

Univerzita Karlova

Lékařská fakulta v Plzni



Disertační práce

Klinicko-patologická korelace chronických lézí dutiny ústní

Clinical-pathological correlation of chronic oral lesions

Jan Liška

Plzeň 2023

Disertační práce byla vypracována v rámci *kombinovaného* doktorského studijního programu *Patologie* na *Šiklově ústavu patologie LF UK v Plzni*.

Uchazeč: *MUDr. Jan Liška*
Stomatologická klinika FN a LF UK v Plzni

Předseda oborové rady: *doc. MUDr. Květoslava Michalová, Ph.D.*
Šiklův ústav patologie LF UK v Plzni

Školitel: *prof. MUDr. Alena Skálová, CSc.*
Šiklův ústav patologie LF UK v Plzni

Konzultant: *doc. MUDr. et MUDr. Lukáš Hauer, Ph.D.*
Stomatologická klinika FN a LF UK v Plzni

Oponenti: *prof. MUDr. Samuel Vokurka, Ph.D.*
Onkologická a radioterapeutická klinika FN a LF UK v Plzni

MUDr. Simona Kaprálová, Ph.D.
Stomatologická klinika FN a LF UP v Olomouci

Obhajoba disertační práce před komisí pro obhajobu disertačních prací studijního programu *Patologie*
se koná dne: 26.9.2023 v: 13:00 hod.

Místo obhajoby: Bioptická laboratoř s.r.o., Mikulášské nám. 4, Plzeň

Tato disertační práce nevznikla za podpory grantu.

S disertační prací je možno se seznámit na děkanátu Lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Plzni, Alej Svobody 1655/76, 323 00 Plzeň 1.

Předmluva

Klinicko patologická korelace chronických lézí orální sliznice je pro zvládnutí léčby působících nemocí nezbytná. Dlouhodobé léze sliznice dutiny ústní se diferenciatně diagnosticky dělí na potenciálně maligní patologické léze (oral potentially malignant disorders; OPMD) a chronické léze sliznice dutiny ústní premalignitu napodobující, například projevy orálního lichenu, chronické kandidózy, ulcerace rozličné etiologie a léze autoimunitních chorob. OPMD jsou z pohledu klinického definovány jako leukoplakie nebo erytroplakie, a z pohledu patologického jde o dysplázie, neboli epiteliální prekurzorové léze, typu low-grade či high-grade intraepiteliální squamózní léze.

Disertační práce je zaměřena na korelaci histopatologických morfolozických a klinických znaků chronické hyperplastické kandidózy (CHC). Jde o vzácnou variantu kvasinkové infekce orální sliznice, jejíž patologický charakter, příčiny vzniku i důsledky pro pacienta jsou stále předmětem diskuzí a úvah. Onemocnění je multifaktoriální, a proto vyžaduje pečlivé sledování pacientů a komplexní vyšetření i mimo stomatologickou oblast. Většina odborných publikací zpracovává tematiku CHC na základě velmi malých souborů pacientů s krátkou dobou sledování, což znesnadňuje vytvářet jednoznačné závěry. Vzhledem k námi pozorované, přinejmenším časové souvislosti CHC s OPMD a finálně dokonce se vznikem dlaždicobuněčného karcinomu dutiny ústní, je cílem disertační práce sestavení početného souboru pacientů k jasnější definici faktorů vedoucích nejen ke vzniku lézí, ale zejména recidiv a prognózy onemocnění. Zpřesněním korelace klinických a patologických znaků CHC by mělo být dosaženo nejen zlepšení diagnostiky, ale i léčby a celkové prognózy onemocnění.

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že jsem disertační práci na téma „Klinicko patologická korelace chronických lézí dutiny ústní“ vypracoval samostatně a s použitím uvedené literatury a pramenů.

V Plzni, dne 11. 7. 2023

Jan Liška

Poděkování

Za vedení, odborné rady a skvělou spolupráci při zpracování tématu závěrečné práce mnohokrát děkuji mé školitelce prof. MUDr. Aleně Skálové, CSc., konzultantovi doc. MUDr. et MUDr. Lukáši Hauerovi, Ph.D., specialistům na diagnostiku lézí dutiny ústní prof. MUDr. Denise Kacerovské, Ph.D. a MUDr. Ondřeji Ondičovi, Ph.D., a klinickým kolegům MUDr. Evě Valentové a MDDr. Veronice Liškové.

Abstrakt

Úvod: Disertační práce popisuje lokální a systémové faktory chronických lézí orálního epitelu. Je zaměřena na diagnózu chronické hyperplastické kandidózy. Popisuje znaky a projevy tohoto onemocnění, jeho komplexní diagnostiku a léčbu. Poukazuje na možnosti korelace klinických atributů lézí, histologických nálezů a laboratorních obrazů či mikrobiologických kultivací v průběhu choroby. Práce se zabývá možnostmi stabilní korekce stavu pacientů. Pro úspěšnou terapii je nutná spolupráce stomatologů s ošetřujícími praktickými lékaři i specialisty v oboru imunologie.

