

Novinky v managementu neplodnosti v běžné gynekologické praxi. Význam inositolu.

MUDr. Juraj Minárik
NEUMM

Souhrn

Řešení potíží s otěhotněním je běžnou součástí praxe gynekologa. Nejčastější endokrinopatií odpovědnou za infertilitu je syndrom polycystických ovárií (PCOS). Neplodnost bývá důvodem, pro který pacientka vyhledá pomoc svého gynekologa. Prvním krokem v managementu neplodnosti jsou režimová opatření. Nicméně, tento postup je ženami často vnímán jako příliš pasivní a zdlouhavý a vyžadují aktivní přístup, tj. přípravek, který by řešil jejich problém ihned. Recentní klinické studie potvrdily, že suplementace mikronutrientů (zejména myo-inositolu) obnovuje spontánní ovariální aktivitu a fertilitu a zároveň redukuje další symptomy spojené s PCOS. Vzhledem k tomu, že do České republiky bude v nejbližší době uveden doplněk stravy NosiFol® s obsahem myo-inositolu, tento článek přináší přehled dosavadních klinických studií s inositolem při řešení neplodnosti. NosiFol® nabízí novou možnost aktivního managementu infertility a může zvýšit šanci na úspěšné zvládnutí problému.

Klíčová slova: infertilita, neplodnost, NosiFol, inositol, myo-inositol, syndrom polycystických ovárií (PCOS)

Abstract

Troubleshooting infertility is a common part of the gynecologist's practice. The most common endocrinopathy responsible for infertility is polycystic ovary syndrome (PCOS). Infertility is the reason why the patients look for advice from the gynecologist. Lifestyle changes are the first step in the infertility management. Nevertheless, this method is often perceived as too passive and time-consuming by the women. They require a proactive approach, i.e. a remedy that would solve their problem immediately. Recent clinical trials confirmed that micronutrient supplementation (particularly with myo-inositol) restores spontaneous ovarian activity and fertility and reduces simultaneously the other symptoms associated with PCOS. In anticipation of the availability in the Czech Republic

of the food supplement NosiFol® containing myo-inositol, this article provides an overview of current clinical trials of inositol in the management of difficulties with conceiving. NosiFol® offers a new tool for an active management of infertility and can increase the chance of successfully managing the problem.

Keywords: infertility, NosiFol, inositol, myo-inositol, polycystic ovary syndrome (PCOS)

Řešení potíží s otěhotněním je běžnou součástí praxe gynekologa

Každý gynekolog se poměrně často setkává s problémem neplodnosti. Její diferenciální diagnostika a následná tvorba léčebného plánu je komplexní problematika a je proto někdy vhodné spolupracovat se specializovaným centrem asistované reprodukce. Cílem by mělo být zajistit neplodnému páru potomka a nikoliv za každou (mnohdy velmi vysokou) cenu odhalit přesnou příčinu neplodnosti. Znalost příčiny je však významná pro volbu nejefektivnějšího terapeutického postupu (4).

Ženská neplodnost může být způsobena jedním či více faktory jako jsou věk, poruchy anatomické, imunitní, genetické, endokrinologické, hematologické a psychosomatické, infekce, environmentální vlivy a jiné. V tomto přehledovém článku se soustředíme na nejčastější hormonální poruchy.

Hormonální faktory ženské neplodnosti

Hormonální poruchy (endokrinopatie) je velmi častou příčinou infertility. Jedná se buď o poruchy tvorby a působení pohlavních hormonů (folikulostimulační hormon (FSH), luteinizační hormon (LH), estrogeny, androgeny apod.) nebo o poruchy hormonů, které nejsou primárně gynekologického původu (hormony štítné žlázy, inzulin, apod.) (1).

Zdaleka nejčastější endokrinopatií v klinické praxi gynekologa je **syndrom polycystických ovárií (PCOS)**, kterému se budeme níže věnovat.

Naopak **hyperprolaktinemie** je v běžné praxi vzácná. Zahraniční statistiky uvádí výskyt 0,4 % v celé populaci. U žen s poruchami reprodukce však prevalence stoupá až na 9–17 %. Diagnostika není úplně jednoduchá, jelikož hyperprolaktinemie může být zachycena i u zdravých lidí, kde je nejčastěji způsobena stresovým zvýšením prolaktinu. Někteří lidé reagují zvýšením prolaktinu i na nevelký stres, jako je návštěva lékaře a odběr krve. Odlišit stresové zvýšení prolaktinu je možné opakovaným odběrem v době, kdy je nemocný v klidu. Fyziologicky ke zvýšení hladiny prolaktinu dochází v časně fázi gravidity, kdy ještě nemusí žena vědět, že je těhotná a během laktace, také však při fyzické námaze a hypertermii (typicky po návštěvě sauny). Hyperprolaktinemie může být také způsobena iatrogenně, nejčastěji se jedná o nežádoucí účinek psychofarmak, v gynekologické praxi také estrogeny (hormonální antikoncepce) a alfa-metyldopou. Hyperprolaktinemie se může vyskytnout i v rámci PCOS a to jako důsledek hyperestrinismu. Hyperprolaktinemii léčíme, pokud je doprovázena poruchami menstruačního cyklu, infertilitou či obtěžující galaktoreou. Léky první volby jsou dopaminergní agonisté (bromokriptin, kabergolin, quinagolid), terapie se přerušuje po dobu těhotenství a laktace (33).

Méně často se vyskytuje také **hypotalamo-hypofyzární útlum** s nízkými hladinami gonadotropinů. Zde dobře účinkují injekční gonadotropiny (4).

Syndrom polycystických ovárií (PCOS)

Syndrom polycystických ovárií je pravděpodobně nejčastější endokrinopatií u premenopauzálních žen (11). Uvádí se, že PCOS trpí 6–10 %, jiné zdroje uvádí dokonce až 21 % žen v reprodukčním věku, z toho se odhaduje, že až 70 % zůstává nediodagnostikovaných (7). Pro Českou republiku by to znamenalo neuvěřitelné množství 115 tisíc (6 %) až 400 tisíc (21%) žen ve věkové kohortě 20–45 let (14). PCOS je nejčastější příčinou poruch menstruačního cyklu a anovulační sterility (32).

PCOS zasahuje do několika oblastí (7):

- **Reprodukční** (hyperandrogenismus, hirsutismus, alopecie, anovulace, infertilita),

- **Metabolická** (inzulinová rezistence (IR), hyperinzulinémie, acanthosis nigricans, porucha glukózové tolerance (PGT), diabetes mellitus 2. typu, obezita, metabolický syndrom, hyperkoagulační stav, zvýšené riziko kardiovaskulárních příhod)
- **Psychosociální** (zvýšená incidence úzkosti a deprese, zhoršení kvality života).

Klinický obraz se s věkem mění a všechny symptomy nemusí být u dané ženy přítomné. U adolescentních dívek bývají dominantní hyperandrogenní projevy (řeší pediatr, dermatolog, gynekolog), u 20–30letých se projevuje infertilita (řeší gynekolog, endokrinolog, diabetolog, psychiatr) a v dalším období to bývají metabolické poruchy (řeší endokrinolog, diabetolog, kardiolog, internista, geriatr, psychiatr) (7, 8). Různorodost projevů a specializací zainteresovaných lékařů tak může vést k oddálení stanovení diagnózy a nasazení vhodné léčby.

