u sterilních pacientek zůstává i v současnosti částečně nevyjasněný. Pokles fertility byl přesvědčivě prokázán v přímé souvislosti s deformací dutiny děložní u žen se submukózními nebo intramurálními myomy [2]. Existuje však domněnka, že i intramurální myomy nezasahující do dutiny děložní, mají ne zcela specifikovaný negativní dopad na fertilitu. Výsledky studií u žen s myomy bez prokazatelné deformace dutiny děložní nejsou jednoznačné. V jedné prospektivní studii z oblasti asistované reprodukce u žen s děložní myomatózou nedeformující dutinu děložní, byly těhotenské výsledky signifikantně horší (clinical pregnancy rate – 37,4 %) než ve skupině bez myomů (52,7 %) [5]. Eldar – Geva a spol. [8] porovnali pregnancy rate skupiny žen s intramurálním myomem oproti skupině se subserózní lokalizací myomu ve skupině žen zdravých. Dosáhli následujících výsledků: Pregnancy rate 16,4 %, 34,1 % a 30,1 %. Uvedené poznatky o poklesu četnosti implantací, klinických těhotenství i porodů živých novorozenců potvrzuje i studie Venkate et al. [3] provedena u žen s myomy léčených in vitro fertilizací. Statisticky významný vliv na počet klinických těhotenství a porodů živých plodů byl jasně prokázán pouze v souvislosti se submukózní a intramurální myomatózou. Počet implantací však byl významně ovlivněn u všech tří typů děložních myomů. Zdá se, že čím je intimnější vztah děložního myomu k dutině, tím je pravděpodobnější jeho dopad na fertilitu. V pořadí nepříznivých účinků jsou tak na prvním místě myomy submukózní, poté myomy intramurální a subserózní [2].

4.5. Myomy a infertilita

Děložní myomatóza patří ke klasicky uváděným příčinám spontánních i opakovaných potratů (sekundární anatomický faktor), a to zejména v II. trimestru gravidity, kdy se podílí až na 1/3 všech abortů [17]. Těhotenské ztráty u žen s myomy jsou spojovány s nálezem nízkého, omezeně vaskularizovaného endometria s nedostatečným krevním zásobením, zvýšenou děložní kontraktilitou nebo zánětlivými procesy děložní sliznice v důsledku degenerace myomu. Všechny uvedené okolnosti mohou potenciálně zhoršit vývoj placenty nebo placentaci a následně ohrožovat embryo nebo plod [2]. Na druhou stranu je známo, že se myomy vyskytují v 1–4 % všech donošených gravidit. Existují práce, které uvádějí, že až v 80 % případů během těhotenství nemění svou velikost nebo se dokonce zmenšují [18]. To znamená, že otázka, kterou si gynekolog v této souvislosti musí položit, je, zda je děložní myomatóza skutečnou příčinou těhotenských ztrát, nebo zda se jedná o pouhou koincidence. Údaje recentní světové literatury, sledující tento vztah, jsou však natolik protichůdné, že neposkytují klinikům jasný návod jak v těchto případech postupovat [2].

Studie autorů z Harvard Medical School v Bostonu zahrnovala 143 žen s myomem diagnostikovaným v I. trimestru v porovnání s 715 těhotných s normální dělohou. Studie prokázala, kromě očekávané vyšší frekvence operačních porodů (38 % u žen s myomy, 28 % u kontrol), téměř dvojnásobnou frekvenci těhotenských ztrát u žen

s myomy (14 %) proti kontrolní skupině (8 %). Při podrobnějším rozboru vyplynulo, že frekvence abortů byla výrazně vyšší pouze v podskupině žen s více než jedním myomem (23,6 %), zatímco u žen s myomem solitárním (8 %) se potratovost téměř nelišila od skupiny kontrolní. Zajímavým zjištěním byl i fakt, že frekvence potratů nebyla nijak ovlivněna velikostí či lokalizací myomů [19]. Práce Bernarda prokazuje souvislost abortů s mnohočetností leiomyomů. Studie sledovala fertilitu a průběh těhotenství po hysteroskopické resekci submukózních myomů u 31 sterilních žen. V průběhu 4 let trvání studie otěhotnělo 11 žen (35,5 %), z toho 2 ženy dvakrát (celkem 13 těhotenství). Ve skupině žen, u nichž bylo resekováno 2 a více myomů a/nebo u nichž byly ponechány další myomy intramurální, byla signifikantně vyšší frekvence spontánních abortů než u žen po hysteroskopické resekci myomu solitárního. Také tato studie nezjistila signifikantní vliv velikosti či uložení resekovaného myomu na následnou fertilitu [20].

Obecně lze konstatovat, že riziko reprodukčních ztrát u žen s myomem menším než 3 cm bývá považováno za zanedbatelné [2]. Bajekal prezentuje výsledky studie u žen s takto „malými“, intramurálními či submukózními myomy. Pozoroval 40% incidenci potratů v I. trimestru a 17 % potratů v II. trimestru [18]. Navíc udává 40% výskyt abortů u myomů submukózních, resp. 33 % u myomů intramurálních a subserózních (bez ohledu na velikost myomu) při 16 % frekvenci abortů u kontrol. Z většiny dostupných literárních údajů však není možné blíže analyzovat vliv velikosti a počtu myomů na reprodukční výsledky. Protichůdnost výše uvedených dat lze částečně vysvětlit tím, že pro osud těhotenství je, více než absolutní velikost či lokalizace myomu, významnější místo implantace plodového vejce ve vztahu k myomu. Toto místo je ovlivněno řadou faktorů a z toho vyplývá často velmi odlišný výsledek různých gravidit u téže pacientky [2].

4.6. Myomy a asistovaná reprodukce

Vzhledem k tomu, že děložní myomatóza je za určitých specifických okolností považována za příčinný faktor sterility a infertility, zahrnuje tato problematika i činnost center asistované reprodukce. V současnosti světová literatura poskytuje mnoho retrospektivních a prospektivních studií věnujících se vlivu leiomyomů na ženskou plodnost, zejména na schopnost implantace v endometriu.

Mnohé studie publikované v posledních letech potvrzují signifikantně horší výsledky asistované reprodukce (implantation rate, pregnancy rate, delivery rate) a výraznou redukci úspěšnosti cyklů IVF u žen s leiomyomem oproti kontrolním skupinám (nejčastěji v porovnání s ženami s tubárním faktorem sterility), a to i v případě myomů intramurálních, nedeformujících děložní dutinu [5, 6, 8]. Podle Harta et al. přítomnost drobného intramurálního myomu (průměrná velikost největšího myomu u 112 žen v podskupině s myomem 2,3 cm, u 106 z nich myom ≤ 5 cm) redukuje šanci na klinickou graviditu po asistované reprodukci (AR) na polovinu [5]. V literatuře však najdeme i studie, které horší reprodukční výsledky potvrzují pouze u myomů s intrakavitální komponentou [9]. Tento názor podporuje i Dietterich et al., kteří zjistili obdobnou frekvenci implantací a klinických těhotenství po embryotransferu u žen starších 35 let s malou myomatózou nenarušující děložní dutinu i u stejně starých žen bez myomů [21].

4.7. Myomektomie a reprodukce

Recentní studie doporučují u sterilních žen s diagnózou signifikantního myomu jeho odstranění a toto doporučení se opírá o významné zlepšení reprodukčních výsledků (conception rate, delivery rate) po myomektomii oproti výsledkům žen léčených konzervativně [22, 23, 24, 25]. Až 60 % žen po exstirpaci myomu spontánně otěhotní do

24 měsíců po výkonu [26]. Většina žen po myomektomii otěhotní do jednoho roku po výkonu. V následujícím období počet spontánních těhotenství prudce klesá [15].

Jiné studie se zaměřují na faktory ovlivňující kladný efekt provedené myomektomie na fertilitu žen. Pro spontánní (lékařsky neasistovanou) plodnost ženy po myomektomii jsou na základě těchto studií nepříznivé následující faktory: intramurální a/nebo posteriorní lokalizace myomu, resp. nutnost provést suturu defektu po enukleaci (častější tvorba adhezi), asymptomaticnost myomu (sterilní ženy s myomem doprovázeným metroragiemi po jeho odstranění otěhotněly častěji), věk nad 35 let, délka trvání sterility nad 2 roky, přítomnost dalších faktorů sterility [10, 27, 28]. Překvapivým zjištěním jediné ze studií byl fakt, že fertilita po myomektomii nebyla negativně ovlivněna věkem pacientek (jen nevýznamný pokles cumulative conception rate u žen nad 40 let) [10].

Prospěšnost provedení myomektomie ve vztahu k habituálnímu potrácení zůstává pořád nedořešena. Fernandez a kol. ve své studii zjistil, že po transcervikální myomektomii se sice upravily menstruační poruchy, avšak vliv výkonu na fertilitu nebyl výrazný. Z 59 žen zařazených do studie otěhotnělo 16 (27 %), z těchto pouze 6 (10 %) porodilo v termínu. Výsledky mohly být ovlivněny věkem pacientek (v průměru 36,6 roku) a poměrně krátkou dobou sledování (v průměru 26 měsíců). Nejlepších výsledků (zvýšení pregnancy rate na 57 %) bylo dosaženo tehdy, pokud byl resekovaný myom větší než 5 cm [7]. Prosperitu těhotenství u 51 žen před a po laparoskopické myomektomii intramurálních či subserózních myomů sledoval Li et al. Zatímco před operací byla frekvence potratů 60 % (potratilo 24 žen ze 40), po myomektomii poklesla na 24 % (potrat u 8 žen z 33, $p < 0,0001$). Frekvence otěhotnění po myomektomii (conception rate) v celém souboru byla 57 %. Jediným faktorem ovlivňujícím tento výstup byl věk: 74 % (23 z 31 žen otěhotnělo) u žen do 36 let, resp. 30 % (6/20) u žen nad 36 let ($p < 0,005$). Mezi 25 graviditami završenými porodem životaschopného dítěte nedošlo k jediné ruptuře dělohy ani k předčasnému porodu [24].

Stále častěji diskutovanou otázkou je přínos operačního řešení myomatózy ve vztahu k výsledkům asistované reprodukce. Otázkou je, zda benefit exstirpace myomu u sterilní pacientky převáží možná rizika s touto intervencí spojená. Mnohé studie prokazují prospěšnost myomektomie před zahájením ART [6, 8, 9, 10, 11]. Fernandez a kol. uzavírají, že k exstirpaci menších myomů před ART přistupujeme až tehdy, zasahují-li do děložní dutiny [29]. Jiné práce se staví k provádění této operace před plánovanou asistovanou koncepcí rezervovaně a zdůrazňují nutnost individuálního posouzení každého případu (reprodukční anamnéza, vyloučení jiných faktorů sterility, lokalizace/počet/velikost myomů) [15, 30, 31]. Většina těchto doporučení je však vyvozena pouze nepřímou a prospektivní, randomizovaná studie porovnávající výsledky ART u žen po myomektomii s ženami léčenými konzervativně dosud chybí [4]. Poncelet ve své literární analýze zhodnotil výsledky studií zabývajících se myomy a reprodukčními výsledky, publikovanými v letech 1988 až 2000. Závěrem poukazuje na nezbytnost randomizovaných studií k ověření pozitivního vlivu myomektomie na následnou reprodukci, včetně reprodukce asistované [26].

4.8. Myomy a porodnictví

Gravidita a porod u ženy s myomem nebo po myomektomii jsou považovány za rizikové stavy a tato situace vyžaduje komplexní péči. Ženy s velkou myomatózou by měly být sledovány v perinatologických centrech se zázemím a zkušenostmi s předčasnými a komplikovanými operačními porody. Porod po provedené myomektomii možno za určitých okolností vést s výhodou vaginálně. Případný císařský řez může být spojen s vážnými komplikacemi plynoucími z atypických anatomických poměrů.

Z hlediska komplikací v třetí době porodní jsou rizikové jak pacientky po myomektomii (placenta accreta, nepoznaná děložní ruptura), tak ženy s myomem ponechaným (nebezpečí poporodního krvácení z hypotonie dělohy nebo ze submukózní části myomu) [2], (Obr. 4-4).



Obr. 4-4 Cervikální myom v graviditě jako porodní překážka

4.9. Literatura

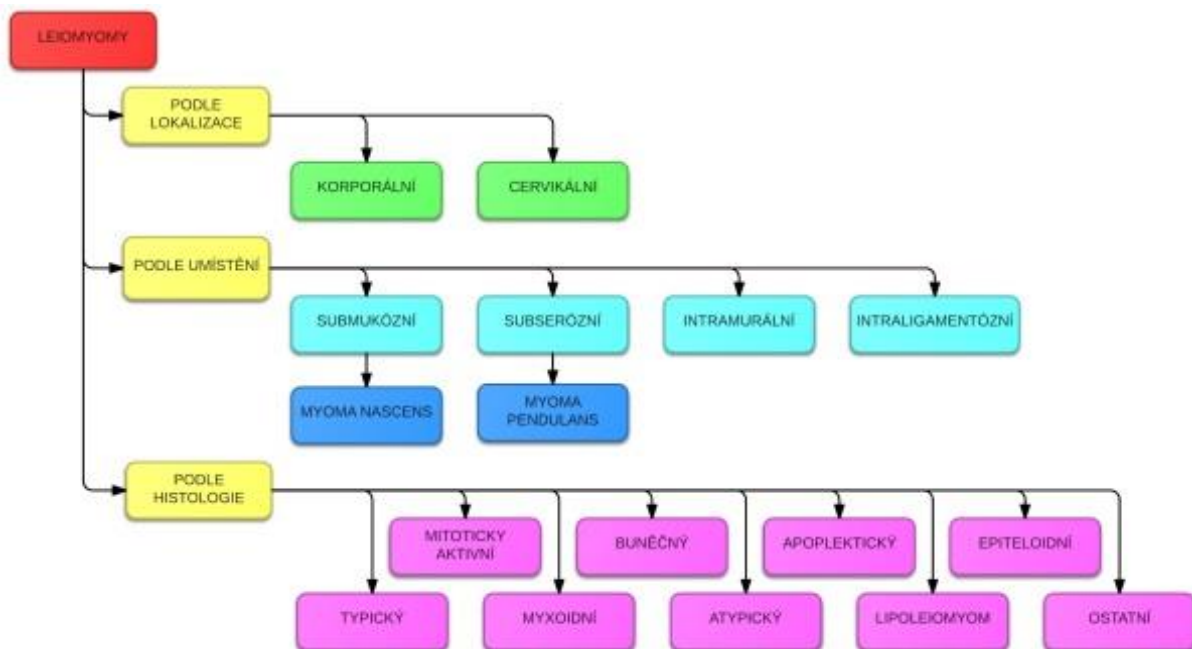
1. Citterbart K et al. Gynekologie. Galén: Praha 2001.
2. Mára M, Holub Z et al. Děložní myomy – moderní diagnostika a léčba. Grada: Praha 2009.
3. Venkat G, Amiri N, Al-Nasser R et al. The effect of submucosal, intramural and subserosal sterile fibroids on the pregnancy. Outcome in ovocyte recipients. *Fertil Steril* 2005; 84: 258.
4. Mára M, Řežábek K, Živný J. Děložní myom a poruchy plodnosti. *Mod Gynek Porod* 2002; 11: 614.
5. Hart R et al. A prospective controlled study of the effect of intramural uterine fibroids on the outcome of assisted conception. *Hum Reprod* 2001; 16: 2411.
6. Stovall D et al. Uterine leiomyomata reduce the efficacy of assisted reproduction cycles: results of a matched follow-up study. *Hum Reprod* 1998; 13:192.
7. Fernandez H et al. Hysteroscopic resection of submucosal myomas in patients with infertility. *Hum Reprod* 2001; 16: 1489.
8. Eldar-Geva T et al. Effect of intramural, subserosal, and submucosal uterine fibroids on the outcome of assisted reproductive technology treatment. *Fertil Steril* 1998; 70: 687.
9. Farhi J et al. Effect of uterine leiomyomata on the results of in-vitro fertilization treatment. *Hum Repro* 1995; 10: 2576.
10. Dubuisson JB et al. Myomectomy: It's Role in Infertility. Proceedings of the 2nd World Congress on Controversies in Obstetrics, Gynecology & Infertility. Paris, September 2001.
11. Narayan R et al. Treatment of submucous fibroids, and outcome of assisted conception. *J Am Assoc Gynecol Laparosc* 1994; 1: 307.
12. Mára M, Fučíková Z, Mašata M et al. Management děložních myomů u žen ve fertilním věku. *Čes Gynek* 2003; 68: 30-35.
13. Pluta M et al. Zhoubné nádory děložního těla. *Mod Gynek Porod* 2000; 9: 661.
14. Krajčovičová R, Hudeček R, Kalvodová J. Diferenciální diagnostika a terapie opakovaných těhotenských ztrát – 1. část. *Prakt Gyn* 2007; 11(4): 164-168.
15. Bajekal N, Li TC. Fibroids, infertility and pregnancy wastage. *Hum Reprod Update* 2000; 6: 614.
16. Kučera E, Živný J. Sterilita při děložním myomu a její ovlivnění operační léčbou. *Čes Gynek* 1997; 42: 324.
17. Zwinger A. Spontánní a opakovaný potrat. *Mod Gynek Porod* 2000; 9: 367.
18. Bajekal N, Li TC. Fibroids, infertility and pregnancy wastage. *Hum Reprod Update* 2000; 6: 614.
19. Benson CB et al. Outcome of pregnancies in women with uterine leiomyomas identified by sonography in the first trimester. *J Clin Ultrasound* 2001; 29: 261.
20. Bernard G et al. Fertility after hysteroscopic myomectomy: effect of intramural myomas associated. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2000; 88: 85.
21. Dietterich C et al. The presence of small uterine fibroids not distorting the endometrial cavity does not adversely affect conception outcome following embryo transfer in older recipients. *Clin Exp Obstet Gynecol* 2000; 27:168.
22. Bulletti C et al. The role of leiomyomas in infertility. *J Am Assoc Gynecol Lapar* 1999; 6: 44.

23. Dubuisson JB et al. Reproductive outcome after laparoscopic myomectomy in infertile women. *J Reprod Med* 2000; 45: 23.
24. Li TC et al. Myomectomy: a retrospective study to examine reproductive performance before and after surgery. *Hum Reprod* 1999; 14: 1735.
25. Smith DC, Uhlir JK. Myomectomy as a reproductive procedure. *Am J Obstet Gynecol* 1990; 162: 1476.
26. Poncelet C et al. Myoma and infertility: analysis of the literature. *Gynecol Obstet Fertil* 2001; 29: 41.
27. Tulandi T et al. Adhesion formation and reproductive outcome after myomectomy and second-look laparoscopy. *Obstet Gynecol* 1993; 82: 213.
28. Vercellini P et al. Determinants of reproductive outcome after abdominal myomectomy for infertility. *Fertil Steril* 1999; 72: 109.
29. Fernandez H. Infertilité et petit myome: rôle de la myomectomie. *Contracept Fertil Sex* 1997; 25: 348.
30. Jun SH et al. Uterine leiomyomas and their effect on in vitro fertilization outcome: a retrospective study. *J Assist Reprod Genet* 2001; 18: 139.
31. Lumsden MA, Wallace EM. Clinical presentation of uterine fibroids. *Baillieres Clin. Obstet Gynaecol* 1998; 12:177.

5. Klasifikace děložních myomů

5.1. Topograficko-anatomická klasifikace děložních myomů

Topograficko-anatomická lokalizace myomů hraje klíčovou roli v jejich klinických projevech a má zcela zásadní význam pro indikaci optimálního terapeutického postupu při jejich řešení. Volba vhodné intervenční techniky závisí na řadě parametrů. Mezi nejvýznamnější faktory ovlivňující volbu terapie, především chirurgické, je vztah myomu nebo myomů k cévním strukturám a hloubka invaze tumoru do děložní stěny. Exaktní identifikace těchto kritérií před vlastní operací umožňuje stanovit dostatečně účinný terapeutický postup. Především v přípravě na minimálně invazivní přístup ve smyslu laparoskopické nebo hysteroskopické myomektomie je identifikace topograficko-anatomické situace myomů podmínkou úspěšného výkonu (Obr. 5-1).



Obr. 5-1 Klasifikace děložních myomů

5.1.1. Vztah myomů k anatomickým částem dělohy

Korporální myomy postihují děložní tělo a dělíme je dále dle vztahu k mediální rovině a k děložním stěnám. Myomy lokalizované v mediální rovině, myomy v sagitálních rovinách a myomy v hranách děložních vyžadují odlišný operační přístup v iniciační fázi myomektomie a jsou při své paramediální lokalizaci charakteristické obtížně identifikovatelným cévním zásobením, a to především z větví aa. uterinae. Dle vztahu k děložním stěnám rozlišujeme myomy přední a zadní stěny děložního těla a děložního fundu. Tyto vztahy jsou klíčové pro vlastní technickou obtížnost myomektomie, přístupnost myomu k exstirpaci a především pak pro adekvátní endoskopickou suturu vzniklého defektu děložní stěny. V rámci laparotomického řešení uvedená lokalizace myomu není z hlediska technických aspektů operačního výkonu natolik významná.

Istmické myomy jsou lokalizovány v istmické části děložního těla a na rozdíl od myomů korporálních představují obtížně dostupné tumory. Technika myomektomie je zde limitována těsnou vazbou istmu dělohy na hlavní větve aa.uterinae, dále na průběh ureterů, ventrálně je prostor limitován močovým měchýřem. S výjimkou myomů lokalizovaných na zadní stěně děložní v odstupu zadních vazů je v ostatních lokalizacích endoskopický přístup k myomektomii obtížný a istmické myomy zpravidla vyžadují laparotomické řešení.

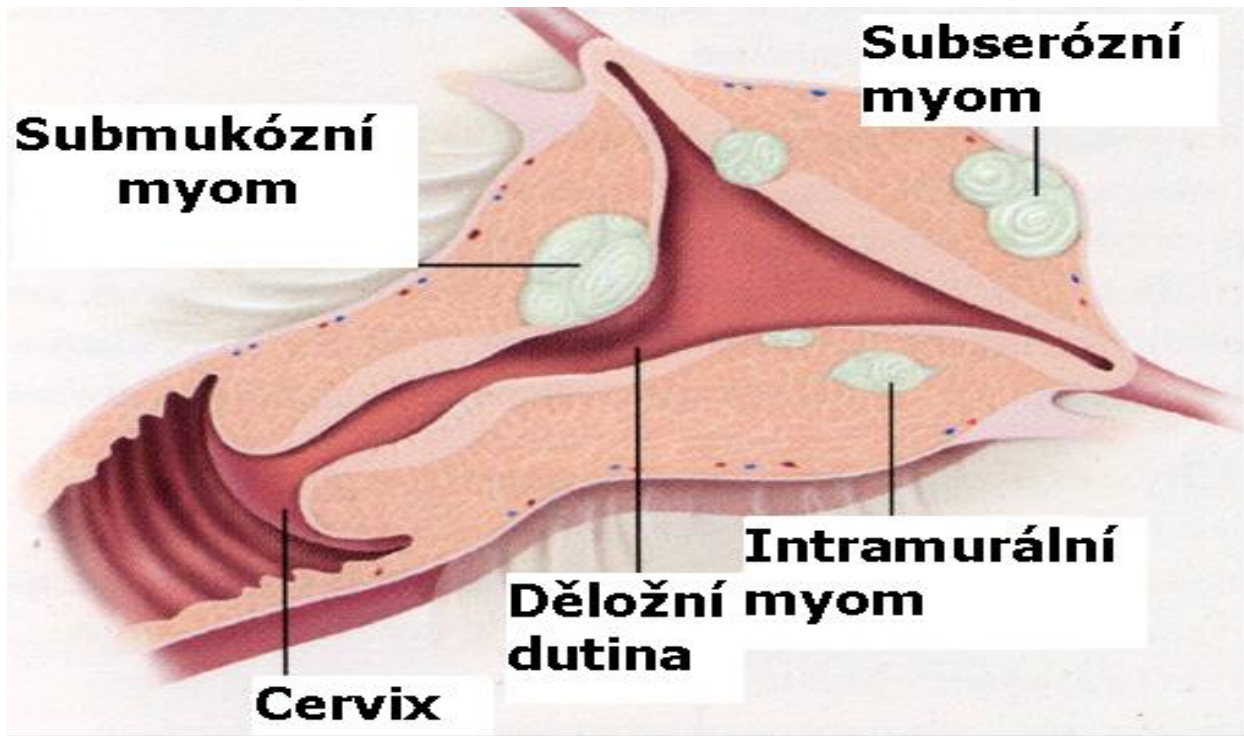
Cervikální myomy postihují děložní čípek. Podle stupně invaze do vrstev děložní stěny je členíme na intramurální, endocervikální, nascentní a lokalizované na exocervixu. Cervikální lokalizace myomu umožňuje při jejich operačním řešení vaginální přístup.

5.1.2. Vztah myomů k anatomickým vrstvám děložní stěny

Subserózní myomy jsou lokalizované na povrchu dělohy, zpravidla nedeformují dutinu děložní a více než polovinou svého objemu expandují z povrchu dělohy do dutiny břišní. Vztah baze myomu k děložní stěně určuje jeho operační přístupnost, míru invazivity a stupeň poškození děložní stěny při exstirpaci. Subserózní myom může být široce přisedlý až volně pendulující na stopce do dutiny břišní. Stopkaté myomy v oblasti děložních hran s propagací do retroperitoneální oblasti v širokém vazů představují pro operační řešení technický problém vzhledem k intimnímu vztahu tumorů jak k cévám děložních hran, tak k velkým cévním pánevním svazkům a především ureterům.

Intramurální myomy jsou lokalizované v hlubších vrstvách myometria. Podle své velikosti deformují děložní dutinu, nebo okludují tubární ústí v děložních rozích. Myomy, které prostupují celou děložní stěnu a propagují se vzhledem ke své velikosti jak do dutiny děložní, tak na povrch děložního těla, označujeme jako transmurální. Tyto nálezy jsou nejhůře chirurgicky dostupné a znamenají při myomektomii zásadní zásah do celistvosti děložní stěny. Jejich exstirpace zpravidla vede k otevření dutiny děložní. Pečlivá sutura operačního defektu, nejlépe ve dvou anatomických vrstvách, je klíčová pro zachování integrity a funkce děložní stěny z pohledu reprodukce.

Submukózní myomy jsou lokalizované v děložní stěně a současně jsou v intimním vztahu k endometriu, s možností propagace do dutiny děložní. Submukózní myom (typ 0) zcela promínuje svým objemem do kavity a s vlastní děložní stěnou komunikuje pomocí stopky. Tento typ myomu se označuje jako submukózní pendulující. Submukózní myom (typ I) promínuje z více než 50 % svého objemu do dutiny děložní a submukózní myom (typ II) z méně než 50 %. Stupeň invazivity submukózního myomu do dutiny děložní určuje operační prognózu a efekt endoskopického řešení a má zcela zásadní klinický význam ve vztahu k reprodukčním funkcím dělohy. Dominantní léčebnou technikou v případě submukózních myomů je operační hysteroskopie (Obr. 5-2).



Obr. 5-2 Topograficko-anatomická klasifikace děložních myomů

5.1.3. Četnost myomů

Dle četnosti myomů dělíme myomy na solitární a vícečetné. Otázka četnosti myomů je limitovaná kvalitní předléčebnou diagnostikou a stagingem nálezu. Řada drobných intramurálních myomů zcela uniká základním diagnostickým technikám, především při palpačním vyšetření a často tyto drobné nálezy nejsou diagnostikovány ani při ultrasonografii. Jejich identifikaci při laparoskopické operaci znesnadňuje i absence palpačního vjemu operátora. Vzhledem k tomu, že děložní myomatóza má charakter systémového onemocnění se sklonem k recidivě, je předpoklad, že solitární děložní myomy představují ve své podstatě jen skupinu nálezů, kde dominuje jeden tumor a další dosud klinicky nevýznamné tumory unikají naší diagnostice. V případě spotřebování děložního svalu mnohočetnými myomy hovoříme o difuzní myomatóze. K rovnoměrnému zvětšení děložního těla dochází pro splývání mnoha malých benigních uzlů. Tento nález představuje prognosticky nepříznivou skupinu, prakticky vylučující efektivní fertilitu šetřící chirurgické řešení.

5.1.4. Velikost myomů

Dle velikosti myomů dělíme myomy na drobné a velké. Absolutní velikost myomů sama o sobě nekoresponduje vždy s mírou klinických obtíží pacientky. Nekoresponduje vždy ani s vlivem na reprodukční funkci dělohy. Proto členění myomů dle velikosti postrádá praktický klinický význam. Velikost myomu, jeho lokalizace a vztah ke klinickým projevům jsou rozhodující. Obecně klinicky lze dělit myomy podle velikosti na klinicky významné a klinicky nevýznamné. Drobný submukózní myom (typ 0) představuje pro svou lokalizaci a symptomy (krvácivé, algické, neplodnost) klinicky významnější problém než asymptomatický subserózní myom na povrchu děložního fundu o velikosti 10 cm.

5.1.5. Kombinace topograficko-anatomických lokalizací děložních myomů

Děložní myomy se velmi často ve výše uvedených klasifikačních kritériích kombinují. V rámci jediného nálezu často diagnostikujeme více typů lokalizací a stupňů invaze myomů do děložní stěny. Tato situace, spolu s rozdílnými klinickými projevy a s potenciálně odlišným vlivem na reprodukční funkce, výrazně modifikuje terapeutický algoritmus.

5.2. Klinická klasifikace myomů

V léčebné strategii hraje dominantní roli právě klinická symptomatologie. Volba observačního, farmakologického nebo chirurgického přístupu je výsledkem pečlivé analýzy a vyhodnocení všech výše uvedených faktorů. V neposlední řadě je terapeutický algoritmus ovlivněn i reprodukčními plány pacientky a datací plánované koncepce.

5.2.1. Symptomatologie myomů

Asymptomatické myomy představují zpravidla náhodný klinický, ať už palpační nebo ultrazvukový nález. Jedná se buď o tumory z hlediska času před anebo na počátku své klinické manifestace, které díky své velikosti a lokalizaci doposud nevyvolávají zdravotní problémy. Protipólem jsou asymptomatické myomy v postmenopauzálním období, které v souvislosti s deplecí endogenní produkce estrogenů neprogredují ve svém růstu. Mají stacionární charakter z hlediska své morfologie a topografického vlivu na okolní struktury.

Symptomatické myomy představují klinicky nejzávažnější skupinu nálezů. Míra obtíží pak určuje terapeutický postup, a to jak z hlediska invazivity tak především z pohledu časového faktoru a datace léčby. V klinickém obraze jsou dominantní krvácivé a algické projevy a poruchy reprodukce. Akutní torze pendulujícího subserózního myomu sebou nese všechny klasické prvky náhlé příhody břišní. Podobně jako se kombinují myomy z hlediska topograficko-anatomické lokalizace, kombinují se i jejich klinické projevy, a to často v nejednotné míře intenzity.

5.2.2. Morfologické chování myomů

Dle morfologického chování myomů lze z klinického pohledu dělit myomy na stacionární nálezy, myomy měnící svou velikost, podléhající funkčním a morfologickým změnám a myomy měnící se pod vlivem farmakoterapie nebo intervenční léčby.

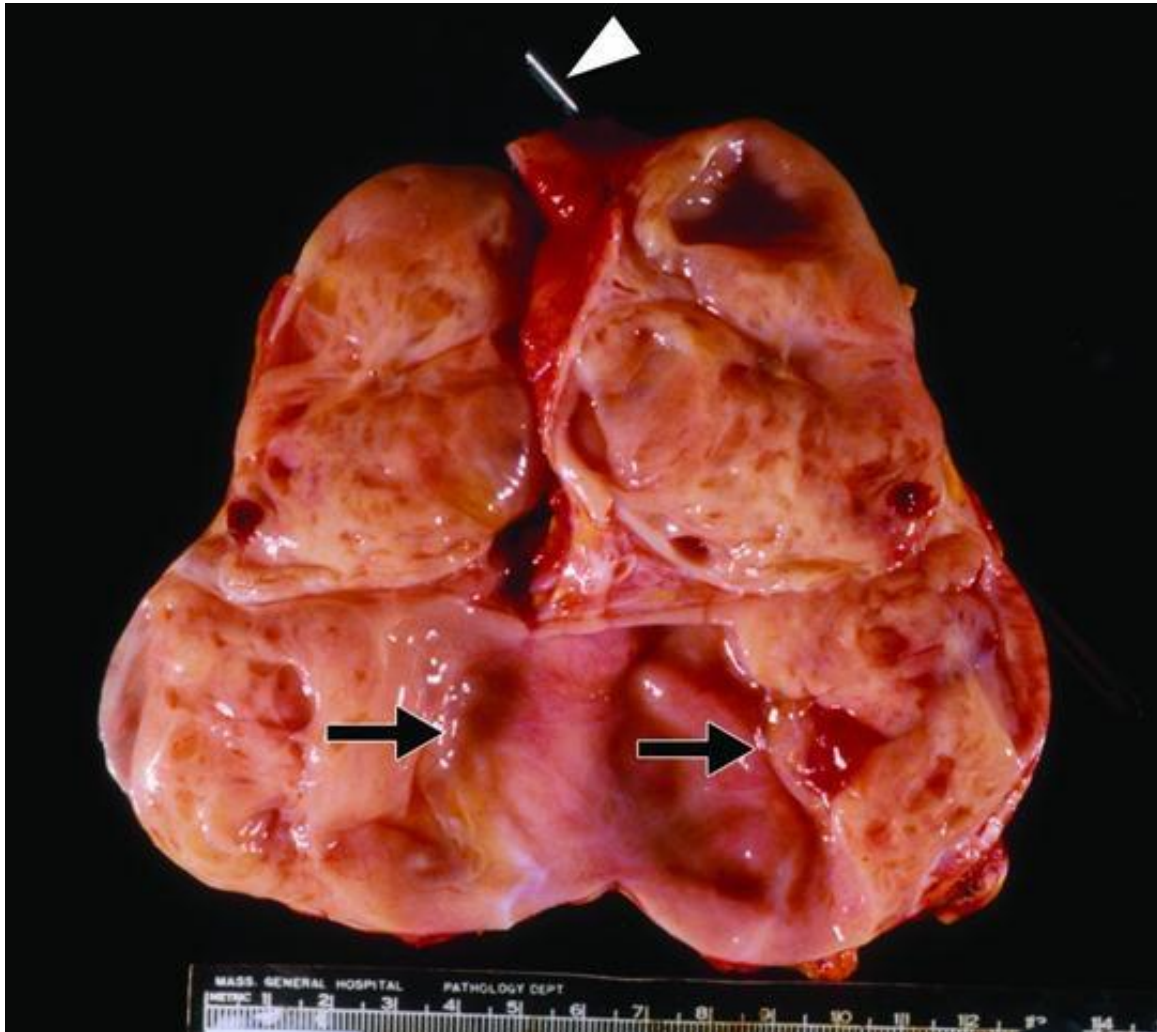
Rostoucí myomy. Změna velikosti myomů ve smyslu jejich růstu je typická u žen v reprodukčním věku. Observace těchto nálezů v čase a optimální datace terapeutické intervence je klíčová pro úspěšný výsledek léčby. Pro uplatnění fertilitu šetřících postupů je třeba zohlednit invazivitu přístupu v korelaci s dynamikou nálezu a s klinickými symptomy. Především u pacientek se zájmem o reprodukci je vhodný aktivní léčebný přístup. Nárůst velikosti myomů je popisován i v průběhu gravidity, ale literární data tuto hypotézu spíše vyvracejí. Obecně lze konstatovat, že některé myomy rostou v průběhu I. trimestru gravidity, ale v pozdějších fázích těhotenství se již nemění. Změna velikosti myomů ve smyslu jejich zmenšení je typická u žen v perimenopauze a posmenopauze.

Ostatní růstové varianty leiomyomů reprezentuje disekující leiomyom, intravenózní leiomyomatóza a benigní metastazující leiomyom.

Disekující leiomyom představuje hladkosvalovou proliferaci benigní povahy šířící se pronikáním výběžků do přilehlého myometria, lig. latum uteri nebo do pánevní dutiny. Pro způsob propagace a prorůstání může být v rámci diferenciální diagnostiky zaměněn za jiný podtyp myomu – nejčastěji za intravaskulární leiomyomatózu. Svým makrosko-

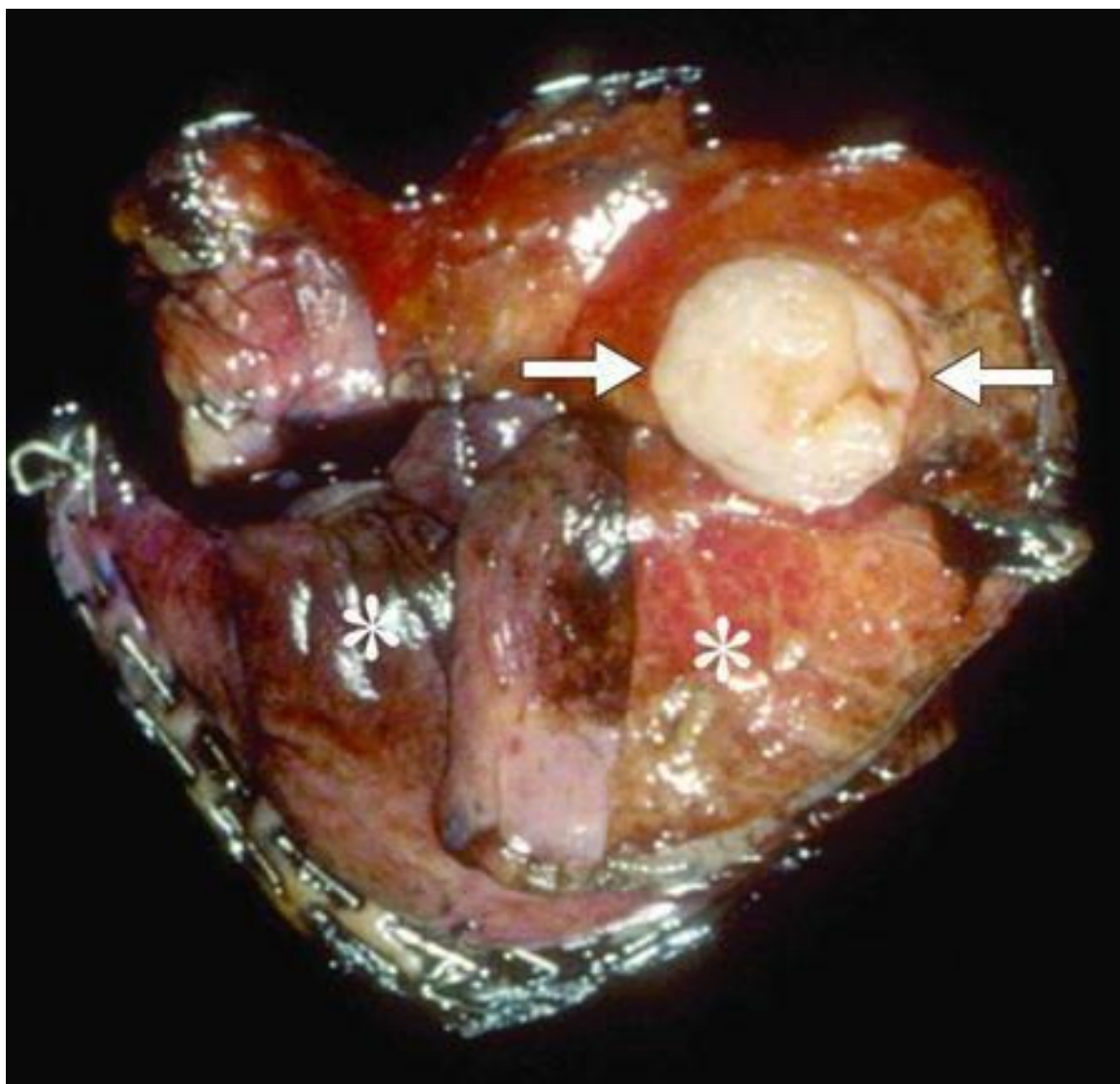
pickým vzhledem připomíná placentární tkáň. Charakteristický je otok, překrvení dělohy a děložní i mimoděložní propagace tumoru. Proto se také nazývá kotyledonoidním disekujícím leiomyomem (Sternbergův tumor) [1].

Intravenózní leiomyomatóza je velice vzácná benigní hladkosvalová proliferace (Obr. 5-3). Typická lokalizace je ve vzdálených venózních systémech vzhledem k původnímu leiomyomu. Většinou postihuje cévy situované v oblasti širokého děložního vazy. Vzácněji postupuje intravenózní leiomyomatóza přes lumen vena cava inferior do pravého srdečního oddílu. V těchto případech je typická kardiální symptomatologie ve smyslu městnavého srdečního selhání a obstrukce trikuspidální chlopně. Intravenózní leiomyomatóza se vyskytuje u žen mezi 24 až 80 lety (medián 44 let).



Obr. 5-3 Intravenózní leiomyomatóza

Benigní metastazující leiomyom. V plicích, lymfatických uzlinách nebo i břišní dutině byla prokázána ložiska hladkosvalového tumoru, za jehož původ je považována děložní myomatóza, která bývá obvykle diagnostikována již před nalezením extrauterinního útvaru. K určení původu léze a přiřazení k leiomyomu napomáhá přítomnost progesteronových a estrogenových receptorů (Obr. 5-4).



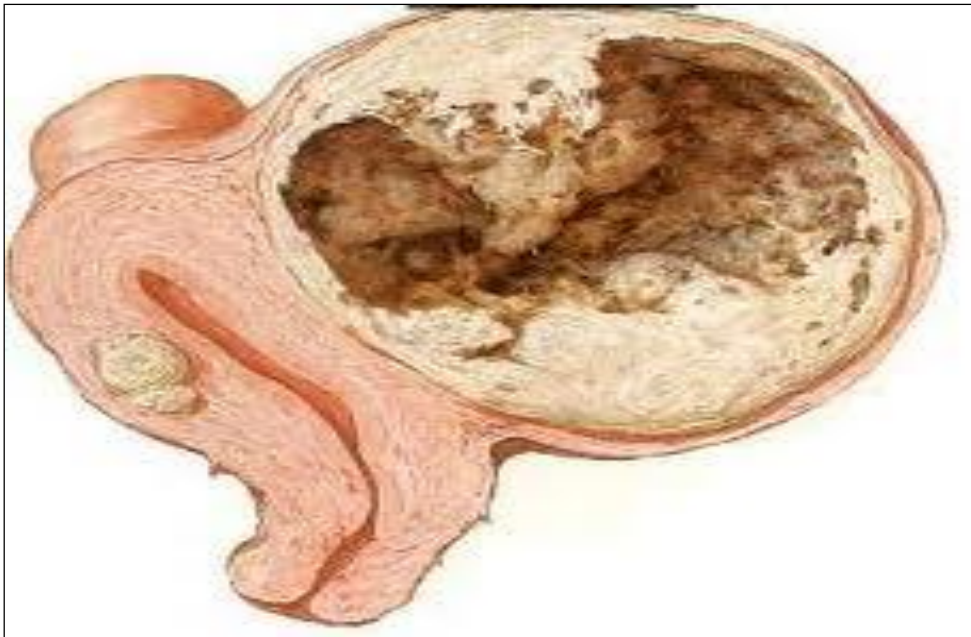
Obr. 5-4 Benigní metastazující leiomyom

Morfologické a degenerativní změny leiomyomů jsou identifikovány exaktně pouze na základě histopatologického vyšetření. Klinické markery morfologických a degenerativních změn v rámci diagnostiky jsou omezené a nespecifické. Pro podezření na morfologickou změnu myomu svědčí při palpačním vyšetření změna konzistence myomů (změknutí – degenerace, tužší konzistence – kalcifikace). Dále palpační citlivost typická pro nekrotizující nebo zánětlivě změněný myom. Sonografická diagnostika s využitím dopplerovského zobrazení je pomocnou vyšetřovací modalitou. Změna homogenity sonografického obrazu myomů ve smyslu anisoechogenity a vaskularizace je suspektním markerem morfologických změn.

Morfologické a degenerativní změny jsou charakteristické také změnou makroskopického vzhledu myomů. Pro krvácení do myomu je typické centrální tmavě červené změknutí tkáně. Hyalinizace vytváří hladké, bílé okrsky tkáně. Hydropické, myxoidní nebo mucinózní změny reprezentují cystické změny v operačním preparátu. Ischemická nekróza myomu je typická ostře ohraničenou lézí žlutavé barvy. Kalcifikace myomu rezultuje v tvorbu tvrdé rezistence. Méně častou změnou je zvýšení mitotické aktivity bu-

něk v blízkosti nekrózy, buněčná hypertrofie nebo hypercelularita ložiska. Především u žen v těhotenství nebo při vysokodávkové progesteronové terapii bývá typická degenerace myomů nebo hemoragický infarkt jako následek nekrózy myomu při jeho růstu nebo torzi. Poškozenou svalovinu nahrazuje vazivová tkáň [2].

Další morfologické změny myomů vznikají v důsledku farmakoterapie nebo semikonzervativních intervenčních postupů. Po léčbě pomocí analog gonadotropin releasing hormonu je popisovaná hyalinní degenerace myomů. Selektivní modulátory progesteronových receptorů vedou k apoptóze myocytů a ischemická nekróza je popisovaná v myomech po selektivní chirurgické okluzi nebo radiointervenční embolizaci myomy zásobujících arterií (Obr. 5-5).

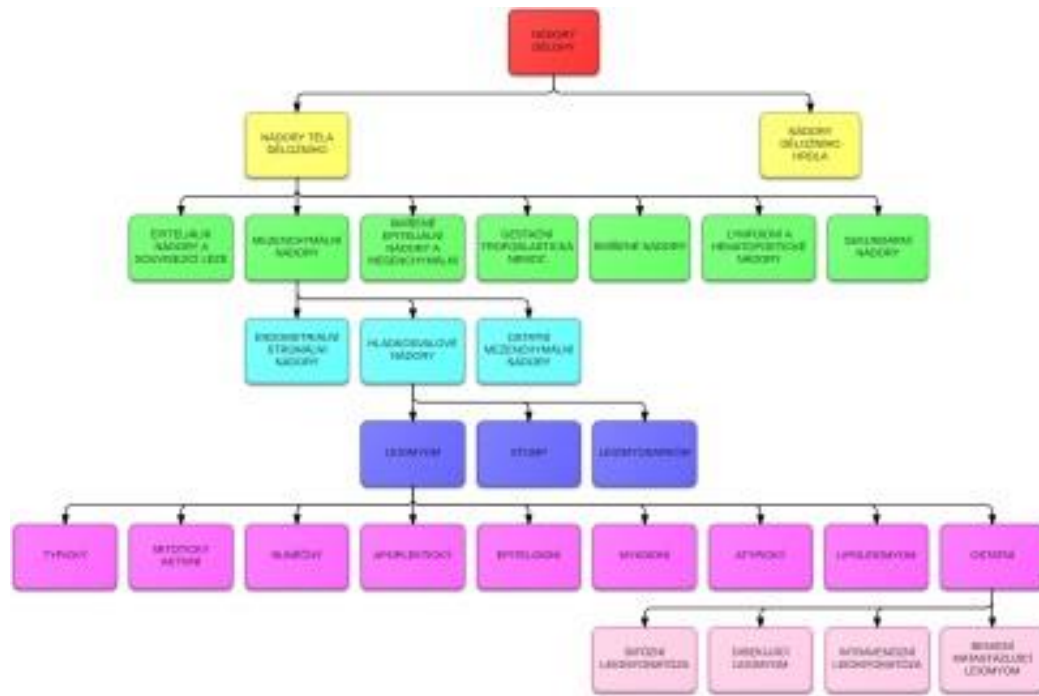


Obr. 5-5 Nekróza subserózního myomu

5.3. Histopatologická klasifikace děložních myomů

Hladkosvalové nádory vznikají diferenciací buněk hladké svaloviny myometria nebo krevních cév [4]. Rozdělují se dle chování a makroskopického i mikroskopického vzhledu na varianty benigní, semimaligní a maligní. Maligní povahu má leiomyosarkom (epiteloidní a myxoidní varianta), potenciálně maligní jsou nádory kategorie STUMP (smooth muscle tumor of uncertain malignant potential) a benigní složku reprezentuje leiomyom [5].

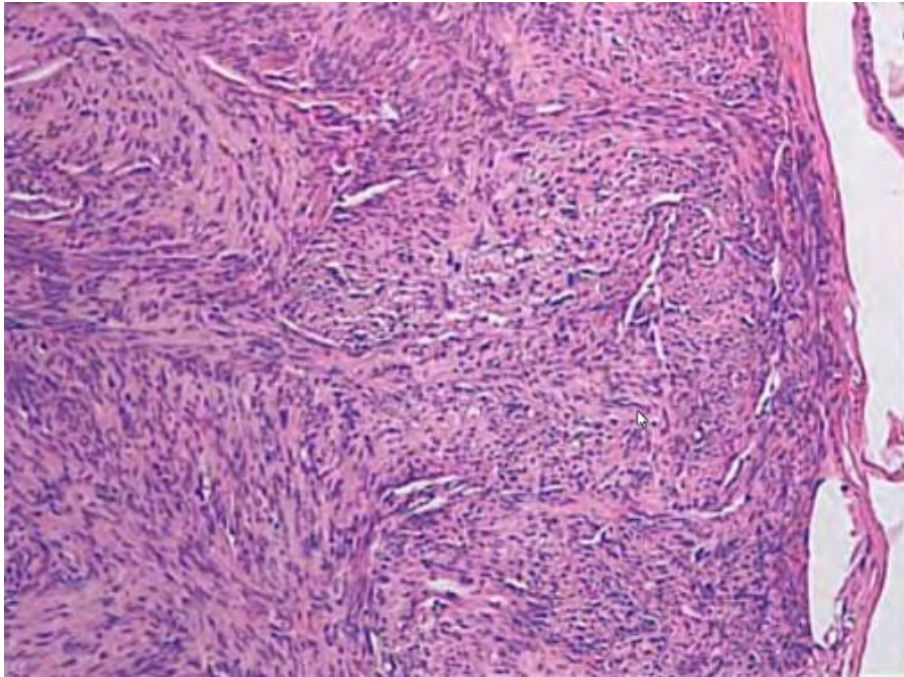
Leiomyom je nejčastějším benigním nádorem u žen, který se řadí do heterologní skupiny mezenchymálních tumorů vznikajících z endometriálního stromatu, hladkých svalů, cév nebo z jejich kombinací [2]. Klasifikaci děložních fibromů lze provést z chirurgicky odebrané tkáně pomocí histopatologického a imunohistochemického vyšetření nebo za pomoci metod molekulární patologie. Ojedinele i na základě cytologického vyšetření [3]. Děložní myomy charakterizuje mezibuněčná hmota, která je produkována nádorovými buňkami a primárními mezibuněčnými spoji charakteru desmozomů. Imunohistochemickým základem pro rozdělení je exprese vimentinu a proteinů α – aktinu a desminu nacházejících se v cytoplasmě. U leiomyomů lze intercelulárně prokázat struktury lamina basalis.



Obr. 5-6 Histopatologická klasifikace děložních myomů

Typický leiomyom

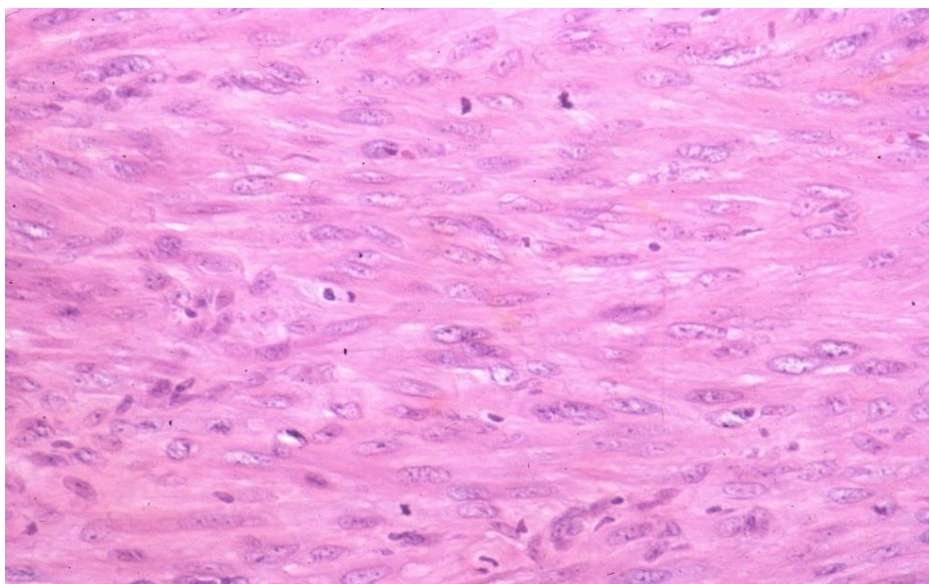
Makroskopicky se jedná o kulovitý, tuhý útvar, zpravidla dobře ohraničený od okolního myometria (Obr. 5-7). Ve dvou třetinách případů je charakteristický mnohočetný výskyt [4]. Zbarvení řezu tumorem přechází z bílé do světle hnědé. V mikroskopickém obraze jsou typické vřetenité buňky charakteru hladké svaloviny. Jsou uspořádány do prolínajících se snopců a bývají obklopené variabilním množstvím stromatu [4]. Samotné buňky nejsou zřetelně ohraničené. Charakteristická je výrazně eozinofilní cytoplazma, protáhlá jádra s tupými nebo zúženými konci, rozptýlený chromatin, malá jádérka a vzácně se vyskytující mitotické obrazce. Léze bývá vícebuněčná než okolní myometrium. Pokud u leiomyomu není dostatečná celularita, diagnostikuje se podle uzlovitého ohraničení a podle neuspořádaných fascikulů uvnitř uzlů. Leiomyomy exprimují estrogenové a progesteronové receptory, jedná se tedy o hormon dependentní tumory [2]. Při imunotypizaci je pozitivní reakce s protilátkami na muscle-specific aktin, α – aktin, desmin a h – kaldesmon. Negativní průkaz je na epiteliální membránový antigen [3].



Obr. 5-7 Typický leiomyom

Mitoticky aktivní leiomyom

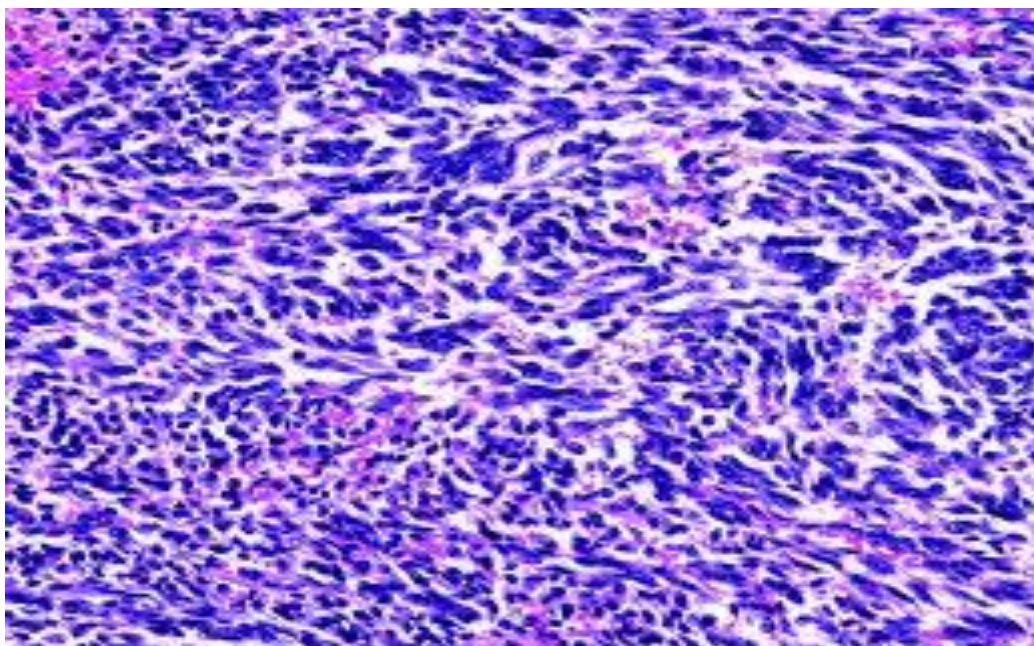
Jedná se o leiomyom se zvyšujícím se mitotickým indexem. Vyskytuje se většinou submukózně o velikosti 6–200 mm (medián 60 mm) [1]. Nejčastěji se nalézá u fertálních žen. Makroskopický i mikroskopický obraz je stejný jako u typického leiomyomu [2], rozdíl je až v nálezu 5–10 mitóz na 10 zorných polí. Pokud se nachází více mitóz než 20, nazývá se útvar mitoticky aktivním leiomyomem s omezenou zkušeností. Zvýšení mitotické aktivity se může objevit v sekreční fázi menstruačního cyklu nebo vlivem exogenních progesteronů, které mají vliv na zvýšenou proliferaci. Ve vzorku se nenachází koagulační nekrózy ani atypické mitózy. Cytologické atypie jsou patrné jen mírně, nebo nejsou přítomné vůbec [1].



Obr. 5-8 Mitoticky aktivní leiomyom

Buněčný leiomyom

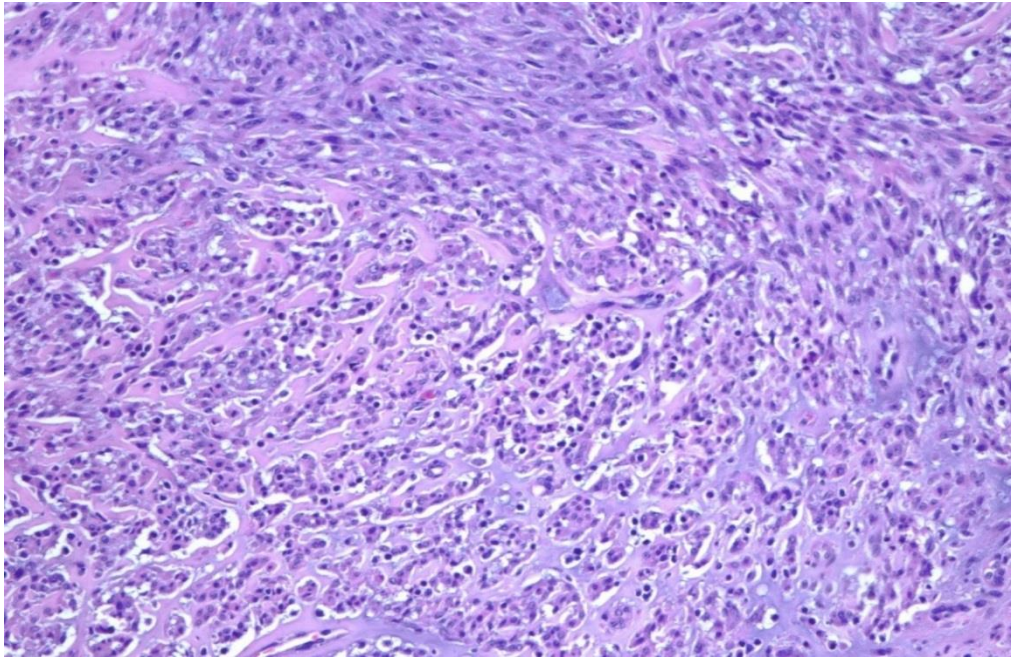
Zahrnuje přibližně 5 % leiomyomů. Charakteristickým rysem je větší buněčnost než v okolním myometriu. Ve vzorku nejsou nalezeny nekrózy ani střední či těžké atypie, vzácně se objevují mitózy [2]. Buněčný leiomyom má makroskopické rysy typického leiomyomu. Vzhled na řezu je masitý, bronzově hnědý. Histologicky jsou patrné vřetenovité buňky, fascikulární uspořádání je stejné jako u typického myomu. Pokud jsou nalezeny malé buňky s řídkou cytoplazmou a málo výrazným uspořádáním, jedná se o vysoce buněčný leiomyom, který lze těžko odlišit od endometriálního stromálního tumoru nebo od endometriálního stromálního sarkomu. Zavádějící je i hustá celularita, prominující vaskularita a nepravidelné ohraničení [1]. (Obr. 5-9)



Obr. 5-9 Buněčný leiomyom

Apoplektický leiomyom

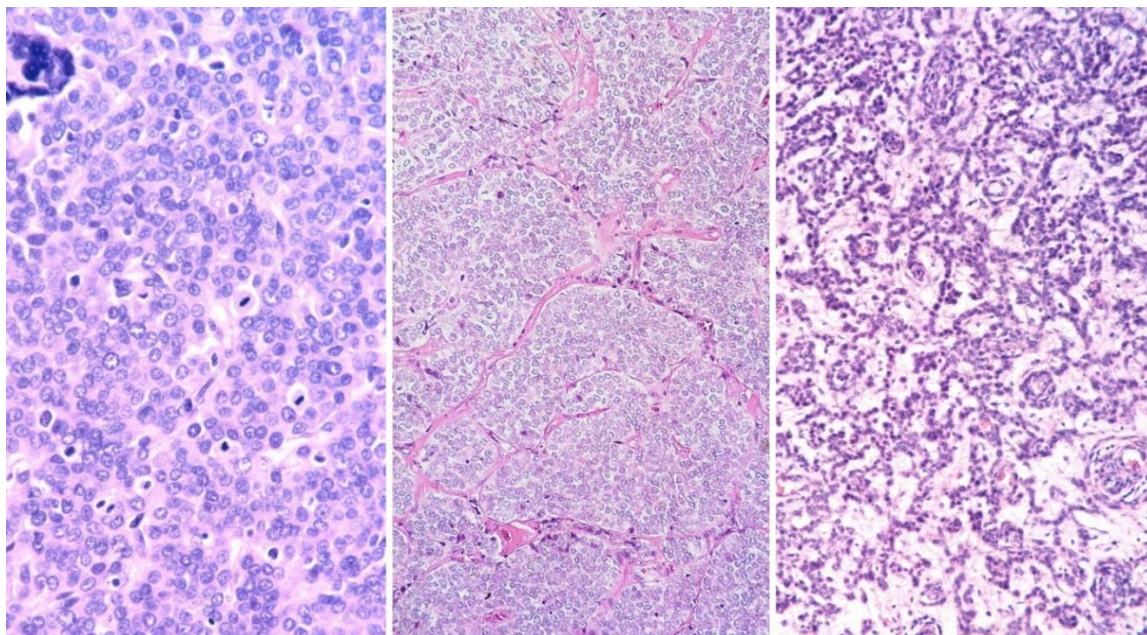
Apoplektický, také hemoragický buněčný myom. Malé, zároveň mnohočetné, dobře ohraničené okrsky hemoragií charakterizují apoplektický leiomyom (Obr. 5-10). Vyskytuje se u žen užívajících orální kontracepci, během těhotenství nebo v poporodním období. I když vztah mezi dávkou a délkou užívání orální hormonální antikoncepce nebyl potvrzen, byla prokázána souvislost se samostatným užíváním norethindronu (progesteron). U žen mimo graviditu se může projevit abnormálním krvácením z pochvy, abdominopelvicnou bolestí, nebo až symptomy náhlé příhody břišní, které vznikají při ruptuře leiomyomu s následným hemoperitoneem. Jednotlivé nebo mnohočetné uzly, ve kterých dochází ke krvácení, se mohou cysticky změnit. Z histologického pohledu jde o ohraničený útvar s denzní celularitou a s centrálně viditelnou hemoragií a edémem. Oblast největší buněčnosti je okolo místa krvácení. Buňky mají oválný až vřetenovitý tvar. Přítomné jsou normální mitózy v úzké zóně charakteru nespecifické granulační tkáně přilehlé k prokrvácené oblasti. Mitotická aktivita do 8 mitóz na 10 zorných polí, abnormální mitózy nejsou vidět. Patrné jsou mírné atypie a fibrinoidní nekrózy, koagulační nekrózy chybí. V polovině případů dochází k tvorbě abnormálních arterií [1].



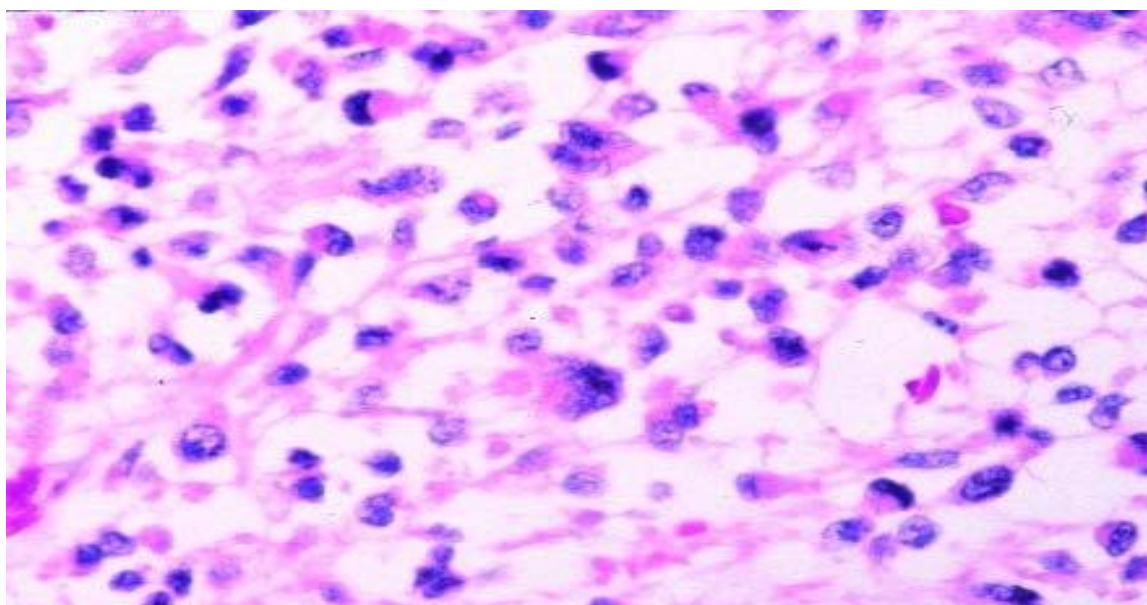
Obr. 5-10 Apoplektický leiomyom

Epiteloidní leiomyom

Jde se o méně běžný typ leiomyomu, který bývá objeven jako náhodný nález až po provedené hysterektomii. Nachází se v místě endometriální – myometriální junkce o velikosti okolo 40 mm [1]. Tumor se skládá z buněk epiteloidního vzhledu [4]. Kulaté až polygonální buňky vytvářejí shluky nebo se řadí za sebou. Jádra jsou velká, kulatá, centrálně uložená (Obr. 5-11). Na řezu má žluté případně šedé zbarvení a měkkou konzistenci. Viditelné bývají hemoragie a nekrózy [2]. Epiteloidní leiomyomy se dělí do 3 subtypů: leiomyblastom, leiomyom z jasných buněk a plexiformní leiomyom. Další varianty vznikají kombinací těchto podtypů. Mezi benigní varianty se řadí plexiformní tumory bez cytologických atypií a nekroz. Zvýšení mitotického indexu chybí. Za benigní jsou obvykle považovány také léze s ostrým okrajem, zvýšenou hyalinizací a převahou jasných buněk. Špatně se stanovuje chování tumoru, pokud se v leiomyomu najdou 2 a více znaků (velikost > 6 mm, střední mitotická aktivita 2–4 mitózy na 10 zorných polí, střední až těžká cytologická atypie, nekrózy), které ho zařadí do skupiny s nejistým maligním potenciálem. Zde je nezbytné sledování pacientek [2].



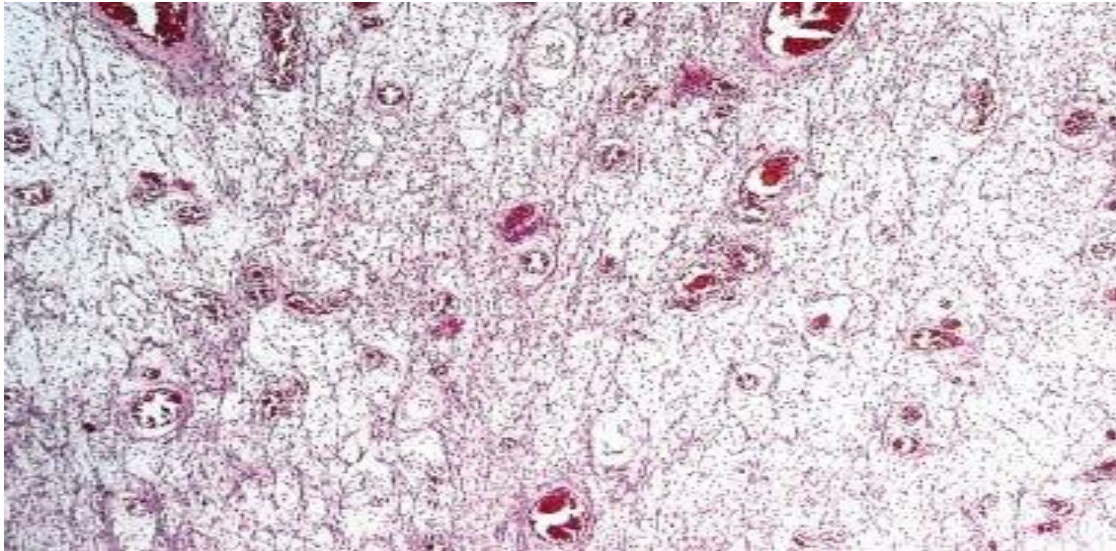
Obr. 5-11 Epiteloidní leiomyom



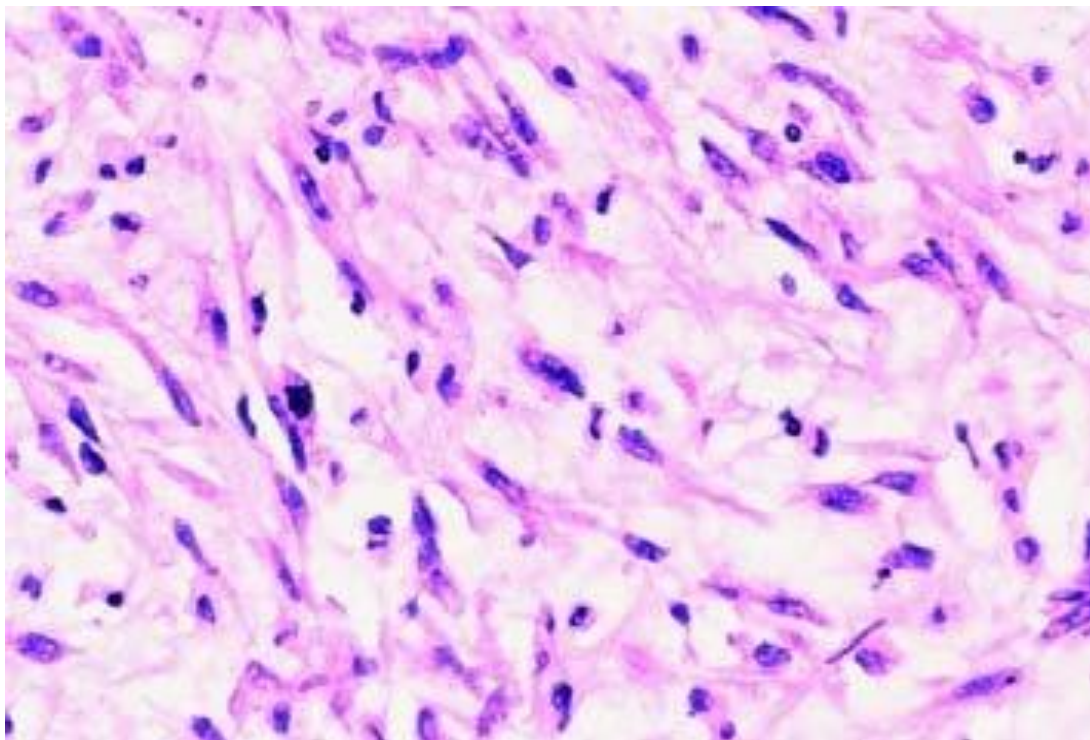
Obr. 5-12 Epiteloidní leiomyosarkom

Myxoidní leiomyom

Myxoidní leiomyom, vzácný typ myomů, je zřetelně ohraničen od okolního myometria [1], (Obr. 5-13). V průsvitném tumoru měkké konzistence se nenalézají cytologické atypie ani mitózy [2]. Hojný myxoidní materiál odděluje jednotlivé buňky hladké svaloviny nebo jejich snopce. Přítomnost vaskulární invaze je variabilní. Hodnocení chování tumoru je stejně obtížné jako u epiteloidního leiomyomu. Za leiomyosarkomy se považují léze s 5 a více mitózami na 10 zorných polí, nebo se středními až výraznými jadernými atypiami. Při hraničním nálezu se hovoří o potenciálně maligním nádoru [4], (Obr. 5-14).



Obr. 5-13 Myxoidní leiomyom

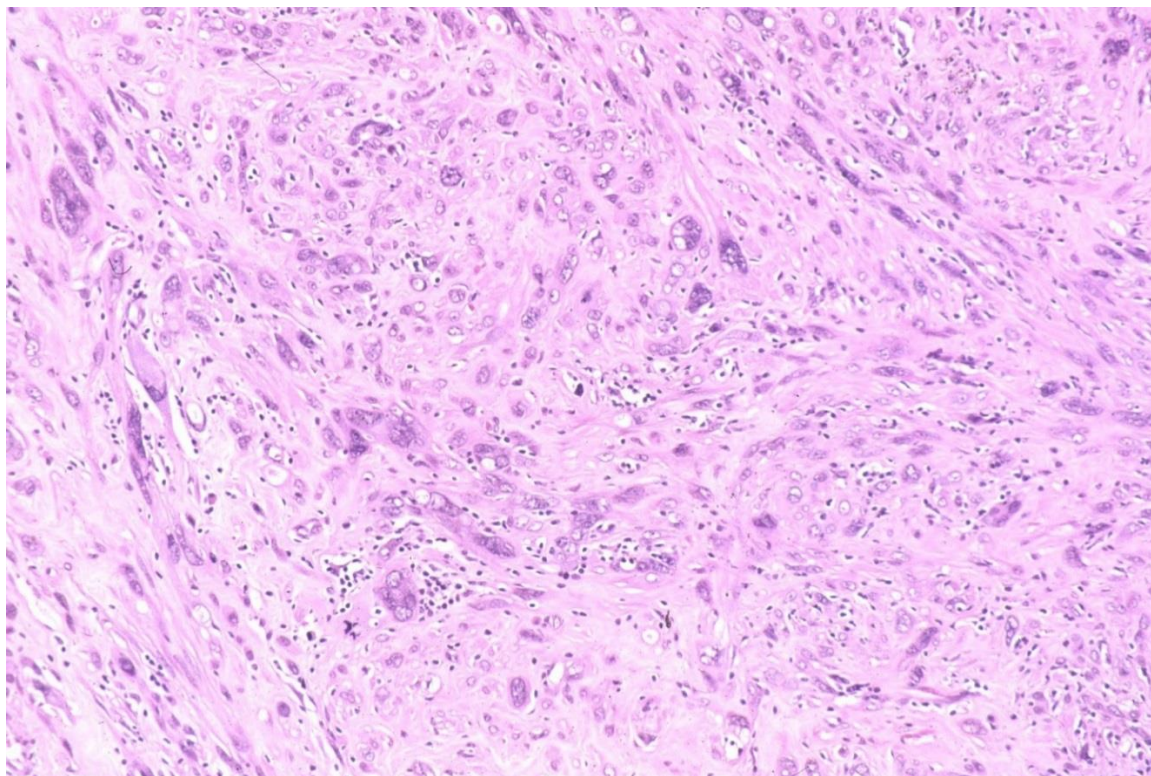


Obr. 5-14 Myxoidní leiomyosarkom

Atypický leiomyom

Atypický leiomyom, pleomorfní, bizarní, symplastický. Diferenciace buněk hladké svaloviny může být doplněná bizarními buňkami se středními až výraznými atypiiemi jádra – mnohojadernými, vícelaločnatými nebo jednojadernými obrovskými buňkami s hyperchromatickým jádrem. Cytoplazma je granulární, eozinofilní a hustá [1]. Mitózy se nacházejí méně než 10 mitotických obrazců na 10 zorných polí. Nekrózy nejsou pří-

tomné [4]. Atypické buňky mohou být rozesety po celém leiomyomu nebo se nacházejí v jednotlivých nebo mnohočetných ložiscích [2]. Pokud jsou přítomné difuzní jaderné atypie bez mitóz, jedná se o atypický leiomyom s nízkým rizikem rekurence. Atypický leiomyom s limitovanými zkušenostmi označuje nález fokálních atypií s méně než 10 mitózami na 10 zorných polích [4]. K odlišení od leiomyosarkomu je nutné znát frekvenci mitóz a přítomnost koagulační nekrózy [1], (Obr. 5-15).



Obr. 5-15 Atypický leiomyom

Lipoleiomyom

Lipoleiomyom se nachází poměrně běžně. Vyznačuje se vysokým počtem roztroušených adipocytů v myomu typického vzhledu.

Difuzní leiomyomatóza

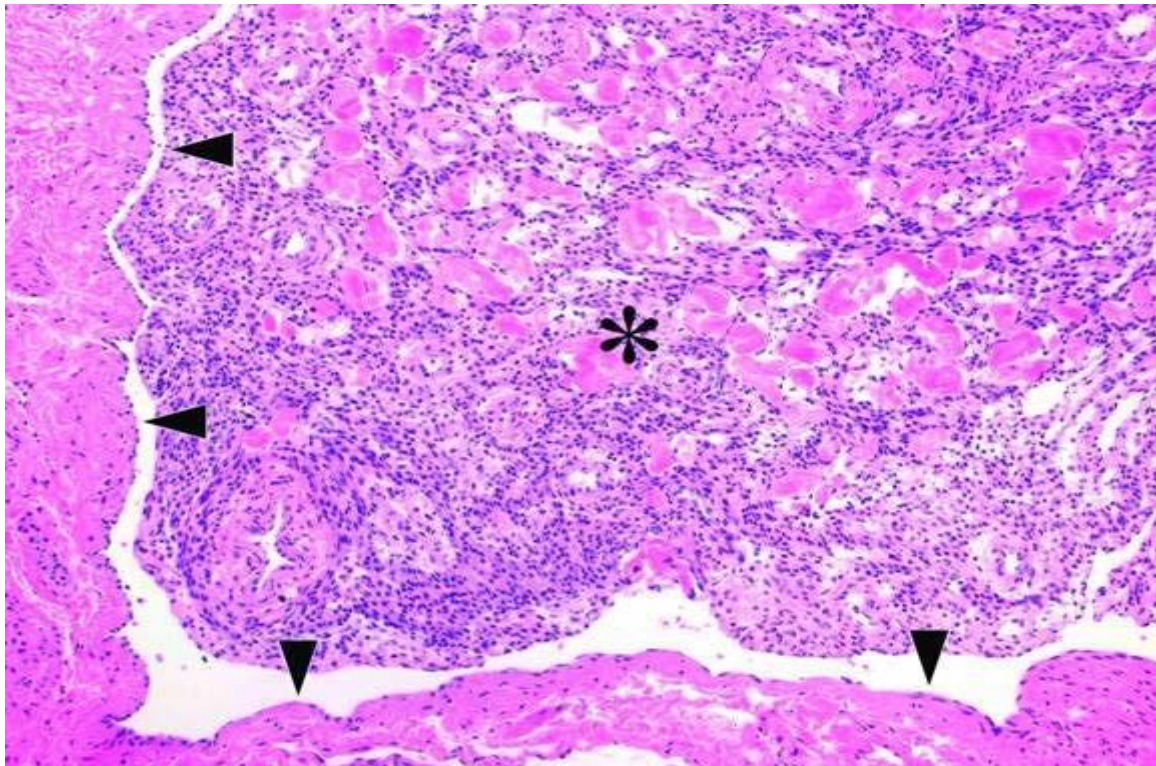
Při makroskopickém popisu je nutné odlišit difuzní adenomyózu, která se difuzní leiomyomatóze velice podobá. Početné noduly jsou tvořeny jemnými vřetenovitými buňkami hladké svaloviny, shluky kapilár obklopenými hyalinním stromatem a postupným přechodem do myometria. Mitózy se objevují sporadicky. Klinicky se leiomyomatóza u fertálních žen projevuje abnormálním krvácením z rodidel a bolestmi v dolních břišních kvadrantech. Pokud se vyskytnou mikroskopické uzlíky okolo lymfatických cév s prorůstáním do nich, hovoříme o lymfangioleiomyomatóze, která má prokázaný vztah k tuberózní skleróze [1].

Disekující leiomyom

Mikroskopicky jsou patrné neorganizované svazky hladké svaloviny, náznak vaskularity a rozsáhlé hydropické změny. Popsané jsou i nonkotyledonoidní disekující leiomyomy [1].

Intravenózní leiomyomatóza

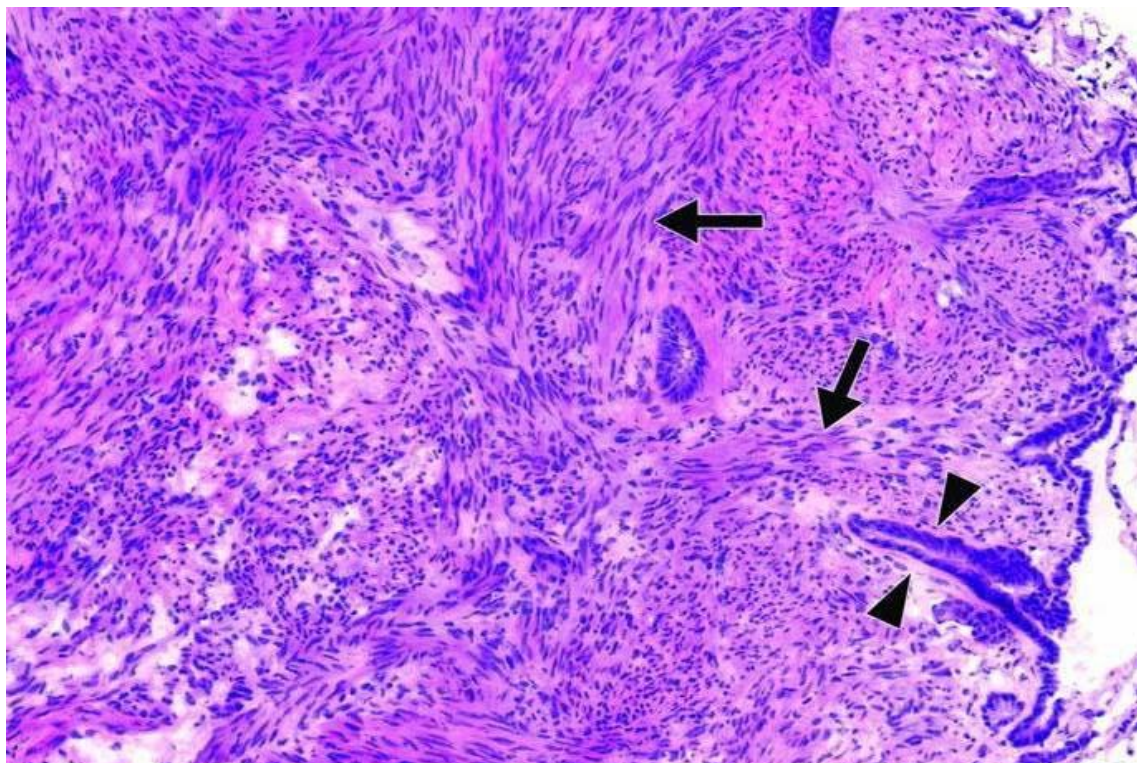
Mikroskopicky je vidět prorůstání do žil překryté endotelem [2]. Leiomyomatóza má velice variabilní vzhled a v myometriu se může nalézat jakákoli histopatologická varianta leiomyomu (epitelioidní, atypický, buněčný, ...). Jsou patrné vřetenovité buňky, ložiska hyalinizace, hydropické a myxoidní změny, lipoleiomyomatóza. Mitózy nejsou přítomné (Obr. 5-16).



Obr. 5-16 Intravenózní leiomyomatóza

Benigní metastazující leiomyom

V plicích, lymfatických uzlinách nebo i břišní dutině byla prokázána ložiska hladkosvalového tumoru, za jehož původ je považována děložní myomatóza. K přiřazení původu léze k leiomyomu napomáhá přítomnost estrogenových a progesteronových receptorů [2], (Obr. 5-17).



Obr. 5-17 Benigní metastazující leiomyom

5.4. Korelace histopatologických typů myomů a klasifikace

Otázka možnosti korelace jednotlivých histologických typů myomů s jejich velikostí a četností případně možná korelace ve vztahu k věku pacientek dosud nebyla exaktně odpovězena. Literární zdroje podávají pouze obecné informace a nespécifikují tyto možné vazby na reprodukční věk žen. Předmětem prospektivní klinické kohortní studie, která probíhala na Gynekologicko-porodnické klinice MU a FN Brno v letech 2008–2014, byla analýza incidence histologických typů myomů u nuligravid v reprodukčním věku se zaměřením na rozbor vztahů mezi velikostí myomů, jejich četností a věkem žen.

Sledovaný soubor byl tvořen skupinou 103 žen reprodukčního věku (18–40 let) se zájmem o graviditu, které v uvedeném období podstoupily laparotomickou nebo laparoskopickou myomektomii pro klinicky symptomatický děložní myom. Primárním cílem studie bylo vyhodnocení incidence solitárních a vícečetných myomů, incidence myomektomií ve věkové kategorii 18–34 let a 35–40 let, dále analýza incidence myomů <5 cm / >5 cm v nejdelším průměru. Sekundárním cílem studie bylo vyhodnocení možné korelace mezi histologickými typy myomů a věkem pacientek, velikostí myomů a jejich četností.

Po myomektomii v 84,5 % případů byl histologicky klasifikován normální leiomyom a ve sledovaném souboru nebyla zaznamenána maligní varianta myomu. Operaci podstoupilo 52 žen ve věku pod 34 let (50,5 %) a 51 žen ve věku nad 35 let (49,5 %). Myomektomie byla indikována u 74 žen (71,8 %) pro solitární myom a u 29 žen (28,2 %) pro vícečetnou myomatózu. Více než polovina žen (n = 60, 58,3 %) měla dominantní myom menší než 5 cm, 43 žen (41,7 %) mělo dominantní myom větší než 5 cm v průměru. Ve sledovaném souboru nebyl nalezen signifikantní rozdíl v incidenci histologických typů myomů ve vztahu k jejich velikosti a věkové kategorii žen 18–34 let a 35–40 let. Pouze incidence buněčného histologického typu myomu byla signifikantně vyšší (n = 3, 10,3 %) v případech s vícečetnou myomatózou v porovnání se skupinou žen se

solitárními myomy ($n = 0$, $p = 0,021$). Ve skupině žen s vícečetnou myomatózou ($n = 29$), byl u naprosté většiny případů ($n = 28$, 96,6 %) diagnostikován jediný histologický typ myomu.

Ve skupině nerodivších žen reprodukčního věku, které podstoupily myomektomii pro symptomatickou děložní myomatózu nebyl shledán signifikantní rozdíl v incidenci jednotlivých histologických typů myomů ve vztahu k jejich velikosti a věku žen. Incidence buněčného histologického typu myomu byla signifikantně vyšší ve skupině žen s vícečetnou myomatózou v porovnání se skupinou pacientek se solitárními myomy.

Correlation between Histology, Size or Number of Fibroids in Women of Reproductive Age

Robert Hudecek^a, Martin Huser^a, Lenka Mekinova^a, Jana Kadlecova^a, Petra Moravkova^a, Katarina Slaba^a, Eva Jandakova^b

^a Department of Obstetrics and Gynecology and ^b Department of Pathology, Brno University Hospital and Masaryk University Medical School, Brno, Czech Republic

Aim. Study aim was to evaluate histological uterine fibroid incidence among reproductive age women and to determine correlations between fibroid histological type, number, size and patient age.