Metody: Ve studii bylo sledováno 128 pacientů s histologicky verifikovanou chronickou hyperplastickou kandidózou. Byly stanoveny anamnestické a klinické rizikové faktory vzniku lézí. Subjektivní obtíže byly vyšetřeny u 117 pacientů. Dále byla u 61 pacientů vyšetřena humorální i buněčná imunita. Průběžně se prováděla kultivační vyšetření ze slizničních stěrů. Průběžně se sledovala korelace vývoje klinického nálezu a subjektivních potíží.

Výsledky: Byly vyhodnoceny korelace rizikových faktorů na průběh a recidivy choroby. Prokázal se význam hyposalivačních působků, nikotinu a polymorbidity pacientů. U 22 případů ze 128 histologicky verifikovaných CHC byly kultivace stěrů opakovaně negativní. Kompletní remise, tedy absence klinické léze i subjektivních potíží, dosáhlo 49 ze 128 pacientů. Ve 20 případech byla verifikována orální epiteliální dysplázie, z toho 3 případyjevily známky těžké dysplázie. U 16 pacientů byl diagnostikován diferencovaný typ orální intraepiteliální neoplázie. V průběhu dispenzarizace došlo k rekurenci CHC u 20 pacientů.

Závěr: Jako rizika pro rekurenci CHC byly potvrzeny: přítomný nikotinismus přes 10 cigaret za den, mužské pohlaví pacientů a nízké pH salivace. Ve 20 případech vznikla orální epiteliální dysplázie, z toho třikrát dysplázie těžkého typu. Diferencovaný typ orální intraepiteliální neoplázie byl prokázán u 16 pacientů. Orální lichen planus byl histologicky diferencován v 41 případech. Leukoplakie vznikla u 20 pacientů. Expres proteinu p53 byla pozitivní v 66 ze 73 imunohistochemických vyšetření, z toho ve 24 případech byla pozitivita v dlouhé nepřerušené řadě buněčných jader. U 11 ze 128 (8,59 %) dispenzarizovaných pacientů s CHC došlo ke vzniku karcinomu orální sliznice. Rizikovými faktory u případů zvratu v malignitu byly ženské pohlaví, lokalita tvářové sliznice, klinická rekurence CHC, pozitivní kultivace kvasinek ze stěru a užívání lokálních kortikosteroidů. U případů maligní transformace se 7krát prováděla rebiopsie a u 6 z 11 případů předcházel vzniku karcinomu průkaz orální epiteliální dyplázie.

Klíčová slova: chronické slizniční léze – leukoplakie - kandidóza - chronická hyperplastická kandidóza – orální intraepiteliální neoplázie - karcinom dutiny ústní - vizuální analogická stupnice

Summary

Background: The dissertation deals with local and systemic factors of chronic oral epithelial lesions. It is focused on chronic hyperplastic candidosis. Describes features and behaviour of this disease, its complex diagnostics and therapy. Shows the options of correlation between clinical attributes of lesions, histologic image, laboratory results or microbiological cultivations during this disease. Possible stable correction measures for stabilization of patients are shown. For successful therapy is a cooperation of dentist, practitioners and immunologists mandatory.

Methods: The study has 128 patients with histologically verified chronic hyperplastic candidosis. Anamnestic and clinical risk factors for lesion manifestation have been determined. Examination for subjective complaints was performed at 117 patients. Immunological status was evaluated in 61 patients for both humoral and cellular immunity. Through the dispensary cultivation checks and correlation of clinical status and subjective problems have been performed.

Results: Correlations of risk factors for the course of disease and its recurrence were evaluated. The importance of conditions causing hyposalivation has been proved as well as the role of nicotinism and polymorbidity. In 22 of 128 CHC cases were swab cultivations repeatedly negative. Complete remission, meaning absence of clinical lesion and absence of subjective complaints, was reached by 49 of 128 patients. Oral epithelial dysplasia was verified in 20 cases, in 3 cases severe dysplasia. Differentiated type of oral intraepithelial neoplasia was diagnosed in 16 patients. During dispensarisation were 20 cases of CHC recurrent.

Conclusion: As risk factors for CHC recurrence were proven: nicotinism over 10 cigarettes a day, male sex of patients and decreased pH of salivation. In 20 cases developed oral epithelial dysplasia, in 3 cases severe dysplasia. Differentiated type of oral intraepithelial neoplasia was verified in 16 patients. Oral lichen planus was histologically differentiated in 41 cases. Leukoplakia developed in 20 patients. Expression of protein p53 was positive in 66 of 73 immunohistochemical examinations, of those in 24 cases was positivity in long continuous line of cellular nuclei. In 11 of 128 patients with CHC at dispensary (8,59%) developed oral mucosa carcinoma. Risk factors in malignant transformation cases were female sex, locality of buccal mucosa, clinical recurrence of CHC, positive cultivation of candida from swab and usage of local corticosteroids. In cases of malignant transformation were performed rebiopsies 7 times and in 6 of 11 cases was development of carcinoma preceded by verification of oral epithelial dysplasia.