Podle Rotterdamských kritérií musí být pro diagnózu PCOS přítomna alespoň dvě ze tří kritérií (8):

- Oligo-anovulace (oligo-amenorea),
- Hyperandrogenémie anebo klinické projevy hyperandrogenismu (akné, hirsutismus, androgenní alopecie, mužský (viscerální) typ depozice tuků apod.) po vyloučení sekundárních příčin,
- Polycystická ovária.

Za povšimnutí stojí, že ultrazvukový nález polycystických ovárií již není nevyhnutelnou podmínkou diagnózy. Nález polycystických ovárií je totiž možný až u 60 % zdravých mladých dívek (11). Ačkoliv většinou se PCOS projevuje až v adolescenci, v určitých případech je možné zaznamenat již intrauterinní retardací růstu postiženého plodu, v dětství pak předčasnou pubarché (izolovaný růst pubického ochlupení u dívek před 8 rokem věku) či předčasnou adrenarché (pubarché se zvýšenou hladinou adrenálních androgenů) či hyperinzulinémií a ovariální hyperandrogenismem (12).

V adolescenci nebývá problém s neplodností, dospívající dívky spíše řeší projevy hyperandrogenismu: akné, zvýšená tvorba mazu ve vlasech, hirsutismus. Uvádí se, že až v 70 % je hirsutismus u žen projevem PCOS. V tomto věkovém období se i u zdravých dívek vyskytuje akné a také mnoho nepravidlostí menstruačního cyklu s vysokým podílem anovulačních cyklů. Z těchto důvodů se doporučuje, aby pro diagnózu PCOS u adolescentek byla přítomna všechna tři Rotterdamská krité-

ria, z toho oligomenorhea/amenorhea minimálně po dobu dvou let po menarché anebo primární amenorhea ve věku 16 let. Léčba obvykle spočívá v nasazení kombinované hormonální antikoncepce (HAK) či antiandrogenů (spironolakton, cyproteron acetát) (8). V adolescenci jak gynekolog, tak i dívky samotné symptomy PCOS mnohdy považují za projevy puberty, vzhledem k nasazení HAK se příznaky zamaskují a proto nemocným v tomto věkovém období nebývá diagnóza PCOS stanovena.

Teprve v dalším období, kdy dívky s PCOS vysadí HAK s cílem počít potomka se začínají příznaky projevovat a navíc se přidružuje infertilita a často i obezita. PCOS je pak diagnostikován v rámci pátrání po příčinách neplodnosti. Vzhledem k vysoké prevalenci PCOS v populaci se v klinické praxi gynekolog v naprosté většině případů setkává právě s poruchami plodnosti ženy v rámci tohoto syndromu. U těchto chronicky neovulujících žen je proto cílem terapeutického zásahu vyvolání ovulace (4).

V běžné klinické praxi se můžeme setkat s dívkami a ženami s typickými známkami možného PCOS, na druhé straně se vyskytují i pacientky, u kterých prvním zjevným klinickým projevem jsou až potíže s otěhotněním. Spouštěcím faktorem vyvolávajícím klinickou manifestaci PCOS se jeví nárůst tělesné hmotnosti (32).

V úvodním období managementu infertility se doporučují režimová opatření: snížení nadváhy a obezity, zvýšení pohybové aktivity, abstinence, více spánku, zanechání kouření cigaret a změna jídelníčku (zvýšení podílu zeleniny, ovoce a mořských ryb) a to na dobu několika měsíců (obvykle 6 měsíců u žen nad 35 let a 12 měsíců u mladších žen) zároveň s pokračováním snahy o oplodnění přirozeným způsobem (nechráněný heterosexuální pohlavní styk). Tento postup je ženami často vnímán jako příliš pasivní a zdoluhavý a vyžadují aktivní přístup, tj. doporučení nějakého přípravku, který by ihned řešil jejich problém.

Vzhledem k tomu, že mnoho důležitých mikronutrientů má klíčový význam pro početí a udržení těhotenství a s vědomím, že tyto látky jsou sice běžně přítomné v potravě, ale z velké části se ničí nesprávnou úpravou a skladováním, je vhodné po tuto dobu suplementovat některé obzvláště prospěšné složky v standardizovaném množství. Proto již v tomto období je vhodné doplnit režimová opatření o suplementaci kombinací látek, které v organizmu mohou chybět a způsobovat poruchy plodnosti.

V případě, že ani tento postup (režimová opatření a suplementace mikronutrientů) nepovede do 6ti či

12ti měsíců k početí potomka, přistupujeme k farmakologickým a instrumentálním technikám, které je vhodné provádět ve spolupráci s centrem asistované reprodukce.

Již v úvodní fázi managementu neplodnosti je vhodné doplnit režimová opatření o suplementaci kombinací mikronutrientů, které v organizmu mohou chybět a způsobovat poruchy plodnosti.

Farmakologická stimulace ovulace

V současné době se ke stimulaci zrání oocytů používají čtyři hlavní farmakologické postupy a jejich kombinace:

- 1. Inzulínový senzitivátor:** myo-inositol, biguanid (metformin), glitazon (thiazolidindion)
- 2. Modulátor estrogenového receptoru:** klomifen citrát
- 3. Stimulátor ovária:** gonadotropin (rekombinantní FSH, purifikovaný urinální FSH, purifikovaný lidský menopauzální gonadotropin hMG (kombinace FSH a LH))
- 4. Blokátor estrogenu:** inhibitor aromatázy (letrozol, anastrozol) – v této indikaci se spíše nedoporučuje

Ke spuštění samotného ovulačního děje ve zvoleném čase se aplikuje purifikovaný lidský choriový gonadotropin (hCG).

V rámci stimulačních protokolů se v centrech asistované reprodukce k zabránění předčasné ovulace a k jejímu správnému načasování používají i GnRH agonisté (GnRH analoga: triptorelin, goserelin, buserelin) a antagonisté gonadoliberinů (cetorelix, ganirelix).

Klomifen je selektivní modulátor estrogenového receptoru (SERM). Selektivně inhibuje vazbu estradiolu na receptory v hypotalamu a hypofýze, což vede ke zvýšené tvorbě gonadotropinů a stimuluje ovulaci (10). Používá se 50–100 mg klomifenu denně po dobu většinou 5 dní od 3. nebo 5. dne cyklu. I v případě, že k ovulaci dojde, žena často neotěhotní (4). Klinické studie uvádí dosažení ovulace u 60–85 % a těhotenství u 30–50 % pacientek po šesti ovulačních cyklech (7). Vzhledem k antiestrogennímu působení dochází k výskytu nežádoucích účinků jako je vaginální atrofie/suchost s dyspareunií, zahuštění cervikálního hlenu a změny na endometriu. Tyto účinky však pravděpodobnost otěhotnění dále snižují.