Methods. Cohort consisted of 103 women desiring pregnancy who underwent myomectomy for symptomatic uterine fibroids. Primary endpoints: Cohort solitary and multiple fibroid histological type, myomectomy incidence among ages 18–34, 35–40, solitary and multiple fibroids, and <5cm/>5cm diameter evaluation. Secondary analysis endpoints evaluated correlations between uterine fibroid histological type, age, and uterine fibroid number and size.

Results. Following myomectomy, 84.5 % exhibited benign histology, and myomatosis malignancy was not detected. 52 women under age 34 (50.5 %) and 51 women between 35-40 years (49.5 %) had surgery. 74 women (71.8 %) had a solitary fibroid, and 29 (28.2 %) had a duplicate fibroid or more. Over half (n=60, 58.3 %) had a fibroid of <5cm, 43 (41.7 %) > than 5cm in diameter. There were no significant differences between uterine fibroid size or histological types among women aged 18-34 and 35-40. Cellular fibroid incidence was higher (n=3, 10.3 %) in cases of multiple myomatosis in comparison to solitary fibroid group (n=0), (p=0.021). Among women with multiple myomatosis (n=29), almost all (n=28, 96.6 %) had only one histological type.

Conclusion. Among women of child-bearing age having myomectomy, most have benign histology with no significant differences in histological type with regard to fibroid size, or patients' age. Higher incidence of cellular fibroids was observed only in multiple myomatosis cases.

Key words: leiomyoma; uterine fibroid; uterine myomectomy; histology

Introduction

Uterine fibroids are mesenchyme benign tumours originating from smooth muscle cells of the myometrium [1]. Based on ultrasound screening, the prevalence of uterine fibroids was found to be 20-40 % in Caucasian and 60 % in African-American women by the age of 30 years [2]. It has been estimated that about 25 % of women with uterine fibroids are symptomatic. A large survey resulted in self-reported prevalence of uterine fibroids ranged from a low of 4.5 % to a high of 9.8 % in women aged 15 to 49 years [3]. Clinically, uterine fibroids and associated symptoms are most prominent in the late reproductive years. The most common symptoms of uterine fibroids are heavy menstrual bleeding (HMB) and pelvic discomfort. The clinical manifestations of myomatosis are affected mainly by the size, location, and number of fibroids and their relation to the uterine cavity [4]. Several approaches are available for the management of uterine fibroids. The approach may be dictated by factors including the patient's desire to become pregnant in the future, the importance of uterine preservation, symptom severity, and tumour characteristics [5]. Uterine fibroids are the leading cause for hysterectomy. Hysterectomy is the only definitive treatment and eliminates the possibility of recurrence. Many women seek an alternative to hysterectomy, because they desire future childbearing or wish to retain their uterus. For women who desire uterine preservation, myomectomy is an alternative surgical procedure. After fibroid extirpation, up to 60 % of women get pregnant spontaneously within 24 months following surgery [6]. However, the recurrence rate is substantial, and up to 25 % of patients require repeat myomectomy or hysterectomy at a later stage. After 12 months from the primary myomectomy, the spontaneous pregnancy rate fall sharply [7].

The pathophysiology of uterine fibroids is not well understood. Genetic predisposition, exposure to steroid hormones, and growth factors play a role in formation and growth. They are hormone-dependent tumours with tissues containing oestrogen and progesterone receptors [8]. Uterine fibroids typically appear and grow during reproductive years and stabilize or regress after menopause.

The relation of size, location, and number of uterine fibroids in women of reproductive age to their histopathology has not been clearly defined. Our study focuses on the evaluation of incidence of individual histological types of uterine fibroids in women of child-bearing potential and relationship analysis between the histological types of uterine fibroids in terms of patient age, the number, and size of uterine fibroids.

Materials and Methods

The study cohort consisted of 354 nuligravid women of reproductive age with uterine fibroids. The women were referred to the Department of Obstetrics and Gynaecology, Brno University Hospital, Czech Republic, from the South Moravian district to undergo laparoscopic or open myomectomy between the years 2008-2014.

Inclusion criteria for the study were: Nuligravid women of child-bearing potential, 18 to 40 years of age at the time of surgery, diagnosis of uterine fibroid(s) documented by transvaginal or abdominal ultrasound at first visit before surgery, heavy menstrual bleeding HMB>80 ml documented by menstrual pictogram, women eligible for surgical treatment of uterine fibroids, good general health (except for findings related to uterine fibroids) as proven by medical history, physical and

gynaecological examinations, and laboratory test results, and normal or clinically insignificant cervical smear.

Exclusion criteria for the study were: Use of any hormonal treatments with potential influence on uterine fibroid size including: Short-acting hormonal contraception (oral, vaginal, or transdermal), long-acting hormonal contraception (injectable), contraceptive devices with hormone release (implant, intra-uterine device), and/or previous use of ulipristal acetate or Gonadotropin-releasing hormone (GnRH) agonist any time before surgery.

A total of 118 patients were designated for myomectomy (230 women did not meet inclusion criteria and 6 declined to participate). A total of 108 patients first received laparoscopic or laparotomic myomectomy under general anaesthesia: Intramyometrial application of 20ml NaCl solution was given to the capsular space of fibroid, followed by sagittal incision of the fibroid surface by a monopolar needle, fibroid extirpation by sharp dissection and morcellation (if laparoscopic myomectomy), intracorporal laparoscopic or open suturing of the uterine wall in two layers, and abdominal cavity washing with NaCl solution. Subsequent histological typization of uterine fibroids was performed by two independent pathologists. A total of 103 women with symptomatic uterine fibroids met all inclusion, and displayed none of the exclusion criteria and were thus eligible for analysis (Fig. 1).

The primary endpoints of the analysis were to evaluate incidence of histological types of uterine fibroids after myomectomy evaluating incidence of myomectomies by age (categorized into 18–34 and 35–40 age range), by incidence of solitary and multiple uterine fibroids and by incidence of uterine fibroids with overall diameter <5 cm and >5 cm in the study group. Histological types of uterine fibroids were defined by pathologists according to the WHO classification¹. Number of uterine fibroids was documented by transvaginal or abdominal ultrasound during first visit before surgery. Mean size of each uterine fibroid was calculated from maximal diameters in two vertical planes measured by transvaginal or abdominal ultrasound during first visit before surgery. In cases of multiple myomatosis the diameter of the largest fibroid was calculated.

Secondary endpoints of the analysis were to evaluate potential correlation between histological types of uterine fibroids and age of women (subdivided into age 18–34 and age 35–40), correlation between histological types and number of uterine fibroids (solitary or multiple), and between histological types and size of uterine fibroids (overall diameter <5 cm and >5 cm).

Absolute and relative frequencies for categorical variables were applied as descriptive statistics. Statistical significance of differences between groups of patients was tested using Fisher exact test. The significance level was $p < 0.05$. Statistical analysis was computed using SPSS 22.0.0.1 (IBM Corporation, 2014).

Informed consent was obtained from all women. Brno University Hospital's local institutional review board and ethics board approved the study.

Results

The primary endpoints of the analysis were to evaluate incidence of histological types of uterine fibroids after myomectomy, incidence of myomectomies by age, incidence of solitary and multiple uterine fibroids, and incidence of uterine fibroids average diameter.

Normal histology was detected in 87 women (84.5 %), cellular in 3 women (2.9 %), epithelioid in 4 women (3.9 %), myxoid in 1 women (0.9 %), atypical in 3 wo-

men (2.9 %), lipoleiomyoma in 1 women (0.9 %), and other detections in 4 women (3.9 %). The malignant version of myomatosis was not detected (Table 1). The evaluation of incidence of myomectomies by age resulted in 52 women (50.5 %) which had undergone surgery between 18-34 years of age and 51 women (49.5 %) who had undergone surgery between the ages of 35 and 40. (Table 1). The evaluation of incidence of solitary and multiple uterine fibroids determined that there were 74 women (71.8 %) with a solitary fibroid and, 29 women (28.2 %) with two and more uterine fibroids, (Table 1). The evaluation of uterine fibroid average diameter incidence in the study group resulted with: 60 women (58.3 %) having a fibroid with diameter <5 cm and 43 women (41.7 %) having one \geq 5 cm. (Table 1).

Secondary endpoints of the analysis were to evaluate potential correlation between histological types of uterine fibroids and women's age (subdivided into ages 18–34 and ages 35–40), and to correlate between histological types and number of uterine fibroids and between histological types and size of uterine fibroids.

There were no significant differences between histological types among women aged 18-34 and 35-40 (Table 2). Higher incidence of cellular fibroids in cases of multiple myomatosis (n=3, 10.3 %) in comparison to solitary fibroid group (n=0) was observed (p=0.021), (Table 3). There were no significant differences between histological types of uterine fibroid size (Table 4). Among the women with multiple myomatosis (n=29), almost all (n=28, 96.6 %) had only one histological type.

Discussion

Among women of reproductive age, the relation of size, location, and number of leiomyoma's to their histopathology has not been clearly defined. That is the reason our study was limited to a cohort consisting of nuligravid women with child-bearing potential in order to calculate correlations between histological types of myomas and their morphology. Determination of uterine fibroid subsequent histological types in our study group was performed by two independent pathologists in accordance with the WHO classification¹.

Histologically *normal leiomyoma* are typically composed of smooth muscle cells, showing little or no mitotic activity. The factors that initiate and promote the growth and development of leiomyoma are largely unknown [9]. Usual leiomyoma or slightly cellular leiomyoma exhibiting insignificant cytological atypia (none to mild) with an increased mitotic count of 5 ± 20 mitotic figures (MF) per 10 high power fields (HPF) and without coagulative tumour cell necrosis or atypical mitoses tend to pursue a benign clinical course [10]. In our study group, normal histology was detected in 87 women (84.5 %).

Mitotically active leiomyoma tend to occur in women of reproductive age, can vary in size from 6 to 200 mm (median 60 mm), and are frequently found in a sub mucosal location [10, 11]. These tumours may be subjected to trauma as a consequence of their location. Increased mitotic activity may be associated with the secretory phase of the menstrual cycle [12]. In our study group, mitotically active leiomyoma was not detected, since all myomectomies were laparoscopic or by laparotomy as a result, of intramural, trans-mural or superficial localisation of uterine fibroids.

Cellular leiomyoma are defined as leiomyoma that are significantly more cellular than the adjacent myometrium [13]. Correctly diagnosed, this subtype

should not account for more than 5 % of leiomyoma's diagnosed by a pathologist [9]. In our study group, cellular leiomyoma was detected in 2.9 %, and higher incidence of cellular fibroids in cases of multiple myomatosis in comparison to solitary fibroid group was observed ($p=0.021$). But small number of these cases does not mean any clinical outcome. Mitoses in cellular leiomyomata are typically scarce ($<2/10$ HPF) and atypia is absent or mild. Cellular leiomyomata tend to pursue the same clinical course as ordinary leiomyomata. The distinction of a highly cellular leiomyoma from a stromal nodule is of no clinical importance when the lesion is found in a hysterectomy specimen, as both are benign [9].

Apoplectic leiomyoma are described among women who are taking oral contraceptives, are pregnant, or recently postpartum. It is not known whether the association is related to either dose or duration of the oral contraceptive. Rapidly enlarging tumours are often present in non-pregnant women with abnormal uterine bleeding or pelvic pain [14]. In study group which included only nuligravid women without oral contraceptive pre-treatment, no histological type of apoplectic leiomyoma's was found.

Epitheloid smooth muscle tumours of the uterus are uncommon neoplasms and have been the subject of only a few reports. They are usually discovered as an incidental finding near the endometrial and myometrial junction, and they may be as large as 40 mm [15]. In our study group, epitheloid leiomyoma was detected among 3.9 % and all in a group of women with fibroid diameter less than 5 cm.

Most *myxoid leiomyoma's* were large tumours (mean diameter >100 mm), and any myxoid tumour is best regarded as potentially aggressive [16]. Myxoid smooth muscle tumours were found with one of our study group case < 34 years of age. The solitary fibroid bigger than 5 cm corresponded with findings recorded among earlier studies.

Atypical leiomyoma exhibits smooth muscle differentiation, and these tumours are usually less than 55 mm in maximum dimension [10]. Atypical fibroids were found among 3 cases (2.9 %) in our study group without any correlation between age of the women and fibroid size.

Other histological types of uterine fibroids detected in 2 women were leiomyoma with lymphoid infiltrate, which are usually rare. The cause of this condition is not clear, although it has been described in association with GnRHa therapy [17]. Yet, pre-treated women by GnRH analogs were excluded from our study group. Another two cases of other histological types of uterine fibroids were recorded in 2 women with hydropic degeneration in leiomyoma. Smooth muscle tumors of uncertain malignant potential (STUMP) and leiomyosarcomata were not detected by our study group pathologist.

Border line of study group allocation according age of women was defined for 35 years. This corresponded with American Fertility Society (AFS) data that considers the upper limit for optimal spontaneous conception to be 35 years of age. Women over the age of 35 are characterised by a decrease of efficiency of In vitro fertilisation methods (IVF) [18]. The relationship between uterine fibroids and reproductive disfunctions, like subfertility, is difficult to establish. Fibroids are known to occur more frequently in women with fertility problems, and they are thought to be responsible for 2–3 % of infertility cases [19]. A controlled study looking at the effect of small (up to 4 cm) intramural fibroids not encroaching the uterine cavity on the outcome of IVF/ICSI (in vitro fertilisation, intracytoplasmatic

sperm injection) treatment showed a significant reduction in the pregnancy rate, ongoing pregnancy rate, and live birth rate in the group with fibroids when compared with the control group without uterine fibroids [20].

Border line of study group allocation according uterine myoma size was defined for 5 cm. This fact corresponded with the recommendation of most infertility experts, which prefer myomectomy of fibroids distorting the endometrial cavity and large intramural fibroids at least 5 cm even with normal endometrial cavity. A study including women with fibroids having a mean diameter of more than 5 cm determined, that patients who went for myomectomy prior to IVF have a 25 % the delivery rate after IVF cycle in comparison with the control group, declining surgery, that had a delivery rate of 12 % after IVF [21].

Study exclusion criteria included any hormonal treatment use that could potentially influence uterine fibroid size, hormonal contraception, and/or previous use of ulipristal acetate or GnRH agonist any time before surgery, because some histological changes were observed with the use of these drugs.

Histological changes observed with the use of GnRH agonists have been variable with, some studies reporting an increase in cellularity in the GnRH-treated women [22, 23, 24], others having found no difference between treated and untreated women [25, 26, 27], and one study demonstrating a decreased cellularity [28]. A direct effect of GnRH agonist on leiomyoma cannot be excluded, as a specific binding site for GnRH has been identified in leiomyoma [29].

An effect of ulipristal acetate (selective progesterone receptors modulator – SPRM) on apoptosis in uterine fibroids was detected as well. Apoptosis was present in a significantly higher proportion of patients treated before surgery with ulipristal acetate compared to GnRHa and to patients with no hormonal treatment. In contrast to an apoptotic index (AI) of 158.9 in SPRM patients, the mean AI was 27.5 and 2.0 in GnRHa and control group respectively [30].

The use of exogenous progestogens has also been implicated as a cause of increased proliferation in mitotically active leiomyoma [31] and progestagenic agents, are known to have induced a haemorrhagic cellular leiomyoma when used alone [32].

Some authors presented correlation between histological types of uterine fibroids and their size. Mitotically active leiomyoma can vary in size with a median of 60 mm [10,11], epitheloid smooth muscle tumours of the uterus may be as large as 40 mm [15], and myxoid leiomyomas have been recorded with a mean diameter >100 mm [16]. Yet in our study group, there were no significant differences found in the incidence of histological types of uterine fibroids in regards to size. Correlation between histological types of uterine fibroids and reproductive age of women has not yet been clearly defined, but the uterine fibroids histopathologically examined in our followed cohort of patients of child-bearing potential did not pose an oncological risk. While our study credibility was underscored by a homogenous group of reproductive age nuligravid women with child-bearing potential and no hormonal pre-treatment before surgery, future additional research with a larger number of participatory patients is appropriate.

Conclusions

After myomectomies among women of child-bearing potential with clinically symptomatic uterine fibroids, 84.5 % had a normal histological type verified with no malignant version of myomatosis detected. In the followed cohort, 50.5 % of patients underwent surgery before 35 years of age, and 49.5 % of patients un-

derwent myomectomy between 35-40 years of age, 71.8 % of them for a solitary fibroid. There were no significant differences found in the incidence of histological types of uterine fibroids in regards to size of fibroids and patients' age, but higher incidence of cellular fibroids in cases of multiple myomatosis (n=3, 10.3 %) in comparison to solitary fibroid group (n=0) was observed (p=0.021),

Abbreviations

AFS, American Fertility Society; AI, Apoptotic index; GnRH, Gonadotropin-releasing hormone; HMB, Heavy menstrual bleeding; HPF, High power fields; ICSI, Intracytoplasmatic sperm injection; IVF, In vitro fertilisation; MF, Mitotic figures; NaCl, Natrium chloride; SPRM, Selective progesterone receptors modulators; STUMP, Smooth muscle tumors of uncertain malignant potential; WHO, World health organisation.

Acknowledgements

The work was supported by Ministry of Health, Czech Republic - conceptual development of research organization (FNBr, 65269705). The authors thank to Jiří Jarkovský RNDr. Ph.D. for statistical analyses.

Conflict of interest statement

Author's conflict of interest disclosure: The authors stated that there are no connection to any companies or products mentioned in this article and no conflicts of interest regarding the publication of this article.

References:

1. Tavassoli FA, Devilee P. Pathology and Genetics of Tumours of the Breast and Female Genital Organs. In: Fattaneh A, Tavassoli FA, Devilee P, editors. World Health Organization Classification of Tumours. Lyon: IARC Press; 2003. 239-42.
2. Torpin R, Pund E, Peebles WJ. The aetiologic and pathologic factors in a series of 1741 fibromyomas of the uterus. *Am J Obstet Gynecol*. 1992; 44: 569-74.
3. Zimmermann A, Bernuit D, Gerlinger C, Schaefer M, Geppert K. Prevalence, symptoms and management of uterine fibroids: an international internet-based survey of 21,746 women. *BMC Womens Health*. 2012; 12(1): 6-16.
4. Hart R, et al. A prospective controlled study of the effect of intramural uterine fibroids on the outcome of assisted conception. *Hum Reprod*, 2001; 16(11): 2411-17.
5. Levy BS. Modern management of uterine fibroids. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2008; 87(8): 812-23.
6. Poncelet C, et al. Myoma and infertility: analysis of the literature. *Gynecol Obstet Fertil*, 2001; 29(6): 413-21.
7. Bajekal N, Li TC. Fibroids, infertility and pregnancy wastage. *Hum Reprod Update* 2000; 6(6): 614-20.
8. Solomon LA, Schimp VL, Ali-Fehmi R, Diamond MP, Munkarah AR. Clinical update of smooth muscle tumors of the uterus. *J Minim Invasive Gynecol* 2005; 12(5): 401-8.
9. Wilkinson N, Rollason TP. Recent advances in the pathology of smooth muscle tumours of the uterus. *Histopathology* 2001; 39(4): 331-341.
10. Bell S, Kempson RL, Hendrickson MR. Problematic uterine smooth muscle neoplasms: a clinicopathologic study of 213 cases. *Am J Surg Pathol* 1994; 18(6): 535-58.
11. Prayson RA, Hart WR. Mitotically active leiomyomas of the uterus. *Am J Clin Pathol* 1992; 97(1): 14-20.
12. Kawaguchi K, Fujii S, Konishi I et al. Mitotic activity in uterine leiomyomas during the menstrual cycle. *J Obstet Gynecol* 1989; 160(3): 637-41.
13. Scully RE, Bonfiglio TA, Kurman RJ, Silverberg SG, Wilkinson EJ. Histological Typing of Female Genital Tract Tumours. In: World Health Organisation. 2nded. New York: Springer Verlag; 1994. 13-31.
14. Norris HJ, Hilliard GD, Irey NS. Hemorrhagic cellular leiomyomas (apoplectic leiomyoma) of the uterus associated with pregnancy and oral contraceptives. *Int J Gynecol Pathol*. 1988; 7(3): 212-24.
15. Prayson RA, Goldblum JR, Hart WR. Epithelioid smooth-muscle tumors of the uterus. A clinicopathologic study of 18 patients. *Am J Surg Pathol*. 1997; 21(4): 383-91.
16. King ME, Dickersin GR, Scully RE. Myxoid leiomyosarcoma of the uterus. A report of six cases. *Am J Surg Pathol*. 1982; 6(7): 589-98.
17. Bardsley V, Cooper P, Peat DS. Massive lymphoid infiltration of uterine leiomyomas associated with GnRH agonist treatment. *Histopathology* 1998; 33(1): 80-82.
18. Belaisch-Allart J, Devaux A, Ayel JP, de Mouzon J. FIVNAT.: Women of 40 and older in i.v.f. and i.c.s.i.: the FIVNAT data. *Gynecol Obstet Fertil*. 2004; 32(9): 730-6.

19. Salman T, Davis C. Uterine fibroids, management and effect on fertility. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2010; 22(4): 295-303.
20. Khalaf Y, Ross C, El-Toukhy T, et al. The effect of small intramural uterine fibroids on the cumulative outcome of assisted conception. *Hum Reprod* 2006; 21(10):2640–44.
21. Bulletti C, De Ziegler D, Levi Setti P, et al. Myomas, pregnancy outcome and in vitro fertilization. *Ann N Y Acad Sci* 2004; 1034(1): 84–92.
22. Colgan TL, Pendergast S, Leblanc M. The histopathology of uterine leiomyomas following treatment with gonadatrophin releasing hormone analogues. *Hum Pathol* 1993; 24: 1073-77.
23. Crow J, Gardner RL, Mc Sweeney G, Shaw RW. Morphological changes in uterine leiomyomas treated by GnRH agonist Goserelin. *Int J Gynecol Pathol* 1995; 14(3): 235-42.
24. August C, Kepic T, Meier L, Valle J. Histologic findings in uterine leiomyomata of women treated with gonadotropin-releasing hormone agonists. *Am J Clin Pathol* 1992; 97: 448.
25. Collins RL, Biscotti CV, Sultana CJ. Histopathologic changes of uterine leiomyoma treated with leuprolide acetate. In: Lunenfeld B, ed. *GnRH Analogues and Cancer*. Park Ridge, NJ: Parthenon Publishing Group, 1990; 177-81.
26. Demopoulos RI, Jones KY, Mittal KR, Vamvakas EC. Histology of leiomyomata in patients treated with leuprolide acetate. *Int J Gynecol Pathol* 1997; 16(2): 131-137.
27. Gutmann JN, Thornton KL, Diamond MP, Carcangiu ML. Evaluation of leuprolide acetate treatment on histopathology of uterine myomata. *Fertil Steril* 1994; 61(4): 622-26.
28. Upadhyaya NB, Doody MC, Googe PB. Histopathological changes in leiomyomata treated with leuprolide acetate. *Fertil Steril* 1990; 54(5): 811-14.
29. Wiznitzer A, Marbach M, Hazum E et al. Gonadatrophin releasing hormone specific binding sites on uterine leiomyomata. *Biochem Biophys Res Commun*. 1988; 152: 1326-31.
30. Horák P, Mára M, Dundr P, Kubínová K, Kužel D, Hudeček R, Chmel R. Effect of a selective progesterone receptor modulator on induction of apoptosis in uterine fibroids in vivo. *Int J Endocrinol*. 2012; 2012: 1-6.
31. Tiltman AJ. The effect of progestins on the mitotic activity of uterine fibromyomas. *Int J Gynecol Pathol*. 1985; 4(2): 89-96.
32. Briscoe CC. Acute hemorrhagic degeneration of a leiomyoma following norethindrone acetate. *Obstet Gynecol* 1964; 23: 279-80.

FIGURES:

Figure 1. Consort diagram of study enrollment, allocation, follow-up, and analysis.

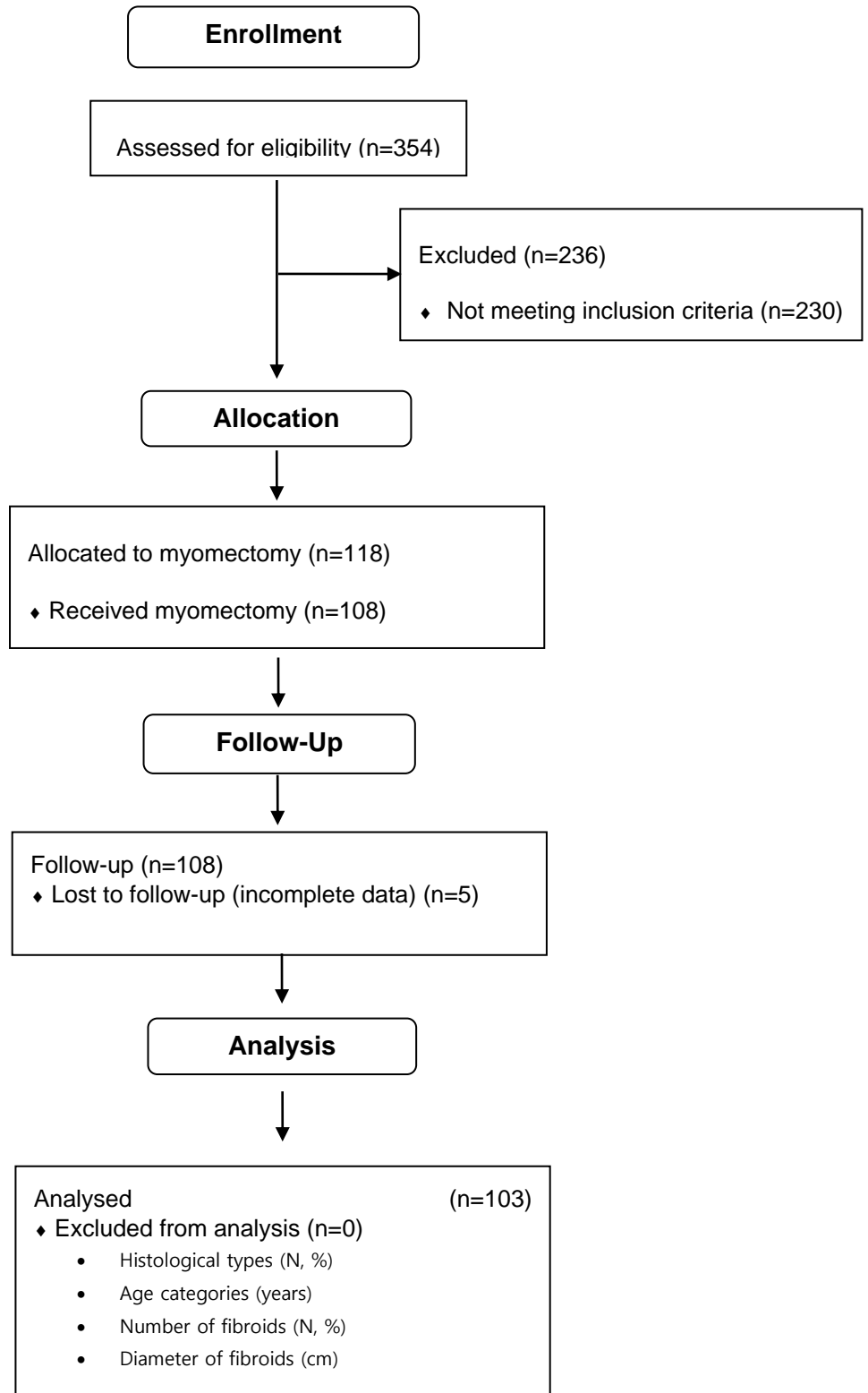


Table 1. Primary endpoints in study group.

Parameter description	(N)	%
Uterine fibroid histological type (WHO)	103	100.0
Normal	87	84.5
Mitotic	0	00.0
Cellular	3	2.9
Apoplectic	0	00.0
Epitheloid	4	3.9
Myxoid	1	0.9
Atypic	3	2.9
Lipoleiomyom	1	0.9
Others	4	3.9
Patients age	103	100.0
18-34 years age	52	50.5
35 to 40 years age	51	49.5
Uterine fibroids count	103	100.0
solitary fibroid	74	71.8
two and more fibroids	29	28.2
Uterine fibroid average diameter	103	100.0
diameter <5 cm	60	58.3
diameter ≥5 cm	43	41.7

Table 2. Histological type of uterine fibroids in study group according to patient age.

Histological type	age 18-34		age 35-40		P values*
	N	%	N	%	
Normal	41	78.9	46	90.2	0.173
Mitotic	0	0.0	0	0.0	-
Cellular	1	1.9	2	3.9	0.618
Apoplectic	0	0.0	0	0.0	-
Epitheloid	3	5.8	1	2.0	0.618
Myxoid	1	1.9	0	0.0	0.999
Atypic	2	3.8	1	2.0	0.999
Lipoleiomyom	1	1.9	0	0.0	0.999
Others	3	5.8	1	2.0	0.618
Total	52	100.0	51	100.0	

* Fisher exact test

Table 3. Histological type of uterine fibroids in study group according to fibroid number.

Histological type	solitary		multiple		P values*
	N	%	N	%	
Normal	64	86.5	23	79.3	0.377
Mitotic	0	0.0	0	0.0	-
Cellular	0	0.0	3	10.3	0.021
Apoplectic	0	0.0	0	0.0	-
Epitheloid	3	4.1	1	3.4	0.999
Myxoid	1	1.4	0	0.0	0.999
Atypic	2	2.7	1	3.4	0.999
Lipoleiomyom	1	1.4	0	0.0	0.999
Others	3	4.1	1	3.4	0.999
Total	74	100.0	29	100.0	

* Fisher exact test

Table 4. Histological type of uterine fibroids in study group according to fibroid size.

Histological type	<5 cm		≥5 cm		P values*
	N	%	N	%	
Normal	50	83.3	37	86.0	0.788
Mitotic	0	0.0	0	0.0	-
Cellular	3	5.0	0	0.0	0.263
Apoplectic	0	0.0	0	0.0	-
Epitheloid	4	6.7	0	0.0	0.138
Myxoid	0	0.0	1	2.3	0.417
Atypic	1	1.7	2	4.7	0.570
Lipoleiomyom	1	1.7	0	0.0	0.999
Others	1	1.7	3	7.0	0.306
Total	60	100.0	43	100.0	

* Fisher exact test

5.5. Literatura

1. Wilkinson N, Rollason TP. Recent advances in the pathology of smooth muscle tumours of the uterus. *Histopathology* 2001; 39(4): 331-341.
2. Hendrickson MR, TAVASSOLI et al. Mesenchymal tumours and related lesions. Pathology and genetics of tumours of the breast and female genital organs. In: World Health Organization classification of tumours, 5. 1st ed. IARC Press: Lyon 2003: 233-244. ISBN 9283224124.
3. Povýšil C, Šteiner I. *Obecná patologie*. Galén: Praha 2011. ISBN 978-807-2627-738.
4. Mára M, Holub Z. *Děložní myomy: moderní diagnostika a léčba*. Grada: Praha 2009. ISBN 978-802-4718-545.
5. Toledo G, Oliva E. Smooth Muscle Tumors of the Uterus: A Practical Approach. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine* 2008; 132: 595-605.
6. Tošner J, Kopecký P, Kacerovský M. Uterus Myomatosis: Uterine fibroid. *Gynekolog* 2010; 15(6): 207-213.

6. Diagnostika děložních myomů

Diagnostika děložní myomatózy vychází z pečlivě odebrané anamnézy, maximálně možné verifikace klinických symptomů a gynekologického vyšetření opřeného o vizualizaci v zrcadlech a o bimanuální palpaci dělohy. Dominantní postavení mezi neinvazivními zobrazovacími metodami má jednoznačně ultrasonografie. Zpravidla postačující je vaginální přístup, v případě bizardních nálezů na děloze je výhodné kombinovat ultrazvukové vyšetření vaginální i abdominální sondou. Lze tak poměrně přesně popsat počet myomů, jejich velikost a případné sekundární změny, stanovit přesnou lokalizaci myomu a jeho vztah k dutině děložní. K přesnějšímu určení vztahu myomu k děložní dutině, zejména u infertilních pacientek, slouží klasická rentgenová hysterosalpingografie (HSG) s využitím kontrastu nebo ultrazvuková hysterosalpingografie (sono HSG). Pomocí barevné dopplerometrie lze zobrazit stupeň vaskularizace myomu. V nejasných případech přinese potvrzení diagnózy až vizualizace nálezu v průběhu hysteroskopie nebo laparoskopie. Magnetická rezonance (MRI) a intervenční radiologie nepatří do diagnostických metod první volby, jejich pozice nabývá diferenciativně diagnostického významu u strukturálních změn myomů a suspektních nálezů. Definitivní biologickou povahu nádoru určí vyšetření histopatologem.

6.1. Anamnestická data

Přesto, že v současné době není etiologie vzniku myomů zcela exaktně objasněna, předpokládá se, že hormonální, genetické a růstové faktory ovlivňují biologickou povahu těchto nádorů. Tyto faktory ovlivňují geneticky predisponovaný materiál cestou indukce růstových faktorů a hormonů [1]. U žen s pozitivní *rodinnou anamnézou* je incidence myomatózy uteru až třikrát vyšší [2]. Klinický význam správně odebrané rodinné anamnézy je tak nezpochybnitelný. Údaje o absolvování hysterektomie pro myomatózu u matek respondovaných pacientek je vhodné upřesnit vzhledem k věku matek a jejich paritě. Podobná anamnestická data o sestřích v přímé pokrevní linii mají rovněž zásadní klinický význam. Prognosticky závažné je zjištění chirurgického výkonu pro myomatózu v rodinné anamnéze v mladších kategoriích reprodukčního věku a údaje o opakovaných těhotenských ztrátách v souvislosti s děložními myomy.

V *osobní anamnéze* mají význam údaje počátku *klinických symptomů*, jejich vztahu k věku pacientky, dynamika příznaků v časové ose a případně vazba na fázi menstruačního cyklu. Tato inklinuje k podezření na kombinaci endometriózy a myomatózy. Nezastupitelné jsou údaje o předchozích *graviditách* a eventuálně o sekvenci těhotenských ztrát, průběhu gravidit a o porodnických komplikacích. Cílené dotazy je vhodné směřovat na časový interval snahy o koncepci a případnou úspěšnost neasistovaného spontánního otěhotnění. Získaná data o předchozí léčbě dysfertility metodami asistované reprodukce je potřebné specifikovat na jednotlivé techniky, jejich pořadí a úspěšnost. V případě anamnézy těhotenských ztrát je nutné upřesnit, ve kterém trimestru gravidity k ztrátám došlo a zaměřit se na eventuální vývoj těchto v časové ose. Dotazy na průběh předchozích gravidit je vhodné zaměřit na výskyt předčasného porodu, atypického uložení plodu v děloze, na přítomnost placentární patologie ve smyslu abrupce. Dále pak na způsob vedení porodu s přihlédnutím na indikace k operačnímu ukončení gravidity. Důležitá jsou i data o patologických stavech souvisejících s III. dobou porodní jako jsou poruchy placentace a krvácivé stavy v důsledku hypotonie dělohy, případně výskyt postpartálních reziduí.

Anamnestické údaje o předchozí *intervenční operační léčbě* pacientky je třeba specifikovat na rozsah a typ výkonu. Klinický význam má i datace předchozí operace.

Povahu chirurgické léčby v osobní anamnéze je třeba specifikovat jednak z pohledu operačního přístupu (endoskopie, laparotomie, intervenční metody), jednak je třeba se zaměřit na topograficko-anatomickou situaci řešeného nálezu, včetně velikosti a počtu odstraněných tumorů a jejich histopatologického zpracování. Dále na chirurgickou techniku sutury stěny děložní po myomektomii i na použitý šicí materiál. Důležité jsou i údaje o aplikaci antiadhezivních prostředků a preparátů vedoucích k minimalizaci krevní ztráty během operace. Relevantní data o průběhu a rozsahu operačního výkonu lze získat exaktně pouze z předchozího operačního protokolu a ne vždy jsou tyto informace kompletně k dispozici.

Anamnestická data o předchozí *farmakoterapii* děložní myomatózy pacientky je třeba specifikovat na typ použitého preparátu, jeho dávku a délku terapeutického režimu. Klinický význam má i datace od ukončení uvedené farmakoterapie. Podstatné jsou dále údaje pacientky o compliance absolvované léčby a specifikace případných nežádoucích účinků použitých léčiv.

6.2. Objektivizace klinické symptomatologie

Mezi dominantní klinické symptomy myomatózy patří bolest a krvácivé projevy. Reprodukční dysfunkce reprezentuje neúspěšná snaha o dosažení přirozené koncepce. Maximální možná objektivizace těchto parametrů je klíčová pro volbu vhodného terapeutického postupu. Existuje řada postupů, které lze k jejich posouzení v klinické praxi využít. Jejich diagnostická validita se pak odvíjí od metodiky sběru dat.

6.2.1. Algické projevy myomatózy

V současnosti není v klinické praxi dostupná objektivní metoda s dostatečnou senzitivitou a specificitou, která by dokázala přesně stanovit míru bolesti. Proto se pro tento účel využívají standardizované skórovací systémy, za pomoci kterých pacientka vyjadřuje svůj subjektivní pocit o míře bolesti a ve zvoleném měřítku jej specifikuje. Používají se numerické nebo vizualizační skórovací systémy (Obr. 6-1).

Vizuální stupnice je například obličejová stupnice používající kreslené tváře v rozsahu od úsměvu pro stav bez bolesti až po plačtivý obličej pro vyjádření nejvyššího stupně bolesti. Vizuální analogová stupnice (VAS) značí spojnicí mezi dvěma stavy (žádná bolest – nejhorší bolest). Pacientka je požádána, aby určila místo stupnice, které nejlépe představuje stupeň pocíťované bolesti. Toto skóre se pak měří a zaznamená.

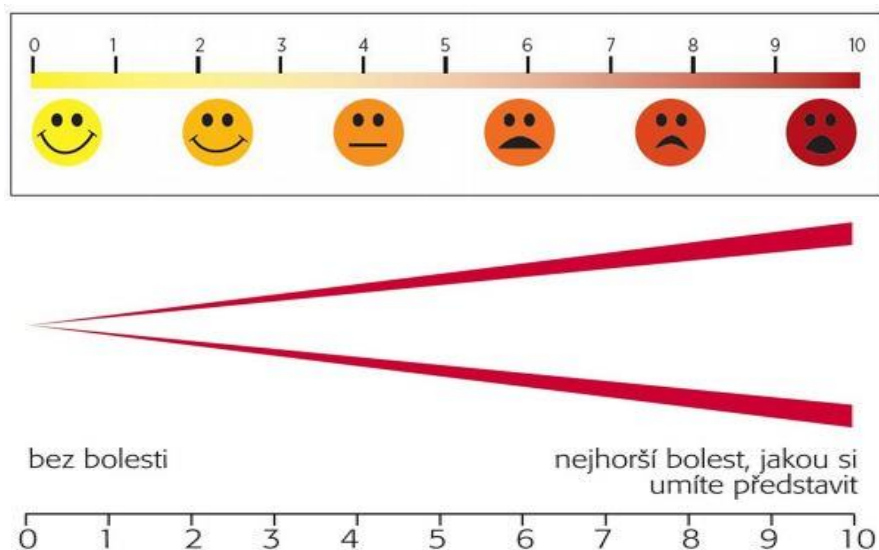
Numerická stupnice – numerická hodnotící stupnice (numerical rating scale – NRS) předvádí pacientovi řadu číslic (např. 0–10), které vyjadřují rozsah od žádné bolesti po největší možnou bolest. Pacient je požádán, aby zvolil číslici na stupnici, která na ní nejlépe popisuje vnímanou bolest.

Verbální stupnice (verbal rating scale – VRS) je na použití jedna z nejjednodušších metod. Zpravidla sestává z ne více než čtyř nebo pěti slov (bolest „žádná“, „mírná“, „střední“ a „silná“).

Deník bolesti představuje osobní, detailní přehled o prožívané bolesti při běžné denní činnosti. Deník může spojovat krátké slovní vyjádření a nástroj pro pacientovo vlastní posouzení s cílem hodnotit vnímanou bolest v určité denní dobu. Lze tak vytvořit obraz problematiky bolesti a pomoci vyhodnotit bolest při běžných úkonech.

Vizuální analogová škála bolesti (VAS) je charakterizována jako systém specifikující stupeň bolesti více či méně podrobně. Jednoduchá deskriptivní škála bolesti využívá stupnice 0–5 (bolest: 0 – žádná, 1 – mírná, 2 – střední, 3 – silná, 4 – velmi silná, 5 – nesnesitelná), podrobnější stupnice 0–20 (bolest: 0 – žádná, ..., 20 – nesnesitelná),

nebo detailní stupnice 0–100 (bolest: 0 – žádná, ..., 100 – nesnesitelná). Vizualizační skórovací systémy pomáhají pacientce vyjádřit míru bolesti pomocí obrázků. Do této skupiny metod patří škála obličejů pro měření bolesti podle Bavora nebo mapa bolesti dle topiky těla dle Margolese.



Obr. 6-1 Vizuální analogová škála bolesti (VAS)

Objektivizace míry bolesti je buď jednorázová, zpravidla v rámci pohovoru s pacientkou při zjišťování anamnestických dat a monitorování potíží v rámci screeningu onemocnění nebo longitudinální v časové ose. K dlouhodobému sledování algických projevů myomatózy se užívají elektronické diáře, které pacientky vyplňují po zvolené sledovací období. Tyto systémy v praxi slouží především k hodnocení stupně potíží před zahájením terapie a k vyhodnocení efektu léčby v dlouhodobých farmakologických režimech v rámci klinického hodnocení léčiv. Data evidovaná v elektronických diářích pacientkou jsou automaticky odesílána do centrálního úložiště dat a zde jsou vyhodnocena. Pro běžnou klinickou praxi lze ke stanovení stupně bolesti použít vizualizační pomůcky charakteru pravítek (Obr. 6-2).

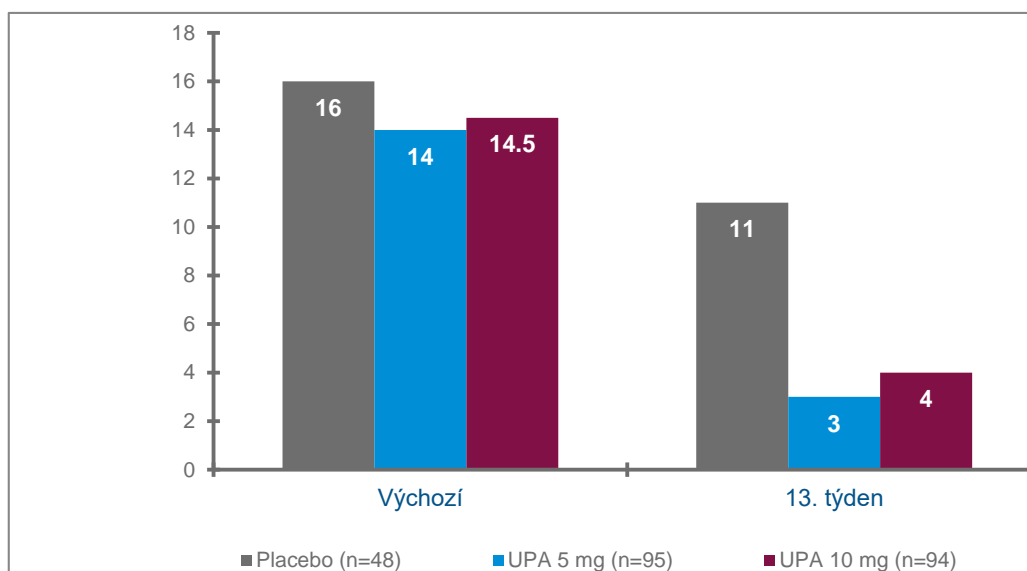


Obr. 6-2 Vizualizační pomůcky pro stanovení VAS

Míra bolesti související s děložní myomatózou však plně nevypovídá o celkovém dyskomfortu pacientky. K objektivizaci celkového stavu lze využít dotazníky kvality života. Mezi standardní systémy skórování kvality života patří dotazníky The World Health Organization Quality of Life (WHOQoL), dotazník kvality života (SQUALA), dotazník Health – Related Quality of Life (HRQoL), dotazník Quality – Adjusted Life Year (QALY), případně dotazník Subjective well – being (SWB).

Uterine Fibroid Symptom and Quality of Life questionnaire (UFS-QOL) slouží pro hodnocení míry dyskomfortu způsobeného děložními myomy. Otázky tohoto skórovacího systému jsou zaměřené na sedm symptomů (míra krvácení, tlak v břiše, frekvence mikce, denní aktivita, únava, nálada, sexuální aktivita). Symptomy jsou skórovány v rozmezí 0–4 v celkovém rozmezí škály 0–28, kde nižší číslo znamená lepší hodnotu (menší nepohodlí). Dotazník je zaměřen na hodnocení negativních symptomů a stavů spojených s přítomností myomů. Změny celkového skóre ve smyslu jeho redukce pak korespondují s dobrým efektem terapie myomů v čase (Obr. 6-3).

Efekt léčby na kvalitu života



* $p \leq 0,001$ změna od výchozí hodnoty, menší číslo znamená lepší hodnotu (menší nepohodlí)

Obr. 6-3 Uterine Fibroid Symptom and Quality of Life questionnaire (UFS-QOL) – Studie PEARL I

6.2.2. Krvácivé projevy myomatózy

Metody hodnocení míry krvácivých projevů spojených s myomatózou využívají standardizované skórovací systémy. Jedním z nejrozšířenějších systémů je *Pictorial bleeding assessment chart (PABC)*. Tato metoda slouží k objektivnímu stanovení stupně intenzity děložního krvácení. V průběhu menstruace je vizualizována krevní stopa na sanitárních pomůckách, samotnou pacientkou je hodnocení zaneseno do skórovací tabulky a je tak přiřazena hodnota intenzity krvácení (0, 1, 5, 10, 20). Výsledné skóre je součtem uvedených hodnot v průběhu celé menstruace. Tato metoda, vyvinuta Highamem a Janssenem, definuje excesivní děložní krvácení při hladině skóre PBAC > 100 (Obr. 6-4).

vlivem na reprodukční schopnost pacientky s myomatózou, ale i negativní vlivy skrytých systémových onemocnění. Morfologická diagnostika je zaměřena na anatomické parametry dělohy, dutiny děložní a vejcovodů ve vztahu k myomatóze. Diagnostika funkčních parametrů zahrnuje stanovení receptivity endometria, funkční cytologii, parametry folikulogeneze a dále výskyt systémových chorob s vlivem na reprodukci. V neposlední řadě funkční vyšetření doplňuje i diagnostika andrologického faktoru neplodnosti.

Diagnostika morfologických vztahů myomů a reprodukčních funkcí

Topograficko-anatomická lokalizace myomů hraje klíčovou roli ve vztahu k reprodukčním funkcím a má zásadní význam pro indikaci optimálního terapeutického postupu. Mezi nejvýznamnější faktory patří vztah myomu, či myomů k vejcovodům, hloubka invaze tumoru do děložní stěny a případná deformace dutiny děložní. Dále je třeba identifikovat celkovou velikost dělohy a její orientaci v malé pánvi. Důležité je rozlišení, zda se jedná o fyziologickou polohu v anteverzi a anteflexi, nebo jde o deviaci do ostatních směrů. Klinicky významné jsou pak změny pozice dělohy do retroverze až retroflexe, nebo deviace laterálním směrem od střední čáry v důsledku přítomné myomatózy. Vedle klinického bimanuálního vyšetření je zlatým standardem v diagnostice výše uvedených vztahů ultrasonografie. Diagnostický výstup upřesňuje použití dopplerometrie, kontrastních látek, případně 3D/4D zobrazení v rámci sonohysterosalpingografie. Endoskopické vyšetřovací metody, především hysteroskopie, demaskují vizualizací vliv submukózních a transmurálních myomů na formaci kavity děložní. Exaktní identifikace těchto kritérií v rámci diagnostiky umožňuje stanovit dostatečně účinný terapeutický postup. Především v přípravě na minimálně invazivní přístup ve smyslu laparoskopické nebo hysteroskopické myomektomie je identifikace topograficko-anatomické situace myomů podmínkou úspěšného výkonu.

Diagnostika funkčních vztahů myomů a reprodukce

Implantace embrya

Implantace embrya představuje velice komplexní mnohostupňový proces složitých interakcí mezi endometriem, trofoblastem a embryem, který vede k nidaci oplozeného oocyty v dutině děložní. Myom jako anatomická abnormalita vede k funkční poruše genitálního traktu a může být příčinou selhání implantace embrya a to především v důsledku porušení endometriální výstelky. V kombinaci s věkovým faktorem se tak výrazně podílí na negativních změnách v receptivitě děložní sliznice. Pokles receptivity endometria nad 40 let je charakterizován sníženou reaktivitou s nedostatečnou sekreční transformací sliznice. Za tento proces zodpovídá především celkový pokles estrogenových receptorů coby promotorů progesteronových receptorů. S děložním faktorem úzce souvisí pokles procenta implantace embrya (IR – Implantation rate) u pacientek starších 40 let. Kromě snížené receptivity endometria se uplatňuje i nižší vaskularizace děložní sliznice a anatomicko-mechanické vlivy myomatózy. Chronický zánětlivý proces pod obrazem endometritidy spolu s nižší kvalitou embryí rezultuje ve vyšší incidenci spontánních abortů u perimenopauzálních pacientek (41 až 62 %) [3]. V klinické diagnostice těchto poruch se opíráme o histopatologické stanovení kvality endometria v materiálech získaných pomocí mikroabraze dutiny děložní, brush abraze, nebo z materiálu získaného pomocí pipel. Onkologická cytologie a kolposkopie jsou nedílnou součástí vyšetření a umožňují eliminovat skupinu potencionálně onkologických nálezů. Kultivační vyšetření endocervikálního kanálu a poševního prostředí umožňuje

identifikovat původce zánětlivých onemocnění dolního genitálního traktu a po cílené specifické terapii tak eliminovat jejich vliv na reprodukční funkce.

Parametry folikulogeneze – ovariální faktor

Pacientky se sníženou ovariální funkcí představují epidemiologicky významnou skupinu žen. Vzhledem k rozsahu různých etiologických faktorů vedoucích ve svém důsledku k ovariální dysfunkci má zásadní význam pečlivá diferenciální diagnostika a stanovení kauzální příčiny snížené ovariální funkce. Nutný je vždy individuální přístup, s přihlédnutím na zásadní faktory ovlivňující výsledek terapie, jako je věk a koincidence dalších faktorů neplodnosti. Hlavním nálezem u žen se sníženou ovariální funkcí je hypergonadotropní hypogonadismus (nedostatek ovariálních steroidů), který se laboratorně projevuje jako vysoké hladiny folikulo stimulačního hormonu (FSH > 40 IU/l), vysoké hladiny luteinizačního hormonu (LH > 25 IU/l) a nízké hladiny 17-beta estradiolu (E2 < 0,1 nmol/l). Některé případy ovariálního selhání se projevují jako primární amenorea, jiné jako sekundární amenorea po předchozích pravidelných fertálních cyklech. Součástí projevů je rovněž anovulace a sterilita. Některé případy se prezentují typickými perimenopausálními projevy s oligomenoreou, návaly horka, depresiemi, nočním pocením, palpítacemi, poruchami spánku, suchostí sliznic, osteoporózou a zvýšeným rizikem kardiovaskulárních chorob při vyšších hladinách cholesterolu [4]. Samostatnou kapitolou je *okultní ovariální selhání*, které je charakterizováno anovulací a zvýšenými hladinami FSH při pravidelném menstruačním cyklu. Jedná se o časné stadium předčasného ovariálního selhání s nedostatečnou reakcí na stimulaci exogenními gonadotropiny. Predikce ovariálního selhání či diagnostika jeho časných stadií má zásadní význam pro fertilitu ženy, neboť umožní koncepci ještě před kompletním selháním folikulárního aparátu. Při plně rozvinutém onemocnění je šance na spontánní otěhotnění malá a možnosti stimulace ovarii omezené [5]. Do diagnostického algoritmu předčasného ovariálního selhání (POF) patří podrobná anamnéza, klinické vyšetření, hormonální screening, vyšetření karyotypu, vyšetření přítomnosti autoimunitních onemocnění a funkce ostatních endokrinních žláz, ultrazvukové vyšetření malé pánve a v indikovaných případech také biopsie ovarii.

Anamnestické údaje by se měly zaměřit na průběh menstruačního cyklu, klinické projevy vyhasínání ovariální funkce jako jsou návaly horka, noční pocení, poruchy spánku, palpítace, depresivní nálady, suchost sliznic. Důležité jsou informace o prodělaných autoimunitních onemocněních, předchozích chirurgických operacích v oblasti malé pánve nebo o absolvované chemoterapii či radioterapii.

Klinické gynekologické vyšetření většinou prokazuje normální gynekologický náález, mohou být přítomny známky hypoestrinismu.

Hormonální screening ukazuje laboratorní náález zvýšení hladin gonadotropinů (FSH > 40 IU/l, LH > 25 IU/l) a snížení hladiny estradiolu (E2 < 0,1 nmol/l). Indikací k vyšetření gonadotropinů a ovariálních steroidů je amenorea při dosud pravidelném cyklu, vegetativní příznaky hypoestrinismu, primární amenorea a post – pill či post – partum amenorea.

Anti-mülleriánský hormon (AMH) prezentuje perspektivní marker s vysokou prediktivní hodnotou kvantitativního aspektu ovariální rezervy či ovariální dysfunkce. Je produkován buňkami granulózy rostoucích folikulů a patří mezi růstové a diferenciační faktory (TGF β). Inhibuje rekrutování primordiálních folikulů a snižuje citlivost rostoucích folikulů k FSH [6]. Sérové hladiny AMH těsněji vypovídají o ovariální folikulární situaci než hladina Inhibinu B, Estradiolu, FSH a LH třetí den cyklu, přičemž

hladina AMH výrazněji koreluje s počtem folikulů než hladiny Inhibinu B, Estradiolu, FSH a LH [7].

Stanovení karyotypu je doporučeno zejména u žen mladších 30 let z důvodu vyšší incidence gonadálních tumorů u karyotypu 46 XY, kdy je indikována gonadektomie. Genetické vyšetření je také na místě u žen s rodinnou anamnézou předčasného ovariálního selhání a u žen s poruchou plodnosti.

Vyšetření *autoimunitních onemocnění* je indikováno u poruch štítné žlázy, Addisonovy choroby, u diabetu, revmatoidní artritidy, systémového lupus erytematoses. Screening antiovariálních protilátek má omezený klinický a prognostický význam.

Ultrazvukové vyšetření a biopsie ovarií má pro stanovení diagnózy předčasného ovariálního selhání relativní význam. Až u 60 % žen lze při vaginální ultrasonografii prokázat folikulární aktivitu. Tento nález však u pacientek s laboratorně prokázaným POF nezvyšuje pravděpodobnost spontánního otěhotnění ani úspěšnost ovariální stimulace. Až u 20 % žen s POF lze i při biopsii ovarií histologicky prokázat přítomnost folikulů, tento nález však rovněž nemá vztah k prognóze onemocnění [8, 9].

Měření počtu antrálních folikulů (AFC), tedy folikulů mezi 2–5 mm, pomocí ultrazvuku je možno úspěšně použít pro hodnocení ovariální rezervy. Ve studiích byla porovnávána prediktivní hodnota AFC a BOV (basálního ovariálního objemu) pro citlivost respondentek v programech in vitro fertilizace (Tab. 6.1). AFC jako test ovariální rezervy je statisticky signifikantně lepší nebo minimálně stejně přínosný pro predikci citlivosti respondentů než komplexní, časově a finančně náročné endokrinologické testy. Diferenciálně diagnosticky je nutno od hypergonadotropního hypogonadismu při POF odlišit hyperprolaktinemickou anovulaci, hypogonadotropní a normogonadotropní anovulaci při syndromu polycystických ovarií.

Incidence a klinický význam snížené ovariální funkce v programu asistované reprodukce se zvyšuje. Výzkum přinesl nové poznatky o etiologii a patogenezi tohoto onemocnění. Mezi postupy s nejvyšší efektivitou léčby neplodnosti při snížené ovariální rezervě patří program darovaných oocytů. Estrogen-deficitní stavy s klinickými projevy vegetativního či metabolického syndromu vyžadují standardní hormonálně substituční terapii.

Počet antrálních folikulů (AFC)	Očekávaná odpověď na injikované stimulační preparáty a pravděpodobnost úspěšných IVF cyklů
Méně než 4	Extrémně nízký počet folikulů, velmi slabá (nebo žádná) odpověď na stimulaci, je nutno očekávat neúspěšné IVF cykly. Zvážit vyřazení z programu IVF. Velmi nízký počet těhotných, pokud pacientky zařazeny do programu.
4–7	Nízký počet folikulů, velmi pravděpodobně slabá odpověď na stimulaci. Pravděpodobně bude potřeba užít vyšší dávky FSH k adekvátní stimulaci ovarií. Výrazně nadprůměrný počet neúspěšných IVF cyklů. Podprůměrné počty těhotenství. Ještě nižší pravděpodobnost otěhotnění po 35. roce života.
8–10	Redukovaný počet folikulů. Nadprůměrný podíl neúspěšných IVF cyklů. V této skupině jsou mírně snížené šance na otěhotnění.
11–14	Normální až mírně snížený počet folikulů, odpověď na stimulaci v některých případech nízká, ale obvykle adekvátní. Mírně zvýšené riziko neúspěšných IVF cyklů. Počty těhotných v této skupině nižší oproti ideální skupině.

15–30	Normální počet folikulů. Zpravidla výborná odpověď na ovariální stimulaci. Zpravidla dobrá odpověď na malé dávky FSH. Velmi malá pravděpodobnost neúspěšných IVF cyklů. Mírné riziko ovariální hyperstimulace. Nejlepší výsledky co se týká počtů těhotných v IVF cyklech.
Více než 30	Vysoký počet folikulů, třeba vyloučit syndrom polycystických ovarií. Tendence k vysoké citlivosti na nízké dávky FSH. Vyšší průměrné riziko hyperstimulace. Velmi dobré počty těhotenství po IVF cyklech, ovšem některé pacientky mohou mít sníženou kvalitu ovocytů a nižší šance na otěhotnění.

Tab 6-1 AFC a predikce odpovědi ovarií na gonadotropní stimulaci

Demografická a epidemiologická data z České republiky naznačují, že problematika ovariální folikulogeneze bude v budoucnosti nabývat stále většího významu. Vzhledem k pestrosti etiologických faktorů alterujících ovariální funkci má zásadní význam pečlivá diferenciální diagnostika. Stanovení kauzální příčiny snížené ovariální funkce přispívá k zvýšení efektivity terapeutických možností. Zásadní význam má individuální přístup ke každé pacientce. Terapii výrazně modifikují přidružené stavy, jako je věk pacientky přítomnost myomů či koexistence dalších faktorů neplodnosti u léčeného páru. Přesto, že léčba žen se sníženou ovariální rezervou je zatížena nižší efektivitou a klade vysoké nároky na diagnosticko-terapeutický management, současné možnosti asistované reprodukce nabízí i této skupině žen šanci na realizaci reprodukčních funkcí.

Diferenciální diagnostika infertility v souvislosti s myomatózou

Infertilita a habituální potrácení představují širokou nosologickou jednotku. V rámci diferenciální diagnostiky těhotenských ztrát souvisejících s přítomností děložních myomů je třeba odlišit celou škálu systémových onemocnění a etiologických faktorů neanatomického původu. Opakované (habituální) potrácení je charakterizováno třemi a více následnými samovolnými ztrátami plodu. Postihuje asi 1 % žen v reprodukčním věku [10]. Může se jednat o habituální potrácení primární (všechna těhotenství byla neúspěšná), nebo sekundární (mezi neúspěšnými graviditami proběhnou i těhotenství úspěšně zakončená porodem) [11, 12]. Potratem končí asi 15–38 % těhotenství [10]. Ve skutečnosti bude toto číslo mnohem vyšší, protože více než 40 % koncepcí končí ještě v době před jejich diagnostikovaním [13]. Frekvence samovolných potratů stoupá s věkem matky – plodnost ženy starší než 35 let je 3 krát nižší než u ženy mladší než 25 let [14]. První samovolný potrat je až v 90 % důsledkem chromozomální aneuploidie, většinou vzniklé de novo, přičemž riziko opakování stejné změny je minimální [12, 15]. Mezi příčiny habituálního potrácení patří poruchy anatomické, genetické odchylky, hematologická onemocnění, endokrinologické, infekční a imunologické choroby a v neposlední řadě vlivy environmentální, psychologické a idiopatické.

Anatomické příčiny opakovaných fetálních ztrát

Anatomické poruchy je nutné diagnostikovat a léčit prekoncepčně. Diagnostika vrozených vývojových vad a myomatózy se opírá hlavně o ultrasonografii, hysterosalpingografii, laparoskopii a hysteroskopii [16]. Podezření na intrauterinní synechie vysloví hysterosalpingografie, jejich přítomnost potvrdí hysteroskopie s následným rozrušením adhezí. Inkompetence hrdla děložního je stanovena na podkladě ultrazvukového a klinického posouzení délky děložního cervixu. Indikací k provedení

cerclage je nepříznivá cervikometrie kombinovaná s nepříznivou porodnickou anamnézou [16, 17].

Genetické příčiny opakovaných fetálních ztrát

Frekvence genetických abnormalit u spontánních abortů se udává od 40 do 50 %, vyskytují se většinou u potratů v časných fázích těhotenství (74 % aberací u abortů v 9. týdnu gravidity, 33 % aberací v 19.–30. týdnu gravidity) [12]. Jeden abort s nálezem aneuploidie nezvyšuje riziko aneuploidie v dalším těhotenství. Není-li aberace u rodičů, je riziko rekurence nízké. Důležité je odhalit zdravé nosiče balancovaných chromozomálních aberací, kdy jsou rizika opakování vzniku nebalancovaného karyotypu u potomků zvýšená [12]. *Prekoncepční vyšetření* párů zahrnuje genetickou konzultaci, generační rodokmen, pracovní a osobní anamnézu, dále probíhá cytogenetické vyšetření partnerů (karyotypizace) s cílem odhalit populaci s vysokým rizikem nebalancované chromozomové translokace u potomků, vyhledávání monogenně podmíněných onemocnění. Při podezření na získané aberace vyšetření periferních lymfocytů [12, 18]. Kontrolní hladina buněk s chromozomovými aberacemi v periferních lymfocytech je u člověka asi 1–2 %, za pozitivní označujeme nález 5 a více procent aberantních buněk [12]. Důležité je i cytogenetické a patomorfologické vyšetření potraceného plodu. *Preimplantační diagnostika* může probíhat prekoncepčně (vyšetření oocytů, spermatozoí) nebo postkoncepčně a to prostřednictvím vyšetření buněk embrya v době jeho rýhování [19, 20]. Metody FISH a PCR se využívají ke genetické analýze fetálních buněk z mateřské krve (fetální lymfocyty, buňky trofoblastu a fetální erytrocyty) [19]. U těhotných dále provádíme standardní vyšetření v rámci prenatalní diagnostiky (kombinovaný nebo integrovaný screening, či metody invazivní prenatalní diagnostiky) [21, 22].

Hematologické příčiny opakovaných fetálních ztrát

Zvýšené riziko předčasného ukončení gravidity představují stavy spojené se zvýšeným krvácením (vzácné) a stavy trombofilní, kdy se v patogenezi abortu uplatňuje trombotická okluze cév placenty [12]. Trombofilie mohou být vrozené, či získané. Základem diagnostiky je anamnéza (osobní, rodinná, gynekologická), hematologické vyšetření (základní laboratorní vyšetření: KO, APTT, PT, fibrinogen, protein C, protein S, lupus anticoagulans, ACLA (antikardiolipinové protilátky), protilátky proti beta2glykoproteinu, FVIII, FXII, hladina homocysteinu), genetické vyšetření ke zjištění hereditární trombofilie. Plošný screening hereditárních trombofilií se neprovádí, není efektivní [23]. Vyšetřeny by měly být u žen s anamnézou preeklampsie, HELLP syndromu, abruptce placenty, těžké formy intrauterinní růstové retardace plodu, intrauterinního úmrtí plodu, rekurentních abortů [23]. V průběhu těhotenství je nutné sledování ve specializované ambulanci pro riziková těhotenství ve spolupráci s hematologem.

Endokrinní příčiny opakovaných těhotenských ztrát

Endokrinopatie je častou a závažnou příčinou infertility. Jedná se o primárně gynekologické endokrinopatie (z hypofunkce ovarií) nebo endokrinopatie negynekologického původu. Mezi nemoci, které mají jednoznačný vliv na fertilitu, patří tyreotoxikóza, hypothyreóza, diabetes mellitus, hyperprolaktinémie. Porucha poměru FSH/LH a hyperandrogenizmus při syndromu polycystických ovarií jsou také považovány za faktory související se zvýšeným rizikem opakovaných reprodukčních ztrát. Počet potratů v I. trimestru u žen se syndromem polycystických ovarií (PCOS) je o 30 – 50 % vyšší než u zdravých žen [24]. Diagnostika diabetes mellitus v těhotenství se

opírá o vyšetření hladin glukózy v krvi případně moči pacientky a o výsledek orálního glukózového testu (oGTT). Prekoncepčně zjišťujeme aktuální metabolickou kompenzaci – kontrola glykemických profilů a vyšetření glykovaného hemoglobinu (HbA_{1c}). U žen se závažnými orgánovými komplikacemi by gravidita neměla být doporučena [22]. Na luteální insuficienci usuzujeme při prekoncepčním stanovení velmi krátké sekreční fáze podle bazálních teplot, opakovaným zjištěním těžké retardace sekreční transformace endometria z mikroabraze a významným snížením sérového progesteronu v sekreční fázi [11]. Při diagnostice poruch činnosti štítné žlázy stanovujeme hladiny hormonů T3, T4, TSH, dále hladinu tyreoidálních protilátek. Při diagnostikování dalších endokrinopatií stanovujeme hladiny příslušných hormonů ve spolupráci s endokrinologem [11].

Infekční příčiny opakovaných fetálních ztrát

Vliv infekce reprodukčních orgánů na potrat plodového vejce je stále předmětem diskuse. Příčinný vztah mezi nahodilým samovolným potratem a akutně probíhající infekcí, jejímž původcem je např. *Mycoplasma sp.*, *Ureoplasma ureolyticum*, *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoea*, *Treponema pallidum*, *Herpes simplex*, *Cytomegalovirus*, antropozoonózy a další, je všeobecně uznáván. Pokud však jde o chronické, latentní stavy onemocnění (např. latentní toxoplazmózu), nejsou dostatečně přesvědčivé výsledky, které by potvrdzovaly tento příčinný vztah. U opakovaně potrácejících žen se doporučuje provedení kultivace sekretu z cervixu či kultivaci z dutiny děložní nebo provedení sérreakce (podle agens) [11].

Diagnostika neplodnosti u muže – andrologický faktor

Vyšetření parametrů plodnosti muže je součástí diagnostiky poruch neplodnosti páru. Spermie má významný podíl na správném oplození oocyty a jeho dalším vývoji. Přináší polovinu vloh, které vytváří genom nového jedince. Úloha spermie byla mnoho let zjednodušována na pouhý transport DNA do oocyty. Bylo však spolehlivě prokázáno, že se významně podílí na abnormálním vývoji embrya a selhání implantace [25].

Tato diagnostika zahrnuje vyšetření spermioqramu, kultivace spermatu, další podrobná vyšetření hodnotící integritu chromatinu spermií a parametry seminální plasmy. V diagnostickém komplexu by nemělo chybět vyšetření genetické a konzultace urologa.

Konvenční analýza spermatu, stanovení spermioqramu, zůstává zlatým standardem při zahájení vyšetření mužské infertility. Standardizaci metodiky a výsledků definuje „WHO laboratory manual for the Examination and processing of human semen“ [26]. Spermioqram definuje objem ejakulátu, pH, barvu, viskozitu, koncentraci spermií (mil/ml), motilitu, charakter pohybu spermií (progresivní, neprogresivní, imobilní) (Tab 6-2). Dále hodnotí morfologii spermií zahrnující patologii hlavičky, krčku, bičíku a další parametry. Vyšetření se provádí v Maklerově komůrce (Obr. 6-5). Koncentrace spermií je stanovena hemocytometricky, motilita spermií nápočtovou metodou vyjádřená procentuálním podílem pohyblivých spermií, podíl živých spermií, resp. úroveň membránové integrity, na základě supravitálního barvení eozin-nigrosin, rychlost pohybu spermií je stanovena testem propulzivity [27]. Ke stanovení pH ejakulátu se používá pH-metr CPH 51. Morfologické studie spermií jsou prováděny na základě multiparametrického hodnocení morfologických změn na spermiích. K vyhodnocení analýz lze využít počítačový program SASMO [28]. Novější diagnostické metody rozšiřují analýzu o sledování integrity akrosomu vyhodnocením vazebné aktivity aglutininu *Pisum sativum* (FITC – PSA v koncentraci 0,01 % ve fyziologickém roztoku pufrovaném na pH 7,2) na interní plochu vnějšího listu akrosomové membrány [29]. Pro stanovení funkční rezistence spermií v ejakulátu lze využít krátkodobý test přežití,

spočívající v opakovaném provedení spermatoanalýzy za 120 minut. Mezi sledovaná kritéria patří stanovení motility spermií, rychlosti pohybu spermií a podílu živých spermií. Analýza spermatu má však limitovanou výpověď o šanci páru na těhotenství. Existuje řada přístupů k hodnocení ejakulátu, avšak žádný z nich neodhalí přesně míru plodnosti.

Parametr	Edice 4	Edice 5
	1999	2010
Objem ejakulátu (ml)	2	1,5
Celkový počet spermií (x 10 ⁶ /ejakulát)	40	39
Koncentrace spermií (x 10 ⁶ /ml)	20	15
Celková pohyblivost (%)	50	40
Progresivní pohyblivost (%)	25	32
Morfologicky normálních (%)	30	4

Tab 6-2 Hodnoty základních parametrů při hodnocení spermiogramu dle WHO



Obr. 6-5 Maklerova komůrka k hodnocení spermiogramu

Morfologie a motilita spermií neidentifikuje ovšem další charakteristiky, jako jsou chromozomální aberace, defekty chromatinu a DNA. Je nutné využít další technické možnosti k vyšetření kvality spermií v embryologické laboratoři [30].

Intracytoplasmic Morphologically Selected Sperm Injection (IMSI). Výběr kvalitnější spermie lze zvýšit mikroskopickou technikou intracytoplazmatické injekce spermie selektované morfologicky.

Hodnocení integrity chromatinu spermií. Zdá se, že vyšetřování poškození DNA spermií se dá považovat za nový důvěryhodný biomarker mužské infertility. Poškozená DNA spermie může být inkorporována do embryonálního genomu a vést tak k chybám v DNA replikaci, transkripci a translaci v průběhu embryogeneze a může tím přispět k onemocněním v příštích generacích [31]. Existuje celá řada metod, které umožňují kvantifikovat poškození chromatinu. Testy ke zjišťování poruch chromatinu jsou například kometový test – COMET assay, Sperm Chromatin Structure Assay (SCSA), Terminal transferase dUTP Nick End Labeling assay (TUNEL) nebo Sperm Chromatin Dispersion test (SCD test) či Halo test. Metodou FISH lze vyšetřit u spermií rovněž strukturální chromozomální abnormality. Stupeň poškození DNA lze kvantifikovat pomocí DNA fragmentačního indexu (DFI) [32]. Limitací těchto testů je, že testované spermie nejsou vhodné ke klinickému použití. Ve snaze obejít tento problém jsou vyvíjeny další testy, které by pomohly embryologům vybrat vhodnou spermii s malým poškozením DNA pro techniky asistované reprodukce.

Proteom seminální plazmy

Patologie spermatu jsou spojeny s rozdílnou expresí proteinů přítomných v seminální plazmě. Technologie dvourozměrné gelové elektroforézy kombinovaná s identifikačními možnostmi spektrometrie byla úspěšně aplikována na komplexní proteom spermatu [33].

Při ověřování kvality ejakulátu z hlediska hodnocení fertility párů je jako vhodný termín pro odběr semene zvolena pravidelná frekvence styků a teprve v případě stanovené parvosemie je indikováno další vyšetření semene po 3 až 5 denní pohlavní abstinenci.

V ejakulátu lze provést průkaz infekce chlamydiemi, mykoplazmaty a ureaplazmaty. Chlamydie jsou diagnostikovány přímým průkazem pomocí imunofluoresce (Progen Biotechnik GmbH diagnostic set). Kontaminace mykoplazmaty a ureaplazmaty se prokazuje kultivačně [34].

6.3. Klinické vyšetření myomatózy

Klinické vyšetření pacientky pomocí vaginálních zrcadel a bimanuální palpační gynekologické vyšetření má i v éře sofistikovaných zobrazovacích metod svou nezastupitelnou roli. Mobilita nálezu či jeho fixace k okolním pánevním strukturám, konzistence dělohy a myomů, případná algická reakce pacientky na palpaci jsou atributy, které nelze specifikovat pomocí standardních zobrazovacích metod.

Při *vaginálním vyšetření v zrcadlech* lze vizualizovat myom lokalizovaný intracervikálně, nascentní myomy, nebo útvary na povrchu exocervixu. V případě nejasného nálezu a v rámci diferenciální diagnostiky cervikální ovulózy, endometriózy čípku nebo onkologických nálezů lze využít kolposkopické vyšetření prosté nebo expertní. Diagnózu upřesní onkologická cytologie a případná cílená biopsie tkáně. Při vaginálním vyšetření v zrcadlech jsou dobře patrné i změny struktury, velikosti a orientace čípku děložního a cervikálního kanálu. Rozsah makroskopického nálezu se pohybuje od čípku vyhlazeného v klenbách poševních, přes jeho stranové deviace a obtížnou přístupnost cervikálního kanálu v důsledku útlaku myomy až po soudkovitý vzhled děložního čípku spotřebovaného intramurální myomatózou. Nascentní myomy

bývají viditelné v cervikálním kanále a případně prominují dilatovaným hrdlem do pochvy, kterou vyplňují zpravidla v proximální části. Tento nález může činit diagnostické rozpaky, pokud je provázen silným krvácením z dělohy. Histologická verifikace pomocí biopsie je před eventuelním operačním řešením vhodná.

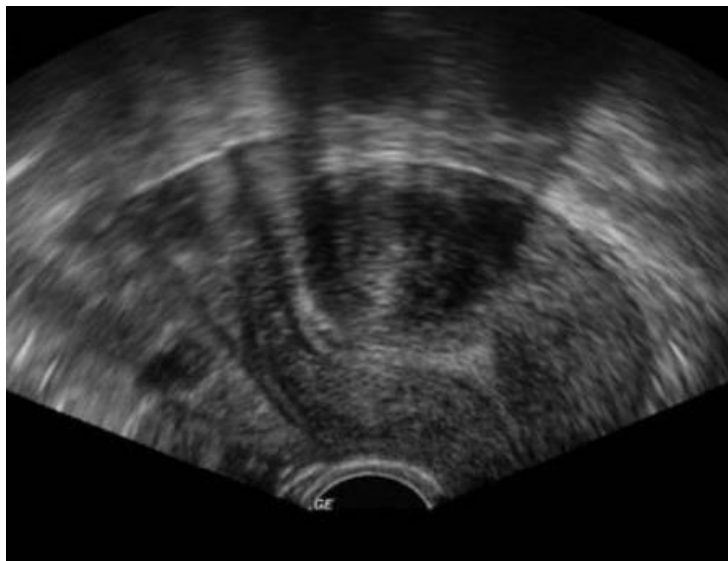
V rámci *bimanuálního palpačního vyšetření* je klíčová definice vztahu děložního nálezu k okolním strukturám, mobilita dělohy, konzistence nálezu a algické projevy pacientky při vyšetření. Tyto aspekty nejlépe zohlední digitální pohyby čípkem ve směru ventrodorsálním a laterálním. Posouzení vztahu nálezu na děloze především ke cavum Douglasi, velkým cévám, močovému měchýři a zadním vazům je standardem. Přístupnost nálezu a mobilita pak určuje optimální terapeutický postup. Posouzení těchto parametrů je klíčové především před plánovaným endoskopickým operačním řešením ve smyslu laparoskopické myomektomie. Imobilní a bizarní nálezy, přesahující svou expanzí hranici malé pánve rezultují zpravidla v laparotomické řešení situace.

6.4. Neinvazivní zobrazovací metody v diagnostice myomatózy

Zobrazovací metody použitelné v diagnostice děložní myomatózy lze rozdělit na metody neinvazivní, semiinvazivní a invazivní. Mezi neinvazivními metodami dominuje ultrasonografie. Zahrnuje vaginální a abdominální zobrazení, použití kontrastů při sonohysterosalpingografii (sono HSG), dále metody využívající 3D/4D zobrazení a dopplerometrii. Do této skupiny diagnostických metod se řadí i nukleární magnetická rezonance. K metodám semiinvazivním patří metody radiologické a některé metody endoskopické. Především pak rentgenová hysterosalpingografie, intravenosní vylučovací urografie, cystoskopie a rektoskopie. Zlatým standardem mezi invazivními metodami je hysteroskopie a laparoskopie. Neinvazivní metody v diagnostice myomů v klinické praxi jednoznačně dominují a invazivní postupy tak posouvají do roviny terapeutických prostředků.

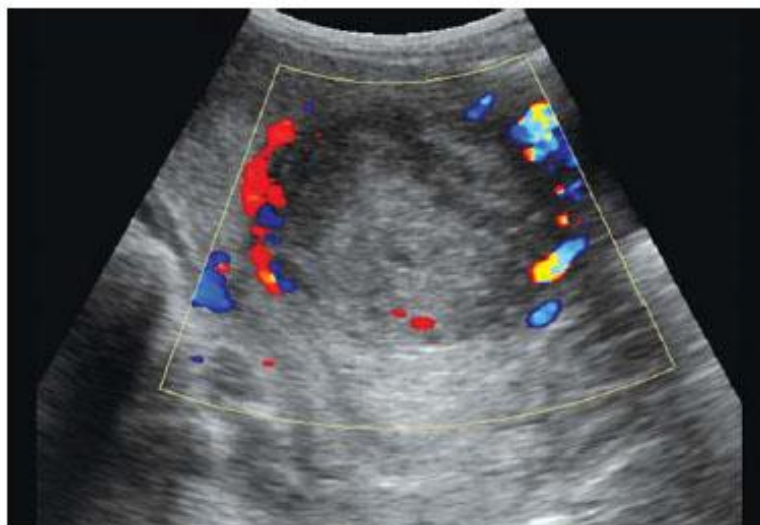
Ultrasonografické vyšetření myomatózy

Vzhledem k technickému pokroku a zobrazovacím možnostem současných ultrazvukových přístrojů představuje ultrasonografie zlatý standard v diagnostice děložní myomatózy. Dominantním vyšetřením je *transvaginální ultrasonografie*, která je v naprosté většině případů dostatečnou metodou posuzující topograficko-anatomickou klasifikaci myomů (Obr. 6-6). V případě excesivních nálezů, přesahujících hranici malé pánve, je vhodné toto zobrazení kombinovat s *transabdominální ultrasonografií*. Zde je nutné i posouzení potenciálního útlaku myomatózy na okolní anatomické struktury, a to především na vývodné cesty močové a rektum. *Sonografické zobrazení ledvinných pánviček* a proximálních částí ureterů pomocí abdominální sondy může detekovat dilataci vývodných cest močových a odhalit tak negativní vliv myomatózy na morfológickou a funkční schopnost renálního parenchymu.



Obr. 6-6 Nativní transvaginální ultrasonografie – imprese dutiny děložní myomem

Dopplerovské vyšetření cévního zásobení myomů podává cenné informace o stavu vaskularizace tkáně (Obr. 6-7). Znalost těchto parametrů je důležitá hlavně před chirurgickým řešením myomatózy. Změny perfuze myomů napomáhají i v rámci follow-up farmakologické léčby a v hodnocení efektu intervenčních radiologických metod.

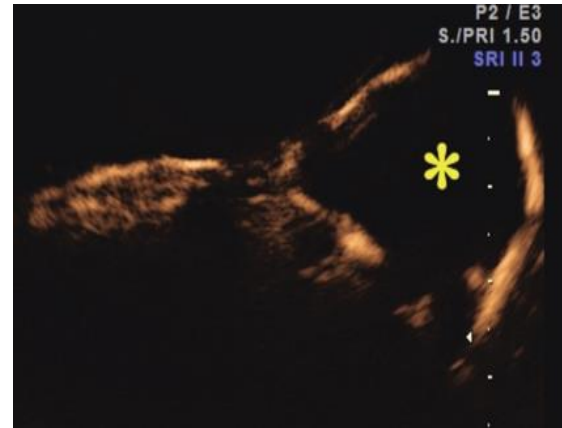


Obr. 6-7 Dopplerovské zobrazení cévního zásobení pouzdra myomu

Trojdimenzionální (3D) a čtyřdimenzionální sonografické zobrazení (4D) myomů nepatří do rutinní praxe. Ve většině případů je plně dostačující 2D ultrazvuk. Vícerozměrné zobrazení přináší diagnostickou výhodu při definici topograficko-anatomického vztahu myomu k dutině děložní a tubárním ústím (Obr. 6-8). Výsledky jsou stejně spolehlivé jako invazivnější hysteroskopie [35].



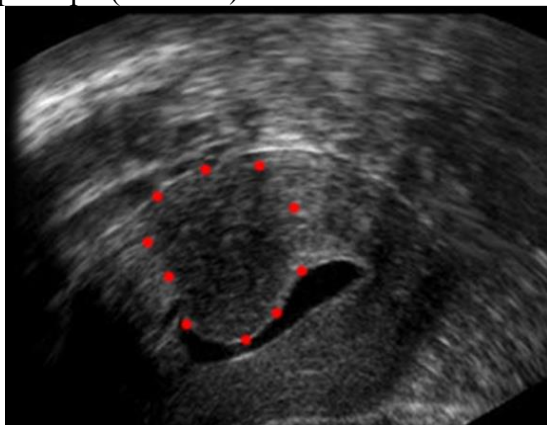
Trojdimenzionální zobrazení



Čtyřdimenzionální zobrazení

Obr. 6-8 3D a 4D ultrasonografie

Sonohysterosalpingografie (sono HSG) je neinvazivní metoda, která našla plošné uplatnění v ambulantní diagnostice vlivu myomů na dutinu děložní a funkci vejcovodů. Použití negativního či pozitivního kontrastu, v závislosti na distenčním médiu, podává vysoce senzitivní data určující terapeutické možnosti především hysteroskopického operačního přístupu (Obr. 6-9).



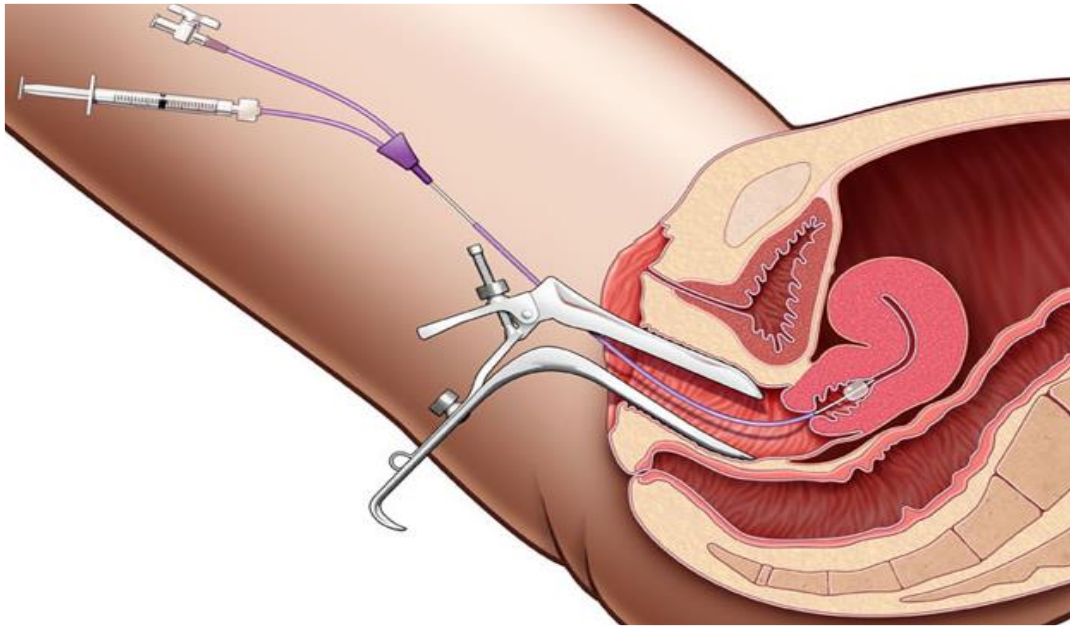
Negativní kontrast



Pozitivní kontrast

Obr. 6-9 Negativní a pozitivní kontrast distenčního roztoku při sonohysterosalpingografii

Sono HSG je metoda technicky nenáročná s vysokou výpovědní hodnotou (Obr. 6-10). Datae vyšetření je optimální v časné proliferační fázi menstruačního cyklu, kdy je sliznice děložní fyziologicky nejnižší. V tomto terénu se nejlépe demaskují morfologické patologie. Před vlastním vyšetřením je ale potřebné vždy vyloučit graviditu minimálně pomocí stanovení hCG v moči.



Obr. 6-10 Aplikační souprava pro sonohysterosalpingografii

Výše uvedené sonografické metody lze využít ve vzájemné kombinaci a zpřesnit tak výpovědní hodnotu vyšetření. Ultrazvuková diagnostika zahrnuje standardní popis jednotlivých hodnocených parametrů děložních myomů, které jsou nedílnou součástí zdravotní dokumentace:

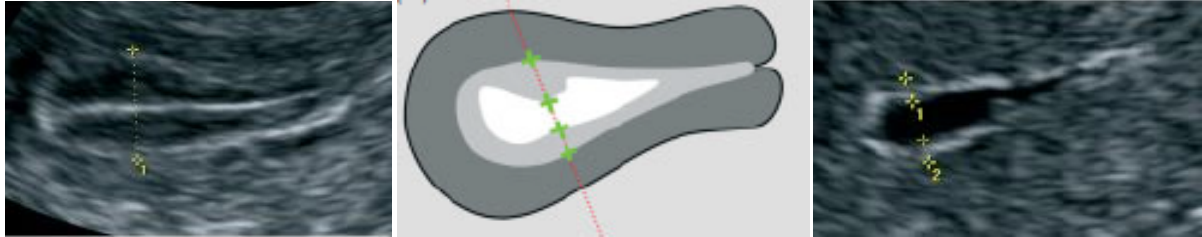
Velikost dělohy je definována ve třech rovinách a sleduje se její délka (vzdálenost exocervix – fundus), hloubka (předozadní průměr těla děložního) a šířka (příčný průměr těla dělohy v rovině odstupu tub), údaje se uvádějí v milimetrech (Obr. 6-11). Z daných rozměrů lze definovat děložní objem. Data je vhodné evidovat ve formě digitalizovaných sonografických snímků nebo formou metrických dat.



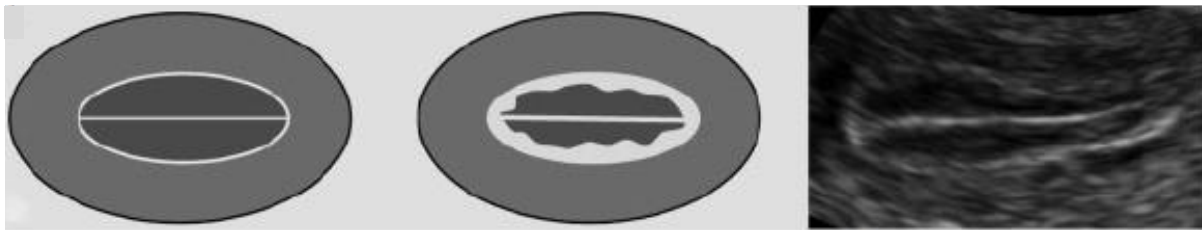
Obr. 6-11 Měření dělohy ve třech na sebe kolmých rovinách

Součástí popisu *endometria* je měření jeho maximální šířky v milimetrech v oblasti děložního těla na sagitálním řezu a popis morfologického vzhledu (Obr. 6-12). Důležité jsou informace o fázi menstruačního cyklu, ve které je vyšetření provedeno. Bezprostředně po menstruaci je endometrium nejnižší, v ultrazvukovém obraze se jeví jako hyperechogenní lem kavity do výše 1–2 mm. V proliferační fázi cyklu endometrium roste až do výše 8–9 mm a jeho echogenita se mění na hypoechogenní až anisoechogenní obraz. V sekreční fázi je fyziologicky přítomen obraz „triple line“ (Obr. 6-13). Hyperecho dvou bazálních vrstev endometria koresponduje s pars functionalis a nad hypoechogenní vrstvou děložní sliznice je

detekována třetí – hyperechogenní vrstva. Výška endometria v druhé polovině menstruačního cyklu fyziologicky dosahuje 10–12 mm. Sonografické znaky endometria mohou být modifikovány paralelně probíhající farmakologickou léčbou. Hyperplastický obraz endometria o šíři nad 12 mm je popisován při aplikaci ulipristal acetátu, naopak užití GnRH analog vede k depleci růstu sliznice pod 3mm [36].