Keywords: chronic mucosal lesions – leukoplakia - candidosis - chronic hyperplastic candidosis – oral intraepithelial neoplasia - oral squamous cell carcinoma – visual analog scale

Obsah

SEZNAM OBRÁZKŮ	8
SEZNAM TABULEK.....	9
SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK.....	9
1 ÚVOD.....	14
1.1 CHRONICKÉ LÉZE ORÁLNÍHO EPITELU	14
1.2 WHO KLASIFIKACE ORÁLNÍCH POTENCIONÁLNĚ MALIGNÍCH PORUCH.....	14
1.3 ORÁLNÍ EPITELIÁLNÍ DYSPLÁZIE.....	16
1.4 DIFERENCOVANÝ TYP ORÁLNÍ INTRAEPITELIÁLNÍ NEOPLÁZIE.....	18
1.5 IMUNOHISTOCHEMIE UŽÍVANÁ V DIAGNOSTICE CHRONICKÝCH ORÁLNÍCH LÉZÍ.....	18
1.6 IMUNOLOGICKÉ ASPEKTY CHRONICKÝCH EPITELIÁLNÍCH LÉZÍ DUTINY ÚSTNÍ.....	19
1.7 KLINICKÉ FORMY ORÁLNÍCH KANDIDÓZ	20
1.8 INDUKČNÍ FAKTORY KANDIDÓZ DUTINY ÚSTNÍ.....	21
1.9 CHARAKTERISTIKA MIKROBIÁLNÍCH AGENS ORÁLNÍ KANDIDÓZY	22
1.10 NON-ALBICANS KANDIDY DUTINY ÚSTNÍ.....	22
1.11 REAKCE ORÁLNÍHO EPITELU NA KANDIDY	23
1.12 OBRANA ORGANISMU PROTI KVASINKÁM	23
1.13 DIAGNOSTIKA CHRONICKÉ HYPERPLASTICKÉ KANDIDÓZY (CHC)	24
1.14 CHRONICKÁ HYPERPLASTICKÁ KANDIDÓZA V LITERATUŘE	24
1.15 INTERAKCE CANDIDA ALBICANS S ORÁLNÍM EPITELEM U CHC.....	25
1.16 TEORIE PENETRACE HYF SKRZE EPITEL U LÉZÍ CHC	28
1.17 RIZIKOVÉ FAKTORY VZNIKU CHC	28
1.18 OTÁZKY UVAŽOVANÉ POTENCIÁLNĚ MALIGNÍ PORUCHY U CHC.....	28
1.19 TERAPIE CHC NESPECIFICKÁ.....	29
1.20 TERAPIE CHC SPECIFICKÁ - ANTIMYKOTIKA.....	31
1.21 LASER TERAPIE CHRONICKÝCH LÉZÍ ORÁLNÍHO EPITELU A TERAPIE FOTODYNAMICKÁ	34
1.22 IMUNOMODULACE KE ZVÝŠENÍ OBRANYSCHOPNOSTI VŮČI KANDIDÓZÁM	35
2 HYPOTÉZY A CÍLE PRÁCE	36
2.1 HYPOTÉZY	36
2.2 CÍLE PRÁCE	36
3 HYPOTÉZY.....	37
3.1 DĚLENÍ HYPOTÉZ	37
3.2 HYPOTÉZY POPISUJÍCÍ ZMĚNY SALIVACE.....	37
3.3 HYPOTÉZY POPISUJÍCÍ VLIV POHLAVÍ V ETIOLOGII CHC.....	40
3.4 HYPOTÉZY K FAKTORŮM ZMĚN PH.....	40
3.5 HYPOTÉZY O FAKTORECH ZVYŠUJÍCÍCH KULTIVACI KANDID.	42
3.6 HYPOTÉZY OVLIVNĚNÍ RECIDIV CHC.....	44
3.7 HYPOTÉZY O FAKTORECH OVLIVNĚNÍ TERAPIE A PROGNÓZY CHC.....	44
4 MATERIÁL A METODIKA	46
4.1 CHARAKTERISTIKA VYŠETŘOVANÉ SKUPINY PŘÍPADŮ	46
4.2 DIFERENCIACE KULTIVACÍ KANDID, CHROMAGAR	47
4.3 PRŮKAZ VLÁKNITÝCH FOREM KANDID PERIODIC ACID SCHIFF.....	48
4.4 DOPLŇUJÍCÍ PREBIOPTICKÉ METODY	48