V nedávné klinické studii u žen s PCOS bylo po 6ti měsíčním užívání klomifenu 50–150 mg denně zřa-

menáno 22,5 % porodů živého dítěte. Nežádoucím efektem bylo až 6 % vícečetných těhotenství (9). K navození samotné ovulace pro odběr vajíček pro umělé oplodnění či k načasování oplodnění přirozenou cestou se někdy aplikuje jednorázová dávka **hCG**, jakmile při ultrazvukovém vyšetření dosáhne průměr největšího folikulu 18 mm.

Při selhání klomifenu se injekčně aplikuje **folikulostimulační hormon (FSH)**, někdy v kombinaci s GnRH analogem, k zablokování sekrece LH. Vzhledem k vysoké ceně přípravků a k podmínkám úhrady z prostředků veřejného zdravotního pojištění je k ověření účinku nutná ultrazvuková folikulometrie. Stimulační protokoly s gonadotropiny jsou většinou úspěšné, vzhledem k nefyziologickému zvýšení hladiny hCG, která se u normální ovulace nevyskytuje, je po jeho exogenní aplikaci možný výskyt ovariálního hyperstimulačního syndromu (OHSS) s prosáknutím tkání, ztrátou cirkulujícího objemu do tělních dutin a zvýšením krevní srážlivosti. Je proto vhodné tyto stimulační procedury provádět ve spolupráci s centrem asistované reprodukce (4).

Používají se i kombinace antiestrogenů a gonadotropinů (klomifenu a FSH) a navíc oba je možné kombinovat s **inzulínovým senzitivátorem** (inositol, metformin) u pacientek rezistentních na terapii samotným klomifenem či FSH (4). Rezistence na klomifen je stanovena, když ani po šesti cyklech užívání klomifenu po dobu pěti dnů s počáteční dávkou 50 mg denně není dosaženo ovulace, ačkoliv po anovulačním cyklu se pro následující cyklus denní dávka zvýšila o 50 mg až do 150 mg (7).

Pro pochopení účinku inzulínových senzitivátorů při indukci ovulace u pacientek s PCOS je nutné vysvětlit souvislost mezi hyperandrogenémií, inzulinem a vznikem PCOS.

Vznik PCOS důsledkem expozice ženského plodu zvýšené hladině androgenů

Etiopatogeneze PCOS nebyla zatím zcela objasněna. Poukazuje se na možné poruchy jako inzulinová rezistence, nadprodukce androgenů, porucha sekrece luteinizačního hormonu (LH) v hypofýze, hypersekrece inzulínu a hyposekrece růstového hormonu (32). Souvislost mezi vznikem PCOS a zvýšenou expozicí androgenům během intrauterinního vývoje byla zkoumána a potvrzena v experimentálním modelu na opicích (5) a jiných zvířatech (11). Některé další experimentální práce na myších také ukazují na kauzální

vliv vysokých hladin steroidů (estrogenů, testosteronu, kortikosteroidů) v těhotenství na vznik PCOS u ženského potomka. Autoři zvláště upozorňují na možný negativní vliv alimentárních fytoestrogenů ze sóje a lnu a vliv velkého stresu u těhotné matky, kdy dochází k vyplavování vysokých titerů kortikosteroidů. Vysoké hladiny steroidů zřejmě narušují vyžívání T-lymfocytů. Absence vyžralých a plně funkčních regulačních T-lymfocytů tak může být příčinou poruchy ovulace a vzniku folikulů v ováriích (6).

Prenatální expozice plodu ženského pohlaví excessu androgenů je schopna naprogramovat reprodukční a me-tabolickou dysfunkci, která se následně u dívek může projevit různým stupněm virilizace a vznikem PCOS. U dívek s geneticky podmíněnou deficiencí 21-hydroxylázy, jejímž následkem došlo v intrauterinní vývoji ke zvýšené expozici androgenům se kromě tělesné popisuje i mentální virilizace – maskulinní typ chování, preference chlapeckých hraček a homosexuální/bisexuální orientace (11).

Novější práce oponují názoru, že by alimentární fytoestrogeny mohly způsobit PCOS, jelikož přirozeně zvýšené hladiny SHBG (sex-hormone binding globulin vázící androgeny v krvi) v těhotenství a placentární aromatizace mateřských androgenů brání virilizaci ženského plodu i u těhotných žen s PCOS (11). Je proto velmi pravděpodobné, že zdrojem androgenů, kterým je ženský plod in utero vystaven, je plod samotný. Nejčastěji se uvažuje právě o ovariální nadprodukcí androgenů (19).

Syntéza androgenů pod vlivem LH a inzulínu thékálními buňkami ovariálních folikulů

Thékální buňky v určité fázi zrání ovariálního folikulu exprimují na své cytoplasmatické membráně receptory pro LH, inzulín, lipoproteiny (HDL a LDL) a jiné. Antrální folikul je pak schopný pod vlivem LH, inzulínu či lipoproteinů syntetizovat do folikulární tekutiny vysoká množství androstendionu, která jsou následně v buňkách granulózy do určité míry konvertovány aromatázou na estradiol.

Hlavním stimulačním hormonem k produkci androgenů thékálními buňkami je sice LH, nicméně role inzulínu je rovněž významná. Navíc inzulín snižuje jaterní syntézu SHBG a tím dochází ke zvýšení množství volného biologicky aktivního testosteronu v cirkulaci, ačkoliv celková hladina testosteronu může zůstat v mezích normy anebo je jen mírně zvýšená (16).

Syntéza androgenů v thékálních buňkách je tedy regulována jak LH, tak i inzulinem a lipoproteiny, zatím-

co FSH reguluje aktivitu aromatázy v granulózových buňkách folikulů. Tím FSH určuje, kolik estrogenů se vytvoří konverzí androgenů uvolněných z thékálních buněk. Pokud je koncentrace LH relativně vyšší než hladina FSH, dochází k menší konverzi androgenů na estrogény a tím k hyperandrogenémii. Až 75 % žen s PCOS má zvýšené hodnoty LH a až 94 % má zvýšený poměr LH/FSH (16).

Inzulinová rezistence a hyperinzulinémie vede k rozvoji PCOS

V současnosti se primární poruchou v patogenezi PCOS jeví:

- Zvýšená produkce androgenů thékálními buňkami oocytů v ováriích a
- Porucha funkce inzulínu (inzulinová rezistence).

Plně rozvinutý fenotyp PCOS je tedy charakterizován klinickým a/nebo biochemickým hyperandrogenizmem, dysfunkční ovulací a přítomností mnohočetných folikulů (cyst) v ováriích. Ve velké míře se PCOS sdružuje s obezitou a inzulinovou rezistencí s kompenzatorní hyperinzulinémií (11) a to nejen u obézních, ale i u štíhlých žen s PCOS (16). U části žen s PCOS inzulinová rezistence chybí (4). Hyperinzulinemii zjišťujeme u 40–50 % žen se syndromem polycystických ovárií a až 27 % žen s anamnézou opakovaných potratů (1).