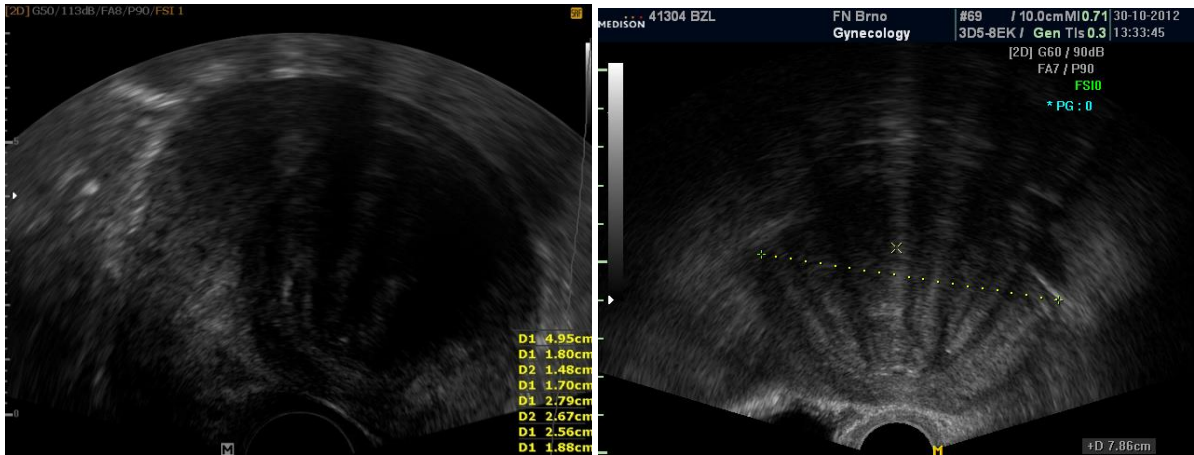
Obr. 6-12 Ultrasonografie endometria – měření



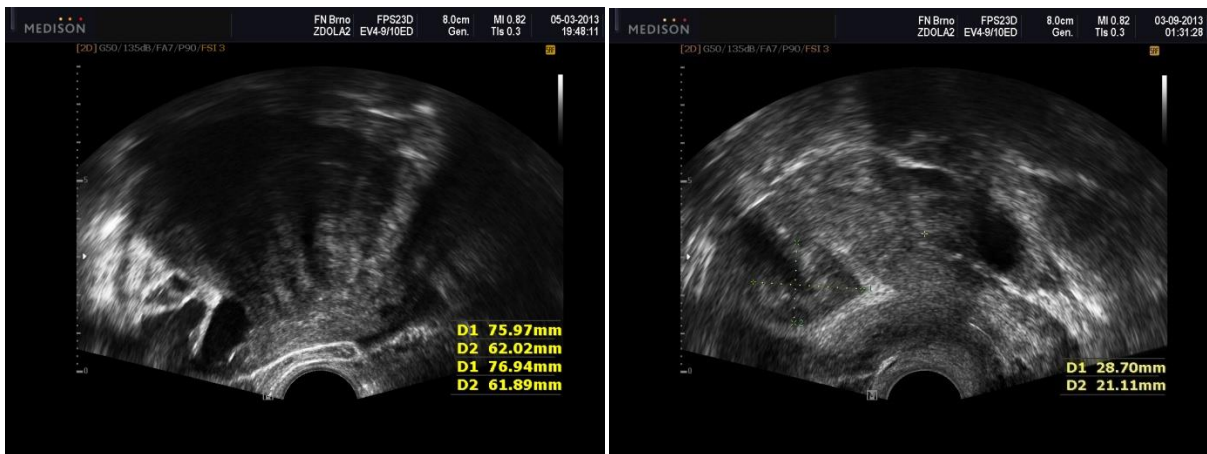
Obr. 6-13 Ultrasonografie endometria – triple line

Velikost myomů je popisována v milimetrech a v praxi lze využít buď měření nejdelšího průměru nebo měření průměru myomu ve dvou nebo třech na sebe navzájem kolmých rovinách. Tato skutečnost vychází z faktu, že ne všechny myomy mají pravidelný kulovitý tvar. Z uvedených rozměrů se kalkuluje objem myomu. V případě vícečetné myomatózy je metrická diagnostika zaměřena zpravidla na tři největší myomy. V těchto případech je vhodné i číslování myomů pro účely lepší orientace při hodnocení nálezu v rámci follow-up (Obr. 6-16).

Morfologie myomů je v ultrazvukovém obraze vyjádřena mírou denzity a homogenity nálezu. Charakteristická je přítomnost akustických stínů – „strips“ (Obr. 6-14). Významná je i detekce vaskularizace pouzdra myomu pomocí dopplerovského zobrazení. Anisoechogenita tumoru, kalcifikace a nález lakun bývá důsledkem degenerativních změn a prodělané terapie. (Obr. 6-15).

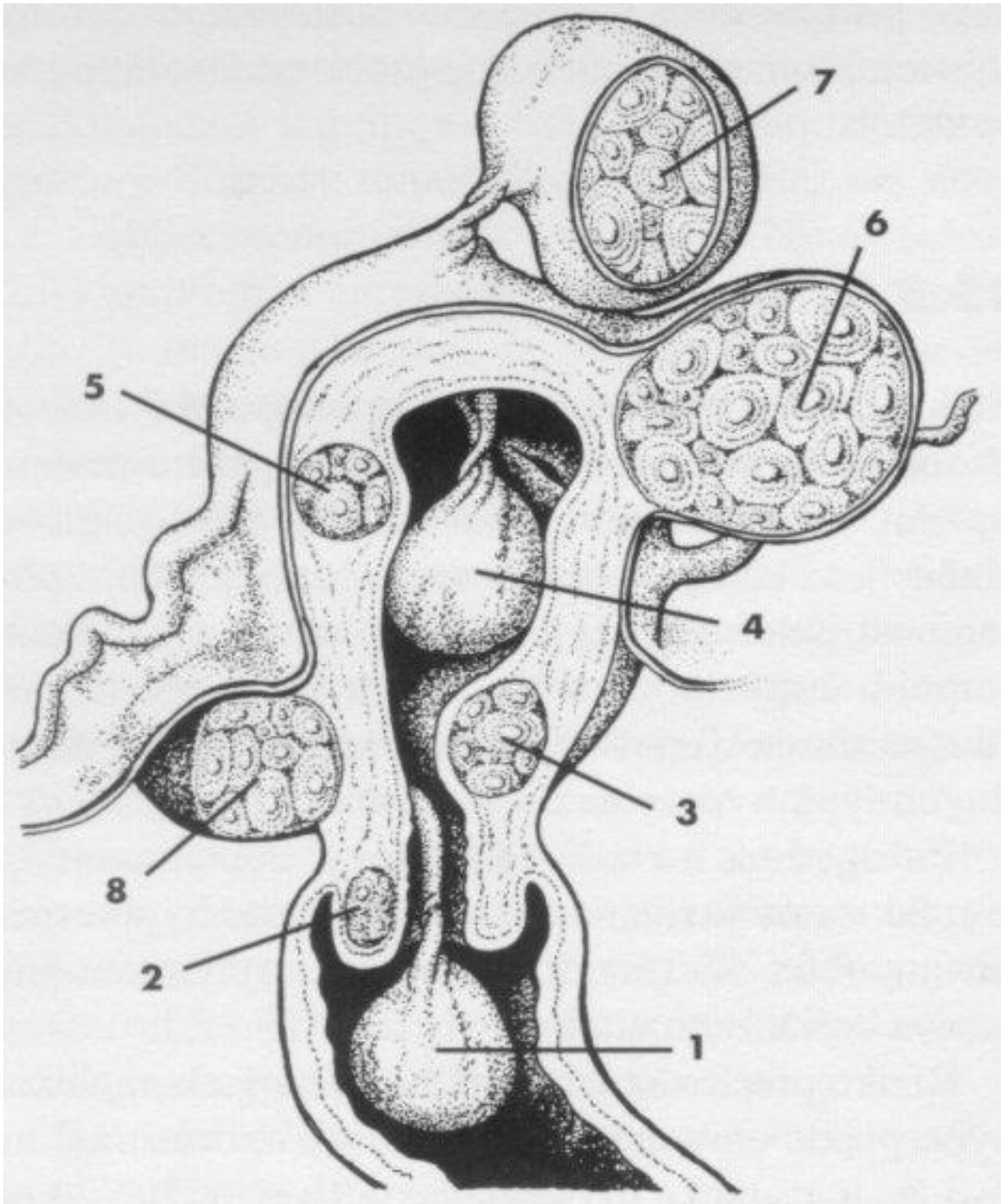


Obr. 6-14 Charakteristické akustické stíny – strips



Obr. 6-15 Degenerativní změny myomu

Topograficko-anatomické vztahy myomů k děloze a okolí jsou podrobně popsány v kapitole o klasifikaci. Vyhodnocení všech výše uvedených parametrů je klíčové pro indikační rozvahu, stanovení vhodného terapeutického postupu a sledování efektu léčby.



Obr. 6-16 Mnohočetná myomatóza – schéma

Rentgenové vyšetření myomatózy

Rentgen kontrastní hysterosalpingografie je vyšetření tvaru dělohy, průchodnosti vejcovodů a deformace dutiny děložní myomy využívající jódový kontrast. Průchod látky pánevními orgány je snímán rentgenem (Obr. 6-17). Hlavní nevýhodou je výrazná bolestivost ve srovnání s *ultrazvukovou hysterosalpingografií* [37]. Radiační zátěž personálu a nepatrné

ozáření reprodukčních tkání nelze opomenout. Proto je tato metoda již považována za obsolentní a nahrazována efektivnějšími postupy.



Obr. 6-17 Rentgen kontrastní hysterosalpingografie – zobrazení dutiny děložní

Intravenózní vylučovací urografie (IVU) je metoda sloužící k zobrazení morfologických a funkčních změn kalichopánvičkového systému ledvin a vývodných cest močových. Pacientce je podána intravenózně nefrotropní jodová kontrastní látka a v určitých časových intervalech je pořizován urogram. Vyšetření je indikováno k vyloučení patologických změn uropoetického systému ve smyslu hydronefrózy (Obr. 6-18), dislokaci ureterů či imprese močového měchýře přítomnou myomatózu. Zejména v přípravě operační intervence poskytuje důležité informace o vztazích v malé pánvi [38].

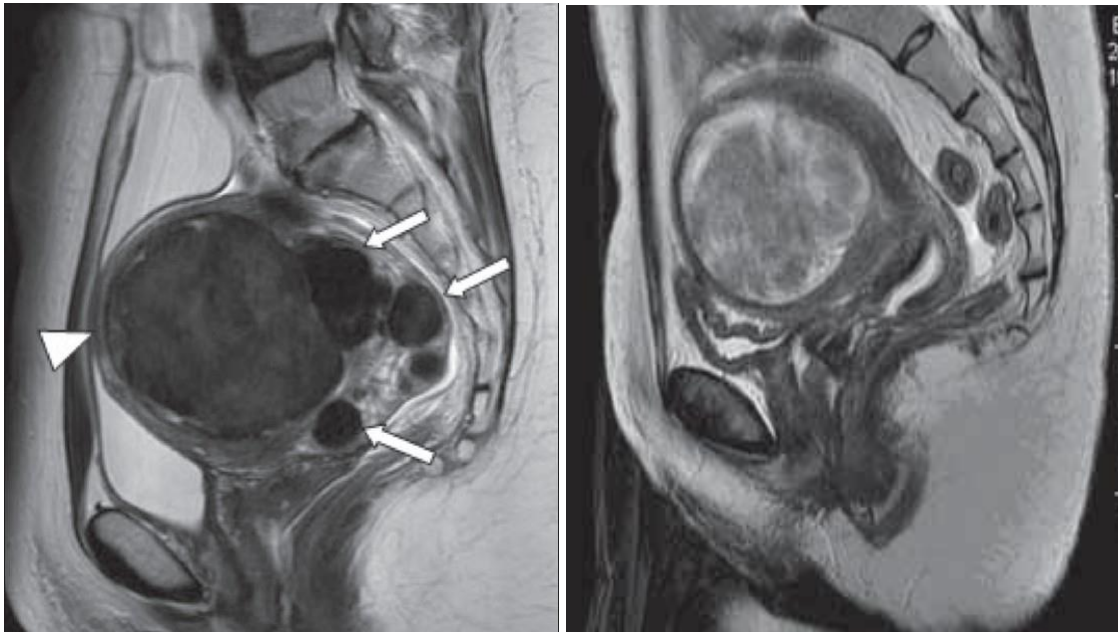


Obr. 6.18 Bilaterální hydronefróza

V diferenciální diagnostice nejasných vztahů myomatózy k okolním orgánům malé pánve lze využít i další vyšetřovací modalitty jako je *magnetická rezonance*, případně

cystoskopie a rektoskopie (Obr. 6-18). Při podezření na tumorózní nález nejasné biologické povahy je plně indikováno provedení CT vyšetření i za cenu mnohem vyšší radiační zátěže v porovnání s neinvazivními metodami.

Magnetická rezonance (MRI) je vzhledem k vynikajícímu kontrastu při rozlišení měkkých tkání MRI suverénní v diferenciaci diagnostice nejasných nálezů v děloze u bizardní nebo vícečetné myomatózy. Není metodou první volby, nicméně je důležitou součástí diagnostického algoritmu při podezření na adenomyózu, atypickou myomatózu nebo u sarkomů. Limitem vyšetření je jeho dostupnost a cena (Obr. 6-18).



Obr. 6-18 Magnetická rezonance – děložní myomatóza

Cystoskopie je endoskopická vyšetřovací metoda, která pomocí optiky a zdroje světla umožňuje prohlédnout vnitřní povrch dutiny močového měchýře a močové trubice. V diagnostice myomatózy se využívá především k určení rozsahu patologického procesu a vztahu myomu k vývodným cestám močovým před operační intervencí (Obr. 6-19).



Obr. 6-19 Flexibilní cystoskopie

Rektoskopie umožňuje přehledné zobrazení konečné části trávicí trubice v případě, že existuje podezření na onemocnění, které je v intimním vztahu ke konečníku (Obr. 6-20).



Obr. 6-20 Rektoskopie

6.5. Invazivní vyšetřovací metody v diagnostice myomatózy

Invazivní zobrazovací metody použitelné v diagnostice děložní myomatózy reprezentují endoskopické techniky. Patří k nim hysteroskopie a laparoskopie. Vzhledem k tomu, že zobrazovací metody, především ultrasonografie, v posledních letech získaly na své senzitivitě díky technickým možnostem digitalizace obrazu, přecházejí hysteroskopie a laparoskopie v klinické praxi do roviny terapeutické. Přesto ale mají tyto endoskopické metody svou nezastupitelnou pozici v rámci diferenciativní diagnostiky při upřesnění nejasných nálezů.

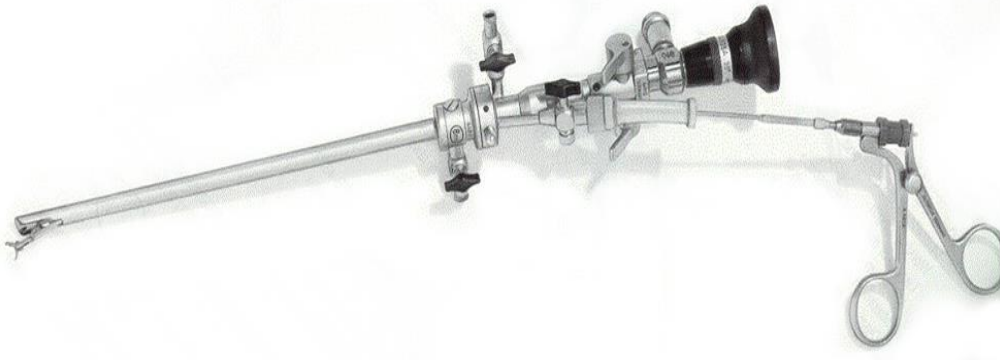
Hysteroskopie v diagnostice myomatózy

Hysteroskopie slouží k vizualizaci jednotlivých etází dutiny děložní. Umožňuje podrobné optické vyšetření cervikálního kanálu, charakteru dutiny děložní a děložních ústí vejcovodů. Při popisu cervikálního kanálu je třeba věnovat pozornost případným anatomickým abnormalitám v jeho průběhu [39]. Při popisu děložní dutiny je nutné se zaměřit na definici jejího tvaru a symetrii při distenzi insuflačním roztokem, charakter sliznice v endoskopickém obraze, dále odstup vejcovodů v děložních rozích případně spasmus či dilataci tubárních ústí (Obr. 6-21).

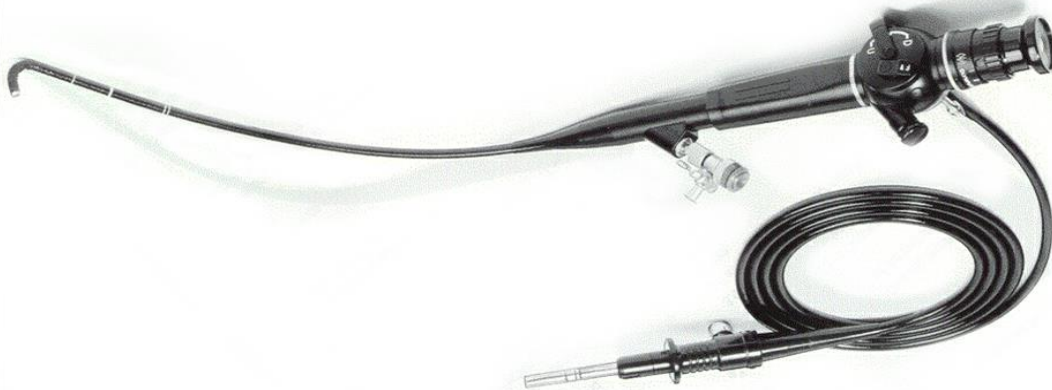


Obr. 6-21 Diagnostická hysteroskopie - dutina děložní a tubární ústí

Diagnostickou hysteroskopii dělíme na rigidní a flexibilní. *Rigidní hysteroskop* má průměr operačního kanálu 3 mm (minihysteroskopie), 5 mm, nebo 8 mm (Obr. 6-22). K dispozici je standardně přímá optika (0°) nebo úhlová optika (30°). Výhodou úhlové optiky proti přímé je možnost vizualizace dutiny děložní při flexních polohách uteru a možnost pohledu „za roh“ zvoleného směru. *Flexibilní hysteroskop* má průměr operačního kanálu 5 mm a podobně jako u endoskopů používaných v gastroenterologii lze pomocí ovládacích prvků natáčet zaměření kamery různými směry bez nutnosti složité manipulace s celým hysteroskopem (Obr. 6-23). Moderní diagnostické hysteroskopy disponují bioptickými kanály o průměru menším než 1mm, do kterých se zavádějí bioptické kleště adekvátních rozměrů. Hysteroskop tak umožňuje cílený odběr vzorků tkáně na histopatologické vyšetření přímo pod endoskopickou kontrolou. Distenční média v rámci hysteroskopie jsou buď plynná (CO_2), nebo častěji tekutá (fyziologický roztok, Sorbitol apod.).



Obr. 6-22 Rigidní diagnostický hysteroskop s bioptickým portem



Obr. 6-23 Flexibilní diagnostický hysteroskop

Vlastní technické provedení hysteroskopie závisí na plánovaném rozsahu výkonu. Provádí se za aseptických kautel v gynekologické poloze, která zahrnuje flexi a abdukcii v kyčlích a flexi v kolenních kloubech. Po desinfekci zevních rodidel a pochvy je fixován v zrcadlech čípek pomocí amerických kleští, děloha je rektifikována mírným tahem za cervix distálním směrem a do endocervikálního kanálu se zavádí hysteroskop. Diagnostiku pomocí minihysteroskopů nebo flexibilních hysteroskopů lze provést i bez celkové anestezie a to v lokálním paracervikálním bloku nebo v analgosedaci. Pacientkou není bolestivě vnímána ani tak fixace čípku do amerických kleští, jako spíše dilatace cervikálního kanálu. Při využití hysteroskopů o průměru méně než 5 mm a vhodné dataci vyšetření do období po menstruaci dilatace zpravidla není nutná. Minimalizována je tak i nutnost postoperační analgetické

terapie. Pro hysteroskopii s použitím endoskopů nad 5 mm průměru, kde je dilatace cervikálního kanálu zpravidla nutná, je vhodnější krátkodobá celková anestezie. Ta je doporučována i u výkonů s předpokladem operační intervence v dutině děložní.

Indikace a kontraindikace hysteroskopie. Hysteroskopie představuje optimální metodu k ozřejmění topograficko-anatomických vztahů submukózních myomů k dutině děložní (Obr. 6-24) a k jejich přesné klasifikaci (typ 0, I, II). Dále lze využít hysteroskopii k posouzení vlivu intramurálních a transmurálních myomů na deformaci kavity děložní a případnou okluzi odstupů vejcovodů. Za absolutní kontraindikaci je považována akutní kolpitis, akutní pánevní zánět a gravidita. Mezi relativní kontraindikace patří chronický zánět, profuzní krvácení a sekreční fáze menstruačního cyklu.

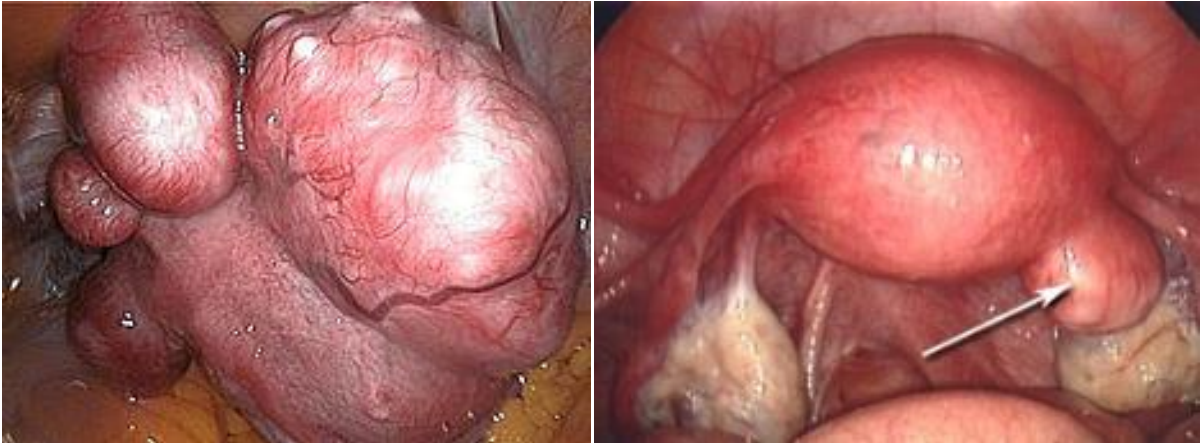


Obr. 6-24 Klasifikace submukózních myomů v hysteroskopickém obraze

Komplikace hysteroskopie. Přestože je hysteroskopie v dnešní době považována za rutinní standardní vyšetřovací metodu, v terénu děložní myomatózy nelze tento relativně jednoduchý výkon podceňovat. *Peroperační komplikace hysteroskopie* souvisí se změnou fyziologických topograficko-anatomických poměrů v důsledku přítomnosti myomů. Častá je traumatizace endocervikálního kanálu v důsledku jeho změněné konzistence a nižší poddajnosti. Při minihysteroskopii hrozí i perforace děložní stěny, především u fixované retroverze uteru provázené krvácením. Při nedodržení aseptických kautel přistupuje riziko intrauterinní infekce. Specifickou komplikací hysteroskopie je „Fluid overload syndrom“, který charakterizuje intravazace distenční tekutiny do cévního řečiště pacientky s rizikem vzniku oběhové nestability v závislosti na objemu insuflované tekutiny. Výskyt je kolem 1 až 5 % případů a po výkonu se klinicky manifestuje hyponatrémií v důsledku hemodiluce, vomitem, otoky a případně až edémem mozku. Nebezpečnější variantou této peroperační komplikace je vzduchová embolie. *Postoperační komplikace hysteroskopie* souvisí především s infekcí a vznikem intrauterinních adhezí. Traumatizace endocervikálního kanálu při dilataci může vést k inkompetenci děložního hrdla v graviditě.

Laparoskopie v diagnostice myomatózy

Diagnostická laparoskopie je metoda využívající zásady miniinvazivní chirurgie, umožňující přímou vizualizaci dutiny břišní. Je zlatým standardem ve vyšetřovacím algoritmu myomatózy se speciálním zaměřením na oblast pánve, dělohy a adnex [40]. Závěrem diagnostické laparoskopie by měla být co nejpodrobnější zpráva odrážející vztah myomů k orgánům dutiny břišní, jejich vliv na případnou graviditu či rizika operační intervence. Výstupem musí být jednoznačná terapeutická rozvaha ve smyslu konzervativní farmakoterapie či chirurgického výkonu (Obr. 6-25). Zde je nutné zvážit laparoskopický nebo laparotomický přístup k myomektomii.



Obr. 6-25 Děložní myomatóza v laparoskopickém obraze

Přístup do dutiny břišní je zajištěn trokary o průměru 5–12 mm, z infraumbilikální incize pro optický systém a ze suprasymfyzeální pro zavádění instrumentária, které je v podstatě kopií klasických chirurgických nástrojů (např. nůžky, pinzety, jehelce, disektory). Speciální laparoskopické nástroje představují různé typy modelátorů (Obr. 6-26). Pokud během diagnostického výkonu lékař zjistí abnormality, které vyžadují operační zásah, přechází diagnostická laparoskopie v laparoskopii operační, a to ihned v první době. Pacientka tak není zatěžována opakovanou celkovou anestezií. Kontraindikací laparoskopického přístupu u diagnostiky myomatózy je břišní kýla, mnohočetné laparotomické jizvy a podezření na rozsáhlý zánětlivý a adhezivní proces v dutině břišní. Interními limity jsou hlavně kardiální a respirační insuficience a metabolické poruchy.



Obr. 6-26 Laparoskopický přístup do dutiny břišní

Komplikace laparoskopie se v ČR vyskytují do 5–6 %. Až k 22 % je způsobeno při vstupu do peritoneální dutiny. Nejčastěji dochází k poranění cév (55 %), hlavně u hubených žen, kde je vzdálenost aorty od kůže asi 3 cm a k poraněním střeva v důsledku nedostatečné předoperační přípravy nebo při adhezivním procesu (43 %). Chyba při zavedení insuflační jehly nebo trokaru, preperitoneální insuflace CO₂ či perforace dolních epigastrických cév, by se měla u erudovaných operátorů vyskytovat sporadicky. Vyšší procento uvedených komplikací může spadat na vrub habitu pacientky [41]. Časná pooperační péče může být komplikována pánevním či břišním zánětem, případně anemickým syndromem v důsledku větší krevní ztráty během výkonu. V pozdním pooperačním období se vyskytují dehiscence a hernie v místě vpichu.

6.6. Literatura

1. Stewart EA, Morton CC. The genetics of uterine leiomyomata: what clinicians need to know. *Obstet Gynecol* 2006; 107: 917-921.
2. Faerstein E, Szklo M, Rosenhaim N. Risk factor for uterine leiomyomata: a practice based case control study. African-American heritage, reproductive history, body size and smoking. *Am J Epidemiol* 2001; 153: 1-10.
3. Navot D, Bergh PA., Williams, MA et al. Poor oocyte quality rather than implantation failure as a cause of age-related decline in female fertility. *Lancet* 1991; 337(8754): 1375-1377.
4. Merskani A, Seif MW. Premature ovarian failure. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2006; (4): 418-426.
5. Cameron IT, O'Shea FC, Rolland JM. Occult ovarian failure: a syndrome of infertility, regular menses, and elevated follicle-stimulating hormone concentrations. *J Clin Endocrinol Metab* 1988; 67(6): 1190-1194.
6. Jenny A, Visser FH, Joop SE et al. Themmen: Anti-Müllerian hormone: a new marker for ovarian function. *The Journal of Society for Reproduction and Fertility* 2006; 131: 1-9.
7. Fanchin R, Schonäuer LC, Righini C et al. Serum anti-Müllerian hormone is more strongly related to ovarian follicular status than serum inhibin B, estradiol, FSH and LH on day 3. *Human Reproduction* 2003 18(2), 323-327.
8. Kasein N, Gougeon A, Meduri G. Significance of ovarian histology in the management of patients presenting a premature ovarian failure. *Hum Reprod* 2004; 19(11): 2555-2560.
9. Vital Reyes VS, Tellez Velasco S, Hinojosa Cruz JC. Ovarian biopsy in infertile patients with ovarian dysfunction. *Int J Gynecol Pathol.* 2006; 25(1): 90-94.
10. Madar J, Nouza D, Nováková D. Imunologické aspekty habituálního potrácení. *Moderní gynekologie a porodnictví. Sterilita a opakované potrácení* 2002; 11(4): 621-627.
11. Zwinger A. Opakované potrácení. In: Zwinger A et al. *Porodnictví.* Galén:Praha: 2004: 173-183.
12. Gaillyová R.: *Genetické příčiny poruch reprodukce.* Brno 2006.
13. Kupferminc MJ, Roqué H, Binder T. Je nosičství trombofilie příčinou časných spontánních potratů v prvním trimestru? *Gynekologie po promoci* 2004; 4(3): 55-59.
14. Vojtaššák J. Charakteristika reprodukčních strát v korelácii s vekom ženy. *Asistovaná reprodukce* 2002;12(1): 9.
15. Roztočil A. Poruchy délky trvání těhotenství. Roztočil A et al. *Porodnictví.* Brno IDVPZ 2001.
16. Berghella V, Baxter J, Pereira L. Měli bychom cerclage provádět? *Gynekologie po promoci* 2006; 6(2): 24-33.
17. Čech E, Hájek Z, Maršál K. Grada Publishing: Praha 2004: 148-154.
18. Guttenbach M, Engel W, Schmidt M. Analysis of structural and numerical chromosome abnormalities in sperm of normal men and carriers of constitutional chromosome aberrations. A review. *Hum Genet* 199; 100: 1-21.
19. Alves C, Sousa M, Silva J et al Preimplantation genetic diagnosis usány FISH for carriers of Robertsonian translocations: the Portuguese experience. *Prenatal Diagnosis* 2002; 22: 1153-1162.
20. Žáková J, Ventruba P, Vojtíšková M. Aktuální otázky vztahující se k preimplantační diagnostice. *Asistovaná reprodukce* 2003; 1: 18.
21. Martius G, Breckwoldt M, Pfeleiderer A, et al. *Gynekologie a porodnictví.* Osveta: Martin: 1997.
22. Hájek Z. *Rizikové a patologické těhotenství.* Grada: Praha, 2004.

23. Murphy RP, Donoghue C, Nallen RJ et al. Prospective Evaluation of the Risk Conferred by Factor V Leiden and Thermolabile Methylenetetrahydrofolate Reductase Polymorphisms in Pregnancy. *American Heart Association* 2000; 20(1): 266.
24. Kauffman RP, Castracane D, Kosasa T. Syndrom polycystických ovarií. *Gynekologie po promoci* 2003; 3(6): 39-47.
25. Barroso G, Valdespin C, Vega E et al. Developmental sperm contributions: fertilization and beyond. *Fertil Steril* 2009; 92: 835-848.
26. WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen. 5th ed. World Health Organisation, Cambridge University Press 2010. ISBN 9789241547789.
27. Hynie J, Trapl J, Čech J. Lidská plodnost a její poruchy. SZN: Praha 1964.
28. Věžník Z, Matoušková O, Švecová D et al. The use of the computer technique for evaluation of the strict morphological sperm analysis. *Vet Med-Czech* 2001, 46(2), 35-40.
29. Sirivaidyapong S, Cheng FP, Marks A et al. Effect of sperm diluents on the acrosome reaction in canine sperm. *Theriogenology* 2000; 53(3): 789-802.
30. Crha I, Žáková J. Současné možnosti výběru spermií v asistované reprodukci. *Moderní gynekologie a porodnictví* 2012; 21(1): 4-9.
31. Aitken RJ, de Iuliis GN, Mc Lachlan RI. Biological and clinical significance of DNA damage in the male germ line. *Int J Androl* 2009; 32: 46-56.
32. Rybář R, Faldíková L, Faldyna M et al. Bull and boar sperm DNA integrity evaluated by sperm chromatin structure assay in the Czech Republic. *Vet Med-Czech* 2004; 49: 1-8.
33. Nixon B, Aitken RJ. Proteomics of human spermatozoa. In: Krause WK, Naz RK. *Immune infertility: The impact of immune reactions on human infertility*. Springer-Verlag: Heidelberg, 2009.
34. Taylor-Robinson D. Genital mycoplasma infections. *Clin Lab Med* 1989; 9(3): 501-523.
35. Khan F, Jamaat S, Al-Jaroudi D. Saline infusion sonohysterography versus hysteroscopy for uterine cavity evaluation. *Ann Saudi Med* 2011; 31(4): 387-392.
36. Leone FPG et al. Terms, definitions and measurements to describe the sonographic features of the endometrium and intrauterine lesions: a consensus opinion from the International Endometrial Tumor Analysis (IETA) group. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2010; 35: 103-112.
37. Graziano A, Lo Monte G, Soave I et al. Sonohysterosalpingography: a suitable choice in infertility workup. *JOURNAL OF MEDICAL ULTRASONICS* 2013; 40(3): 225-229.
38. Sedmík I, Mihulová P, Nádeníček. Konvenční rentgenová vyšetření vývodných cest močových. *Urol List* 2006; 4(2) 103-109.
39. Mára M, Belšan T. Zobrazovací metody v diagnostice děložních myomů. In: Mára M, Holub Z. *Děložní myomy: moderní diagnostika a léčba*. Grada Publishing: Praha 2009: 41-55.
40. Nezhat C, Nezhat F, Nezhat C. Operative laparoscopy (minimally invasive surgery): state of the art. *J Gynecol Surg.* 1992; 8(3): 111-148.
41. Kučera E. Laparoskopie. *Moderní babičství* 2004; 5.

7. Aktuální možnosti terapie děložní myomatózy

Aktuální farmakologie nabízí celé spektrum terapeutických možností v neinvazivní léčbě děložních myomů. Farmakologická terapie je vhodná pro všechny typy myomů. Máme k dispozici řadu hormonálních preparátů, mezi něž řadíme orální kontraceptiva, progestiny, mifepriston, selektivní modulátory progesteronových receptorů (SPRM) a analoga GnRH. Principiálně lze léčbu rozdělit na symptomatickou, s cílem ulevit subjektivním obtížím pacientek například v perimenopauzálním období či u žen nevhodných k chirurgické léčbě, a dále léčbu kauzální, jejímž cílem je zmenšení objemu myomu a dělohy a redukce vaskularizace. Ne všechny doporučené postupy jsou ale vhodné u pacientek s reprodukčními plány, vzhledem k nedostatku zkušeností a kvalitních dat. U symptomatických pacientek s klinicky signifikantními myomy, které plánují graviditu, zůstává stále zlatým standardem léčby myomektomie. U všech pacientek je důležitý individuální přístup při hledání vhodné léčebné modality.

7.1. Observační režimy, nespecifická terapie a jejich pozice v klinické praxi.

Observace a expektační postup

Jsou založeny na pravidelných ultrazvukových kontrolách v návaznosti na klinické vyšetření. Doporučený dispenzarizační interval je přibližně 6 měsíců, ale závisí na nález, klinickém obrazu a reprodukčních plánech ženy. Tyto postupy lze volit i u žen plánujících graviditu, a to v těch případech, kde myom nesnižuje šanci na spontánní koncepci a nezvyšuje riziko v průběhu těhotenství a při porodu. Jedná se o myomy do 4 cm, které nedeformují dutinu děložní, neuzavírající tubární ústí a jsou bez známek progresivního růstu. Dále lze pozorovat myomy nependulující, zde nehrozí riziko torze a následné nekrózy. Také u žen s ukončenými reprodukčními plány se snažíme vyhnout zbytečné chirurgické intervenci. Je-li žena symptomatická, je vhodné přistoupit k farmakologické léčbě. Nelze určit jednoznačnou hranici velikosti myomu či dělohy, při níž lze pacientku pouze sledovat. Mimo jiné je třeba zohlednit rychlost růstu myomu, a to nejlépe na základě objektivních dat ze zobrazovacích vyšetření. U žen dosud nerodivších je observace vhodná u myomů méně objemných (do 3–4 cm), nestopkatých myomů a myomů, které nedeformují děložní dutinu a nekomprimují odstupy vejcovodů. Expektace bývá, až na výjimky, metodou volby také v případě těhotenství v myomatózní děloze.

Symptomatická léčba

Symptomatická nespecifická léčba spočívá ve farmakologické redukci či eliminaci klinických projevů v souvislosti s myomatózou. Nejtypičtějším symptomem je abnormální děložní krvácení. Ke kontrole krvácení lze použít hemostyptika, uterotonika či gestageny [1].

Nitroděložní systém s levonorgestremem (LNG-IUS)

K dlouhodobé terapii pacientek s děložními myomy lze využít také nitroděložní systém s levonorgestremem. LNG-IUS obsahuje rezervoár, ze kterého se uvolňuje 20 µg levonorgestrelu denně. Kromě antikoncepčního účinku dochází k významné redukci dysmenorey a intenzity menstruačního krvácení. U pacientek s většími myomy, výrazně myomy deformovanou či objemnou děložní dutinou může však docházet ke spontánní expulzi tělíska [2, 3].

Kombinovaná hormonální antikoncepce (COC)

Sporný je stále vliv kombinované hormonální antikoncepce na růst děložních myomů. Literatura poskytuje značně rozporuplná data popisující nižší, ale i zvýšený výskyt myomů. Obecně lze COC využít k léčbě nepravidelného krvácení a hypermenorey u žen s děložní myomatózou. Orální kontraceptiva a progestiny nemají prokazatelný vliv na velikost myomu a jsou užívány spíše k ovlivnění krvácivých projevů [1].

Hormonální substituční terapie (HRT)

Vliv HRT na děložní myomy byl popsán řadou studií. Obecně lze říci, že kombinovaná estrogen-progesteronová HRT mírně stimuluje na počátku léčby růst děložních myomů, především v prvním roce terapie. Tento nárůst není však provázen redukcí klinických příznaků [4, 5]. U uživatelék Tibolonu nebyl zaznamenán signifikantní nárůst děložních myomů [6].

Léčba	Klinická účinnost	CAVE
LNG-IUS	významné zmírnění silného menstruačního krvácení, dosažení účinnosti může trvat až 6 měsíců	kontraindikace při deformitách dutiny děložní, vedlejší gestagenní účinky jsou minimální
COC	prokázáno zmírnění středního až silného menstruačního krvácení, pomáhá dlouhodobé užívání, vhodné volit kontinuální podávání	nemá v SPC indikaci děložní myomatózy běžně užívané v klinické praxi, nutné posoudit kardiovaskulární rizika
Perorální gestagen ve vysokých dávkách	prokázáno zmírnění silného menstruačního krvácení při podávání 5. až 26. dne každého cyklu (15 mg norethisteronu nebo 20-30 mg medroxyprogesteron acetátu/den)	nemá v SPC indikaci děložní myomatózy významné gestagenní vedlejší účinky, které omezují dlouhodobé užívání
Injekční gestagen ve vysokých dávkách	zmírnění krvácení s vysokou incidencí amenorey při kontinuálním podávání	nemá v SPC indikaci děložní myomatózy různý nárůst tělesné hmotnosti opatrně u žen s vysokým rizikem osteoporózy
Tranexamová kyselina	prokázáno zmírnění silného menstruačního krvácení	nemá v SPC indikaci děložní myomatózy dávkování individuálně tromboembolické komplikace jsou vzácné

Tab 7-1 Nespecifické farmakologické možnosti léčby myomů

7.2. Specifické farmakologické možnosti léčby myomů – přehled

Do skupiny specifické léčby řadíme preparáty s kauzálním účinkem na myomy. Cílem specifické terapie je zmenšení objemu myomu a dělohy a redukce jejich vaskularizace. Do této skupiny řadíme analoga gonadoliberinu a selektivní modulátory progesteronových receptorů (SMPR).

Analoga gonadoliberinu (GnRHa)

Analoga gonadoliberinu jsou využívána v léčbě děložních myomů od 80. let 20. století. GnRHa indukují hypoestrinismus supresí produkce FSH, LH a ovariálních steroidů vazbou na GnRH receptory hypofýzy. Hlavním efektem léčby je redukce objemu myomu, celé dělohy a kontrola menstruačního krvácení. GnRHa indukovaný hypoestrinismus způsobuje typické klimakterické příznaky a v dlouhodobějším podání vede i ke snížení kostní denzity. Po ukončení léčby dochází rychle k návratu symptomů a opětovnému nárůstu myomů do původní velikosti. Z výše uvedených důvodů je léčba analogy GnRH využívána jen krátkodobě v rámci pretreatmentu před plánovanou chirurgickou léčbou [7, 8].

Selektivní modulátory progesteronových receptorů. (SMPR)

Ulipristal acetát (UPA) řadíme mezi takzvané selektivní modulátory progesteronových receptorů. Působí na progesteronové receptory myometria a endometria. Inhibuje ovulaci, aniž by měl výraznější dopad na sérové hladiny estradiolu či antiglukokortikoidní aktivitu [9, 10]. Výsledky klinické studie, zkoumající účinek a bezpečnost tříměsíčního podání 5 mg a 10 mg UPA v porovnání s placebem, popisují signifikantní snížení intenzi-

ty menstruačního krvácení a změnu objemu myomů u pacientek léčených UPA v porovnání s placebem.

Mifepriston vede po podání 12,5–50 mg denně k redukci objemu myomů o 40–50 %, amenorea je přítomna u většiny pacientek. Tato léčba je však provázena vedlejšími účinky, jako jsou například návaly [2]. Po redukci dávky na 5 nebo 10 mg *Mifepristonu* denně po dobu 6 měsíců byla popsána objemová redukce myomů o 48 % (5 mg), resp. 49 % (10 mg), amenorea byla přítomna u 60–65 % pacientek v obou skupinách. Návaly se signifikantně častěji vyskytovaly u pacientek léčených 10 mg *Mifepristonu*, ve skupině 5 mg *Mifepristonu* nebyly popsány. Prostá hyperplasie endometria byla diagnostikována u 28 % pacientek bez rozdílu dávky [11].

Léčba	Klinická účinnost	CAVE
UPA	rychlá úprava silného krvácení, signifikantní redukce objemu myomu přetrvávajícím účinkem, řada žen dosáhne amenorey do 7–10 dnů od zahájení terapie	indikován u žen fertilního věku s myomatózou 3měsíční kúru lze dlouhodobě intermitentně opakovat pozitivní vliv na redukci velikosti myomu může přetrvávat až 6 měsíců po vysazení
GnRH	postupné zmírňování krvácení, až 30 dní do dosažení amenorey	indikován u žen s myomatózou významné menopauzální příznaky zvažít souběžné podání HRT omezené použití z důvodu rizika osteoporózy

Tab 7-2 Specifické farmakologické možnosti léčby myomů

Přehled léčivých přípravků s indikacemi na českém trhu:

ESMYA (Ulipristal-acetát je indikován k předoperační léčbě středně závažných až závažných symptomů onemocnění děložními myomy u dospělých žen v reprodukčním věku. Recentně schváleno dlouhodobé intermitentní podávání bez plánu chirurgického řešení).

DECAPEPTYL DEPOT (symptomatické děložní myomy, děložní myomy spojené se sterilitou nebo infertilitou a výskyt myomů v mladém věku. Dále při indikaci potlačení produkce ovariálních hormonů jako předoperační příprava pro zmenšení jednotlivých myomů v případě jejich předpokládané enukleace nebo v případě hysterektomie).

DIPHERELINE S. R. 3 mg (léčba uterinních myomů buď před operací, nebo když je operace za daných okolností nevhodná).

ZOLADEX DEPOT 10,8 mg (předoperačně k léčbě děložních myomů, maximální doba trvání léčby jsou 3 měsíce. Při léčbě děložních myomů Zoladex depot 10,8 mg způsobuje jejich zmenšení, umožňuje zlepšení krevního obrazu pacientky a zmírňuje příznaky, včetně bolesti. Je užíván jako doplňková léčba k chirurgickému výkonu za účelem vytvoření dobrých operačních podmínek a snížení operačních ztrát krve).

ZOLADEX DEPOT 3,6 mg (ke zmenšení velikosti myomů po dobu až 3 měsíců. Zoladex depot 3,6 mg je užíván jako doplňková léčba k chirurgickému výkonu za účelem vytvoření dobrých operačních podmínek a snížení operačních ztrát krve. K léčbě děložních myomů za účelem jejich zmenšení, zlepšení krevního obrazu pacientky a zmírnění příznaků, včetně bolesti).

SYNAREL (k hormonální terapii symptomatických děložních myomů před plánovanou myomektomií nebo hysterektomií, včetně potlačení klinických příznaků a zmenšení velikosti dělohy a myomů).

MIRENA (kontracepce, idiopatická menoragie, ochrana endometria před hyperplazií během hormonální substituční léčby estrogeny).

LEVOSERT (silné menstruační krvácení, antikoncepce).

Kombinovaná hormonální antikoncepce (COC, vaginální inzert, transdermální náplast).

Perorální gestageny ve vysokých dávkách – mohou ovlivnit krvácení – Duphaston, Norethisteron, Orgametril, Provera, Utrogestan.

Injekční gestageny ve vysokých dávkách – mohou ovlivnit krvácení (Depo – Provera).

Tranexamová kyselina – Exacyl (inj.sol., nebo tbl.) – indikace krvácení (možno použít při menoragii i metroragii).

7.3. Chirurgické možnosti léčby myomů

Mezi chirurgické metody léčby děložních myomů obecně řadíme myomektomii, hysterektomii a metody ischemizující. Chirurgickou léčbu indikujeme v případě selhání léčby konzervativní, dále u pacientek se symptomatickými myomy a reprodukčními plány či myomy výrazně deformujícími děložní dutinu.

Myomektomii řadíme mezi fertilitu šetřící výkony. Dle přístupu můžeme myomektomii rozdělit na laparoskopickou, laparotomickou, hysteroskopickou.

Hysterektomie je definitivní léčebnou metodou u pacientek s děložní myomatózou, která vede ke ztrátě reprodukčního potenciálu. Před plánovaným operačním výkonem by měli být vždy u premenopauzálních pacientek zváženy reprodukční plány. Podrobnější popis chirurgických přístupů viz samostatná kapitola.

Laparoskopickou okluzi uterinních arterií (LUAO) řadíme spolu s embolizací uterinních arterií mezi ischemizující metody léčby děložních myomů.

Embolizace uterinních arterií je tradičně řazena mezi metody minimálně invazivní a je prováděna intervenčními radiology. Pod skiaskopickou kontrolou je selektivně katetrizována arteria uterina a po zhodnocení stavu uteroovariálních anastomóz provedena bilaterální embolizace nevstřebatelnými embolizačními částicemi.

Fokusovaný ultrazvuk naváděný magnetickou rezonancí (MRgFUS) využívá cílenou energii k zahřátí a destrukci tkáně myomu indukci koagulační nekrózy. Ultrazvukový paprsek prochází přední stěnou břišní bez potřeby incize. K dosažení účinnosti jsou nezbytné opakované sonikace a procedura trvá 2–4 hodiny.

Principem **myolýzy** je, podobně jako u MRgFUS, destrukce myomů pomocí fokusované energie. Z počátku byl pro indukci koagulační nekrózy využíván neodýmium – aluminium – garnet (Nd:YAG) laser. V současné době jsou nejvíce využívány radiofrekvenční sondy či kryosondy. Sondy jsou do tkáně myomu zaváděny laparoskopicky, během výkonu je potřeba opakované aplikace sondy do tkáně myomu. Tato procedura není doporučována ženám s reprodukčními plány.

7.4. Literatura

1. Mára M. Možnosti farmakologické léčby myomů. In: Mára M. Děložní myomy. Grada Publishing: Praha 2009: 71-74.
2. Sankaran S, Manyonda IT. Medical management of fibroids. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2008; 22(4): 655-676.
3. Rosa JC et al. Use of a levonorgestrel-releasing intrauterine device for the symptomatic treatment of uterine myomas. *J Reprod Med* 2005; 50(8): 613-617.
4. Ang WC, Farrell E, Vollenhoven B. Effect of hormone replacement therapies and selective estrogen receptor modulators in postmenopausal women with uterine leiomyomas: a literature review. *Climacteric* 2001; 4(4): 284-292.
5. Parker WH. Uterine myomas: management. *Fertil Steril* 2007; 88(2): 255-271.
6. Fedele L, Bianchi S et al. A randomized study of the effects of tibolone and transdermal estrogen replacement therapy in postmenopausal women with uterine myomas. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2000; 88(1): 91-94.
7. Hudeček R, Ivanová Z, Šmerdová M et al. Effect of GnRH analogues pre-treatment on myomectomy outcomes in reproductive age women. *Čes Gynekol* 2012; 77(2): 109-117.
8. Lethaby A, Vollenhoven B, Sowter M. Efficacy of preoperative gonadotrophin hormone releasing analogues for women with uterine fibroids undergoing hysterectomy or myomectomy: a systematic review. *BJOG* 2002; 109(10): 1097-1108.
9. Donnez J, Tatarchuk TF, Bouchard P et al. Ulipristal acetate versus placebo for fibroid treatment before surgery. *N Engl J Med* 2012; 366(5): 409-420.
10. Melis GB, Piras B, Marotto MF et al. Pharmacokinetic evaluation of ulipristal acetate for uterine leiomyoma treatment. *Expert Opin Drug Metab Toxicol* 2012; 8(7): 901-908.
11. Eisinger SH, Meldrum S, Fiscella K et al. Low-dose mifepristone for uterine leiomyomata. *Obstet Gynecol* 2003; 101(2): 243-250.

8. Specifické farmakologické možnosti léčby myomů

Do skupiny farmakologických preparátů určených pro specifickou léčbu děložní myomatózy řadíme preparáty s kauzálním účinkem, jejichž cílem je redukce anatomického nálezu a klinických projevů souvisejících s přítomností myomů. Terapeutické účinky jsou zaměřeny především na zmenšení objemu myomu a dělohy a redukce jejich vaskularizace. Do skupiny léčiv určených pro specifickou farmakoterapii myomů, které má současná reprodukční medicína k dispozici, patří analoga gonadoliberinu a selektivní modulátory progesteronových receptorů.

8.1. Analoga gonadoliberinu

Analoga gonadoliberinu (GnRHa) byla vyvinuta a zavedena do klinické praxe v osmdesátých letech minulého století. GnRHa indukují v ženském organizmu hypoestrinismus tím, že vazbou na GnRH receptory hypofýzy suprimují produkci gonadotropních hormonů (FSH, LH) a ovariálních steroidů. Hlavním efektem léčby je redukce objemu myomu a dělohy a kontrola menstruačního krvácení. GnRHa indukovaný hypoestrinismus má však jako vedlejší nežádoucí účinek vyvolání typických příznaků vegetativního klimakterického syndromu. V průběhu dlouhodobých terapeutických režimů podání GnRHa vede u pacientek i k jeho metabolické formě, především ke snížení kostní denzity. Po ukončení léčby dochází rychle k návratu klinických symptomů a opětnému nárůstu myomů do původní velikosti. Z výše uvedených důvodů je léčba GnRHa využívána jen krátkodobě, v rámci pretreatmentu před plánovanou chirurgickou léčbou [1, 2]. Tříměsíční terapie před plánovanou operační intervencí redukuje celkový objem děložních myomů až o 53 % a celkový objem dělohy o 47 %, (Obr. 8-1). Tato redukce velikosti nálezu umožňuje využít minimálně invazivní laparoskopický přístup k myomektomii a případné provedení laparoskopické hysterektomie místo abdominální [3].

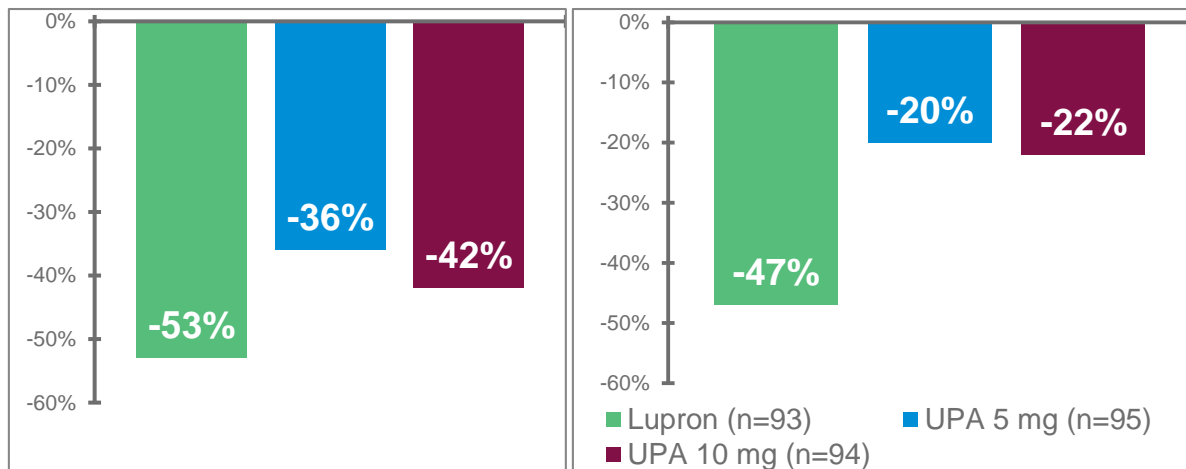
Mechanismus účinku GnRHa spočívá v potlačení mitogenního efektu estrogenů, což na buněčné úrovni vede ke snížení syntézy DNA, buněčné proliferace a produkce TNF – b. Výsledkem těchto procesů je hyalinní degenerace tkáně myomů, redukce velikosti a pokles jejich vaskularizace [4].

Efekt na celkový objem myomu¹

Medián změny objemu od výchozího (%)

Efekt na objem dělohy²

Medián změny objemu od výchozího (%)



1. Celkový objem tří největších leiomyomů měřen ultrazvukem
 2. Objem dělohy měřen ultrazvukem
- UPA: Ulipristal Acetát, GnRHa: agonista Gonadotropin-Releasing Hormonu

Obr. 8-1 Studie PEARL II – efekt GnRHa na redukci objemu myomů a dělohy

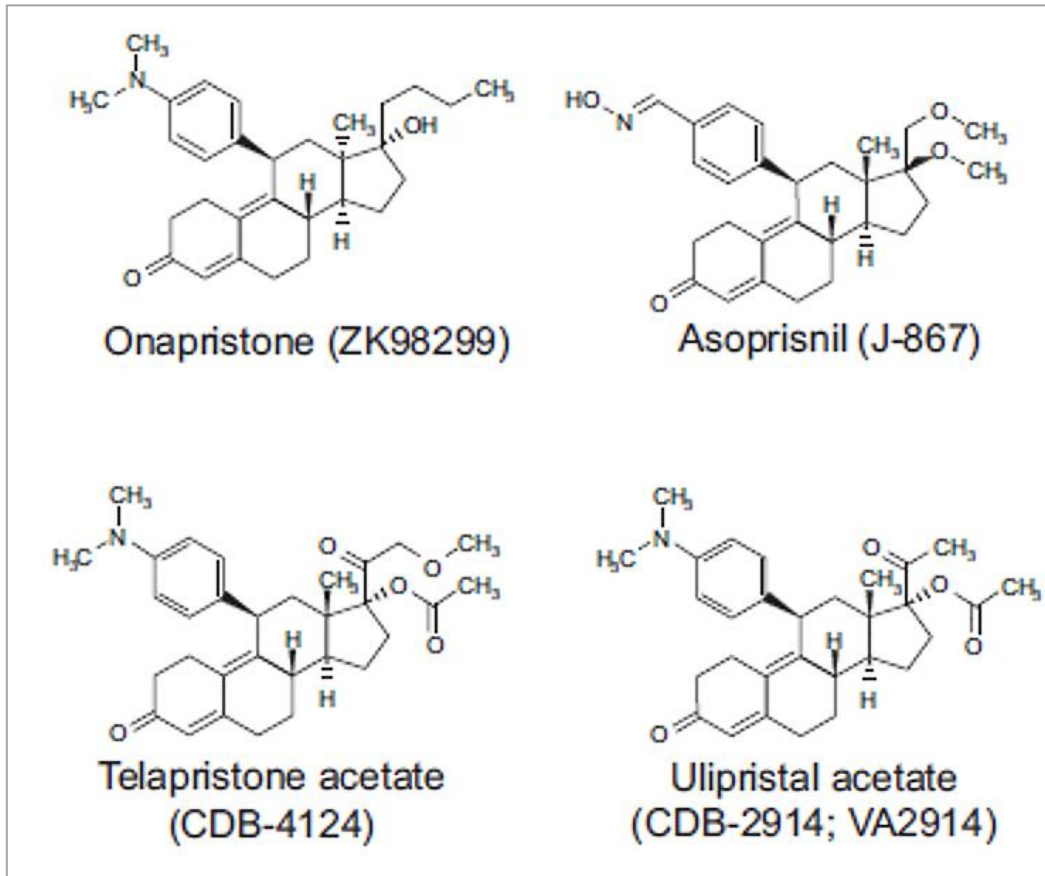
Souhrnné literární práce popisují signifikantní objemovou redukci myomů, zvýšení hematokritu a hemoglobinu u pacientek předléčených GnRHa před myomektomií ve srovnání s kontrolními skupinami bez předoperační terapie. Peroperačně však pretreatment GnRHa nevede ke zkrácení operačního času nebo k redukci peroperační krevní ztráty. U pacientek předléčených GnRHa byla rovněž zaznamenána vyšší frekvence recidivy myomů [2]. Možným vysvětlením je zmenšení drobných myomů vlivem GnRHa v průběhu léčby. Tyto myomy mohou být během operace chirurgem „přehlédnuty“ a po operaci dojde k jejich opětovnému nárůstu. Kontinuální podání GnRHa je provázeno řadou významných zdravotních rizik plynoucích z hypoestrinismu. Dlouhodobé podání GnRHa by tedy mělo být doplněno add-back hormonální terapií [5, 4, 2].

8.2. Selektivní modulátory progesteronových receptorů

Selektivní modulátory progesteronových receptorů (SPRM) působí na progesteronové receptory myometria a endometria a současně inhibují ovulaci, aniž by signifikantně snižovaly sérové hladiny estradiolu či antiglukokortikoidní aktivitu [6, 7]. K léčivům třídy SPRM, která v uplynulém období vstoupila do fází II a III klinického hodnocení na mezinárodní úrovni, patří Onapriston, Asoprisnil, Telapriston acetát, Ulipristal-acetát a Vilaprisan (Obr. 8-2).

Vývoj *Onapristonu* byl zastaven kvůli hepatotoxicitě ve fázi II, vývoj *Asoprisnilu* byl ukončen pro jeho nežádoucí vliv na endometrium při dlouhodobém kontinuálním podávání ve fázi III klinického zkoušení. Výzkum a vývoj *Telapriston acetátu* byl pozdržen kvůli jeho hepatotoxicitě při vyšším dávkování ve fázi III klinického zkoušení. V současné době jsou jeho nižší dávky podávány ve fázi II klinického zkoušení. Testování *Ulipristal-acetátu*, jako jediné molekuly v současnosti, bylo úspěšně ukončeno fází III klinického hodnocení. Nebyla pozorována žádná hepatotoxicita. Preparát byl odpovědnými autoritami Evropské unie schvá-

len a registrován k využití v klinické praxi od roku 2012. *Vilaprisan* je předmětem klinických studií, které probíhají v zemích Evropské unie od roku 2013.



Obr. 8-2 Selektivní modulátory progesteronových receptorů

Ulipristal-acetát a jeho klinické indikace

Registrovanou terapeutickou indikací ulipristal acetátu (UPA) je předoperační léčba středně závažných až závažných symptomů onemocnění děložními myomy u dospělých žen v reprodukčním věku. Do konce roku 2014 byla doba trvání léčby omezena na měsíce. Na základě výsledků první části studie PEARL IV je v současnosti možná opakovaná sekvenční léčba po dobu dvakrát tři měsíce.

Farmakodynamické vlastnosti UPA

Ulipristal-acetát je perorálně aktivní syntetický selektivní modulátor progesteronového receptoru charakterizovaný tkáňově specifickým částečně antagonistickým progesteronovým účinkem. Ulipristal-acetát má přímý účinek na endometrium. Při zahájení denního podávání dávky 5 mg v průběhu menstruačního cyklu proběhne u většiny subjektů první menstruace (včetně pacientek s myomem), ale znovu menstruovat budou až po ukončení léčby. Po ukončení léčby ulipristal-acetátem se menstruační cykly obvykle obnoví v průběhu 4 týdnů. Ulipristal acetát působí přímo na myomy a zmenšuje jejich velikost inhibicí buněčné proliferace a indukci apoptózy.

Souhrn bezpečnostního profilu

Bezpečnost ulipristal-acetátu byla hodnocena u 602 žen s děložními myomy léčenými 5 mg nebo 10 mg ulipristal-acetátu ve studii fáze III. Nejčastěji byla při klinických zkouškách zjištěna amenorrhoea (80,8 %), což bylo u pacientek považováno za žádoucí výsledek. Velká většina nežádoucích účinků měla mírný nebo středně těžký průběh (93,6 %), spontánně ode-

zněla a nevedla k přerušení užívání léčivého přípravku (99,5 %). Nejčastěji pozorovaným nežádoucím účinkem byly návaly horka. Na základě sloučených dat ze 3 studií fáze III byly u pacientek s děložními myomy léčených po dobu 3 měsíců pozorovány následující nežádoucí účinky:

- *Zesílení endometria.* U 10–15 % pacientek bylo při užívání UPA pozorováno zesílení endometria (na konci léčby >16 mm, diagnostikováno pomocí ultrazvuku nebo magnetické rezonance). Po ukončení léčby a nastoupení menstruace dochází k obnovení původního stavu. Reverzibilní skupinově specifické histologické změny endometria jsou označovány jako změny endometria související s modulátorem progesteronového receptoru (PAEC) a liší se od hyperplazie endometria. Při odesílání vzorků k histologickému vyšetření po hysterektomii nebo biopsii endometria by měl být patolog informován o užívání ulipristal acetátu.
- *Návaly horka.* Návaly horka byly pozorovány u 9,8 % pacientek. Hodnoty se ale lišily u jednotlivých klinických hodnocení. Ve studii kontrolované aktivním komparátorem (leuprorelin) se vyskytovaly u 24 % pacientek léčených ulipristal acetátem (středně závažné nebo závažné projevy v 10,5 %) a u 60,4 % pacientek léčených leuprorelinem (středně závažné nebo závažné projevy ve 39,6 %). V placebo kontrolované studii byl výskyt návalů horka 1,0 % u ulipristal-acetátu a 0,0 % u placeba. V otevřené klinické studii fáze III byla frekvence návalů horka u ulipristal acetátu 4,3 %.
- *Ovariální cysty.* Funkční ovariální cysty byly pozorovány během léčby a po léčbě u 1,2 % pacientek a ve většině případů spontánně vymizely po několika týdnech.
- *Děložní krvácení.* Pacientky se silným menstruačním krvácením v důsledku přítomnosti děložních myomů jsou ohroženy nadměrným krvácením, které může vyžadovat chirurgický zásah. Bylo pozorováno několik případů v průběhu léčby ulipristal-acetátem nebo 2–3 měsíce po ukončení léčby.
- *Bolest hlavy.* Mírná nebo středně silná bolest hlavy byla pozorována u 6,8 % žen.

Preklinická data vztahující se k bezpečnosti UPA

Experimentální údaje získané na základě konvenčních farmakologických studií bezpečnosti, toxicity po opakovaném podávání a genotoxicity neodhalily žádné zvláštní riziko pro člověka. Nejvíce nálezů ve studiích obecné toxicity se týkalo působení na progesteronové receptory (a ve vyšších koncentracích na glukokortikoidové receptory) s antiprogesteronovou aktivitou pozorovanou v expozicích podobných terapeutickým hladinám. V 39 týdenní studii u makaků jávských nebyly při nízkém dávkování zjištěny histologické změny podobné změnám endometria souvisejícím s modulátorem progesteronového receptoru (PAEC).

Ulipristal-acetát je kvůli svému mechanismu účinku embryoletní u potkanů, králíků (v opakovaných dávkách nad 1 mg/kg), morčat a opic. Bezpečnost pro lidský plod není známa. V dávkách dostatečně nízkých k udržení březosti u zvířecích druhů, nebyl pozorován žádný teratogenní potenciál. Reprodukční studie provedené u potkanů při stejném dávkování jako je dávkování u člověka, nepřinesly žádné důkazy o snížení plodnosti v důsledku použití ulipristal acetátu u léčených zvířat ani jejich potomků. Studie karcinogenity s ulipristal acetátem provedeny nebyly.

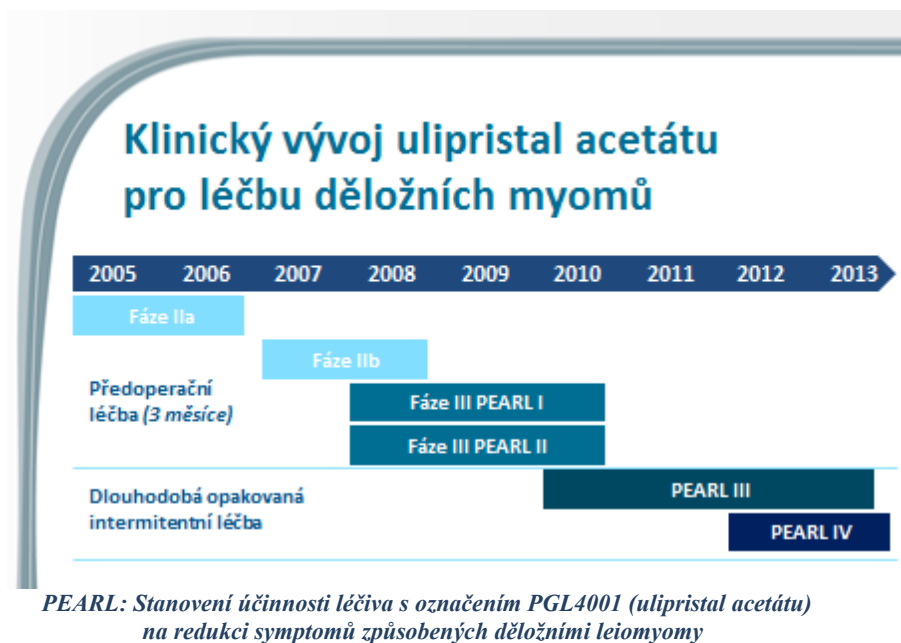
8.3. Multicentrické studie PEARL I, II, III, IV

Terapeutické účinky ulipristal-acetátu byly analyzovány v rámci mezinárodních, randomizovaných, multicentrických hodnocení. Probíhaly v letech 2008–2014 v zemích Evropské unie v souboru klinických studií **PEARL I–IV (PGL4001 Efficacy Assessment in Re-**

duction of symptoms due to uterine Leiomyomata). Zkoumaným preparátem byl PGL4001 (ulipristal acetát) v dávce 5 mg a 10 mg.

Výzkumný kolektiv pracovníků Gynekologicko-porodnické kliniky MU a FN Brno, pod vedením prim. MUDr. Roberta Hudečka, PhD (Principal investigator PEARL I, IV), se v letech 2008–2009 podílel na realizaci studie *PEARL I*. Práce byla koncipována jako mezinárodní, randomizované, multicentrické, dvojité zaslepené klinické hodnocení fáze III s paralelními skupinami, kontrolované placebem. Cílem bylo zjištění účinnosti a bezpečnosti léku PGL4001 při předoperační léčbě symptomatických děložních myomů v porovnání s placebem.

V letech 2012–2014 identický výzkumný kolektiv Gynekologicko-porodnické kliniky MU a FN Brno realizoval studii *PEARL IV*. Práce byla navržena jako multicentrická, randomizovaná, dvojité zaslepená klinická studie fáze III zkoumající účinnost a bezpečnost opakovaného 12 týdenního podávání denních dávek 5 mg a 10 mg přípravku PGL 4001 při dlouhodobé léčbě symptomatických děložních myomů (Obr. 8-3).



Obr. 8-3 Chronologie klinických hodnocení UPA – Studie PEARL

8.3.1. Studie PEARL I – PGL4001 versus placebo v léčbě děložních myomů

Randomizované, dvojité zaslepené, placebem kontrolované, multicentrické klinické hodnocení fáze III s paralelní skupinou, srovnávající účinnost a bezpečnost PGL4001 (ulipristal acetátu) s placebem v předoperační léčbě pacientek se symptomatickým děložním myomem.

Cíle hodnocení účinnosti

Primární cíl: Průkaz účinnosti PGL4001 (ulipristal acetát) při současném podávání železa oproti placebu se současným podáváním železa v redukci závažného děložního krvácení v předoperačním období a v redukci celkového nádorového objemu v předoperačním období.

Sekundární cíl: Průkaz účinnosti PGL4001 při současném podávání železa oproti placebu se současným podáváním železa v léčbě anémie způsobené děložním myomem, průkaz zmírnění symptomů souvisejících s myomem, např. bolesti a posouzení schopnosti PGL4001 snížit objem dělohy.

Výzkumné cíle: Stanovení podílu subjektů, u kterých byl v důsledku léčby indikován méně invazivní chirurgický zákrok, popřípadě bylo od operačního řešení zcela upuštěno. Stanovení podílu subjektů klinického hodnocení, jimž byla podána krevní transfúze, stanovení počtu transfúzí a množství převedené krve na osobu.

Cíle hodnocení bezpečnosti: Zhodnocení celkové bezpečnosti PGL4001 u pacientek s děložním myomem.

Cíle studie farmakokinetiky: Stanovení vztahu mezi plazmatickými hladinami PGL4001 (a jeho metabolitu PGL4002) a markery účinnosti jako amenoreou, skórem PBAC (Pictorial Bleeding Assessment Chart) a objemem děložního myomu.

Ukazatele účinnosti

Primární ukazatele účinnosti: Procento subjektů klinického hodnocení, u kterých došlo ke snížení děložního krvácení, definovaném jako skóre PBAC < 75 při závěrečné návštěvě (ve 13. týdnu). Dále změna v celkovém objemu nádoru mezi skrínigovou a závěrečnou návštěvou (ve 13. týdnu), hodnocená pomocí zobrazení magnetickou rezonancí (MRI).

Sekundární ukazatele účinnosti: Změny krvácení hodnocené pacientkami pomocí PBAC v 5., 9. a 13. týdnu oproti výchozímu stavu. Změny v množství hemoglobinu (Hb), hematokritu (Hkt) a ferritinu v 5., 9. a 13. týdnu oproti výchozím hodnotám. Procento subjektů klinického hodnocení s hodnotami Hb > 120 g/l a Hkt > 36% v 5., 9. a 13. týdnu. Procento subjektů klinického hodnocení s amenoreou 5., 9. a 13. týdnu. Procento subjektů klinického hodnocení s redukcí celkového objemu nádoru o více než 25 %, hodnoceno pomocí MRI ve 13. týdnu. Procento subjektů klinického hodnocení s redukcí objemu dělohy o více než 25 %, hodnoceno pomocí MRI ve 13. týdnu. Změna objemu dělohy hodnocena pomocí MRI ve 13. týdnu oproti výchozímu stavu. Změna v globálním skóre bolesti (dle krátkého McGillova dotazníku bolesti) v 5., 9. a 13. týdnu oproti výchozímu stavu. Změna symptomů spojených s děložním myomem ve 13. týdnu oproti výchozímu stavu (hodnocení dyskomfortu způsobeného děložním myomem pomocí dotazníku).

Výzkumné ukazatele účinnosti: Změna krvácení (zaznamenaná dle PBAC) mezi výchozím stavem a následným sledováním ve 26. a 38. týdnu u pacientek, které nepodstoupily ve 13. týdnu hysterektomii ani ablacii endometria. Změny množství hemoglobinu, hematokritu a ferritinu při návštěvě v 17. týdnu a následném sledování ve 26. a 38. týdnu. Amenorea hodnocena během následného sledování ve 26. a 38. týdnu u pacientek, které nepodstoupily ve 13. týdnu hysterektomii ani ablacii endometria. Změna objemu dělohy a celkového objemu nádoru hodnocena dle MRI mezi výchozím stavem a následným sledováním ve 26. a 38. týdnu u pacientek, které nepodstoupily ve 13. týdnu hysterektomii ani ablacii endometria. Změna v globálním skóre bolesti (dle krátkého McGillova dotazníku bolesti) při následném sledování ve 26. a 38. týdnu oproti výchozímu stavu. Změna symptomů spojených s děložním myomem při následném sledování ve 26. a 38. týdnu oproti výchozímu stavu (hodnocení dyskomfortu způsobeného děložními fibroidy pomocí dotazníku). Podíl subjektů klinického hodnocení, u kterých bylo upuštěno od chirurgického řešení vzhledem ke zmírnění symptomů. Podíl subjektů klinického hodnocení, které podstoupily méně invazivní chirurgický zákrok. Podíl subjektů klinického hodnocení, kterým byla podána krevní transfúze. Průměrný počet transfúzí na příjemce. Průměrný objem přenesené krve na příjemce.

Ukazatele bezpečnosti

Frekvence a závažnost nežádoucích účinků: Tloušťka endometria hodnocena pomocí MRI během skrínigové návštěvy a následného sledování ve 13., 26. a 38. týdnu u pacientek, které nepodstoupily ve 13. týdnu hysterektomii ani ablacii endometria.

Hladiny sérového estradiolu (E2), progesteronu (P4), adrenokortikotropního hormonu (ACTH), tyreostimulačního hormonu (TSH) a prolaktinu měřené ve výchozím stavu a při návštěvách v 5., 9., 13. a 17. týdnu. Hodnocení hematologických, biochemických, lipidových parametrů a glykémie při screeningové návštěvě, ve výchozím stavu a při návštěvách v 5., 9., 13. a 17. týdnu a během následného sledování ve 26. a 38. týdnu.

Ultrazvuk ovarii během návštěvy v 17. týdnu a ve 26. a 38. týdnu následného sledování, v případě, že byla během návštěvy ve 13. týdnu pomocí MRI zachycena abnormální ovaria a nebyla od té doby provedena ovariectomie.

Deformace děložní dutiny hodnocena pomocí MRI při screeningové návštěvě, návštěvě ve 13. týdnu a během následného sledování ve 26. a 38. týdnu (v případě, že nebyla provedena hysterectomie ve 13. týdnu).

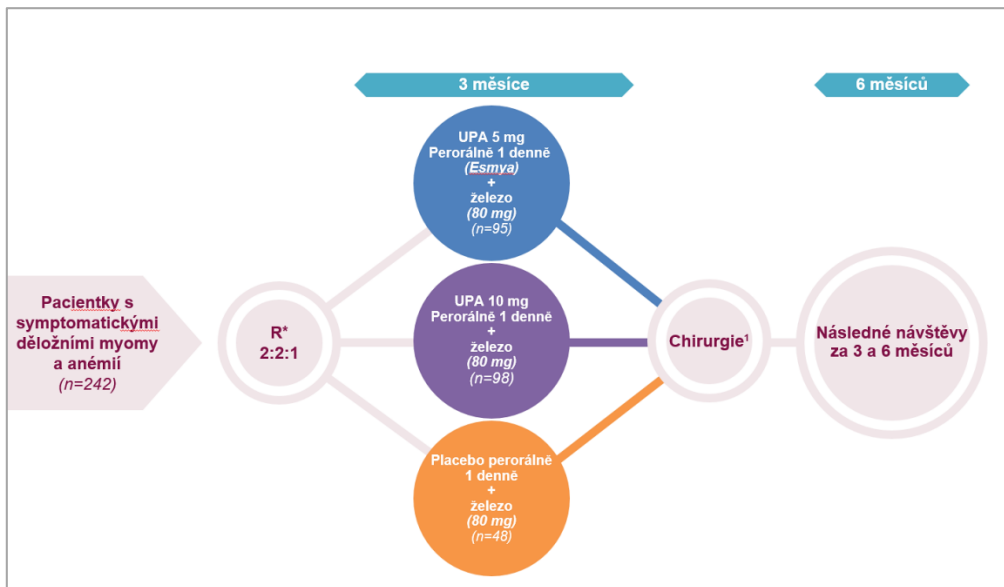
Biopsie endometria při screeningové návštěvě, návštěvě ve 13. týdnu (před chirurgickým výkonem) a během následného sledování v 38. týdnu (v případě, že nebyla během 13. týdne provedena hysterectomie ani ablace endometria).

Farmakokinetické ukazatele, plazmatické hladiny PGL4001 a PGL4002 před následující dávkou (pre-dose) ve výchozím stavu a během návštěvy v 5., 9. a 13. týdnu.

Design klinického hodnocení

Prospektivní, randomizované, dvojitě zaslepené, placebem kontrolované komparativní klinické hodnocení fáze III s paralelní skupinou ke zhodnocení účinnosti a bezpečnosti PGL4001 v předoperační léčbě pacientek se symptomatickým děložním myomem.

Subjekty klinického hodnocení byly randomizovány k perorálnímu užívání 5 mg PGL4001 nebo 10 mg PGL4001 nebo placebo 1x denně po dobu 13 týdnů spolu se současným denním perorálním podáváním 1 tablety obsahující 256,3 mg síranu železnatého (odpovídající 80 mg Fe²⁺), (Obr. 8-4).



* Randomizace v poměru 2:2:1, pouze pacientky způsobilé pro chirurgický zákrok

Obr. 8-4 Design klinického hodnocení PEARL I – Randomizované, dvojitě-zaslepené klinické hodnocení fáze III porovnávající ulipristal acetát (UPA) s placebem

Po ukončení 12–13 týdenní hodnocené léčby podstoupily subjekty klinického hodnocení hysterektomii, myomektomii, embolizaci a. uterina popř. ablaci endometria dle uvážení zkoušejícího.

Kritéria pro zařazení

Do klinického hodnocení byly zahrnuty premenopauzální pacientky ze třiceti center se symptomatickým děložním myomem, značným krvácením z dělohy a anémií, u kterých bylo k léčbě indikováno operační řešení (tj. hysterektomie, myomektomie, embolizace a. uterina popř. ablace endometria). Subjekty klinického hodnocení byly randomizovány do jedné ze tří skupin v poměru 2 : 2 : 1 k užívání: PGL4001 5 mg nebo PGL4001 10 mg nebo placebo. Parametry pro zařazení byly věk 18–50 let, PBAC skóre v 1.–8. dnu menstruace > 100, anémie v důsledku děložního myomu, definovanou jako $Hb \leq 102$ g/l a $Hkt \leq 30\%$, myomatózní děloha ≤ 16 týdnů, ultrazvukově verifikovaný alespoň 1 děložní myom ≥ 3 cm, ale nikoliv větším než 10 cm. Schopnost podstoupit operačních řešení: hysterektomie, myomektomie, embolizace a. uterina popřípadě ablace endometria v období 13–14 týdnů po návštěvě hodnotící výchozí parametry. Body Mass Index mezi 18 a 40.

Kritéria pro vyřazení

Chirurgický zákrok na děloze (kromě císařského řezu a cervikální konizace), ablace endometria anebo embolizace a. uterina v anamnéze, nádorové onemocnění dělohy, cervixu, ovarií nebo prsu, atypická hyperplazie endometria, onemocnění vyžadující krevní transfúzi, hladina $Hb \leq 60$ g/l, hemoglobinopatie, poruchy hemokoagulace. Přítomnost děložního polypu (>2 cm), ovariálních cyst o průměru ≥ 4 cm diagnostikovaných ultrazvukem.

Předchozí terapie pomocí SMPR (selektivní modulátory progesteronových receptorů) nebo GnRH antagonistů, předchozí terapie léky, které obsahují gestageny (systémově či intrauterinně) nebo orální kontraceptiva během posledního měsíce před skrínigovou návštěvou, kyselinu acetylsalicylovou anebo mefenamovou v posledním týdnu před skrínigovou návštěvou, systémové glukokortikoidy v posledním týdnu popř. depotní glukokortikoidy v posledních 2 měsících před skrínigovou návštěvou.

Abnormální jaterní testy při vstupu do klinického hodnocení (definované jako zvýšení aspartát transaminázy (AST), alanin transaminázy (ALT), gama-glutamyltransferázy (GMT), alkalické fosfatázy (ALP) či celkového bilirubinu nad dvojnásobek horní hranice normálních hodnot). Pozitivní těhotenský test, kojení anebo plánování těhotenství v době průběhu klinického hodnocení. Zneužívání návykových látek včetně alkoholu.

Hodnocený léčivý přípravek

PGL4001 (generický název: ulipristal-acetát) je steroidní látka [17 α -acetoxy-11 β -(4-N,N-dimethylaminofenyl)-19-norpregna-4,9-dien-3,20-dion], jejímž hlavním farmakodynamickým účinkem je reverzibilní blokáda progesteronových receptorů v cílových tkáních (uterus, cervix, ovaria, hypothalamus). Působí jako potentní, perorálně podávaný modulátor progesteronových receptorů. Náleží do skupiny léčiv známých jako SPRM.

Analýza dat a statistika

Všechny výchozí parametry (tj. data shromážděná před započítáním léčebné fáze), relevantní screeningová data a demografické charakteristiky byly shrnuty. Všechny ukazatele účinnosti a bezpečnosti byly analyzovány metodami deskriptivní statistiky pro každou hodnocenou skupinu zvlášť i společně.

Všechny prováděné statistické testy a intervaly spolehlivosti byly oboustranné. Byla použita 5% hladina statistické významnosti. Protože srovnání zahrnovalo 2 velikosti dávky, byly pro testování hypotézy a stanovení intervalů spolehlivosti použity Bonferroniho korekce. ITT (intent-to-treat) populace byla populace hlavního zájmu pro analýzu účinnosti.

Primární cíl, průkaz výjimečné účinnosti PGL4001 oproti placebo v redukci závažného děložního krvácení, byl hodnocen testováním nulové hypotézy, která udávala, že neexistuje rozdíl v počtu subjektů s PBAC < 75 při návštěvě po ukončení léčby (návštěvě ve 13. týdnu) mezi skupinou užívající PGL4001 a skupinou užívající placebo. Hypotéza byla testována pomocí Cochranova-Mantelova-Haenszelova testu.

Primární cíl, průkaz výjimečné účinnosti PGL4001 oproti placebo v redukci celkového nádorového objemu v předoperačním období, byl hodnocen testováním nulové hypotézy udávající, že neexistuje rozdíl ve změně celkového nádorového objemu (měřeném pomocí MRI) od screeningové návštěvy do návštěvy po ukončení léčby (ve 13. týdnu) mezi skupinou užívající PGL4001 a skupinou užívající placebo. Hypotéza byla testována prostřednictvím analýzy kovariance s opakovanými měřeními po logaritmické transformaci dat.

Výsledek byl brán jako úspěšný, pokud aspoň jeden z léčebných režimů 5 mg a 10 mg PGL4001 vedl ke statisticky významnému zlepšení obou primárních cílů oproti placebo.

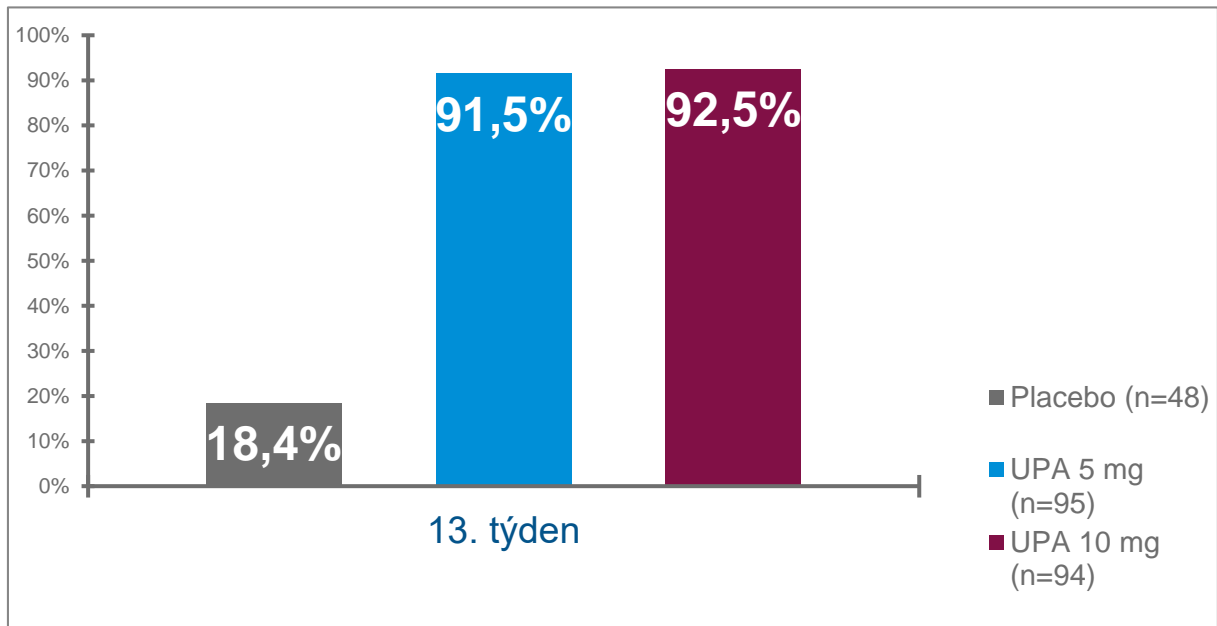
Výsledky

Klinická účinnost a bezpečnost

Výsledky klinické studie, zkoumající účinek a bezpečnost 3měsíčního podání fixních dávek 5 mg a 10 mg UPA v porovnání s placebem, popisují signifikantní snížení intenzity menstruačního krvácení (amenorea u 78 %, 82 % a 6 % pacientek ve skupinách 5 mg, 10 mg a placebo). Výsledkem toho byla rychlejší a účinnější úprava anémie oproti použití samotného železa. Podobně došlo u pacientek léčených UPA k významnější redukci velikosti myomů při hodnocení magnetickou rezonancí. Změna objemu myomů (o -21 %, -12 % a +3 % ve skupinách 5 mg, 10 mg a placebo) u pacientek léčených UPA v porovnání s placebem. Mezi nejčastější nežádoucí účinky léčby patřily bolesti hlavy a napětí v prsou.

Ve studii byl pozorován statisticky významný rozdíl ve snížení ztráty menstruační krve ve prospěch pacientek léčených UPA ve srovnání s placebem, rychlejší a účinnější úprava anémie než v případě použití samotného železa a významnější redukce velikosti myomů ve sledované skupině.