4.5	VYŠETŘENÍ IMUNOLOGICKÉ A ALERGOLOGICKÉ	48
4.6	IMUNOHISTOCHEMICKÁ VYŠETŘENÍ.....	48
4.7	TERAPEUTICKÉ METODY.....	49
5	VÝSLEDKY	50
5.1	HODNOCENÍ KLINICKO PATOLOGICKÉ KORELACE.....	50
5.2	HODNOCENÍ HYPOTÉZ OVLIVNĚNÍ SALIVACE A Vlivu SEX FAKTORU U PACIENTŮ S CHC	54
5.3	HODNOCENÍ HYPOTÉZ OVLIVNĚNÍ PH SLIN.....	55
5.4	HODNOCENÍ HYPOTÉZ ELEVACE KANDIDOVÝCH KULTIVACÍ U CHC	55
5.5	HODNOCENÍ HYPOTÉZ O RECIDIVÁCH CHC	56
5.6	HODNOCENÍ HYPOTÉZ O OVLIVNĚNÍ LÉČBY A PROGNÓZY CHC	58
6	DISKUZE	59
7	ZÁVĚRY	61
	POUŽITÁ LITERATURA.....	62
	PŘEHLED PUBLIKAČNÍ ČINNOSTI AUTORA.....	71

Seznam obrázků

- Obrázek 1.7-1 Akutní pseudomembranózní kandidóza dutiny ústní
- Obrázek 1.15-1 Chronická hyperplastická kandidóza v retroangulární oblasti
- Obrázek 1.15-2 Chronická hyperplastická kandidóza jazyka
- Obrázek 1.15-3 Chronická hyperplastická kandidóza patra
- Obrázek 1.20-1 Přehled lokálních antimykotik
- Obrázek 1.20-2 Citlivost kandid k Nystatin suspenzi
- Obrázek 1.20-3 Citlivost kandid k Mikonazol gelu
- Obrázek 1.21-1 Laser ablace retroangulární léze chronické hyperplastické kandidózy
- Obrázek 4.1-1 Biopsie CHC se zachycením hyf barvením Periodic acid Schiff
- Obrázek 4.1-2 Vizuální analogová stupnice
- Obrázek 4.2-1 Značení kandid systémem CHROMagar
- Obrázek 5.2-1 Graf Box-plot Ženský sex faktor je asociován s nižším objemem nestimulované slivace
- Obrázek 5.3-1 Graf Box-plot Nikotinismus snižuje pH nestimulované sliny
- Obrázek 5.4-1 Graf Box-plot Diabetes mellitus u CHC je spojen s vyšší kultivací kandid oproti CHC pacientům bez diabetu
- Obrázek 5.5-1 Graf Box-plot Silný nikotinismus je asociován s vyššími recidivami CHC
- Obrázek 5.5-2 Graf Box-plot Mužský sex faktor je asociován s vyššími recidivami CHC
- Obrázek 5.6-1 Graf Box-plot Souvislost proteinu p53 s popisem dysplázií u biopsií CHC

Seznam tabulek

Tabulka 1.2	Orální potenciálně maligní poruchy dle předchozí a současné WHO klasifikace
Tabulka 1.3	Histomorfologické znaky a diagnostická kritéria orální epitelální dysplázie
Tabulka 3.2	Hypotézy – indukční faktory vzniku CHC – hyposalivace
Tabulka 3.3	Hypotézy – vliv pohlaví pacientů v etiologii CHC
Tabulka 3.4	Hypotézy – indukční faktory vzniku CHC – pokles pH
Tabulka 3.5	Hypotézy – indukční faktory vzniku CHC – faktory zvyšující kultivaci kandid
Tabulka 3.6	Hypotézy – okolnosti recidiv CHC
Tabulka 3.7	Hypotézy – faktory ovlivnění léčby a prognózy CHC
Tabulka 5.1-1	Klinické a patologické znaky CHC
Tabulka 5.1-2	Rizikové znaky u případů CHC s maligní transformací léze

Seznam použitých zkratk

AAT	alfa-1- antitrypsin
AMP	antimikrobiální peptidy
C. a.	Candida albicans
CFU	eng.: colony forming units – kolonie tvořící jednotky
CHC	chronická hyperplastická kandidóza

CHX	chlorhexidin diglukonát
CLR	C-typ lektin receptory
CMC	chronická mukokutánní kandidóza
CMV	cytomegalovirus
DM	diabetes mellitus
DNA	deoxyribonukleová kyselina
dOIN	diferencovaný typ orální intraepiteliální neoplázie
dPeIN	diferencovný typ penilní intraepiteliální neoplázie
DÚ	dutina ústní
dVIN	diferencovaný typ vulvální intraepiteliální neoplázie
ERK	extracelulární signálem regulovaná kináza
Ery	erytrocyty
Er: Cr: YSGG	erbium chromium yttrium skandium galium granát laser
Flc	flukonazol
F/U	eng.: follow up – sledování v rámci dispenzarizace
GERD	eng.: gastroesophageal reflux disease – gastroezofageální refluxní choroba
GIT	gastro intestinální trakt