V České republice mají ženy s PCOS průměrný BMI (body mass index) 26 kg/m², porucha glukózové tolerance se vyskytuje u 10 % z nich, metabolický syndrom u 2 % a manifestní diabetes mellitus 2. typu u 1 %. V USA jsou ženy s PCOS obéznější (BMI 32 kg/m²), poruchu glukózové tolerance má 30 %, metabolický syndrom 49 % a manifestní diabetes mellitus 2. typu 7,5 % z nich (16).

Nejnovější etiopatogenetické hypotézy PCOS staví na první místo exces androgenů. Hyperandrogenismus indukuje převážně viscerální depozici lipidů. Převaha viscerálního tuku zpětně stimuluje sekreci androgenů v nadledvinách a ováriích a to:

- Přímo prostřednictvím adipokinů (adiponektin, TNF α , IL-6, leptin aj.) a
- Nepřímo prostřednictvím inzulinové rezistence a kompenzatorního hyperinzulinizmu.

Tím se pak uzavírá *circulus vitiosus*, jehož počátek je možné vypočítat již ve fetální fázi vývoje (11).

Ať už je fenotypický obraz PCOS jakýkoliv, všechny pacientky vykazují dysfunkční androgenní sekreci a proto se směřování léčebných zásahů na úpravu hladin androgenů projeví úpravou hyperandrogen-

ních, reprodukčních, metabolických i kardiovaskulárních dysbalancí.

Další prokázanou patologií u žen s PCOS je **post-receptorová porucha přenosu signálu na inzulinovém receptoru**. Inzulinový receptor je proteinkináza a zároveň transmembránový protein, na jehož extracelulární část se váže inzulin. Po navázání inzulínu se intracelulární část receptoru aktivuje a spustí několik systémů druhých posílů vedoucí ke konečnému efektu (17).

1. Nejvíce prozkoumaný systém druhých posílů navázaných na inzulinový receptor je **tyrozinkinázový systém**. Po navázání inzulínu na extracelulární část inzulinového receptoru dochází na intracelulární části k jeho autofosforylaci a tím k aktivaci kaskády dalších reakcí rezultující přesunem a začleněním intracelulárně uloženého transmembránového proteinu GLUT-4 do vnější cytoplazmatické membrány. Prostřednictvím glukózového transportéru GLUT-4 tak glukóza může vstoupit do buňky. U pacientů s obezitou, s diabetes mellitus 2. typu tak i u pacientek s PCOS se vyskytuje snížená odpověď buněk na stimulaci inzulínem ve smyslu vychytávání a utilizace glukózy, tzn. inzulinová rezistence (17).

2. Dalším ze systémů druhých posílů napojených na inzulinový receptor a nezávislých na tyrozinkinázovém systému je **systém inositolglykanový** (18, 19, 20, 21, 22). V cytoplazmatické membráně thékálních buněk ovariálních folikulů existují látky nazývané inositolfosfoglykany (IPG). Inositolfosfoglykany jsou membránové fosfolipidy s navázaným inositolem. Vyskytují se na intracelulární i extracelulární straně cytoplazmatické membrány. Existuje 9 různých stereoizomerů, nejvíce se v lidském organismu vyskytuje **myo-inositol** (MYO) v menší míře také D-chiro-inositol (DCI). Zatímco D-chiro-inositol může vznikat přímo v organismu epimerací myo-inositolu, myo-inositol tělo získává především z potravy a z produktů střevních bakterií. Bylo prokázáno (22), že ve stavu inzulinové rezistence dochází k několikanásobnému zvýšení exkrece MYO močí. Při následně zvýšené poptávce si tělo nedokáže MYO vyrobit či jej jinak doplnit v dostatečném množství a proto dochází i ke snížení konverze na DCI. Typicky k tomu dochází v ováriích, kde hyperinzulinémie v konečném důsledku vede k nedostatku DCI v oocytech. Oocyty se sice snaží stimulovat přeměnu MYO na DCI a udržet si tak dostatečnou hladinu DCI, množství MYO se však

časem vyčerpá. Snížená hladina DCI v oocytech naruší maturaci vajíček s tvorbou mnohočetných nezralých folikulů, oligo-anovulací a infertilitou.

Inzulinová rezistence může navodit nedostatek inositolu s rozvojem PCOS.

V řadě klinických studií se potvrdilo, že suplementace inositolu (jak MYO tak i DCI) obnovila spontánní ovariální aktivitu a tím i fertilitu, snížila hladinu androgenů v krvi, zlepšila glukózovou toleranci a další metabolické odchylky u pacientek s PCOS (25, 31).

V přímém srovnání použití myo-inositolu a D-chiro-inositolu u euglykemických pacientek s PCOS bylo prokázáno, že podání MYO vedlo k produkci oocytů statisticky signifikantně vyšší kvality než při podání DCI, tj. získal se vyšší počet zralých oocytů vhodných pro ICSI (intracytoplasmatická injekce spermie). Následná IVF (in-vitro fertilizace) byla také úspěšnější ve skupině MYO (28). Jeví se proto výhodnější u pacientek s PCOS použít MYO než DCI kvůli lepšímu účinku na oocyty a kvůli tomu, že DCI může vzniknout z MYO v těle samotném, ale MYO z DCI nikoliv.

Inzulinové senzitivátory v léčbě infertility u pacientek s PCOS

Jak bylo uvedeno výše, inzulin reguluje syntézu androgenů a SHBG, hyperinzulinémie přispívá k hyperandrogennímu stavu a proto terapeutický zásah vedoucí k normalizaci hladiny inzulinu vede ke zmírnění symptomů PCOS. Ke snížení inzulinémie je možné použít inzulinové senzitivátory, látky dnes běžně užívané v léčbě diabetes mellitus 2. typu (inositol, biguanidy, thiazolidindiony).

Inzulinová rezistence může způsobit vyčerpání zásob myo-inositolu v organismu, což dále prohlubuje inzulinovou rezistenci s rozvojem projevů PCOS.

Myo-inositol

Inositol je látka přirozeně se vyskytující v lidském organismu. Člověk sám není schopen inositol syntetizovat v potřebném množství a tak jej musí přijímat ve formě lecitinu anebo kyseliny fytové z rostlin (cereálie, ořechy, luštěniny, pomeranče atd.) anebo z potravy živočišného původu. Absolutní či relativní nedostatek inositolu mohou způsobit:

- Zvýšené ztráty inositolu: typicky u pacientek s PCOS, kde hyperinzulinémie navodí zvýšené ztráty DCI do moči.

- Zvýšená poptávka po inositolu – zvýšené ztráty DCI nahrazují oocyty zvýšenou konverzí MYO na DCI, výsledkem je však snížení zásoby MYO a následně i DCI.
- Snížená syntéza či dodávka potravou – např. narušení střevní mikroflóry antibiotiky.

Inositol nabývá 9 stereoizomerů, v lidském těle se vyskytuje převážně ve formě myo-inositolu (MYO), chemicky cis-1,2,3,5-trans-4,6-cyclohexanolu. Název myo-inositol je odvozen z faktu, že byl v roce 1850 poprvé separován právě ze svalů. Velká množství se vyskytují také v cytoplazmatických membránách neuronů mozku a míchy, kardiomyocytů, hepatocytů a thékálních buněk ovária.