Procento pacientek*1s PBAC < 75

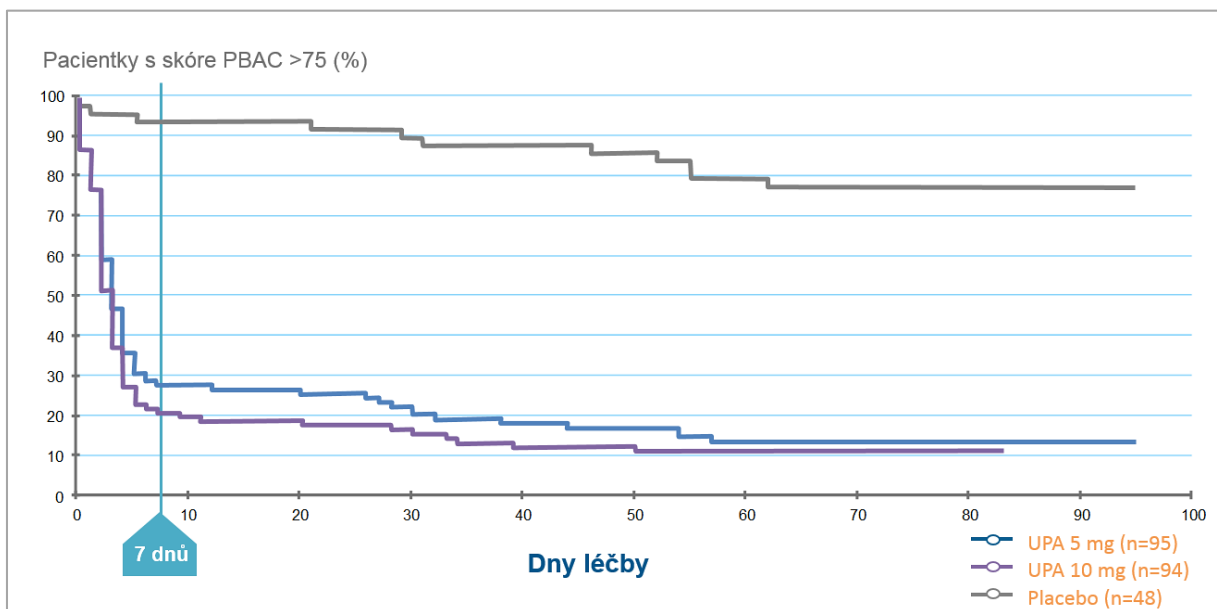


* p < 0, 001 vs. placebo, u všech pacientek bylo výchozí skóre PBAC > 100.

PBAC: Obrazový diagram hodnocení krvácení (Pictorial Bleeding Assessment Chart) **UPA:** ulipristal-acetát

Obr. 8-5 PEARL I - podíl pacientek s redukcí děložního krvácení v 13. týdnu terapie

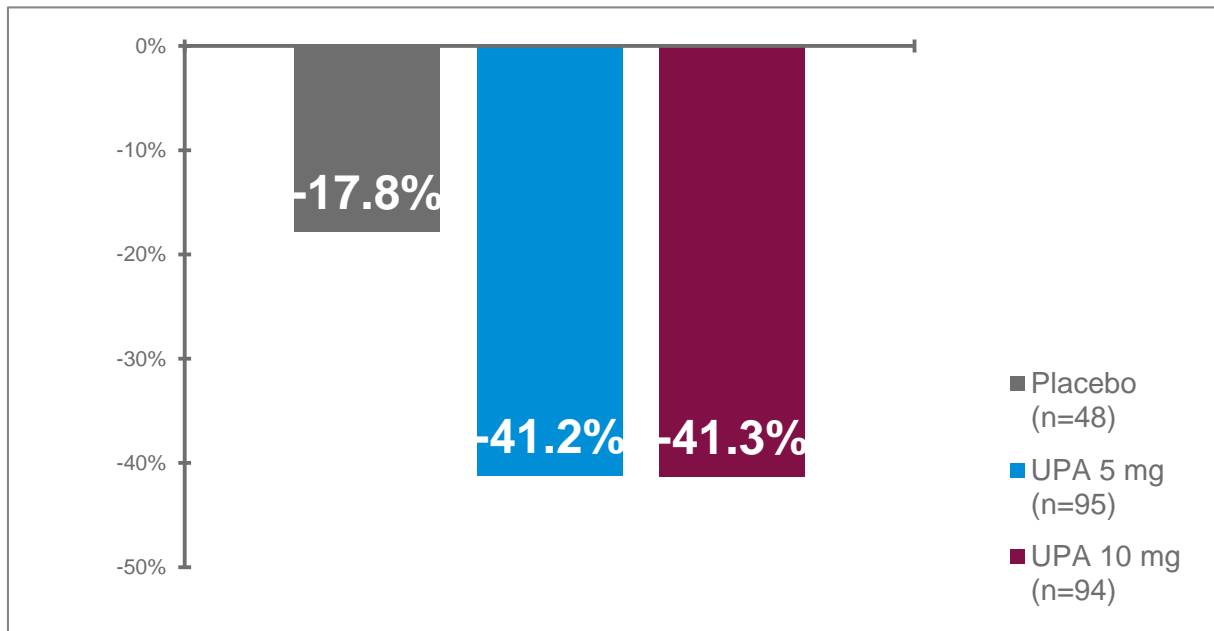
Čas do kontroly krvácení (PBAC < 75)



PBAC: Obrazový diagram hodnocení krvácení (Pictorial Bleeding Assessment Chart) **UPA:** Ulipristal-acetát

Obr. 8-6 PEARL I - čas do kontroly krvácení (PBAC < 75)

Procento pacientek, u kterých bylo dosaženo redukce celkového objemu myomu $\geq 25\%$

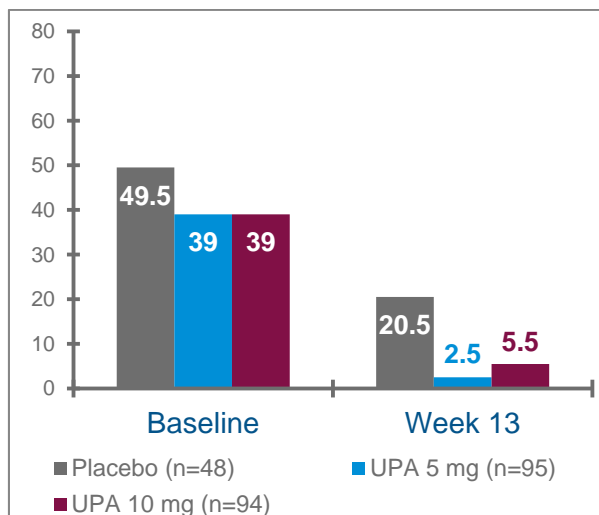


* Založeno na posouzení leuproreluinu úřadem FDA (hodnotící zpráva), PregLem považoval redukci objemu leiomyomu o nejméně 25% za klinicky významnou, $p = 0.01$ vs. placebo

Obr. 8-7 PEARL I – redukce celkového objemu myomu ($\geq 25\%$)

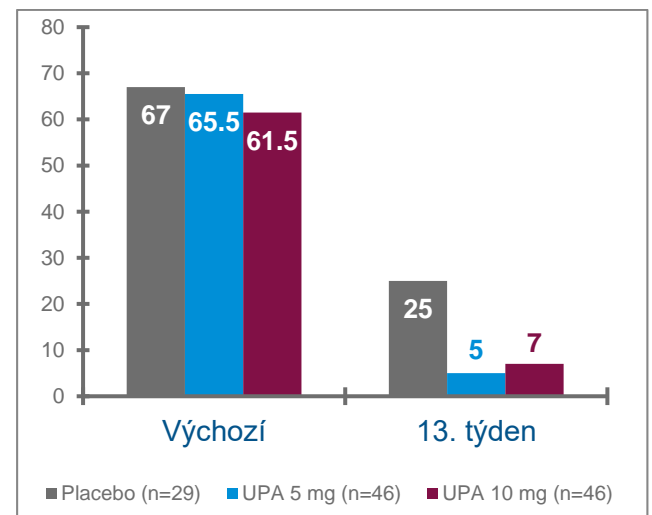
Všechny pacientky

Medián skóre VAŠ v mm



Podskupina se střední / velkou bolestí *

Průměrné skóre VAŠ v mm

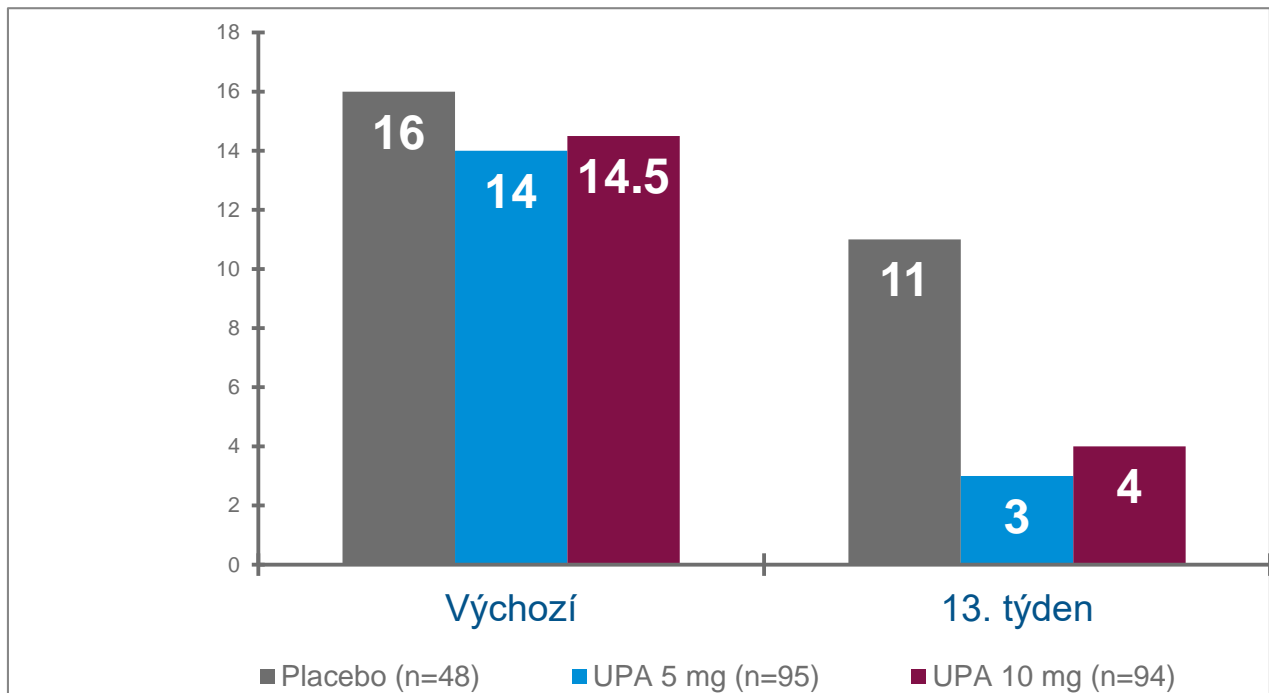


* Podskupina zahrnuje pouze pacientky s výchozím skóre VAŠ vyšším než 40

1. Melzack R. *The short-form McGill Pain Questionnaire*. Pain, 1987; 30: 191-197

Obr. 8-8 PEARL I - hodnocení bolesti dle VAŠ, rozmezí 0–100

Efekt léčby na kvalitu života



* $p \leq 0,001$ Změna od výchozí hodnoty 1. Menší číslo znamená lepší hodnotu (menší nepohodlí)

Obr. 8-9 PEARL I – hodnocení kvality života, rozmezí 0–28

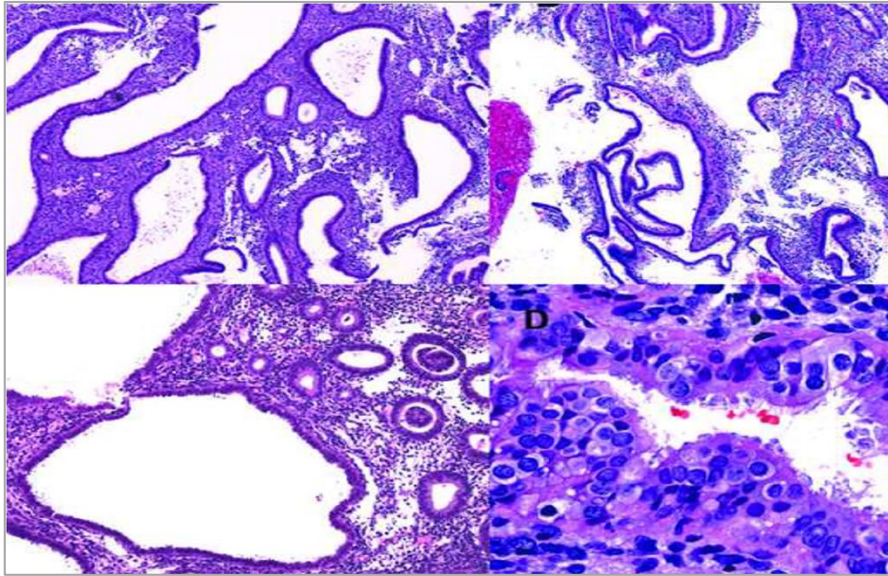
Kontroly krvácení bylo dosaženo u 91,5 % patientek léčených pomocí UPA (Obr. 8-5) a nástup účinku kontroly krvácení byl u většiny patientek dosažen během 7 dnů od zahájení léčby (Obr. 8-6). Klinicky významná redukce objemu myomu u patientek léčených pomocí UPA oproti placebo (Obr. 8-7) byla provázena větší redukcí bolesti (Obr. 8-8). Stupeň redukce bolesti o 28 mm je srovnatelný s redukcí pooperační bolesti dosažené s pomocí narkotických nebo nenarkotických analgetik. Kvalita života měřena dotazníkem jako míra dyskomfortu způsobeného děložními myomy (rozmezí 0–28) zahrnovala 7 otázek (každá se skórem 0-4) zaměřených na krvácení, tlak v břiše, frekvenci močení, denní aktivitu, náladu, sexuální aktivitu a únavu. Kvalita života byla ve skupině patientek léčených UPA signifikantně lepší oproti kontrolní skupině s placebem (Obr. 8-9).

Výsledky přímého účinku na endometrium

Důsledkem terapie UPA jsou specifické histologické změny označované jako *změny endometria související s modulátorem progesteronového receptoru (PAEC)*, (Obr. 8-10). Obvykle jsou histologicky zjištěny neaktivní a slabě proliferující epitelové buňky. Je pozorována asymetrie růstu stromální a epitelové složky, vedoucí k vyčnívajícím cysticky dilatovaným žlázkám s kombinací estrogenových (mitotických) a progestinových (sekrečních) epitelálních účinků. Významné znaky jsou nízká mitotická aktivita jak ve žlázách, tak ve stromatu, abortivní subnukleární vakuoly, absence rozpadu stromální tkáně, zhušťování žlázek a apoptóza. Cysticky rozšířené žlásky jsou lemovány plochým epitelem bez přítomnosti pseudostratifikace jader.

Takový obraz byl popisován u 62 % a 57 % pacientek léčených ulipristal acetátem po dobu 3 měsíců (5 mg, resp. 10 mg). Tyto změny jsou po ukončení léčby vratné a vymizí po návratu menstruace. PAEC změny by neměly být zaměňovány za hyperplazii endometria. V bioptických vzorcích endometria byly zachyceny pouze benigní změny charakterizované nízkou mitotickou aktivitou a přítomností apoptózy. Za 6 měsíců po ukončení léčby došlo ke kompletnímu vymizení těchto změn u všech pacientek.

Ulipristal-acetát tedy, v tříměsíčním podání před plánovaným operačním zákrokem, vede k signifikantní redukci menstruačního krvácení, objemové redukci myomu a léčba není spojena s klinicky významnými vedlejšími účinky [6].



Prof. A. Williams. Lékařská fakulta, Univerzita v Edinburghu

Obr. 8-10 Výsledky Studie PEARL I – histologie endometria a hlavní znaky PAEC

ORIGINAL ARTICLE

Ulipristal Acetate versus Placebo for Fibroid Treatment before Surgery

Jacques Donnez, M.D., Ph.D., Tetyana F. Tatarchuk, M.D., Ph.D.,
Philippe Bouchard, M.D., Lucian Puscasiu, M.D., Ph.D.,
Nataliya F. Zakharenko, M.D., Ph.D., Tatiana Ivanova, M.D., Ph.D.,
Gyula Ugozsai, M.D., Ph.D., Michal Mara, M.D., Ph.D., Manju P. Jilla, M.B., B.S., M.D.,
Elke Bestel, M.D., Paul Terrill, Ph.D., Ian Osterloh, M.R.C.P.,
and Ernest Loumaye, M.D., Ph.D., for the PEARL I Study Group*

ABSTRACT

BACKGROUND

The efficacy and safety of oral ulipristal acetate for the treatment of symptomatic uterine fibroids before surgery are uncertain.

METHODS

We randomly assigned women with symptomatic fibroids, excessive uterine bleeding (a score of >100 on the pictorial blood-loss assessment chart [PBAC, an objective assessment of blood loss, in which monthly scores range from 0 to >500, with higher numbers indicating more bleeding]) and anemia (hemoglobin level of ≤ 10.2 g per deciliter) to receive treatment for up to 13 weeks with oral ulipristal acetate at a dose of 5 mg per day (96 women) or 10 mg per day (98 women) or to receive placebo (48 women). All patients received iron supplementation. The coprimary efficacy end points were control of uterine bleeding (PBAC score of <75) and reduction of fibroid volume at week 13, after which patients could undergo surgery.

RESULTS

At 13 weeks, uterine bleeding was controlled in 91% of the women receiving 5 mg of ulipristal acetate, 92% of those receiving 10 mg of ulipristal acetate, and 19% of those receiving placebo ($P < 0.001$ for the comparison of each dose of ulipristal acetate with placebo). The rates of amenorrhea were 73%, 82%, and 6%, respectively, with amenorrhea occurring within 10 days in the majority of patients receiving ulipristal acetate. The median changes in total fibroid volume were -21% , -12% , and $+3\%$ ($P = 0.002$ for the comparison of 5 mg of ulipristal acetate with placebo, and $P = 0.006$ for the comparison of 10 mg of ulipristal acetate with placebo). Ulipristal acetate induced benign histologic endometrial changes that had resolved by 6 months after the end of therapy. Serious adverse events occurred in one patient during treatment with 10 mg of ulipristal acetate (uterine hemorrhage) and in one patient during receipt of placebo (fibroid protruding through the cervix). Headache and breast tenderness were the most common adverse events associated with ulipristal acetate but did not occur significantly more frequently than with placebo.

CONCLUSIONS

Treatment with ulipristal acetate for 13 weeks effectively controlled excessive bleeding due to uterine fibroids and reduced the size of the fibroids. (Funded by PregLem; ClinicalTrials.gov number, NCT00755755.)

Reprinted from THE NEW ENGLAND JOURNAL OF MEDICINE (ISSN 0028-4793) Vol. 366:409-420 (February 2, 2012).
Copyright © 2012 Massachusetts Medical Society. All rights reserved.
Printed in the U.S.A. Fax: (781) 893-8103 www.nejm.org

From Cliniques Universitaires Saint-Luc Catholic University of Louvain, Brussels (J.D.); the Department of Endocrine Gynecology, Kiev City Clinical Hospital No. 16 (T.F.T.), and the Department of Gynecology, Kiev City Clinical Hospital No. 9 (N.F.Z.) — both in Kiev, Ukraine; Hôpital St. Antoine, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris and University Paris 6, Paris (P.B.); Spitalul Clinic Judetean de Urgenta, Sectia de Obstetrica Ginecologie I, Targu Mures, Romania (L.P.); Kursk State Medical University, Kursk, Russia (T.I.); Dr. Bugyi Istvan Hospital of Szentes, Department of Obstetrics and Gynecology, Szentes, Hungary (G.U.); Department of Obstetrics and Gynecology, 1st Faculty of Medicine of Charles University, Prague, Czech Republic (M.M.); Dr. Jilla Hospital, Aurangabad, India (M.P.J.); PregLem, Geneva (E.B., E.L.); and MDSL International, Maidenhead (P.T.), and OsterMed, Birmingham (I.O.) — both in the United Kingdom. Address reprint requests to Dr. Donnez at the Saint-Luc Catholic University of Louvain, Av. Hippocrate 10, Brussels 1200, Belgium, or at jacques.donnez@uclouvain.be.

*Members of the PGL4001 (Ulipristal Acetate) Efficacy Assessment in Reduction of Symptoms Due to Uterine Leiomyomata (PEARL I) study group are listed in the Supplementary Appendix, available at NEJM.org.

Drs. Donnez and Tatarchuk contributed equally to this article.

N Engl J Med 2012;366:409-20.
Copyright © 2012 Massachusetts Medical Society.

UTERINE LEIOMYOMAS, OR FIBROIDS, ARE benign, hormone-sensitive, smooth-muscle tumors that occur in 20 to 40% of women of reproductive age.^{1,2} The most common symptoms are menorrhagia and iron-deficiency anemia, which may lead to chronic fatigue³ that may not be adequately controlled with iron supplementation alone.⁴⁻⁶ Other symptoms include pelvic pain, dysmenorrhea, and pressure effects, which may adversely affect quality of life and fertility.⁷⁻¹⁰

Many patients require intervention, and the choice of treatment is guided by the patient's age and desire to preserve fertility and avoid hysterectomy.¹⁰ Fibroids are the most common indication for hysterectomy.¹ Other treatments include myomectomy, hysteroscopic removal, uterine-artery embolization, and various other interventions performed under radiologic guidance.^{10,11}

Medical therapies are also available, but these therapies have limitations. Gonadotropin-releasing hormone (GnRH) agonists can be used as bridging or presurgical treatments and create an artificial menopausal state, resulting in reversible reduction of uterine and fibroid volume and aiding in the correction of anemia¹²⁻¹⁶; however, GnRH agonists frequently cause hot flashes, and the use of these drugs is approved only for short-term therapy because of safety concerns (loss of bone mineral density). Progestins are often associated with breakthrough bleeding that limit their use,¹⁷ and they may promote proliferation of fibroids.¹⁸⁻²¹ The levonorgestrel-releasing intrauterine system can be used in patients who do not have large uteri distorted by fibroids, but irregular bleeding is frequent, expulsion of the intrauterine device is more common than in women without fibroids, and the effect on fibroid volume is controversial.²²

The role of progesterone in promoting the growth of fibroids has stimulated interest in modulating the progesterone pathway. Results from small pilot studies and other uncontrolled trials in which selective progesterone-receptor modulators such as asoprisnil, mifepristone, telapristone, and ulipristal acetate were used have suggested the potential benefit of these agents in patients with fibroids.²³⁻²⁶

Ulipristal acetate is a selective progesterone-receptor modulator that acts on progesterone receptors in myometrial and endometrial tissue and inhibits ovulation without causing large effects on estradiol levels or antiglucocorticoid activity.^{27,28}

In two small, phase 2 studies (one involving 18 patients and one involving 38 patients), a 3-month course of ulipristal acetate at a dose of 10 mg per day or 20 mg per day reduced abnormal bleeding and significantly decreased fibroid volume; there was no advantage of the 20-mg dose over the 10-mg dose. We conducted the PGL4001 (Ulipristal Acetate) Efficacy Assessment in Reduction of Symptoms Due to Uterine Leiomyomata (PEARL I) trial to determine the effects of 5 mg of ulipristal acetate per day and 10 mg of ulipristal acetate per day on uterine bleeding and fibroid volume in women with symptomatic fibroids who were planning to undergo surgery.

METHODS

STUDY DESIGN AND OVERSIGHT

We conducted this randomized, parallel-group, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial from October 2008 through August 2010 at 38 academic research centers in six countries. The study was approved by the independent ethics committee at each participating site and was conducted in accordance with the International Conference on Harmonization Good Clinical Practice guidelines. The original protocol, amendments, and statistical analysis plan are available with the full text of this article at NEJM.org. The study was designed by the sponsor (PregLem) with involvement of the academic investigators and trial statistician. The data were collected by an independent contract research organization (ICON Clinical Research) and were handled and analyzed by an independent data management organization (MDSL International). The first and subsequent drafts of the manuscript were prepared by the first author, with editorial support that was funded by the sponsor, and all the authors made the decision to submit the manuscript for publication. The first author vouches for the accuracy of the data and the analyses and for the fidelity of the study to the protocol.

STUDY POPULATION

Women 18 to 50 years of age were eligible if they met the following criteria: a score on the pictorial blood-loss assessment chart (PBAC, in which monthly scores range from 0 to >500, with higher numbers indicating more bleeding) higher than 100 during days 1 to 8 of menstruation; fibroid-related anemia, defined as a hemoglobin level of

10.2 g per deciliter or lower without macrocytosis; a myomatous uterus with a size equivalent to that of a uterus at 16 weeks or less of gestation; at least one fibroid that was 3 cm or more in diameter, but with no fibroid measuring more than 10 cm in diameter, as measured by ultrasonography; and a body-mass index (the weight in kilograms divided by the square of the height in meters) of 18 to 40. All patients were eligible to undergo fibroid surgery after the end of the treatment period. Written informed consent was obtained from all patients. The main exclusion criteria are listed in Table 1 in the Supplementary Appendix, available at NEJM.org.

RANDOMIZATION AND INTERVENTION

Patients were randomly assigned, in a 2:2:1 ratio, to receive 5 mg of ulipristal acetate per day, 10 mg of ulipristal acetate per day, or placebo (one pill per day, provided by PregLem). Randomization was stratified according to the hematocrit level at screening ($\leq 28\%$ or $>28\%$) and race (black or other). The investigator assigned patients to a study group with the use of a Web-integrated interactive voice-response system. Study materials and medication packaging were identical for all three groups.

Treatment was initiated during the first 4 days of menstruation. All patients received 80 mg of iron supplementation (256.3 mg of ferrous sulfate [Tardyferon, Pierre Fabre Pharma]) once daily during the active-treatment phase. In addition, iron could be prescribed during the screening and follow-up periods at the discretion of the investigator.

After week 13, patients could undergo surgery according to the clinical judgment of the investigator, but no further pharmacologic treatment of fibroids was administered. Follow-up visits were conducted at weeks 17, 26, and 38.

ASSESSMENT OF UTERINE BLEEDING

Menstrual bleeding was assessed with the use of the PBAC,²⁹ a validated method used to objectively estimate blood loss. Monthly scores range from 0 (amenorrhea) to more than 500, with higher numbers indicating more bleeding. Patients were provided with standardized sanitary materials and recorded the numbers of tampons or pads they used and the extent of soiling with blood (see the Supplementary Appendix for a sample PBAC and an example of the calculation of the score). Men-

orrhagia was defined as a PBAC score of more than 100 during one menstrual period, which corresponds to a blood loss of more than 80 ml. A PBAC score of 400 corresponds to a blood loss of approximately 300 ml or the use of approximately 80 tampons or pads.²⁹

At screening, patients were taught to use the PBAC and were asked to complete it daily throughout the treatment period up to week 13 and for 28 days preceding the post-treatment follow-up visits at weeks 26 and 38. The PBAC score for a 4-week period was calculated from the sum of daily PBAC results for 28 days.

END POINTS

The coprimary efficacy end points were the percentage of patients with a reduction in uterine bleeding at week 13, defined as a PBAC score (summed over the preceding 28-day period) of less than 75, and the change in total fibroid volume from screening to week 13, as assessed by magnetic resonance imaging (MRI) and read centrally by a radiologist who was unaware of the study-group assignments. The total fibroid volume was the sum of the individual fibroid volumes.

Secondary end points included the bleeding pattern (consecutive 28-day PBAC scores); amenorrhea (PBAC 28-day score of ≤ 2 at weeks 9 and 13); reduction in uterine and fibroid volume (i.e., the percentages of women with at least a 25% reduction); changes in hemoglobin, hematocrit, and ferritin levels; pain, as measured with the use of the Short-Form McGill Pain Questionnaire³⁰ (which includes a questionnaire on which scores range from 0 to 45, with higher scores indicating more severe pain, as well as a visual-analogue scale ranging from 0 to 100, with higher scores indicating more severe pain); and quality of life (as measured by a questionnaire assessing discomfort associated with uterine fibroids (in which scores range from 0 to 28, with higher scores indicating more discomfort; see the Supplementary Appendix). The efficacy analyses were based on the 13-week measurements; results from additional time points are reported in the Supplementary Appendix.

ASSESSMENT OF ADVERSE EVENTS

The frequency and severity of adverse events (spontaneously reported or elicited by the investigators with the use of nonleading questions) were record-

Table 1. Baseline Characteristics of the Modified Intention-to-Treat Population.*

Characteristic	Placebo (N=48)	Ulipristal Acetate, 5 mg (N=95)	Ulipristal Acetate, 10 mg (N=94)
Age — yr	41.6±5.6	41.2±5.9	42.0±5.6
Race — no. (%)†			
White	41 (85)	84 (88)	85 (90)
Asian	7 (15)	11 (12)	9 (10)
Weight — kg	64.7±12.5	70.1±13.6	67.2±10.3
Body-mass index‡	24.6±4.4	25.9±4.6	25.0±4.0
PBAC score§			
Median	376	386	330
Interquartile range	241–608	235–627	235–537
Total fibroid volume at screening — cm ³			
Median	61.9	100.7	96.7
Interquartile range	24.8–158.9	40.0–205.3	31.7–181.3
Fibroid type — no./total no. (%)¶			
Submucosal	25/45 (56)	50/89 (56)	41/82 (50)
Intramural	36/45 (80)	58/89 (65)	59/82 (72)
Subserosal	9/45 (20)	25/89 (28)	33/82 (40)
Subserosal only	1/45 (2)	4/89 (4)	5/82 (6)
Uterine volume at screening — cm ³			
Median	318.8	337.6	325.6
Interquartile range	216.0–496.3	236.1–502.8	212.6–453.3
Uterine cavity deformation — no./total no. (%)	41/47 (87)	75/92 (82)	65/88 (74)
Hemoglobin — g/dl	9.55±1.18	9.32±1.50	9.46±1.57
Assessment of pain			
Short-Form McGill Pain Questionnaire			
Median	8.5	6.5	8.0
Interquartile range	3.0–18.0	3.0–15.0	4.0–16.0
Visual-analogue scale**			
Median	49.5	39.0	39.0
Interquartile range	16.5–74.0	15.0–64.0	19.0–60.0
Measurement of discomfort questionnaire††			
Median	16.0	14.0	14.5
Interquartile range	13.5–18.0	10.0–19.0	11.0–18.0

* Plus-minus values are means ±SD. There were no significant differences in baseline characteristics between either ulipristal group and the placebo group.

† Race was determined by the site investigator.

‡ The body-mass index is the weight in kilograms divided by the square of the height in meters.

§ The pictorial blood-loss assessment chart (PBAC) is a validated method used to objectively estimate blood loss.

¶ Monthly scores range from 0 (amenorrhea) to more than 500, with higher numbers indicating more bleeding.

|| Patients could have more than one type of fibroid.

** Scores on the Short-Form McGill Pain Questionnaire range from 0 to 45, with higher scores indicating more severe pain.

†† Scores on the measurement of discomfort questionnaire range from 0 to 28, with higher scores indicating greater discomfort.

ed on standard forms at every visit up to the visit at week 17. Serious adverse events were recorded up to week 38. In addition, adverse events occurring more than 4 weeks after the end of the treatment period were recorded if they were considered to be related to the protocol or study drug or involved uterine hemorrhage. Endometrial thickness was measured by MRI at screening, at week 13, and (if

ULIPRISTAL ACETATE VS. PLACEBO FOR FIBROIDS

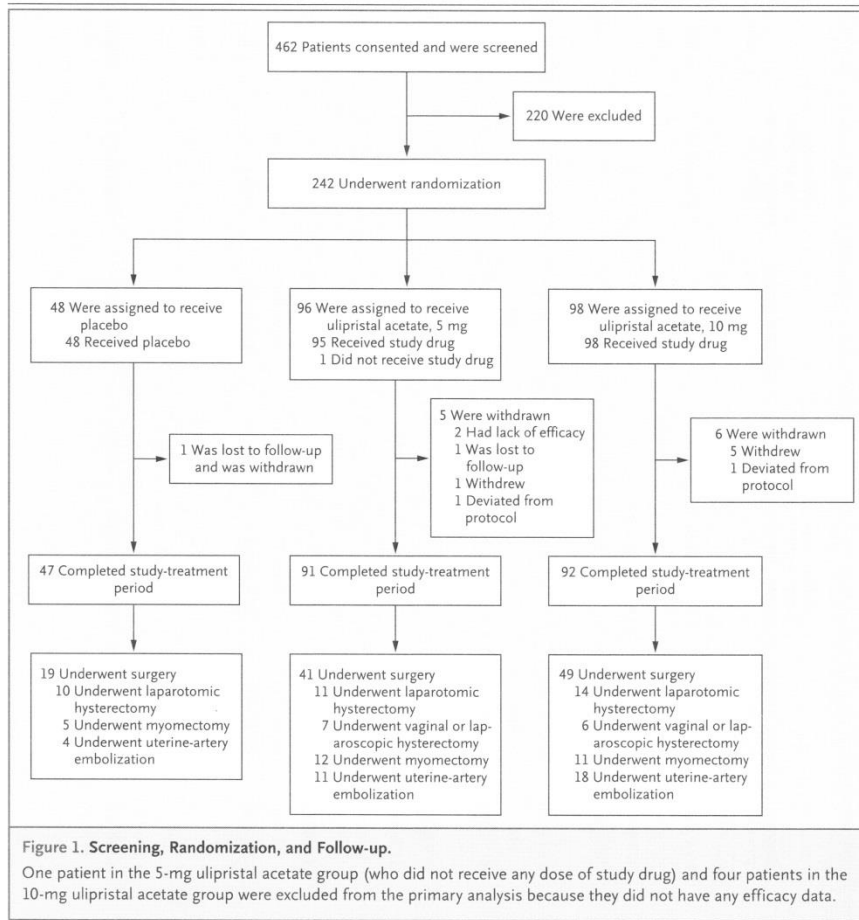


Figure 1. Screening, Randomization, and Follow-up.

One patient in the 5-mg ulipristal acetate group (who did not receive any dose of study drug) and four patients in the 10-mg ulipristal acetate group were excluded from the primary analysis because they did not have any efficacy data.

no hysterectomy or endometrial ablation was performed) at weeks 26 and 38.

OTHER ASSESSMENTS

Endometrial biopsy samples were obtained at screening, at week 13, and at week 38 if no hysterectomy or endometrial ablation was performed. All biopsy samples were processed at a central location and were assessed by three independent pathologists who were unaware of the study-group assignments, the visit sequence, and one another's assessment. Assessments were made according to standard diagnostic criteria³¹ and terminology for nonphysiological endometrial changes (progesterone-receptor modulator-associated endometrial

changes), as described previously by Mutter and colleagues.³²

Serum estradiol, progesterone, corticotropin, thyrotropin, and prolactin levels were measured at baseline and at weeks 5, 9, 13, and 17; hematologic, coagulation, and biochemical variables and lipid and glucose levels were measured at all visits. The follicle-stimulating hormone level was measured at baseline and at week 13.

STATISTICAL ANALYSIS

Efficacy analyses were performed according to the intention-to-treat principle. We excluded one patient in the 5-mg ulipristal acetate group who was withdrawn before she received any study drug. All

Table 2. Key Efficacy End Points in the Modified Intention-to-Treat Population.*

End Point	Placebo (N=48)	Ulipristal Acetate, 5 mg (N=95)	Difference, 5 mg Ulipristal Acetate—Placebo (95% CI)†	P Value	Ulipristal Acetate, 10 mg (N=94)	Difference, 10 mg Ulipristal Acetate—Placebo (95% CI)‡	P Value
Primary end points at wk 13							
PBAC <75 — no./total no. (%)	9/48 (19)	86/94 (91)	73 (55 to 83)	<0.001	86/93 (92)	74 (56 to 84)	<0.001
% Change from screening in total fibroid volume‡							
Median	3.0	-21.2	-22.6 (-36.1 to -8.2)	0.002	-12.3	-18.2 (-33.0 to -5.2)	0.006
Interquartile range	-19.7 to 23.0	-41.2 to -1.1			-39.1 to 4.3		
Secondary end points							
Baseline PBAC							
Median	376	386			330		
Interquartile range	241 to 608	235 to 627			235 to 537		
Wk 9–12 PBAC							
Median	336	0			0		
Interquartile range	115 to 543	0 to 5			0 to 0		
Change from baseline to wk 9–12 in PBAC							
Median	-59	-329	-291 (-399 to -194)	<0.001	-326	-287 (-371 to -198)	<0.001
Interquartile range	-216 to 58	-571 to -205			-527 to -226		
Amenorrhea, PBAC ≤2, at wk 9–12 — no./total no. (%)							
Total reduction ≥25% in fibroid volume at wk 13 — no./total no. (%)	3/48 (6)	69/94 (73)	67 (50 to 77)	<0.001	76/93 (82)	76 (59 to 84)	<0.001
% Change from screening in uterine volume at wk 13	8/45 (18)	35/85 (41)	23 (4 to 39)	0.01	33/80 (41)	24 (4 to 39)	0.01
Median	5.9	-12.1		0.001§	-12.0		0.003§
Interquartile range	-3.8 to 18.4	-28.3 to 2.9			-27.7 to 6.1		
Reduction in uterine volume ≥25% at wk 13 — no./total no. (%)							
	3/47 (6)	30/88 (34)	28 (11 to 40)	<0.001	24/85 (28)	22 (6 to 35)	0.006

ULIPRISTAL ACETATE VS. PLACEBO FOR FIBROIDS

Hemoglobin — g/dl					
Baseline	9.55±1.18	9.32±1.50	9.46±1.57		
Wk 13	12.61±1.30	13.50±1.32	13.60±1.18		
Change from baseline to wk 13	3.10±1.68	4.25±1.90	4.20±1.83	1.00 (0.48 to 1.52)	<0.001
Pain assessment with Short-Form McGill Pain Questionnaire					
Baseline					
Median	8.5	6.5	8.0		
Interquartile range	3.0 to 18.0	3.0 to 15.0	4.0 to 16.0		
Wk 13					
Median	4.2	1.0	1.0		
Interquartile range	1.0 to 10.0	0.0 to 4.0	0.0 to 4.0		
Change from baseline to wk 13					
Median	-2.5	-5.0	-5.6	-3.0 (-5.0 to 0.0)	0.04
Interquartile range	-6.3 to 1.0	-8.0 to -2.0	-11.0 to -2.0		
Measurement of discomfort questionnaire					
Baseline					
Median	16.0	14.0	14.5		
Interquartile range	13.5 to 18.0	10.0 to 19.0	11 to 18		
Wk 13					
Median	11.0	3.0	4.0		
Interquartile range	4.0 to 15.0	1.0 to 7.0	2.0 to 7.0		
Change from baseline to wk 13					
Median	-6.0	-9.0	-11.0	-4.0 (-7.0 to -2.0)	<0.001
Interquartile range	-9.0 to -2.0	-13.0 to -6.0	-14.0 to -5.0		

* All confidence intervals and P values have been adjusted for multiplicity (Bonferroni correction) because two doses of ulipristal acetate were compared with placebo (i.e., P values were multiplied by 2). PBAC denotes pictorial blood-loss assessment chart.
 † The differences in categories with numbers and percents are percentage-point differences. The differences in categories with medians and interquartile ranges are differences in medians, as calculated with the use of the Hodges-Lehmann estimator.
 ‡ The percent change from screening in total fibroid volume was assessed in 45 patients in the placebo group, 85 patients in the 5-mg ulipristal acetate group, and 80 patients in the 10-mg ulipristal acetate group.
 § The statistical testing was performed on log-transformed data.

the statistical tests were two-sided, with a 5% level of significance. Since the planned analyses involved comparisons of two doses of ulipristal acetate with placebo, a Bonferroni correction was used (all P values were doubled). No further adjustments for multiplicity have been made, since the efficacy outcome for each dose group was considered to be successful only if there were significant improvements over placebo in both coprimary efficacy end points. In general, missing values were imputed for the statistical analyses with the use of the last available post-baseline value up to the time point of interest. We performed a sensitivity analysis that included four patients, all in the 10-mg ulipristal acetate group, who did not have any efficacy data while receiving treatment, using baseline data carried forward.

The percentages of patients with a PBAC of less than 75 at week 13 were compared with the use of a Cochran–Mantel–Haenszel test (with adjustment for randomization strata), with confidence intervals calculated with the use of the Newcombe–Wilson score method (uncorrected).³³ Additional binary end points were analyzed in a similar way. For the coprimary end point of the change in total fibroid volume, the data did not meet the assumptions of parametric tests and were analyzed with the use of the van Elteren extension to the Wilcoxon rank-sum test with adjustment for randomization strata, with the Hodges–Lehmann estimator (and corresponding Moses confidence interval) used for the differences in medians.³⁴ The changes from baseline in PBAC scores and in pain assessments were analyzed in a similar way. Data on uterine volume were log-transformed and were evaluated with the use of an analysis of covariance; hemoglobin and hematocrit values were analyzed with the use of a repeated-measures analysis of covariance, with adjustment for the value at screening and for randomization strata in all analyses.

The estimations of the sample size were based on the end point of change in fibroid volume, since more subjects were needed to show a significant treatment-related difference between the active-treatment groups and the placebo group for this end point than for the bleeding end point. Assuming a 10% dropout rate, we estimated that 240 patients would have to undergo randomization (96 in each ulipristal acetate group and 48 in the placebo group) for the study to have 90% power to show a significant between-group difference, assuming an average difference of –0.1 (approximately 20% change from baseline) in the change

in \log_{10} total fibroid volume between the ulipristal acetate groups and the placebo group and a between-patient standard deviation of 0.15.

RESULTS

PATIENTS

The baseline characteristics of the modified intention-to-treat population are shown in Table 1. There were no significant differences between the ulipristal acetate groups and the placebo group. The screening, randomization, and follow-up of the patients are shown in Figure 1.

PRIMARY EFFICACY END POINTS

Menstrual bleeding was controlled in 91% of the women who received 5 mg of ulipristal acetate and in 92% of the women who received 10 mg of ulipristal acetate, as compared with only 19% of the women who received placebo ($P < 0.001$ for the comparison of each ulipristal acetate group with the placebo group) (Table 2). There were statistically and clinically significant reductions in fibroid volumes in both ulipristal acetate groups as compared with the placebo group (Table 2). Further analyses in the modified intention-to-treat population (with baseline data carried forward) and in the per-protocol population (all patients who completed the assigned regimen without major deviations from the protocol) showed similar results (see the Supplementary Appendix).

SECONDARY END POINTS

There were large reductions in bleeding (median changes in PBAC score of >300) in the patients who received either dose of ulipristal acetate, whereas there was little change in the patients who received placebo ($P < 0.001$ for the comparison of each ulipristal acetate group with the placebo group at weeks 5 to 8 and 9 to 12). The majority of patients in the ulipristal acetate groups, but few patients in the placebo group, had amenorrhea after 4 weeks of receipt of the study drug ($P < 0.001$ for the comparison of each ulipristal acetate group with the placebo group). Approximately 50% of the patients in the 5-mg ulipristal acetate group and 70% of the patients in the 10-mg group became amenorrheic within the first 10 days (Fig. 2). Excessive bleeding was rapidly controlled (as defined by subsequent PBAC scores that were always <75) by day 8 in more than 75% of the patients receiving ulipristal acetate, as compared with 6% receiving placebo (Fig. 2).

ULIPRISTAL ACETATE VS. PLACEBO FOR FIBROIDS

The percentage of patients with a hemoglobin level higher than 12 g per deciliter and a hematocrit level higher than 36% increased over time in all groups. Hemoglobin and hematocrit levels were significantly higher in both ulipristal acetate groups than in the placebo group at all time points after the initiation of treatment (see the Supplementary Appendix).

A significantly greater percentage of patients in both ulipristal acetate groups than in the placebo group had a reduction in fibroid volume of at least 25% ($P=0.01$) and a reduction in uterine volume of at least 25% at week 13 ($P<0.001$ for the difference in volumes with 5 mg of ulipristal acetate as compared with placebo, and $P=0.006$ for the difference in volumes with 10 mg of ulipristal acetate as compared with placebo). As compared with placebo, both doses of ulipristal acetate led to reductions in pain (especially moderate or severe pain), as measured with the use of the Short-Form McGill Pain Questionnaire (Table 2, and the Supplementary Appendix).

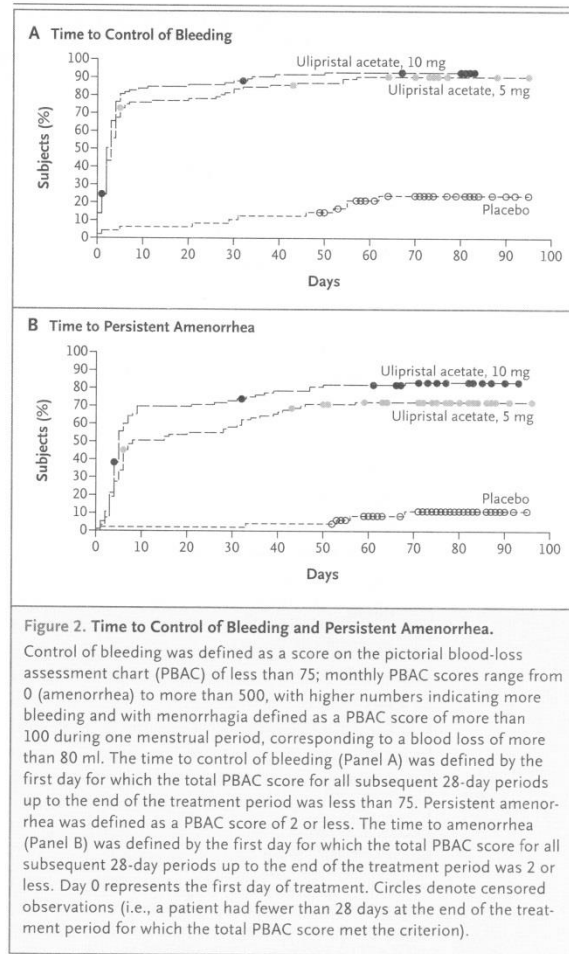
EFFICACY EVALUATIONS AFTER WEEK 13

Approximately half the patients in each group underwent fibroid surgery after completing the study-treatment phase (see Fig. 1 for the numbers and types of surgeries performed). Efficacy results for patients who did not undergo surgery during the post-treatment follow-up phase are provided in the Supplementary Appendix. Menstruation occurred at a mean of 30 days after the end of treatment with ulipristal acetate.

SAFETY AND SIDE-EFFECT PROFILE

The rate of the occurrence of any adverse events did not differ significantly among the three groups. Headache and pain, discomfort, or tenderness in the breasts were the most common adverse events in the ulipristal acetate groups, but the events did not occur significantly more frequently in these groups than in the placebo group (Table 3). The rate of hot flashes was low (<3%) in all groups.

Two serious adverse events occurred during the treatment period: one event of a fibroid protruding through the cervix (in the placebo group) and one event of uterine hemorrhage (in the 10-mg ulipristal acetate group). Three serious adverse events occurred within 1 month after the beginning of the follow-up period: one diagnosis of breast cancer (in the placebo group) and one event each of ovarian hemorrhage and uterine hemorrhage (both in the 5-mg ulipristal acetate group). Two serious



adverse events occurred during further follow-up to 6 months: one event of menometrorrhagia (in the placebo group) and one event of uterine hemorrhage (in the 10-mg ulipristal acetate group) (Table 3).

Levels of low-density and high-density lipoprotein cholesterol rose during the treatment period in all groups; the increases were slightly greater in the ulipristal acetate groups than in the placebo group, but they were modest in all groups (see the Supplementary Appendix). There were no consistent significant differences in glucose, estradiol, corticotropin, or prolactin levels between the ulipristal acetate groups and the placebo

Table 3. Adverse Events in the Safety Population.*

Event	Placebo (N=48)	Ulipristal Acetate, 5 mg (N=95) <i>number of patients (percent)</i>	Ulipristal Acetate, 10 mg (N=98)
At least one serious adverse event	3 (6)	2 (2)	2 (2)
Serious adverse event during treatment period	1 (2)	0	1 (1)
Uterine hemorrhage	0	0	1 (1)
Fibroid protruding through cervix	1 (2)	0	0
Serious adverse event within 4 wk after treatment period	1 (2)	2 (2)	0
Uterine hemorrhage	0	1 (1)	0
Breast cancer	1 (2)	0	0
Ovarian hemorrhage	0	1 (1)	0
Serious adverse event from wk 17 to wk 38	1 (2)	0	1 (1)
Menometrorrhagia	1 (2)	0	0
Uterine hemorrhage	0	0	1 (1)
Adverse event leading to discontinuation of study drug†	1 (2)	1 (1)	1 (1)
At least one adverse event‡	22 (46)	47 (49)	52 (53)
Headache	2 (4)	4 (4)	10 (10)
Breast pain, tenderness, or discomfort	0	2 (2)	6 (6)
Abdominal pain	2 (4)	2 (2)	3 (3)
Pyrexia	2 (4)	3 (3)	2 (2)
Hypercholesterolemia	1 (2)	3 (3)	2 (2)
Hypothyroidism	0	2 (2)	4 (4)
Constipation	1 (2)	4 (4)	0
Hypertriglyceridemia	1 (2)	3 (3)	1 (1)
Influenza	1 (2)	1 (1)	3 (3)
Dizziness	0	1 (1)	3 (3)
Nasopharyngitis	0	3 (3)	0
Dysmenorrhea	2 (4)	0	0

* All serious adverse events and adverse events occurring in at least 3% of the patients in any group are included. Patients could have more than one adverse event of the same type. There were no significant differences between either ulipristal acetate group and the placebo group for any adverse event, with two-sided P values calculated with the use of Fisher's exact test and no adjustment for multiplicity.

† The adverse events leading to discontinuation of the study drug were breast cancer (one patient in the placebo group), endometrial changes (one patient in the 5-mg ulipristal acetate group, with the event initially reported by the local laboratory as hyperplasia but later diagnosed as benign endometrium by three pathologists who were unaware of the study-group assignments), and ovarian cyst (one patient in the 10-mg ulipristal acetate group).

‡ Adverse events with onset at or after the first dose of study drug and on or before the last assessment date of week 17 (4 weeks after the end of the treatment period) are included.

group. Estradiol levels after treatment with ulipristal acetate were generally consistent with midfollicular-phase levels for a premenopausal woman (60 to 150 pg per milliliter). There was no significant difference among the groups in the incidence of abnormal liver-function tests or mean endometrial thickness. A minority of patients re-

ceiving ulipristal acetate had endometrial thickness greater than 16 mm at week 13; this condition had reversed in all cases by week 26 or 38 (see the Supplementary Appendix).

At week 13, endometrial-biopsy samples that were assessed centrally revealed no malignant or premalignant lesions or hyperplasia; nonphysio-

logical endometrial changes were observed more frequently in the 5-mg and 10-mg ulipristal acetate groups than in the placebo group (62%, 57%, and 6%, respectively). At week 38 (6 months after the end of the treatment phase), these changes had disappeared; there was one case of complex atypical hyperplasia in the placebo group.

DISCUSSION

In this randomized, double-blind, placebo-controlled trial, oral ulipristal acetate at a dose of 5 mg per day or 10 mg per day was effective in controlling excessive bleeding and shrinking fibroids in patients who had severe bleeding and associated anemia at baseline. Treatment with ulipristal acetate, as compared with placebo, also resulted in clinically significant increases in hemoglobin and hematocrit levels and reductions in self-reported pain and discomfort due to fibroids.

Current medical therapies for fibroids have limitations.^{4,35} Although treatment with a GnRH agonist before surgery results in a lower frequency of midline incisions, a greater likelihood of vaginal, as compared with abdominal, hysterectomy, and a reduction in intraoperative blood loss, GnRH agonists cause side effects such as hot flashes and atrophic vaginitis that may reduce adherence to therapy.¹²

Pilot and phase 2 trials have previously suggested a benefit of selective progesterone-receptor modulators for the treatment of fibroids.²³⁻²⁶ This phase 3 trial involving women with fibroid-related anemia confirms and extends the findings of prior, smaller studies.^{24,25}

Heavy menstrual bleeding is a major cause of doctor visits and lost work days.⁶ In this study, bleeding was controlled within 8 days after the beginning of the treatment period in the majority of patients in the ulipristal acetate groups but in few patients in the placebo group. Anemia was corrected from week 5 on in significantly more

patients in the ulipristal acetate groups than in the placebo group. With iron supplementation, anemia was eventually corrected in most patients in the placebo group, despite ongoing bleeding. However, iron supplements may have adverse events, and absorption is variable.³⁶

Treatment with ulipristal acetate reduced fibroid volume without suppressing estradiol levels, which were in the midfollicular range in the ulipristal acetate groups. In contrast, GnRH agonists substantially reduce estrogen levels, with associated risks of bone loss³⁷ and hot flashes.³⁸ In our study, the frequency of hot flashes was similar in the ulipristal acetate and placebo groups.

Previous studies involving women treated with ulipristal acetate for up to 6 months identified cases of progesterone-receptor modulator-associated endometrial changes, including cystic glandular alterations,^{24,27,32} but reversibility was not investigated. In this study, nonphysiological endometrial changes were observed more frequently in patients receiving ulipristal acetate than in patients receiving placebo, but these changes had resolved by the time of the follow-up assessment 6 months after the end of the treatment period.

A limitation of this study is that the duration of treatment was restricted to 13 weeks. More data are needed to inform the benefits and risks of long-term treatment with ulipristal acetate. Our study focused on preoperative treatment but was not designed to evaluate possible treatment-related differences in surgical outcomes.

In conclusion, treatment with ulipristal acetate (at a dose of 5 mg or 10 mg) for 13 weeks before planned surgery was effective in controlling bleeding, decreasing fibroid volume, and reducing discomfort in women with menorrhagia and anemia.

Disclosure forms provided by the authors are available with the full text of this article at NEJM.org.

We thank Venkat Ramanan of PregLem for coordinating the manuscript writing with the support of Arthur Smyth Medina, Tove Anderson, and Nigel Eastmond of Darwin Healthcare Communications.

REFERENCES

1. Wallach EE, Vlahos NF. Uterine myomas: an overview of development, clinical features, and management. *Obstet Gynecol* 2004;104:393-406.
2. Jacoby VL, Fujimoto VY, Giudice LC, Kuppermann M, Washington AE. Racial and ethnic disparities in benign gynecologic conditions and associated surgeries. *Am J Obstet Gynecol* 2010;202:514-21.
3. Evans P, Brunsell S. Uterine fibroid tumors: diagnosis and treatment. *Am Fam Physician* 2007;75:1503-8.
4. Marret H, Fauconnier A, Chabbert-Buffet N, et al. Clinical practice guidelines on menorrhagia: management of abnormal uterine bleeding before menopause. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2010;152:133-7.
5. Van Voorhis B. A 41-year-old woman with menorrhagia, anemia, and fibroids: review of treatment of uterine fibroids. *JAMA* 2009;301:82-93.
6. Collins J, Crosignani PG. Endometrial bleeding. *Hum Reprod Update* 2007;13:421-31.
7. Practice Committee of American Society for Reproductive Medicine in collaboration with Society of Reproductive Sur-

ULIPRISTAL ACETATE VS. PLACEBO FOR FIBROIDS

- geons. Myomas and reproductive function. *Fertil Steril* 2008;90:5 Suppl:S125-S130.
8. Somigliana E, Vercellini P, Daguati R, Pasin R, De Giorgi O, Crosignani PG. Fibroids and female reproduction: a critical analysis of the evidence. *Hum Reprod Update* 2007;13:465-76.
 9. Kolankaya A, Arici A. Myomas and assisted reproductive technologies: when and how to act? *Obstet Gynecol Clin North Am* 2006;33:145-52.
 10. Donnez J, Jadoul P. What are the implications of myomas on fertility? A need for a debate? *Hum Reprod* 2002;17:1424-30.
 11. Dubuisson JB, Chapron C, Fauconnier A, Babaki-Fard K. Laparoscopic myomectomy fertility results. *Ann N Y Acad Sci* 2001;943:269-75.
 12. Lethaby A, Vollenhoven B, Sowter M. Pre-operative GnRH analogue therapy before hysterectomy or myomectomy for uterine fibroids. *Cochrane Database Syst Rev* 2001;CD000547.
 13. Donnez J, Schruers B, Gillerot S, Sandow J, Clerckx F. Treatment of uterine fibroids with implants of gonadotropin-releasing hormone agonist: assessment by hysterography. *Fertil Steril* 1989;51:947-50.
 14. Campo S, Garcea N. Laparoscopic myomectomy in premenopausal women with and without preoperative treatment using gonadotropin-releasing hormone analogues. *Hum Reprod* 1999;14:44-8.
 15. Dubuisson JB, Fauconnier A, Fourchotte V, Babaki-Fard K, Coste J, Chapron C. Laparoscopic myomectomy: predicting the risk of conversion to an open procedure. *Hum Reprod* 2001;16:1726-31.
 16. Rossetti A, Sizzi O, Soranna L, Cucinelli F, Mancuso S, Lanzone A. Long-term results of laparoscopic myomectomy: recurrence rate in comparison with abdominal myomectomy. *Hum Reprod* 2001;16:770-4.
 17. Scialli AR, Jestila KJ. Sustained benefits of leuprolide acetate with or without subsequent medroxyprogesterone acetate in the nonsurgical management of leiomyomata uteri. *Fertil Steril* 1995;64:313-20.
 18. Nisolle M, Gillerot S, Casanas-Roux F, Squifflet J, Berliere M, Donnez J. Immunohistochemical study of the proliferation index, oestrogen receptors and progesterone receptors A and B in leiomyomata and normal myometrium during the menstrual cycle and under gonadotropin-releasing hormone agonist therapy. *Hum Reprod* 1999;14:2844-50.
 19. Yin P, Lin Z, Reierstad S, et al. Transcription factor KLF11 integrates progesterone receptor signaling and proliferation in uterine leiomyoma cells. *Cancer Res* 2010;70:1722-30.
 20. Carr BR, Marshburn PB, Weatherall PT, et al. An evaluation of the effect of gonadotropin-releasing hormone analogs and medroxyprogesterone acetate on uterine leiomyomata volume by magnetic resonance imaging: a prospective, randomized, double blind, placebo-controlled, crossover trial. *J Clin Endocrinol Metab* 1993;76:1217-23.
 21. Kim JJ, Sefton EC. The role of progesterone signaling in the pathogenesis of uterine leiomyoma. *Mol Cell Endocrinol* 2011 June 6 (Epub ahead of print).
 22. Zapata LB, Whiteman MK, Tepper NK, Jamieson DJ, Marchbanks PA, Curtis KM. Intrauterine device use among women with uterine fibroids: a systematic review. *Contraception* 2010;82:41-55.
 23. Levens ED, Potlog-Nahari C, Armstrong AY, et al. CDB-2914 for uterine leiomyomata treatment: a randomized controlled trial. *Obstet Gynecol* 2008;111:1129-36.
 24. Nieman LK, Blocker W, Nansel T, et al. Efficacy and tolerability of CDB-2914 treatment for symptomatic uterine fibroids: a randomized, double-blind, placebo-controlled, phase IIb study. *Fertil Steril* 2011;95:767.e1-772.e1.
 25. Chabbert-Buffet N, Meduri G, Bouchard P, Spitz IM. Selective progesterone receptor modulators and progesterone antagonists: mechanisms of action and clinical applications. *Hum Reprod Update* 2005;11:293-307.
 26. Spitz IM. Progesterone antagonists and progesterone receptor modulators: an overview. *Steroids* 2003;68:981-93.
 27. Chabbert-Buffet N, Pintiaux-Kairis A, Bouchard P. Effects of the progesterone receptor modulator VA2914 in a continuous low dose on the hypothalamic-pituitary-ovarian axis and endometrium in normal women: a prospective, randomized, placebo-controlled trial. *J Clin Endocrinol Metab* 2007;92:3582-9.
 28. Attardi BJ, Burgenson J, Hild SA, Reel JR, Blye RP. CDB-4124 and its putative monodemethylated metabolite, CDB-4453, are potent antiprogesterins with reduced antigluccorticoid activity: in vitro comparison to mifepristone and CDB-2914. *Mol Cell Endocrinol* 2002;188:111-23.
 29. Higham JM, O'Brien PM, Shaw RW. Assessment of menstrual blood loss using a pictorial chart. *Br J Obstet Gynaecol* 1990;97:734-9.
 30. Melzack R. The Short-Form McGill Pain Questionnaire. *Pain* 1987;30:191-7.
 31. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration Center for Drug Evaluation and Research. Guidance for industry: estrogen and estrogen/progestin drug products to treat vasomotor symptoms and vulvar and vaginal atrophy symptoms — recommendations for clinical evaluation: draft guidance (<http://www.fda.gov/downloads/Drugs/DrugSafety/InformationbyDrugClass/UCM135338.pdf>).
 32. Mutter GL, Bergeron C, Deligdisch L, et al. The spectrum of endometrial pathology induced by progesterone receptor modulators. *Mod Pathol* 2008;21:591-8.
 33. Newcombe RG. Interval estimation for the difference between independent proportions: comparison of eleven methods. *Stat Med* 1998;17:873-90. [Erratum, *Stat Med* 1999;18:1293.]
 34. Hollander M, Wolfe DA. Nonparametric statistical methods. New York: John Wiley, 1973:75-82.
 35. Viswanathan M, Hartmann K, McKoy N, et al. Management of uterine fibroids: an update of the evidence. *Evid Rep Technol Assess (Full Rep)* 2007;154:1-122.
 36. Disorders of iron metabolism: iron deficiency and iron overload. In: Hoffman R, Benz E, Shattil S, et al. Hematology: basic principles and practice. 5th ed. New York: Churchill Livingstone, 2008:453-68.
 37. Spitz IM, Grunberg SM, Chabbert-Buffet N, Lindenberg T, Gelber H, Sitruk-Ware R. Management of patients receiving long-term treatment with mifepristone. *Fertil Steril* 2005;84:1719-26.
 38. Matta WH, Shaw RW, Nye M. Long-term follow-up of patients with uterine fibroids after treatment with the LHRH agonist buserelin. *Br J Obstet Gynaecol* 1989;96:200-6.

Copyright © 2012 Massachusetts Medical Society.

This Supplementary Appendix has been provided by the authors to give the readers additional information about their work. Its content may not have undergone peer review.

Contributors:

David H. Barlow, Christine Bergeron, Elke Bestel, Vitaly Bezhenar, Philippe Bouchard, Doru-Ioan Craiut, Roman Chmel, Valeriu Cornea, Jacques Donnez, Hema Divakar, Mihai Cristian Dumitrascu, Bart CJM Fauser, Alex Ferenczy, Irina Y. Ganzhiy, Laszlo Hagymasy, Robert Hudecek, Decebal Hudita, Alexey Ilin, Tatiana Ivanova, Vijayaraghavan Jaya, Manju P. Jilla, Richard Kay, Eduard Komlichenko, Alla G. Kornatska, Mikhail Korshunov, Victor Kostenko, Valentina P. Kvashenko, Ádám László, Veronique Lecomte, Ernest Loumaye, Marketa Mannering, Michal Mara, Jo Marshall, Klim McPherson, Mihaly Molnar, Edward Morris, Ian Osterloh, Sadhana Patwardhan, Norbert W. Paul, Tatyana V. Pekhno, Valentin O. Potapov, Lucian Puscasiu, Vira I. Pyrogova, Ivan Reich, Chaitanya Shembekar, Pal Siklos, Zsolt Szeberenyi, Virginia Tarlea, Tetyana F. Tatarчук, Paul Terrill, Marat Tugushev, Rajani Uday, Gyula Ugocsai, Alistair R.W. Williams, Nataliya F. Zakharenko, Dominique de Ziegler, and Tatiana Zykova.

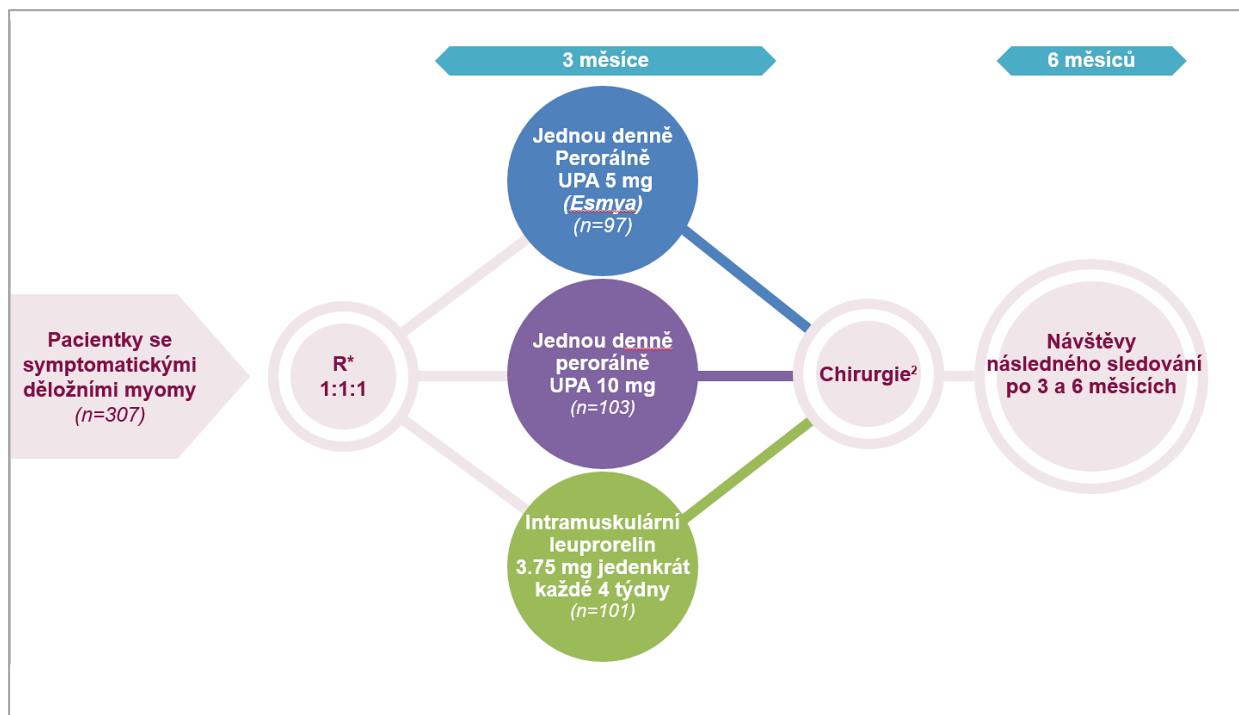
8.3.2. Studie PEARL II - PGL4001 versus leuprorelin v léčbě děložního myomu

Randomizované, dvojitě zaslepené, multicentrické, aktivním komparátorem kontrolované, klinické hodnocení fáze III s paralelní skupinou, srovnávající účinnost a bezpečnost PGL4001 (ulipristal-acetátu) s leuprorelinem 3,75 mg v předoperační léčbě pacientek se symptomatickým děložním myomem.

Toto klinické hodnocení probíhalo paralelně se studií PEARL I mimo Gynekologicko-porodnickou kliniku MU a FN Brno.

Cíl studie

Cílem studie PEARL II bylo vyhodnocení účinnosti a bezpečnosti fixních dávek ulipristal acetátu 5 mg a 10 mg podávaných jednou denně v porovnání s aktivním komparátorem – leuprorelin 3,75 mg podávaným jednou za měsíc intramuskulární injekcí.



* randomizace v poměru 1:1:1

1. **GnRHa:** agonista Gonadotropin-Releasing Hormonu
2. Pouze pacientky způsobilé k chirurgickému výkonu

Obr. 8-11 PEARL II – design klinické hodnocení srovnávající UPA s GnRHa

Materiál a metodika

V poměru 1 : 1 : 1 bylo ve studii PEARL II randomizováno celkem 307 subjektů. Skupina 97 subjektů s fixní dávkou ulipristal-acetátu 5 mg podávaných jednou denně, skupina 103 subjektů s fixní dávkou ulipristal-acetátu 10 mg podávaných jednou denně a skupina 101 subjektů s aktivním komparátorem, leuprorelin 3,75 mg, podávaným jednou za měsíc intramuskulární injekcí.

Parametry menstruace

V obou těchto studiích byla ztráta krve menstruací vyhodnocena pomocí obrazového grafu hodnocení krvácení (PBAC, Pictorial Bleeding Assessment Chart). Hodnota PBAC > 100 během prvních 8 dní menstruace byla považována za nadměrnou ztrátu menstruační krve. Hodnocen byl medián času do kontroly krvácení (PBAC < 75).

Velikost myomů

Dále byla hodnocena změna celkového objemu třech největších myomů a celkového objemu dělohy od fáze screeningu po ukončení 12týdenní terapie. Velikost tří největších myomů byla vyhodnocována pomocí ultrasonografie na konci léčby (13. týden) a po dobu dalších 25 týdnů bez léčby u pacientek, u kterých nebyla provedena hysterektomie nebo myomektomie.

Algické projevy

Hodnocení algických projevů v souvislosti s myomatózou bylo sledováno pomocí dynamiky skóre dle VAŠ (rozmezí 0–100).

Nežádoucí účinky

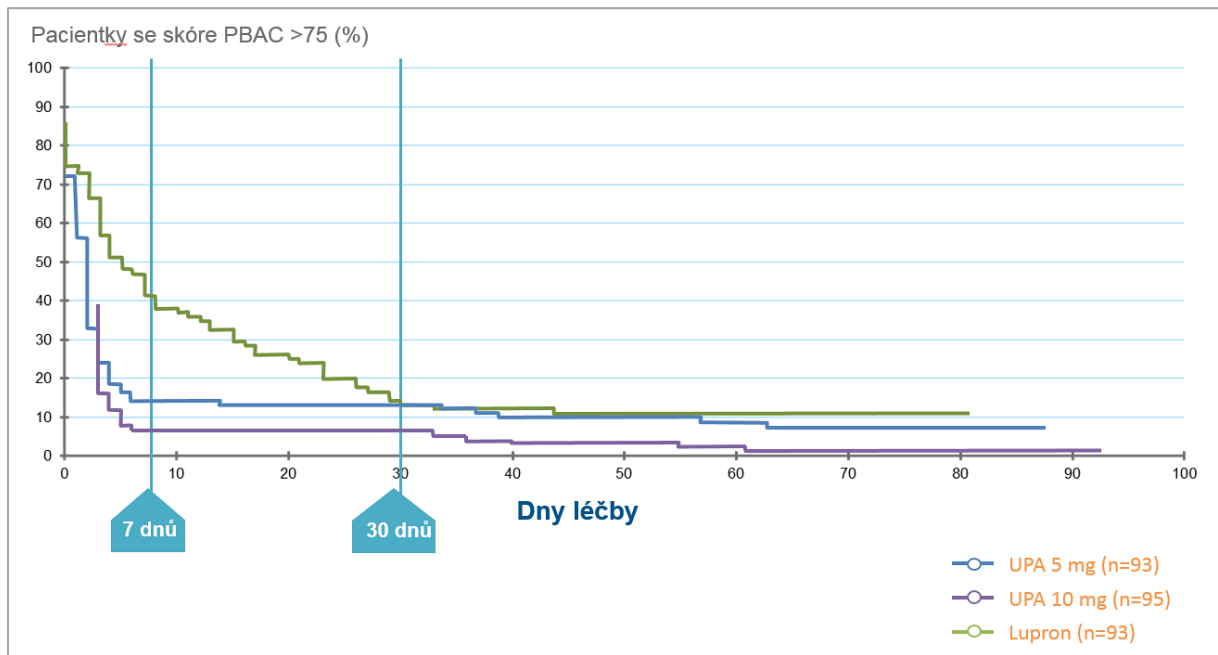
Incidence nežádoucích účinků terapie byla hodnocena prostřednictvím sledování změn hladiny estradiolu v séru na konci léčby a prostřednictvím sledování podílu pacientek hlásících střední až závažné návaly horka v 13. týdnu terapie.

Výsledky

Parametry menstruace

V klinickém hodnocení PEARL II byla redukce ztráty menstruační krve u pacientek léčených ulipristal-acetátem 90 % a 98 % (5 mg a 10 mg) a leuprorelinem 89 % srovnatelná. Většina pacientek léčených ulipristal acetátem přestala během prvního týdne léčby krvácet (amenorea). Rychlý nástup účinku UPA byl charakteristický tím, že krvácení bylo kontrolováno u většiny pacientek již během 7 dnů (UPA 5 mg) nebo 5 dnů (UPA 10 mg) od začátku léčby oproti 30 dnům v případě GnRHa (Obr. 8-12).

Čas do kontroly krvácení (PBAC < 75)



Obr. 8-12 PEARL II – hodnocení času do kontroly krvácení (PBAC <75)

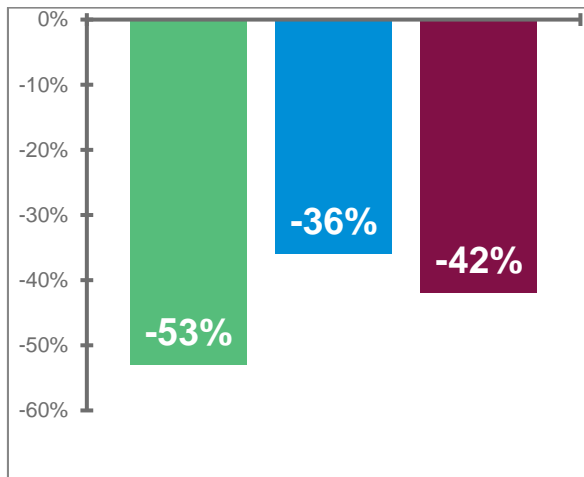
Velikost myomů

Ve všech sledovaných skupinách bylo registrováno zmenšení velikosti myomů. Tato redukce objemu dělohy a myomů byla non-inferiorní pro skupiny UPA vůči GnRH α . Po skončení terapie u pacientek původně léčených ulipristal acetátem byla objemová redukce velikosti myomů zachována po celé období follow-up fáze (šest měsíců).

U pacientek léčených leuprorelinem došlo v období sledování k opakovanému růstu myomů po ukončení terapie (Obr. 8-13).

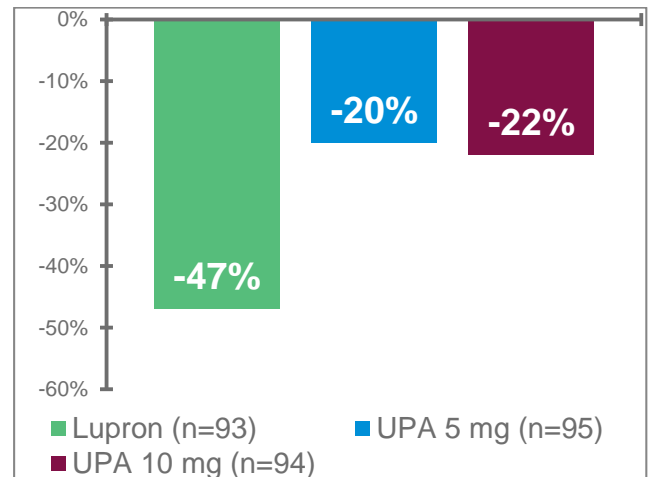
Efekt na celkový objem myomu¹

Medián změny objemu od výchozího (%)



Efekt na objem dělohy²

Medián změny objemu od výchozího(%)



1. Celkový objem tří největších leiomyomů měřen ultrazvukem 2. Objem dělohy měřen ultrazvukem

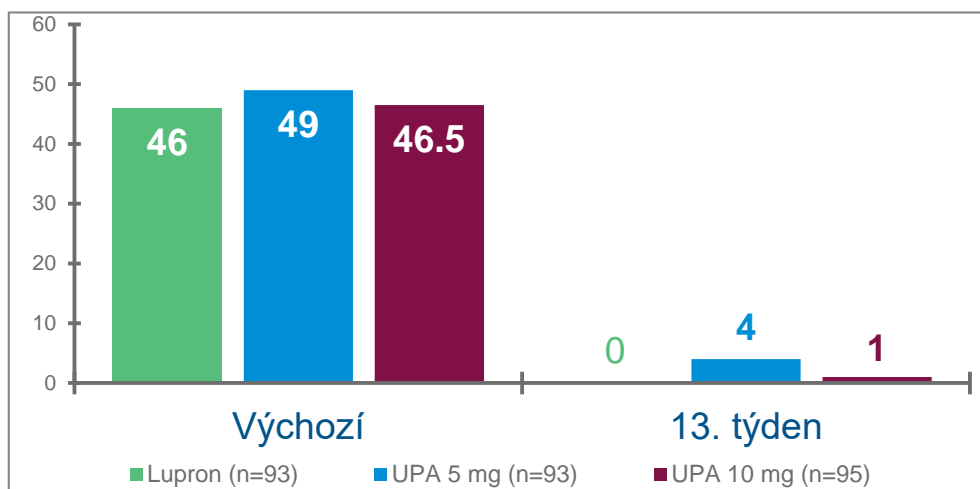
UPA: Ulipristal acetate – GnRHa: agonista Gonadotropin-Releasing Hormonu

Obr. 8-13 PEARL II – hodnocení změn celkového objemu myomů a dělohy

Algické projevy

Ve všech sledovaných skupinách byla registrována redukce skóre bolesti dle VAŠ od fáze screeningu po ukončení terapie, která byla non-inferiorní pro skupiny UPA vůči GnRHa. Stupeň redukce bolesti o 28 mm je srovnatelný s redukcí pooperační bolesti dosažené pomocí narkotických nebo nenarkotických analgetik (Obr. 8-14).

Všechny pacientky



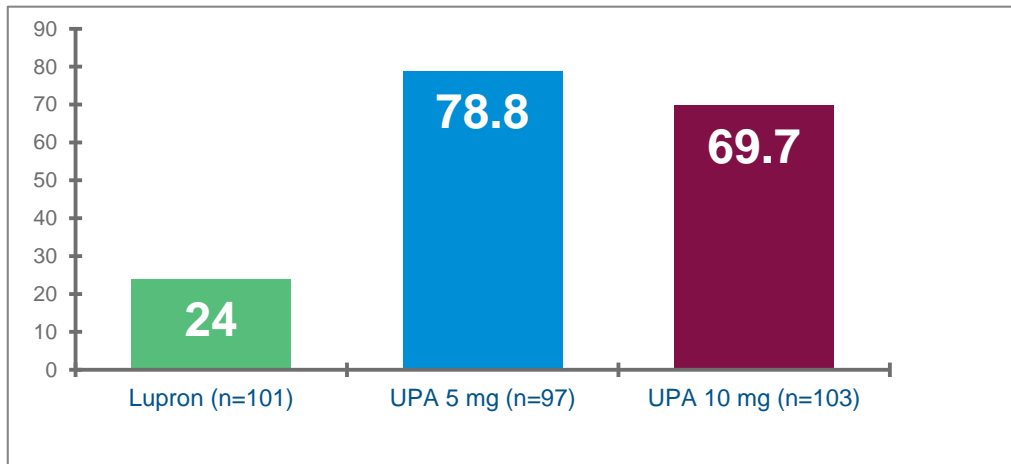
* Medián skóre VAŠ v mm – Melzack R. Pain 1987; 30: 191-97

Obr. 8-14 PEARL II – hodnocení bolesti dle VAŠ, rozmezí 0–100

Nežádoucí účinky

Ve studii PEARL II byly sérové hladiny estradiolu u pacientek léčených ulipristal acetátem udržovány na přibližně střední folikulární hladině proti skupině s agonistou gonadotropiny uvolňujícího hormonu (leuprorelin), kde došlo k jejich výraznému poklesu. Tato situace koresponduje s incidencí vegetativních projevů klimakterického syndromu v průběhu léčby. Podíl pacientek hlásících střední až závažné návaly horka v 13. týdnu terapie byl třikrát nižší ve skupinách léčených UPA (11 % u 5 mg, 10 % u 10 mg) proti skupině subjektů léčených pomocí GnRHa (40 %, $p < 0,001$). (Obr. 8-15, Obr. 8-16).

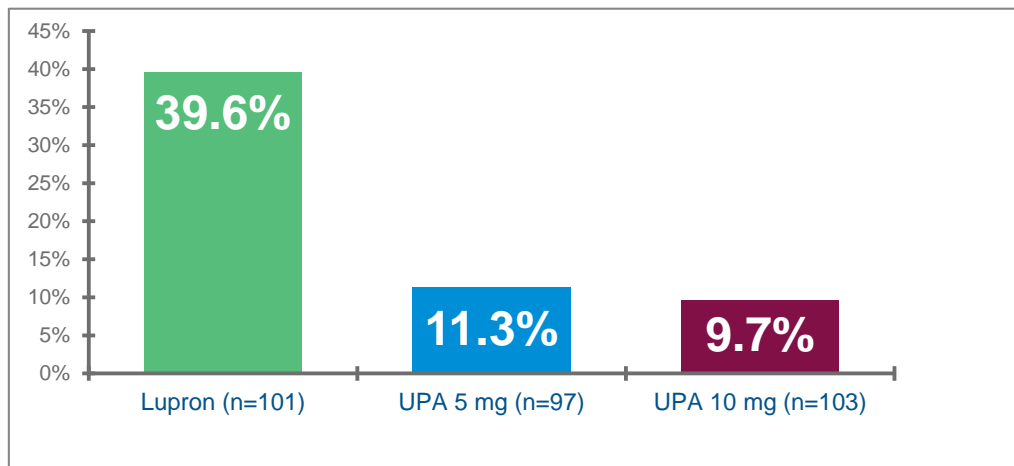
Efekt na hladiny estradiolu v séru¹



Průměrná koncentrace estradiolu v séru (pg/mL), sledování bezpečnosti $p < 0,001$ vs. GnRHa

Obr. 8-15 PEARL II – hodnocení hladiny estradiolu v séru na konci léčby

Efekt na incidenci středních/závažných návalů horka



Pacientky se středními/ závažnými návaly horka (%), sledování bezpečnosti $p < 0,001$ vs. GnRHa

Obr. 8-16 PEARL II – hodnocení incidence návalů horka

8.3.3. Studie PEARL III – PGL4001 + NETA versus placebo v léčbě děložních myomů

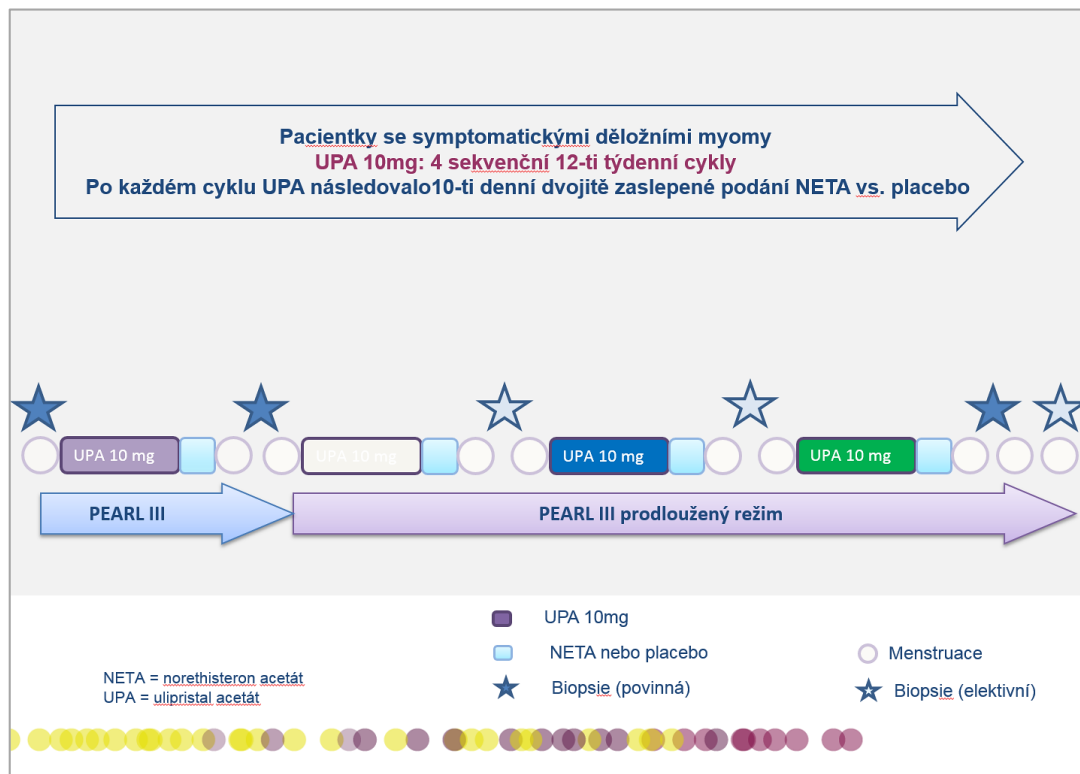
Randomizované, dvojitě zaslepené, placebem kontrolované, multicentrické, klinické hodnocení fáze III s paralelní skupinou, srovnávající účinnost a bezpečnost PGL4001 (uli-

pristal-acetátu) a noretisteron acetátu (NETA) v předoperační léčbě pacientek se symptomatickým děložním myomem.

Toto klinické hodnocení probíhalo bez účasti Gynekologicko-porodnické kliniky MU a FN Brno.

Cíl studie

Cíle studie PEARL III bylo vyhodnocení účinnosti a bezpečnosti prodlouženého intermitentního podávání fixních dávek ulipristal-acetátu 10 mg jednou denně v kombinaci s desetidenním podáváním NETA po každém cyklu v porovnání s aplikací fixních dávek ulipristal acetátu 10 mg podávaných jednou denně v kombinaci s placebem. (Obr. 8-17).



Obr. 8-17 PEARL III – prodloužené intermitentní podávání UPA 10 mg + NETA

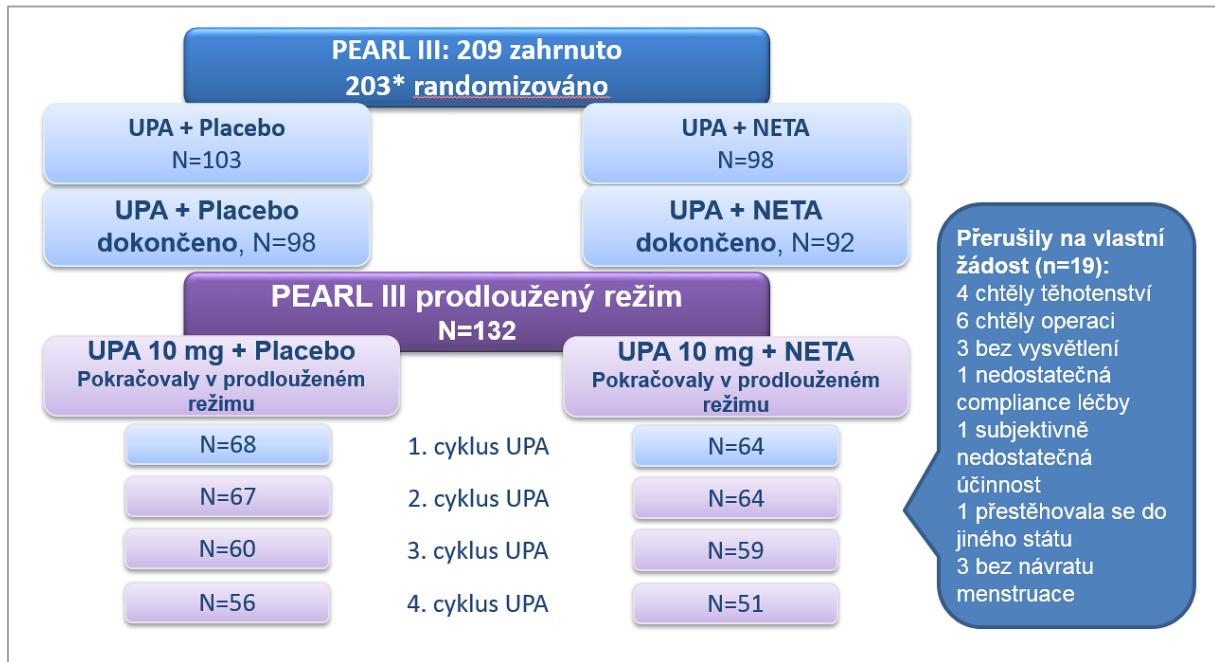
Materiál a metodika

Do studie PEARL III bylo alokováno 209 subjektů, z nichž 203 bylo randomizováno do dvou ramen studie. Celkem bylo 98 subjektů zařazeno do prodlouženého intermitentního podávání fixních dávek ulipristal acetátu 10 mg jednou denně v kombinaci s 10-ti denním podáváním NETA po každém cyklu a 103 subjektů do ramene s aplikací fixních dávek ulipristal acetátu 10 mg podávaných jednou denně v kombinaci s placebem. Po čtyřech léčebných cyklech (UPA + NETA vs. UPA + placebo) byla vyhodnocena účinnost a bezpečnost prodloužené intermitentní terapie. (Obr. 8-18).