Gl.	lat.: glandula – žláza
HCO ₃ ⁻	bikarbonát
HCV	hepatitis C virus
HE	hematoxylin eosin
Hgb	hemoglobin
HIV	humánní imunodeficientní virus
HPV	eng.: human papillomavirus – lidský papiloma virus
HSV	herpes simplex virus
IDDM	insulin dependentní diabetes mellitus
Ig G, A, M	imunoglobuliny G, A, M
IL	interleukin
INR	eng.: international normalised ratio – čas srážlivosti krve
JSOP	Japonská společnost pro orální patologii
KS	kortikosteroidy
LAM	lokální antimykotika
LOH	eng.: loss of heterozygosity – ztráta heterozygozity
LR	eng.: long row – pozitivita proteinu p53 v dlouhé řadě buněčných jader

MAPK	mitogen aktivovaná protein kináza
MIC	eng.: minimal inhibitory concentration – minimální inhibiční koncentrace
MKP1	mitogen aktivovaná protein kináza fosfatáza
MP	měkké patro
mRNA	mesengerová ribonukleová kyselina
MT	maligní transformace, zvrát v malignitu
NF- κ B	nukleární faktor kappa B
NK	eng.: natural killers – bílé krvinky k eliminaci buněk tumoru či buněk napadených virem
OED	orální epiteliální dysplázie
OLL	orální lichenoidní léze
OLP	orální lichen planus
OPMD	orální potenciálně maligní poruchy
OSCC	eng.: oral squamous cell carcinoma – orální karcinom ze skvamózních buněk
PAS	eng.: Periodic acid Schiff – barvení k vizualizaci hyf kvasinek
PCR	eng.: polymerase chain reaction – polymerázová řetězová reakce
PMN	polymorfonukleáry – neutrofilní leukocyty

R-A	retro-angulární
ROS	eng.: reactive oxygen species – reaktivní kyslíková forma
S	eng.: solitary – solitární pozitivita proteinu p53
SAM	systémová antimykotika
SFR	eng.: salivary flow rate – nestimulovaná salivace za čas
SFR-S	eng.: salivary flow rate stimulated – stimulovaná salivace za čas
SN	snímatelná náhrada
SR	eng.: short row – pozitivita proteinu p53 v krátké řadě buněčných jader
T _H	eng.: T-helpers – pomocné T-lymfocyty
TP	tvrdé patro
VAS	vizuální analogická stupnice
VAS B	eng.: B – burning sense – vizuální analogická stupnice palčivosti
VAS P	eng.: P – pain – vizuální analogická stupnice bolesti
VAS X	eng.: X – xerostomy – vizuální analogická stupnice suchosti dutiny ústní
WHO	Světová zdravotnická organizace
ZAP1	zinek responzivní aktivační protein

1 Úvod

1.1 Chronické léze orálního epitelu

Mezi chronické léze epitelu dutiny ústní (DÚ) s vyšší incidencí řadíme projevy náležející ke skupině orálních potenciálně maligních poruch (OPMD) ¹, dále ulcerace různého původu (traumatické, způsobené specifickým zánětem), chronické kandidózy a manifestace autoimunitních bulózních onemocnění typu pemphigus vulgaris či benigní mukózní pemphigoid.

1.2 WHO klasifikace orálních potenciálně maligních poruch

Mezi orální potenciálně maligní poruchy ^{1,2} patří stavy s proměnlivým rizikem progresu do skvamózního karcinomu dutiny ústní. Většina z nich produkuje klinicky viditelné léze, leukoplakie nebo erytroplakie. Leukoplakie se dle klinického vzhledu dělí na homogenní a nehomogenní, kdy druhá zmíněná varianta bývá spojena s vyšší přítomností dysplastických změn a horší prognózou. Heterogenita je vyjádřena plasticky i barevným spektrem s příměsí rudých změn. Takto je klinicky vnímána leukoerytroplakie a erytroplakie. Dle WHO (Světová zdravotnická organizace) 5. edice z roku 2022 se mezi OPMD řadí erytroplakie, leukoplakie, orální epiteliální dysplázie, orální submukózní fibróza, HPV (lidský papiloma virus) asociované orální epiteliální dysplázie a proliferativní verukózní leukoplakie ³. Celý výčet OPMD včetně roku zařazení poruchy je uveden v tabulce (Tab 1.2) ^{1,4,5}. Přítomnost jednotlivých chorob orální sliznice v souboru OPMD je dynamická v závislosti na úrovni aktuálních informací o rizicích maligního zvratu v karcinom. Například chronická hyperplastická kandidóza (CHC) byla do souboru zařazena v roce 2017, ale z aktuální edice byla vyřazena pro nedostatek studií potvrzující její premaligní potenciál ¹.