Jak bylo uvedeno výše, MYO je integrální součástí cytoplazmatické membrány buněk, kde se jako jeden z druhých posílů inositolglykanového systému účastní v několika postreceptorových reakcích a podle typu buňky ovlivňuje mnoho metabolických procesů.

MYO je v thékálních buňkách ovarií vázán na membránové fosfolipidy a nacházíme jej tam ve formě myo-inositolfosfoglykanu (MYO-IPG). Když se inzulin naváže na inzulinový receptor, dojde k aktivaci určitých G-proteinů a MYO-IPG se uvolňuje z cytoplazmatické membrány a to jak do cytoplazmy thékální buňky, tak i do extracelulárního prostoru. Konečným efektem inzulinu v thékální buňce je:

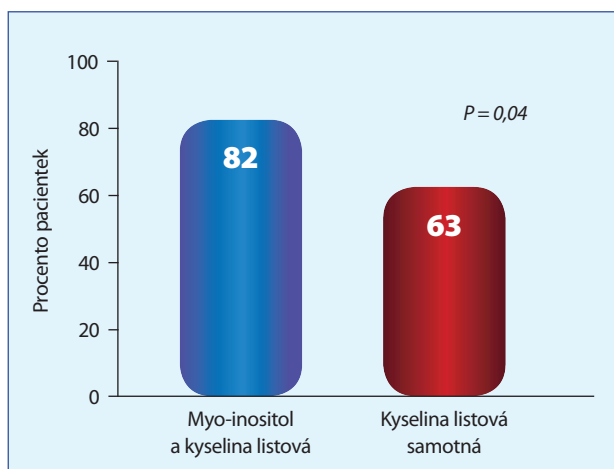
- **Zvýšené uvolňování MYO-IPG z membrány intracelulárně a tím:**
 - indukce tvorby androgenů,
 - zvýšení aktivity glykogensyntázy (glykogeneze = ukládání glukózy do zásob) a pyruvátdehydrogenázy (glykolýza = uvolnění energie z glukózy)
- **Zvýšené uvolňování MYO-IPG z membrány extracelulárně a tím:**
 - zvýšené ztráty myo-inositolu močí (18,21,22).

Jakmile je glukóza spotřebována či uložena do zásob, glykémie a následně i inzulinémie klesá. Ustává také uvolňování MYO-IPG z cytoplazmatické membrány do cytoplazmy thékálních buněk a extracelulárně. Výsledkem poklesu inzulinémie je tedy snížení tvorby androgenů (21).

Z výše uvedeného je zřejmé, jak hyperinzulinémie může způsobit ovariální androgenní hypersekreci a zároveň zvýšené ztráty myo-inositolu močí. Tyto ztráty nemusí být za určitých okolností dostatečně kompenzovány alimentárním přísunem MYO a tak dochází k nedostatku MYO v organismu. Snižuje se proto aktivita inositolglykanového systému druhých posílů a proto buňky (nejen ovariální, ale i mozkové,

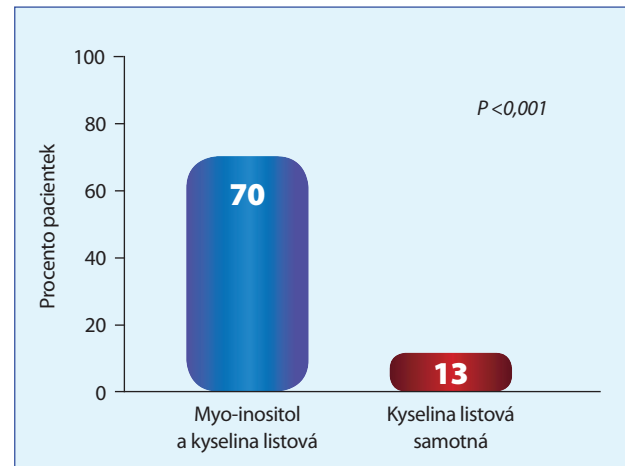
jaterní, srdeční atd.) přestávají dostatečně reagovat na inzulín, zhoršuje se inzulínová rezistence, stoupá inzulinémie, zvyšuje se tvorba androgenů a bludný kruh se uzavírá. Tyto metabolické odchylky nápadně připomínají stav u pacientek trpících PCOS a proto jsou oprávněné snahy investigátorů o protnutí tohoto bludného kruhu dodáním inositolu těmto nemocným. Podání jak MYO tak DCI vede ke zlepšení metabolických funkcí, ovšem podání MYO je výhodnější, protože vede k významnějšímu zlepšení maturace oocytů ve srovnání s DCI samotným (28). Navíc se chybějící DCI v organizmu doplní přeměnou z MYO. V krátkém přehledu uvádím výsledky souboru klinických studií potvrzujících pozitivní efekt suplementace myo-inositolu pacientkám s PCOS na úpravu ovulace a fertility, androgenémie a inzulinové tolerance.

1. MYO s kyselinou listovou zmírňuje metabolické odchylky u pacientek s PCOS a redukuje akné a hirsitismus (41).
2. MYO s kyselinou listovou zlepšuje funkčnost reprodukční osy u pacientek s PCOS a redukuje hyperinzulinémii, která ovlivňuje hladinu LH (42).
3. MYO s kyselinou listovou je jednoduchá a bezpečná léčba schopná obnovit ovariální aktivitu a následně fertilitu u většiny pacientek s PCOS. Tato terapie nezpůsobila mnohočetné těhotenství (43).
4. MYO (4 g denně) s kyselinou listovou je schopen zvýšit počet oocytů získaných ovariální stimulací pacientek s PCOS ve srovnání s kyselinou listovou samotnou (44) – randomizovaná, dvojitě slepá srovnávací studie u 92 žen s PCOS. Trvání studie: 14 týdnů.
5. MYO s kyselinou listovou snižuje sérové hladiny androgenů a inzulínu a zlepšuje toleranci glukózy a další metabolické odchylky u žen s PCOS (45).



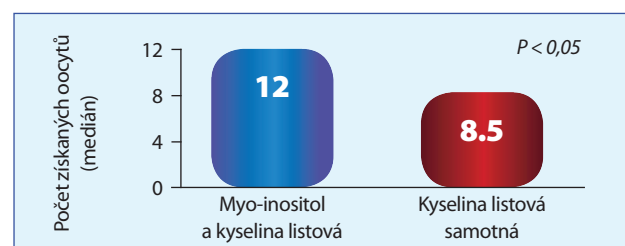
Obrázek 1: Statisticky signifikantně vyšší počet pacientek dosáhl ovulace při použití kombinace MYO a kyseliny listové ve srovnání s kyselinou listovou samotnou (44).

6. U pacientek s PCOS MYO s kyselinou listovou, ale ne kyselina listová samotná, statisticky signifikantně ($p=0,02$) snižuje množství nezralých oocytů (germinálních vesikulů a degenerovaných oocytů) bez ovlivnění celkového množství sebraných oocytů. Zároveň redukuje hladinu estradiolu po podání hCG, což snižuje riziko ovariálního hyperstimulačního syndromu (46).