Hodnoceno bylo procento pacientek s amenoreou nebo spottingem na konci každého léčebného cyklu UPA 10 mg, efekt na redukci objemu myomů (ITT populace), redukce boles-

ti, hodnoceno dle VAŠ (rozmezí 0–100). Dále byla hodnocena závažnost symptomů ovlivňujících kvalitu života dle dotazníku UFS-QoL (skóre závažnosti symptomů – krvácení, tlak v břiše, frekvence močení, únava).

Dále byl analyzován efekt přidání NETA k UPA na tloušťku endometria po každém léčebném cyklu UPA 10 mg a jeho vliv na incidenci PAEC.



NETA = norethisteron-acetát

* Dvě pacientky byly randomizovány, ale nedostaly léčivo

UPA = ulipristal acetate

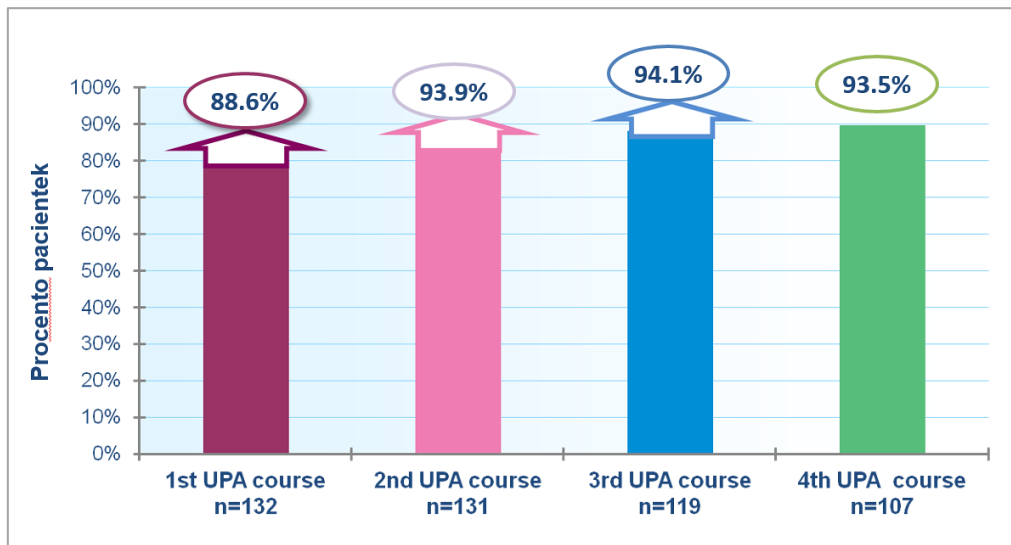
Obr. 8-18 PEARL III – UPA 10 mg + NETA – consort diagram

Výsledky

Parametry menstruace

Hodnoceno bylo procento pacientek s amenoreou nebo spottingem na konci každého léčebného cyklu UPA 10 mg + NETA nebo UPA 10 mg + placebo (ITT populace). V obou skupinách bylo dosaženo 88,6 % subjektů s amenoreou nebo spottingem na konci 1. léčebného cyklu. 93,9 % subjektů s amenoreou nebo spottingem na konci 2. léčebného cyklu. 94,1 % subjektů s amenoreou nebo spottingem na konci 2. léčebného cyklu a 93,5 % subjektů s amenoreou nebo spottingem na 4. léčebného cyklu. (Obr. 8-19).

Procento pacientek s amenoreou/spottingem* na konci léčebného cyklu



*podle zjednodušeného hodnocení krvácení

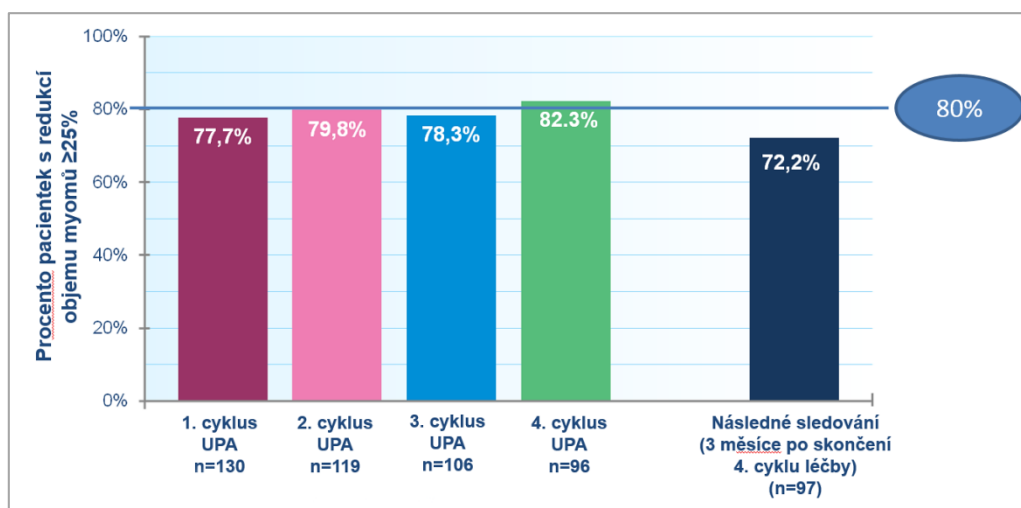
UPA = ulipristal acetate; ITT = Intention to Treat

Obr. 8-19 PEARL III – Procento pacientek s amenoreou/spottingem

Parametry redukce objemu myomů

Hodnoceno bylo procento pacientek s redukcí objemu myomu $\geq 25\%$ na konci každého léčebného cyklu UPA 10 mg + NETA nebo UPA 10 mg + placebo (ITT populace). V obou skupinách bylo dosaženo 77,7 % subjektů s redukcí objemu myomu $\geq 25\%$ na konci prvního léčebného cyklu, 79,8 % subjektů s redukcí objemu myomu $\geq 25\%$ na konci druhého léčebného cyklu, 78,3 % subjektů s redukcí objemu myomu $\geq 25\%$ na konci třetího léčebného cyklu a 82,3 % subjektů s redukcí objemu myomu $\geq 25\%$ na konci čtvrtého léčebného cyklu. Redukce objemu myomu $\geq 25\%$ přetrvávala ještě 3 měsíce po ukončení čtyř léčebných cyklů UPA u 72,2 % subjektů. (Obr. 8-20).

Pacientky s klinicky významnou redukcí objemu myomů* ($\geq 25\%$)



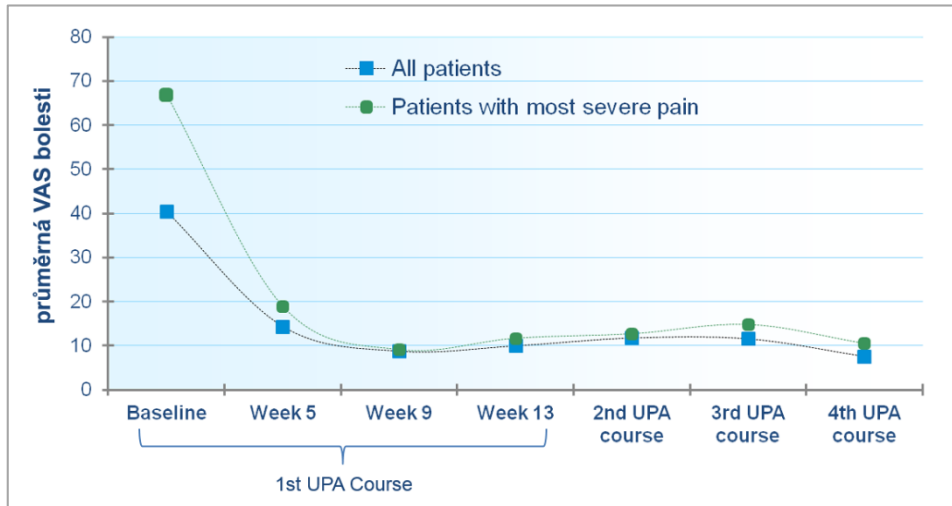
* Objem 3 největších myomů, souhrnná redukce objemu v %

UPA = ulipristal acetate, ITT = Intention to Treat

Obr. 8-20 PEARL III – Procento pacientek s redukcí objemu myomu $\geq 25\%$

Parametry kvality života

Hodnoceno bylo průměrné skóre bolesti dle VAŠ (0–100) na konci každého léčebného cyklu UPA 10 mg + NETA nebo UPA 10 mg + placebo (ITT populace). Počas prvního léčebného cyklu bylo provedená analýza podrobně. V obou skupinách byla dosažena signifikantní redukce průměrného skóre bolesti dle VAŠ. Signifikantní redukce průměrného skóre bolesti byla pozorována i u skupiny subjektů se silnější bolestí (VAŠ > 40 před léčbou) (Obr. 8-21).

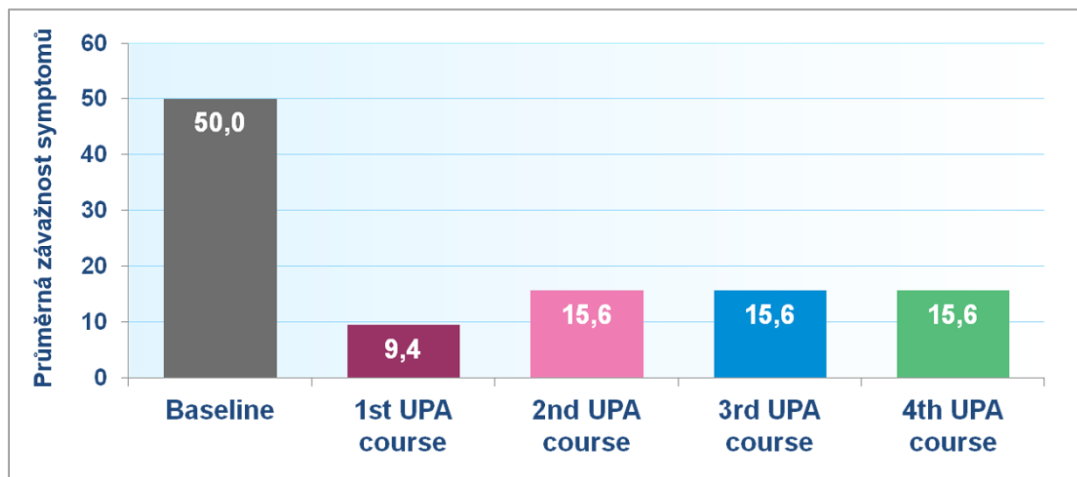


UPA = ulipristal acetate, ITT = Intention to Treat

* Melzack et al. Pain 1987. 191-197

Obr. 8-21 PEARL III – efekt UPA na bolest (VAŠ)

Hodnocena závažnost symptomů ovlivňujících kvalitu života dle dotazníku UFS-QoL (skóre závažnosti symptomů – krvácení, tlak v břiše, frekvence močení, únava) na konci každého léčebného cyklu UPA 10 mg + NETA nebo UPA 10 mg + placebo (ITT populace). V obou skupinách bylo dosaženo signifikantní redukce symptomů. Závažnost symptomů odpovídala hodnotám zdravých žen na konci léčby (Obr. 8-22).

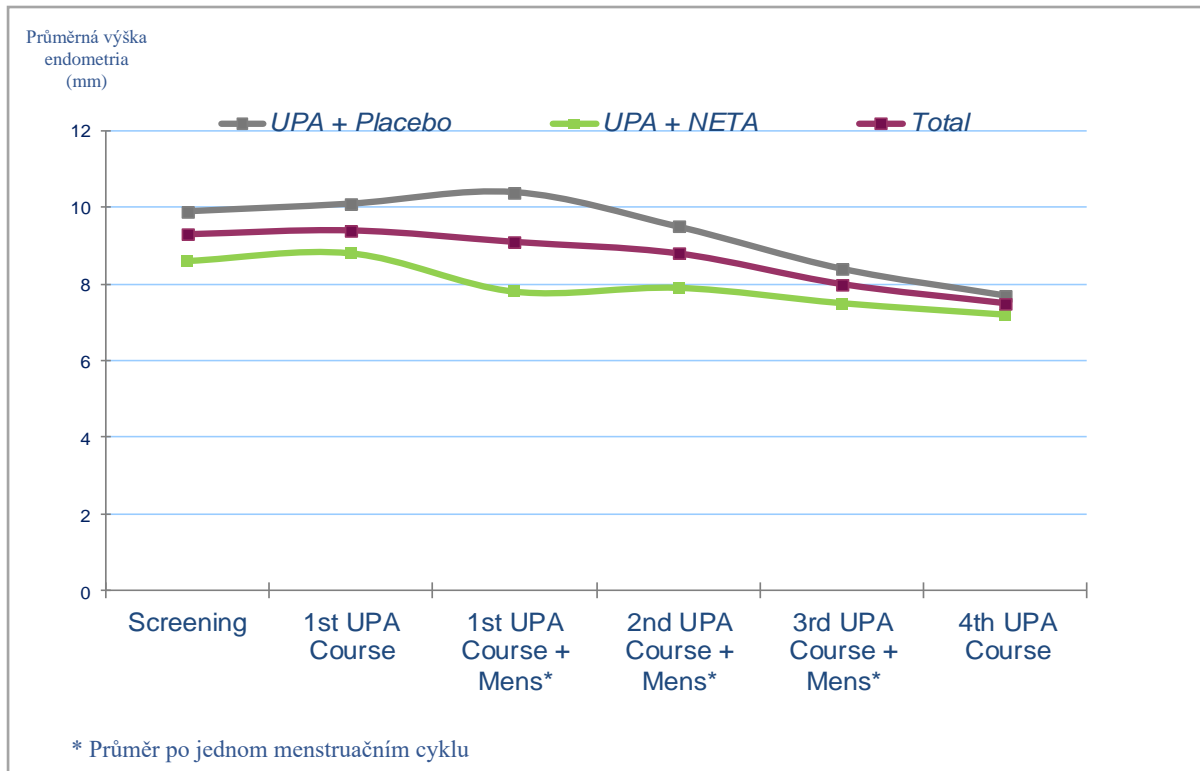


* dle Spies et al. Obstet Gynecol 2010. 116(3):641-652

Obr. 8-22 PEARL III – efekt UPA na kvalitu života (UFS-QoL)

Parametry vlivu na endometrium

Hodnocen byl efekt přidání NETA k UPA na tloušťku endometria (mm) po každém léčebném cyklu a jeho vliv na incidenci PAEC. Nebyl shledán signifikantní rozdíl v průměrné tloušťce endometria u subjektů na konci každého léčebného cyklu UPA 10 mg + NETA proti kontrolní skupině UPA 10 mg + placebo (Obr. 8-23). PAEC bylo ve sledovaném souboru pozorováno u méně než 30 % pacientek po 1. cyklu UPA a následující menstruaci. Frekvence výskytu PAEC se nezvyšuje při opakovaném podání UPA. Nebyl shledán signifikantní rozdíl v incidenci PAEC u subjektů na konci každého léčebného cyklu UPA 10 mg + NETA proti kontrolní skupině UPA 10 mg + placebo (Obr. 8-24).



Obr. 8-23 PEARL III – efekt UPA + NETA na tloušťku endometria

PAEC (potvrzeno alespoň 2 z 3 patologů)

Patientky s PAEC (%)	PEARL III Extension		
	UPA 10 mg + Placebo	UPA 10 mg + NETA	Celkem
Screening	7.1%	14.3%	10.5%
Návštěva 6 (po 1. cyklu UPA a jedné menstruaci)	30.8%	26.3%	28.7%
Návštěva E (po 4. cyklu UPA a jedné menstruaci)	23.4%	27.5%	25.3%

Obr. 8-24 PEARL III – efekt UPA + NETA na incidenci PAEC

8.3.4. Studie PEARL IV – PGL4001 při dlouhodobé léčbě symptomatických děložních fibromů

Multicentrická, randomizovaná, dvojitě zaslepená klinická studie fáze III zkoumající účinnost a bezpečnost opakovaného 12týdenního podávání denních dávek 5 mg a 10 mg přípravku PGL4001 (UPA) při dlouhodobé léčbě symptomatických děložních fibromů.

Cíle hodnocení účinnosti

Primární cíle:

Část I:

- Porovnání a zhodnocení dosažené účinnosti dvou opakovaných 12týdenních léčebných cyklů denního podávání 5 mg a 10 mg přípravku PGL4001 při léčbě děložního krvácení u žen s děložními fibromy.

Část II:

- Porovnání a zhodnocení dosažené účinnosti čtyř opakovaných 12týdenních léčebných cyklů denního podávání 5 mg a 10 mg přípravku PGL4001 při léčbě děložního krvácení u žen s děložními fibromy.

Sekundární cíle:

Část I – sekundární cíl účinnosti:

- Porovnání a zhodnocení dosažené účinnosti dvou opakovaných 12týdenních léčebných cyklů denního podávání 5 mg a 10 mg přípravku PGL4001 z hlediska jeho vlivu na objem myomu, objem dělohy, kvalitu života (QoL) a bolest.

Část I – cíl bezpečnosti:

- Zhodnocení celkové bezpečnosti dvou opakovaných 12týdenních léčebných cyklů denního podávání 5 mg nebo 10 mg přípravku PGL4001.

Část II – sekundární cíl účinnosti:

- Porovnání a zhodnocení dosažené účinnosti čtyř opakovaných 12týdenních léčebných cyklů podávání 5 mg a 10 mg přípravku PGL4001 z hlediska jeho vlivu na objem myomu, objem dělohy, kvalitu života (QoL) a bolest.

Část II – cíl bezpečnosti:

- Zhodnocení celkové bezpečnosti čtyř opakovaných 12týdenních léčebných cyklů denního podávání 5 mg nebo 10 mg přípravku PGL4001.

Výzkumné cíle

Část I – výzkumné cíle:

- Zhodnocení charakteristiky děložního krvácení (doba trvání a velikost krevní ztráty) po návratu menstruačního krvácení po léčebném cyklu č. 1.
- Zhodnocení charakteristiky děložního krvácení (doba trvání a velikost krevní ztráty) po návratu menstruačního krvácení po léčebném cyklu č. 2.
- Zhodnocení histologie endometria včetně endometriálních změn asociovaných s modulátorem progesteronového receptoru (PAEC) za 10–18 dní od začátku menstruačního krvácení po dokončení druhého cyklu léčby přípravkem PGL4001.
- Zhodnocení změny od výchozího stavu do začátku druhého menstruačního krvácení po dokončení léčebného cyklu č. 1 z hlediska vlivu na kvalitu života (měřeno pomocí UFS-QoL) a na bolest.
- Zhodnocení četnosti a typu chirurgického řešení fibromů.

Část II – výzkumné cíle:

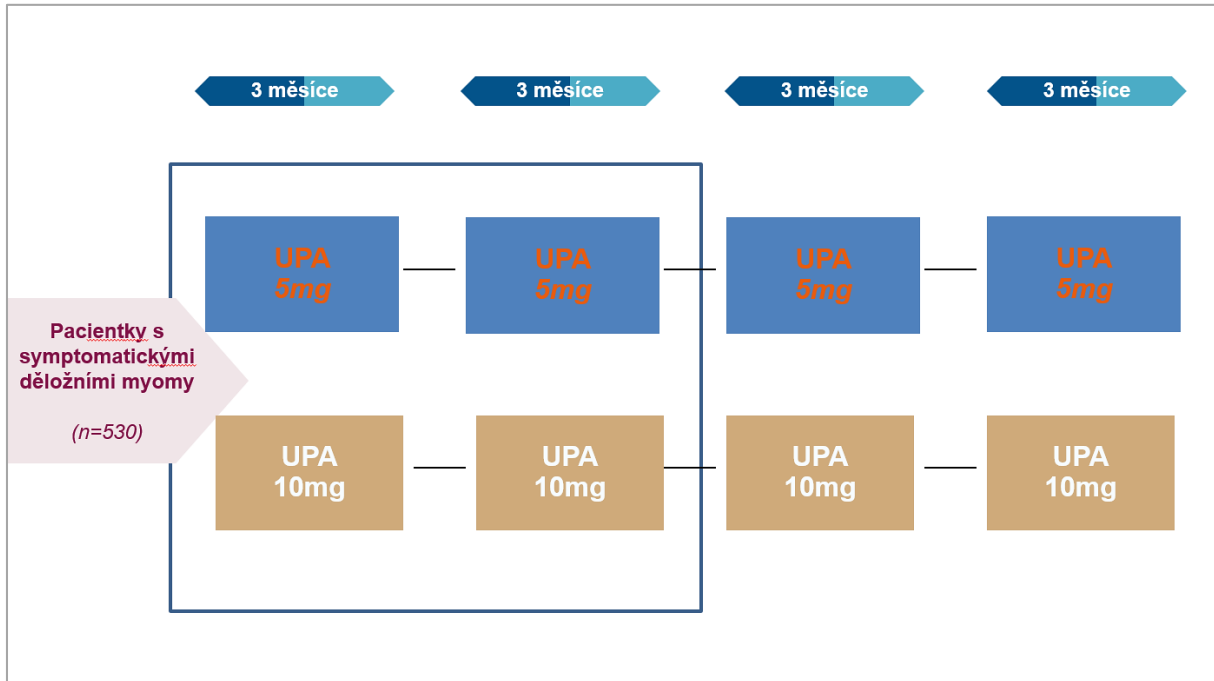
- Zhodnocení načasování návratu menstruačního krvácení po léčebném cyklu č. 3 s přípravkem PGL4001.
- Zhodnocení charakteristiky děložního krvácení (doba trvání a velikost krevní ztráty) do návratu menstruačního krvácení po léčebném cyklu č. 4.
- Zhodnocení histologie endometria včetně PAEC za 10–18 dní od začátku menstruačního krvácení po dokončení čtvrtého cyklu léčby přípravkem PGL4001.
- Zhodnocení změny od výchozího stavu do začátku druhého menstruačního krvácení po dokončení léčebného cyklu č. 2, 3 a 4 z hlediska vlivu na kvalitu života (měřeno pomocí UFS-QoL) a na bolest.

Design klinického hodnocení

Jedná se o multicentrickou, randomizovanou, dvojitě zaslepenou dlouhodobou studii fáze III s paralelními skupinami zkoumající bezpečnost a účinnost 5 mg a 10 mg přípravku PGL4001 při léčbě děložních myomů. Studie měla dvě paralelní ramena:

- denní dávka přípravku PGL4001 5 mg.
- denní dávka přípravku PGL4001 10 mg.

V této studii nebyla žádná další kontrolní skupina, neboť kontrola placebem ani jinou aktivní srovnávací látkou nebyla vhodná. Subjekty byly randomizovány v poměru 1 : 1 přes centralizovaný systém IVR/IWRS. Každý léčebný cyklus trval 84 dní. Léčebné cykly byly odděleny obdobím bez podávání léčiva až do začátku druhé menstruace následující po ukončení předchozího léčebného cyklu. Celkem byly čtyři léčebné cykly (Obr. 8-25).



Obr. 8-25 Design klinického hodnocení PEARL IV – bezpečnost a účinnost 5 mg a 10 mg PGL4001 při léčbě děložních myomů

Kritéria pro zařazení

Do klinického hodnocení byly zahrnuty premenopauzální ženy se symptomatickými děložními myomy charakterizovanými těžkým krvácením. Subjekty splňovaly požadovanou závažnost symptomů, tj. PBAC > 100, ale jejich zdravotní stav nebyl natolik vážný, aby vyžadoval akutní chirurgické řešení v průběhu 3 měsíců bez ohledu na výsledek léčby.

1. Subjekty jsou premenopauzální ženy ve věku 18–50 let (včetně).
2. Subjekty mají BMI ≥ 18 a ≤ 40 .
3. Subjekty mají hormonální hladiny FSH ≤ 20 mIU/ml (měřeno při screeningové návštěvě č. 2).
4. Subjekty mají myomatózu dělohy < 16 týdnů (v porovnání s dělohou v 16. týdnu těhotenství).
5. Průměr největšího děložního myomu subjektů je v rozsahu 3 cm až 12 cm (včetně).
6. Subjekty mají menstruační cyklus o délce ≥ 22 a ≤ 35 dní. K hodnocení vhodnosti je nutné použít menstruační cyklus mezi screeningovou návštěvou č. 1 a návštěvou č. 2.
7. Skóre PBAC při měření v rámci screeningu v průběhu prvních 8 dní menstruačního krvácení je > 100.
8. Subjekty nemají významný nález při vyšetření prsu v rámci screeningové návštěvy.
9. Ženám v reprodukčním věku se doporučuje používat nehormonální metody antikoncepce, jako jsou následující: sexuální abstinence, pesar, kondom, vasektomie u sexuálního partnera s potvrzenou azoospermií nebo vasektomie provedená minimál-

ně 6 měsíců před vstupem subjektu do studie. Ženy mimo reprodukční věk jsou definovány jako ženy s podvazem vaječníku provedeným minimálně dva měsíce před vstupem do studie.

Kritéria pro vyřazení

1. Subjekt má v anamnéze chirurgický zákrok na děloze, který zasahuje do cílových bodů studie. Zkoušející musí zhodnotit, zda předchozí chirurgický zákrok brání zařazení do studie. Subjekty s anamnézou embolizace a. uterina mohou být zařazeny do studie ≥ 6 měsíců po zákroku.
2. Subjekt má v anamnéze nebo aktuálně probíhající nádorové onemocnění dělohy, děložního krčku, vaječníků nebo prsu.
3. Subjekt měl v průběhu posledních 12 měsíců významný a přetrvávající nález na nátěru v rámci Papanikolaouva testu (PAP).
4. Subjekt má v anamnéze endometriální hyperplazii nebo adenokarcinom či obdobné léze ve screeningové biopsii.
5. Subjekt má velký děložní polyp (> 2 cm).
6. Subjekt má výrazně kalcifikované myomy a/nebo dělohu.
7. Subjekt má známou závažnou poruchu koagulace.
8. Subjekt má jednu nebo více ovariálních cyst ≥ 4 cm diagnostikovaných ultrazvukem.
9. Subjekt má anamnézu léčby myomů pomocí SPRM.
10. Subjekt užíval zakázané léky: Léčba progestiny (systémové podávání nebo intrauterinní systém uvolňující progestin) nebo perorální antikoncepce v průběhu jednoho měsíce před screeningovou návštěvou. Kyselina acetylsalicylová, kyselina mefenamová, antikoagulantia jako např. kumariny a/nebo antifibrinolytická léčiva jako např. kyselina tranexemová v průběhu jednoho týdne před screeningovou návštěvou. Systémová léčba glukokortikoidy a/nebo systémová léčba depotními glukokortikoidy v průběhu jednoho týdne, resp. dvou měsíců před screeningovou návštěvou. Léčba agonisty a antagonisty GnRH.

Hodnocený léčivý přípravek

PGL4001 (generický název: ulipristal) je steroidní látka [17 α -acetoxy-11 β -(4-N,N-dimethylaminofenyl)-19-norpregna-4,9-dien-3,20-dion] jejíž hlavním farmakodynamickým účinkem je reverzibilní blokáda progesteronových receptorů v cílových tkáních (uterus, cervix, ovaria, hypotalamus). Působí jako potentní, perorálně podávaný modulátor progesteronových receptorů a náleží do skupiny léčiv známých jako SMPR.

PGL4001 10 mg je 300 mg kulatá, bikonvexní bílá až bílošedá tableta, která obsahuje 10 mg aktivní látky s vyražením „ES10“ na jedné straně. Odpovídající tableta placebo 10 má stejný vzhled.

PGL4001 5 mg je 150 mg kulatá, bikonvexní bílá až bílošedá tableta obsahující 5 mg aktivní látky s vyražením „ES5“ na jedné straně. Odpovídající tableta placebo 5 obsahuje placebo a má stejný vzhled.

Všechny tablety jsou vyráběny metodou přímého ražení a jsou určeny pro perorální podávání. Tablety jsou baleny do blisterů (PVC/PE/PVDC – aluminium) a musí být skladovány při pokojové teplotě a chráněny před světlem.

Analýza dat a statistika

Všechna vstupní data (tj. data získaná před prvním podáním přípravku PGL4001) byla sumarizována, a to včetně relevantních skriningových dat a demografických charakteristik. Všechny cílové body účinnosti a bezpečnosti byly sumarizovány popisnými statistickými metodami pro každou léčebnou skupinu zvlášť i celkově pro každý časový bod (tam, kde je to vhodné).

Všechny testy statistické hypotézy a konfidenční intervaly byly dvoustranné. Byla použita 5% úroveň statistické významnosti. Vícečetnost nebyla upravována. Populací primárního zájmu pro analýzu účinnosti byla kompletní analyzovaná sada (FAS).

Primární cíl části I v porovnání a zhodnocení dosažené účinnosti dvou opakovaných 12 týdenních léčebných cyklů denního podávání 5 mg a 10 mg přípravku PGL4001 při léčbě děložního krvácení u žen s děložními fibromy byl hodnocen testováním nulové hypotézy, která zní, že není rozdíl v procentu subjektů s amenoreou na konci obou léčebných cyklů č. 1 a 2 s přípravkem PGL4001 5 mg, v porovnání s alternativní hypotézou, která zní, že v tomto procentu subjektů rozdíl je. Výsledky u přípravku PGL4001 10 mg v porovnání s přípravkem PGL4001 5 mg byly porovnány pomocí chí – kvadrátového testu. Rovněž byly uvedeny konfidenční intervaly pro rozdíl mezi PGL4001 5 mg a PGL4001 10 mg.

Primární cíl části II v porovnání a zhodnocení dosažené účinnosti čtyř opakovaných 12 týdenních léčebných cyklů denního podávání 5 mg a 10 mg přípravku PGL4001 u děložního krvácení u žen s děložními fibromy byl hodnocen testováním nulové hypotézy. Ta zní, že není rozdíl v procentu subjektů s amenoreou na konci všech 4 léčebných cyklů s přípravkem PGL4001 10 mg v porovnání s přípravkem PGL4001 5 mg oproti alternativní hypotéze, která zní, že v procentu subjektů je rozdíl.

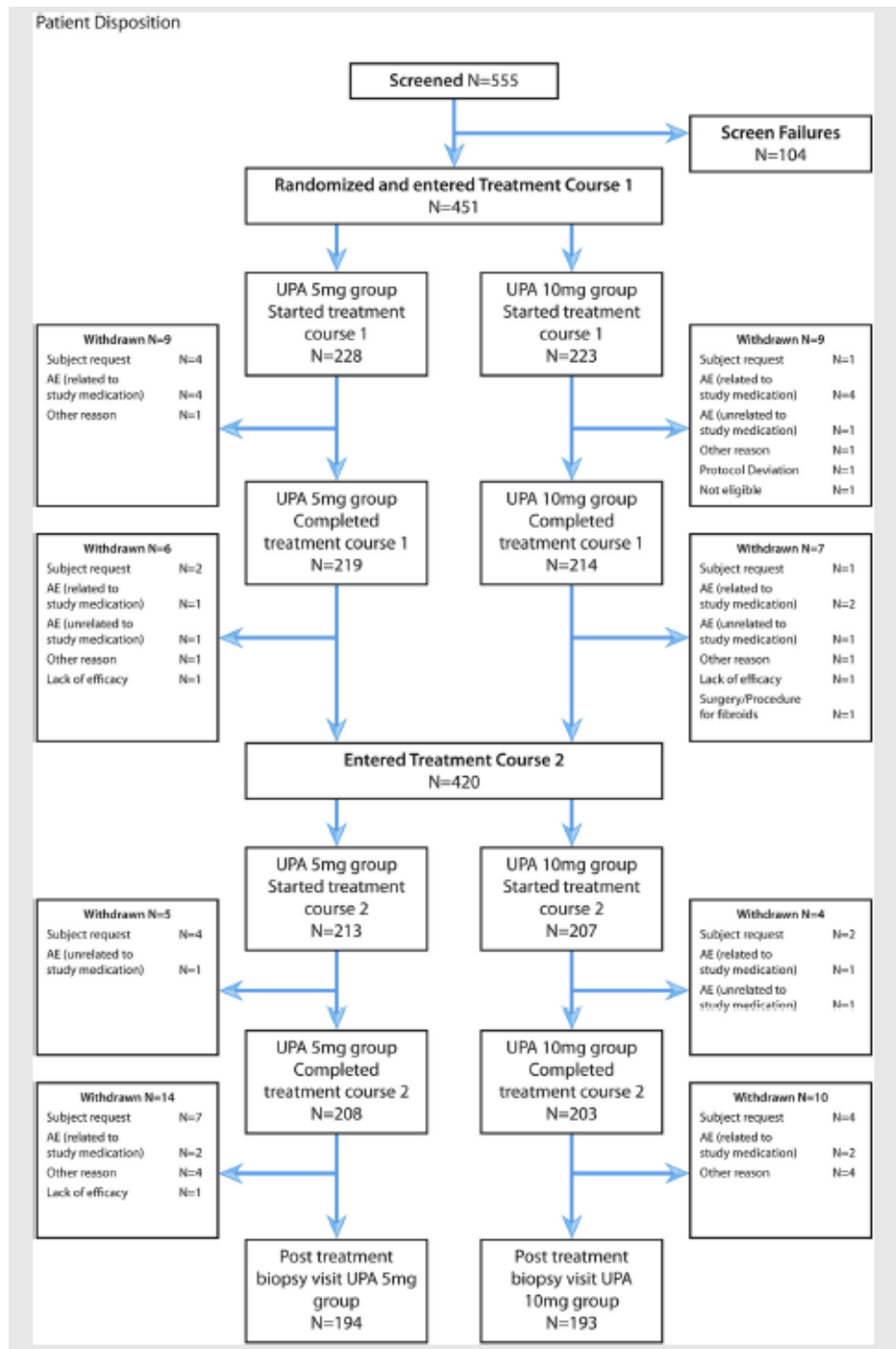
Výsledky u 10 mg přípravku PGL4001 v porovnání s 5 mg přípravku PGL4001 byly porovnány pomocí chí – kvadrátového testu. Rovněž byly uvedeny konfidenční intervaly pro rozdíl mezi PGL4001 5 mg a PGL4001 10 mg.

Jakmile byl u subjektů dokončen protokol, všechna data byla vyčištěna, léčebné skupiny odslepeny a byla provedena analýza (integrované kompletní hlášení o klinické studii [CSR]).

Materiál a metodika

Do studie PEARL IV bylo zahrnuto celkem 555 subjektů, 104 subjektů bylo vyřazeno v rámci screeningu a do fáze randomizace bylo alokováno 451 subjektů do dvou paralelních ramen s denní dávkou přípravku PGL4001 5 mg a PGL4001 10 mg. V této studii nebyla žádná další kontrolní skupina. Subjekty byly randomizovány v poměru 1 : 1 přes centralizovaný systém IVR/IWRS. Každý léčebný cyklus měl 84 dní. První dva léčebné cykly dokončilo 194 subjektů s denní dávkou přípravku PGL4001 5 mg a 193 s denní dávkou přípravku PGL4001 10 mg (Obr. 8-26).

PEARL IV



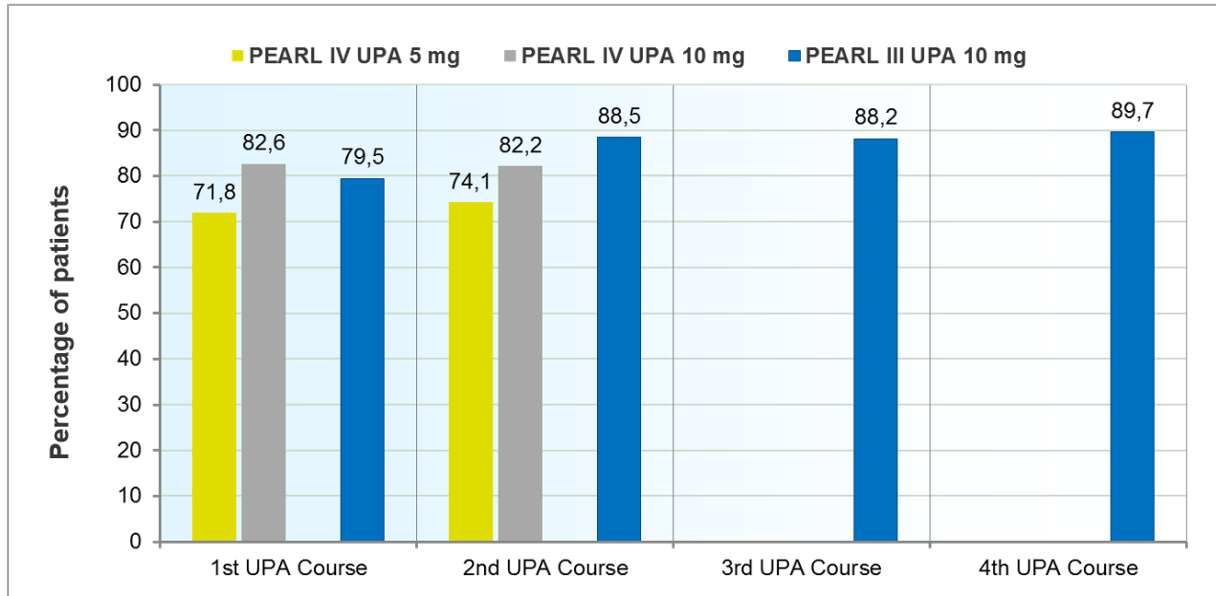
Obr. 8-26 Uspořádání klinického hodnocení PEARL IV – bezpečnost a účinnost 5 mg a 10 mg PGL4001 při léčbě děložních myomů

Výsledky:

Parametry menstruace

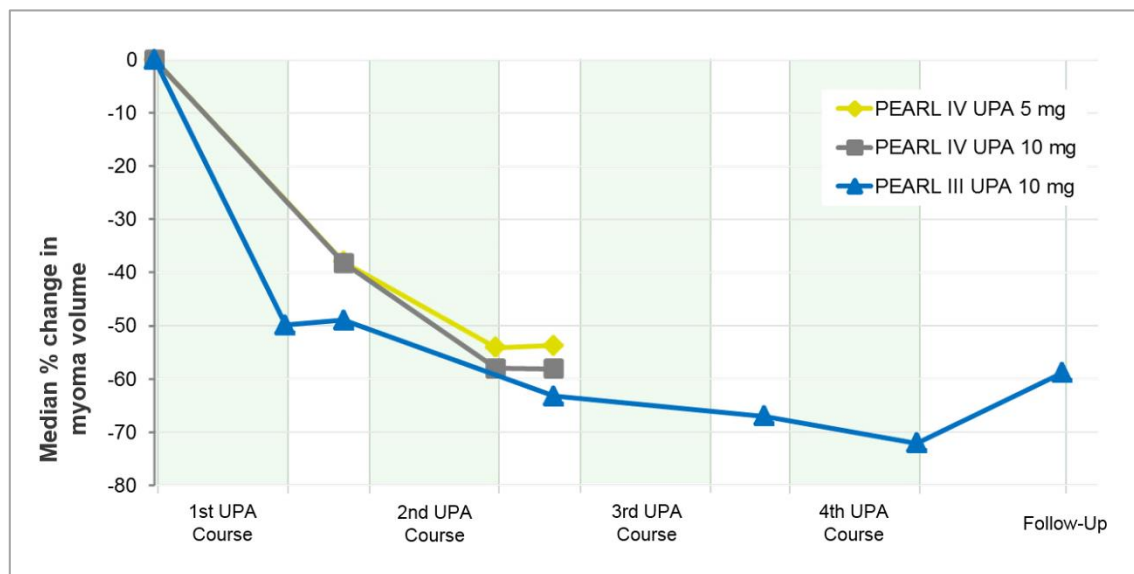
Amenorea byla dosažena v 62 % a 73 % případů v 5mg a 10mg studijní skupině na konci obou terapeutických cyklů. Incidence amenorey po každém individuálním cyklu byla vyšší ve skupině 10 mg (83 %) proti skupině 5 mg (72–74 %), (Obr. 8-27). Medián pro dosažení amenorey byl v každém léčebném cyklu v obou skupinách 6 dní. Zastoupení subjektů

s kontrolovaným krvácením na konci obou léčebných cyklů bylo > 80 %, bez statistického rozdílu v obou skupinách. Nástup spontánní menstruace po ukončení terapie v obou skupinách s mediánem 28 dní (Obr. 8-28). PBAC skóre po ukončení terapie se významně snížilo z mediánu > 200 na začátku prvního léčebného cyklu na ≤ 100 po ukončení dvou léčebných cyklů identicky v obou sledovaných skupinách.



* UPA: ulipristal acetate

Obr. 8-27 PEARL IV – část I: Subjekty s amenoreou na konci léčebného cyklu

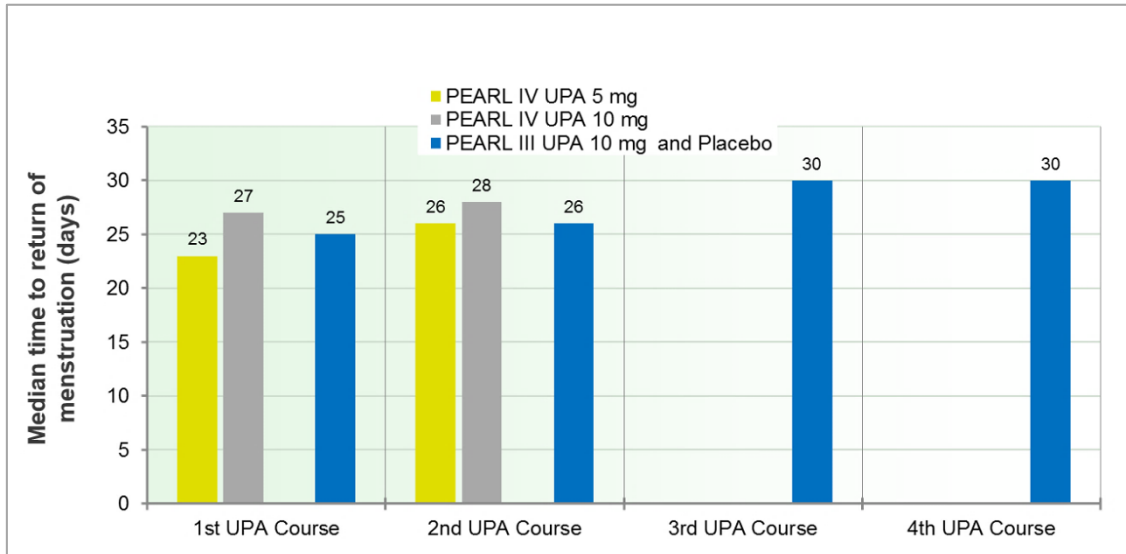


* UPA: ulipristal acetate

Obr. 8-28 PEARL IV – část I: Medián do dosažení spontánní menstruace

Parametry objemu děložních myomů

Medián redukce celkového objemu tří největších myomů od zahájení terapie po ukončení prvního léčebného cyklu byl 38 % v obou sledovaných skupinách 5 mg a 10 mg PGL4001 a na konci 2. léčebného cyklu byl 54 % a 58 % v skupinách 5 mg a 10 mg PGL4001 (Obr. 8-29).



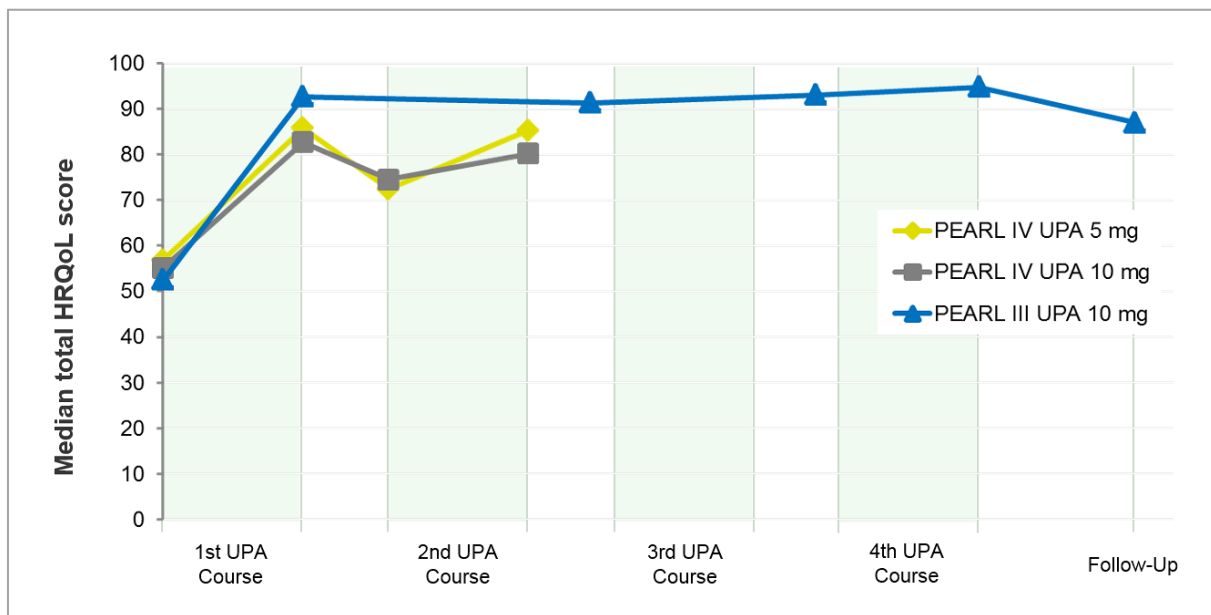
* UPA: ulipristal acetate

Obr. 8-29 PEARL IV – část I: Medián redukce celkového objemu tří největších myomů

Parametry bolesti a kvality života

Medián redukce skóre bolesti dle VAŠ vykazoval pokles od zahájení terapie z 39,5 a 43,0 na 6,0 po ukončení prvního léčebného cyklu v obou skupinách 5 mg a 10 mg PGL4001. Následoval relativní vzestup skóre bolesti dle VAŠ v průběhu menstruace po ukončeném prvním léčebném cyklu (medián 22,5 a 22,0) a následně opětovný pokles mediánu skóre bolesti dle VAŠ na 6,0 a 5,0 po ukončení druhého léčebného cyklu v obou sledovaných skupinách 5 mg a 10 mg PGL4001.

Medián skóre kvality života dle HRQoL (Health-Related Quality of Life) vykazoval nárůst od zahájení terapie po ukončení prvního léčebného cyklu v obou sledovaných skupinách 5 mg a 10 mg PGL4001. Následoval relativní pokles skóre kvality života v průběhu menstruace po ukončeném prvním léčebném cyklu a poté opětovný vzestup skóre kvality života dle HRQoL po ukončení druhého léčebného cyklu v obou sledovaných skupinách 5 mg a 10 mg PGL4001 (Obr. 8-30).



* UPA: ulipristal acetate, HRQoL: Health – Related Quality of Life

Obr. 8-30 PEARL IV – část I: Medián skóre kvality života dle HRQoL



Efficacy and safety of repeated use of ulipristal acetate in uterine fibroids

Jacques Donnez, M.D.,^a Robert Hudecek, M.D.,^b Olivier Donnez, M.D.,^c Dace Matule, M.D.,^d Hans-Joachim Arhndt, M.D.,^e Janos Zatik, M.D.,^f Zaneta Kasilovskiene, M.D.,^g Mihai Cristian Dumitrascu, M.D.,^h Hervé Fernandez, M.D.,ⁱ David H. Barlow, F.R.C.O.G.,^j Philippe Bouchard, M.D.,^k Bart C. J. M. Fauser, M.D.,^l Elke Bestel, M.D.,^m Paul Terrill, Ph.D.,ⁿ Ian Osterloh, M.R.C.P.,^o and Ernest Loumaye, M.D.^p

^a Société de Recherche pour l'infertilité, Brussels, Belgium; ^b Department of Obstetrics and Gynaecology, Masaryk University and University Hospital Brno, Brno, Czech Republic; ^c Institut de Recherche Expérimentale et Clinique (IREC), Université de Louvain, Centre Hospitalier Université (CHU) Université Catholique de Louvain (UCL) Mont-Godinne Dinant, Yvoir, Belgium; ^d Medical Company ARS Gynaecology, Department No.5, Riga, Latvia; ^e Praxis für Frauenheilkunde, Klinische Forschung und Weiterbildung, Magdeburg, Germany; ^f Szent Anna Szuleszeti, Nogyogyaszati es Ultrahang Maganrendelo, Debrecen, Hungary; ^g Private Clinic "Maxmeda," Vilnius, Lithuania; ^h Centrul Medical EUROMED SRL, Obstetrica-Ginecologie, Bucuresti, Romania; ⁱ Hôpital Bicêtre-Assistance Publique-Hopitaux de Paris (APHP), Service de Gynécologie-Obstétrique, Le Kremlin Bicêtre cedex, France; ^j Hamad Medical Corporation, Women's Health Services, Qatar; ^k Service d'Endocrinologie, Hôpital Saint-Antoine, Paris, France; ^l Department of Reproductive Medicine and Gynecology, University Medical Center Utrecht, Utrecht, the Netherlands; ^m PregLem S.A., Plan-les-Ouates, Geneva, Switzerland; ⁿ CROS NT Limited, Maidenhead and ^o OsterMed Ltd., Birmingham, United Kingdom; and ^p ObsEva SA, Plan-les-Ouates, Geneva, Switzerland

Objective: To investigate the efficacy and safety of repeated 12-week courses of 5 or 10 mg daily of ulipristal acetate for intermittent treatment of symptomatic uterine fibroids.

Design: Double-blind, randomized administration of two 12-week courses of ulipristal acetate.

Setting: Gynecology centers.

Patient(s): A total of 451 patients with symptomatic uterine fibroid(s) and heavy bleeding.

Intervention(s): Two repeated 12-week treatment courses of daily 5 or 10 mg of ulipristal acetate.

Main Outcome Measure(s): Amenorrhea, controlled bleeding, fibroid volume, quality of life (QoL), pain.

Result(s): In the 5- and 10-mg treatment groups (62% and 73% of patients, respectively) achieved amenorrhea during both treatment courses. Proportions of patients achieving controlled bleeding during two treatment courses were >80%. Menstruation resumed after each treatment course and was diminished compared with baseline. After the second treatment course, median reductions from baseline in fibroid volume were 54% and 58% for the patients receiving 5 and 10 mg of ulipristal acetate, respectively. Pain and QoL improved in both groups. Ulipristal acetate was well tolerated with less than 5% of patients discontinuing treatment due to adverse events.

Received September 17, 2014; revised and accepted October 21, 2014; published online December 24, 2014.

J.D. has been a member of the Scientific Advisory Board (SAB) of PregLem S.A. since 2007. He held PregLem stocks related to SAB activities that he sold in October 2010 at PregLem's full acquisition by the Gedeon Richter Group. There is no relationship between stock payment value and future commercial performance of the study drug. R.H. and his institution received a grant for this study, study equipment and support for travel to the investigator meetings for PGL4001 (ulipristal acetate) Efficacy Assessment in Reduction of symptoms due to uterine Leiomyomata (PEARL IV). O.D. and his institution received a grant for this study and support for travel to the investigator meetings. D.M. and her institution received a grant for this study. H.-J.A. and his institution received a grant for this study, study equipment and support for travel to the investigator meetings for PEARL IV. J.Z. and his institution received a grant for this study, study equipment and support for travel to the investigator meetings for PEARL IV. Z.K. and her institution received a grant for this study and support for travel to the investigator meetings for PEARL IV. M.C.D. and his institution received a grant for this study and support for travel to the investigator meetings for PEARL IV. H.F. and his institution received a grant for this study. D.H.B. has been a member of the Scientific Advisory Board (SAB) of PregLem S.A. since 2007. He held PregLem stocks related to SAB activities that he sold in October 2010 at PregLem's full acquisition by the Gedeon Richter Group. There is no relationship between stock payment value and future commercial performance of the study drug. P.B. is a member of PregLem's SAB. He held PregLem stocks related to SAB activities that he sold in October 2010 at PregLem's full acquisition by the Gedeon Richter Group. There is no relationship between stock payment value and future commercial performance of the study drug. B.C.J.M.F. is a member of PregLem's SAB. He held PregLem stocks related to SAB activities that he sold in October 2010 at PregLem's full acquisition by the Gedeon Richter Group. There is no relationship between stock payment value and future commercial performance of the study drug. E.B. is an employee of PregLem S.A. She held PregLem stocks related to her employment that she sold in October 2010 at PregLem's full acquisition by the Gedeon Richter Group. There is no relationship between stock payment value and future commercial performance of the study drug. P.T. and his company CROS NT received payment for consultancy and support for travel to meetings. I.O. and his company Ostermed received payment for consultancy and support for travel to meetings. E.L. is a member of PregLem's SAB. He received payment for consultancy and held PregLem stocks that he sold in October 2010 at PregLem's full acquisition by the Gedeon Richter Group. There is no relationship between stock payment value and future commercial performance of the study drug.

Support for this clinical trial was funded by PregLem S.A., Geneva, Switzerland.

Reprint requests: Jacques Donnez, M.D., SRI (société de recherches pour l'infertilité), 1150 Brussels, Belgium (E-mail: jacques.donnez@gmail.com).

Fertility and Sterility® Vol. 103, No. 2, February 2015 0015-0282

Copyright ©2015 The Authors. Published by Elsevier Inc. on behalf of the American Society for Reproductive Medicine. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/>).

<http://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2014.10.038>

Conclusion(s): Repeated 12-week courses of daily oral ulipristal acetate (5 and 10 mg) effectively control bleeding and pain, reduce fibroid volume, and restore QoL in patients with symptomatic fibroids.

Clinical Trial Registration Number: NCT01629563 (PEARL IV). (Fertil Steril® 2015;103:519–27. ©2015 by American Society for Reproductive Medicine.)

Key Words: Repeated intermittent use, ulipristal acetate, uterine fibroid, quality of life, long-term treatment

Discuss: You can discuss this article with its authors and with other ASRM members at <http://fertstertforum.com/donnezj-ulipristal-acetate-uterine-fibroids/>



Use your smartphone to scan this QR code and connect to the discussion forum for this article now.*

* Download a free QR code scanner by searching for "QR scanner" in your smartphone's app store or app marketplace.

Uterine leiomyomas, or fibroids, occur in 20%–40% of women of reproductive age (1). The most common symptoms are heavy menstrual bleeding, pain, dysmenorrhea, pelvic pressure, and anemia, resulting in chronic fatigue that adversely affects the women's quality of life and fertility (2).

Surgical and other invasive interventions still dominate treatment (3). Medical therapy is currently limited to preoperative reduction of symptoms related to uterine bleeding and fibroid size (4, 5) with no medical therapy providing long-term efficacy and acceptable tolerability and safety (4–11).

Ulipristal acetate (5 mg) once daily dose is approved in Europe and Canada for preoperative fibroid treatment (12). Ulipristal acetate, a selective P receptor (PR) modulator with pharmacokinetic properties supporting once daily dosing (13) potently modulates PR activity without suppressing E₂ to postmenopausal levels, and shows proapoptotic/antiproliferative effects on fibroid cells (13–17). Several short-term (3 months) randomized clinical studies showed that ulipristal acetate effectively controls bleeding and shrinks fibroids (18–21). After treatment cessation, return of menstruation usually occurs within 4–5 weeks but fibroid volume reduction can be sustained for up to 6 months. In addition, treatment with ulipristal acetate improved quality of life, reduced fibroid-associated pain, and revealed no safety concerns (20, 21). A selective PR modulator administration has been shown in clinical studies to lead to a pattern of benign, nonphysiological, nonproliferative, histologic features of the endometrium termed Progesterone receptor modulator Associated Endometrial Changes (PAEC) (22–25). These changes spontaneously reverse a few weeks to months after the end of ulipristal acetate treatment (20, 21, 26). Hence, intermittent courses of 12-week ulipristal acetate treatment with off-treatment intervals are a potential option for the long-term medical management of fibroids (12). Another open-label clinical study indicated that repeated use of ulipristal acetate (10 mg/d) for four 12-week consecutive treatment courses could achieve control of uterine bleeding and pain, fibroid volume reduction, and restore quality of life (26). The study design allowed for subjects to choose whether to complete only one treatment course before surgery or to continue, leading to a substantial reduction in patient numbers between the first and second treatment courses.

We conducted the study PGL4001 (ulipristal acetate) Efficacy Assessment in Reduction of symptoms due to uterine Leiomyomata (PEARL IV) to evaluate the efficacy and safety

of repeated 12-week courses of daily 5- or 10-mg doses of ulipristal acetate.

The primary null hypothesis for this study was that there would be no difference in the percentage of subjects who were in amenorrhea at the end of both treatment courses 1 and 2 for 10 mg of ulipristal acetate compared with 5 mg of ulipristal acetate.

MATERIALS AND METHODS

Study Design and Oversight

PEARL IV was a Phase III multicenter, randomized, double-blind, parallel group, long-term study investigating the efficacy and safety of 5 and 10 mg doses of ulipristal acetate for the treatment of uterine fibroids. PEARL IV was conducted in 46 study sites across 11 countries from June 2012 to February 2014. The study was approved by the independent ethics committee at each participating site and was conducted in accordance with the International Conference on Harmonization-Good Clinical Practice guidelines. The study was designed by the sponsor (PregLem) with the involvement of academic investigators and a study statistician. Data were collected by an independent contract research organization (ICON Clinical Research), and handled and analyzed by an independent data management organization (CROS NT). Jacques Donnez vouches for the data accuracy and analysis, and the fidelity of the study to the protocol. We present the results of part I on the first two treatment courses.

Study Population

We enrolled premenopausal women with at least one fibroid ≥ 3 cm in diameter and none > 12 cm, as assessed by ultrasonography. Heavy menstrual bleeding (pictorial blood-loss assessment chart [PBAC]) score > 100 and uterine size < 16 weeks of gestation were calculated. Eligible women were aged between 18 and 50 years inclusive, with a body mass index (BMI) of 18–40 (kg/m²) and regular menstrual cycles of 22–35 days with FSH ≤ 20 IU/L. Written informed consent was obtained from all women. The main exclusion criteria are listed in Supplemental Table 1 in the Appendix (available online).

Randomization and Intervention

Women were allocated randomly by a web-integrated voice response system in a 1:1 ratio to receive either 5 or

10 mg/d of oral ulipristal acetate and matching placebos for two 12-week courses. Ulipristal acetate was started during the first 4 days of menstruation. Treatment courses were separated by a drug-free interval. The second course was commenced with the second off-treatment menstruation. After the second treatment course and subsequent menstruation, an end of part I visit was performed. The sequence of visits, treatments and biopsies illustrated in [Appendix, Supplemental Figure 1](#) and [Supplemental Table 2](#) (available online).

Assessment of Uterine Bleeding

Patients recorded their bleeding pattern in a diary using an 8-day PBAC (27, 28) at screening and during the first menstruation after each treatment course. A PBAC score of >100 indicates menorrhagia. Bleeding pattern outside of the time frame was recorded in a diary with a simplified semiquantitative questionnaire containing four categories defined as “no bleeding,” “spotting,” “bleeding,” or “heavy bleeding.” Patients were asked to record their bleeding daily from start of treatment to the end of the observation visit.

Assessment of Endometrial Histology

Endometrial biopsies were obtained at screening and after treatment course 2 (10–18 days after start of menses for both treatment courses). An additional biopsy was performed during treatment course 1 if the screening biopsy was inadequate. All biopsies were assessed by three independent pathologists blinded to visit sequence, study group assignment, and each other’s assessments.

Assessment of Fibroid Size and Endometrial Thickness

Fibroid and endometrial thickness measurements were carried out by transvaginal ultrasound at screening, post-treatment course 1 (10–18 days after start of menses), at the end of treatment course 2, and after treatment course 2 (10–18 days after start of menses for both treatment courses).

End Points

The primary efficacy end point was the percentage of patients in amenorrhea at the end of both treatment courses. Amenorrhea was defined as no more than 1 day of spotting within a 35-day interval.

Secondary efficacy end points included amenorrhea at the end of each treatment course and the last 56 days of each treatment course, controlled bleeding at the end of both courses and each treatment course individually (defined as no episodes of heavy bleeding and a maximum of 8 days of bleeding during the last 56 days of a treatment course), time to amenorrhea at the start of each individual treatment course, volume of three largest fibroids, and uterus (measured by transvaginal ultrasound), pain, and quality of life.

The safety end points included number and proportion of patients withdrawing from treatment early for safety reasons, number and proportion of patients experiencing adverse

events including clinically significant changes in gynecological or breast examination, ovarian ultrasound, electrocardiogram, laboratory parameters, vital signs, and endometrial histology.

Statistical Analysis

Efficacy analyses were based on the full analysis set, defined as all randomized and treated patients. All statistical tests were two-sided, with a 5% level of significance. No adjustments were made for the multiple testing of secondary end points. In general, missing values were not imputed before analysis. However, if 3 consecutive days or less of the daily bleeding pattern were missing, the missing values were imputed with the greatest strength of bleeding immediately before or after the period of missing days.

The results for binary end points (including the primary efficacy end point) for 10 mg of ulipristal acetate versus 5 mg of ulipristal acetate were compared using χ^2 tests, with confidence intervals of the difference calculated using the Newcombe-Wilson score method (29). The change in total fibroid volume and uterine volume were analyzed by repeated-measures analysis of covariance after a log-transformation, with the results back-transformed before presentation. The change from baseline in PBAC scores was analyzed by the Wilcoxon rank sum test with the Hodges-Lehmann estimator (and corresponding Moses confidence interval) used for the differences in medians (30).

Assuming a dropout rate of approximately 10%, we estimated that 444 patients should be randomized for the study to have a power more than 85% to detect an absolute difference in the primary end point of 14% or more.

RESULTS

Patients

Demographic and baseline characteristics were balanced among the two treatment groups ([Table 1](#)). All patients had moderate-to-severe bleeding, and many had considerable pain, as well as impaired quality of life ([Table 1](#)). More than 90% patients completed both treatment courses. Adverse events (21 patients) and lack of efficacy (3 patients) were infrequent causes of study discontinuation ([Appendix](#) and [Supplemental Fig. 2](#), available online).

Efficacy

Menstrual bleeding. In the 5- and 10-mg treatment groups (62% and 73% patients, respectively) achieved amenorrhea at the end of both treatment courses ($P=.03$; [Table 2](#)). Rates of amenorrhea after each individual treatment course were higher for patients receiving 10 mg (~83%) than 5 mg (72%–74%) ([Supplemental Table 3 in the Appendix](#), available online) The median times to amenorrhea after the start of each treatment course were ≤ 6 days for each treatment group ([Table 2](#)). The proportions of patients with controlled bleeding at the end of both treatment courses were >80%, with no statistically significant differences between treatment groups ([Table 2](#)).

Menstruation resumed in most patients after the end of each treatment course within a median time of ≤ 28 days.

TABLE 1

Baseline characteristics (full analysis set).		
Characteristic	Ulipristal acetate 5 mg (N = 228)	Ulipristal acetate 10 mg (N = 223)
Age (y), mean (SD)	41.6 (5.4)	41.1 (5.1)
Ethnicity, n (%)		
Caucasian	211 (92.5)	214 (96.0)
Black	12 (5.3)	8 (3.6)
Other	4 (1.8)	1 (0.4)
Not reported	1 (0.4)	0
Weight (kg), mean (SD)	69.2 (12.7)	70.0 (12.8)
BMI (kg/m ²), mean (SD)	25.2 (4.1)	25.3 (4.5)
PBAC Score, median (IQR)	224 (148–357)	215 (151–373)
Total volume of three largest fibroids (cm ³), median (IQR)	42.6 (24.0–94.2)	43.6 (27.3–117.3)
Uterine volume (cm ³), median (IQR)	176.9 (113.1–269.8)	175.22 (116.6–267.6)
Pain assessment (VAS), median (IQR)	39.5 (15.3–62.6)	43.0 (18.5–67.5)
UFS-QoL questionnaire		
Symptom severity, median (IQR)	50.0 (37.5–62.5)	50.0 (37.5–62.5)
HRQL, median (IQR)	56.9 (42.2–75.9)	55.2 (41.4–71.6)

Note: BMI = body mass index; HRQL = health-related quality of life; IQR = interquartile range; SD = standard deviation; UFS-QoL = uterine fibroid symptom and health-related quality of life questionnaire; VAS = visual analogue scale (score range, 0–100, the higher the greater pain).

Donnez. Ulipristal acetate in uterine fibroids. *Fertil Steril* 2015.

Off-treatment menstrual bleeding (PBAC days 1–8, [Appendix and Supplemental Figure 3](#)) progressively reduced from medians of >200 at the start of the first course to <100 after the end of the second ulipristal acetate course in both treatment groups ([Table 2](#)).

Fibroid volume. The median reductions in the combined volume of the three largest fibroids from baseline to the period after the first menses at the end of treatment course 1 were 38% and 38%, and for treatment course 2, 54% and 58% for patients receiving 5 and 10 mg of ulipristal acetate, respectively ([Table 2](#)).

Pain and quality of life. Median visual analogue scale pain scores for patients receiving 5 and 10 mg of ulipristal acetate decreased substantially from baselines of 39.5 and 43.0, respectively, to 6.0 (both treatment groups) at the end of course 1 ([Fig. 1A](#)). There was some relative return of pain when menstruation resumed during the off-treatment period (median scores, 22.5 and 22.0) before decreasing again to medians of 6.0 and 5.0 at the end of the second treatment course for patients receiving 5 and 10 mg, respectively. Quality of life was severely impaired at baseline ([Fig. 1B and C](#)), but was substantially improved at the end of both treatment courses for treatment groups. As with pain there was a partial deterioration of quality of life during the off-treatment period between treatment courses.

Surgery. Surgery was performed in only three and five patients receiving 5 and 10 mg of ulipristal acetate, respectively ([Appendix](#), available online).

General safety. The proportion of patients with adverse events during the first treatment course was the same (44%) for both treatment groups ([Table 3](#)). Fewer patients reported adverse events during the second treatment course (27% and 30% for the 5- and 10-mg treatment groups, respectively). Headaches and hot flushes were the most frequently reported adverse events, but occurred in ≤10% of patients, and only one event of headache was reported as severe. Overall 21 (<5%) patients discontinued treatment at any time

during or after the two treatment courses due to adverse events. There were 18 serious adverse events reported during part I, 9 occurring during treatment and 9 occurring between or after treatment courses ([Table 3](#)). The investigators assessed only five serious adverse events (4 cases of menorrhagia and a partial expulsion of a leiomyoma) as possibly related to ulipristal acetate therapy. No safety concerns were identified from physical examination, vital signs, laboratory safety tests, ovarian ultrasound, and electrocardiograms.

Endometrial safety. Transient increases in endometrial thickness, assessed by transvaginal ultrasound, occurred in less than 10% patients after each ulipristal acetate course ([Supplemental Table 4 in the Appendix](#), available online). Some nonphysiological features, compatible with PAEC, were reported by at least two pathologists for 17 biopsies (8%) at screening in each treatment group, and for 29 (16%) and 35 biopsies (19%) after treatment course 2 for the 5- and 10-mg treatment groups, respectively ([Supplemental Table 3 in the Appendix](#)). Three cases of hyperplasia were also reported, including one simple atypical endometrial hyperplasia that resolved into “benign secretory endometrium” by the end of treatment. The after treatment biopsy sample from another patient was reported as endometrial adenocarcinoma by one of the three pathologists; however, adenocarcinoma was already observed by the same pathologist at the initial biopsy ([Table 3 and Appendix](#) [available online]).

Laboratory Parameters

Laboratory results did not reveal any safety signals and no patients discontinued treatment due to test abnormalities. A table detailing the laboratory results can be found in [Supplemental Table 5 in the Appendix](#) (available online).

DISCUSSION

The potential of long-term selective PR modulator treatment to control bleeding, progressively shrink fibroids, and enable patients to avoid surgery was unknown. Due to uncertainty

TABLE 2

Key efficacy outcomes (full analysis set).				
Variable	Ulipristal acetate 5 mg (N = 228)	Ulipristal acetate 10 mg (N = 223)	Difference (95% CI) (ulipristal acetate 10 mg vs. 5 mg)	P value
Primary end point				
Amenorrhea at the end of both treatment courses (1 and 2), no./total no. (%)	122/197 (61.9)	136/187 (72.7)	10.8 (1.5–20.1)	.03
Secondary end points				
Controlled bleeding ^a at the end of both treatment courses (1 and 2), no./total no. (%)	150/185 (81.1)	148/172 (86.0)	5.0 (–2.7 to 12.6)	.26
Time to amenorrhea in course 1 (d), median (IQR)	5 (2–9)	4 (2–7)		
Time to amenorrhea in course 2 (d), median (IQR)	5 (4–9)	6 (4–8)		
PBAC (baseline actual), median (IQR)	224 (148–357) (N = 218)	215 (151–373) (N = 214)		
After treatment course 1, median (IQR)	123 (45–313) (N = 172)	129 (56–285) (N = 156)		
After treatment course 1 (CFB), median (IQR)	–87 (–167 to 13) (N = 167)	–85 (–209 to –12) (N = 151)	–13 (–54 to 28)	.55
After treatment course 2, median (IQR)	92 (44–243) (N = 159)	99 (37–202) (N = 152)		
After treatment course 2 (CFB), median (IQR)	–95 (–216 to 9) (N = 152)	–110 (–236 to –50) (N = 146)	–28 (–65 to 6)	.10
Total volume of three largest fibroids (cm ³), baseline actual, median (IQR)	42.6 (24.0–94.2)	43.6 (27.3–117.3)		
After first menses after treatment course 1 (%CFB), median (IQR)	–38.0 (–60.3 to –14.3) (N = 207)	–38.2 (–60.3 to –15.0) (N = 206)	0.91 (0.80–1.03) ^b	.15
End of treatment course 2 (%CFB), median (IQR)	–54.1 (–74.6 to –33.0) (N = 197)	–58.0 (–74.1 to –36.3) (N = 200)	0.89 (0.75–1.07) ^b	.21
After first menses after treatment course 2 (%CFB), median (IQR)	–53.8 (–77.1 to –23.4) (N = 188)	–58.1 (–77.0 to –32.9) (N = 192)	0.83 (0.69–1.01) ^b	.06
Fibroid volume reduction ≥ 25%				
After first menses after treatment course 1, no./total no. (%)	129/207 (62.3)	137/206 (66.5)	4.2 (–5.0 to 13.4)	.43
End of treatment course 2, no./total no. (%)	158/197 (80.2)	166/200 (83.0)	2.8 (–4.8 to 10.4)	.56
After first menses after treatment course 2, no./total no. (%)	139/188 (73.9)	152/192 (79.2)	5.2 (–3.3 to 13.7)	.28
Uterine volume (cm ³), baseline actual, median (IQR)	176.9 (113.1–269.8)	175.2 (116.6–267.6)		
After first menses after treatment course 1 (%CFB), median (IQR)	–13.3 (–28.5 to 8.2) (N = 214)	–13.0 (–29.5 to 3.5) (N = 211)	0.99 (0.92–1.05) ^b	.67
End of treatment course 2 (%CFB), median (IQR)	–23.6 (–40.9 to –4.4) (N = 205)	–25.5 (–44.7 to –5.9) (N = 203)	0.96 (0.88–1.04) ^b	.32
After first menses after treatment course 2 (%CFB), median (IQR)	–20.38 (–35.1 to 2.6) (N = 194)	–21.9 (–41.5 to 0.4) (N = 196)	0.95 (0.88–1.03) ^b	.24
Uterine volume reduction ≥ 25%				
After first menses after treatment course 1, no./total no. (%)	63/214 (29.4)	66/211 (31.3)	1.8 (–6.9 to 10.6)	.76
End of treatment course 2, no./total no. (%)	98/205 (47.8)	103/203 (50.7)	2.9 (–6.8 to 12.6)	.62
After first menses after treatment course 2, no./total no. (%)	90/194 (46.4)	90/196 (45.9)	–0.5 (–10.4 to 9.4)	1.00

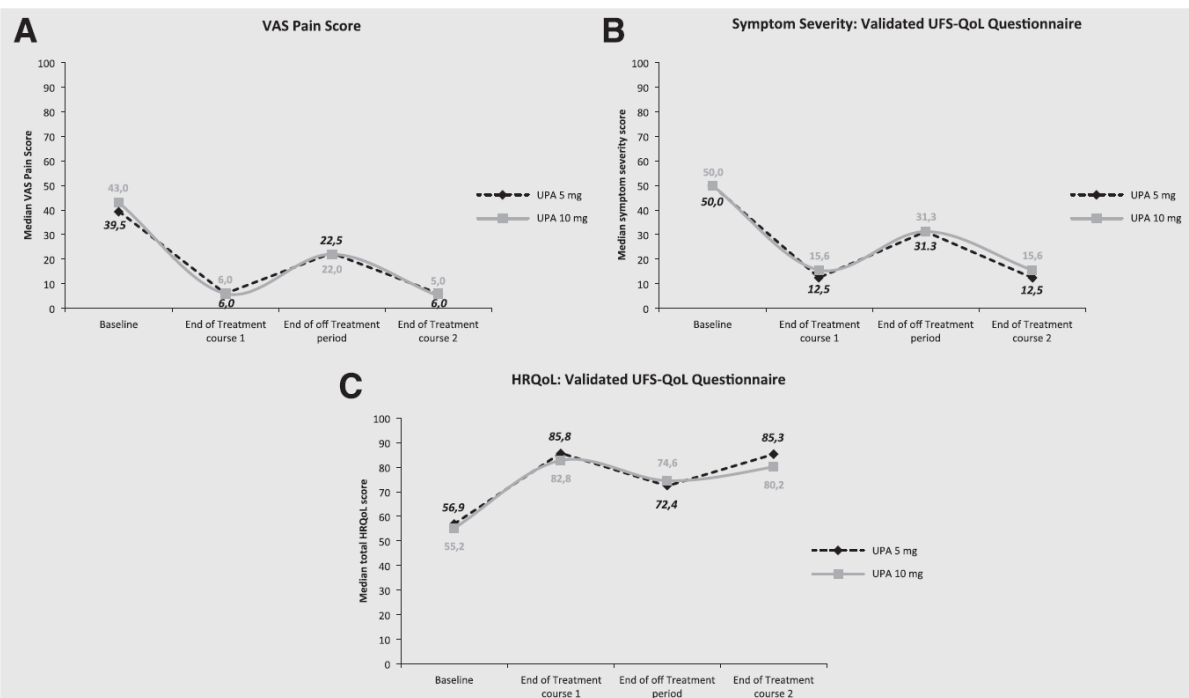
Note: If a woman had more than three consecutive missing days in the last 35 d of a treatment course the amenorrhea assessment was left as missing, unless the women had reported bleeding during these last 35 d (subject is not in amenorrhea). Sensitivity analyses for end point are reported in the Appendix, available online. %CFB = percent change from baseline; CFB = change from baseline; CI = confidence interval; IQR = interquartile range; PBAC = pictorial blood-loss assessment chart.

^a Controlled bleeding was defined as no episodes of heavy bleeding and a maximum of 8 d of bleeding during the last 56 d of a course of treatment.

^b Ratio of ulipristal acetate 10 mg ratio to baseline to ulipristal acetate 5 mg ratio to baseline (95% CI).

Domez. Ulipristal acetate in uterine fibroids. *Fertil Steril* 2015.

FIGURE 1



Effect of ulipristal acetate (UPA) on (A) pain, (B) symptom severity, and (C) health-related quality of life (QoL). (A) shows the fibroid related pain using a visual analogue scale (VAS) ranging from 0 (no pain) to 100 (worst possible pain). (B) shows the uterine fibroid symptom severity consisting of a validated questionnaire where lower scores indicate fewer symptoms. The symptom severity score comprises four domains: bleeding, abdominal pressure, urination frequency, and fatigue. A level of 23 has been reported in a uterine fibroid symptom and health-related quality of life questionnaire (UFS-QoL) study for healthy subjects (34). (C) shows the health-related (HR) QoL where higher scores indicate a better QoL and includes six domains: concern, activities, energy/mood, control, self consciousness, and sexual function. A level of 86 has been reported in a UFS-QoL validation study as a reference for healthy subjects (34).

Donnez. Ulipristal acetate in uterine fibroids. *Fertil Steril* 2015.

as to whether continuous selective PR modulator treatment could lead to adverse consequence for the endometrium, a model of intermittent treatment courses has been adopted. In this randomized, double-blind study, we administered two 12-week courses of ulipristal acetate (5 or 10 mg/d) to patients with fibroids and severe bleeding and evaluated the efficacy and safety during a period of about 10 months. Baseline fibroid volume and bleeding severity in the recruited patients were similar to those reported for other clinical studies (20, 21, 26). More than 90% of patients in each group completed both ulipristal acetate treatment courses, leading to a high level of confidence in interpretation of the results.

Both dose regimens of ulipristal acetate controlled the most debilitating symptom of fibroids (menorrhagia) as evidenced by the high proportion of patients with amenorrhea at the end of each treatment course. Rates of amenorrhea were approximately 10% more for the 10-mg dose compared with the 5-mg dose regimen, but even with the 5-mg dose more than 80% patients achieved controlled bleeding at the end of both treatment courses. This leads us to conclude that the 5-mg dose approved for preoperative use should be considered for future long-term symptom management. As

expected, menstruation resumed after each treatment course but the magnitude of menstrual bleeding progressively diminished during the off-treatment periods to a median level below the threshold for menorrhagia.

Both doses of ulipristal acetate were effective in shrinking fibroids, more than halving the fibroid volume in more than 50% of patients by the end of the second treatment course. Patients also reported substantial improvements in pain and quality of life during treatment, and these improvements were partly maintained during the off-treatment period. Very few patients (<2%) discontinued the study to undergo surgery.

Most adverse events were mild or moderate and occurred less frequently in the second treatment course. Four serious adverse events considered related to ulipristal acetate by the investigator were cases of menorrhagia (all occurring off-treatment when menstruation was expected to resume). This incidence is not more than reported in previous studies of ulipristal acetate, placebo, and comparator agents in women with fibroid-related menorrhagia (20, 21, 26). The only other serious adverse event considered related to ulipristal acetate was a partial expulsion of a leiomyoma.

TABLE 3

Adverse events (safety set).

Type	Treatment course 1				Treatment course 2			
	ulipristal acetate 5 mg (N = 230)		ulipristal acetate 10 mg (N = 221)		ulipristal acetate 5 mg (N = 215)		ulipristal acetate 10 mg (N = 205)	
	N	%	N	%	N	%	N	%
On-treatment AE leading to study withdrawal ^a	6	2.6	7	3.2	1	0.5	4	2.0
Off-treatment AE leading to study withdrawal ^b	2	0.9	1	0.5	0	0	0	0
At least one on-treatment AE ^a	102	44.3	98	44.3	59	27.4	61	29.8
Headache	21	9.1	23	10.4	13	6.0	5	2.4
Hot flush	13	5.7	15	6.8	8	3.7	6	2.9
Breast pain/tenderness/discomfort	7	3.0	5	2.3	2	0.9	0	0
Influenza	9	3.9	8	3.6	0	0	1	0.5
Nasopharyngitis	2	0.9	8	3.6	3	1.4	1	0.5
Nausea	8	3.5	4	1.8	0	0	0	0
Fatigue	3	1.3	7	3.2	3	1.4	2	1.0
At least one off-treatment AE ^b	37	16.1	42	19.0	25	11.6	22	10.7
Headache	6	2.6	8	3.6	1	0.5	2	1.0
At least one on-treatment SAE ^a	3	1.3	3	1.4	1	0.5	2	1.0
Anemia	1	0.4	0	0	0	0	0	0
Arteriospasm coronary	0	0	1	0.5	0	0	0	0
Tinnitus	0	0	1	0.5	0	0	0	0
Cholelithiasis	0	0	1	0.5	0	0	0	0
Periarthritis	1	0.4	0	0	0	0	0	0
Bipolar disorder (same subject)	1	0.4	0	0	1	0.5	0	0
Breast cancer	0	0	0	0	0	0	1	0.5
Menorrhagia	0	0	0	0	0	0	1	0.5
At least one off-treatment SAE ^b	5	2.2	3	1.4	1	0.5	0	0
Menorrhagia	4	1.7	0	0	0	0	0	0
Castleman's disease	1	0.4	0	0	0	0	0	0
Partial expulsion of uterine myoma	0	0	1	0.5	0	0	0	0
Small intestinal obstruction	0	0	1	0.5	0	0	0	0
Carpal tunnel syndrome	0	0	1	0.5	0	0	0	0
Endometrial adenocarcinoma ^c	0	0	0	0	1	0.5	0	0

Note: Table includes adverse events (AEs) occurring in ≥3% patients as well as all serious adverse events (SEA) occurring at or after the first dose of study drug and on or before the last visit after treatment course 2. Patients could have more than one AE of same type.

^a On-treatment Treatment Emergent Adverse Events (TEAEs) are defined as events whose start date is during or after the first dose of study drug, up to and including 7 days after the last dose of study medication within each treatment course.

^b Off-treatment TEAEs are defined as events whose start date is more than 7 d after the last dose of study medication within each treatment course and before the start of the next treatment course.

^c Preexisting condition: On initial and follow-up biopsy, one of three pathologists reported presence of adenocarcinoma. Further details the Appendix, available online.

Donnez. Ulipristal acetate in uterine fibroids. *Fertil Steril* 2015.

Donnez et al. (20, 21) previously reported that a 3-month course of ulipristal acetate induces PAEC in approximately 60% of patients and that this is fully reversible 6 months after the end of treatment. In the present study the endometrium was biopsied approximately 6 weeks after the end of the second course of ulipristal acetate, and nonphysiological features were observed in approximately 16% and 19% patients who had been treated with 5 and 10 mg of ulipristal acetate, respectively. Thus repeated courses of ulipristal acetate do not increase the frequency of PAEC. The incidence of endometrial hyperplasia after two treatment courses was <1%, which is consistent with the expected frequency in women with abnormal uterus bleeding within this age range (31).

Currently there are no approved long-term medical treatment options for the management of patients with symptomatic fibroids. The GnRH agonists with hormonal add-back therapy (9, 32, 33, 35, 36), oral progestins (alone), and intrauterine levonorgestrel (37–41) have been used but are associated with various tolerability and safety issues and inconsistent or lack of efficacy in shrinking fibroids. To be acceptable as a long-term management option, medical

therapy should rapidly control bleeding and progressively shrink the fibroids, in addition to showing a good safety profile. If medical treatment has to be intermittent, then the regimen must be simple, and there should not be regrowth of fibroids and return of symptoms during off-treatment periods. We believe that the intermittent 12-week ulipristal acetate daily dose regimens (the first course to be administered at the start of a menstrual cycle, and subsequent courses to commence at the start of the second menses after the previous course) fulfill most of these criteria, as evidenced by the low side effect burden and discontinuation rate, and the high compliance with treatment. Some patients did experience pain and excessive bleeding during off-treatment periods but generally not of the same magnitude as prior to treatment. Also there was no regrowth of fibroids observed during follow-up. Thus our results suggest that intermittent ulipristal acetate is a viable and attractive long-term medical management option for patients with symptomatic fibroids. Our data are also consistent with the results of an earlier study (26) reporting that up to four intermittent treatment courses of ulipristal acetate could be successively administered to control

ORIGINAL ARTICLE: GYNECOLOGY AND MENOPAUSE

bleeding and shrink fibroids. However, interpretation of the results of that study was limited by the open-label design with only one dose (10 mg not currently approved), the limited sample size, and by the inclusion of subjects desiring only a single course of treatment before surgery, leading to a substantial decrease in numbers of patients progressing to the second treatment course.

There are some weaknesses in our study. We could not use a placebo control for long-term ulipristal acetate treatment. However, we previously demonstrated that a 3-month course of ulipristal acetate was superior to placebo and not inferior to a GnRH agonist for control of uterine bleeding (21–26). Although our study showed an advantage of the 10-mg dose for rates of amenorrhea, bleeding control was comparable with the 5-mg dose.

We report results for only two treatment courses, but further intermittent treatment courses have been reported as effective (26). We did not recruit many women of African origin, but previous short-term studies have reported efficacy in these patients (18, 19).

In conclusion, in this large double-blind, randomized study, we showed that repeated 12-week courses of oral ulipristal acetate (5 and 10 mg/d) effectively and safely control bleeding and pain, reduce fibroid volume, and restore quality of life in patients with symptomatic fibroids. Compliance with intermittent treatment is good, and symptomatic improvement and fibroid volume shrinkage can be largely maintained during the off-treatment periods.

Acknowledgments: The authors thank Kerry Ferrero of PregLem S.A. for assistance with the preparation of the article with the support of Pablo Arriagada and Helen Saunders of PregLem S.A. and the Clinical Trial Manager Florence Jean of PregLem S.A.

REFERENCES

1. Wallach EE, Vlahos NF. Uterine myomas: an overview of development, clinical features, and management. *Obstet Gynecol* 2004;104:393–6.
2. Donnez J, Jadoul P. What are the implications of myomas on fertility? A need for a debate? *Hum Reprod* 2002;17:1424–30.
3. Stewart EA. Uterine fibroids and evidence-based medicine. Not an oxymoron. *N Engl J Med* 2012;366:471–3.
4. Donnez J, Schrurs B, Gillerot S, Sandow J, Clerckx F. Treatment of uterine fibroids with implants of gonadotropin-releasing hormone agonist: assessment by hystero-graphy. *Fertil Steril* 1989;51:947–50.
5. Lethaby A, Vollenhoven B, Sowter M. Pre-operative GnRH analogue therapy before hysterectomy or myomectomy for uterine fibroids. *Cochrane Database Syst Rev* 2001:CD000547.
6. Scialli AR, Jestila KJ. Sustained benefits of leuprolide acetate with or without subsequent medroxyprogesterone acetate in the nonsurgical management of leiomyomata uteri. *Fertil Steril* 1995;64:313–20.
7. Nisolle M, Gillerot S, Casanas-Roux F, Squifflet J, Berliere M, Donnez J. Immunohistochemical study of the proliferation index, oestrogen receptors and progesterone receptors A and B in leiomyomata and normal myometrium during the menstrual cycle and under gonadotrophin-releasing hormone agonist therapy. *Hum Reprod* 1999;14:2844–50.
8. Yin P, Lin Z, Reierstad S, Wu J, Ishikawa H, Marsh EE, et al. Transcription factor KLF11 integrates progesterone receptor signaling and proliferation in uterine leiomyoma cells. *Cancer Res* 2010;70:1722–30.
9. Carr BR, Marshburn PB, Weatherall PT, Bradshaw KD, Breslau NA, Byrd W, et al. An evaluation of the effect of gonadotropin-releasing hormone

- analog and medroxyprogesterone acetate on uterine leiomyomata volume by magnetic resonance imaging: a prospective, randomized, double blind, placebo-controlled, crossover study. *J Clin Endocrinol Metab* 1993;76:1217–23.
10. Kim JJ, Sefton EC. The role of progesterone signaling in the pathogenesis of uterine leiomyoma. *Mol Cell Endocrinol* 2012;358:223–31.
11. Zapata LB, Whiteman MK, Tepper NK, Jamieson DJ, Marchbanks PA, Curtis KM. Intrauterine device use among women with uterine fibroids: a systematic review. *Contraception* 2010;82:41–55.
12. Melis GB, Piras B, Marotto MF, Orru MM, Maricosu G, Pilloni M, et al. Pharmacokinetic evaluation of ulipristal acetate for uterine leiomyoma treatment. *Expert Opin Drug Metab Toxicol* 2012;8:901–8.
13. Pohl O, Osterloh I, Gotteland J. Ulipristal acetate—safety and pharmacokinetics following multiple doses of 10–50 mg per day. *J Clin Pharm Ther* 2013;38:314–20.
14. Gainer EE, Ulmann A. Pharmacologic properties of CDB(VA)-2914. *Steroids* 2003;68:1005–11.
15. Horak P, Mara M, Dunder P, Kubinova K, Kuzel D, Hudecek R, et al. Effect of a selective progesterone receptor modulator on induction of apoptosis in uterine fibroids in vivo. *Int J Endocrinol* 2012;2012:4361–74.
16. Xu Q, Ohara N, Chen W, Liu J, Sasaki H, Morikawa A, et al. Progesterone receptor modulator CDB-2914 down-regulates vascular endothelial growth factor, adrenomedullin and their receptors and modulates progesterone receptor content in cultured human uterine leiomyoma cells. *Hum Reprod* 2006;21:2408–16.
17. Xu Q, Takekida S, Ohara N, Chen W, Sitruk-Ware R, Johansson ED, et al. Progesterone receptor modulator CDB-2914 down-regulates proliferative cell nuclear antigen and Bcl-2 protein expression and up-regulates caspase-3 and poly(adenosine 5'-diphosphate-ribose) polymerase expression in cultured human uterine leiomyoma cells. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90:953–61.
18. Levens ED, Potlog-Nahari C, Armstrong AY, Wesley R, Premkumar A, Blithe DL, et al. CDB-2914 for uterine leiomyomata treatment: a randomized controlled trial. *Obstet Gynecol* 2008;111:1129–36.
19. Nieman LK, Blocker W, Nansel T, Mahoney S, Reynolds J, Blithe D, et al. Efficacy and tolerability of CDB-2914 treatment for symptomatic uterine fibroids: a randomized, double-blind, placebo-controlled, phase IIb study. *Fertil Steril* 2011;95:767–72.
20. Donnez J, Tatarchuk TF, Bouchard P, Puscasiu L, Zakharenko NF, Ivanova T, et al. Ulipristal acetate versus placebo for fibroid treatment before surgery. *N Engl J Med* 2012;366:409–20.
21. Donnez J, Tomaszewski J, Vazquez F, Bouchard P, Lemieczuk B, Baro F, et al. Ulipristal acetate versus leuprolide acetate for uterine fibroids. *N Engl J Med* 2012;366:421–32.
22. Mutter GL, Bergeron C, Deligdisch L, Ferenczy A, Glant M, Merino M, et al. The spectrum of endometrial pathology induced by progesterone receptor modulators. *Mod Pathol* 2008;21:591–8.
23. Fiscella J, Bonfiglio T, Winters P, Eisinger SH, Fiscella K. Distinguishing features of endometrial pathology after exposure to the progesterone receptor modulator mifepristone. *Hum Pathol* 2011;42:947–53.
24. Ioffe OB, Zaino RJ, Mutter GL. Endometrial changes from short-term therapy with CDB-4124, a selective progesterone receptor modulator. *Mod Pathol* 2009;22:450–9.
25. Williams AR, Bergeron C, Barlow DH, Ferenczy A. Endometrial morphology after treatment of uterine fibroids with the selective progesterone receptor modulator, ulipristal acetate. *Int J Gynecol Pathol* 2012;31:556–69.
26. Donnez J, Vazquez F, Tomaszewski J, Nouri K, Bouchard P, Fauser BC, et al. Long-term treatment of uterine fibroids with ulipristal acetate. *Fertil Steril* 2014;101:1565–73.
27. Higham JM, O'Brien PM, Shaw RW. Assessment of menstrual blood loss using a pictorial chart. *Br J Obstet Gynaecol* 1990;97:734–9.
28. Janssen CA, Scholten PC, Heintz AP. A simple visual assessment technique to discriminate between menorrhagia and normal menstrual blood loss. *Obstet Gynecol* 1995;85:977–82.
29. Newcombe RB. Interval estimation for the difference between independent proportions: Comparison of eleven methods. *Stat Med* 1998;17:873–90 [Erratum, *Statist Med* 1999;18:1293].