Tabulka 1.2 - Orální potenciálně maligní poruchy dle předchozí a současné WHO klasifikace ³

OPMD ve 4. edici klasifikace WHO 2017	OPMD v 5. edici klasifikace WHO 2022
Epidermolysis bullosa dystrophicans	Erytroplakie
Orální submukózní fibróza	HPV-asociovaná orální epiteliální dysplázie
Plummer-Vinson syndrom	Leukoplakie
Proliferativní verukózní leukoplakie	Orální epiteliální dysplázie
Patrové léze reverzního nikotinismu	Orální submukózní fibróza
Aktinická cheilitis	Proliferativní verukózní leukoplakie
Diskoidní lupus erythematosus	
Dyskeratosis congenita	
Erytroplakie	
Erytroleukoplakie	
Chronická hyperplastická kandidóza	
Keratózy bezdýmného tabáku	
Leukoplakie	
Orální lichen planus	

1.3 Orální epitelální dysplázie

WHO 2022 definuje orální epitelální dysplázi (OED) jako spektrum architektonických a cytologických změn vzniklých z genetických alterací, obvykle vycházející z orálních potenciálně maligních poruch (Tab 1.3) ³. OED značí riziko maligní transformace (MT) v orální karcinom ze skvamózních buněk (angl. oral squamous cell carcinoma OSCC). Dysplázie se dělí dle terciálního systému na ty s projevem jen v bazální třetině epitelu – mírné, OED I., s bazálním i suprabazálním projevem – střední, OED II. a se zastižením v celé tloušťce epitelu – těžké, OED III. Dle studie z Velké Británie se pak mírná dysplázie pojí s rizikem maligního zvratu v 4,8 %, střední v 15,7 % a těžká v 26,7 % ⁶. Binární systém dělí změny na vysoce rizikové při 4+ změnách architektury a 5+ změnách cytologie epitelu a níže rizikové při menším vyjádření alterací. Vysoce rizikové změny jsou pak spojovány s maligním zvratem v 2,8x vyšším poměru vůči dysplaziím níže rizikovým ⁷.

Tabulka 1.3 – Histomorfologické znaky a diagnostická kritéria orální epitelální dysplázie ³

Orální epitelální dysplázie od 2005 do 2022	
Změny architektury	Změny cytologie
1 Nepravidelná epitelální stratifikace	1 Abnormální variace rozměru jádra (anizonukleóza)
2 Ztráta polaritý bazálních bb.	2 Abnormální variace tvaru jádra (j. pleomorfismus)
3 Kapkovité rete pegs	3 Abnormální variace rozměru buňky (anizocytóza)
4 Zvýšený počet mitóz	4 Abnormální variace tvaru buňky (b. pleomorfismus)
5 Abnormální povrchové mitózy	5 Zvýšený poměr jádro / cytoplazma
6 Předčasná keratinizace bb. (dyskeratóza)	6 Atypické mitózy
7 Keratininové perly epitelálních valů (rete pegs)	7 Zvýšený počet a rozměr jadérek
8 Ztráta koheze epitelálních bb.	8 Hyperchromázie
Nově v edici roku 2022	
1 Klastrování bazálních buněk	1 Apoptotické mitózy
2 Rozšířená proliferativní zóna	
3 Alterace typu keratinizace slizniční plochy	
4 Verukózní či papilární architektura	
5 Rozšíření změn podél vývodů malých slinných žláz	
6 Ostře definované hranice epitelálních změn	
7 Více morfologických typů dysplázie	
8 Multifokalita nebo “skip” léze	

1.4 Diferencovaný typ orální intraepiteliální neoplázie

Diferencovaná orální intraepiteliální neoplázie (dOIN) je definována jako lidský papilomavirus (HPV) negativní, skvamózní intraepiteliální proliferace s abnormální diferenciací keratinocytů a atypii bazálních buněk⁸. Poprvé byla popsána roku 2010 Japonskou společností pro orální patologii (JSOP). Znaky dOIN jsou anizonukleóza, anizocytóza, zvětšená, eosinofilní jádérka, bulbózní rete pegs, ztráta polarity, ztráta koheze, vzhled kočičích hlav (cobblestone), suprabazální mitózy a dyskeratóza. dOIN je brána jako vysoce riziková OED s častým zvratem v orální karcinom ze skvamózních buněk v horizontu 5 let⁸. Diagnóza dOIN není akceptována všemi předními patologi a není přijata WHO klasifikací 2022.