Obrázek 2: Statisticky signifikantně vyšší počet pacientek dosáhl fyziologický ovariální rytmus (3 a více ovulací během trvání studie) při použití kombinace MYO a kyseliny listové ve srovnání s kyselinou listovou samotnou (44).

7. MYO a kyselina listová u pacientek s PCOS zvyšuje pravděpodobnost otěhotnění (48,4%) ve srovnání s metforminem (36,6%). MYO by měl být lék volby pro normalizaci menstruačního cyklu u pacientek s chronickou anovulací nebo infertilitou způsobenou anovulací. MYO se jeví účinnější než metformin a to bez výskytu nežádoucích účinků typických pro terapii metforminem (47).
8. MYO (4 g denně) s kyselinou listovou je schopen zvýšit počet oocytů získaných pro IVF ve srovnání s kyselinou listovou samotnou – randomizovaná, dvojitě slepá srovnávací studie u 34 žen s PCOS podstupujících IVF. Trvání studie: 3 měsíce před sběrem oocytů (48). Navíc počet implantovaných embryí a jejich kvalita byla vyšší při použití MYO ($p<0,01$). Počet nezralých oocytů (germinálních vesikulů a degenerovaných oocytů) byl také nižší ve skupině s MYO ($p=0,02$) (48).



Obrázek 3: Statisticky signifikantně vyšší počet vajíček získaných pro asistovanou reprodukci při použití kombinace MYO a kyseliny listové ve srovnání s kyselinou listovou samotnou (48).

NosiFol® nový přípravek pro ženy, kterým se nedaří otěhotnět

NosiFol® je doplněk stravy dostupný ve formě prášku, který se vypije rozpuštěný v jakékoliv tekutině. Jeden sáček obsahuje unikátní kombinaci inzulínového senzitizeru **myo-inositolu** (2g), **kyseliny listové** (200 µg), **vitaminů B6, B12** a **magnézia**.

Nedostatečný přívod **kyseliny listové** potravou způsobuje snížení schopnosti buněk syntetizovat DNA a tím se zhoršuje schopnost dělení buněk jak organismu, tak i případného embrya. Nedostatek kyseliny listové a vitamínu B12 způsobuje akumulaci homocysteinu a **hyperhomocysteinémii**.

Prekurzorem homocysteinu je methionin z potravy. Metabolismus methioninu pokračuje buď remetylací, anebo transsulfurací.

A. Remetylace zahrnuje dva navzájem propojené cykly, homocystein-methioninový a folátový cyklus:

a. Hlavní reakcí homocystein-methioninového cyklu je přeměna homocysteinu na methionin probíhající prostřednictvím přenosu metylové skupiny z 5-metyltetrahydrofolátu (5-metylTHF). Reakci katalyzuje metyltransferáza, jejíž kofaktorem je vitamin B12.

b. Pro průběh folátového cyklu je důležitá přeměna 5,10-metylentetrahydrofolátu na 5-metylTHF katalyzovaná metyilentetrahydrofolátoreduktázou (MTHFR).

B. Transsulfurace

Prvním krokem je spojení homocysteinu a serinu katalyzovaná enzymem cystathionin-β-syntázou. Kofaktorem je aktivní forma vitamínu B6 (pyridoxal-5-fosfát). Ireverzibilně tak vzniká cystathionin, který je v dalším kroku deaminován na cystein a α-ketoglutarát. Kofaktorem reakce je opět vitamin B6.

V nedávné metaanalýze randomizovaných studií se prokázalo, že denní suplementace kyselinou listovou a vitamínem B12 snižuje sérovou hladinu homocysteinu o 25–33 % (40). Adekvátní hladiny kyseliny listové a vitamínu B12 v prekoncepčním období také prokazatelně snižují riziko vrozených vad a potratů (26,27).

Vitamin B6 je pak kofaktorem dalších asi 140 reakcí v lidském organismu (35). Kromě toho uvolňuje komplex steroidní hormon – steroidní receptor z vazby na DNA, čímž zkracuje účinek těchto hormonů a umožňuje recyklaci receptoru pro další vazbu hormonu. Nedostatek vitamínu B6 tak může způsobit

zesílení účinku pohlavních hormonů v organismu, což bylo potvrzeno v experimentech. Biochemické znaky insuficience vitamínu B6 vykazuje 9–30 % lidí ve všeobecné populaci (37).

Suboptimální stav vitamínu B6 a zvýšená plasmatická koncentrace homocysteinu, což je marker nízké hodnoty kyseliny listové anebo vitamínu B12, zvyšuje riziko spontánního potratu. Nedostatek vitamínu B6 snižuje pravděpodobnost početí a zvyšuje riziko potratu v časně fázi těhotenství. Vyšší prekoncepční hladina vitamínu B6 naopak zvyšuje pravděpodobnost otěhotnění a udržení těhotenství. Rovněž riziko předčasného porodu je u žen s adekvátním stavem vitamínu B6 před početím o 50 % nižší než u žen s deficiencí tohoto vitamínu (34). Nepříznivý vliv špatného stavu vitamínu B6 matky na časná stadia těhotenství se vysvětluje úlohou tohoto vitamínu v metabolismu aminokyselin, lipidů, nukleových kyselin a glykogenu. Snížená aktivita enzymů, jejichž kofaktorem je vitamin B6 a které se účastní strukturální integrity arteriální stěny, může nepříznivě ovlivnit implantaci embrya a vývoj placenty (40). V České republice užívá hormonální antikoncepci (HAK) 40–50 % žen v reprodukčním věku. Vzhledem k tomu, že u nemocných PCOS dochází při užívání HAK k ústupu symptomatiky je velmi pravděpodobné, že mnoho žen s PCOS dlouhodobě HAK užívá. Bylo prokázáno, že u uživatelék HAK po dobu delší než 30 měsíců dochází ke snížení sérových hodnot vitamínu B6 během celého následného těhotenství a dokonce i laktace (36).

Vitamin B6 se navíc používá jako doplňková léčba žen s luteální insuficiencí (krátkou luteální fází).

Vitamin B6, B12 a kyselina listová mají mimořádný význam i pro **mužskou fertilitu**. Nedostatečný příjem těchto mikronutrientů a vznik mírné hyperhomocysteinémie má negativní vliv na spermatogenezi (49). Ve studiích stanovujících koncentraci homocysteinu, vitamínu B12 a kyseliny listové v seminální tekutině bylo zjištěno, že jejich hladina u zdravých mužů s normospermii byla výrazně vyšší než u mužů s azospermii, oligoasthenoteratozoospermii a azospermii (50, 51, 52).

Hořčík je důležitý minerál v metabolismu sacharidů. U lidí s hyperglykemií dochází k jeho nadměrným ztrátám (29). Hypomagnezémie může zhoršovat inzulínovou rezistenci. Denní suplementace hořčíku naopak inzulínovou rezistenci zlepšuje (30). Inzulínová rezistence může být jedním z projevů PCOS a její zlepšení může vést ke zmírnění symptomatiky. Některé studie

ukázaly, že nedostatek hořčiku může také přispívat k řadě příznaků spojených s premenstruačním syndromem (PMS) jako jsou změny nálady, nadýmání, citlivost prsů a nervozita. Provedené výzkumy dokazují, že dodání hořčiku v kombinaci s vitamínem B6 ženám s PMS tyto příznaky zmírňuje (38, 39).