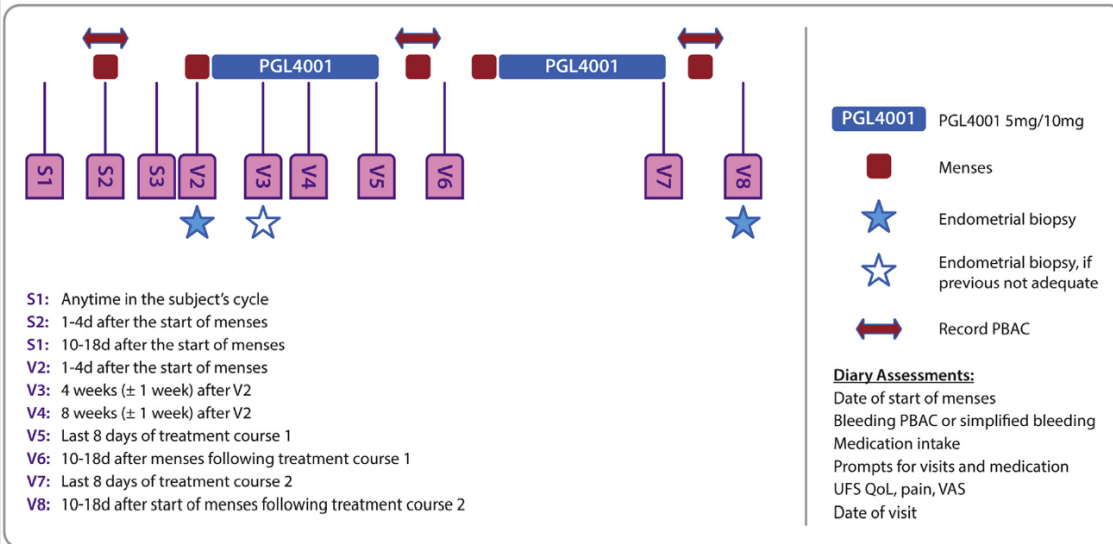
Fertility and Sterility®

30. Hollander M, Wolfe DA. Nonparametric statistical methods. 1st ed., Ch 4. New York: John Wiley & Sons; 1973:75–82.
31. Milosevic J, Djordjevic B, Tasic M. Influence of menopausal status on frequency and pathohistological features of endometrial hyperplasia and carcinoma in patients with abnormal uterine bleeding. *Acta Med Medianae* 2008;47:33–7.
32. Lethaby A, Vollenhoven B. Fibroids (uterine myomatosis, leiomyomas). *Clin Evid (Online)*; 2011:pil0814.
33. Caird LE, West CP, Lumsden MA, Hannan WJ, Gow SM. Medroxyprogesterone acetate with Zoladex for long-term treatment of fibroids: effects on bone density and patient acceptability. *Hum Reprod* 1997;12:436–40.
34. Spies JB, Coyne K, Guaou GN, Boyle D, Skyrnarz-Murphy K, Gonzales SM. The UFS-QOL, a new disease-specific symptom and health-related quality of life questionnaire for leiomyomata. *Obstet Gynecol* 2002;99:290–300.
35. Friedman AJ, Barbieri RL, Doubilet PM, Fine C, Schiff I. A randomized, double-blind trial of a gonadotropin releasing-hormone agonist (leuprolide) with or without medroxyprogesterone acetate in the treatment of leiomyomata uteri. *Fertil Steril* 1988;49:404–9.
36. Rein MS, Friedman AJ, Stuart JM, MacLaughlin DT. Fibroid and myometrial steroid receptors in women treated with gonadotropin-releasing hormone agonist leuprolide acetate. *Fertil Steril* 1990;53:1018–23.
37. Sayed GH, Zakherah MS, El-Nashar SA, Shaaban MM. A randomized clinical trial of a levonorgestrel-releasing intrauterine system and a low-dose combined oral contraceptive for fibroid-related menorrhagia. *Int J Gynaecol Obstet* 2011;112:126–30.
38. Soysal S, Soysal ME. The efficacy of levonorgestrel-releasing intrauterine device in selected cases of myoma-related menorrhagia: a prospective controlled trial. *Gynecol Obstet Invest* 2005;59:29–35.
39. Starczewski A, Iwanicki M. Intrauterine therapy with levonorgestrel-releasing IUD in hypermenorrhoea secondary to uterine fibroids. *Ginekol Pol* 2000;71:1221–5.
40. Wildemeersch D, Schacht E. The effect on menstrual blood loss in women with uterine fibroids of a novel “frameless” intrauterine levonorgestrel-releasing drug delivery system: a pilot study. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2002;102:74–9.
41. Mirena. Summary of product characteristics Mirena: Bayer plc. Available at: <http://www.medicines.org.uk/emc/medicine/1829/SPC/Mirena>. Accessed July 1, 2013.

ORIGINAL ARTICLE: GYNECOLOGY AND MENOPAUSE

SUPPLEMENTAL FIGURE 1

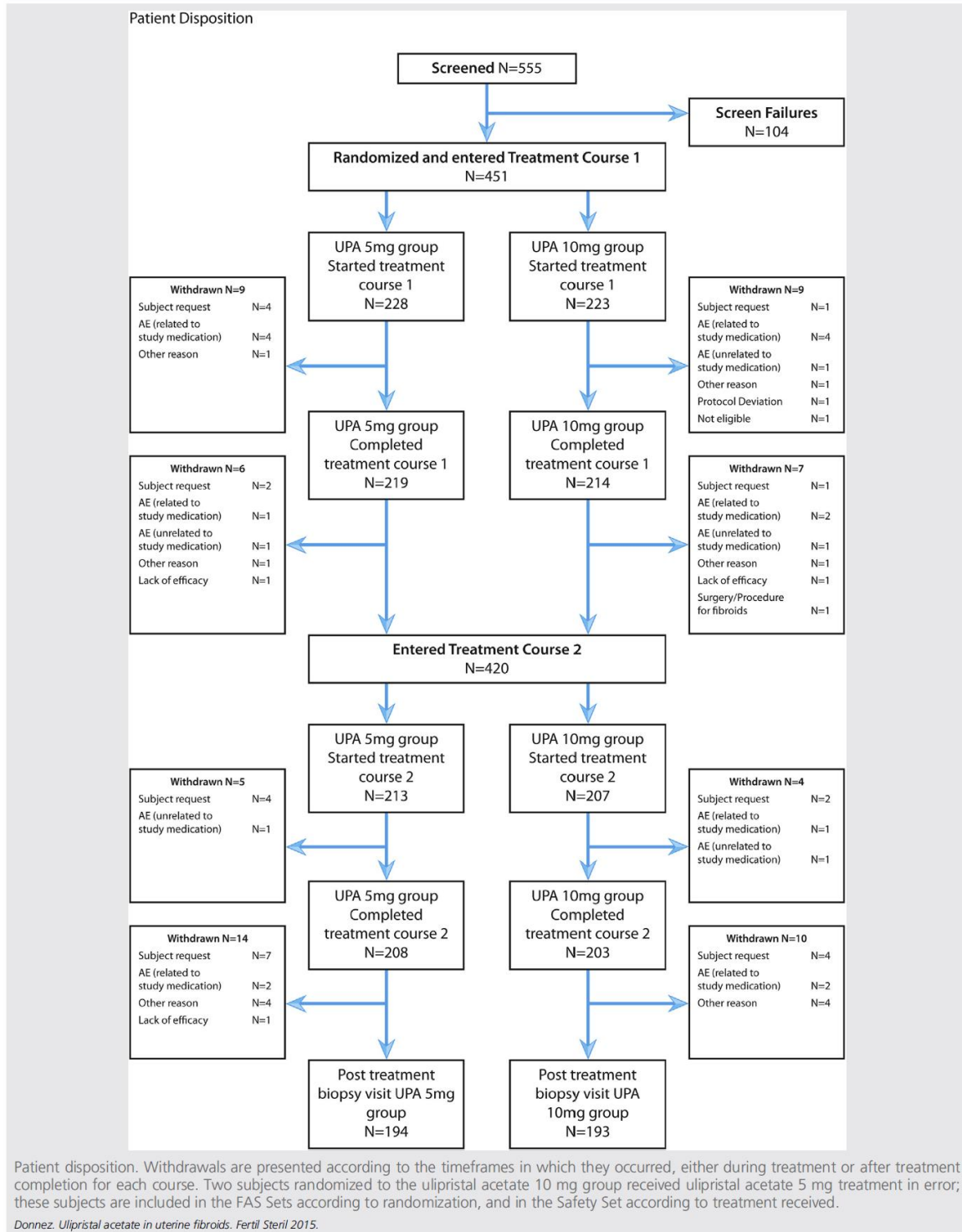
Schedule of Treatments and visits



Schedule of treatments and visits.

Donnez. Ulipristal acetate in uterine fibroids. *Fertil Steril* 2015.

SUPPLEMENTAL FIGURE 2









SUPPLEMENTAL FIGURE 3


Pictorial Bleeding Assessment Chart recording document

Day 1 of Menstruation:

						2	0		
D	D	M	M	M	Y	Y	Y	Y	Y

↓

		1	2	3	4	5	6	7
Score	Towels		No bleeding <input type="checkbox"/>	No bleeding <input type="checkbox"/>	No bleeding <input type="checkbox"/>	No bleeding <input type="checkbox"/>	No bleeding <input type="checkbox"/>	No bleeding <input type="checkbox"/>
1								
5								
20								
Tampons								
1								
5								
10								
1	Small Clots / Flooding							
5	Large Clots / Flooding							



Pictorial Bleeding Assessment Chart recording document. PBAC is one of the current standard methods used to objectively estimate menstrual blood loss and diagnose menorrhagia. The method which was developed and validated by Higham and Janssen defines excessive bleeding as a PBAC score >100.
 Donnez. Ulipristal acetate in uterine fibroids. *Fertil Steril* 2015.



Long-term medical management of uterine fibroids with ulipristal acetate

Jacques Donnez, M.D.,^a Olivier Donnez, M.D.,^b Dace Matule, M.D.,^c Hans-Joachim Ahrendt, M.D.,^d Robert Hudecek, M.D.,^e Janos Zatik, M.D.,^f Zaneta Kasilovskiene, M.D.,^g Mihai Cristian Dumitrascu, M.D.,^h Hervé Fernandez, M.D.,ⁱ David H. Barlow, F.R.C.O.G.,^j Philippe Bouchard, M.D.,^k Bart C. J. M. Fauser, M.D.,^l Elke Bestel, M.D.,^m and Ernest Loumaye, M.D.ⁿ

^a Société de Recherche pour l'Infertilité, Brussels, Belgium; ^b Institut de Recherche Expérimentale et Clinique, Université Catholique de Louvain, Brussels, Belgium; ^c Medical Company ARS Gynaecology Department No. 5, Riga, Latvia; ^d Praxis für Frauenheilkunde, Klinische Forschung und Weiterbildung, Magdeburg, Germany; ^e Department of Obstetrics and Gynaecology, Masaryk University and University Hospital Brno, Brno, Czech Republic; ^f Szent Anna Szuleszeti, Nőgyógyászati és Ultrahang Magánrendelő, Debrecen, Hungary; ^g Private Clinic Maxmeda, Vilnius, Lithuania; ^h Central Medical EUROMED SRL, Obstetrica-Ginecologie, Bucuresti, Romania; ⁱ Hôpital Bicêtre-APHP, Service de Gynécologie-Obstétrique, Le Kremlin-Bicêtre, France; ^j Hamad Medical Corporation, Qatar and University of Glasgow, Glasgow, United Kingdom; ^k Service d'Endocrinologie, Hôpital Saint-Antoine, Paris, France; ^l Department of Reproductive Medicine and Gynecology, University Medical Center Utrecht, Utrecht, the Netherlands; ^m PregLem S.A., Plan-les-Ouates, Geneva, Switzerland; and ⁿ ObsEva S.A., Plan-les-Ouates, Geneva, Switzerland

Objective: To investigate the efficacy and safety of repeated 12-week courses of 5 or 10 mg daily ulipristal acetate for intermittent treatment of symptomatic uterine fibroids.

Design: Double-blind, randomized administration of four 12-week courses of ulipristal acetate.

Setting: Gynecology centers.

Patient(s): Four hundred fifty-one subjects with symptomatic uterine fibroid(s) and heavy menstrual bleeding.

Intervention(s): Four repeated 12-week treatment courses of daily 5 or 10 mg ulipristal acetate.

Main Outcome Measure(s): Endometrial safety and general safety, laboratory parameters, amenorrhea, controlled bleeding, fibroid volume, quality of life (QoL), and pain.

Result(s): Efficacy results, such as bleeding control and fibroid volume reduction, were in line with previously published data. Pain and QoL showed marked improvements from screening, even during the off-treatment intervals. The safety profile of ulipristal acetate was confirmed, and repeated treatment courses did not increase the occurrence of adverse reactions. There were no significant changes in laboratory parameters during the study. The percentage of subjects with endometrial thickness ≥ 16 mm was 7.4% (all subjects) after the first treatment course and returned to below screening levels (4.9%) in subsequent treatment courses. As in previous studies, ulipristal acetate did not increase the occurrence of endometrial features of concern. The frequency of nonphysiological changes did not increase with repeated treatment. They were

Received June 25, 2015; revised September 18, 2015; accepted September 21, 2015; published online October 23, 2015.

J.D. has been a member of the Scientific Advisory Board (SAB) of PregLem S.A. since 2007. He held PregLem stocks related to SAB activities that he sold in October 2010 at PregLem's full acquisition by the Gedeon Richter Group. There is no relationship between stock payment value and future commercial performance of the study drug. O.D. and his institution received a grant for this study and support for travel to the investigator meetings. D.M. and her institution received a grant for this study. H.-J.A. and his institution received a grant for this study, study equipment, and support for travel to the investigator meetings for PEARL IV. R.H. and his institution received a grant for this study, study equipment, and support for travel to the investigator meetings for PEARL IV. J.Z. and his institution received a grant for this study, study equipment, and support for travel to the investigator meetings for PEARL IV. Z.K. and her institution received a grant for this study and support for travel to the investigator meetings for PEARL IV. M.C.D. and his institution received a grant for this study and support for travel to the investigator meetings for PEARL IV. H.F. and his institution received a grant for this study. D.H.B. has been a member of the SAB of PregLem S.A. since 2007. He held PregLem stocks related to SAB activities that he sold in October 2010 at PregLem's full acquisition by the Gedeon Richter Group. There is no relationship between stock payment value and future commercial performance of the study drug. P.B. is a member of PregLem's SAB. He held PregLem stocks related to SAB activities that he sold in October 2010 at PregLem's full acquisition by the Gedeon Richter Group. There is no relationship between stock payment value and future commercial performance of the study drug. B.C.J.M.F. is a member of PregLem's SAB. He held PregLem stocks related to SAB activities that he sold in October 2010 at PregLem's full acquisition by the Gedeon Richter Group. There is no relationship between stock payment value and future commercial performance of the study drug. E.B. is an employee of PregLem S.A. She held PregLem stocks related to her employment that she sold in October 2010 at PregLem's full acquisition by the Gedeon Richter Group. There is no relationship between stock payment value and future commercial performance of the study drug. E.L. is a member of PregLem's SAB. He received payment for consultancy and held PregLem stocks that he sold in October 2010 at PregLem's full acquisition by the Gedeon Richter Group. There is no relationship between stock payment value and future commercial performance of the study drug.

Supported by PregLem S.A., Geneva, Switzerland.

Reprint requests: Jacques Donnez, M.D., Société de Recherches pour l'Infertilité, 143, Avenue Grandchamp, B-1150 Brussels, Belgium (E-mail: jacques.donnez@gmail.com).

Fertility and Sterility® Vol. 105, No. 1, January 2016 0015-0282

Copyright ©2016 The Authors. Published by Elsevier Inc. on behalf of the American Society for Reproductive Medicine. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).
<http://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2015.09.032>

observed in 17.8% and 13.3% of biopsies after treatment courses 2 and 4, respectively, and were reversible after treatment cessation.

Conclusion(s): The results of this study demonstrate the efficacy and further support the safety profile of repeated intermittent treatment of symptomatic fibroids with ulipristal acetate.

Clinical Trial Registration Number: NCT01629563. (Fertil Steril® 2016;105:165–73. ©2016 The Authors. Published by Elsevier Inc. on behalf of the American Society for Reproductive Medicine. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>)).

Key Words: Ulipristal acetate, uterine fibroid, pain, bleeding, fibroid volume, long-term treatment

Discuss: You can discuss this article with its authors and with other ASRM members at <http://fertstertforum.com/donnezj-ulipristal-acetate-uterine-fibroids-management/>



Use your smartphone to scan this QR code and connect to the discussion forum for this article now.*

* Download a free QR code scanner by searching for "QR scanner" in your smartphone's app store or app marketplace.

Uterine fibroids are benign smooth muscle tumors of the uterus (1). When symptomatic, they are frequently responsible for heavy menstrual bleeding (2), infertility (2), and a decreased quality of life (3) (QoL). Ulipristal acetate (UPA) is a possible option for medical therapy. UPA is a steroid compound with the main pharmacodynamic property of reversibly blocking the progesterone (P) receptor in its target tissue, acting as a potent orally active P receptor modulator. It belongs to the class of selective P receptor modulators (SPRMs).

UPA is indicated for intermittent and preoperative treatment of moderate to severe symptoms of uterine fibroids in adult women of reproductive age.

In the two short-term phase III studies for European registration PEARL I (4) (comparator: placebo) and PEARL II (5) (active comparator: leuprolide acetate; a GnRH agonist authorized for preoperative treatment of fibroids), UPA was shown to be effective in controlling uterine bleeding related to myomas, to reduce myoma size, and to have a good safety profile. In clinical studies, SPRM administration has been associated with a pattern of benign, nonphysiological, non-proliferative, histologic features of the endometrium termed P receptor modulator associated endometrial changes (PAEC). These changes are characterized by cystic glandular dilatation, apoptosis, low mitotic activity in the glands and stroma, absence of stromal breakdown, and glandular crowding as clearly described by Williams et al. (6). The previous clinical studies illustrated the reversibility of PAEC on endometrial biopsies taken 6 months after UPA treatment completion.

Two additional studies were initiated to assess the efficacy and safety of long-term, repeated, intermittent administration of UPA in patients with symptomatic fibroids. PEARL III and its extension (7) (long-term, intermittent, 10 mg/day for 3 months with drug-free intervals) demonstrated that this dosing regimen provided an effective and well-tolerated treatment of the symptoms of uterine myomas with efficient bleeding control accompanied by a reduction in fibroid volume.

The PEARL IV study, reported here, was the second pivotal study to investigate the use of UPA for long-term intermittent use and the first one reporting results with the authorized dose of UPA 5 mg. The main objective was to assess the sustained efficacy and safety of up to four intermit-

tent treatment courses with UPA 5 or 10 mg doses for uterine bleeding, myoma volume, pain, QoL, and safety. The results from the first two treatment courses have previously been published (8).

The primary null hypothesis was that there would be no difference in the percentage of subjects who are in amenorrhea at the end of all four treatment courses for UPA 10 mg compared with UPA 5 mg.

The data reported herein focus on the new findings from treatment courses 3 and 4 as well as the four treatment courses combined. With the recently registered indication of intermittent treatment with UPA, the absence of endometrial and laboratory safety findings associated with long-term therapy is of special interest to clinicians.

MATERIALS AND METHODS

Study Design and Oversight

The study design and oversight of the phase III double-blind, randomized PEARL IV study have previously been published (7). PEARL IV was conducted in 46 centers in 11 European countries from June 2012 to December 2014. The study was approved by the independent ethics committees at each participating site and was conducted in accordance with the International Conference on Harmonization-Good Clinical Practice Guidelines. The study was designed by the sponsor (PregLem S.A.) with the involvement of academic investigators and a contract study statistician (CROS NT). Data were collected by an independent Contract Research Organization (ICON Clinical Research) and handled and analyzed by an independent Data Management organization (CROS NT). The first author vouches for the data accuracy and analysis and the fidelity of the study to the protocol.

Study Population

Subjects enrolled in the study were premenopausal women with at least one fibroid ≥ 3 cm in diameter and none >12 cm (as assessed by ultrasound), heavy menstrual bleeding >100 (pictorial blood-loss assessment chart [PBAC]), and uterine size <16 weeks of gestation. Eligible subjects were aged between 18 and 50 years inclusive, with body mass index 18–40 (kg/m^2) and regular menstrual cycles of 22–35 days with FSII ≤ 20 IU/L. Written informed consent

was obtained from all subjects. The main exclusion criteria are listed in [Supplemental Table 1](#).

Randomization and Treatment

Subjects were allocated randomly by a web-integrated voice response system in a 1:1 ratio to receive either 5 or 10 mg of daily oral UPA and matching placebos for four 12-week courses. UPA was started during the first 4 days of menstruation. Treatment courses were separated by a drug-free interval. Subsequent courses started with the second menstruation in the off-treatment period. Final follow-up was performed after a 3-month drug-free period following the fourth treatment course.

The sequence of treatments and biopsies is illustrated in the [Supplemental Figure 1](#).

Assessment of Uterine Bleeding

Subjects recorded their bleeding intensity in a diary using an 8-day PBAC ([Supplemental Fig. 2](#)) at screening and during the first menstruation after treatment courses 1, 2, and 4. A PBAC score >100 indicates menorrhagia. Outside this timeframe, bleeding was recorded using a simplified semiquantitative questionnaire containing four categories defined as “no bleeding”, “spotting”, “bleeding”, or “heavy bleeding”.

Assessment of Endometrial Histology

Endometrial biopsies were obtained at screening and post-treatment courses 2 and 4 and at 3 months post-treatment follow-up. Evaluation of all biopsies was performed by three independent pathologists who were blinded to visit sequence, study-group assignment, each other's assessments, and whether or not the subject had already received UPA treatment. The sample collection of endometrial tissue was performed by a gynecologist using a Pipelle de Cornier®. To allow collection of sufficient biopsy material, the biopsy was performed in the late proliferative or early secretory phase of the menstrual cycle (i.e., at least 10–18 days after the start of menstruation).

Assessment of Fibroid Size and Endometrial Thickness

Fibroid size and endometrial thickness measurements were carried out by transvaginal ultrasound at screening, at the end of treatment courses, and at follow-up. The ultrasonographer was blinded to the subject's treatment, and the same operator performed each subject's ultrasound assessments. At each visit, the three largest myomas and the endometrial thickness were measured. For consistent myoma volume evaluation, the ultrasonographer was requested to record the myomas in three dimensions as well as the type of myoma (submucosal, intramural, subserosal, pedunculated) and to photo-document the measurements.

Assessment of Pain and QoL

Pain and QoL assessments were carried out at screening, at the start and end of each treatment course, and at post-

treatment follow-up. Pain was assessed using a visual analogue scale (VAS) ranging from 0 to 100, with higher scores indicating more severe pain. QoL was assessed using a validated questionnaire measuring uterine fibroid symptom severity (UFS-QoL), where lower scores indicate fewer symptoms and where a level of 23 has been reported for healthy subjects (3).

Endpoints

The primary efficacy endpoint for this study was the percentage of subjects in amenorrhea at the end of all four treatment courses, where amenorrhea was classified as no more than 1 day of spotting in a 35-day period.

Secondary efficacy endpoints included amenorrhea at the end of each individual treatment course (1, 2, 3, and 4); controlled bleeding in the last 56 days of each individual treatment course (defined as no episodes of heavy bleeding and a maximum of 8 days of bleeding during the last 56 days of a treatment course); time to amenorrhea during treatment courses 1, 2, 3, and 4; volume of three largest fibroids; and pain and QoL. The results for treatment courses 1 and 2 have previously been published (8).

The safety endpoints included the number and proportion of subjects withdrawing from treatment early for safety reasons and the number and proportion of subjects experiencing adverse events (AEs), including clinically significant changes in gynecological or breast examination, ovarian ultrasound, electrocardiogram (ECG), laboratory parameters, vital signs, and endometrial thickness and histology.

Statistical Analysis

Efficacy analyses were carried out on both the full analysis set (FAS) and the per protocol set (PP). The population of primary interest was the FAS, which was defined as all randomized and treated patients. The PP set was defined as all subjects who had completed all four treatment courses with no major deviation in any treatment course. All statistical tests were two-sided, with a 5% level of significance. No adjustments were made for the multiple testing of secondary endpoints. In general, missing values were not imputed before analysis. However, if only 3 consecutive days or less of the daily bleeding pattern were missing, the missing values were imputed with the greatest strength of bleeding immediately before or after the period of missing days.

The results for binary endpoints (including the primary efficacy endpoint) for UPA 10 mg versus UPA 5 mg were compared using χ^2 -tests, with confidence intervals of the difference calculated using the Newcombe-Wilson score method (9). The change in total fibroid volume and uterine volume was analyzed via repeated-measures analysis of covariance after a log-transformation, with the results back-transformed before presentation. The change from baseline in PBAC scores was analyzed via the Wilcoxon rank-sum test with the Hodges-Lehmann estimator (and corresponding Moses confidence interval) used for the differences in medians (10).

Assuming a drop-out rate of approximately 10%, 444 subjects were to be randomized for the study to have >85% power to detect an absolute difference in the primary endpoint of $\geq 14\%$. This level of absolute difference was based on the results of the previous registration studies and was therefore of clinical relevance (5).

RESULTS

Patients

Demographic and baseline characteristics were comparable across the two treatment groups. All patients had moderate to severe bleeding, and many had considerable pain as well as impaired QoL (Supplemental Table 2). Seventy-five percent of patients completed all four treatment courses. Treatment compliance across both groups was high ($\geq 80\%$), and the inter-treatment intervals were on average 51–56 days between each treatment course for both groups.

Efficacy

All efficacy results are presented for the FAS1 population, where subjects had to have started at least the first treatment course, unless otherwise indicated. The percentages of subjects identified as being in amenorrhea for individual treatment courses 1, 2, 3, and 4 were 71.8%, 74.1%, 73.3%, and 69.6% in the 5 mg group and 82.6%, 82.2%, 78.3%, and 74.5% in the 10 mg group, respectively. A statistically significant difference was detected between the two treatment groups at

the end of course 1 ($P=.011$) but not at the end of treatment courses 2, 3, and 4 (Table 1 and Supplemental Table 3).

Of all subjects having started treatment, 48.7% in the 5 mg group and 60.5% in the 10 mg group were in amenorrhea in all four treatment courses (1, 2, 3, and 4 combined). A statistically significant difference was found between the two treatment groups ($P=.027$). To avoid the impact of drop-outs, the same analysis was also performed on the FAS4, where subjects had to have started the fourth treatment course, and the PP set 4 (PP4), where subjects had to be at least 80% compliant in each of the four courses with no major protocol deviations. For FAS 4 and for PP4, the percentage of subjects assessed as being in amenorrhea at the end of all four treatment courses was 62.7% and 63.1% in the 5 mg and 72.1% and 73.2% in the 10 mg groups, respectively. No statistically significant difference was found between the two treatment groups for either of these populations (Table 1 and Supplemental Table 3).

The percentage of patients with controlled bleeding in the last 56 days for individual treatment courses ranged from 73.3% to 93.4% across both treatment groups, with corresponding median times to amenorrhea of 4–6 days in all groups for each treatment course. No statistically significant differences were detected between the two treatment groups at any of the time points (Table 1 and Supplemental Table 3).

PBAC was measured at screening and after courses 1, 2, and 4 to assess the level of menstrual bleeding. In the 5-mg group, the mean (median) levels at screening were 300.2 (224.0), and these decreased with each subsequent course to

TABLE 1

Variable	UPA 5 mg (n = 228)	UPA 10 mg (n = 223)	Difference (95% CI) (UPA 10 mg vs. UPA 5 mg)	P value
Key efficacy outcomes (FAS 1 unless otherwise specified).				
Primary endpoint: amenorrhea at the end of all four treatment courses, n/N (%)				
FAS 1 ^a	95/195 (48.7)	112/185 (60.5)	11.8 (1.9–21.8)	.027
FAS 4 ^b	94/150 (62.7)	106/147 (72.1)	9.4 (–1.2 to 20.0)	.107
PP set 4 ^c	94/149 (63.1)	104/142 (73.2)	10.2 (–0.5 to 20.8)	.084
Secondary endpoints				
Controlled bleeding				
Controlled bleeding ^d at the end of all four treatment courses, n/N (%)	106/158 (67.1)	105/146 (71.9)	4.8 (–5.5 to 15.2)	.430
Controlled bleeding ^d at the end of treatment course 4, n/N (%)	148/202 (73.3)	144/192 (75.0)	1.7 (–6.9 to 10.4)	.781
PBAC				
PBAC scores, first menses postscreening, baseline actual, mean (median)	300.2 (224.0)	304.0 (214.5)	NA	NA
PBAC scores, first menses post-treatment course 4, mean (median)	139.7 (77.5)	128.2 (76.0)	–11.0 (–49.0 to 26.0)	.563
Total volume of three largest fibroids, cm ³				
End of treatment course 4 %CFB, median (IQR)	–71.8 (–87.6 to –32.6)	–72.7 (–87.5 to –47.0)	0.88 (0.69–1.13) ^e	.314
Follow-up %CFB, median (IQR)	–65.0 (–85.1 to –28.4)	–67.4 (–87.4 to –44.6)	0.87 (0.67–1.14) ^e	.314
Fibroid volume reduction $\geq 25\%$: end of treatment course 4, n/N (%)	135/166 (81.3)	150/170 (88.2)	NA	NA
<small>Note: If a woman had more than 3 consecutive missing days in the last 35 d of a treatment course, the amenorrhea assessment was left as missing, unless the women had reported bleeding during these last 35 d (subject is not in amenorrhea). Sensitivity analyses for this endpoint are reported in the Supplemental Material (available online). Results of additional time points and other secondary endpoints can be found in Supplemental Table 3. IQR = interquartile range; CFB = change from baseline; %CFB = percent change from baseline; NA = no formal statistical analysis.</small>				
<small>^a FAS 1 is defined as all subjects who received study treatment at least once for treatment course 1.</small>				
<small>^b FAS 4 is defined as all subjects who received study medication in the fourth treatment course at least once.</small>				
<small>^c PP set 4 is defined as all subjects who received study medication in the fourth treatment course for at least for 56 d.</small>				
<small>^d Controlled bleeding was defined as no episodes of heavy bleeding and a maximum of 8 d of bleeding during the last 56 d of a course of treatment.</small>				
<small>^e Ratio of UPA 10 mg ratio to baseline to UPA 5 mg ratio to baseline (95% CI).</small>				
<small>Donnez Ulipristal acetate in uterine fibroids. Fertil Steril 2016.</small>				

levels of 139.7 (77.5) after course 4. The same pattern was also seen in the 10-mg group (screening, 304.0 [214.5]; after course 4, 128.2 [76.0]). No statistically significant differences were detected between the two treatment groups at any of the time points (Table 1 and Supplemental Table 3).

Clinically significant reduction of $\geq 25\%$ volume of the three largest fibroids was reported after each treatment course. In both groups, the percentage of subjects with a clinically significant reduction increased from course 1 to course 4. In the 5-mg group, the percentages increased from 62.3% after course 1 to 78.1% after course 4. Similarly, in the 10-mg group, the percentages increased from 66.5% to 80.5%. (Table 1 and Supplemental Table 3). Further examination showed that at the end of four treatment courses, 73.5% of all subjects had a fibroid volume reduction of $\geq 25\%$ and were in amenorrhea (Supplemental Fig. 4).

In addition, the percentage of subjects with a clinically significant volume reduction $\geq 50\%$ increased from course 1 to course 4 in both treatment groups (Supplemental Table 3).

Pain scores improved in both groups during treatment; the median overall pain scores in the 5- and 10-mg groups at screening were 39 and 43, respectively, and ranged from 5 to 7 during treatment. Even during the off-treatment periods, including follow-up, the median pain ranged from 9.0 to 22.5. No statistically significant differences were detected between the two treatment groups at any of the time points (Supplemental Tables 4 and 5).

Similarly, median UFS-QoL symptom severity scores of 50 at screening corresponded well to published symptom severity scores for fibroid patients [3]. During treatment, median scores from 12.5 to 15.6 (which are scores comparable to those of healthy subjects [3]) indicated the important reduction of symptom severity in both groups. Even during the off-treatment periods, including follow-up, the median symptom severity score ranged from 18.8 to 31.3. No statistically significant differences were detected between the two treatment groups at any of the time points (Supplemental Tables 4 and 5).

Endometrial Safety

At screening for study eligibility, endometrial biopsies for a total of 493 subjects were reviewed by the central laboratory. Of these, nine (1.8%) subjects were not eligible for the study owing to abnormal findings (8 [1.6%] diagnoses of simple non-atypical hyperplasia and one diagnosis of complex non-atypical hyperplasia).

A consensus diagnosis (at least two out of three pathologists in agreement) of benign endometrium was reached by the independent pathologists for all subjects accepted into the study. Benign polyps were reported in seven (1.7%) subjects.

One subject from the 5-mg group had a diagnosis of complex atypical hyperplasia during the study. At follow-up and without any further medical or surgical intervention, this subject had a consensus diagnosis of benign endometrium. Four other subjects were reported to have benign polyps, and one subject from the 5-mg group was reported to have a hyperplastic polyp.

All cases of hyperplasia observed after treatment (including the cases previously reported [7]) returned to benign endometrium under continued treatment (four courses) and/or during the follow-up period. One case of hyperplasia was reported in the follow-up biopsy (3 months after treatment course 4). For this subject, all previous biopsies (including after treatment course 4) had been diagnosed as benign endometrium by the three independent pathologists.

The occurrence of nonphysiological endometrial changes was observed in 7.8% of the 5-mg group and 8.4% of the 10-mg group at screening. As expected, after treatment with UPA nonphysiological changes increased, but this increase was independent of the dose and the number of treatment courses. After treatment course 2, nonphysiological endometrial changes were observed in 16.3% and 19.2% of the biopsies for the 5- and 10-mg groups, respectively, decreasing to 16.2% and 10.3% after treatment course 4 (Table 2).

At follow-up, in 286 biopsies adequate for review, nonphysiological changes were observed in 9.0% and 6.3% of the biopsies for the 5- and 10-mg groups, respectively, which compares to the observed values at screening.

During the study, the median endometrial thickness remained between 7 and 8 mm. The percentage of subjects with endometrial thickness ≥ 16 mm was 7.4% (all subjects) after the first treatment course and returned to below screening levels (4.9%) in subsequent treatment courses. (Fig. 1 and Supplemental Table 3).

Laboratory Parameters

The median Hb value at screening was 12.55 and 12.40 g/dL for subjects from the 5- and 10-mg groups, respectively. From treatment course 1 to treatment course 4, Hb levels increased compared with screening values, reaching a peak at the end of treatment course 4, with median levels for the 5- and 10-mg groups of 13.10 and 13.35 g/dL, respectively (Supplemental Table 6).

The median Hct values at screening were 0.40 for both the 5- and 10-mg groups. During the study, Hct levels increased to reach a peak at the end of treatment course 2 for both treatment groups, median 0.42 (Supplemental Table 6).

E_2 levels remained stable in both treatment groups across the study period (Supplemental Table 6).

At screening, four (1.8%) and seven (3.2%), subjects had high values ($>ULN$, Upper Limit of Normal) for aspartate aminotransferase (AST) in the 5- and 10-mg groups, respectively. At the follow-up assessment, approximately 3 months after end of study treatment, four (2.4%) and six (3.6%) had high values in the two respective groups. For alanine aminotransferase (ALT), at screening four (1.8%) and two (0.9%) had high values, with two (1.2%) and four (2.4%) of patients also reporting high values at the follow-up assessment in the 5- and 10-mg groups, respectively. The number of subjects with high gamma glutamyl transferase (GGT) levels at screening were 14 (6.1%) and 10 (4.5%) for the 5- and 10-mg groups, respectively, with 12 (7.1%) and 15 (9.0%) also reporting high levels at follow-up (Supplemental Table 7).

For all lipid parameters, the levels for subjects from the 5- and 10-mg groups were comparable during the study. At

TABLE 2

Summary of endometrium biopsy results (safety population).

Treatment group	Category	Classification	Visits				
			Screening	After treatment 2	After treatment 4	Follow-up	
UPA 5 mg (n = 230)	Endometrium biopsy performed	Yes	230	193	168	164	
		Specimen adequate ^a	219 (95.2)	178 (92.2)	148 (88.1)	144 (87.8)	
	Primary diagnosis ^b	Benign endometrium	219 (100.0)	176 (98.9)	147 (99.3)	143 (99.3)	
		Hyperplasia	0	1 (0.6)	1 (0.7)	1 (0.7)	
		Simple, nonatypical	0	1 (0.6)	0	0	
		Complex, nonatypical	0	0	0	0	
		Simple, atypical	0	0	0	0	
		Complex, atypical	0	0	1 (0.7)	1	
		Malignant neoplasm	0	1 (0.6)	0	0	
		Endometrial adenocarcinoma ^c	0	1 (0.6)	0	0	
		Other malignant neoplasm	0	0	0	0	
		Polyps ^b	Absent	216 (98.6)	176 (98.9)	146 (98.6)	143 (99.3)
		Present: benign	3 (1.4)	2 (1.1)	1 (0.7)	1 (0.7)	
		Present: hyperplastic	0	0	1 (0.7)	0	
		Present: carcinomatous	0	0	0	0	
		Of those with Benign endometrium	Nonphysiological changes observed by two or three pathologists ^b	17 (7.8)	29 (16.3)	24 (16.2)	13 (9.0)
UPA 10 mg (n = 221)	Endometrium Biopsy performed	Yes	220	194	163	160	
		Specimen adequate ^a	203 (92.3)	182 (93.8)	145 (89.0)	142 (88.8)	
	Primary Diagnosis ^b	Benign endometrium	203 (100.0)	180 (98.9)	145 (100.0)	142 (100.0)	
		Hyperplasia	0	2 (1.1)	0	0	
		Simple, nonatypical	0	1 (0.5)	0	0	
		Complex, nonatypical	0	0	0	0	
		Simple, atypical	0	1 (0.5)	0	0	
		Complex, atypical	0	0	0	0	
		Malignant neoplasm	0	0	0	0	
		Endometrial adenocarcinoma	0	0	0	0	
		Other malignant neoplasm	0	0	0	0	
		Polyps ^b	Absent	199 (98.0)	180 (98.9)	142 (97.9)	142 (100)
		Present: benign	4 (2.0)	2 (1.1)	3 (2.1)	0	
		Present: hyperplastic	0	0	0	0	
		Present: carcinomatous	0	0	0	0	
		Of those with benign endometrium	Nonphysiological changes observed by two or three pathologists ^b	17 (8.4)	35 (19.2)	15 (10.3)	9 (6.3)

Note: Numbers in parentheses are percents. In addition to cases of hyperplasia captured at nominated protocol visits, one consensus diagnosis of simple atypical hyperplasia was reported after the unscheduled histology review of material taken by curettage after the SAE of menorrhagia after treatment course 1. At early termination visit approximately 1 mo later, this subject had a consensus diagnosis of benign endometrium.

^a Denominator of percentage is the number of subjects that have an endometrium biopsy performed.

^b Denominator of percentage is the number of subjects with an adequate specimen.

^c Preexisting condition.

Donnez. Ulipristal acetate in uterine fibroids. *Fertil Steril* 2016.

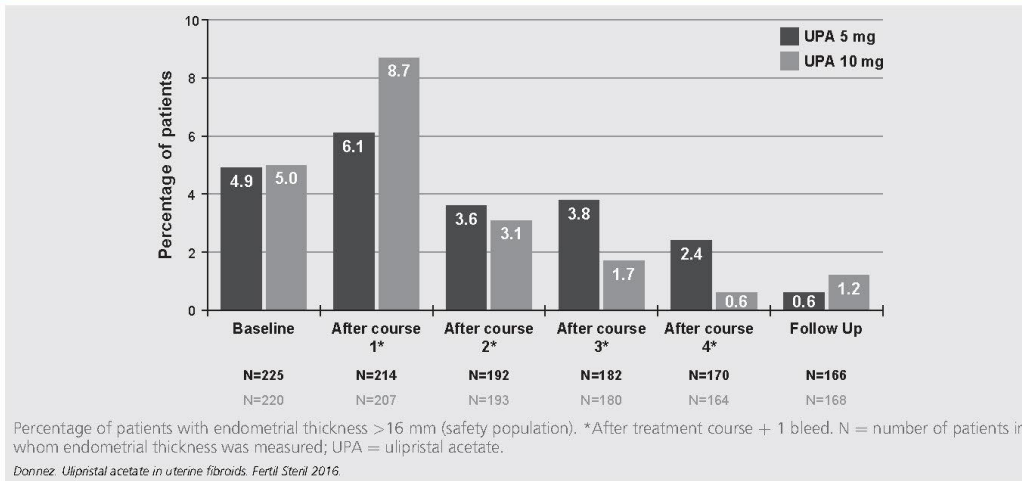
screening, the median levels of total cholesterol for the two groups were 4.93 and 5.03 mmol/L. The levels remained stable at each subsequent assessment, with medians ranging from 5.21 to 5.48. The median levels of low-density lipoprotein cholesterol for the two groups were 2.90 and 2.97 mmol/L at screening, and these remained stable at each subsequent assessment, with medians ranging from 2.99 to 3.23. Following the same pattern, at screening, the median levels of high-density lipoprotein cholesterol for the two groups were 1.61 and 1.55 mmol/L. The levels remained stable at each subsequent assessment across the treatment groups, with medians ranging from 1.64 to 1.71. Levels of triglycerides increased slightly during the study. At screening, the medians in the 5- and 10-mg groups were 0.87 and 0.91 mmol/L, respectively, increasing to median levels of 0.97 and 1.08 at the follow-up assessment (Supplemental Table 6). Further-

more, at screening, 27 (11.8%) and 30 (13.7%) subjects had high values (>ULN) for triglycerides in the 5- and 10-mg groups, respectively. Similarly at the follow-up assessment, 27 (16.0%) and 26 (15.6%) had high values in the two respective groups (Supplemental Table 7).

General Safety

The numbers (percentages) of subjects who reported AEs during treatment courses 1, 2, 3, and 4 were 102 (44.3%), 59 (27.4%), 32 (16.6%), and 43 (23.9%), respectively, for the 5-mg group and 98 (44.3%), 60 (29.3%), 38 (20.2%), and 33 (19.0%), respectively, for the 10-mg group (Supplemental Table 8). The numbers (percentages) of subjects who reported AEs considered as treatment related by the investigator during treatment courses 1, 2, 3, and 4 were 47 (20.4%), 28

FIGURE 1



(13.0%), 9 (4.7%), and 11 (6.1%), respectively, for the 5-mg group and 43 (19.5%), 22 (10.7%), 12 (6.4%), and 14 (8.0%), respectively, for the 10-mg group. The vast majority of AEs (97.6%) were of mild or moderate severity in both groups.

Headaches and hot flushes were the most frequently reported AEs ($\leq 11\%$ of subjects in any treatment course), although the frequency of these events decreased with each successive treatment course (Supplemental Table 8). Breast pain/discomfort was observed in $\leq 3\%$ of subjects, with a decrease in frequency for each successive treatment course ($\leq 1\%$ by treatment course 4). In total, 114 (25.3%) patients discontinued the study at any time and for any reason. Of those, 32 patients discontinued due to AEs, of which 21 were considered related to study drug. No difference between treatment groups was observed. Overall 34 serious adverse events (SAEs) were reported; 21 in the 5-mg group and 13 in the 10-mg group. Of these, 13 were classified by the investigator as related to study medication: nine in the 5-mg group (five menorrhagia, one bipolar disorder, one spontaneous myoma expulsion, one abdominal pain, one back pain) and four in the 10-mg group (one partial expulsion, one spontaneous myoma expulsion, one myoma necrosis, one endometriosis).

No safety concerns were identified from physical examination, vital signs, ovarian ultrasound, and ECGs.

DISCUSSION

The PEARL IV study was designed to investigate the safety and efficacy of long-term, repeated intermittent treatment with four 12-week treatment courses of daily oral administration of either 5 or 10 mg of UPA in subjects with uterine fibroids. This is the first full clinical trial reporting the use of UPA 5 mg in a long-term repeated intermittent manner. Alternative treatment options previously available for the

medical management of fibroids, such as GnRH agonists, could be used only for a limited period owing to the AE profile and rapid fibroid regrowth after treatment cessation (5). Among the latest possible therapeutic options (11), UPA has proved to be a suitable alternative for the medical management of fibroids.

Out of the 451 subjects with symptomatic uterine fibroids and confirmed menorrhagia recruited, 75% of subjects remained in the study on average a total of 20 months, demonstrating a good compliance with the protocol considering the duration of the study.

Investigation of the rate of amenorrhea during each treatment course showed that both UPA 5 and 10 mg led to amenorrhea in a high percentage of subjects ($\geq 70\%$). Amenorrhea was reached on average within 1 week, and post-treatment menstrual bleeding was markedly reduced compared with pretreatment bleeding.

A high percentage of subjects were in amenorrhea for all treatment courses combined. The small observed difference between the treatment groups was within the predefined acceptable difference of 14% and was therefore not deemed to be clinically relevant. This was confirmed by the analysis of the group of subjects who had started all four courses, which found no statistically significant difference between the groups.

An additional secondary endpoint of importance in assessing the efficacy of UPA is the evaluation of bleeding control. No difference between the treatment groups was seen, with both groups showing $\geq 73\%$ of subjects having bleeding control during each independent treatment course. These data confirm previously known data (4, 5, 7, 8) regarding the efficacy of UPA with regards to controlling bleeding symptoms in subjects with symptomatic uterine fibroids.

Furthermore, assessment of the blood loss during the first menstrual bleed after the treatment courses using the PBAC showed a marked progressive reduction from baseline with no difference between the two treatment groups.

Hb levels and associated hematology parameters increased over the first two treatment courses and were sustained until follow-up.

The total volume of the three largest myomas was shown to decrease after the first treatment course and was seen to further decrease after each subsequent treatment course. The reduction in volume was maintained thereafter until the end of study follow-up. A similar level of response was seen from both treatment groups with no statistically significant differences between them at any visit during the study. Furthermore, over 73% of all subjects had both fibroid volume reduction $\geq 25\%$ at the end of four treatment courses in combination with being in amenorrhea (Supplemental Fig. 4).

For pain and QoL, an important improvement was recorded during treatment in these assessments, reaching scores reported for healthy individuals, in both treatment groups (3). The changes in these measurements were of a similar level between the two treatment groups. The results therefore show that the use of UPA results in an improvement in QoL and control of pain, in comparison to baseline, even during the off-treatment intervals.

After a transient increase in endometrial thickness in the first treatment course, fewer subjects had endometrial thickness >16 mm after each successive treatment course. No important differences with regards to endometrial thickness were observed between the 5- and 10-mg groups.

Over the entire observation period, six cases of hyperplasia were observed. All cases of hyperplasia observed after treatment returned to benign endometrium under continued treatment and/or during the follow-up period.

The occurrence of hyperplasia in a follow-up biopsy in a subject having been exposed to four courses of UPA and for whom all previous biopsies (including the one taken after the end of treatment course 4) had been diagnosed as benign endometrium by all pathologists illustrates that hyperplasia can occur spontaneously in this population.

Overall, the occurrence of nonphysiological changes of the endometrium was not increased with repetition of treatment courses and returned to pretreatment levels within 3 months of completion of treatment.

Levels of E_2 remained well above postmenopausal levels, suggesting that bone mineral density will not be adversely impacted by repeated intermittent use of UPA.

Mean levels of AST and ALT did not alter during the study; however, some sporadic increases were seen in individual subjects. In no subject were increases in transaminases associated with increases in bilirubin.

There were mild increases in mean cholesterol and triglyceride values during the study. At screening, 41.4% of all subjects had total cholesterol $>ULN$, and, as expected in such a long-term study recruiting women predominantly in their 40s, a number of subjects showed modest increases in cholesterol over the duration of the study (approximately 20 months). However, the median ratio of total cholesterol/high-density lipoprotein cholesterol remained virtually un-

changed and below the level at which the risk of cardiovascular disease is considered to be increased.

More on-treatment AEs were reported during treatment course 1 than during subsequent treatment courses, and the most frequently reported on-treatment AEs were headache and hot flush. No other AE occurred at a frequency of $>4\%$ of subjects, and over 97% of all reported on-treatment AEs were rated as being of mild or moderate severity. Overall, there were no differences between the 5- and 10-mg dosing groups with respect to the type, frequency, and severity of AEs.

Conclusions

The current manuscript summarizes the full efficacy and safety results of the first randomized controlled trial using the approved dose of 5 mg UPA in a repeated, intermittent therapy setting (four courses) for the management of uterine fibroids.

The administration of four 12-week treatment courses of UPA at doses of 5 and 10 mg was well tolerated, with a high level of treatment compliance. No differences between the 5 and 10 mg dosing groups were recorded in terms of safety evaluations, which include a comprehensive evaluation of the endometrial characteristics and laboratory parameters observed with the long-term use of UPA.

In terms of efficacy, both doses provided efficient bleeding control leading to amenorrhea in the majority of subjects in each of the four treatment courses. This bleeding control was achieved very rapidly and was accompanied by a reduction in fibroid volume and a reduction of pain associated with a clinically significant improvement in QoL with both doses. Furthermore, even during off-treatment periods, the level of bleeding, pain, and QoL were still improved compared with baseline. Myoma reduction was largely maintained during the off-treatment periods, and these effects were sustained until the end of study follow-up, approximately 3 months after completion of the four treatment courses.

The results of this study therefore demonstrate the efficacy and further verify the safety profile associated with repeated intermittent treatment of symptomatic fibroids with UPA.

Acknowledgments: The authors thank Kerry Ferrero, Pablo Arriagada, and Helen Saunders of PregLem S.A. for their assistance with the preparation of the manuscript; and all participating investigators who contributed to this study (Supplemental Table 9).

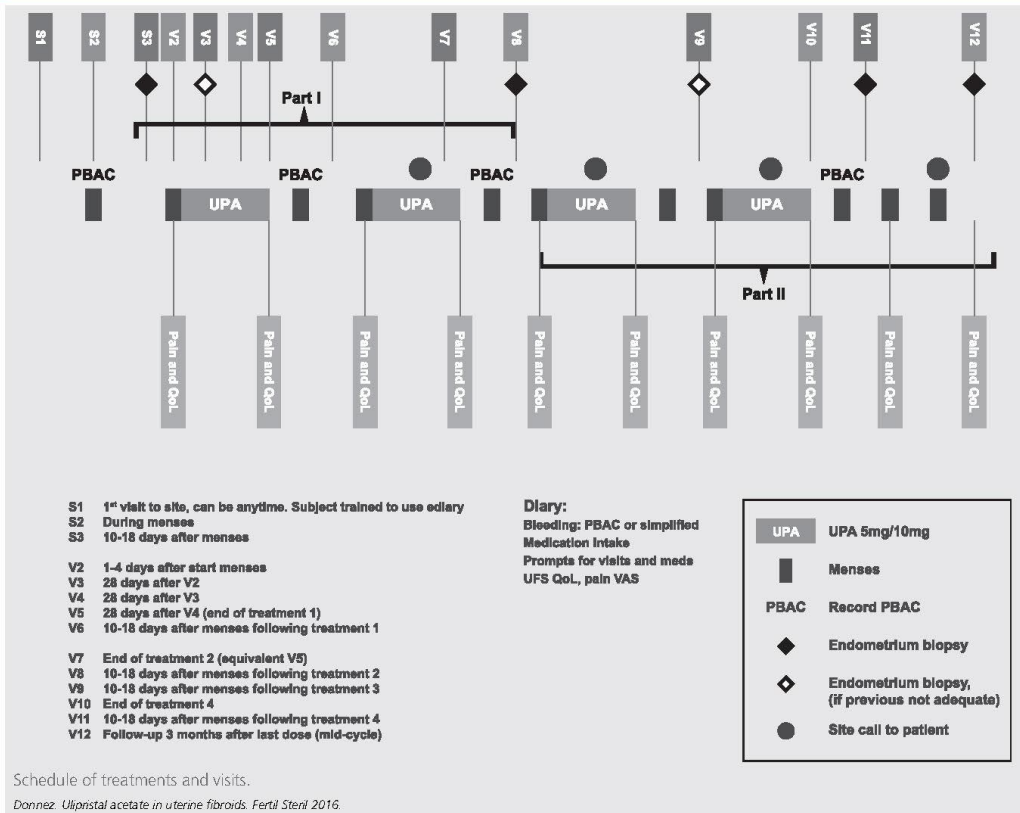
REFERENCES

1. Parker WH. Etiology, symptomatology and diagnosis of uterine myoma. *Fertil Steril* 2007;87:726–36.
2. Gupta S, Jose J, Manyonda I. Clinical presentation of fibroids. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2008;22:615–26.
3. Spies JB, Coyne K, Gaaou GN, Boyle D, Skymarz-Murphy K, Gonzales SM. The UPS-QOL, a new disease-specific symptom and health-related quality of life questionnaire for leiomyomata. *Obstet Gynecol* 2002;99:290–300.
4. Donnez J, Tatarchuk TF, Bouchard P, Puscasiu L, Zakharenko NF, Ivanova T, et al. Ulipristal acetate versus placebo for fibroid treatment before surgery. *N Engl J Med* 2012;366:409–20.
5. Donnez J, Tomaszewski J, Vazquez F, Bouchard P, Lemieczuk B, Baro F, et al. Ulipristal acetate versus leuprolide acetate for uterine fibroids. *N Engl J Med* 2012;366:421–32.

6. Williams AR, Bergeron C, Barlow DH, Ferenczy A. Endometrial morphology after treatment of uterine fibroids with the selective progesterone receptor modulator, ulipristal acetate. *Int J Gynecol Pathol* 2012;31:556–69.
7. Donnez J, Vazquez F, Tomaszewski J, Nouri K, Bouchard P, Fauser BC, et al. Long-term treatment of uterine fibroids with ulipristal acetate. *Fertil Steril* 2014;101:1565–73.
8. Donnez J, Hudecek R, Donnez O, Matule D, Ahrendt HJ, Zatik J, et al. Efficacy and safety of repeated use of ulipristal acetate in uterine fibroids. *Fertil Steril* 2015;103:519–27.
9. Newcombe RB. Interval estimation for the difference between independent proportions: comparison of eleven methods. *Stat Med* 1998;17:873–90 [Erratum, *Stat Med* 1999;18:1293].
10. Hollander M, Wolfe DA. *Nonparametric statistical methods*. 1st ed. New York: John Wiley & Sons; 1973:75–82.
11. Islam MS, Protic O, Giannubilo SR, Toti P, Tranquilli AL, Petraglia F, et al. Uterine leiomyoma: available medical treatments and new possible therapeutic options. *J Clin Endocrinol Metab* 2013;98:921–34.

ORIGINAL ARTICLE: GYNECOLOGY AND MENOPAUSE

SUPPLEMENTAL FIGURE 1

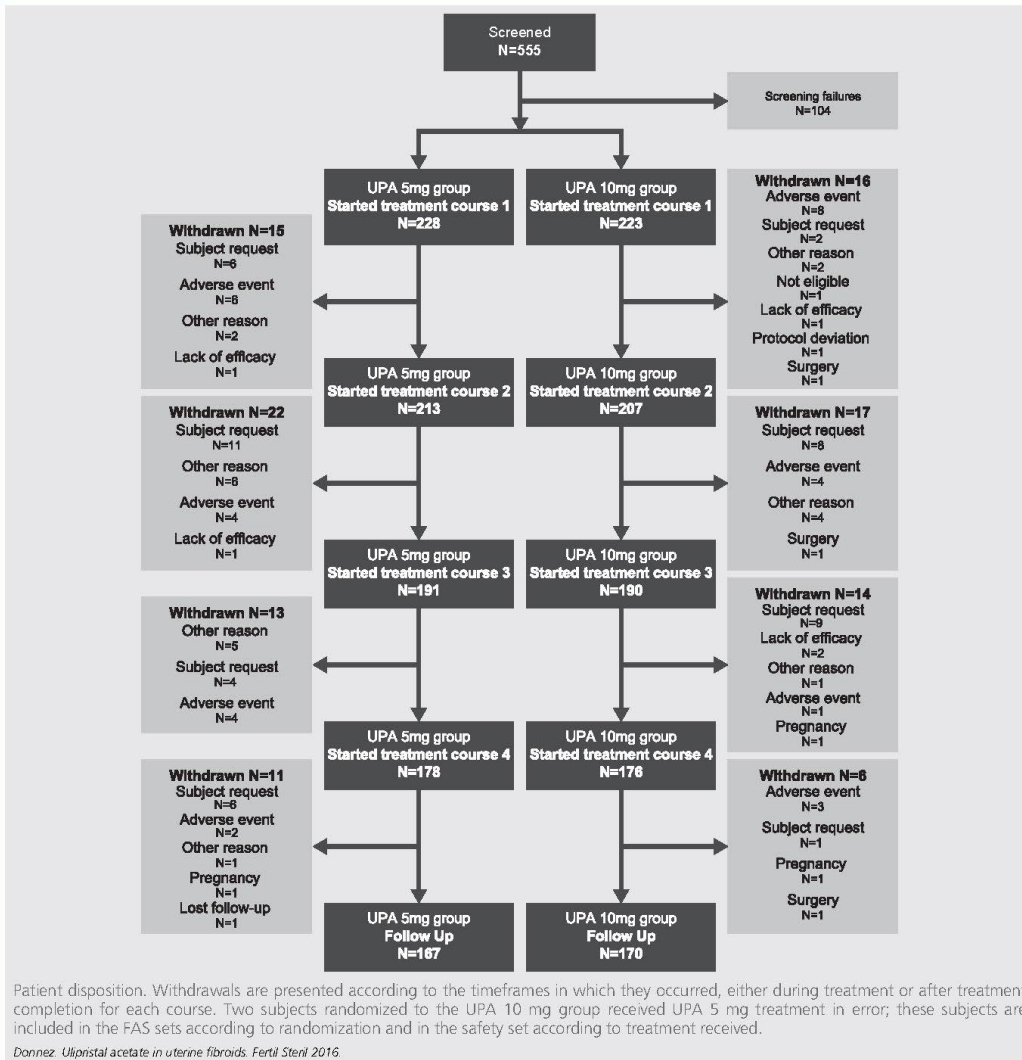


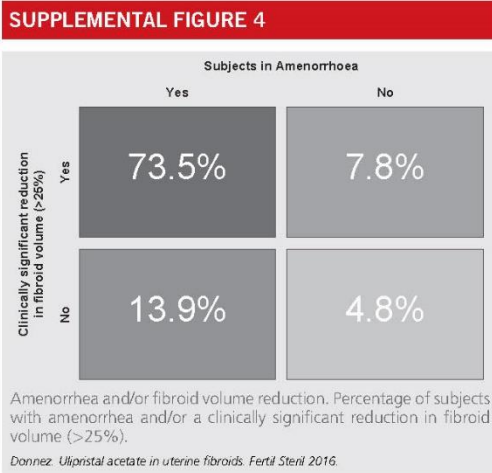
SUPPLEMENTAL FIGURE 2

Day 1 of menstruation:				Day 1	2	3	4	5	6	7
<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
D D	M M	Y Y	Y Y	No bleeding						
Score	Towels									
1										
5										
20										
Tampons										
1										
5										
10										
1	Small clots/flooding 									
5	Large clots/flooding 									

PBAC, one of the current standard methods used to objectively estimate menstrual blood loss and diagnose menorrhagia. The method that was developed and validated by Higham and Janssen defines excessive bleeding as a PBAC score >100.
 Donnez. Ulipristal acetate in uterine fibroids. *Fertil Steril* 2016.

SUPPLEMENTAL FIGURE 3





8.4. Literatura

1. Hudeček R, Ivanová Z, Šmerdová M et al. Effect of GnRH analogues pre-treatment on myomectomy outcomes in reproductive age women. *Čes Gynekol* 2012; 77(2): 109-117.
2. Lethaby A, Vollenhoven B, Sowter M. Efficacy of preoperative gonadotrophin hormone releasing analogues for women with uterine fibroids undergoing hysterectomy or myomectomy: a systematic review. *BJOG* 2002; 109(10): 1097-1108.
3. Shaw R.W. Gonadotrophin hormone-releasing hormone analogue treatment of fibroids. *Baillieres Clin Obstet Gynaecol* 1998;12(2): 245-268.
4. Sankaran S, Manyonda IT. Medical management of fibroids. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2008; 22(4): 655-676.
5. Levy BS. Modern management of uterine fibroids. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2008; 87(8): 812-23.
6. Donnez J, Tatarchuk TF, Bouchard P et al. Ulipristal acetate versus placebo for fibroid treatment before surgery. *N Engl J Med* 2012; 366(5): 409-420.
7. Melis GB, Piras B, Marotto MF et al. Pharmacokinetic evaluation of ulipristal acetate for uterine leiomyoma treatment. *Expert Opin Drug Metab Toxicol.* 2012; 8(7): 901-908.

9. Chirurgická léčba myomatózy

9.1. Chirurgická léčba myomatózy – obecný přehled

V současné době existuje celé spektrum terapeutických možností v léčbě děložních myomů. U symptomatických pacientek s klinicky významnými myomy plánujícími graviditu zůstává stále zlatým standardem léčby myomektomie. U všech pacientek je důležitý individuální přístup při hledání vhodné chirurgické modalit. Úkolem do budoucna je jistě hledání bezpečné, trvalé a neinvazivní léčby s nízkým či nulovým rizikem recidivy myomů.

Mezi chirurgické metody léčby děložních myomů obecně řadíme myomektomii, hysterektomii a metody ischemizující. Chirurgickou léčbu indikujeme v případě selhání léčby konzervativní, dále u pacientek se symptomatickými myomy či myomy výrazně deformujícími děložní dutinu plánujícími graviditu.

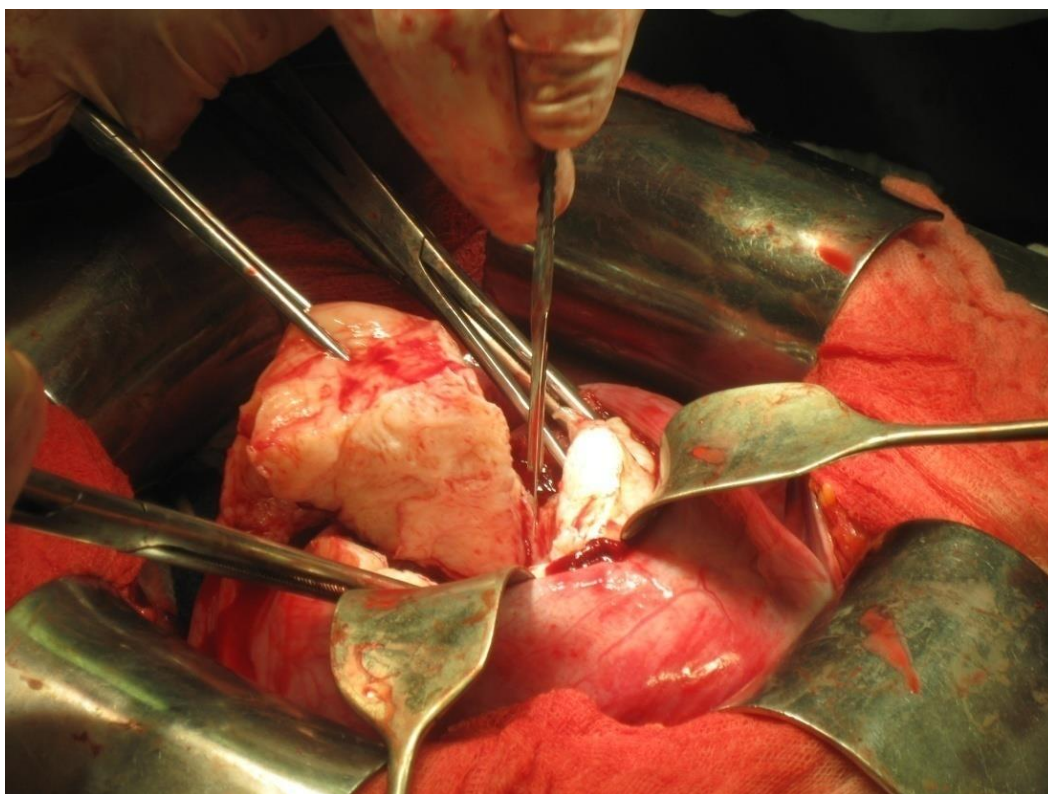
9.1.1. Hysterektomie

Hysterektomie je definitivní léčebnou metodou u pacientek s děložní myomatózou. Ve Spojených státech amerických představují děložní myomy stále hlavní indikaci k provedení hysterektomie [1]. Vzhledem ke ztrátě reprodukčního potenciálu po hysterektomii by měly u premenopauzálních žen, před provedením hysterektomie, být vždy zváženy reprodukční plány pacientky. Standardní chirurgické přístupy představuje *Laparoskopicky asistovaná vaginální hysterektomie (LAVH)* nebo *Totální laparoskopická hysterektomie (TLH)* s využitím morselace dělohy a myomů. *Abdominální hysterektomie (AH)* je v současnosti metodou volby u excesivních nálezů přesahujících hranici malé pánve, zpravidla cestou Pfannenstielova řezu, výjimečně dolní střední laparotomie.

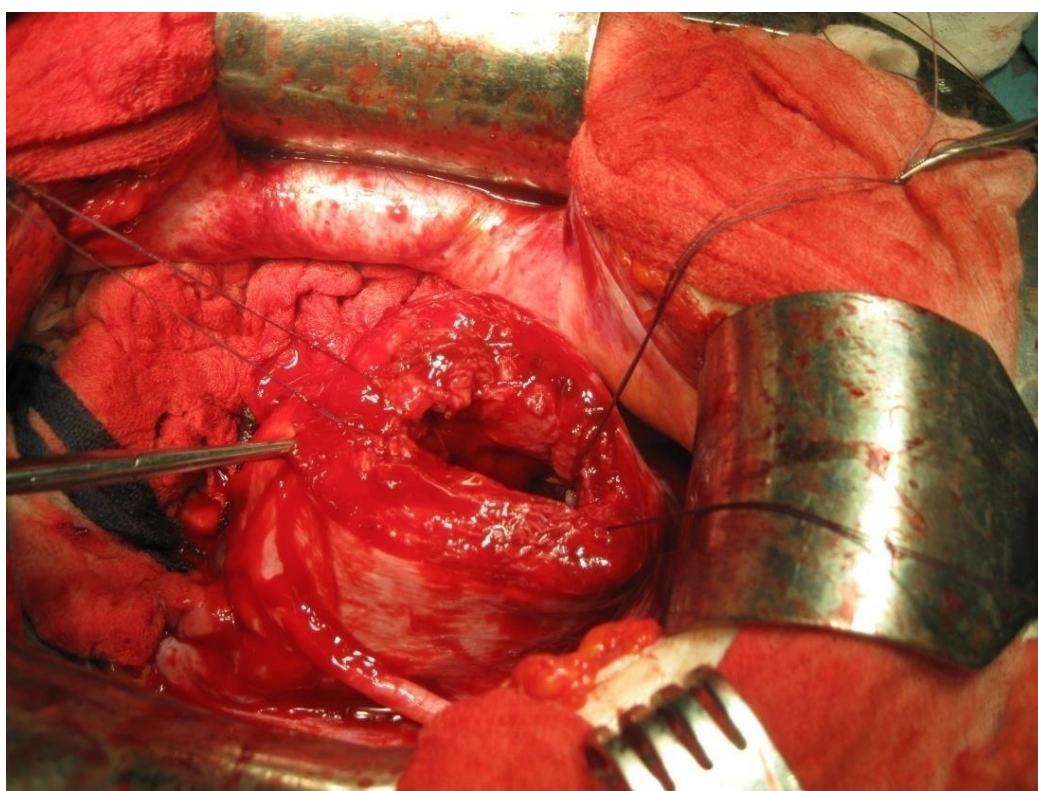
9.1.2. Myomektomie

Myomektomii řadíme mezi fertilitu šetřící výkony. Dle přístupu se dělí na *laparoskopickou, laparotomickou a hysteroskopickou*. Volba laparoskopického či laparotomického přístupu závisí na zkušenosti operátora, topograficko-anatomické klasifikaci, velikosti a počtu myomů.

Laparotomická myomektomie (Obr. 9-1). Laparotomie je technicky méně náročná, ve srovnání s laparoskopií je však provázána vyšší morbiditou pacientek a delší dobou hospitalizace [2]. Signifikantně vyšší je také výskyt intraabdominálních adhezí po laparotomické myomektomii [3]. Reprodukční výsledky pacientek po laparoskopické a laparotomické myomektomii jsou však srovnatelné (Obr. 9-2).

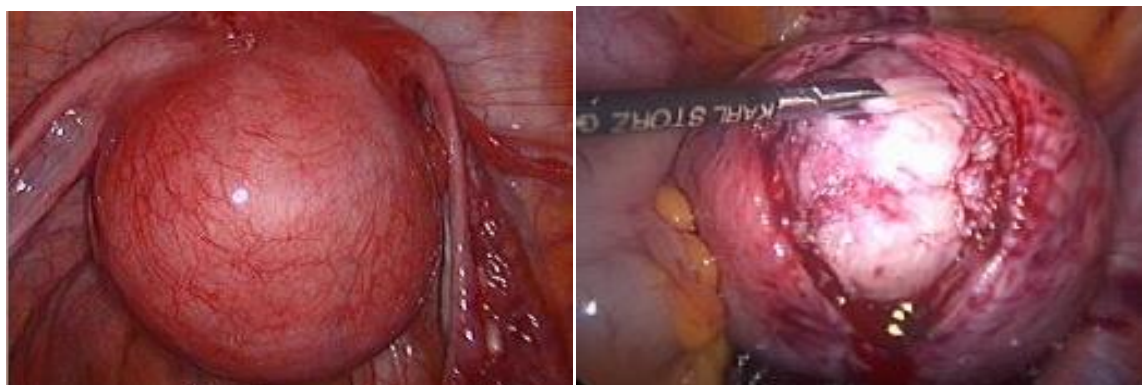


Obr. 9-1 Laparotomická myomektomie – exstirpace morselací

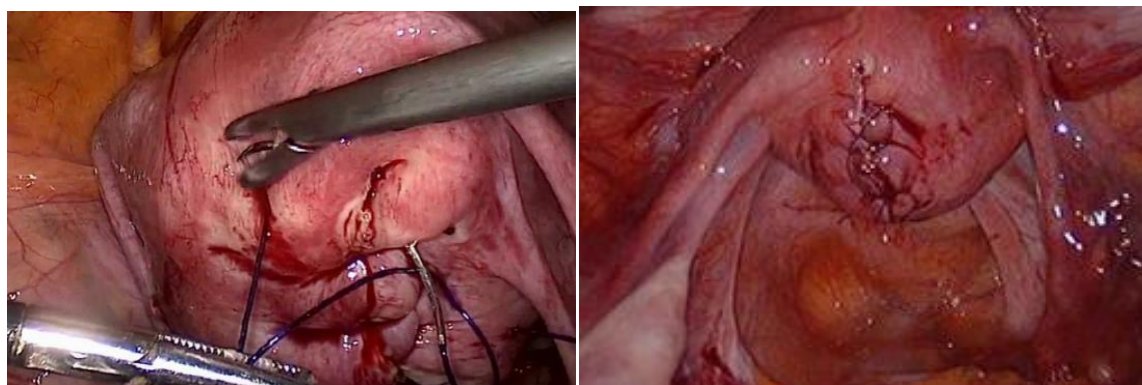


Obr. 9-2 Laparotomická myomektomie – sutura hysterotomie

Laparoskopická myomektomie. Laparoskopická myomektomie se řadí mezi moderní, fertilitu zachovávající, konzervativně – invazivní metody léčby děložní myomatózy, s cílem odstranění myomu nebo myomů. Je v souladu se současným trendem medicíny provádět výkony s minimální invazivitou (Obr. 9-3). Ve srovnání s laparotomickým přístupem je laparoskopická myomektomie doprovázena menší morbiditou pacientek, kratší dobou hospitalizace, kratší rekonvalescencí a výrazně menší tendencí ke tvorbě pooperačních adhezí. Primární uplatnění nachází u žen ve fertilním věku. Riziko ruptury dělohy v graviditě a během porodu po laparoskopické myomektomii je velmi nízké, nižší než 1 % [4]. Frekvence recidivy je uváděna mezi 20,3–22,9 % a je vyšší u mnohočetných myomů [1]. Limitem pro provedení laparoskopické myomektomie je erudice a zkušenost operátora s prováděním laparoskopické sutury (Obr. 9-4), dále velikost, počet a lokalizace myomu/-ů.

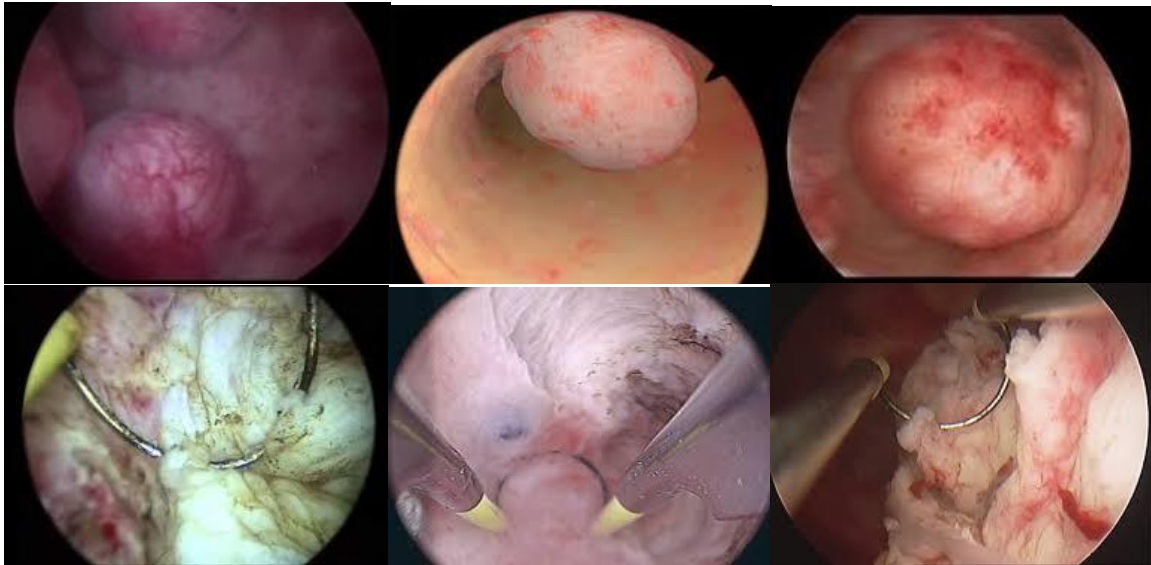


Obr. 9-3 Laparoskopická myomektomie – iniciální fáze



Obr. 9-4 Laparoskopická intrakorporální sutura a finální stav

Hysteroskopická myomektomie je vhodná pro ošetření výhradně submukózních myomů (Obr. 9-5). V kombinaci s použitím antiadhezivních prostředků, nejčastěji ve formě gelu 100% kyseliny hyaluronové, je rutinní standardní metodou chirurgické terapie. Hysteroskopická resekce myomů, které ve svém průměru přesahují 3 cm, vede k významnému nárůstu donošených gravidit. Až 60 % žen po extirpaci myomu spontánně otěhotní do 24 měsíců, většina pak do 1 roku. Indikační kritéria hysteroskopické resekability myomů jsou velikost dutiny děložní do 12 cm, maximálně 3 myomy v dutině děložní, myom typu 0 nebo I a průměr myomu do 5 cm.



Obr. 9-5 Hysteroskopická myomektomie

9.1.3. Ischemizující postupy v terapii myomatózy

Dělohu šetřící konzervativní výkony dělíme na okluzivní, kam spadá laparoskopické uzavření děložních tepen spolu s radiologicky provedenou okluzí uterinních arterií. Druhou skupinu tvoří metody destruktivní, zde patří myolýza a fokusovaný ultrazvuk naváděný magnetickou rezonancí. Cílem obou přístupů je devaskularizace tumoru, následkem čehož je zmenšení nálezu a zmírnění klinické symptomatologie.

Okluzivní metody v terapii myomatózy

Laparoskopicky se provádí *bipolární koagulace uterinních cév (LBCUV)*, kterou zavedl do praxe Liu v roce 2000. Principem metody je elektrokoagulace a. uterina při odstupu z a. hypogastrica a současná koagulace uteroovariální anastomické zóny [38].

Autoři Holub a Kliment modifikovali předchozí metodu a roku 2002 představili *laparoskopickou disekci děložních cév (LDUV)*, která spočívá v laterálním přetěti uterinních arterií v retroperitoneu malé pánve při odstupu z aa.hypogastricae. Hlavní výhodou je zachování krevního zásobení ovaria na rozdíl od LBCUV [39].

Variantou, kterou tito autoři uvedli do praxe, je *laparoskopická okluze uterinních tepen (LUAO)* pomocí harmonického skalpelu. Další možností laparoskopické okluze děložních tepen je pomocí ligatur a cévních klipů, která je spojena s prací Lichtingera [40].

Laparoskopická okluze uterinních arterií (LUAO)

Tuto miniinvazivní chirurgickou metodu řadíme spolu s embolizací uterinních arterií mezi ischemizující metody léčby děložních myomů. Retroperitonálním přístupem je identifikována uterinní arterie v místě odstupu od arteria ilica interna a zde je bilaterálně přerušena. Ve srovnání s embolizací uterinních arterií (UAE) je metodou chirurgickou, a je tedy zatížena všemi riziky celkové anestezie, je však spojena s nižší spotřebou analgetik periprocedurálně [5]. Randomizovaná studie porovnávající dlouhodobé výsledky pacientek po UAE a LUAO z roku 2009 udává signifikantně vyšší frekvenci recidiv pacientek po LUAO (47 % po LUAO vs. 17 % po UAE) a vyšší objemovou redukcí myomu ve skupině pacientek po UAE (51 % po UAE vs. 33 % po LUAO) [6]. Reprodukční výsledky pacientek po LUAO a UAE publikoval Mára a kol.

Pregnancy a delivery rate v obou skupinách se statisticky nelišily (67 % po LUAO vs. 69 % po UAE a 46 % vs. 50 %), relativně vysoký byl v obou skupinách abortion rate (33 % vs. 34 %). Ve skupině pacientek po LUAO byl zaznamenán vyšší výskyt intrauterinní růstové restrikce u plodů (IUGR), (38 % pacientek po LUAO vs. 13 % po UAE). Nejednalo se však o závažný typ IUGR, průměrná porodní váha ve skupině LUAO byla 2 768 g [7]. LUAO lze provést v kombinaci s myomektomií k redukci krevní ztráty během operace či prevenci růstu ponechaných myomů, nebo samostatně u drobné mnohočetné myomatózy a u nepříznivě lokalizovaných myomů.

Embolizace uterinních arterií

Reprezentuje další terapeutický miniinvazivní postup prováděný intervenčními radiology. Pod skiaskopickou kontrolou je selektivně katetrizována arteria uterina a po zhodnocení stavu uteroovariálních anastomóz provedena bilaterální embolizace nevstřebatelnými embolizačními částicemi. Indikační kritéria tohoto výkonu nejsou přesně dána. Důležitá je však pečlivá selekce pacientek před výkonem. Vhodné jsou zejména pacientky premenopauzální se symptomatickými převážně intramurálními myomy bez přítomnosti nekrózy. Pendulující myomy nejsou vhodné k UAE vzhledem k potenciálnímu riziku nekrózy stopky myomu a jeho oddělení od dělohy. Kontroverze stále trvá ohledně indikace UAE u pacientek s reprodukčními plány [8]. Studie prokázaly vysokou frekvenci výskytu abnormálních hysteroskopických nálezů u pacientek po UAE, pouze 39 % pacientek mělo normální intrauterinní nález. Nekróza v biopsii byla verifikována ve 31 % pacientek [7]. Studie z roku 2004 publikovaná Goldbergem porovnála výsledky 53 těhotenství po UAE se 139 po laparoskopické myomektomií. Pacientky po UAE měly vyšší incidenci předčasných porodů (16 %) a malprezentace (11 %) ve srovnání s pacientkami po myomektomii (3 % v obou sledovaných parametrech). Pacientky po UAE měly také vyšší abortion rate než pacientky po myomektomii (24 % vs. 15 %), [9]. UAE má bezesporu výrazný symptomatický efekt. Studie FIBROID, která analyzovala prospektivní data více než 3000 pacientek po UAE, ukázala, že v ročním follow-up bylo 82 % pacientek spokojených s výsledkem léčby. Mezi nejčastější komplikace UAE se řadí neadekvátní kontrola bolesti vyžadující prodlouženou hospitalizaci, nekróza a expulze myomu [1]. Téměř u všech žen po embolizaci se vyskytuje tzv. post-embolizační syndrom projevující se zejména nauzeou, zvracením, subfebriliemi a bolestmi, které v laboratorním obraze bývají doprovázeny leukocytózou a vzestupem reaktantů akutní fáze. Terapie je symptomatická. Obávanou komplikací UAE je infekce nekrotických ložisek, která se vyskytuje přibližně v 1–3 % případů. Sporadické, ale o to závažnější je selhání ovariálních funkcí, zejména u premenopauzálních žen [37].

Destruktivní metody v terapii myomatózy

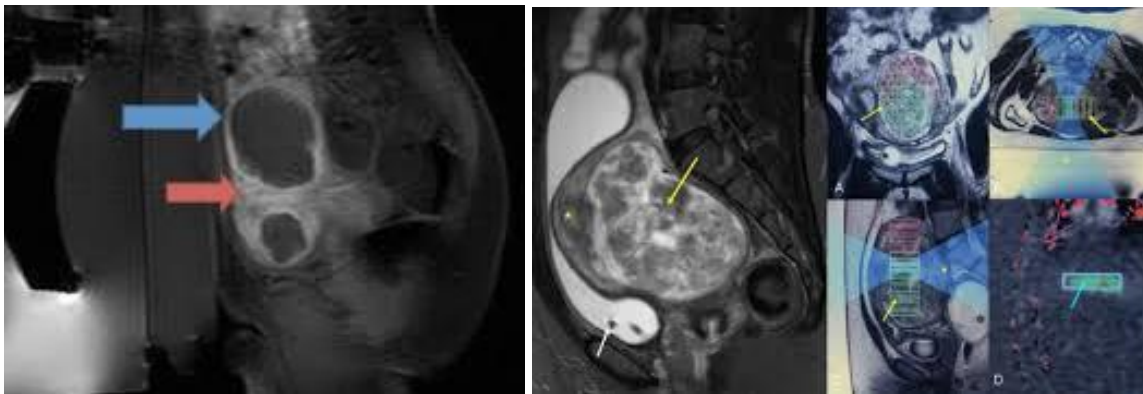
Myolýza

Principem myolýzy je, podobně jako u MRgFUS, destrukce myomů pomocí fokusované energie. Z počátku byl pro indukci koagulační nekrózy využíván neodýmium-aluminium-garnet (Nd:YAG) laser. V současné době jsou nejvíce využívány radiofrekvenční sondy či kryosondy. Sondy jsou do tkáně myomu zaváděny laparoskopicky, během výkonu je potřeba opakované aplikace. Tato procedura není doporučována ženám s reprodukčními plány vzhledem k přeměně myomu na

méněcennou, jizevnatou tkáň, a tedy k riziku ruptury dělohy v graviditě či abnormální placentace [1].

Fokusovaný ultrazvuk naváděný magnetickou rezonancí (MRgFUS)

Metoda využívá cílenou energii k zahřátí a destrukci tkáně myomu indukci koagulační nekrózy. Ultrazvukový paprsek prochází přední stěnou břišní bez potřeby incize. K dosažení účinnosti jsou nezbytné opakované sonikace a procedura trvá 2–4 hodiny (Obr. 9-6). Vzhledem k nedostatku dat je MRgFUS vhodný pro premenopauzální pacientky s ukončenými reprodukčními plány. Obdobně jako u UAE nejsou k ošetření vhodné myomy pendulující, dále myomy umístěné v blízkosti citlivých orgánů jako jsou střevní kličky či močový měchýř. Mezi možné komplikace patří kožní popáleniny a poranění nervů [1]. Výsledky MRgFUS ablace děložních myomů na 35 symptomatických premenopauzálních pacientkách publikoval Rabinovici a kol. 69 % pacientek uvedlo částečnou či kompletní úlevu od symptomů. Objemová redukce myomů byla 12 % a 15 % za 1, resp. 6 měsíců. U 6 pacientek byla ve sledovaném období 6 měsíců po MRgFUS provedena hysterektomie [10].



Obr. 9-6 Fokusovaný ultrazvuk naváděný magnetickou rezonancí

9.2. Inovativní farmakologicko-chirurgické postupy v řešení myomatózy

Kombinace chirurgické techniky a farmakologické terapie představuje progresivní přístup k redukci peroperačních rizik při myomektomii. Tato snaha je předmětem zájmu autora a je zaměřena především na možnost redukce velikosti myomů, minimalizace krevní ztráty a aktivní peroperační prevence tvorby adhezí po myomektomii.