1.5 Imunohistochemie užívaná v diagnostice chronických orálních lézí

K bližšímu rozlišení rizikových lézí orálního epitelu mohou být použity rozličné imunohistochemické metody. Ani v otázce užívání imunohistochemických markerů nepanuje mezi světovými patologi shoda. V současnosti se využívá nejčastěji detekce proteinů Ki-67 (protilátka MIB-1), p16 a p53⁹. Ki-67 je jaderný protein exprimovaný ve všech aktivních fázích buněčného cyklu vyjma G0 fáze. Indikuje růst a dělení buňky. Jde o nejdůležitější marker proliferační aktivity, používaný zejména u prekanceróz (dOIN) a karcinomu⁶. Komplikovaná je zde verifikace dOIN pro fyziologický stav přirozené proliferace bazální vrstvy s expresí antigenu Ki-67/MIB-1. Vyžíváním buněk bazální vrstvy a jejich posunem výše v epitelu, ustává epitelová proliferace a exprese Ki-67 antigenu. U obvyklého typu dysplázie se toto nestane, a i ve střední části šíře dlaždicového krycího epitelu jsou buňky s Ki-67 pozitivním jádrem. Tyto buňky současně vykazují znaky dysplázie, takže imunohistochemická konfirmace zde není vždy nutně potřebná. Problém je u dOIN, kde jde pouze o 2-3 řady buněk bazálně a parabazálně s expresí Ki-67. V běžném zbarvení se toto obtížně diferencuje a tyto 2-3 řady se také špatně hodnotí, protože často řez na skle není veden kolmo na povrch sliznice. Technicky toto nelze zajistit a pak i jedna vrstva buněk může vypadat jako 2-3 vrstvy.

Protein p53 je jaderný protein regulující buněčný cyklus. Je přítomný v normálních buňkách, ale jeho poločas je příliš krátký na to, aby mohl být běžně prokazován. Průkaz tohoto proteinu je možný u mutované formy, která je mnohem stabilnější. Její prodloužený poločas vede k akumulaci v jádru nádorových buněk⁹. Expresi p53 nacházíme zejména v buňkách maligních nádorů a vysoce dysplastických lézí orální sliznice^{10,11}. Při hodnocení negativita (0) může značit i falešnou negativitu, solitární pozitivita (S) je i možným projevem zánětu. Krátká řada pozitivita (SR) značí i možnou reaktivní změnu. Pozitivita v dlouhé řadě (LR) je suspektní pro dOIN. Inspirací hodnocení dOIN jsou výsledky a použití u diferencovaného typu neoplázie vulvy (dVIN) a penisu (dPeIN) i esofagu. Exprese proteinu p53 u orálního karcinomu je asociována s přítomností IgG a IgA p53 autoprotilátek ve slině

i v séru. Množství p53 protilátek je vázáno na frekvenci p53 mutací. Uvažuje se o detekci sérových a slinných protilátek mutantní p53 jako markeru detekce nádorů a OPMD ¹¹.

1.6 Imunologické aspekty chronických epiteliálních lézí dutiny ústní

Pro vlastní diagnostiku chronických orálních epiteliálních lézí i hodnocení úspěšnosti jejich léčby se sledují změny slinných protilátek, imunoglobulinů (Ig) ¹². IgA má nejvyšší denní poměr syntézy a je klíčovou funkcí ochranné imunity. IgG podporuje tělo proti invazivním patogenům. IgM jsou první protilátky tvořené primární protilátkovou odpovědí. U orálního lichen planus je zvýšený IgA i IgG. U CHC dojde k poklesu IgA1 a nárůstu IgG, kdy IgA2 je nezměněn. U Sjögrenova syndromu je zvýšen IgG1, IgG3, IgG4. Aftózní léze způsobují nárůst IgA2 i IgG. U systémových kandidóz jsou kandida specifické C-IgM, C-IgA a C-IgG. IgA ve slinách jsou sníženy při nikotinismu. IgA1 pokles u CHC přináší selhání protektivního efektu. Musíme počítat se skutečností, že IgA1 mohou být štěpeny enzymy orálních mikroorganismů. Vzestup IgG u CHC se předpokládá chronickou antigenní stimulací kandidami.

Buněčná imunita se vyšetřuje pro deficity či dysregulaci T-lymfocytů. Kontrolují se cytotoxické CD8⁺ a pomocné CD4⁺ T buňky. CD 8⁺ cytotoxické lymfocty ničí virem infikované a nádorové tkáňové buňky. Produkují cytokiny interleukin IL-2 a interferon γ , čímž ovlivňují efektorové funkce ostatních buněk, zejména makrofágů a natural killers (NK) buněk. T-lymfocyty byly zkoumány cytometricky pro diagnostiku progresu onkologického onemocnění hlavy a krku, kdy u karcinomů hlavy a krku jsou T_{REG} (CD3⁺CD4⁺CD25⁺) zvýšeny na dvounásobek. Zvyšují se též CD4⁺ a výrazně klesají NK buňky (CD3⁻CD16⁺CD56⁺). U G3+4 stoupají CD8⁺ (supresorní a cytotoxické T lymfocyty) a klesá poměr CD4/CD8. U časných recidiv stoupají T_{REG}, α -1 Antitrypsin (AAT) a klesají erytrocyty a hemoglobin ¹³. C-typ Lektin Receptory (CLR) rozpoznávají vzory karbohydrátů kvasinek, beta-glukany, mannan a chitin. Následně iniciují ochrannou antifungální imunitu. Podporují diferenciaci T_H bb. pro kontrolu systémových T_H1 a slizničních T_H17. Rozpoznají tranzice mezi kvasinkou a hyfou. T-buňky dvojité pozitivní CD4^{HI}CD8^{LO} kontrolují C. albicans infekce. CD4^{LO}CD8^{HI} jsou zvýšené u perzistentních infekcí. Podporují produkci IgA, který chrání a udržuje hemostázu slizničních povrchů. Na kůži vlákna C. albicans indukují T_H1 odpověď, ale kvasinky preferenčně vybudí T_H17. CD8⁺ při poklesu CD4⁺ svojí produkcí IL-17 zabraňuje fungální infekci při absenci T i B buněk. Při snížení počtu CD4⁺ i CD8⁺ dochází k systémové diseminaci kvasinek.