NosiFol® není náhradou pestré vyvážené stravy. Poskytuje ověřenou kombinaci mikronutrientů v standardizované dávce. Může pomoci ženám, které trpí deficitem obsažených látek a kterým se nedaří otěhotnět.

Unikátní kombinace látek v přípravku NosiFol® byla vyvinuta na základě výsledků nejnovějších klinických studií potvrzujících účinnost některých obsažených složek na úpravu ovariální činnosti, obnovení fertility a zlepšení výsledků těhotenství.

Biguanidy: Metformin

Kromě všeobecně známých účinků (snížení jaterní glukoneogeneze a zvýšení inzulinem zprostředkované utilizace glukózy kosterními svaly a tukovou tkání) metformin zřejmě také snižuje ovariální tvorbu androgenů, což vede k poklesu androgenémie. Podání metforminu u pacientek s PCOS vedlo ke snížení hladin androgenů a LH, zlepšení inzulinové senzitivity a úpravě menstruačního cyklu (16).

Třetí workshop Evropské společnosti pro lidskou reprodukci a embryologii (ESHRE) a Americké společnosti pro reprodukční medicínu (ASRM) týkající se PCOS přesto nepovažuje metformin u žen s anovulačním PCOS za účinný ve smyslu stimulace fertility a donošení živého dítěte a jeho rutinní použití nedoporučuje. Podle metaanalýzy klinických studií metformin nesnižuje ani riziko potratu v případě jeho užívání pacientkami s PCOS před otěhotněním (8). Účinnost metforminu v léčbě neplodnosti u žen s PCOS byla potvrzena několika menšími klinickými hodnoceními a například australská doporučení pro léčbu PCOS použití metforminu pro indukci ovulace schvalují (7). Podle nich by se měl metformin použít v těchto situacích:

- U žen s PCOS rezistentních na klomifen v kombinaci s klomifemem,
- U žen s PCOS s BMI ≤ 30 kg/m² v monoterapii,
- U žen s PCOS s BMI ≥ 30 kg/m² v kombinaci s klomifemem.

Každopádně v těchto indikacích se jedná o tzv. off-label použití metforminu, jelikož tento je indikován pouze na léčbu diabetu 2. typu. Navíc ve schváleném souhrnu údajů o přípravku v rámci registračního řízení u Státního ústavu pro kontrolu léčiv (SÚKL) se nachází výslovné varování, že by diabetes neměl být léčen metforminem během těhotenství a v případě, že pacientka plánuje otěhotnět (13). Možná poškození plodu či jakékoliv jiné komplikace v těhotenství by pak mohli být kladeny za vinu indukujícímu lékaři. Z forenzních důvodů je proto racionální důkladně zvážit toto riziko. Navíc je terapie metforminem spojena s relativně častým výskytem nežádoucích účinků ve smyslu snížené gastrointestinální tolerance přípravku a to zejména ve vyšších dávkách. Dalším argumentem pro preferenci MYO před metforminem je výsledek srovnávací studie, kde byla potvrzena vyšší účinnost MYO než metforminu a to bez výskytu nežádoucích účinků typických pro metformin u pacientek s infertilitou v souvislosti s anovulací (47).

Glitazony (thiazolidindiony)

Použití glitazonů k indukci ovulace je sice účinné a možné, vzhledem k bezpečnostním obavám vůči plodu při dlouhodobém užívání u žen v reprodukčním věku se nedoporučuje a to ani pro léčbu diabetu 2. typu u žen s PCOS (8). V graviditě jsou kontraindikovány (16).

Závěr

Prvním krokem v managementu neplodnosti jsou režimová opatření. Tento postup je ženami často vnímán jako příliš pasivní a zdlouhavý a vyžadují aktivní přístup, tj. doporučení přípravku, který by řešil jejich problém ihned. Recentní klinické studie potvrdily, že suplementace mikronutrientů (zejména myo-inositolu) obnovuje spontánní ovariální aktivitu a fertilitu a zároveň redukuje další symptomy spojené s PCOS. NosiFol® nabízí novou možnost aktivního managementu infertility již v první linii a může zvýšit šanci na úspěšné zvládnutí problému.