9.2.1. Farmakologické možnosti redukce krevní ztráty při myomektomii

Krvácení z hysterotomie patří mezi nejčastější peroperační komplikace laparoskopické myomektomie. Riziko krevní ztráty je možné farmakologicky redukovat. Přípravky používané k redukci krevní ztráty při výkonu lze členit podle období jejich užití na skupiny s předoperační, peroperační a postoperační aplikací (Tab. 9-1). Předoperační farmakologická příprava pomocí analog Gonadotropin releasing hormonu

(GnRHa) dokáže potlačit rozsah myomatózy a umožnit tak v některých případech laparoskopický přístup, ale samotnou krevní ztrátu u žen indikovaných k laparoskopické myomektomii nesnižuje. Lepší výsledky slibuje v tomto ohledu předoperační příprava pomocí selektivních modulátorů progesteronových receptorů (SPRM). Jejich účinek je ve srovnání s GnRH analogy selektivnější, trvalejší a nevyvolávají tolik jako GnRH analoga nežádoucí hyalinní degeneraci myomů, která znesnadňuje jejich laparoskopickou enukleaci. Peroperační použití vasopresinu je účinná metoda redukce krevní ztráty, která je ale spojována s rizikem vážných kardiovaskulárních komplikací. Klinicky bezpečnějším lékem ze skupiny vasokonstriktorů se jeví epinefrin, ředěný 1 : 200 000 v kombinaci s lokálním anestetikem snižuje nejen krevní ztrátu, ale také délku operace a pooperační bolesti. Uterotonika jsou používána ve všech fázích operační léčby myomatózy včetně bezprostřední farmakologické předoperační přípravy např. misoprostolem.

Předoperační	GnRH analoga	subkutánní, intramuskulární
	ulipristal acetát	perorální
	misoprostol, dinoprost	vaginální
Peroperační	vasopresin	intramyometrální
	epinefrin	intramyometrální
	methylergometrin	intravenózní
Postoperační	methylergometrin	intravenózní
	oxytocin	intravenózní

Tab. 9-1 Farmaka používaná k redukci krevní ztráty při laparoskopické myomektomii

Krvácení z hysterotomie může být důvodem konverze operace na laparotomii. Existuje proto snaha riziko krvácení při laparoskopické myomektomii redukovat. Faktory ovlivňující krevní ztrátu při laparoskopické myomektomii jsou následující: Ze strany pacientky jsou to kromě obecných operačních předpokladů (BMI, koagulační parametry, adheze v malé pánvi a přidružené komorbidity) také rozsah samotné myomatózy: četnost, velikost, lokalizace, konzistence a histopatologický typ myomů ve vztahu k topografické anatomii myomů. Ze strany operačního týmu – technické vybavení operačního sálu, zkušenosti a dovednosti operatérů zejména v oblasti endoskopické sutury. Krevní ztrátu při laparoskopické myomektomii je možné ovlivnit také farmakologicky. Ve fázi předoperační přípravy mohou farmaka redukovat rozsah myomatózy a tím operaci usnadnit, nebo alespoň umožnit laparoskopický přístup. V operační fázi mohou farmaka redukovat krevní ztrátu mechanismem lokální vasokonstrikce nebo zvýšením tonu myometria, podobně jako ve fázi pooperační (Tab. 9-2).

Pacient	BMI, koagulační parametry, komorbidity
---------	--

	předchozí operace, adheze
	četnost, lokalizace, konzistence, velikost a histopatologický typ myomů
Operační tým	dovednosti a zkušenosti operátorů
	technické vybavení, instrumentárium
Farmaka	předoperační příprava
	peroperační aplikace
	postoperační období

Tab. 9-2 Faktory ovlivňující krevní ztrátu při laparoskopické myomektomii

Farmaka používaná k redukci krevní ztráty při laparoskopické myomektomii proto členíme podle období jejich aplikace na skupiny s předoperační, peroperační a postoperační aplikací. Do skupiny farmak s předoperační aplikací řadíme GnRH analoga a selektivní modulátory progesteronových receptorů. Bezprostředně před operací lze aplikovat uterotonika (misoprostol, dinoprost). Peroperačně je možné použít lokální vasokonstriktory (vasopresin, epinefrin) a uterotonika (methylergometrin, oxytocin). V pooperačním období nachází uplatnění uterotonika.

Předoperační farmakologická příprava

GnRH (gonadotropin releasing hormon) analoga

Nejrozšířenějšími hormonálními preparáty pro léčbu myomů jsou agonisté gonadoliberinů (GnRH analoga). GnRH analoga vazbou na receptory GnRH v hypofýze způsobí pokles produkce FSH, LH, ovariálních steroidů a hypoestrogenní stav, jehož důsledkem je zmenšení objemu myomu i celé dělohy (cca o 35–65 % v průběhu tří měsíců terapie). Sekundárně je léčba provázána typickými projevy hypoestrinizmu a při dlouhodobé aplikaci i poklesem kostní denzity. Po vysazení GnRH analog se myomy během několika měsíců vrátí ke své původní velikosti [11]. Z výše uvedených důvodů je krátkodobá aplikace GnRH analog využívána v rámci hormonální přípravy před vlastním chirurgickým řešením ve smyslu myomektomie. Výhody této předléčby byly potvrzeny klinickými studiemi [12, 13]. Ve vlastní prospektivní klinické studii jsme se zaměřili na efekt aplikace GnRH analog před plánovanou myomektomií u symptomatických děložních myomů žen v reprodukčním věku se zájmem o následnou graviditu. V komparaci s kontrolní skupinou pacientek bez aplikace GnRH analog byl vyhodnocen vliv hormonální předléčby pomocí GnRH analog na peroperační a postoperační výsledky laparoskopické i otevřené, laparotomické myomektomie.

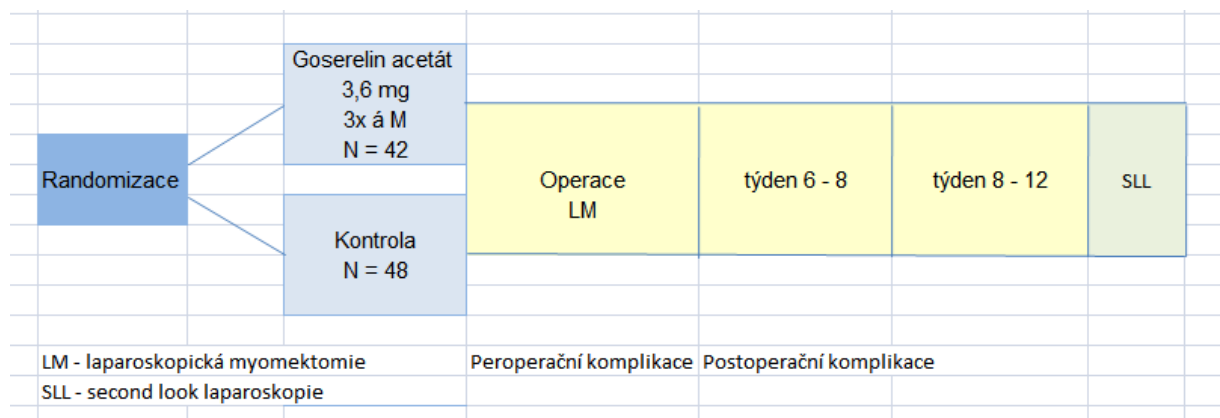
Sledovaný soubor tvořilo 212 pacientek se sonograficky diagnostikovanou symptomatickou děložní myomatózou. U celkem 90 pacientek (42,5 %) byla provedena laparoskopická myomektomie (LM) a u 122 pacientek (57,5 %) byla provedena otevřená, laparotomická myomektomie (OM). V charakteristice souboru byl sledován celkový počet exstirpovaných myomů, velikost, anatomická lokalizace a hloubka invaze dominantního exstirpovaného myomu ve vztahu k děložní stěně.

Obě skupiny pacientek byly randomizovány na dvě ramena. Sledovaný soubor LM s předoperační aplikací GnRH analog 42 pacientek (19,8 %) a kontrolní soubor LM bez předoperační aplikace GnRH analog 48 pacientek (22,7 %), (Obr. 9-7). Laparotomická část studie členěna na sledovaný soubor OM s předoperační aplikací GnRH analog 78 pacientek (36,7 %) a kontrolní soubor OM bez předoperační aplikace GnRH analog 44 pacientek (20,8 %). V souborech byla sledována peroperační krevní ztráta, délka chirurgického výkonu, délka hospitalizace, výskyt peroperační a postoperačních komplikací a výsledný nález při second look laparoskopii (SLL).

Ve sledovaném souboru laparoskopické myomektomie s předoperační aplikací GnRH analog byla signifikantně vyšší peroperační krevní ztráta ($p = 0,0003$), signifikantně delší čas chirurgického výkonu ($p = 0,0063$) a signifikantně vyšší průměrná doba hospitalizace proti kontrolnímu souboru ($p = 0,0025$). Ve sledovaném souboru LM nebyl signifikantní rozdíl ve výskytu peroperační konverze v laparotomii, nebyl signifikantní rozdíl ve výsledném stavu neoformace těla děložního a nebyl signifikantní rozdíl ve výskytu postoperačních adhezí při SLL proti kontrolnímu souboru. Ve sledovaném souboru OM s předoperační aplikací GnRH analog nebyl signifikantní rozdíl v peroperační krevní ztrátě ($p = 0,5324$), v délce chirurgického času výkonu ($p = 0,3927$), ani v průměrné délce hospitalizace proti kontrolnímu souboru ($p = 0,7145$). Ve sledovaném souboru OM byl signifikantně nižší výskyt recidivy myomatózy při SLL ($p = 0,0025$) a nebyl signifikantní rozdíl ve výskytu postoperačních adhezí proti kontrolnímu souboru. Ve sledovaném souboru LM a OM nebyl signifikantní rozdíl ve výskytu peroperačních komplikací, časných a pozdních postoperačních komplikací proti kontrolním souborům.

Aplikace GnRH analog ve sledovaném souboru před laparoskopickou ani laparotomickou myomektomií nevedla ke zlepšení peroperačních výsledků ve srovnání s kontrolní skupinou bez předléčby. Aplikace GnRH analog ve sledovaném souboru před OM vedla k signifikantnímu poklesu recidivy myomatózy při SLL ($p = 0,0025$) ve srovnání s kontrolní skupinou [14].

Samotná enukleace myomu se při laparoskopické myomektomii u pacientek s předoperační léčbou GnRH analogy provádí obtížněji. Je to z důvodu hyalinní degenerace myomů po aplikaci GnRH analog. Signifikantně delší je i délka operace ve srovnání s kontrolní skupinou (71 min. ± 27 vs. 53min. ± 16). GnRH analoga nepřinášejí pacientkám indikovaným primárně k laparoskopické myomektomii ani žádný jiný peroperační nebo pooperační benefit. Uplatnění nachází GnRH analogu u pacientek s hraničními nálezy velkých solitárních myomů, kde lze očekávat, že velikost myomu se po léčbě GnRH analogy zmenší natolik, aby umožnila minimálně invazivní laparoskopické řešení na místo laparotomie.



Obr. 9-7 GnRH a laparoskopická myomektomie – design studie

Vliv aplikace GnRH analog na peroperační a postoperační výsledky myomektomie u žen v reprodukčním věku

Ces. Gynek.
2012, 77, č. 2
s. 109-117

Effect of GnRH analogues pre-treatment on myomectomy outcomes in reproductive age women

Hudeček R., Ivanová Z., Šmerdová M., Pánková S., Krajčovičová R.

Gynekologicko-porodnická klinika LF MU a FN Brno, přednosta prof. MUDr. P. Ventruba, DrSc., MBA

ABSTRACT

Objective: To evaluate the role of three-monthly pre-treatment with gonadotropin releasing hormone (GnRH) analogues prior to myomectomy for women in comparison with control group of patients with no application. Analysis is focused on peroperative and postoperative results of surgery treatment for women with clinically symptomatic uterine fibroids in reproductive age with interest in getting pregnant.

Design: Prospective clinical study.

Setting: Gynecological and Obstetric Clinic of Medical Faculty of Masaryk University and the University Hospital Brno.

Main measures: The group of 212 patients with symptomatic uterine fibroids detected by ultrasound. 90 patients (42.5%) underwent laparoscopic myomectomy (LM) and 122 patients (57.5%) underwent open laparotomic myomectomy (OM). In the selected group we were observing the common number of extirpated uterine fibroids, their size, anatomical localisation, depth of invasion of dominant extirpated uterine fibroid in relation to uterine wall.

Methods: Both groups of patients were randomised into two parts. The group LM with GnRH pre-treatment contained 42 patients (19,8 %) and control group with no pre-treatment 48 patients (22,7%). Laparotomic part of study was divided into two groups with preoperative application of GnRH analogues 44 patients (36,7 %) and control group OM with no application 44 patients (20,8%). The main outcome measures were peroperative blood loss, duration of surgery, the length of hospital stay, evidence of per- and postoperative complications and the final results by second look laparoscopy (SLL).

Results: In the observed group LM with pre-treatment of GnRh analogues there was significantly higher volume of blood loss ($p = 0.0003$), significantly longer duration of surgery ($p = 0.0063$) and significantly higher length of hospital stay ($p = 0.0025$) compared with control group. We have not found a significant difference in the incidence of peroperational converse to laparotomy, final result of neof ormation of uterus wall and occurrence of postoperative adhesions by SLL in observed LM group compared with control group. In the observed OM group with pre-treatment of GnRH analogues there was no significant difference in: peroperative blood loss ($p = 0.5324$), duration of surgery ($p = 0.3927$) neither average length of hospital stay compared with control group. In the OM group, there was significantly lower incidence of recidives of uterine fibroids observed by SLL ($p = 0.0025$) and no significant difference of occurrence of postoperative adhesions compared with control group. We have not found significant difference in the incidence of peroperative complications, early and late postoperative complications in group of LM and OM in comparison with control groups.

Conclusion: Application of GnRH analogues in observed group of patients before LM and OM have not lead to improvement of peroperative results in comparison with control group. Pre-treatment of GnRh analogues before OM have lead to significant drop in recidives of uterine fibroids observed by SLL ($p = 0.0025$) compared with control group.

Key words: GnRh analogues, laparoscopic myomectomy, laparotomic myomectomy, peroperative results, postoperative results.

SOUHRN

Cíl: Vyhodnocení efektu aplikace GnRH analog v tříměsíčním režimu před plánovanou myomektomií ve srovnání s kontrolní skupinou bez aplikace GnRH analog. Analýza je zaměřena na peroperační a postoperační výsledky chirurgického řešení klinicky symptomatických děložních myomů u žen v reprodukčním věku se zájmem o následnou graviditu.

Typ studie: Prospektivní klinická studie.

Název a sídlo pracoviště: Gynekologicko-porodnická klinika Lékařské fakulty Masarykovy univerzity a Fakultní nemocnice Brno.

Materiál: Soubor 212 pacientek se sonograficky diagnostikovanou symptomatickou děložní myomatózou. U celkem 90 pacientek (42,5 %) byla provedena laparoskopická myomektomie (LM) a u 122 pacientek (57,5 %) byla provedena otevřená, laparotomická myomektomie (OM). V charakteristice souboru byl sledován celkový počet extirpovaných myomů, velikost, anatomická lokalizace a hloubka invaze dominantního extirpovaného myomu ve vztahu k děložní stěně.

Metodika: Obě skupiny pacientek randomizovány na dvě ramena. Sledovaný soubor LM s předoperační aplikací GnRH analog 42 pacientek (19,8 %) a kontrolní soubor LM bez předoperační aplikace GnRH analog 48 pacientek (22,7 %). Laparotomická část studie členěna na sledovaný soubor OM s předoperační aplikací GnRH analog 78 pacientek (36,7 %) a kontrolní soubor OM bez předoperační aplikace GnRH analog 44 pacientek (20,8 %). V souborech byla sledována peroperační krevní ztráta, délka chirurgického výkonu, délka hospitalizace, výskyt peroperačních a postoperačních komplikací a výsledný nález při second look laparoskopii (SLL).

Výsledky: Ve sledovaném souboru LM s předoperační aplikací GnRH analog byla signifikantně vyšší peroperační krevní ztráta ($p = 0,0003$), signifikantně delší čas chirurgického výkonu ($p = 0,0063$) a signifikantně vyšší průměrná délka hospitalizace ($p = 0,0025$) proti kontrolnímu souboru. Ve sledovaném souboru LM nebyl signifikantní rozdíl ve výskytu peroperační konverze v laparotomii, nebyl signifikantní rozdíl ve výsledném stavu neformace těla děložního a nebyl signifikantní rozdíl ve výskytu postoperačních adhezí při SLL proti kontrolnímu souboru. Ve sledovaném souboru OM s předoperační aplikací GnRH analog nebyl signifikantní rozdíl v peroperační krevní ztrátě ($p = 0,5324$), v délce chirurgického času výkonu, ($p = 0,3927$), ani v průměrné délce hospitalizace proti kontrolnímu souboru ($p = 0,7145$). Ve sledovaném souboru OM byl signifikantně nižší výskyt recidivy myomatózy při SLL ($p = 0,0025$) a nebyl signifikantní rozdíl ve výskytu postoperačních adhezí proti kontrolnímu souboru. Ve sledovaném souboru LM a OM nebyl signifikantní rozdíl ve výskytu peroperačních komplikací, časných a pozdních postoperačních komplikací proti kontrolním souborům.

Závěr: Aplikace GnRH analog ve sledovaném souboru před LM i OM nevedla ke zlepšení peroperačních výsledků ve srovnání s kontrolní skupinou. Aplikace GnRH analog ve sledovaném souboru před OM vedla k signifikantnímu poklesu recidivy myomatózy při SLL ($p = 0,0025$) ve srovnání s kontrolní skupinou.

Klíčová slova: GnRH analog, laparoskopická myomektomie, laparotomická myomektomie, peroperační výsledky, postoperační výsledky.

ÚVOD

Děložní myomy patří mezi mezenchymové benigní nádory vznikající proliferací hladké svaloviny děložního těla. Jsou nejčastějšími nádory dělohy, které jsou diagnostikovány u 30–50 % žen v reprodukčním věku. Jde o hormonálně závislý nádor, v jehož tkáních jsou přítomny estrogenové a progesteronové receptory. Topograficko-anatomická charakteristika myomů významně ovlivňuje jejich klinické projevy i výsledný efekt terapie [3].

Klinické projevy myomatózy ovlivňuje především velikost, lokalizace a počet leyomyomů. Většina menších myomů je zpravidla asymptomatická. Jako klinicky významné lze označit myomy, které způsobují potíže, jsou objemné nebo rychle rostoucí nebo se vyskytují u žen s dosud neuzavřenou reprodukční funkcí, zvláště pak u žen sterilních či infertilních. Mezi krvácivé klinické symptomy v příčinném vztahu k děložním myomům patří hypermenorea a menoragie, které jsou ovlivněny zejména lokalizací myomů. Myom klenoucí se do děložní dutiny komprimuje endometrium, tím je porušena vaskularizace a fyziologické odlučování endometria. Velké subserózní myomy mohou naopak růst dlouho asymptomaticky a projevují se až v pozdějším období zejména bolestivými symptomy, mezi které patří pelvi-

patie, dysmenorea a dyspareunie. V případě akutní nekrózy myomu nebo při torzi pendlujícího myomu dominuje v klinickém obraze akutně vzniklá bolest s peritoneálním drážděním a obrazem náhlé příhody břicha. Ženy s objemnými myomy udávají nespecifické tlakové obtíže a pocit prosáknutí až edému podbřišku, často ve spojení s obstipací a obtížnou či častou mikcí. Tyto příznaky se označují jako „bulky symptoms“ [14].

Specifickým problémem je vztah myomů k fertilitě ženy. Většina klinických studií prokazuje signifikantně horší reprodukční výsledky u žen s intramurálně uloženými myomy [6, 9, 11]. Nález myomu jako jediné verifikované patologie je udáván u téměř 10 % neplodných žen [1, 10]. Patofyziologické mechanismy vlivu myomů na fertilitu ženy představují jednak porušení celistvosti povrchu endometria, které ohrožuje implantaci, dále nepravidelný růst endometria, který narušuje proces implantace, a embryo nidující přímo nad myomem může mít zhoršené cévní zásobení v rámci placentace. Anatomické deformace vyvolané myomem mohou ztěžovat vstup spermií do oblasti děložního hrdla, a nepříznivě tak ovlivnit jejich transport. Poruchy děložní kontraktility mají nepříznivý vliv na transport spermií a embrya a myomy mohou být příčinou uzávěru tubárních ústí [15]. Komplexní vliv myomů na reprodukci a klinický benefit jejich operační terapie u pacientek plánujících

graviditu přesto zůstává stále nevyjasněný. Pokles fertility byl přesvědčivě prokázán v přímé souvislosti s deformací děložní dutiny u žen se submukózními nebo intramurálními myomy [15].

Děložní myomatóza patří ke klasicky uváděným příčinám spontánních i opakovaných potratů (sekundární anatomický faktor), a to zejména v II. trimestru gravidity, kdy se podílí až na 1/3 všech abortů [20]. Těhotenské ztráty u žen s myomy jsou spojovány s nálezem nízkého, omezeně vaskularizovaného endometria, se zvýšenou děložní kontraktilitou nebo se zánětlivými procesy děložní sliznice v důsledku degenerace myomu. Všechny uvedené okolnosti mohou potenciálně zhoršit vývoj placenty nebo placenci a následně ohrožovat vývoj embrya či plodu. Obecně je riziko reprodukčních ztrát u žen s myomem menším než 3 cm považováno za zanedbatelné [15]. Přesto v literatuře udávané výsledky studií u žen s diagnostikovanými intramurálními či submukózními myomy do 3 cm vykazují 40% frekvenci abortů v I. trimestru, 17% frekvenci potratů v II. trimestru a 33% abortů u myomů subserózních (bez ohledu na velikost myomu) při 16% frekvenci abortů u kontrol [1].

Řada klinických studií doporučuje u sterilních žen s diagnózou signifikantního myomu o velikosti nad 4 cm myomektomií a toto doporučení se opírá o významné zlepšení reprodukčních výsledků (conception rate, delivery rate) proti výsledkům žen léčených konzervativně [2, 5, 12, 18]. Až 60 % žen po exstirpaci myomu spontánně otěhotní do 24 měsíců po výkonu [16]. Většina žen, které po myomektomií otěhotní, otěhotní do jednoho roku po výkonu, po více než 12 měsících od primárního výkonu počet gravidit prudce klesá [1].

Kauzální farmakoterapie myomů má za cíl zmenšení jejich velikosti a redukci vaskularizace. Nejrozšířenějšími hormonálními preparáty pro léčbu myomů jsou agonisté gonadoliberinů (GnRH analoga). GnRH analoga vazbou na receptory GnRH v hypofýze způsobí pokles produkce FSH, LH, ovariálních steroidů a hypoestrogenní stav, jehož důsledkem je zmenšení objemu myomu i celé dělohy (asi o 35–65 % v průběhu tří měsíců terapie). Sekundárně je léčba provázena typickými projevy hypoestrinismu a při dlouhodobé aplikaci i poklesem kostní denzity. Po vysazení GnRH analog se myomy během několika měsíců vrátí ke své původní velikosti [4]. Z výše uvedených důvodů je krátkodobá aplikace GnRH analog využívána v rámci hormonální přípravy před vlastním chirurgickým řešením, tj. myomektomií. Výhody této předléčby byly potvrzeny klinickými studii [7, 8]. Ve vlastní prospektivní klinické studii jsme se zaměřili na efekt aplikace GnRH analog před plánovanou myomektomií u symptomatických děložních myomů žen v reprodukčním věku se zájmem o následnou graviditu. V komparaci s kontrolní skupinou pacientek bez aplikace GnRH analog byl vyhodnocen vliv hormonální předléčby pomocí GnRH analog na peroperační a postoperační výsledky laparoskopické i otevřené, laparotomické myomektomie.

Cíl práce

Vyhodnocení efektu aplikace GnRH analog v třímě-

síčním režimu před plánovanou myomektomií ve srovnání s kontrolní skupinou bez aplikace GnRH analog. Analýza je zaměřena na peroperační a postoperační výsledky chirurgického řešení klinicky symptomatických děložních myomů u žen v reprodukčním věku se zájmem o následnou graviditu.

SOUBOR PACIENTEK

Soubor sestával z 212 pacientek reprodukčního věku (33±5 let) se sonograficky diagnostikovanou symptomatickou děložní myomatózou. U celkem 90 pacientek (42,5 %) byla provedena laparoskopická myomektomie (LM) a u 122 pacientek (57,5 %) otevřená, laparotomická myomektomie (OM). Obě skupiny pacientek randomizovány na dvě ramena. Sledovaný soubor LM s předoperační aplikací GnRH analog 42 pacientek (19,8 %) a kontrolní soubor LM bez předoperační aplikace GnRH analog 48 pacientek (22,7 %). Laparotomická část studie je členěna na sledovaný soubor OM s předoperační aplikací GnRH analog 78 pacientek (36,7 %) a kontrolní soubor OM bez předoperační aplikace GnRH analog 44 pacientek (20,8 %) (tab. 1).

Tab. 1. Charakteristika souboru myomektomií

Celkový počet výkonů	GnRH	N	%
LM	ano	42	19,8
LM	ne	48	22,7
suma LM		90	42,5
OM	ano	78	36,7
OM	ne	44	20,8
suma OM		122	57,5
Suma		212	100,0

V charakteristice souboru byl sledován celkový počet exstirpovaných myomů u konkrétní pacientky. V souboru LM byl exstirpován solitární myom v 68 případech (75,6 %), dva myomy ve 12 případech (13,3 %), tři myomy v 8 případech (8,9 %), a více než tři myomy ve 2 případech (2,2 %). V souboru OM exstirpován solitární myom v 82 případech (68,3 %), dva myomy v 18 případech (14,8 %), tři myomy ve 14 případech (11,5 %), a více než tři myomy v 8 případech (6,6 %) (tab. 2).

V charakteristice souboru byla sledována velikost dominantního exstirpovaného myomu. V souboru LM byl exstirpován dominantní myom ≤30 mm v 36 případech (40,0 %), dominantní myom 30–60 mm ve 48 případech (53,3 %), dominantní myom 60–90 mm v 6 případech (6,7 %), a nebyl laparoskopicky exstirpován myom větší 90 mm. V souboru OM byl exstirpován dominantní myom ≤30 mm ve 2 případech (1,6 %), dominantní myom 30–60 mm v 56 případech (45,9 %), dominantní myom 60–90 mm v 50 případech (41 %), a dominantní myom větší 90 mm ve 14 případech (11,5 %) (tab. 3).

Tab. 2. Charakteristika souboru – celkový počet exstirpovaných myomů

Celkový počet myomů	1	2	3	> 3	suma					
N	%	N	%	N	%					
LM	68	75,6	12	13,3	8	8,9	2	2,2	90	100,0
OM	82	68,3	18	14,8	14	11,5	8	6,6	122	100,0
suma	150		30		22		10		212	100,0

Tab. 3. Charakteristika souboru – velikost dominantního exstirpovaného myomu

Velikost myomu	≤30 mm	30–60mm	60–90 mm	> 90 mm	suma					
	N	%	N	%	N	%				
LM	36	40,0	48	53,3	6	6,7	0	0,0	90	100,0
OM	2	1,6	56	45,9	50	41,0	14	11,5	122	100,0
suma	38		104		56		14		212	100,0

Tab. 4. Charakteristika souboru – anatomická lokalizace dominantního exstirpovaného myomu

Lokalizace myomů	F	ZS	PS	PH	LH	I	suma							
	N	%	N	%	N	%	N	%						
LM	24	26,7	22	24,4	34	37,8	6	6,7	4	4,4	0	0,0	90	100,0
OM	16	13,1	52	42,6	30	24,6	10	8,2	12	9,8	2	1,6	122	100,0
suma	40		74		64		16		16		2		212	100,0

F – fundus, ZS – zadní stěna, PS – přední stěna, PH – pravá hrana, LH – levá hrana, I – istmus

Tab. 5. Charakteristika souboru – hloubka invaze dominantního exstirpovaného myomu ve vztahu k děložní stěně

Invaze myomu	P	SS	IM	SM	IC	suma						
	N	%	N	%	N	%	N	%				
LM	30	46,0	46	51,1	14	15,6	0	0,0	0	0,0	90	100,0
OM	6	4,9	40	32,8	74	60,7	0	0,0	2	1,6	122	100,0
suma	36		86		88		0		2		212	100,0

P – pendující myom, SS – subserózní, IM – intramurální, SM – submukózní, IC – intracervikální

V charakteristice souboru byla dále sledována anatomická lokalizace dominantního exstirpovaného myomu. V souboru LM byl exstirpován dominantní myom z fundu dělohy u 24 případů (26,7 %), ze zadní stěny dělohy u 22 případů (24,4 %), z přední stěny dělohy u 34 případů (37,8 %), z pravé hrany dělohy v 6 případech (6,7 %), z levé hrany dělohy ve 4 případech (4,4 %). V souboru OM byl exstirpován dominantní myom z fundu dělohy v 16 případech (13,1 %), ze zadní stěny dělohy u 52 případů (42,6 %), ze přední stěny dělohy u 30 případů (24,6 %), z pravé hrany dělohy v 10 případech (8,2 %), z levé hrany dělohy ve 12 případech (9,8 %), z istmu dělohy ve 2 případech (1,6 %) (tab. 4).

V charakteristice souboru se rovněž sledovala hloubka invaze dominantního exstirpovaného myomu ve vztahu k děložní stěně. V souboru LM byl exstirpován pendující dominantní myom ve 30 případech (46,0 %), subserózní myom ve 46 případech (51,1 %), intramurální myom ve 14 případech (15,6 %). V souboru OM byl exstirpován pendující dominantní myom v 6 případech (4,9 %), subserózní myom ve 40 přípa-

dech (32,8 %), intramurální myom v 74 případech (60,7 %), istmicky lokalizovaný myom ve 2 případech (1,6 %) (tab. 5).

METODIKA

Předléčba pacientek se sonograficky diagnostikovanou symptomatickou děložní myomatózou ve sledovaném souboru v tříměsíčním režimu před plánovanou myomektomií byla realizována pomocí aplikace Gosere-lin acetátu 3,6 mg (1 amp s.c. celkem 3x à čtyři týdny). Po aplikaci poslední dávky do šesti týdnů byly pacientky referovány k operační intervenci. V kontrolním souboru byly pacientky referovány k operační intervenci bez předchozí aplikace Gosere-lin acetátu v proliferační fázi menstruačního cyklu.

Děložní myomatóza byla u 90 pacientek (42,5 %) řešena laparoskopicky, cestou monopolární disekce povrchu myomu a následnou exstirpací bipolárním disektorem s intrakorporální laparoskopickou suturou

myometria jednotlivými vstřebatelnými stehy a s morse-lací myomů. V průběhu operace byla podána i.v. medikace 2 amp. methylergometrinu (MEM), (1 amp. MEM před exstirpací myomu a 1 amp. MEM před suturou myometria) + 5 j. oxytocinu/500 ml 5% glukózy i.v. po výkonu + peroperačně bolus antibiotik. Sutura myometria po laváži břišní dutiny fyziologickým roztokem byla kryta antiadhezivním gelem se 100% kyselinou hyaluronovou, bez drenáže břišní dutiny.

Sonograficky diagnostikovaná symptomatická děložní myomatóza byla u 122 pacientek (57,5 %) řešena laparotomicky, cestou monopolární disekce povrchu myomu a následnou exstirpací monopolárním nožem se suturou myometria jednotlivými vstřebatelnými stehy. V průběhu operace byla podána i.v. medikace 2 amp. MEM, (1 amp. MEM před exstirpací myomu a 1 amp. MEM před suturou myometria) + 5 j. oxytocinu/500 ml 5% glukózy i.v. po výkonu + peroperačně bolus antibiotik. Sutura myometria po laváži břišní dutiny fyziologickým roztokem byla kryta antiadhezivním gelem se 100% kyselinou hyaluronovou, bez drenáže břišní dutiny.

Peroperačně byla v obou skupinách myomektomií (LM a OM) sledována krevní ztráta (měřeno sukci v ml před výplachem dutiny břišní), dále délka chirurgického času výkonu (min), sledovány peroperační komplikace (krevní ztráta nad 500 ml, traumatismus močového měchýře, traumatismus kličky střední, poranění velkých cév retroperitonea, anesteziologické komplikace. V případech LM byla sledována peroperační nutnost konverze v laparotomii pro rozsah nálezu nebo laparoskopicky neřešitelné krvácení.

V časném postoperačním období (během hospitalizace) byl v obou skupinách myomektomií (LM a OM) hodnocen výskyt krvácivých komplikací, nutnost reoperace, rozpad rány, výskyt infekčních, gastrointestinálních a anesteziologických komplikací a délka hospitalizace (dny). V pozdním postoperačním období (6–8 týdnů po primárním výkonu) hodnocen výskyt hypermenorey, algomenorey, pánevní bolesti, obtížné defekace či mikce a výskyt dyspareunie.

Pacientky ze studie byly referovány k „second look“ laparoskopii (SLL) za 8–12 týdnů po primárním výkonu. V průběhu SLL se posoudil výsledný stav neoformace děložního těla po myomektomii (ad integrum, s reziduálním nálezem a deformací děložního těla, s recidivou myomatózy či s nedostatečným efektem výkonu). Dále se sledoval výskyt adhezivního procesu orgánů malé

pánve k sutuře myometria a nutnost eventuální laparoskopické adheziolýzy.

Sledované parametry byly statisticky hodnoceny pomocí Mannova-Whitneyho testu a pomocí Fischerova exact testu.

VÝSLEDKY

1. Vliv aplikace GnRH analog na peroperační krevní ztrátu

Peroperačně v obou skupinách myomektomií (LM a OM) byla sledována krevní ztráta (ml). Ve sledovaném souboru LM s předoperační aplikací GnRH analog byla peroperační krevní ztráta 140 ml [139±107 ml] a v kontrolním souboru LM bez předoperační aplikace GnRH analog byla peroperační krevní ztráta 60 ml [57±23 ml] ($p = 0,0003$). Ve sledovaném souboru OM s předoperační aplikací GnRH analog byla peroperační krevní ztráta 220 ml [211±167 ml] a v kontrolním souboru OM bez předoperační aplikace GnRH byla peroperační krevní ztráta 210 ml [233±210 ml] ($p = 0,5324$) (tab. 6).

2. Vliv aplikace GnRH analog na délku chirurgického času výkonu

Peroperačně v obou skupinách myomektomií (LM a OM) byla sledována délka chirurgického času výkonu (min). Ve sledovaném souboru LM s předoperační aplikací GnRH analog byla délka chirurgického času výkonu 70 min [71±27 min] a v kontrolním souboru LM bez předoperační aplikace GnRH analog byla délka chirurgického času výkonu 55 min [53±16 min] ($p = 0,0063$). Ve sledovaném souboru OM s předoperační aplikací GnRH analog byla délka chirurgického času výkonu 75 min [78±19 min] a v kontrolním souboru OM bez předoperační aplikace GnRH byla délka chirurgického času výkonu 110 min [84±23 min], ($p = 0,3927$) (tab. 7).

3. Vliv aplikace GnRH analog na výskyt peroperačních komplikací

Výskyt peroperační komplikací byl sledován v obou skupinách myomektomií (LM a OM). Ve sledovaném

Tab. 6. Vliv aplikace GnRH analog na peroperační krevní ztrátu

Krevní ztráta	Analoga	N	%	ztráta	
				ml	SD
LM	ano	42	19,8	140*	139±107
LM	ne	48	22,7	60*	57±23
suma LM		90	42,5		
OM	ano	78	36,7	220**	211±167
OM	ne	44	20,8	210**	233±210
suma OM		122	57,5		

* ($p = 0,0003$), ** ($p = 0,5324$) – Mannův-Whitneyho test

Tab. 7. Vliv aplikace GnRH analog na délku chirurgického času výkonu

Délka výkonu	Analoga	N	%	operace	
				min	SD
LM	ano	42	19,8	70*	71±27
LM	ne	48	22,7	55*	53±16
suma LM		90	42,5		
OM	ano	78	36,7	75**	78±19
OM	ne	44	20,8	110**	84±23
suma OM		122	57,5		

* ($p = 0,0063$), ** ($p = 0,3927$) – Mannův-Whitneyho test

Tab. 8. Vliv aplikace GnRH analog na výskyt peroperačních komplikací

Peroperační komplikace	Analoga	N	%	ztráta > 500ml		S+M+C+A		Suma	
				N	%	N	%	N	%
LM	ano	42	19,8	0	0,0	0	0,0	0	0,0
LM	ne	48	22,7	0	0,0	0	0,0	0	0,0
suma LM		90	42,5	0	0,0	0	0,0	0	0,0
OM	ano	78	36,7	4	5,1	0	0,0	4	5,1
OM	ne	44	20,8	2	4,5	0	0,0	2	4,5
suma OM		122	57,5	6	4,9	0	0,0	6	4,9

S – léze střeva, M – léze, močový měchýř, C – léze cévy, A – anesteziologická komplikace

souboru LM s předoperační aplikací GnRH analog ani v kontrolním souboru LM bez předoperační aplikace GnRH analog nebyla zaznamenána peroperační komplikace charakteru: krevní ztráta nad 500 ml, traumatismus močového měchýře, traumatismus střevní kličky, poranění velkých cév retroperitonea, anesteziologická komplikace (tab. 8). V případech LM byla sledována peroperační nutnost konverze v laparotomii pro rozsah nálezu nebo laparoskopicky neřešitelné krvácení. Ve sledovaném souboru LM s předoperační aplikací GnRH analog versus kontrolní soubor LM bez předoperační aplikace GnRH analog byla registrována nutnost konverze v laparotomii pro rozsah nálezu v 15 případech (35,7 %) respektive ve 3 případech (6,3 %) kontrolního souboru a dále byla registrována nutnost konverze v laparotomii pro laparoskopicky neřešitelné krvácení v jednom případě (2,4 %) ve sledovaném souboru a v jednom případě (2,1 %) kontrolního souboru.

Ve sledovaném souboru OM s předoperační aplikací GnRH analog proti kontrolnímu souboru OM bez předoperační aplikace GnRH analog byla zaznamenána krevní ztráta nad 500 ml ve 4 případech (5,1 %) a ve 2 případech (4,5 %) v kontrolním souboru. Ve sledovaném souboru OM s předoperační aplikací GnRH analog proti kontrolnímu souboru OM bez předoperační aplikace GnRH analog nebyla zaznamenána peroperační komplikace charakteru: traumatismus močového měchýře, traumatismus střevní kličky, poranění velkých cév retroperitonea, anesteziologická komplikace (tab. 8).

4. Vliv aplikace GnRH analog na výskyt časných postoperačních komplikací

V časném postoperačním období nebyla registrována v žádné z obou skupin myomektomií (LM a OM) krvácivá komplikace, nutnost reoperace, rozpad rány, ani výskyt infekčních, gastrointestinálních a anesteziologických komplikací.

5. Vliv aplikace GnRH analog na délku hospitalizace

V obou skupinách myomektomií (LM a OM) byla sledována délka hospitalizace (dny). Ve sledovaném souboru LM s předoperační aplikací GnRH analog byla průměrná délka hospitalizace 4,3 dnů [4,3±1,4 d.]

Tab. 9. Vliv aplikace GnRH analog na délku hospitalizace

Hospitalizace	Analoga	N	%	Hospitalizace	
				Dny	SD
LM	ano	42	19,8	4,3*	4,3±1,4
LM	ne	48	22,7	3,0*	3,0±1,2
suma LM		90	42,5		
OM	ano	78	36,7	5,5**	5,5±1,0
OM	ne	44	20,8	5,5**	5,6±0,8
suma OM		122	57,5		

* (p = 0,0025), ** (p = 0,7145) – Mannův-Whitneyho test

a v kontrolním souboru LM bez předoperační aplikace GnRH analog byla průměrná délka hospitalizace 3 dny [3,0±1,2 d.] (p = 0,0025). Ve sledovaném souboru OM s předoperační aplikací GnRH analog byla průměrná délka hospitalizace 5,5 dnů [5,5±1,0 d.] a v kontrolním souboru OM bez předoperační aplikace GnRH analog byla průměrná délka hospitalizace 5,5 dnů [5,6±0,8 d.] (p = 0,7145) (tab. 9).

6. Vliv aplikace GnRH analog na výskyt pozdních postoperačních komplikací

V pozdním postoperačním období (6–8 týdnů po výkonu) byl v obou skupinách myomektomií (LM a OM) hodnocen výskyt hypermenorey, algomenorey, pánevní bolesti, obtížné defekace či mikce a výskyt dyspareunie. Ve sledovaném souboru LM s předoperační aplikací GnRH analog byly registrovány 2 případy pelvi-algie (4,8 %) a v kontrolním souboru LM bez předoperační aplikace GnRH analog byly registrovány 2 případy hypermenorey (4,2 %), 2 případy obtížné defekace (4,2 %), 2 případy dysurie (4,2 %). Celkem tedy v kontrolním souboru LM bez předoperační aplikace GnRH analog bylo registrováno 6 pozdních postoperačních komplikací (12,5 %) (p = 0,1429) (tab. 10).

Ve sledovaném souboru OM s předoperační aplikací GnRH analog byly registrovány 4 případy hypermenorey (5,1 %), 2 případy algomenorey (2,6 %), 4 případy pelvi-algie (5,1 %), 2 případy obtížné defekace (4,2 %), a 2 případy dyspareunie. Celkem tedy 14 případů pozd-

Tab. 10. Vliv aplikace GnRH analog na výskyt pozdních postoperačních komplikací

Pozdní komplikace	Analog	N	%	HM		AM		PA		DE		MI		DP		suma	
				N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
LM	Ano	42	47,0	0	0,0	0	0,0	2	4,8	0	0,0	0	0,0	0	0,0	2*	4,8
LM	Ne	48	53,0	2	4,2	0	0,0	0	0,0	2	4,2	2	4,2	0	0,0	6*	12,5
suma LM		90	100,0	2	0,0	0	0,0	2	0,0	2	0,0	2	0,0	0	0,0	8**	8,9
OM	Ano	78	64,0	4	5,1	2	2,6	4	5,1	2	2,6	0	0,0	2	2,6	14**	17,9
OM	Ne	44	36,0	6	13,6	0	0,0	10	22,7	0	0,0	0	0,0	0	0,0	16	36,4
suma OM		122	100,0	10		2		14		2		0		2		30	24,6

HM – hypermenorea, AM – algomenorea, PA – pelviálgie, DE – defekace, MI – mikce, DP – dyspareunia, * (p = 0,1429) , ** (p = 0,0516) – Fisherův exact test

Tab. 11. Vliv aplikace GnRH analog na výsledky second look laparoskopie – neoformace dělohy

SLL - děloha	Analog	SLL		bez M		rezid M		recid M		Suma	
		N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
LM	42 ano	24	57,1	16	66,7	2	8,2	6*	25,0	24	100,0
LM	48 ne	24	50,0	22	91,7	0	0,0	2*	8,3	24	100,0
suma LM	90	48		38		2		8		48	100,0
OM	78 ano	38	48,7	34	89,5	0	0,0	4**	10,5	38	100,0
OM	44 ne	26	59,1	14	53,8	0	0,0	12**	27,3	26	100,0
suma OM	122	64		48		0		16		64	100,0

SLL – second look laparoskopie, bez M – bez nálezu myomatózy, rezid M – reziduální nález myomatózy, recid M – recidiva myxomatózy, * (p = 0,0865), ** (p = 0,0025) - Fisherův exact test

Tab. 12. Vliv aplikace GnRH analog na výsledky second look laparoskopie – adheze

SLL - adheze	Analog	SLL		0		I. st.		II. st.		III. st.		suma	
		N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
LM	42 ano	24	57,1	4	16,7	12	50,0	6	25,0	2	8,2	24	100,0
LM	48 ne	24	50,0	7	29,2	11	45,8	5	20,8	1	4,2	24	100,0
suma LM	90	48		11		23		11		3		48	100,0
OM	78 ano	38	48,7	3	7,9	13	34,2	18	47,4	4	10,5	38	100,0
OM	44 ne	26	59,1	2	4,5	12	27,3	9	20,5	3	6,8	26	100,0
suma OM	122	44										44	100,0

0 – bez adhezí, I. st. – ojedinělé blanité adheze, II. st. – vícečetné blanité adheze, III. st. – vícečetné plošné adheze

ních postoperačních komplikací (17,9 %). V kontrolním souboru OM bez předoperační aplikace GnRH analog bylo registrováno 6 případů hypermenorey (13,6 %), 10 případů pelviálgie (22,7 %), další komplikace nebyly zaznamenány. Celkem tedy 16 případů pozdních postoperačních komplikací (36,4 %). (p = 0,0516) (tab. 10).

7. Vliv aplikace GnRH analog na výsledky second look laparoskopie

Výsledky „second look“ laparoskopie (SLL) po LM za 8–12 týdnů po primárním výkonu. Celkem bylo provedeno 24 výkonů SLL (57,1 %) ve sledovaném souboru LM s předoperační aplikací GnRH analog a 24 výko-

nů SLL (50,0 %) v kontrolním souboru LM bez předoperační aplikací GnRH analog.

V průběhu SLL ve sledovaném souboru LM s předoperační aplikací GnRH analog byl posouzen výsledný stav neoformace děložního těla po myomektomii bez reziduálního nálezu a dostatečnou neoformací děložního těla v 16 případech (66,7 %) a v kontrolním souboru LM ve 22 případech (91,7 %)

V průběhu SLL ve sledovaném souboru LM s předoperační aplikací GnRH analog byl posouzen výsledný stav neoformace děložního těla po myomektomii s reziduálním nálezem a deformací děložního těla ve 2 případech (8,2 %) a v kontrolním souboru LM nebyl zaznamenán reziduální nález a deformace děložního těla.

V průběhu SLL ve sledovaném souboru LM s předoperační aplikací GnRH analog byl posouzen výsledný stav neoformace děložního těla po myomektomií s recidivou myomatózy v 6 případech (25,0 %) a v kontrolním souboru LM byla zaznamenána recidiva myomatózy těla děložního ve 2 případech (8,3 %) ($p = 0,0865$) (tab. 11).

V průběhu SLL ve sledovaném souboru LM s předoperační aplikací GnRH analog byl posouzen výsledný stav bez přítomnosti adhezí k jizvě po myomektomií v 2 případech (8,3 %), adheze I. stupně ve 12 případech (50,0 %), adheze II. stupně ve 6 případech (25,0 %), adheze III. stupně ve 2 případech (8,2 %). V kontrolním souboru LM byl posouzen výsledný stav bez přítomnosti adhezí k jizvě po myomektomií v 7 případech (2,9 %), adheze I. stupně ve 11 případech (45,8 %), adheze II. stupně ve 5 případech (20,8 %), adheze III. stupně ve 1 případě (4,2 %) (tab. 12.).

Výsledky „second look“ laparoskopie (SLL) po OM za 8–12 týdnů po primárním výkonu. Celkem bylo provedeno 38 výkonů SLL (48,7 %) ve sledovaném souboru OM s předoperační aplikací GnRH analog a 26 výkonů SLL (59,1 %) v kontrolním souboru OM bez předoperační aplikace GnRH analog.

V průběhu SLL ve sledovaném souboru OM s předoperační aplikací GnRH analog byl posouzen výsledný stav neoformace těla děložního po myomektomií bez reziduálního nálezu a dostatečnou neoformací děložního těla v 34 případech (89,5 %) a v kontrolním souboru OM ve 14 případech (53,8 %).

V průběhu SLL ve sledovaném souboru OM s předoperační aplikací GnRH analog byl posouzen výsledný stav neoformace děložního těla po myomektomií s recidivou myomatózy v 4 případech (10,5 %) a v kontrolním souboru OM ve 12 případech (27,3 %) ($p = 0,0025$), (tab. 11).

V průběhu SLL ve sledovaném souboru OM s předoperační aplikací GnRH analog byl posouzen výsledný stav bez přítomnosti adhezí k jizvě po myomektomií ve 3 případech (7,9 %), adheze I. stupně ve 13 případech (34,2 %), adheze II. stupně ve 18 případech (47,4 %), adheze III. stupně ve 4 případech (10,5 %). V kontrolním souboru OM byl posouzen výsledný stav bez přítomnosti adhezí k jizvě po myomektomií ve 2 případech (4,5 %), adheze I. stupně ve 12 případech (27,3 %), adheze II. stupně ve 9 případech (20,5 %), adheze III. stupně ve 3 případech (6,8 %) (tab. 12).

DISKUSE

Farmakologická léčba děložní myomatózy je opřena o skutečnost, že koncentrace estrogenových a progesteronových receptorů v tkáni leyomyomů je vyšší než v okolním myometriu. V léčbě myomů používané farmakologické preparáty působí na syntézu estrogenů a progesteronu nebo ovlivňují jejich receptory [11]. Vzhledem k nežádoucím účinkům hypoestrinního stavu však není farmakoterapie myomatózy vhodná k dlouhodobé aplikaci.

Farmakodynamický účinek GnRH analog spočívá v potlačení mitogenního efektu estrogenů cestou inhibice syntézy DNA v buňkách leyomyocytů, snížením produkce růstových faktorů a zástavou buněčné proliferace. Současně dochází k významnému poklesu vaskularizace myomů. Výsledným efektem je hyalinní degenerace myomů [17].

Objem myomů se po tříměsíční hormonální terapii redukuje asi o 30–60 %. Proto má aplikace GnRH analog v neoadjuvanci před chirurgickým řešením za cíl především redukcii velikosti nálezu a usnadnění vlastní myomektomie. V optimálním případě umožňuje zvolit minimálně invazivní laparoskopický postup. Přesto změna konzistence myomu po předléčbě, především v závislosti na počtu buněk s estrogenovými receptory v leyomyomu, může mít paradoxně nepříznivý vliv na vlastní technické provedení myomektomie. Hyalinně degenerované myomatózní uzly se chirurgicky hůře separují od okolní tkáně děložní svaloviny. Tato skutečnost má negativní vliv na peroperační výsledek výkonu. Ve sledované větvi laparoskopické myomektomie byla průměrná krevní ztráta po předléčbě GnRH analogy signifikantně vyšší (140 ml) proti kontrolní skupině bez GnRH analog (60 ml) a rovněž délka chirurgického výkonu byla signifikantně delší (70 min) proti kontrole (55 min). Oba parametry, byť jsou statisticky významné, pro pacientku neznamenaají zásadní riziko. Peroperační krevní ztráta do 150 ml je pacientkou dobře tolerována a délka celkové anestezie v případě laparoskopické myomektomie do 70 min nepředstavuje klinicky významnou zátěž. Aspektem, který lze jen obtížně specifikovat a kvantifikovat, je tak míra vlastní technické náročnosti chirurgické myomektomie. Drolící se měkké tkáně degenerovaných myomů se exstirpují výrazně obtížněji než konzistentní svalové uzly s dobrou separací od okolí. Tento rozdíl je obzvláště patrný právě při laparoskopickém řešení, které klade vysoké nároky na souhru operátora s asistencí.

Porovnání průměrné krevní ztráty po předléčbě GnRH analogy ve skupině otevřených myometomií stejně jako srovnání délky chirurgického výkonu proti kontrolní skupině nevykázalo statisticky významné rozdíly. Konzistence předléčených myomů evidentně nehraje při laparotomickém řešení tak významnou roli jako u laparoskopie.

Zajímavým zjištěním plynoucím z výsledků vlastní klinické studie je významně častější výskyt recidivy myomů v kontrolní skupině otevřených myomektomií, a to již po 8–12 týdnech po primárním výkonu. Zajímavá data by bylo možné očekávat právě v této skupině žen, pokud by SLL byla provedena v ještě delším časovém odstupu. Vzhledem k tomu, že pacientky zařazené do studie plánovaly budoucí koncepci v co nejkratším termínu po výkonu, byl pro SLL zvolen právě interval 8–12 týdnů. V tomto časovém úseku lze adekvátně vyhodnotit efekt neoformace děložního těla a průchodnost vejcovodů pomocí chromopertubace a efektivně řešit postoperační adhezivní stavy.

Klinické závěry z výše uvedené studie lze formulovat následujícím způsobem. Pokud je u ženy v reprodukč-

ním věku diagnostikovaná myomatóza řešitelná laparoskopickou cestou, nemá pre-treatment GnRH analogy racionální opodstatnění. Dochází pouze k prodloužení celkové doby léčby, tj od diagnostiky po SLL s vyhodnocením efektu operace, a tím i k oddálení možnosti koncepce. Ekonomické náklady na předléčbu a vedlejší účinky terapie GnRH analogy zatěžují zdravotní systém i samotnou pacientku a aplikace GnRH analog nezlepší peroperační ani postoperační výsledky laparoskopické myomektomie.

Aplikace GnRH analog u hraničních nálezů velkých solitárních myomů, kde není jistota provedení minimálně invazivního výkonu, má smysl, pokud lze očekávat, že velikost myomu se po léčbě zmenší natolik, aby umožnila právě laparoskopické řešení. Z literárních dat jde o předpokládané zmenšení myomu minimálně o 30 %.

Excesivní nálezy a mnohočetná myomatóza zůstávají plně indikovány pro laparotomickou otevřenou myomektomii. V této skupině nemá aplikace GnRH analog signifikantní vliv na peroperační výsledky, ale je zde patrný pozitivní vliv na redukci recidiv myomů v postoperačním období.

Stoupající frekvence výskytu děložních leiomyomů mezi ženami plánujícími koncepci činí problematiku myomů a reprodukčních poruch vysoce aktuálním tématem. Přesto, že se dané problematice věnuje mnoho klinických studií, zůstává vztah leiomyomů a reprodukčních výsledků stejně jako význam jednotlivých léčebných postupů kontroverzní [13].

ZÁVĚR

Ve sledovaném souboru LM s předoperační aplikací GnRH analog byla signifikantně vyšší peroperační krevní ztráta ($p = 0,0003$), signifikantně delší čas chirurgického výkonu ($p = 0,0063$) a signifikantně vyšší průměrná délka hospitalizace ($p = 0,0025$) proti kontrolnímu souboru.

Ve sledovaném souboru LM s předoperační aplikací GnRH analog nebyl signifikantní rozdíl ve výskytu peroperační konverze v laparotomii pro rozsah nálezu nebo laparoskopicky neřešitelné krvácení, nebyl signifikantní rozdíl ve výsledném stavu neformace děložního těla a nebyl signifikantní rozdíl ve výskytu postoperačních adhezí při SLL proti kontrolnímu souboru.

Ve sledovaném souboru OM s předoperační aplikací GnRH analog nebyl signifikantní rozdíl v peroperační krevní ztrátě ($p = 0,5324$), nebyl signifikantní rozdíl v délce chirurgického času výkonu ($p = 0,3927$), nebyl signifikantní rozdíl v průměrné délce hospitalizace proti kontrolnímu souboru.

Ve sledovaném souboru OM s předoperační aplikací GnRH analog byl signifikantně nižší výskyt recidiv myomatózy při SLL ($p = 0,0025$) a nebyl signifikantní rozdíl ve výskytu postoperačních adhezí proti kontrolnímu souboru.

Ve sledovaném souboru LM a OM nebyl signifikantní rozdíl ve výskytu peroperačních komplikací, časných

a pozdních postoperačních komplikací proti kontrolním souborům.

Aplikace GnRH analog u klinicky symptomatických děložních myomů žen v reprodukčním věku se zájmem o následnou graviditu ve sledovaném souboru před laparoskopickou i laparotomickou myomektomií nevedla ke zlepšení peroperačních výsledků ve srovnání s kontrolní skupinou bez aplikace GnRH analog.

Aplikace GnRH analog ve sledovaném souboru před laparotomickou myomektomií vedla k signifikantnímu poklesu recidivy myomatózy při SLL ($p = 0,0025$) ve srovnání s kontrolní skupinou bez aplikace GnRH analog.

LITERATURA

1. Bajekal, N., Li, T.C. Fibroids, infertility and pregnancy wastage. *Hum Reprod Update*, 2000, 6, p. 614.
2. Bulletti, C., et al. The role of leiomyomas in infertility. *J Am Assoc Gynecol Lapar*, 1999, 6, p. 44.
3. Citterbart, K., et al. *Gynekologie*. Praha: Galén, 2001.
4. De Leo, V., Morgante, G., La Marca, A., et al. A benefit-risk assessment of medical treatment for uterine leiomyomas. *Drug Staf*, 2002, 25, p. 759–779.
5. Dubuisson, J.B., et al. Reproductive outcome after laparoscopic myomectomy in infertile women. *J Reprod Med*, 2000, 45, p. 23.
6. Eldar-Geva, T., et al. Effect of intramural, subserosal, and submucosal uterine fibroids on the outcome of assisted reproductive technology treatment. *Fertil Steril*, 1998, 70, p. 687.
7. Friedman, A.J., Rein, M.S., Harrison-Atlas, D., et al. A randomized, placebo controlled, double blind study evaluating leuprolide acetate depot treatment before myomectomy. *Steril Fertil*, 1989, 52, p. 728–733.
8. Golan, A. GnRH analogues in the treatment of sterile fibroids. *Hum Reprod*, 1996, 11(3), p. 33–41.
9. Hart, R., et al. A prospective controlled study of the effect of intramural uterine fibroids on the outcome of assisted conception. *Hum Reprod*, 2001, 16, p. 2411.
10. Kučera, E., Živný, J. Sterilita při děložním myomu a její ovlivnění operační léčbou. *Čes Gynek*, 1997, 42, s. 324.
11. Kučera, E., Fait, T., a kol. Hyperestrogenní stavy v gynekologii. Praha: Maxdorf, 2011, s. 121–126.
12. Li, T.C., et al. Myomectomy: a retrospective study to examine reproductive performance before and after surgery. *Hum Reprod*, 1999, 14, p. 1735.
13. Mára, M., Řežábek, K., Živný, J. Děložní myom a poruchy plodnosti. *Mod Gynek Porod*, 2002, 11, s. 614.
14. Mára, M., Fučíková, Z., Mašata, M., a kol. Management děložních myomů u žen ve fertilním věku. *Čes Gynek*, 2003, 68, s. 30–35.
15. Mára, M., Holub, Z., a kol. Děložní myomy – moderní diagnostika a léčba. Praha: Grada, 2009.
16. Poncelet, C., et al. Myoma and infertility: analysis of the literature. *Gynecol Obstet Fertil*, 2001, p. 29–41.
17. Sankaran, S., Manyonda, I.T. Medical management of fibroids. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*, 2008, 22, p. 655–676.
18. Smith, D.C., Uhlir, J.K. Myomectomy as a reproductive procedure. *Am J Obstet Gynecol*, 1990, 162, p. 1476.
19. Stovall, D., et al. Uterine leiomyoma reduce the efficacy of assisted reproduction cycles: results of a matched follow-up study. *Hum Reprod*, 1998, 13, p. 192.
20. Zwinger, A. Spontánní a opakovaný potrat. *Mod Gynek Porod*, 2000, 9, s. 367.

Prim. MUDr. Robert Hudeček, Ph.D.
Gynekologicko-porodnická klinika
LF MU a FN Brno
Obilní trh 11
625 00 Brno
rhudecek@fnbrno.cz

Selektivní modulátory progesteronových receptorů

In vitro prokázané účinky selektivních modulátorů progesteronových receptorů (SMPR) na myomatózní tkáň jsou selektivně antiproliferativní, proapoptické a antifibrinolytické. Přesný mechanismus účinku těchto léků není doposud objasněn, jejich účinek in vivo však již prokazuje několik časných klinických studií. Ve srovnání s GnRH analogy je jejich proapoptický účinek signifikantně vyšší [15]. Klinický potenciál SMPR je zejména v redukci objemu myomů a potlačení jejich symptomů. Účinek by měl být na rozdíl od GnRH analog trvalý nebo přinejmenším déle trávající. Doposud neexistují data zkoumající vliv SMPR na redukci krevní ztráty při laparoskopické myomektomii.

Efekt předoperačního podání SMPR na indukci apoptózy v myocytech in vivo byl předmětem multicentrického klinického hodnocení, které probíhalo v letech 2008–2009 na Gynekologicko-porodnické klinice LF UK Praha a na Gynekologicko-porodnické klinice LF MU Brno, v návaznosti na mezinárodní, randomizované, multicentrické, dvojitě zaslepené klinické hodnocení fáze III s paralelními skupinami, kontrolované placebem ke zjištění účinnosti a bezpečnosti ulipristal-acetátu při předoperační léčbě symptomatických děložních myomů v porovnání s placebem.

Cílem práce bylo definovat parametry indukce apoptózy v závislosti na použité předoperační hormonální terapii. Materiál z hysterektomicky nebo myomektomicky získaných vzorků byl vyšetřen pomocí imunohistochemických metod ke stanovení apoptotického indexu (AI). Sledovaný soubor tvořily premenopauzální ženy, které podstoupily předoperační 12týdenní terapii pomocí orální aplikace SMPR (6 pacientek 5 mg a 5 pacientek 10 mg ulipristal-acetátu pro die) nebo 12týdenní před léčbu agonisty gonadoliberinu (17 pacientek). Deset pacientek bez hormonální předléčby před chirurgickým výkonem tvořilo kontrolní soubor. Apoptóza buněk myocytů byla diagnostikována signifikantně častěji ve sledované skupině s SMPR v porovnání se skupinou s analogy GnRH ($p = 0,01$) a v porovnání s kontrolní skupinou bez hormonální léčby ($p = 0,01$). AI byl 158,9 ve skupině SMPR, 27,5 ve skupině GnRH a 2,0 v kontrolní skupině. V porovnání AI ve skupině SMPR (5 mg a 10 mg) nebyl shledán signifikantní rozdíl. Léčba děložních myomů pomocí ulipristal-acetátu vede k indukci apoptózy v buňkách myocytů a tento efekt souvisí s pozitivním klinickým účinkem SMPR na myomatózu.

Clinical Study

Effect of a Selective Progesterone Receptor Modulator on Induction of Apoptosis in Uterine Fibroids In Vivo

Petr Horak,¹ Michal Mara,¹ Pavel Dundr,² Kristyna Kubinova,¹ David Kuzel,¹ Robert Hudecek,³ and Roman Chmel⁴

¹Department of Obstetrics and Gynaecology, First Faculty of Medicine, Charles University in Prague, Apolinarska 18, 128 00 Prague, Czech Republic

²Institute of Pathology, First Faculty of Medicine, Charles University in Prague, 128 00 Prague, Czech Republic

³Department of Obstetrics and Gynaecology, University Hospital Brno, 625 00 Brno, Czech Republic

⁴Department of Obstetrics and Gynaecology, Second Faculty of Medicine, Charles University in Prague, 150 06 Prague, Czech Republic

Correspondence should be addressed to Kristyna Kubinova, kristynakubinova@gmail.com

Received 7 March 2012; Revised 18 May 2012; Accepted 18 May 2012

Academic Editor: Faustino R. Pérez-López

Copyright © 2012 Petr Horak et al. This is an open access article distributed under the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Aim. To determine if hormonal treatment induces apoptosis in uterine fibroids. **Methods.** Immunohistochemical examination of fibroid tissue, using avidin-biotin complex and cleaved caspase-3 antibody for detecting apoptosis, was performed in premenopausal women who underwent 12-week treatment with oral SPRM (6 patients with 5 mg and 5 patients with 10 mg of ulipristal acetate per day) or gonadoliberin agonist (GnRH_a, 17 patients) and subsequent myomectomy or hysterectomy for symptomatic uterine fibroids. Ten patients with no presurgical hormonal treatment were used as controls. **Results.** Apoptosis was present in a significantly higher proportion of patients treated with ulipristal acetate compared to GnRH_a ($P = 0.01$) and to patients with no hormonal treatment ($P = 0.01$). In contrast to an AI of 158.9 in SPRM patients, the mean AI was 27.5 and 2.0 in GnRH_a and control groups, respectively. No statistical difference in the AI was observed between the two groups of patients treated with ulipristal acetate (5 mg or 10 mg). **Conclusion.** Treatment with ulipristal acetate induces apoptosis in uterine fibroid cells. This effect of SPRM may contribute to their positive clinical effect on uterine fibroids.

1. Introduction

Uterine fibroids are the most common benign gynecological tumors. Their prevalence in premenopausal patients is 30–40%, making them one of the most common reasons for gynecological surgery [1].

The etiology and pathophysiology are still unknown. It is considered that various genetic, anthropometric, racial, reproductive, and vascular factors, as well as the role of growth factors or some hormones, particularly ovarian steroids, could play a role [2–7].

Surgery still dominates fibroid treatment; the most common is myomectomy or hysterectomy depending on the age and reproductive status of the patient. Nowadays, pharmacological intervention is used as a symptomatic therapy in smaller fibroids. There are few drugs that have the potential to have a direct effect on fibroid growth. The most promising in this category are the selective progesterone

receptor modulators (SPRMs) that have become the subject of intense investigation in recent years but have not yet been introduced into standard clinical practice. The mechanism of action of these drugs is still unknown but the effect on myoma-related symptoms and fibroid shrinkage was proven in early clinical studies [8, 9]. Their selective antiproliferative, proapoptotic, and antifibrinolytic effect on fibroids has been demonstrated in human tissue cultures *in vitro* [10]. The aim of our study was to determine the eventual higher apoptosis rate in fibroids extirpated from patients given SPRM pretreatment compared with controls.

2. Materials and Methods

2.1. Patient Recruitment. Patients with uterine fibroids were given ulipristal acetate (PGL4001) during 12 weeks prior to the planned surgery. This drug, provided by PregLem S.A., Switzerland, belongs to the SPRM group. These patients

had participated in a phase III clinical study with ulipristal acetate. This study, in which patients received daily dose of 5 or 10 mg of ulipristal acetate or placebo, evaluated the efficacy of ulipristal acetate on symptomatic uterine fibroids [11]. Patients that received active treatment and required surgery for their fibroids were included in the present study.

For a comparable group, we chose patients with symptomatic fibroids who were treated with gonadoliberein agonist (GnRHa) triptorelin (Ipsen Pharma Biotech, France) 12 weeks prior to planned surgery at a dose of 3 mg intramuscularly 3 times at 28-day intervals. For controls we enrolled patients with the same diagnosis who were receiving no hormonal pretreatment and were referred to have either a hysterectomy or myomectomy. The operation was always scheduled within 2 weeks from the last SPRM dose or 6 weeks within the last dose of GnRHa.

Our study did not have a randomized or double-blind design. Patient recruitment into each group was dependant on a patient informed choice. In order to reduce anemia and the risk of perioperative blood transfusion and if patients met the inclusion criteria (see below), they were given the option of 12 weeks of hormonal pretreatment with ulipristal acetate (as part of the multicenter placebo-controlled study with SPRM) or triptorelin. If the patients preferred early surgery with no hormonal treatment, they were included in the control group. Patients were fully informed of all known advantages, disadvantages, and differences between the two options of treatment including the fact that if patients choose the SPRM, they could be randomized into the placebo subgroup.

All the patients in the study were administered oral iron supplements (Ferrous sulphate 80 mg once daily) starting either with the administration of hormonal treatment (both groups with hormonal pretreatment) or on the day of the enrolment in the study (control group).

2.2. Inclusion and Exclusion Criteria. Patients aged between 18 and 50 years of age with uterine fibroid/s sized ≥ 3 cm (the largest measurable diameter of myoma measured by vaginal ultrasonography prior to ulipristal or triptorelin administration or before surgery in the control group), typical myoma-related symptoms (menorrhagia with PBAC (Pictorial Bleeding Assessment Chart) score higher than 100 for the 1st–8th days of menstruation; eventually pressure pelvic symptoms) [12, 13] and significant anemia (hemoglobin ≤ 100 g/L) were included in the study.

Exclusion criteria were patients with an overall size of uterus exceeding 16th week of pregnancy, history of uterine surgery, hormonal supplement therapy and hormonal contraception administration or other hormonal treatment with estrogen or progesterone within the last month prior to the study, BMI ≤ 18 or ≥ 40 , hemoglobinopathy, atypical hyperplasia or endometrial carcinoma, cervical cancer, ovarian or breast cancer, endometrial polyp larger than 2 cm, and ovarian cyst larger than 4 cm. Patients who refused to sign the informed consent and patients who, regardless of the reasons, wanted to terminate their participation in the study were also excluded. We also excluded women whose histological examination of the extirpated tumor of the

uterus or the entire uterus brought a different result than vital (therefore evaluable) leiomyoma and patients (from the study of PregLem S.A.) that used placebo instead of ulipristal acetate.

The study protocol was approved by the Ethics Committee of the first Medical Faculty of Charles University in Prague. All patients enrolled signed an informed consent.

2.3. Laboratory Examination of Fibroids, and Statistical Analysis. All study women who underwent myomectomy (open or laparoscopic) or hysterectomy (laparoscopically assisted vaginal or open) were subject to standard histological examination of the removed myoma or the entire uterus and immunohistochemical tests to detect apoptosis. These examinations were performed and evaluated by the same pathologist who was not informed of whether the patient received any hormonal therapy prior to the surgery.

Immunohistochemistry was performed using the avidin-biotin complex method with antibody against cleaved caspase-3 (dilution 1:250, Cell Signaling Technology, Beverly, MA). Antigen retrieval was performed with a sodium citrate buffer (pH 6.0) in a water bath for 40 minutes. The apoptotic index (AI), the number of apoptotic cells of all cells counted, was determined manually using an ocular counting grid at three randomly chosen fields. One thousand cells for each sample were counted [14, 15].

We used a nonparametric Kruskal-Wallis test and Mann-Whitney test (with the Bonferroni adjustment of *P* values for multiple testing) for statistical comparison of the results of the AI between the subgroups (SPRM versus GnRHa, SPRM versus controls, GnRHa versus controls, and SPRM 10 mg versus SPRM 5 mg). For comparison between patients with an AI higher than 10, a chi-square test and Fisher test were used.

3. Results

A total of 41 symptomatic patients who met the inclusion criteria were recruited to our study between November 2008 and December 2009. Out of these 41 patients, 17 patients preferred GnRHa and 10 patients requested an early operation with no pretreatment. In the placebo-controlled study with ulipristal acetate 14 patients were included, of which 3 patients were subsequently excluded following the unblinding of data revealing placebo administration. Uterine fibroids from the remaining 38 patients were examined histologically after surgery and immunohistochemical tests were performed to detect apoptosis. The baseline characteristics of each group are summarized in Table 1. Patients in each group did not significantly differ in age, BMI, size of dominant fibroid or parity. All the histological findings revealed conventional leiomyomata.

Based on the results of immunohistochemistry, an AI was calculated for each patient. Zero or minimal percentage (less than 1% of 1000 cells examined) of cells with apoptosis were detected in 18.2% of patients receiving preoperative SPRM compared to 76.5% of patients receiving GnRHa and 100% in the control group. The differences between SPRM versus GnRHa ($P = 0.01$, χ^2 test) and SPRM versus controls

TABLE 1: Baseline parameters of the groups of the study.

Type of preoperative treatment	SPRM (11 patients)	GnRHa (17 patients)	No treatment (10 patients)
Mean age (years)	36.4	33.3	37.9
Mean BMI (kg/m ²)	24.4	23.0	22.8
Mean diameter of dominant fibroid (mm)	58.3	68.1	60.8
Mean number of myomas (larger than 10 mm)	2.5	2.3	2.6
Mean number of deliveries of patients	0.9	0.6	0.8
Mean interval between last tablet intake/last depot injection and surgery (days)	7.5	35.1	—

BMI: body mass index, GnRHa: gonadoliberin agonist, and SPRM: selective progesterone receptor modulator.

TABLE 2: Apoptotic index (AI) in the subgroups of the study.

Type of preoperative treatment	Number of patients	Mean AI (\pm SD)	Median of AI	Range of AI	Number of patients with AI > 10
SPRM	11	158.9 (\pm 193.2)	96	0–672	9 (81.8%)
GnRHa	17	27.5 (\pm 62.3)	2	0–196	4 (23.5%)
No treatment	10	2.0 (\pm 2.1)	1	0–6	0

AI: apoptotic index, GnRHa: gonadoliberin agonist, and SPRM: selective progesterone receptor modulator.

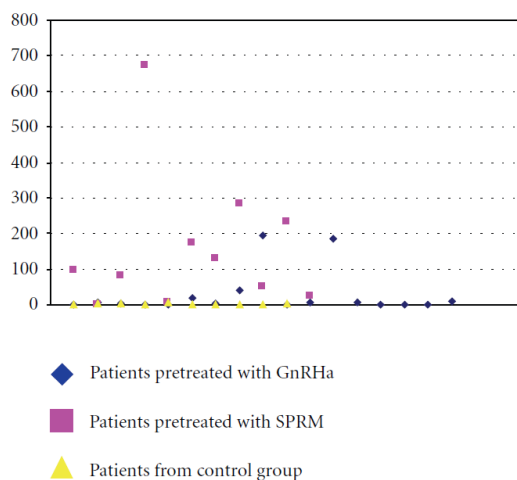


FIGURE 1: Apoptotic index in separate groups.

($P = 0.001$, Fisher's test), respectively, were statistically significant (see Table 2). The highest average AI value was described in the SPRM group (157.9), which was significantly higher than that in GnRHa group (27.5; $P = 0.01$) and the control group (2.0; $P = 0.01$). The results of each single patient including detailed comparison of the subgroups are shown in Figure 1 and Table 2.

We also tried to determine if there was any difference in the incidence of apoptosis between patients with different doses of ulipristal as well as if a dose-dependent apoptosis rate in the SPRM group could be found (Table 3). In our limited group of 11 patients, we did not observe a higher

proportion of cells with apoptosis in women receiving a higher dose of SPRM ($P = 0.144$, Mann-Whitney test).

4. Discussion

Uterus-sparing therapy remains an up-to-date topic even in cases of women no longer desiring pregnancy. Myomectomy remains the most frequently used surgical technique. There is a constant search for alternatives to myomectomy because this operation is both quite invasive for the patient and risky and devastating for the uterus before planned pregnancy. Apart from occlusive methods aimed at fibroid devascularization (uterine artery embolization (UAE), and laparoscopic uterine artery occlusion (LUAO)) new modalities such as thermoablation of fibroids by focused ultrasound or radiofrequency ablation are beginning to be used [16–19].

None of the above-stated methods, however, affect pathophysiology of fibroids or have systematic effects. Some hormonal drugs have the potential to treat the cause of the disease. Many drug groups, such as progesterone (including intrauterine application), Danazol, gonadoliberin agonists and antagonists, selective estrogen receptors modulators, aromatase inhibitors, or antiprogesterone, have been used in this indication [20–25]. None of the drugs have made a significant breakthrough in fibroid treatment.

GnRHa is the most used and studied to date. These drugs cause hypoestrinism, which, after several months of use, leads to a slight fibroid volume reduction [15, 26]. The use of GnRHa is unfortunately accompanied with a number of drawbacks, which is why their use in the treatment of fibroids has been limited to three-month pretreatment in selected patients before myomectomy or hysterectomy [27–29].

Fibroid cells demonstrate higher concentration of estrogen receptors compared to surrounding myometrium, equally higher expression of mRNA and of progesterone receptors

TABLE 3: Dependence of the number of apoptotic cells on the dose of SPRM.

Daily dose of SPRM	Number of patients	Mean AI (\pm SD)	Median of AI	Range of AI
Ulipristal 5 mg	6	231.8 (\pm 237.8)	181	26–672
Ulipristal 10 mg	5	71.4 (\pm 71.2)	81	0–173

AI: apoptotic index, SD: standard deviation, and SPRM: selective progesterone receptor modulator.

(PRs) A and B. Increase of mitotic activity and fibroid size in the secretory phase of the cycle has also been described [30–32]. Therefore, the logical effort is to use drugs not only causing hypoestrinism but also affecting PR. In addition to antiprogestosterone, Mifepristone, an SPRM, may become one of the drugs used in fibroid treatment [33, 34], due to their targeted mode of action. Unlike Mifepristone, which apart from reduction of menorrhagia and reduction of uterine and fibroid volume leads to hyperplasia of the endometrium, SPRM with its modified both agonistic and antagonistic PR effect does not have this undesirable effect on the endometrium [35, 36]. SPRMs act directly on the endometrium by maintaining its glandular and stromal proliferation at low levels and thus causing amenorrhea in most of the patients without causing hypoestrinism. Similar morphological changes, as well as a reduction in mitotic activity, were detected in cells of leiomyomas examined after hysterectomy of 33 patients receiving 12-weeks treatment with asoprisnil prior to the surgery [37].

In cell cultures SPRMs lead to reduction of cell viability, suppression of expression of growth factors and induced apoptosis through mitochondrial activation and tumor necrosis factor-related apoptosis inducing ligand (TRAIL) [38]. Bcl-2 is considered to be the key protein in the inhibition of apoptosis. It has been demonstrated that a Bcl-2 promoter interacts with PR by progesterone, suggesting in what other ways SPRMs may induce apoptosis [39]. But the proapoptotic effect of an SPRM has not yet been verified in vivo. Asoprisnil (J867) is a typical example of the SPRM, which selectively induces apoptosis in leiomyomas cells in tissue cultures without causing proliferation or apoptosis in normal cells of the myometrium [10, 40]. In our study, we used ulipristal acetate (PGL 4001 or CDB-2914, 17 α -Acetoxy-11 β -[4-N, N-dimethylaminophenyl]-19-norpregna-4,9-diene-3,20-dione), a steroid substance reversibly blocking progesterone receptors. Despite the limited number of patients in the study we observed a significantly higher apoptosis rate in fibroid cells exposed to ulipristal acetate preoperatively compared to fibroids of patients treated with GnRH α as well as in fibroids with no preoperative hormonal treatment. Apoptosis may thus be an important, although apparently not the only, mechanism of an SPRM suppression effect on uterine fibroids. The other factor may be, for instance, uterine artery flow reduction [9]. However, our results should not be generalized to all preparations that modify PR because the group of SPRMs seems to be heterogeneous. The fact that the apoptosis rate was not significantly higher using twice the daily dose of ulipristal acetate (10 mg) suggests that a daily dose of 5 mg ulipristal acetate is sufficient for apoptosis induction and a higher dose apparently does not increase its

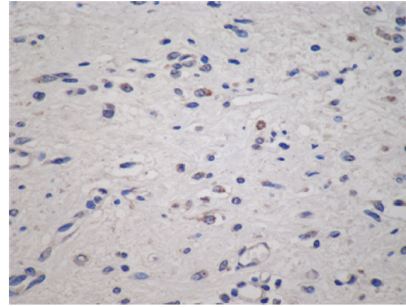


FIGURE 2: Immunohistochemical analysis using cleaved caspase-3 antibody. Note the granular cytoplasmic positivity in apoptotic cells.

proapoptotic effect. Unfortunately, at the moment we cannot say if longer use of ulipristal acetate like 6 or 12 months could lead to even larger proapoptotic effect in fibroids or not.

Apoptosis is one of the main types of programmed cell death. It incorporates a series of biochemical processes leading to typical changes in cell appearance. This process is then followed by removal of the cells (without inflammation), making apoptosis in the foundations different from necrosis. The borderline between apoptosis and necrosis is however not clear and sometimes both processes combine making the designation of the cell death ambiguous [41]. The following laboratory methods are used in apoptosis detection: phosphatidylserine-annexin V, DNA fragmentation (ELISA), Laddering, TUNEL (terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP nick end labeling), Fas, TNFR1, and P53 [42]. In our study, we used the method of indirect immunohistochemistry with cleaved caspase-3 antibody (Figure 2). We used an avidin-biotin complex (ABC method) technique with visualization using horseradish peroxidase and diaminobenzidine.

Selective proapoptotic and antiproliferative effects of SPRM preparations could be the ideal mechanism for suppression of uterine fibroids with a permanent or at least longer effect compared to GnRH α without adverse events of hypoestrinism, concurrently with much safer results than the necrosis caused by the UAE. Their big clinical potential (cessation of excessive uterine bleeding, correction of severe anemia, and volume reduction of the fibroids and the uterus) and safety in women with fibroids have been recently proved by two large randomized trials [11, 43]. On the other hand the necrosis after UAE, which can also occur inside the uterine cavity, can greatly reduce the chances for patients to have a successful pregnancy and that is why UAE is considered to be relatively contraindicated in patients planning pregnancy [44–46].

A study by Korean authors comparing occlusive methods in uterine fibroid treatment was targeted at apoptosis detection. Fibroids extirpated 6 months after occlusive treatment were examined with the following results: while the typical finding in fibroids with acute ischemia caused by UAE was necrosis, in cases after LUAO it was apoptosis [47]. In 8 patients, we also examined fibroids removed following LUAO, which was performed within the previous year and had little effect on both fibroid volume reduction and symptoms. These fibroids were examined with the same technique as in all patients in our study. We did not observe a significant apoptosis rate in these 8 patients, the average AI was 19.3 and thus lower than in women treated with GnRHa. However, in all 8 patients, the occlusive treatment failed and was performed in a longer interval prior to myomectomy (and examination for apoptosis), which could have substantially affected the results.

We can summarize that the three-month pre-operative administration of ulipristal acetate induced natural cell death in uterine fibroids in premenopausal women. On the other hand, in women who had three months of preoperative administration of GnRH analogues or no hormonal therapy, a significantly lower proportion of apoptotic cells in leiomyomas were observed.

Acknowledgment

This study was supported by a grant IGA NS 9798-4 from the Ministry of Health of the Czech Republic.

References

- [1] E. E. Wallach and N. F. Vlahos, "Uterine myomas: an overview of development, clinical features, and management," *Obstetrics and Gynecology*, vol. 104, no. 2, pp. 393–406, 2004.
- [2] A. Arici and I. Sozen, "Expression, menstrual cycle-dependent activation, and bimodal mitogenic effect of transforming growth factor- β 1 in human myometrium and leiomyoma," *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, vol. 188, no. 1, pp. 76–83, 2003.
- [3] L. M. Marshall, D. Spiegelman, R. L. Barbieri et al., "Variation in the incidence of uterine leiomyoma among premenopausal women by age and race," *Obstetrics and Gynecology*, vol. 90, no. 6, pp. 967–973, 1997.
- [4] T. Maruo, H. Matsuo, Y. Shimomura et al., "Effects of progesterone on growth factor expression in human uterine leiomyoma," *Steroids*, vol. 68, no. 10–13, pp. 817–824, 2003.
- [5] I. Sozen and A. Arici, "Cellular biology of myomas: interaction of sex steroids with cytokines and growth factors," *Obstetrics and Gynecology Clinics of North America*, vol. 33, no. 1, pp. 41–58, 2006.
- [6] J. R. Toro, M. L. Nickerson, M. H. Wei et al., "Mutations in the fumarate hydratase gene cause hereditary leiomyomatosis and renal cell cancer in families in North America," *American Journal of Human Genetics*, vol. 73, no. 1, pp. 95–106, 2003.
- [7] C. L. Walker, "Role of hormonal and reproductive factors in the etiology and treatment of uterine leiomyoma," *Recent Progress in Hormone Research*, vol. 57, pp. 277–294, 2002.
- [8] L. K. Nieman, W. Blocker, T. Nansel et al., "Efficacy and tolerability of CDB-2914 treatment for symptomatic uterine fibroids: a randomized, double-blind, placebo-controlled, phase IIb study," *Fertility and Sterility*, vol. 95, no. 2, pp. 767.e2–772.e2, 2011.
- [9] J. Wilkens, K. Chwalisz, C. Han et al., "Effects of the selective progesterone receptor modulator asoprisnil on uterine artery blood flow, ovarian activity, and clinical symptoms in patients with uterine leiomyomata scheduled for hysterectomy," *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, vol. 93, no. 12, pp. 4664–4671, 2008.
- [10] W. Chen, N. Ohara, J. Wang et al., "A novel selective progesterone receptor modulator asoprisnil (J867) inhibits proliferation and induces apoptosis in cultured human uterine leiomyoma cells in the absence of comparable effects on myometrial cells," *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, vol. 91, no. 4, pp. 1296–1304, 2006.
- [11] J. Donnez, T. F. Tatarchuk, and P. Bouchard, "Ulipristal acetate versus placebo for fibroid treatment prior to surgery," *The New England Journal of Medicine*, vol. 366, no. 5, pp. 409–420, 2012.
- [12] J. M. Higham, P. M. S. O'Brien, and R. W. Shaw, "Assessment of menstrual blood loss using a pictorial chart," *British Journal of Obstetrics and Gynaecology*, vol. 97, no. 8, pp. 734–739, 1990.
- [13] C. A. H. Janssen, P. C. Scholten, and A. P. M. Heintz, "A simple visual assessment technique to discriminate between menorrhagia and normal menstrual blood loss," *Obstetrics and Gynecology*, vol. 85, no. 6, pp. 977–982, 1995.
- [14] K. D. Burroughs, R. Fuchs-Young, B. Davis, and C. L. Walker, "Altered hormonal responsiveness of proliferation and apoptosis during myometrial maturation and the development of uterine leiomyomas in the rat," *Biology of Reproduction*, vol. 63, no. 5, pp. 1322–1330, 2000.
- [15] K. N. Khan, M. Kitajima, K. Hiraki et al., "Changes in tissue inflammation, angiogenesis and apoptosis in endometriosis, adenomyosis and uterine myoma after GnRH agonist therapy," *Human Reproduction*, vol. 25, no. 3, pp. 642–653, 2010.
- [16] W. M. Liu, "Laparoscopic bipolar coagulation of uterine vessels to treat symptomatic leiomyomas," *Journal of the American Association of Gynecologic Laparoscopists*, vol. 7, no. 1, pp. 125–129, 2000.
- [17] J. H. Ravina, D. Herbreteau, N. Ciraru-Vigneron et al., "Arterial embolisation to treat uterine myomata," *The Lancet*, vol. 346, no. 8976, pp. 671–672, 1995.
- [18] C. Recaldini, G. Carrafiello, D. Laganà et al., "Percutaneous sonographically guided radiofrequency ablation of medium-sized fibroids: feasibility study," *American Journal of Roentgenology*, vol. 189, no. 6, pp. 1303–1306, 2007.
- [19] E. A. Stewart, W. M. W. Gedroyc, C. M. C. Tempany et al., "Focused ultrasound treatment of uterine fibroid tumors: safety and feasibility of a noninvasive thermoablative technique," *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, vol. 189, no. 1, pp. 48–54, 2003.
- [20] S. H. Eisinger, S. Meldrum, K. Fiscella, H. D. Le Roux, and D. S. Guzick, "Low-dose mifepristone for uterine leiomyomata," *Obstetrics and Gynecology*, vol. 101, no. 2, pp. 243–250, 2003.
- [21] N. Chegini, C. Ma, X. M. Tang, and R. S. Williams, "Effects of GnRH analogues, "add-back" steroid therapy, antiestrogen and antiprogesterins on leiomyoma and myometrial smooth muscle cell growth and transforming growth factor- β expression," *Molecular Human Reproduction*, vol. 8, no. 12, pp. 1071–1078, 2002.
- [22] T. Maruo, N. Ohara, H. Matsuo et al., "Effects of levonorgestrel-releasing IUS and progesterone receptor modulator PRM CDB-2914 on uterine leiomyomas," *Contraception*, vol. 75, no. 6, pp. S99–S103, 2007.
- [23] D. L. Olive, S. R. Lindheim, and E. A. Pritts, "Non-surgical management of leiomyoma: impact on fertility," *Current*

- Opinion in Obstetrics and Gynecology*, vol. 16, no. 3, pp. 239–243, 2004.
- [24] B. W. Rackow and A. Arici, “Options for medical treatment of myomas,” *Obstetrics and Gynecology Clinics of North America*, vol. 33, no. 1, pp. 97–113, 2006.
- [25] M. Shozu, K. Murakami, T. Segawa, T. Kasai, and M. Inoue, “Successful treatment of a symptomatic uterine leiomyoma in a perimenopausal woman with a nonsteroidal aromatase inhibitor,” *Fertility and Sterility*, vol. 79, no. 3, pp. 628–631, 2003.
- [26] V. De Leo, G. Morgante, A. La Marca et al., “A benefit-risk assessment of medical treatment for uterine leiomyomas,” *Drug Safety*, vol. 25, no. 11, pp. 759–779, 2002.
- [27] A. Golan, I. Bukovsky, M. Pansky, D. Schneider, Z. Weinraub, and E. Caspi, “Pre-operative gonadotrophin-releasing hormone agonist treatment in surgery for uterine leiomyomata,” *Human Reproduction*, vol. 8, no. 3, pp. 450–452, 1993.
- [28] A. Lethaby, B. Vollenhoven, and M. Sowter, “Efficacy of pre-operative gonadotrophin hormone releasing analogues for women with uterine fibroids undergoing hysterectomy or myomectomy: a systematic review,” *An International Journal of Obstetrics and Gynaecology*, vol. 109, no. 10, pp. 1097–1108, 2002.
- [29] I. Manyonda, E. Sinthamoney, and A. M. Belli, “Controversies and challenges in the modern management of uterine fibroids,” *An International Journal of Obstetrics and Gynaecology*, vol. 111, no. 2, pp. 95–102, 2004.
- [30] J. Fujimoto, S. Ichigo, M. Hori, M. Nishigaki, and T. Tamaya, “Expression of progesterone receptor form A and B mRNAs in gynecologic malignant tumors,” *Tumor Biology*, vol. 16, no. 4, pp. 254–260, 1995.
- [31] S. Chrapusta, W. Sieinski, B. Konopka, J. Szamborski, and Z. Paszko, “Estrogen and progesterone receptor levels in uterine leiomyomata: relation to the tumour histology and the phase of menstrual cycle,” *European Journal of Gynaecological Oncology*, vol. 11, no. 5, pp. 381–387, 1990.
- [32] K. Kawaguchi, S. Fujii, I. Konishi, Y. Nanbu, H. Nonogaki, and T. Mori, “Mitotic activity in uterine leiomyomas during the menstrual cycle,” *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, vol. 160, no. 3, pp. 637–641, 1989.
- [33] D. DeManno, W. Elger, R. Garg et al., “Asoprisnil (J867): a selective progesterone receptor modulator for gynecological therapy,” *Steroids*, vol. 68, no. 10–13, pp. 1019–1032, 2003.
- [34] A. A. Murphy, A. J. Morales, L. M. Kettel, and S. S. C. Yen, “Regression of uterine leiomyomata to the antiprogestosterone RU486: dose- response effect,” *Fertility and Sterility*, vol. 64, no. 1, pp. 187–190, 1995.
- [35] M. Bagaria, A. Suneja, N. B. Vaid, K. Guleria, and K. Mishra, “Low-dose mifepristone in treatment of uterine leiomyoma: a randomised double-blind placebo-controlled clinical trial,” *Australian and New Zealand Journal of Obstetrics and Gynaecology*, vol. 49, no. 1, pp. 77–83, 2009.
- [36] J. Wilkens, A. R. W. Williams, K. Chwalisz, C. Han, I. T. Cameron, and H. O. D. Critchley, “Effect of asoprisnil on uterine proliferation markers and endometrial expression of the tumour suppressor gene, PTEN,” *Human Reproduction*, vol. 24, no. 5, pp. 1036–1044, 2009.
- [37] A. R. W. Williams, H. O. D. Critchley, J. Osei et al., “The effects of the selective progesterone receptor modulator asoprisnil on the morphology of uterine tissues after 3 months treatment in patients with symptomatic uterine leiomyomata,” *Human Reproduction*, vol. 22, no. 6, pp. 1696–1704, 2007.
- [38] T. Maruo, N. Ohara, S. Yoshida et al., “Translational research with progesterone receptor modulator motivated by the use of levonorgestrel-releasing intrauterine system,” *Contraception*, vol. 82, no. 5, pp. 435–441, 2010.
- [39] P. Yin, Z. Lin, Y. H. Cheng et al., “Progesterone receptor regulates Bcl-2 gene expression through direct binding to its promoter region in uterine leiomyoma cells,” *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, vol. 92, no. 11, pp. 4459–4466, 2007.
- [40] S. Yoshida, N. Ohara, Q. Xu et al., “Cell-type specific actions of progesterone receptor modulators in the regulation of uterine leiomyoma growth,” *Seminars in Reproductive Medicine*, vol. 28, no. 3, pp. 260–273, 2010.
- [41] K. M. Martel, A. C. Ko, G. M. Christman, and J. M. Stribley, “Apoptosis in human uterine leiomyomas,” *Seminars in Reproductive Medicine*, vol. 22, no. 2, pp. 91–103, 2004.
- [42] W. R. Duan, D. S. Gamer, S. D. Williams, C. L. Funckes-Shippy, I. S. Spath, and E. A. G. Blomme, “Comparison of immunohistochemistry for activated caspase-3 and cleaved cytokeratin 18 with the TUNEL method for quantification of apoptosis in histological sections of PC-3 subcutaneous xenografts,” *Journal of Pathology*, vol. 199, no. 2, pp. 221–228, 2003.
- [43] J. Donnez, J. Tomaszewski, and F. Vázquez, “PEARL II Study Group. Ulipristal acetate versus leuprolide acetate for uterine fibroids,” *The New England Journal of Medicine*, vol. 366, pp. 421–432, 2012.
- [44] Committee on Gynecologic Practice, American College of Obstetricians, and Gynecologists: ACOG Committee Opinion, “Uterine artery embolization,” *Obstetrics & Gynecology*, vol. 103, pp. 403–404, 2004.
- [45] D. Kuzel, M. Mara, P. Horak et al., “Comparative outcomes of hysteroscopic examinations performed after uterine artery embolization or laparoscopic uterine artery occlusion to treat leiomyomas,” *Fertility and Sterility*, vol. 95, no. 6, pp. 2143–2145, 2011.
- [46] H. Homer and E. Saridogan, “Uterine artery embolization for fibroids is associated with an increased risk of miscarriage,” *Fertility and Sterility*, vol. 94, no. 1, pp. 324–330, 2010.
- [47] K. H. Park, J. Y. Kim, J. S. Shin et al., “Treatment outcomes of uterine artery embolization and laparoscopic uterine artery ligation for uterine myoma,” *Yonsei Medical Journal*, vol. 44, no. 4, pp. 694–702, 2003.

Uterotonika

Předoperační vaginální užití *misoprostolu* snižuje krevní ztrátu při laparoskopické myomektomii [16]. Existuje ovšem pouze několik menších studií zabývajících se použitím *misoprostolu* v této indikaci. Na souboru 67 pacientek bylo prokázáno signifikantní snížení krevní ztráty při laparoskopické myomektomii o 91 ml (217 ml \pm 74 vs. 126 ml \pm 41). *Misoprostol* byl podáván vaginálně 1 hodinu před operací v dávce 400 mg. Efekt *dinoprostu* na snížení krevní ztráty byl zatím prokázán pouze na souboru abdominálních myomektomií [17]. Byl rovněž podáván vaginálně 1 hodinu před operací v dávce 20 mg.

Peroperační farmakologické možnosti

Vazokonstringencia

Vasopresin patří mezi nejúčinnější používané farmakologické prostředky ke snížení krevní ztráty při laparoskopické myomektomii. Jeho lokální účinek spočívá v kontrakci hladké svaloviny stěny kapilár, arteriol i venul. Medián peroperační redukce krevní ztráty je 299 ml, což je účinek srovnatelný s pericervikálním turniketem uterinních arterií [18]. *Vasopresin* je podáván ve formě intramyometrální injekce. Jeho použití sebou ovšem nese rizika. Existují kazuistiky závažných kardiovaskulárních peroperačních komplikací v souvislosti s použitím *vasopresinu*. Byly zaznamenány těžké bradykardie, hypotenze [19], atrioventrikulární blok, srdeční zástava [20] a plicní edém [21]. Jeho bezpečné použití závisí zejména na zkušenostech operátora. Samozřejmě nesmí dojít k intravaskulárnímu podání, ovšem komplikace mohou nastat i v případě správně aplikované intramyometrální injekce. Není pevně stanovena jeho bezpečná maximální dávka. Použití *vasopresinu* ke snížení krevní ztráty při myomektomii není schváleno americkou *Food and Drug Administration*.

Epinefrin. *Epinefrin* ředěný v poměru 1 : 200 000 v kombinaci s lokálním anestetikem (*Supracain*®) podáváný peroperačně intramurálně snižuje nejen krevní ztrátu, ale také délku operace a pooperační bolesti (Obr. 9-7). Samotná enukleace myomu je při jeho použití snadnější. Vzhledem k nízké koncentraci a lokální aplikaci nemá celkové nežádoucí účinky a jeho použití je z tohoto hlediska bezpečnější než použití *vasopresinu*. Během operace nebyly pooperačně zaznamenány rozdíly ve změnách tlaku krve a tepové frekvence mezi skupinou pacientek s *epinefrinem* a kontrolní skupinou [22].

Problematika perioperačního využití *epinefrinu* při laparoskopické myomektomii byla předmětem prospektivní, placebem kontrolované, randomizované klinické studie, která byla realizována na Gynekologicko-porodnické klinice MU a FN Brno v letech 2008–2014.

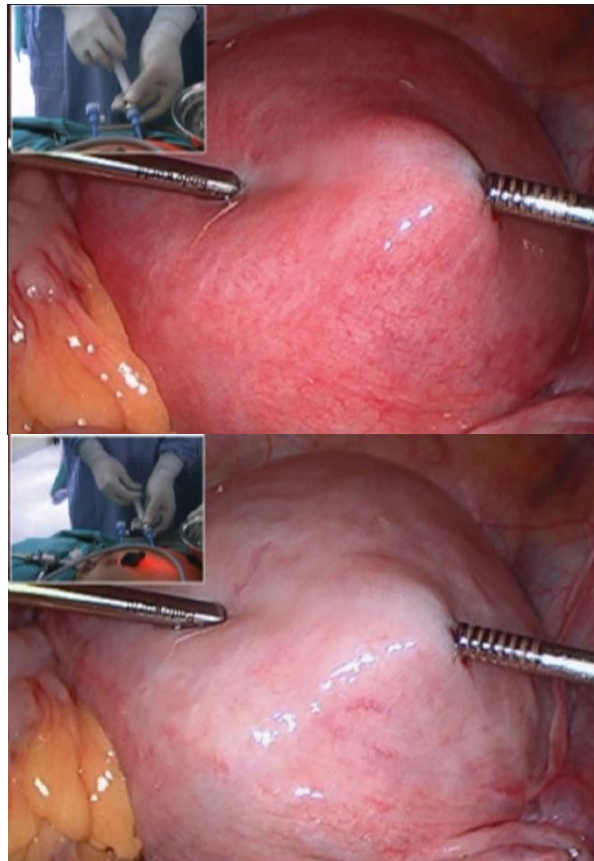
Cílem studie bylo prokázat bezpečnost a účinnost intramyometrální aplikace *epinefrinu* v průběhu laparoskopické myomektomie u žen v reprodukčním věku s klinicky symptomatickým, solitárním děložním myomem, lokalizovaným ve střední čáře děložního těla v komparaci s kontrolní skupinou, které bylo podáno placebo.

Sledovaná skupina pacientek (n = 96, 53,3 %) podstoupila během laparoskopické myomektomie aplikaci 12 μ g *epinefrinu* hydrochloridu ředěného ve 20 ml NaCl roztoku, zatímco kontrolní skupina pacientek (n = 84, 46,7 %) podstoupila během laparoskopické myomektomie aplikaci pouze 20 ml NaCl roztoku. Vyhodnocena byla perioperační krevní ztráta, délka chirurgického výkonu, délka nutné hospitalizace a incidence perioperačních a postoperačních komplikací v obou skupinách.

Signifikantně nižší krevní ztráta (mean \pm SD: 57 \pm 23 ml) byla pozorována ve sledované skupině s *epinefrinem* proti kontrolní skupině s placebem (mean \pm SD: 143 \pm

106 ml), ($p < 0,001$). Signifikantně kratší délka chirurgického výkonu (mean \pm SD: 53 ± 16 min) byla pozorována ve sledované skupině s epinefrinem proti kontrolní skupině s placebem (mean \pm SD: 72 ± 26 min), ($p = 0,006$). Signifikantně kratší délka hospitalizace (mean \pm SD: $3,0 \pm 1,2$ dny) byla pozorována ve sledované skupině s epinefrinem proti kontrolní skupině s placebem (mean \pm SD: $4,3 \pm 1,4$ dny), ($p = 0,003$). Závažné perioperační komplikace nebyly registrovány ani ve sledované skupině s epinefrinem ani v kontrolní skupině s placebem. V incidenci postoperačních komplikací nebyl shledán statisticky významný rozdíl mezi sledovanou a kontrolní skupinou (2,1 % vs. 7,1 %), ($p = 0,143$).

Užití intramyometriální aplikace epinefrinu ve sledované skupině v průběhu laparoskopické myomektomie u žen v reprodukčním věku prokázalo perioperační účinnost ve smyslu redukce krevní ztráty a zkrácení délky chirurgického výkonu i délky potřebné postoperační hospitalizace v komparaci s kontrolní skupinou s aplikací placeba. Užití epinefrinu při myomektomii je účinné a bezpečné.



Obr. 9-8 Aplikace epinefrinu a vazokonstrikční efekt při laparoskopické myomektomii

Efficacy and Safety of Perioperative Use of Epinephrine for Laparoscopic Myomectomy in Infertile Women with Symptomatic Solitary Intramural Uterine Fibroids – Randomized Clinical Trial.

Journal of Reproductive Medicine (2015) article in press

Robert Hudeček, M. D., PhD., Martin Huser, M.D., PhD., Soňa Pánková, M.D., Lenka Mekiňová, M.D., Jana Kadlecová M.D. and Pavel Ventruba, M.D., prof., MBA

Institution: Department of Obstetrics and Gynecology, Brno University Hospital and Masaryk University Medical School, Brno, Czech Republic

Financial disclosure: The authors have no connection to any companies or products mentioned in this article. Supported by Ministry of Health, Czech Republic - conceptual development of research organization (FNBr, 65269705).

ABSTRACT:

To determine the efficacy and safety of intramyometrial application of epinephrine during a laparoscopic myomectomy in women of reproductive age desiring pregnancy with clinically symptomatic uterine fibroids, in comparison with a placebo-based patient control group. Lower blood loss (mean±SD: 57±23 ml) was observed in the group with local application of epinephrine, compared to the control group (mean±SD: 143±106 ml), ($p<0.001$), a shortened duration of surgery (mean±SD: 53 ± 16 min), vs. control group (mean±SD: 72±26 min), ($p=0.006$), and a shortened hospital stay (mean±SD: 3.0±1.2 days) vs. the control group (mean±SD: 4.3±1.4 days), ($p=0.003$). No serious perioperative complications were observed in either group, and no statistically significant difference in the incidence of postoperative complications were recorded with our study group when compared to the control group (2.1% vs. 7.1%), ($p=0.143$).

CONCLUSION: Epinephrine use during a laparoscopic myomectomy is both effective and safe.

KEYWORDS: Epinephrine; Leiomyoma; Laparoscopy; Uterine myomectomy; Hemorrhage

INTRODUCTION:

Uterine fibroids are often found in women of reproductive age and they may affect reproductive outcome. Presence of intramural fibroids is one of the significant variables affecting the chance of an ongoing pregnancy Hart¹. Miscarriage rates are significantly reduced following myomectomy, but proper assessment of the benefits and risks of surgery for individual patients should be carefully considered before surgery is undertaken Bajekal². A major problem with myomectomy is excessive bleeding from an increased uterine blood supply, and this can be serious and even life-threatening and prolong postoperative stay. Knowledge of the effectiveness of the interventions used to reduce blood loss during myomectomy is essential to enable evidence-based clinical decisions Kongnyuya³. Surgical removal of myomas is a very common operation. Most studies have revealed that laparoscopic myomectomy is at least as safe as an open procedure with regard to complications risks and may retain relevant advantages in terms of shorter hospital stay and reduced recovery time. On the other hand, laparoscopic myomectomy is currently a challenging operation that requires a well-trained surgical

team with adequate instrumentation and can only be offered to certain selected patients Mattei⁴. The aqua dissection technique for myomectomy is effective in markedly reducing blood loss during surgery, the time taken for myomectomy, recovery time, and for ensuring better wound postoperative healing Modi⁵. The injection of bupivacaine plus epinephrine during laparoscopic myomectomy has been shown to be effective in reducing blood loss, total operative and enucleating time, degree of surgical difficulty, and postoperative pain Zullo⁶. Because of adverse events Hobo⁷, other vasoconstrictants such as vasopressin have not been approved for myomectomy by the American Food and Drug Administration. The aim of our study was to determine perioperative and postoperative efficacy and safety of intramyometrial application of epinephrine around fibroids during laparoscopic myomectomy (LM) for women of reproductive age with clinically symptomatic uterine fibroids, in comparison with a placebo-based control group.

MATERIAL AND METHODS:

The study cohort consisted of 255 nuligravid women of reproductive age with solitary intramural uterine fibroids. No hormonal pretreatment before surgery was used. The women underwent laparoscopic myomectomy between 2008-2014 at the Department of Obstetrics and Gynecology, Brno University Hospital, Czech Republic.

A total of 190 patients meet the study criteria; nuligravid women, reproductive age, solitary intramural uterine fibroids of only 3-6cm diameter, no hormonal pretreatment before surgery, laparoscopic myomectomy performed by just one surgeon, (Figure 1). An open randomization procedure was adopted, using the last numeral of the family identification number (determine automatically independent on site staff) to divide the women into those having laparoscopic myomectomy and epinephrine (LM+E, n=100) and laparoscopic myomectomy and placebo (LM+P, n=90) groups. There were no significant differences in age, body mass index, and average fibroid diameter between both comparative study groups, (Table I). Of the study group 98 women received LM+E consisting of intramyometrial injection around fibroid of 12µg epinephrine hydrochloride diluted in 20ml of NaCl solution, while the control group LM+P (n=86) received 20ml of NaCl only. Two women from LM+E group and four from LM+P group underwent laparotomy for adhesions and two women from both groups lost to follow up because of incomplete data.

All the women (LM+E, n=96, 53.3%, LM+P, n=84, 46.7%) underwent a laparoscopic myomectomy under general anesthesia there first: intramyometrial epinephrine or placebo application was given to the capsular space of fibroid, followed by sagittal incision of the fibroid surface by a monopolar needle, fibroid extirpation by sharp dissection and morcellation, intracorporal laparoscopic suturing of the uterine wall in two layers, during which time blood loss was determined by endoscopic suction after uterine wall suturing before abdominal cavity washing with NaCl solution.

Perioperative blood loss (ml), duration of surgery (min), length of hospital stay (days), incidence of perioperative complications (conversion to laparotomy, blood loss ≥ 500 ml, injury to other abdominal organs, changes in blood pressure and heart rate), and postoperative general and gynecologic complications (hypermenorrhoea, algomenorrhoea, pelvalgia, urinary, or bowel troubles) were evaluated.

Descriptive statistics were applied in the analysis; absolute and relative frequencies for categorical variables and median and 5th-95th percentile and mean with standard deviation for continuous variables. Statistical significance was tested using Fisher's exact test for categorical and Mann-Whitney U test for continuous variables. Statistical analysis was computed using SPSS 22.0.0.1 (IBM Corporation, 2014).

Informed consent was obtained from all the women and the local institutional review board approved the study (Ethical Commission Brno University Hospital, KH-65269705).

RESULTS:

A lower blood loss (mean±SD: 57±23 ml) was observed in the LM+E group with local application of epinephrine, compared to the control LM+P group (mean±SD: 143±106 ml, $p<0.001$), and shortened duration of surgery (mean±SD: 53±16 min), compared to the LM+P group (mean±SD: 72±26 min, $p=0.006$), and shortened hospital stay (mean±SD: 3.0±1.2 days) compared to the control group (mean±SD: 4.3±1.4 days, $p=0.003$). No serious perioperative complications were observed in either group, and no significant difference in the incidence of postoperative complications were recorded with study group when compared to the control group ($n=2$, 2.1% vs. $n=6$, 7.1%), $p=0.143$; Fisher's exact test), (Table II).

DISCUSSION:

The standard treatment for symptomatic fibroids is either a hysterectomy with women who have completed childbearing or a myomectomy with women who wish to preserve fertility. Massive blood loss associated with the dissection of huge fibroids renders myomectomy a more technically challenging procedure than hysterectomy. A transfusion is required for up to 20% of cases following abdominal myomectomy, and in 2% of these cases, there is need for conversion of myomectomy to hysterectomy LaMote⁸.

A number of interventions have been introduced to reduce bleeding during myomectomy, such as uterine artery dissection, embolization, pericervical mechanical tourniquet, and use of uterotonics. The effects of these procedures on blood loss during myomectomy have been inconsistent Liu⁹, Morita¹⁰, Ngeh¹¹, Rosseti¹². Moreover, the types of these interventions are so varied that there is need to identify procedures that are the most effective and have the least adverse effects.

There is limited evidence from a few randomized clinical trials (RCTs) that some interventions may reduce bleeding during myomectomy Kongnyuy¹³. Eight randomized controlled trials with 371 participants were included by Kongnyuy: two trials with 58 participants on a hormonal tourniquet, vasopressin Assaf¹⁴, Frederick¹⁵; one trial on the uterotonic effect of misoprostol Celik¹⁶; one on oxytocin Agostini¹⁷; one on pericervical tourniquet Taylor¹⁸; one on chemical assisted dissection Bennasi¹⁹; one on the vasoconstrictor effect of bupivacaine plus epinephrine Zullo⁶; and one on the enucleation of myoma by morcellation while it is attached to the uterus Sinha²⁰. All the trials were small. Some of the interventions showed promising effects on reducing blood loss during myomectomy.

Significant reduction of intraoperative blood loss was noted when vasopressin is injected into the uterine muscles overlying the myoma during myomectomy. Inspection of the data shows that the confidence intervals did not overlap suggesting highly significant heterogeneity ($P=0.00001$, $I^2=98.8\%$), Assaf¹⁴, Frederick¹⁵.

The injection of bupivacaine plus epinephrine into the myometrium overlying the myoma compared to placebo was evaluated in one study, and the result showed evidence of reduction in blood loss and duration of surgery Zullo⁶. This trial included 60 participants (reduction in blood loss 68.60ml, to 43.51ml and reduction in duration of surgery 30.50min to 23.32min). No patient required blood transfusion.

The trials on misoprostol, bupivacaine plus epinephrine, chemically assisted dissection of tissues, and myoma enucleation by morcellation all recorded a significant reduction in operation time as with our study. The use of oxytocin, pericervical tourniquet, and vasopressin showed no evidence of effect on duration of surgery.

Post-operative outcome was assessed by duration of hospitalization. Four trials included the duration of hospital stay in their evaluation. Only the trial on mesna recorded a significant decrease in the duration of hospital stay Benassi19.

There is insufficient data on the adverse effects and costs of different interventions. Trials that commented on adverse effects simply stated that no adverse effects were noted in their trial. Knowledge of adverse events and tolerability of an intervention is important because we have to balance the estimated benefits with, problems and costs before making any appropriate decisions about use or non-use of intervention. There is need for new RCTs to shed more light on the effectiveness, safety, and cost of different interventions to reduce blood loss during myomectomy Kongnyuy13.

Our study credibility was underscored by a large number of participatory patients. The study group of women was homogenous: nuligravid women of reproductive age with child-bearing potential, with intramural solitary uterine fibroids only 3-6 cm diameter, no hormonal pretreatment before surgery. All laparoscopic myomectomy was performed by just one surgeon to prevent any differences in surgical technic.

CONCLUSIONS:

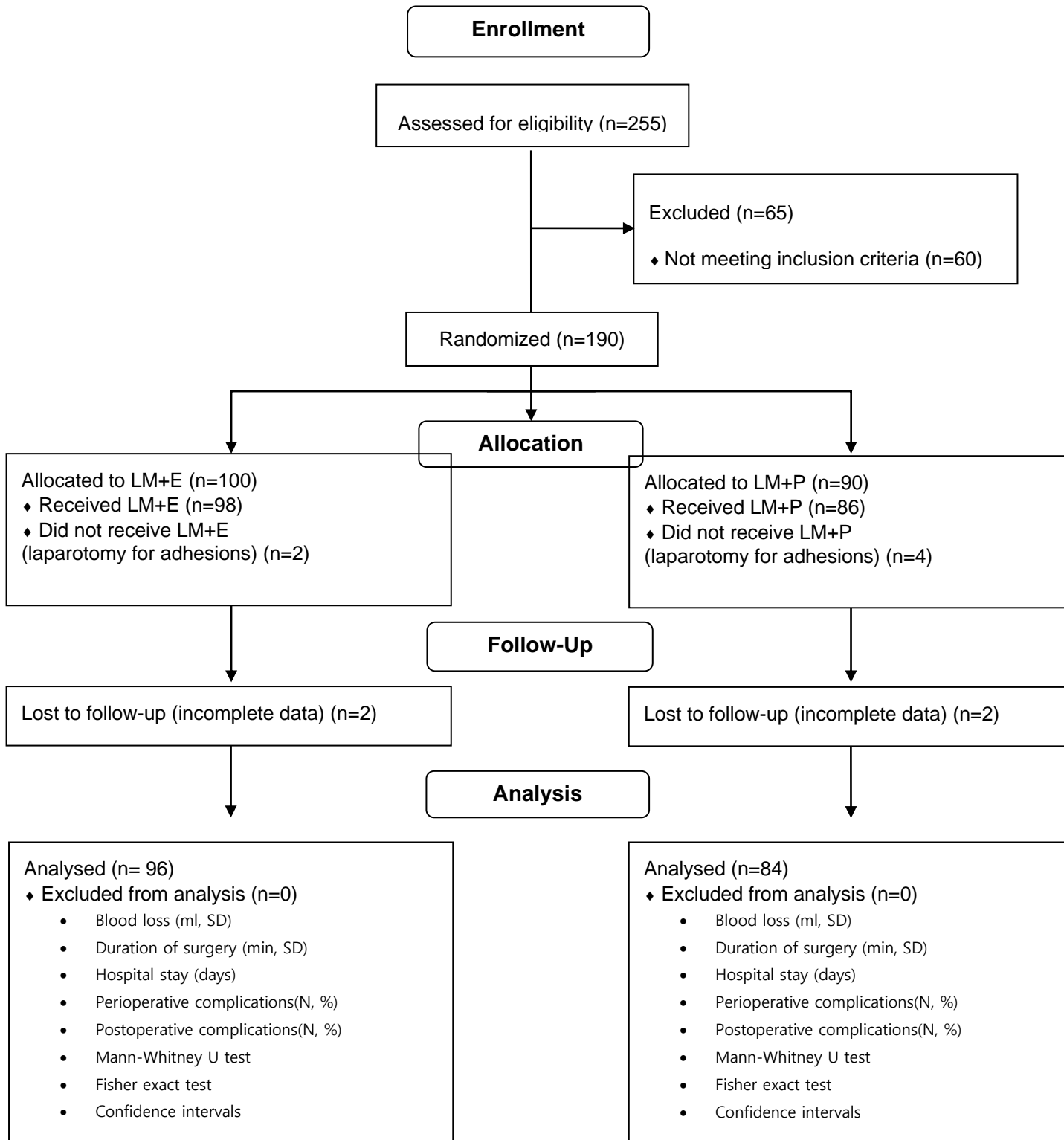
Epinephrine use during laparoscopic myomectomy is both effective and safe, resulting in a significantly lower perioperative blood loss, shortened duration of both surgery and hospitalization in comparison with the control group, and no significant differences or serious perioperative and postoperative complications in comparison with the control group.

REFERENCES:

1. Hart R, Khalaf Y, Yeong ChT, et al: A prospective controlled study of the effect of intramural uterine fibroids on the outcome of assisted conception. *Hum Reprod* 2001; 16: 2411-2417
2. Bajekal N, Li TC: Fibroids, infertility and pregnancy wastage. *Hum Reprod Update* 2000; 6: 614-620
3. Kongnyuy EJ, Wiysonge CS.: Interventions to reduce hemorrhage during myomectomy for fibroids. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2007, *Obstet Gynecol* 2007; 109: 1197-1198
4. Mattei A, Cioni R, Bargelli G, et al: Techniques of laparoscopic myomectomy. *Reprod Biomed Online* 2011; 23: 34-39
5. Modi R.: Laparoscopic myomectomy with aquadissection and barbed sutures. *J Gynec Endosc Surg* 2011; 2: 47-52
6. Zullo F, Palomba S, Corea D, et al: Bupivacaine plus Epinephrine for laparoscopic myomectomy: A randomized placebo-controlled trial. *Obstet Gynecol* 2004; 104: 243-249

7. Hobo R, Netsu S, Koyasu Y, et al: Bradycardia and cardiac arrest caused by intramyometrial injection of vasopressin during a laparoscopically assisted myomectomy. *Obstet Gynecol* 2009; 113: 484-486
 8. LaMote AI, Lalwani S, Diamond MP.: Morbidity associated with abdominal myomectomy. *Obstet Gynecol* 1993; 82: 897-900
 9. Liu W, Tzeng C, Yi-Jen C, Wang P.: Combining the uterine depletion procedure and myomectomy may be useful for treating symptomatic fibroids. *Fertil Steril* 2004; 82: 205-210
 10. Morita M, Asakawa Y, Uchiide I, Nakakuma M, Kubo H.: Surgery results using different uterine wall incision directions in laparoscopic myomectomy of the intramural myoma. *Reprod Med Biol* 2004; 3: 33-37
 11. Ngeh N, Belli A, Morgan R, Manyonda I.: Pre-myomectomy uterine embolization minimizes operative blood loss. *Br J Obstet Gynaecol* 2004; 111: 1139-1140
 12. Rossetti A, Paccosi M, Sizzi O, Zulli S, Mancuso S, Lanzone A.: Dilute ornitin vasopressin and a myoma drill for laparoscopic myomectomy. *J Am Assoc Gynecol Laparosc* 1999; 6: 189-193
 13. Kongnyuy EJ, Broeka N, Wiysongeb CS.: A systematic review of randomized controlled trials to reduce hemorrhage during myomectomy for uterine fibroids. *Int J Gynecol Obstet* 2008; 100: 4-9
 14. Assaf A.: Adhesions after laparoscopic myomectomy: effect of the technique used. *Gynaecol Endosc* 1999; 8: 225-229
 15. Frederick J, Fletcher H, Simeon D, Mullings A, Hardie M.: Intramyometrial vasopressin as a haemostatic agent during myomectomy. *BJOG* 1994; 101: 435-437
 16. Celik H, Sapmaz E.: Use of a single preoperative dose of misoprostol is efficacious for patients who undergo abdominal myomectomy. *Fertil Steril* 2003; 79: 1207-1210
 17. Agostini A, Ronda I, Franchi F, Bretelle F, Roger V, Cravello L, et al: Oxytocin during myomectomy: A randomized study. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2005; 118: 235-238
 18. Taylor A, Sharma M, Tsirkas P, Di Spiezio Sardo A, Setchell M, Magos A.: Reducing blood loss at open myomectomy using triple tourniquets: A randomized controlled trial. *Int J Gynecol Obstet* 2005; 112: 340-345
 19. Benassi L, Lopopolo G, Pazzoni F, Ricci L, Kaihura C, Piazza F, et al: Chemically assisted dissection of tissues: an interesting support in abdominal myomectomy. *J Am Coll Surg* 2000; 191: 65-69
 20. Sinha R, Hedge A, Warty N, Mahajan C.: Laparoscopic myomectomy: enucleation of the myoma by morcellation while attached to the uterus. *J Minim Invasive Gynecol* 2005; 12: 284-289
-

Figure 1. Consort diagram of study enrollment, allocation, follow-up and analysis.



LM+E - laparoscopic myomectomy and epinephrine

LM+P - laparoscopic myomectomy and placebo

Table I. Pre-operative patient characteristics

Characteristic	LM+E	LM+P	p
N (%)	100 (52.6%)	90 (47.4%)	-
Age (years)	34.3±5.6	32.3±5.3	0.313
Body mass index (kg/m ²)	29.4±6.2	28.5±6.5	0.375
Fibroid diameter (cm)	4.4±1.1	4.3±1.4	0.492

Mann-Whitney U test for continuous variables, Fisher's exact test for categorical variables, LM+E - laparoscopic myomectomy + epinephrine, LM+P -laparoscopic myomectomy + placebo

Table II. Results of laparoscopic myomectomy + epinephrine versus placebo.

Parameter	LM+E	LM+P	p
N (%)	96 (53.3%)	84 (46.7%)	-
Blood loss (ml)			
Mean (SD)	57.3 (22.9)	142.9 (105.6)	<0,001
Median (5 th -95 th perc.)	50.0 (42.5; 100,0)	150.0 (50.0; 437.5)	
Surgery duration (min)			
Mean (SD)	52.9 (16.2)	71.7 (26.4)	0,006
Median (5 th -95 th perc.)	50.0 (30.0; 90.0)	65.0 (21.3; 120.0)	
Hospital stay (days)			
Mean (SD)	3.0 (±1.2)	4.3 (±1.4)	0.003
Complications N (%)	2 (2.1%)	6 (7.1%)	0.143

Mann-Whitney U test for continuous variables, Fisher's exact test for categorical variables, LM+E - laparoscopic myomectomy + epinephrine, LM+P -laparoscopic myomectomy + placebo

Ulipristal-acetát v předoperační přípravě před myomektomií

Ulipristal-acetát (UPA) řadíme mezi takzvané selektivní modulátory progesteronových receptorů. Působí na progesteronové receptory myometria a endometria a inhibuje ovulaci, aniž by měl výraznější dopad na sérové hladiny estradiolu či antiglukokortikoidní aktivitu [23]. Výsledky klinické studie, zkoumající účinek a bezpečnost tříměsíčního podání 5 mg a 10 mg UPA v porovnání s placebem, popisují signifikantní snížení intenzity menstruačního krvácení (amenorea dosažena u 78 %, 82 % a 6 % pacientek ve skupinách 5 mg, 10 mg a placebo) a změnu objemu myomů (o -21 %, -12 % a +3 % ve skupinách 5 mg, 10 mg a placebo) u pacientek léčených UPA v porovnání s placebem. Mezi nejčastější nežádoucí účinky léčby patřily bolesti hlavy a napětí v prsou. U 62 % a 57 % pacientek léčených UPA (5 mg, resp. 10 mg) byly v bioptických vzorcích endometria zachyceny benigní změny charakterizované nízkou mitotickou aktivitou a přítomností apoptózy. Za 6 měsíců po ukončení léčby došlo ke kompletnímu vymizení těchto změn u všech pacientek [24]. UPA tedy, v 3měsíčním podání před plánovaným operačním zákrokem, vede k signifikantní redukci menstruačního krvácení, objemové redukci myomu a léčba není spojena s klimakterickými vedlejšími účinky.

Uterotonika a uterokinetika

Oxytocin patří mezi uterokinetika a ve formě intravenózní infuze je díky své dostupnosti často podáván peroperačně nebo v postoperačním období. Jeho účinek na redukci krevní ztráty při laparoskopické myomektomii však nebyl ve většině studií zabývajících se touto problematikou prokázán [25, 26].

Metylergometrin patří mezi dostupná a účinná uterotonika. Při laparoskopické myomektomii je používán empiricky. Neexistují dostupná data zabývajících se jeho konkrétním účinkem na redukci krevní ztráty při laparoskopické myomektomii.

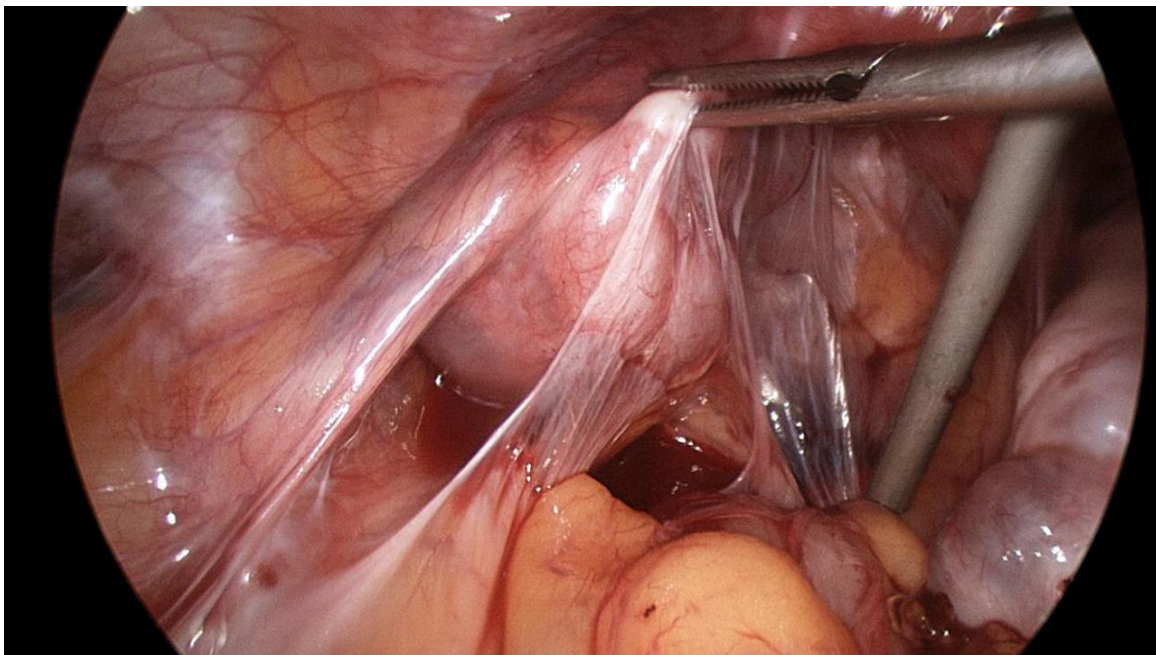
Farmakologické možnosti mohou v současné době významně redukovat krevní ztrátu při laparoskopické myomektomii. Mezi rozhodující faktory ovlivňující krevní ztrátu při laparoskopické myomektomii však nadále patří operační tým a jeho dovednosti a zkušenosti, a to nejen při samotné operaci, ale již při indikaci operace a volbě operačního přístupu. Mnoho aspektů samotného nálezu je možné totiž zhodnotit až peroperačně. Nezanedbatelný vliv na peroperační krevní ztrátu má také technické vybavení operačního sálu. Krevní ztrátu při laparoskopické myomektomii je možné farmakologicky ovlivňovat ve fázi předoperační přípravy, peroperačně a v postoperačním období. Předoperační farmakologická příprava analogy GnRH dokáže potlačit rozsah myomatózy a umožnit tak v některých případech laparoskopický přístup, samotnou operační krevní ztrátu u žen indikovaných k laparoskopické myomektomii nesnižuje. Peroperační použití vasopresinu je účinná metoda redukce krevní ztráty, která je ale spojována s rizikem vážných kardiovaskulárních komplikací. Epinefrin v kombinaci s lokálním anestetikem je klinicky bezpečnější než vasopresin a výhodou je také analgetický účinek při intramurální aplikaci. Uterotonika jsou používána ve všech fázích operační léčby myomatózy. Důkaz jejich účinku je dosud převážně založen na empirii, než na výsledcích větších prospektivních studií.

Na základě porovnání dostupných dat je peroperační intramurální aplikace ředěného epinefrinu v kombinaci s lokálním anestetikem (Supracain) efektivní, bezpečný a dostupný farmakologický prostředek k redukci krevní ztráty při laparoskopické

myomektomii. Uterotonika (oxytocin, methylergometrin) používaná často peroperačně a v postoperačním období je možné doplnit také předoperační vaginální aplikací misoprostolu.

Aktivní prevence vzniku adhezí při myomektomii

Adheze jsou definovány jako abnormální jizevnaté spojení mezi povrchy dvou I více orgánů, které nejsou fyziologicky spojeny (Obr. 9-9). Nejčastěji vznikají jako důsledek traumatu, infekce, ischemie nebo reakcí na přítomnost cizího materiálu (např. šicí materiál). Adheze můžeme rozdělit do dvou typů: 1) primární (de novo) adheze, novotvořené na místě, kde se předtím žádné adheze nevyskytovaly a 2) sekundární adheze vyskytující se na místě předchozí adheziolýzy. Adheze se vyskytují až u 60–90 % pacientek po velké gynekologické operaci [27].



Obr. 9-9 Adhezivní proces v oblasti malé pánve

Myomektomie je ve vysokém procentu spojena s výskytem adhezí. Při second-look laparoskopii pacientek po laparoskopické myomektomii (LM) se adheze vyskytují v průměru ve 41,3 % a u pacientek po otevřené abdominální myomektomii (OM) v 100 %. Laparotomická myomektomie je také asociována s vyšším rizikem adhezí adnex. Obecně mezi rizikové faktory vzniku adhezí po myomektomii řadíme: přítomnost sutury na zadní stěně děložní a excesivní použití elektrokoagulace vedoucí k ischemizaci tkáně [28].

Etiologie vzniku adhezí není jednoznačně objasněna. Obecně se předpokládá, že někteří pacienti mají vyšší riziko vzniku adhezí. Zatím však neexistuje jednoznačný marker k určení rizika vzniku a rozsahu adhezí [29]. Významnou roli hraje peritoneum, které představuje nejrozsáhlejší serózní membránu v těle, jejíž hlavní funkcí je minimalizace tření a usnadnění volného pohybu orgánů v dutině břišní. Peritoneum se skládá z jedné vrstvy mezoteliálních buněk, které kryjí bazální membránu. Submezoteliálně je uložena extracelulární matrix a pod touto vrstvou nacházíme

pojivovou tkáň s fibroblasty, kolagenními vlákny a cévami [30]. Vlivem chirurgického zákroku dochází k mikrotraumatizaci peritonea, jehož důsledkem je odtržení mezoteliálních buněk od bazální membrány. V mezoteliálních buňkách zároveň dochází k produkci celé řady cytokinů a růstových faktorů. Důsledkem peritoneálního traumatu se zvyšuje permeabilita cév a dochází k exsudaci zánětlivých elementů a tvorbě fibrózní matrix. Fyziologicky je fibrinový exsudát přechodný a do 72 hodin se odbourá. Pokud dojde, například vlivem prolongované hypoxie, k inhibici fibrinolytického procesu, dochází k nedostatečnému rozpuštění fibrinové matrix, do které začínají prorůstat fibroblasty a důsledkem je tvorba adhezí [31].

Ačkoli je řada pacientek s adhezemi klinicky asymptomatických, u významné části žen mohou být adheze příčinou komplikací. Mezi nejzávažnější potenciální komplikace patří poruchy střevní pasáže, ženská neplodnost a chronická bolest, při rozsáhlém adhezivním procesu může vzniknout až obraz tzv. frozen pelvis. Tvorba adhezivního procesu po gynekologické operaci tedy představuje značný medicínský a socioekonomický problém [32].

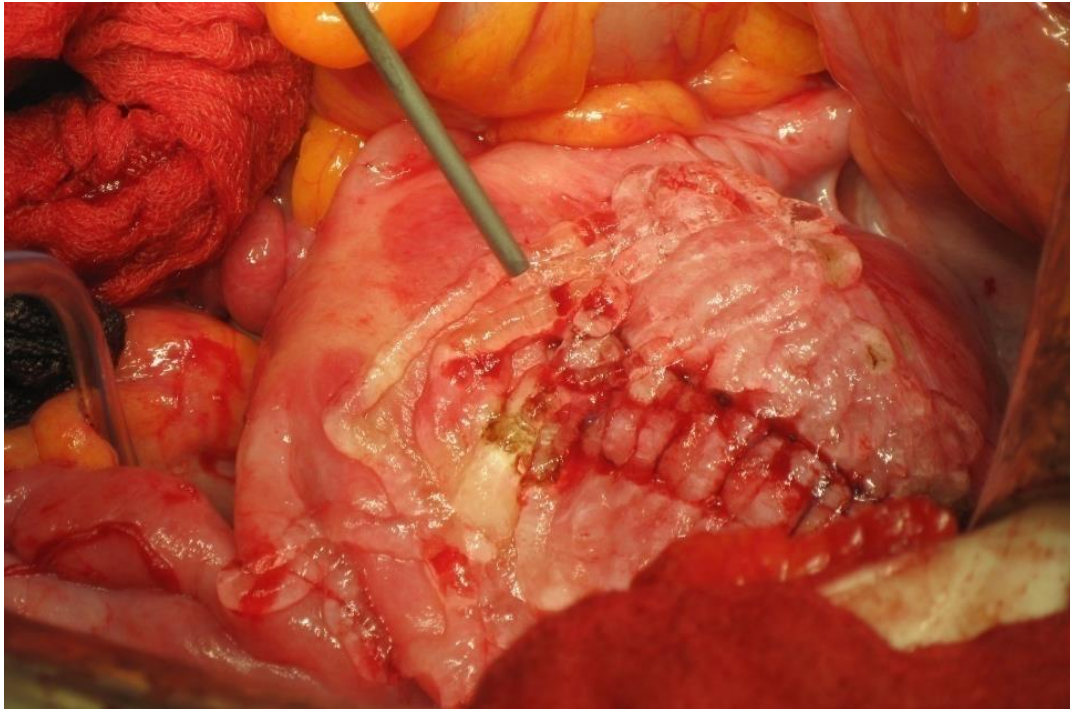
V současné době je jedinou možností řešení adhezí provedení adheziolýzy, která je spojena s rizikem vzniku sekundárních adhezí. Proto je v prevenci vzniku adhezí kladen důraz na vylepšení chirurgické techniky (minimální invazivita s minimální traumatizací tkáně, pečlivá hemostáza a omezení ischemizace tkáně) a využití antiadhezivních preparátů [33,34].

Mezi látky používané k prevenci vzniku adhezí řadíme farmaka s protizánětlivým účinkem, dále pak antiadhezivní prostředky a bariéry aplikované do peritoneální dutiny ve formě roztoku, gelu či síťky. Principem jejich účinku je oddělení traumatizovaného peritonea od okolních orgánů a umožnění fyziologického hojení peritoneálních povrchů. Antiadhezivní účinek látky závisí na molekulární hmotnosti a koncentraci preparátu. „Auto-cross-linked“ gel kyseliny hyaluronové se vyznačuje vysokou viskozitou, díky níž dobře ulpívá i na vertikálních površích a nedochází k jeho stékání, je netoxický a nejsou známy žádné vedlejší účinky [35].

Dvě prospektivní randomizované klinické studie se zabývaly otázkou snížení výskytu adhezí u pacientek po laparoskopické myomektomii s aplikací gelu kyseliny hyaluronové oproti kontrolní skupině pacientek bez antiadhezivního preparátu [35]. Pellicano et al uvádějí statisticky významně nižší výskyt adhezí u pacientek po aplikaci gelu kyseliny hyaluronové oproti kontrolní skupině (27,8 % vs. 77,8 %). Naopak Mais et al prokázal jen statisticky nevýznamně vyšší procento pacientek bez adhezí po aplikaci kyseliny hyaluronové ve srovnání s kontrolní skupinou (60,0 % vs. 41 %). Jedinou studií zabývající se porovnáním reprodukčních výsledků u pacientek po myomektomii s aplikací gelu kyseliny hyaluronové oproti kontrolní skupině publikoval Pellicano [36]. Pregnancy-rate byl vyšší ve skupině s gelem oproti kontrolní skupině (33,3 % vs. 64,0 %)

Myomektomie řadíme mezi fertilitu zachraňující výkony, které však mohou mít za následek tvorbu adhezí nepříznivě působících na plodnost pacientek. Kromě volby šetrného operačního přístupu lze tvorbě adhezí předcházet použitím antiadhezivních preparátů. Gel kyseliny hyaluronové je bezpečný prostředek se snadnou aplikací určený pro prevenci vzniku pooperačních adhezí (Obr. 9-10). Dle dostupných literárních zdrojů je jeho účinnost po laparoskopické myomektomii ověřená a jeho aplikace vede ke snížení výskytu pooperačních adhezí. Zatím však byla publikována pouze jediná studie popisující zlepšení reprodukčních výsledků u pacientek po myomektomii s aplikací gelu kyseliny hyaluronové oproti kontrolní skupině. Úkolem do budoucna proto zůstává zjištění klinického dopadu aplikace antiadhezivních preparátů na fertilitu a chronickou pánevní bolest. Z výsledků dosavadních klinických studií lze shrnout, že aplikace gelu kyseliny

hyaluronové vede ke snížení výskytu masivních adhezí u pacientek po laparoskopické myomektomii.

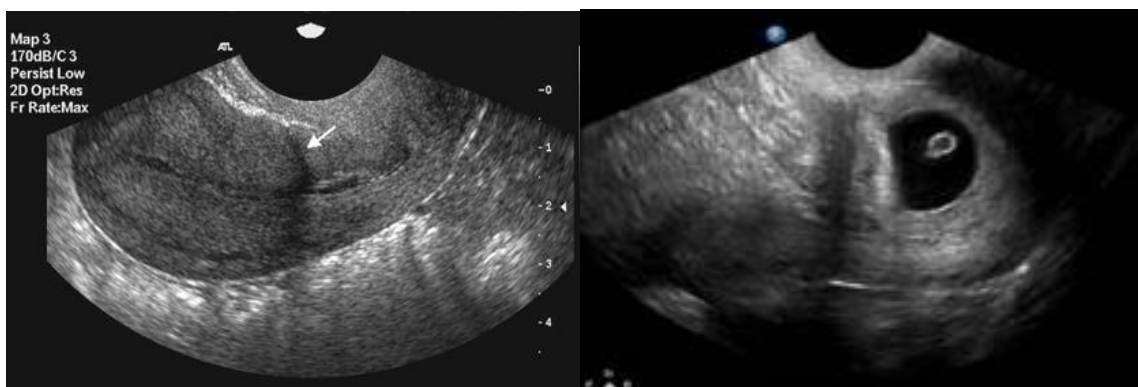


Obr. 9-10 Aplikace antiadhezivního gelu při laparotomické myomektomii

Využití techniky Laparoskopické myomektomie v nestandardních situacích

Rutinní zvládnutí techniky laparoskopické myomektomie v klinické praxi sebou přináší i nové možnosti terapeutického využití. Především laparoskopická technika extirpace solidní nebo morfologicky změněné tkáně a intrakorporální laparoskopická sutura defektu děložního těla nachází uplatnění i v raritních případech řešení laparoskopicky diagnostikované disekující ektopické gravidity v jizvě po císařském řezu – cesarean scar pregnancy (CSP). Je asociována s rizikem rozvoje závažných komplikací, jako je ruptura dělohy spojená s nekontrolovatelným krvácením.

Terapie CSP zahrnuje konzervativní farmakologické postupy jako je systémová aplikace Methotrexátu nebo lokální aplikace hyperosmolárních roztoků pod kontrolou sonografie. Další terapeutické možnosti představují konzervativní fertilitu šetřící chirurgické výkony, jako je embolizace uterinní arterií, dilatace a kyretáž, hysteroskopické, laparoskopické nebo laparotomické odstranění CSP. Radikální chirurgický přístup k řešení CSP představuje odstranění dělohy vedoucí k definitivní infertilitě. Kasuistika z našeho pracoviště referuje úspěšné laparoskopické fertilitu šetřící řešení vitální CSP.



Obr. 9-11 Jizva po císařském řezu a gravidita v jizvě

Laparoscopic Treatment of Cesarean Scar Ectopic Pregnancy

Robert Hudeček, MD, PhD¹, Zuzana Felsingrová, MD¹, Michal Felsing, MD¹, and Eva Jandakova, MD²

Abstract

Background: An ectopic pregnancy within a Cesarean scar represents a rare type of extrauterine pregnancy in which the fertilized egg nidates in the myometrium of the uterine wall within a scar left from a previous Cesarean delivery. An unrecognized growing Cesarean scar pregnancy may result in uterine rupture, uncontrollable metrorrhagia, and bleeding into the abdominal cavity; therefore, early diagnosis and therapy are necessary to prevent the development of severe complications. **Case:** A 34-year-old woman after a previous Cesarean delivery presented with amenorrhoea of 7 weeks' duration. Transvaginal ultrasonography revealed an ectopic pregnancy in the Cesarean scar, and a laparoscopic removal of the gestational sac was performed with no complications. **Results:** Three months later, another laparoscopy with chromopertubation showed no signs of penetration in the suture, both the Fallopian tubes being bilaterally passable. The patient was advised that she could try to achieve pregnancy through spontaneous conception, after which monitoring of the gestational development and a careful assessment of the nidation site would be needed. **Conclusions:** Laparoscopic surgical management of a viable ectopic pregnancy is technically simple, and is followed by a good recovery. (J GYNECOL SURG 30:309)

Introduction

AN ECTOPIC PREGNANCY WITHIN A CESAREAN SCAR (Cesarean scar pregnancy [CSP]) represents a rare type of extrauterine pregnancy in which the fertilized egg nidates in the myometrium of the uterine wall within a scar left from a previous Cesarean delivery (CD). An unrecognized growing CSP may result in uterine rupture, uncontrollable metrorrhagia, and bleeding into the abdominal cavity; therefore, early diagnosis and therapy are necessary to prevent the development of severe complications.¹ The ultimate goal of the therapeutic procedure is to preserve the patient's fertility. CSP therapy includes conservative pharmacologic measures such as systemic application of methotrexate (MTX) or ultrasound-guided local application of hyperosmolar solutions.² Further therapeutic options include conservative fertility-preserving types of surgery, such as selective uterine artery embolization; bilateral hypogastric artery ligation associated with trophoblastic evacuation;^{3,4} dilatation and curettage; and a hysteroscopic, laparoscopic, or laparotomic removal of the CSP.^{5,6} A radical surgical approach would be the complete removal of the uterus, leading to definitive infertility.

Case

A 34-year-old woman, with a history of uncomplicated CD for intrapartum fetal hypoxia 4 years previously,

presented in her second pregnancy with amenorrhoea of 7 weeks' duration. An ultrasound examination raised a suspicion of a Cesarean scar ectopic pregnancy. The patient had an enlarged and tender uterus, otherwise she was asymptomatic. On vaginal ultrasound examination, a viable singleton pregnancy 6+5 (6 weeks and 5 days, based on crown-rump length [CRL]) located in the anterior wall of the uterus at the site of the Cesarean scar was found, protruding toward and under the vesical fold (Fig. 1). There was no free fluid in the rectouterine pouch, and admission laboratory test results were normal, with a serum human chorionic gonadotrophin (hCG) level of 7866 U/L. A diagnostic laparoscopy confirmed the protrusion into the anterior wall of the uterus at the uterine isthmus, covered by the vesicouterine fold of the peritoneum (Fig. 2). A transcervical application of methylene blue showed discoloration in the protrusion.

A sharp dissection of the vesicouterine peritoneal fold and extirpation of the ectopic pregnancy located in the dehiscence scar was performed, followed by bipolar coagulation, cutting, and laparoscopic suturing of the defect in two layers followed by peritonealization (Fig. 3). Chromopertubation showed no signs of leakage in the uterine suture, and both the Fallopian tubes were open. A Redon drain was inserted into the rectouterine pouch and removed the following day. The patient was discharged on the 2nd day following the

Departments of ¹Obstetrics and Gynaecology, and ²Pathology, Masaryk University and University Hospital Brno, Brno, Czech Republic.

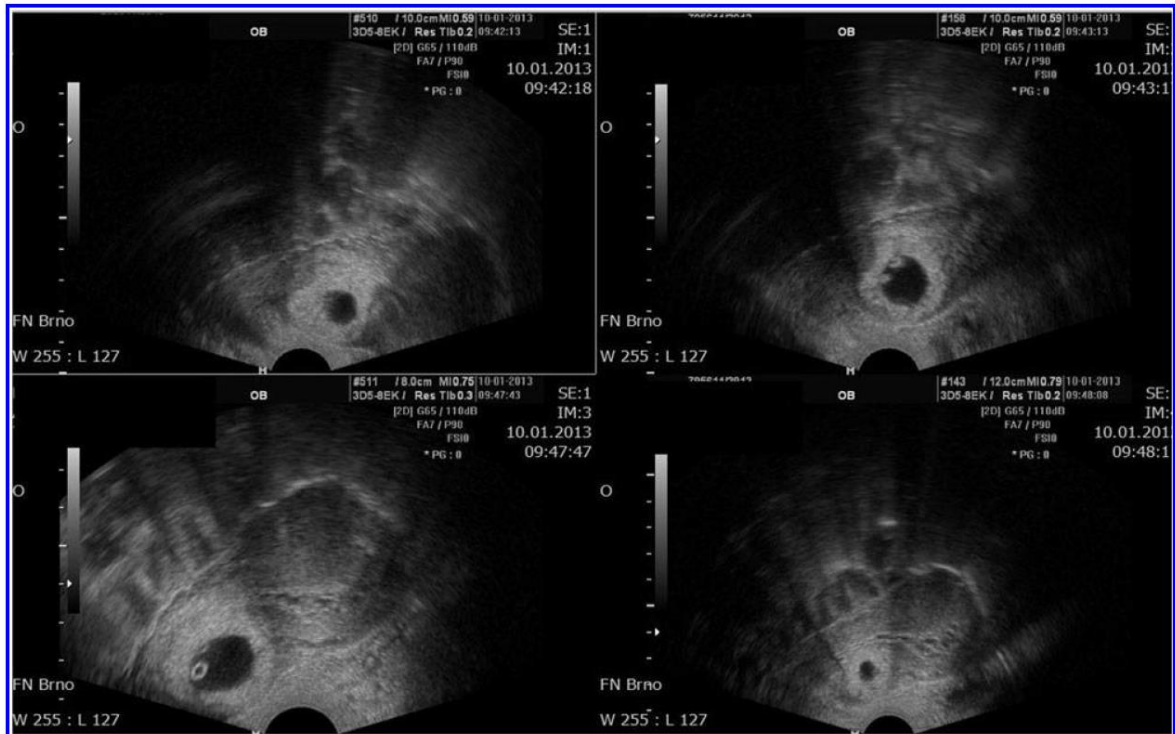


FIG. 1. Transvaginal ultrasound images of the Cesarean scar pregnancy with fetal cardiac activity.

intervention, and a histologic examination confirmed the existence of the ectopic pregnancy in the Cesarean scar tissue (Fig. 4). The follow-up was uneventful.

Results

Three months after the surgery, the patient underwent another laparoscopic inspection in which foci of endometriosis on the peritoneum and plica vesicouterina of the anterior wall of the uterus were detected. Chromopertuba-

tion did not reveal any leakage from the scar. The patient was advised that she could try to achieve pregnancy through spontaneous conception.

Discussion

In the present case study, it has been demonstrated that a viable CSP can be treated safely by conservative procedures, which include a laparoscopic removal of the pregnancy and a primary repair of the uterine defect. The removal of the ectopic

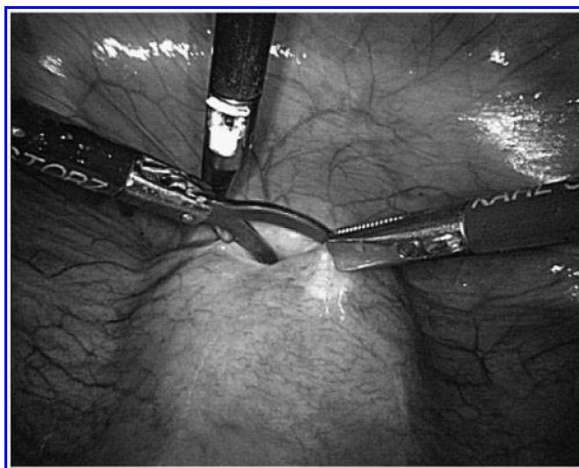


FIG. 2. Sharp dissection of the vesicouterine peritoneal fold, and visualization of the ectopic pregnancy in the Cesarean section scar affected by dehiscence.

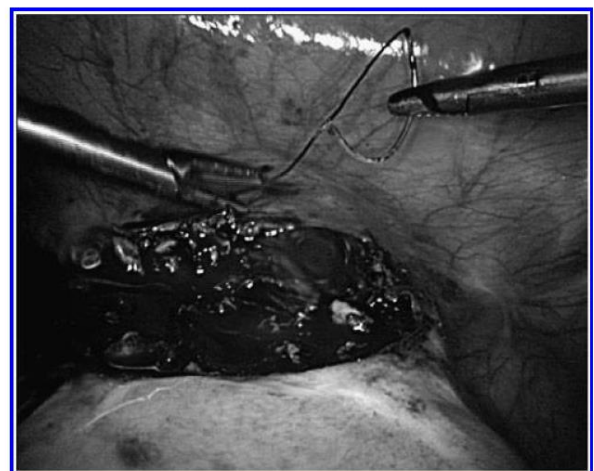


FIG. 3. Laparoscopic suture of the defect performed by stitches in two layers.

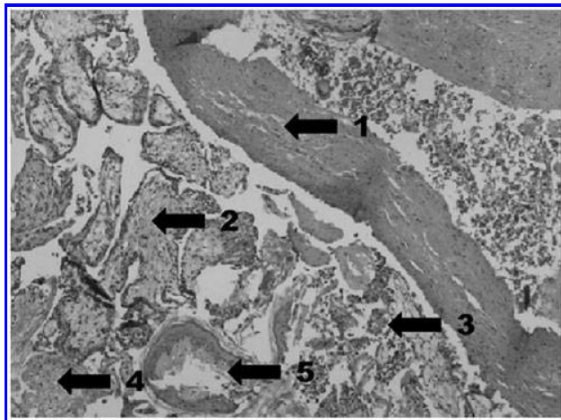


FIG. 4. Histologic description: 1, fibrin; 2, trophoblast; 3, syncytiotrophoblast; 4, chorionic villi; and 5, cellular debris.

gestational sac was technically simple, performed in a short time with minimal loss of blood, and followed by a good recovery. It is assumed that the blastocyst nidates in the endometrium or myometrium in an area with microscopic dehiscences within a CD scar.⁷ With increasing CD rates, an increased CSP incidence may be expected. Clinical symptoms may be few in the incipient phase of the pregnancy, but at later stages, a CSP may result in uterine rupture, accompanied by massive hemorrhage, hemoperitoneum and hemorrhagic shock.

Vaginal ultrasound with Doppler is the predominant diagnostic method used for CSP; this method also used to reveal location of implantation sites, to show discontinuity on the anterior uterine wall, and to show absent or diminished healthy myometrium between the bladder and the gestational sac. Because of the high velocity of the method combined with low impedance, the peritrophoblastic vascular flow clearly surrounding the sac may be seen. A protrusion in the isthmic part of the anterior uterine wall is diagnosed by laparoscopy.

To date, no optimal CSP therapy is known; current therapy usually involves pharmacologic, surgical, or, sometimes, combined approaches. The surgical approaches may be either radical (hysterectomy), or conservative (as in the present case). The pregnancy must be removed, with the subsequent repair of the uterine defect by laparotomy, laparoscopy, or hysteroscopy.^{8,9} A bilateral hypogastric artery ligation associated with the evacuation of the pregnancy and a repair of the uterine defect under laparoscopic guidance has been described as successful.¹⁰ How well the uterine scar left after the treatment heals, and what may occur in future pregnancies, is not known. Long-term outcomes to be considered are future fertility and a possible recurrence of CSP. Favorable reproductive outcomes and a low recurrence rate have been described.¹¹ Treatment decisions depend on gestational age, hCG levels, the presence of fetal cardiac activity, the desire for future fertility, and the experience and facilities available. Counselling for patients with CSP is not easy, as not enough information is available so as to recommend the optimal treatment.

Conclusions

Laparoscopic surgical management of a viable ectopic pregnancy is technically simple, and is followed by good recovery.

Acknowledgments

This work was supported by government grant MZ ČR RVO (FNBr, 65269705).

Disclosure Statement

No competing financial interests exist.

References

- Herman A, Weinraub Z, Avrech O, Mamon R, Ron-El R, Bukovsky Y. Follow up and outcome of isthmic pregnancy located in a previous caesarean section scar. *Br J Obstet Gynaecol* 1995;102:839.
- Persadie RJ, Fortier A, Stopla RG. Ectopic pregnancy in a caesarean scar: A case report. *J Obstet Gynaecol Can* 2005;27:1102.
- Sugawara J, Senoo M, Chisaka H, Yaegashi N, Okanuta K. Successful conservative treatment of a Cesarean scar pregnancy with uterine artery embolization. *Tohoku J Exp Med* 2005;206:261.
- Yang MJ, Jeng MH. Combination of transarterial embolization of uterine arteries and conservative surgical treatment for pregnancy in a Cesarean section scar: A report of 3 cases. *J Reprod Med* 2003;48:213.
- Seow KM, Cheby WC, Chuang J, Lee C, Tsai YL, Hwang JL. Methotrexate for Cesarean scar pregnancy after in vitro fertilization and embryo transfer: A case report. *J Reprod Med* 2000;45:754.
- Godin PA, Bassil S, Donnez J. An ectopic pregnancy developing in a previous caesarian section scar. *Fertil Steril* 1997;67:398.
- Seow KM, Hwang JL, Tsai YL, Juany LW, Lin YH, Hsieh BC. Subsequent pregnancy outcome after conservative treatment of a previous caesarean scar pregnancy. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2004;83:1167.
- Deans R, Abbott J. Hysteroscopic management of cesarean scar ectopic pregnancy. *Fertil Steril* 2010;93:1735.
- Hong SC, Lau M, Yam P. Ectopic pregnancy in previous Caesarean section scar *Singapore Med J* 2011;52: 115.
- Kung FT, Juany TL, Chen CW, Cheby YF. Cesarean scar ectopic pregnancy. *Fertil Steril* 2006;85:1508.
- Nagi JB, Helmy S, Ofili-Yebovi D, Yazbek J, Sawyer E, Jurkovi D. Reproductive outcomes of women with a previous history of Caesarean scar ectopic pregnancies. *Hum Reprod* 2007;22:2012.

Address correspondence to:

Robert Hudeček, MD, PhD

Department of Obstetrics and Gynaecology
Masaryk University and University Hospital Brno

Obilní trh 11

Brno 625 00

Czech Republic

E-mail: rhudecek@fnbrno.cz

9.3. Literatura

1. Levy BS. Modern management of uterine fibroids. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2008; 87(8): 812-823.
2. Seracchioli R, Rossi S, Govoni F et al. Fertility and obstetric outcome after laparoscopic myomectomy of large myomata: a randomized comparison with abdominal myomectomy. *Hum Reprod* 2000; 15(12): 2663-2668.
3. Kubinova K, Mara M, Horak P et al. Reproduction after myomectomy: comparison of patients with and without second-look laparoscopy. *Minim Invasive Ther Allied Techno* 2012; 21(2): 118-124.
4. Dubuisson JB, Fauconnier A, Deffarges JV et al. Pregnancy outcome and deliveries following laparoscopic myomectomy. *Hum Reprod* 2000; 15(4): 869-873.
5. Istre O. Management of symptomatic fibroids: conservative surgical treatment modalities other than abdominal or laparoscopic myomectomy. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2008; 22(4): 735-747.
6. Hald K, Klow NE, Qvigstad E et al. Laparoscopic occlusion compared with embolization of uterine vessels: a randomized controlled trial. *Obstet Gynecol* 2007; 109: 20-27.
7. Mara M, Kubinova K, Maskova J et al. Uterine Artery Embolization Versus Laparoscopic Uterine Artery Occlusion: The Outcomes of a Prospective, Nonrandomized Clinical Trial *Cardiovasc Intervent Radiol* 2012; 35(5): 1041-1052.
8. Mára M. Indikace k embolizaci myomů. In: Mára M. Děložní myomy. Grada: Praha 2009: 163-169.
9. Goldberg J, Pereira L, Berghella V et al. Pregnancy outcomes after treatment for fibromyomata: uterine artery embolization versus laparoscopic myomectomy. *Am J Obstet Gynecol* 2004; 191: 18-21.
10. Rabinovici J, Inbar Y, Revel A et al. Clinical improvement and shrinkage of uterine fibroids after thermal ablation by magnetic resonance-guided focused ultrasound surgery. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2007; 30(5): 771-777.
11. De Leo V, Morgante G, La Marca A et al. A benefit-risk assessment of medical treatment for uterine leiomyomas. *Drug Staf* 2002; 25: 759-779.
12. Friedman AJ, Rein MS, Harrison-Atlas D et al. A randomized, placebo controlled, double blind study evaluating leuprolide acetate depot treatment before myomectomy. *Steril Fertil* 1989; 52: 728-733.
13. Golan A. GnRH analogues in the treatment of uterine fibroids. *Hum Reprod* 1996; 11(3): 33-41.
14. Hudeček R, Ivanová Z, Šmerdová M et al. Vliv aplikace GnRH analog na peroperační a postoperační výsledky myomektomie u žen v reprodukčním věku. *Čes Gynek* 2012; 77(2): 109-117.
15. Horák P, Mára M, Hudeček R et al. Effect of a selective progesterone receptor modulator on induction of apoptosis in uterine fibroids in vivo. *Int J Endocrinol* 2012: 2012:436174. Dostupné z DOI: <<http://doi: 10.1155/2012/436174>>.
16. Kalogiannidis I, Xiromeritis P, Prapas N et al. Intravaginal misoprostol reduces intraoperative blood loss in minimally invasive myomectomy: a randomized clinical trial. *Clin Exp Obstet Gynecol*; 2011; 38(1): 46-49.
17. Shokeir T, Shalaby H, Nabil H et al. Reducing blood loss at abdominal myomectomy with preoperative use of dinoprostone intravaginal suppository: a randomized placebo-controlled pilot study. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2001; 166(1): 61-64.
18. Kongnyuy EJ, Wiysonge CS. Interventions to reduce haemorrhage during myomectomy for fibroids. *Cochrane Database Syst Rev*. 2011; 9(11): CD005355.

19. Nezhat F, Admon D, Nezhat CH et al. Life-threatening hypotension after vasopressin injection during operative laparoscopy, followed by uneventful repeat laparoscopy. *J Am Assoc Gynecol Laparosc* 1994; 2(1): 83.
20. Hobo R, Netsu S, Koyasu Y et al. Bradycardia and cardiac arrest caused by intra-myometrial injection of vasopressin during a laparoscopically assisted myomectomy. *Obstet Gynecol* 2009; 113(2 Pt 2): 484-486.
21. Tulandi T, Béique F, Kimia M. Pulmonary edema: a complication of local injection of vasopressin at laparoscopy. *Fertil. Steril* 1996; 66(3): 478.
22. Zullo F, Palomba S, Corea D et al. Bupivacaine plus epinephrine for laparoscopic myomectomy: a randomized placebo-controlled trial. *Obstet Gynecol* 2004; 104(2): 243-249.
23. Melis G, Piras B, Marotto MF et al. Pharmacokinetic evaluation of ulipristal acetate for uterine leiomyoma treatment. *Expert Opin Drug Metab Toxicol* 2012; 8(7): 901-908.
24. Donnez J, Tatarchuk TF, Bouchard P et al. Ulipristal acetate versus placebo for fibroid treatment before surgery. *N Engl J Med* 2012; 366(5): 409-420.
25. Kongnyuy EJ, Wiysonge CS. Interventions to reduce haemorrhage during myomectomy for fibroids. *Cochrane Database Syst Rev* 2011; 9(11): CD005355.
26. Agostini A, Ronda I, Franchi F et al. Oxytocin during myomectomy: a randomized study. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2005; 118(2): 235-238.
27. Nappi C, Di Spiezio Sardo A, Greco E et al. Prevention of adhesions in gynaecological endoscopy. *Hum Reprod Update* 2007; 13(4): 379-394.
28. Dubuisson JB, Fauconnier A, Chapron C et al. Second look after laparoscopic myomectomy. *Hum Reprod.* 1998; 8(13): 2102-2106.
29. Alpay Z, Saed GM, Diamond MP. Postoperative adhesions: from formation to prevention. *Semin Reprod Med* 2008; 26(4): 313-321.
30. Cheong YC, Laird SM, Li TC et al. Peritoneal healing and adhesion formation/reformation. *Hum Reprod Update* 2001; 7(6): 556-566.
31. Kučera E. Pooperační adheze v gynekologii: vznik, komplikace a prevence. *Gynekolog* 2009; 18(3): 106-108.
32. Tulandi T, Murray C, Guralnick M. Adhesion formation and reproductive outcome after myomectomy and second-look laparoscopy. *Obstet Gynecol* 1993; 82(2): 213-215.
33. Mais V, Bracc GL, Litta P et al. Reduction of postoperative adhesions with an autocrosslinked hyaluronan gel in gynaecological laparoscopic surgery: a blinded, controlled, randomized, multicentre study. *Hum Reprod* 2006; 21(5): 1248-1254.
34. Mettler L, Audebert A, Lehmann-Willenbrock E et al. A randomized, prospective, controlled, multicenter clinical trial of a sprayable, site-specific adhesion barrier system in patients undergoing myomectomy. *Fertil Steril* 2004; 82(2): 398-404.
35. Pellicano M, Bramante S, Cirillo D, Palomba S, Bifulco G, Zullo F, Nappi C. Effectiveness of autocrosslinked hyaluronic acid gel after laparoscopic myomectomy in infertile patients: a prospective, randomized, controlled study. *Fertil Steril* 2003; 80(2): 441-444.
36. Pellicano M, Guida M, Bramante S et al. Reproductive outcome after autocrosslinked hyaluronic acid gel application in infertile patients who underwent laparoscopic myomectomy. *Fertil Steril* 2005; 83(2): 498-500.
37. Mára M, Holub Z et al. Děložní myomy: moderní diagnostika a léčba. Grada: Praha 2009. ISBN 978-80-247-1854-5.
38. Liu WM. Laparoscopic bipolar coagulation of uterine vessels to treat symptomatic leiomyomas. *J Am Assoc Gynec Laparosc* 2000; 7(1): 125-129.

39. Holub Z, Lukáč J, Kliment L et al. Minimálně invazivní operační léčba symptomatických myomů pomocí LDUV. (laparoskopická disekce děložních cév): klinická prospektivní studie (část I). Čes Gynek 2003; 68(3): 147-152.
40. Lichtinger M, Hallson I, Calvo P et al. Laparoscopic uterine artery occlusion for symptomatic leiomyomas. J Am Assoc Gynecol Laparosc 2002; 9(2): 191-198.

10. Soubor komentovaných prací autora zařazených v textu

10.1. Kapitoly v monografiích

1. Hudeček R, Krajčovičová R. Embryoprotective therapy of infertile women with polycystic ovary syndrome. In: Srabani Mukherjee: Polycystic ovary syndrome. InTech: Rijeka (Croatia) 2012: 61-76. ISBN 978-953-51-0094-2.
2. Hudeček R, Ventruba P, Crha I. Heterotopická gravidita – závažná komplikace asistované reprodukce. In: Mára M et al. Vybrané kazuistiky z gynekologické endoskopie. Mladá fronta: Praha 2013: 75-82, ISBN 978-80-204-2901-8.

10.2. Původní vědecké články v časopisech

1. Hudeček R, Šarman Z, Ventruba P, Petrenko M. Pfannenstiel – software pro operativu a videodokumentaci v gynekologii. Čes Gynek 1998; 62(2): 32-35.
2. Ventruba P, Mardesić T, Pilka L, Crha I, Višňová H, Hudeček R. Národní registr asistované reprodukce: výsledky a analýza komplikací. Čes Gynek 1998; 62(2): 13-16.
3. Hudeček R, Ventruba P, Roztočil A. Evoluce v indikačním spektru a operačním přístupu k hysterektomii v tříletém klinickém materiálu. Čes Gynek 2001; 66(1): 52-56.
4. Hudeček R, Ventruba P, Crha I, Šarmanová J, Šarman Z, Solár T. Analýza faktorů ovlivňujících výsledky asistované reprodukce pomocí systému pro dolování znalostí z databází SHLUK – I. Parametry spermioqramu a fertilisation rate. Čes Gynek 2001; 66(4): 270-276.
5. Hudeček R, Ventruba P, Juránková E, Petrovová D, Žáková J, Bulínová E. Terapeutické možnosti asistované reprodukce u perimenopauzálních žen. Prakt Gyn 2004; 8(6): 6-9.
6. Hudeček R, Ventruba P, Unzeitig V, Huser M, Račanská E, Šarmanová J. Analysis of ovarian hyperstimulation syndrome development using data mining. Scripta Medica Facultatis Medicinae Universitatis Masarykianae Brunensis 2005; 78(6): 329-340.
7. Hudeček R, Ventruba P, Tsomposos C, Račanská E, Vavrušová R, Šarmanová J, Novák J. Incidence of malignancy occurrence in patients treated for infertility with assisted reproduction techniques. Helen Journal Obstetrics Gynecology 2006; 5(5): 75-79.
8. Hudeček R, Ventruba P, Huser M, Račanská E, Vavrušová R, Šarmanová J, Novák J, Koukalová A. Zhoubné novotvary ovaria v populaci infertilních pacientek České republiky – I. část. Prakt Gyn 2006; 10(3): 100-104.
9. Hudeček R, Ventruba P, Huser M, Račanská E, Vavrušová R, Šarmanová J, Novák J, Koukalová A. Zhoubné novotvary ovaria v populaci infertilních pacientek České republiky – II. část. Prakt Gyn 2006; 10(4): 136-141.
10. Huser M, Crha I, Hudeček R, Ventruba P, Žáková J, Šmardová L, Král Z. Ovarian tissue cryopreservation – new opportunity to preserve fertility in female cancer patients. Eur J Gynaecol Oncol 2007; 28(4): 249-256.
11. Kuřecová B, Hudeček R, Ventruba P, Crha I, Žáková J, Vavrušová R. Incidence ektopické gravidity po technikách in vitro fertilizace v třicetiletém klinickém materiálu Centra asistované reprodukce CAR 01 LF MU a FN Brno. Čes Gynek 2007; 72(6): 389-392.

12. Huser M, Crha I, Hudeček R, Ventruba P, Žáková J et al: Prevention of ovarian function damage with gonadoliblerine analogues during chemotherapy in Hodgkin lymphoma patients. *Hum Reprod* 2008; 23(4): 863-868.
13. Crha I, Ventruba P, Huser M, Žáková J, Hudeček R, Jarkovský J. Survival and infertility treatment in male cancer patients after sperm banking. *Fertil Steril* 2009; 1(6): 2344-2348.
14. Hudeček R, Krajčovičová R, Ventruba P. Aktuální farmakologické možnosti embryoprotektivní terapie infertilních žen. *Klinická farmakologie a farmacie* 2009; 23(2): 76-82.
15. Hudeček R, Ivanová Z, Šmerdová M, Pánková S, Krajčovičová R. Vliv aplikace GnRH analog na peroperační a postoperační výsledky myomektomie u žen v reprodukčním věku. *Čes Gynek* 2012; 77(2): 109-117.
16. Huser M, Žáková J, Šmardová L, Crha I, Janků P, Hudeček R, Ventruba P. Combination of fertility preservation strategies in young women with recently diagnosed cancer. *Eur J Gynaecol Oncol* 2012; 33(1): 42-50.
17. Horák P, Mára M, Dundr P, Kubínová K, Kužel D, Hudeček R, Chmel R. Effect of a selective progesterone receptor modulator on induction of apoptosis in uterine fibroids in vivo. *Int J Endocrinol*. 2012: 1-6.
18. Donnez J et al. Ulipristal Acetate versus Placebo for Fibroid Therapy before Surgery. *N Engl J Med* 2012; 336 (5): 409-421.
19. Hudeček R, Felsingrová Z, Felsing M, Jandáková E. Laparoscopic Treatment of Caesarean Scar Ectopic Pregnancy. *J Gynecol Surg* 2014; 30(5): 309-311.
20. Donnez, J, Hudeček, R et al. Efficacy and safety of repeated use of ulipristal acetate in uterine fibroids. *Fertil Steril* 2015; 103(2): 519-527.
21. Krajčovičová R, Hudeček R, Ventruba P, Sargentová K. The Role of Hyaluronan in Asherman's Syndrome Therapy. *J Gynecol Surg* 2015; 31. Article in press.
22. Hudeček R, Huser M, Pánková S, Mekiňová L, Kadlecová J, Ventruba P. Efficacy and Safety of Perioperative Use of Epinephrine in Laparoscopic Myomectomy of Infertile Women with Symptomatic Solitary Intramural Uterine Fibroids - Randomized Clinical Trial. *J Reprod Med* 2015. Article in press.
23. Hudeček, R, Huser M, Mekiňová, L, Kadlecová, J, Morávková P, Jandáková, E. Lack of correlation between histology, size or number of fibroids in women under 40 years. *Int J Gynecol Pathol* 2015. Article in press.
24. Donnez J, Donnez O, Matule D, Arhendt H, Hudeček R et al. Long-term medical management of uterine fibroids with Ulipristal Acetate. *Fertil Steril* 2015; 103.

11. Vědecko-výzkumné projekty autora

11.1. Vědecko-výzkumné projekty autora – hlavní řešitel

1. *Aplikace umělé inteligence neuronové sítě ke stanovení faktorů ovlivňujících asistovanou reprodukci.* Grant IGA MZ ČR NH 4916-3, 1998-2000.

2. *Ovariální karcinom a léčba neplodnosti metodami in vitro fertilizace – analýza rizikových faktorů pomocí systému pro dolování znalostí z databází SHLUK a umělé neuronové sítě NEUL 3.* Grant IGA MZ ČR NO 7696-3, 2003-2005.

3. *Mezinárodní, randomizované, multicentrické, dvojitě zaslepené klinické hodnocení fáze III s paralelními skupinami, kontrolované placebem, ke zjištění účinnosti a bezpečnosti léku PGL4001 (ulipristal) při předoperační léčbě symptomatických děložních myomů v porovnání s placebem.* Klinická studie PGL07-021, 2008-2009.

4. *Mezinárodní, randomizované, multicentrické, otevřené klinické hodnocení jedné větve hodnotící bezpečnost a účinnost každodenního perorálního užívání 2 mg tablet dienogestu po dobu 52 týdnů v léčbě endometriózy u dospívajících dívek.* Studie BAY86-5258/13788, 2011-2013.

5. *Multicentrická, randomizovaná, dvojitě zaslepená klinická studie fáze III zkoumající účinnost a bezpečnost opakovaného 12 týdenního podávání denních dávek 5 mg a 10 mg přípravku PGL 4001 při dlouhodobé léčbě symptomatických děložních fibromů.* Studie PGL 11-006, 2012-2014.

6. *Randomizované, dvojitě zaslepené, placebem kontrolované klinické hodnocení fáze III bezpečnosti a účinnosti elagolixu u subjektů se středně těžkými až závažnými bolestmi souvisejícími s endometriózou.* Studie M12-671 2011-004295-11, 2013-2015.

7. *Extenze randomizované, dvojitě zaslepené, placebem kontrolované klinické hodnocení fáze III bezpečnosti a účinnosti elagolixu u subjektů se středně těžkými až závažnými bolestmi souvisejícími s endometriózou.* Studie M12-821 2013-001047-31, 2014-2016.

8. *Randomizované, dvojitě zaslepené, klinické hodnocení fáze IIb bezpečnosti a účinnosti kombinace aromatasa inhibitoru a progestinu ve vaginálním kroužku versus aktivní komparátor a placebo u subjektů se středně těžkými až závažnými bolestmi souvisejícími s endometriózou po 12 týdenní terapii.* Studie BAY 98-7196/ 301010 / 15832, 2014-2015.

9. *Randomizované, dvojitě zaslepené, kontrolované placebem a otevřeně aktivně kontrolované, multicentrické klinické hodnocení s paralelním uspořádáním ke stanovení účinnosti a bezpečnosti vilaprisanu u pacientek s děložními myomy.* Studie BAY 1002670/17541, 2015-2016.

11.2. Vědecko-výzkumné projekty autora – spoluřešitel

1. *PACS – velkokapacitní přenosy dat po metropolitní síti.* Grant IGA MZ ČR NH 6760-3, 2001-2003.

2. *Možnosti ochrany reprodukčních funkcí u žen podstupujících chemoterapii pro hematologickou malignitu.* Grant IGA MZ ČR NR8469-3, 2005-2007.

3. *Zvýšení efektivity léčby neplodnosti metodou In vitro fertilizace technikou ultrazvukem řízeného transferu embryí.* Grant IGA FN Brno IGF10/05, 2006-2008.

4. *Hodnocení eumikrobie probiotických kmenů v terapii poruch poševního prostředí.* Výzkumný záměr Ministerstva průmyslu a obchodu ČR, Impuls, FI-IM5/205, 2009-2011.

5. *Centrum interaktivních a multimediálních studijních opor pro inovaci výuky a efektivní učení.* Projekt Evropského sociálního fondu MŠMT ČR CZ. 1.07/2.2.00/28.0041 2013-2015.

12. Souhrn

Práce o klinických inovativních postupech v terapii děložní myomatózy ve vztahu k reprodukčním dysfunkcím shrnuje mnohaleté osobní, praktické i vědecké zkušenosti autora na poli reprodukční medicíny. Odráží genezi reprodukční medicíny jako celku, od laboratorních technik *in vitro* fertilizace až po klinické, chirurgické a farmakologické postupy léčby děložního faktoru neplodnosti.

Kapitola historických souvislostí shrnuje práce o Národním registru asistované reprodukce, analytické rozbory hysterektomií v léčbě myomatózy za využití počítačového softwaru až po aplikaci metod umělé inteligence pro dolování znalostí z databází.

Důraz je kladen i na evidenci, diagnostiku a léčbu komplikací souvisejících s léčbou infertility jako je ovariální hyperstimulační syndrom, ektopická a heterotopická gravidita. Prezentována je i specifická problematika infertility a habituálního potrácení, embryoprotektivní terapie, terapie neplodnosti v perimenopauzálním období a ve vztahu k syndromu polycystických ovarií. Pozornost je věnována i onkologickým rizikům souvisejícím s ovariální hyperstimulací a problematice onkofertility a ochrany reprodukčních funkcí.

Dominantně řešenou problematikou je děložní myomatóza, jako epidemiologicky významný faktor reprodukčních dysfunkcí. Prezentují se inovativní postupy v rámci klinické diagnostiky a klasifikace, vztahy morfologie a histologie myomů a vliv myomů na výsledky asistované reprodukce.

Kapitola o farmakologických možnostech terapie myomatózy odráží dlouholeté osobní zkušenosti autora na poli mezinárodní spolupráce při řešení multicentrických klinických hodnocení. Výsledkem této vědecko-výzkumné činnosti je podíl autora na registraci revolučního farmaka skupiny selektivních modulátorů progesteronových receptorů pro léčbu myomů v klinické praxi.

Chirurgická léčba myomatózy je prezentována souborem prací analyzujících perioperační postupy a jejich výsledky při použití farmakologické podpory před anebo v průběhu myomektomie. Minimalizace peroperačních krvácivých komplikací, aktivní prevence vzniku adhezí po myomektomii a v souvislosti s intrauterinními srůsty ve svém důsledku vedou k definici samostatného oboru-reprodukční chirurgie. Prezentované výsledky práce autora jsou podpořeny účastí v řadě vědecko-výzkumných projektů, grantů, výzkumných záměrů a mezinárodních klinických studií.

13. Summary

This work details innovative clinical measures for treating uterine fibroids associated with reproductive dysfunction, summarizing author experiences after several years of personal, clinical, and scientific experience in the field of reproductive medicine. The study reflects the genesis of reproductive medicine as a whole, from laboratory techniques of *in vitro* fertilization to clinical, surgical and pharmacological methods for the treatment of uterine infertility factor.

Our historical context chapter summarizes National Register of Assisted Reproduction work, reviews analytical studies of hysterectomies for treating fibroids, and applies methods including computer software and artificial intelligence methodology to glean knowledge from databases.

Emphasis is focused on evidence, diagnosis, and treatment of complications associated with the treatment of infertility, including the ovarian hyperstimulation syndrome, as well as ectopic and heterotopic pregnancy. Specific issues of infertility and habitual abortion, embryoprotective therapy, and infertility treatment in the perimenopausal period and the polycystic ovary syndrome are presented in this work. We also detail cancer risks associated with ovarian hyperstimulation, review onkofertility issues, and discuss reproductive function protection.

Priority has been given to elucidating problems related to uterine fibroids, as an epidemiologically significant factor of reproductive dysfunction. We outline innovative approaches to clinical diagnostics and classification and note the relation of morphology and histology of myomas and their impact to the assisted reproduction outcomes.

A chapter noting the pharmacological therapy options of fibroids reflects the author's extensive personal experiences in the field of international cooperation facilitating multicentre clinical trials. Over the years, the author's personal involvement in research activities has documented the effectiveness of revolutionary selective progesterone receptor modulators for the clinical treatment of fibroids.

Surgical treatment of fibroids is recorded via a set of studies that analyze surgical procedures and results using pharmacological support before or during the myomectomy. Minimizing intra-operative bleeding complications, active prevention of adhesions following myomectomy and in connection with intrauterine adhesions ultimately led to the definition of independent field reproductive surgery. Our research results stem from scientific research project participation and international clinical trials, financed partially by grant funding.