Literatura

1. Hudeček R., Krajčovičová R., Ventruba P. Farmakologické možnosti embryoprotektivní terapie infertilních žen. *Klin Farmakol Farm* 2009; 23(2): 76–82.
2. Kvasnička J. Trombofilie a trombotické stavy v klinické praxi. Grada 2003.
3. Stárka L. Současný pohled na syndrom polycystických ovárií. *Gynekolog* 2004;13(2): 56–61.
4. Barták A. Diagnostika a léčba neplodnosti. *Gynekolog* 2011;20(3):87–91.
5. Abbott D.H., Dumesic D.A., Franks S.: Developmental origin of polycystic ovary syndrome - a hypothesis. *J Endocrinol.* 174, 2002, s. 1–5.
6. Chapman JC et al, The estrogen-injected female mouse: new insight into the etiology of PCOS, *Reprod Biol Endocrinol.* 2009 May 18;7(1):47.
7. Assessment and management of polycystic ovary syndrome: summary of an evidence-based guideline. *The Medical Journal of Australia MJA.* 19 September 2011;195 (6): s65–112.
8. Consensus on women's health aspects of polycystic ovary syndrome (PCOS): the Amsterdam ESHRE/ASRM-Sponsored 3rd PCOS Consensus Workshop Group. *Fertil Steril* 2012 Jan;97(1):28–38.e25. Epub 2011 Dec 6.
9. Legro RS, Barnhart HX, Schlaff WD. Clomiphene, Metformin, or Both for Infertility in the Polycystic Ovary Syndrome. *N Engl J Med* 2007;356:551–66.
10. Clostilbegyt. Souhrn údajů o přípravku. www.sukl.cz.
11. Alpañés M, Fernández-Durán E, Escobar-Morreale HF. Androgens and polycystic ovary syndrome. *Expert Rev Endocrinol Metab* 2012;7(1): 91–102.
12. Norman RJ, Wu R, Stankiewicz MT. Polycystic ovary syndrome. *The Medical Journal of Australia MJA* 2004; 180: 132–137.
13. Glucophage 500 mg. Souhrn údajů o přípravku. www.sukl.cz.
14. Zdravotnická ročenka České republiky 2010. Ústav zdravotnických informací a statistiky České republiky, 2011. www.uzis.cz.
15. Unfer V. Polycystic ovary syndrome: a vitamin deficiency? Floating a new pathogenesis hypothesis. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2010;14: 1101–1105.
16. Šarapatková H. Současný pohled na syndrom polycystických ovárií. *Interní Med.* 2008; 10(10): 461–5.
17. Dunaif A., Wu X., Lee A. Defects in insulin receptor signaling in vivo in the polycystic ovary syndrome (PCOS). *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2001; 281:E392–E399.
18. Baillargeon, JP., Luorno, MJ, Apridonidze, T., et al. Uncoupling Between Insulin and Release of a D-Chiro-Inositol-Containing inositolphosphoglycan Mediator of Insulin Action in Obese Women With Polycystic Ovary Syndrome. *Metabolic Syndrome and related disorders* 2010; Vol 8, No. 2.
19. Poretsky L, Seto-Young D, Shrestha A, et al. Phosphatidyl-Inositol-3 Kinase-Independent Insulin Action Pathway(s) in the Human Ovary. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:3115–3119.
20. Sleight S., Wilson BA., Heimark DB., Larner J. Gq/11 is involved in insulin-stimulated inositol phosphoglycan putative mediator generation in rat liver membranes: co-localization of Gq/11 with the insulin receptor in membrane vesicles. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 2002;295:561–569.
21. Larner J. D-Chiro-Inositol in Insulin Action and Insulin Resistance—Old-Fashioned Biochemistry Still at Work. *IUBMB Life* 2001;51:39–148.
22. Larner J., Brautigan DL., Thorner MO. D-Chiro-Inositol Glycans in Insulin Signaling and Insulin Resistance. *Mol Med* 2010; 16(11–12):543–551.
23. Levine J. Controlled trials of inositol in psychiatry. *Eur Neuropsychopharmacol.* 1997;7(2):147–55.
24. Papaleo E, Unfer V, Baillargeon JP, et al. Myo-inositol in patients with polycystic ovary syndrome: a novel method for ovulation induction. *Gynecol Endocrinol.* 2007 Dec;23(12):700–3.
25. Unfer V, Carlomagno G, Dante G, Facchinetti F. Effects of myo-inositol in women with PCOS: a systematic review of randomized controlled trials. *Gynecol Endocrinol.* 2012 Feb 1.
26. Stránský M. Preventivní účinky kyseliny listové. *Interní Med.* 2011;13(4): 159–162.
27. Thompson MD et al. Vitamin B-12 and neural tube defects: the Canadian experience. *American Journal of Clinical Nutrition* 2009;89(2):697S–701S.
28. Unfer V, Carlomagno G, Rizzon P, et al. Myo-inositol rather than D-chiro-inositol is able to improve oocyte quality in intracytoplasmic sperm injection cycles. A prospective, controlled, randomized trial. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2011 Apr;15(4):452–7.
29. American Diabetes Association. Nutrition recommendations and principles for people with diabetes mellitus. *Diabetes Care* 1999;22:542–5.
30. Paolisso G, Sgambato S, Gambardella A, Pizza G, Tesouro P, Varrichio H, D'Onofrio F. Daily magnesium supplements improve glucose handling in elderly subjects. *Am J Clin Nutr* 1992;55:1161–7.
31. Galazis N, Galazi M, Atiomo W. D-Chiro-inositol and its significance in polycystic ovary syndrome: a systematic review. *Gynecological Endocrinology*, April 2011; 27(4): 256–262.
32. Vrbíková J. Syndrom polycystických ovárií. *Interní Med.* 2003; 11: 554–7.
33. Marek J. Hyperprolaktinémie v praxi. *Interní Med.* 2008; 10(12): 549–554.
34. Ronnenberg AG, Venners SA, Xu X. Preconception B-Vitamin and Homocysteine Status, Conception, and Early Pregnancy Loss. *Am J Epidemiol* 2007;166:304–312.
35. Hellmann H, Mooney S. Vitamin B6: A Molecule for Human Health? *Molecules* 2010, 15, 442–459.
36. Roepke JLB, Kirksey A. Vitamin B6 nutrition during pregnancy and lactation. *Am J Clin Nutr* 1979; 32: 2257–2264.
37. Bender DA. Novel functions of vitamin B6. *Proceedings of the Nutrition Society* 1994; 53,625–630.

Literatura

38. Fathizadeh N, Ebrahimi E, Valiani M, et al. Evaluating the effect of magnesium and magnesium plus vitamin B6 supplement on the severity of premenstrual syndrome. *Iran J Nurs Midwifery Res.* 2010 Dec;15:401–551.
39. Svojanovská K. Současné možnosti diagnostiky a léčby závažného PMS/PMDD. *Moderní babičtví* 2010: 19.
40. Cetin I, Berti C, Calabrese S. Role of micronutrients in the periconceptual period. *Human Reproduction Update* 2010;16(1):80–95.
41. Zacche MM, et al. Efficacy of myo-inositol in the treatment of cutaneous disorders in young women with polycystic ovary syndrome. *Gynecol Endocrinol* 2009 Aug;25(8):508–13.
42. Genazzani AD, et al. Myo-inositol administration positively affects hyperinsulinemia and hormonal parameters in overweight patients with polycystic ovary syndrome. 2008 Mar;24(3):139–44.
43. Papaleo E, et al. Myo-inositol in patients with polycystic ovary syndrome: a novel method for ovulation induction. *Gynecol Endocrinol* 2007 Dec;23(12):700-3. Epub 2007 Oct 10.
44. Gerli S, Papaleo E, Ferrari A, Di Renzo GC. Randomized, double blind placebo- controlled trial: effects of myo-inositol on ovarian function and metabolic factors in women with PCOS. *Eur Rev Pharmacol Sci.* 2007;11(5):347–354.
45. Costantino D, Minozzi G, Minozzi F, Guaraldi C. Metabolic and hormonal effects of myo-inositol in women with polycystic ovary syndrome: a double-blind trial. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2009; 13(2):105–110.
46. Papaleo E, Unfer V, Baillargeon JP, et al., Myo-inositol may improve oocyte quality in intracytoplasmic sperm injection cycles. A prospective, controlled, randomized trial. *Fertil Steril.* 2009 May;91(5):1750-4. Epub 2008 May 7.
47. Raffone E, Rizzo P, Benedetto V. Insulin sensitiser agents alone and in co-treatment with r-FSH for ovulation induction in PCOS women. *Gynecol Endocrinol* 2010 Apr;26(4):275–80.
48. Ciotta L, Stracquadanio M, Pagano I, et al. Effects of myo-inositol supplementation on oocyte's quality in PCOS patients: a double blind trial. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2011;15(5):509–514.
49. Wong WY, Merkus HM, Thomas CM, et al. Effects of folic acid and zinc sulfate on male factor subfertility: a doubleblind, randomized, placebo-controlled trial. 2002, *Fertil. Steril.* 77:491–498.
50. Králíková M, Tallová J, Crha I, Hill M. Homocysteine, folate, and vitamin B 12 in seminal plasma. 2005, Pavia Italy: Ferrat-Storti Foundation, ISSN1824–9337.
51. Kubešová, J., Tallová, J., Králíková, et al. Homocysteine, folate and vitamin B 12 in seminal plasma of males with oligoasthenoteratozoospermia and azoospermia. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine.* 2007;45(5): A46.
52. Boxmeer JC, Smit M, Weber RF, et al. Seminal plasma cobalamin significantly correlates with sperm concentration in males undergoing IVF or ICSI procedures. *J Androl* 2007;28:521–527.