Fungální kolonizace v časném věku má vliv na vývoj a vytrvání imunitního systému a následnou ochranu či citlivost k chorobě. Kolonizace kandidami koreluje s rizikem vývoje dětské atopie a astmatu skrze T_H2 imunitu. Antibiotika změny střevní mykobioty vedoucí k vývoji fungálně indukované alergie.

U orálních prekanceróz a karcinomů je odlišná hodnota IgA. Zejména u OSCC je tato zvýšená oproti zdravému pacientovi v séru. Slinná IgA je pak oproti normálu zvýšena u prekancerózy i karcinomu¹⁴. Hodnota IgA stoupá s progresí nádorového onemocnění ústní sliznice. Slinná IgA se spojena s lokální imunitní odpovědí. Vzhledem k přímému kontaktu sliny s orální lézí se předpokládá přesný odraz změn způsobených OPMD a OSCC v DÚ na salivárním IgA. Za vzestup pravděpodobně může nárůst lokální infekce se zvýšením antigenního zánětlivého stimulu. V tomto tématu dr. Shilpashree zmiňuje, že kouření coby hlavní faktor vzniku OPMD a OSCC, může měnit Ig profil slin. Krasteva s kolektivem udávají výrazně vyšší IgA slin u pacientů s OSCC. Faktorem zvyšujícím salivární IgA je stoupající věk do 60 roků, poté dochází k poklesu. Dále je vyšší hladina u mužů, parodontitis a alkoholismu. Ke snížení IgA dochází kouřením¹⁴.

1.7 Klinické formy orálních kandidóz

Mezi epiteliální léze DÚ řadíme i orální kandidózy¹⁵. Toto onemocnění má formy akutní a chronické. Akutní kandidózy DÚ rozlišujeme pseudomembranózní a atrofické. Chronické kandidózy dělíme na pseudomembranózní, atrofickou a hyperplastickou formu. Akutní pseudomembranózní forma se klinicky projevuje přítomností stíratelných povlaků s obsahem kvasinek, nekrotického epitelu, keratinu a fibrinu (Obr. 1.7-1). V minulosti se tato varianta označovala za soor, moniliázu, či moučnivku. Akutní atrofickou kandidózu diferencujeme jako zarudnutí sliznice hřbetu jazyka či patra. Chronická pseudomembranózní kandidóza se vyskytuje u imunodeficientních pacientů. Chronická atrofická (erytematosní) forma se projevuje zarudlými ploškami orálního epitelu. Tyto plošky nejčastěji nacházíme na hřbetu jazyka u střední čáry či ve stejné ose na tvrdém patře. Na tvrdém patře se pro kontakt sliznice s bazemi snímatelných náhrad (SN) někdy nazývá protetickou stomatitis s incidencí až u 38 % uživatelů SN. Dle Newtonovy klasifikace jde o I. petechie, II. erytém rozsahu SN, III. papilární hyperplasie v rozsahu SN. V DÚ se může částí svých projevů manifestovat i Chronická mukokutánní kandidóza (CMC). U diagnózy CMC se jedná o projev heterogenní skupiny imunodeficientních chorob s citlivostí na chronické či rekurentní kandidózy kůže, nehtů a sliznic^{15,16}. Etiologie souvisí se získkem mutace funkce genu STAT1 s defektní odpovědí u T_H1 a T_H17 lymfocytů s následným nárůstem infekčních komplikací. Pacienti s CMC mají vyšší riziko vzniku orálních a jícnových karcinomů¹⁷.

Posledním typem kandidózy DÚ je chronická hyperplastická kandidóza. Tato se klinicky manifestuje jako většinou bílé nesetřitelné plochy, které se ošetřujícímu mohou jevit jako leukoplakie. Svým klinickým charakterem jsou léze CHC vizuálně spíše nehomogenní pro střídání plošek bílých a rudých. Palpační heterogenita je podmíněna povrchem s tvorbou uzlíků. Jde o vzácné onemocnění s typickými lokalizacemi a obvyklým souběhem sukcesivních chronických indukčních faktorů. V rámci CHC nalézáme v histologických preparátech hyfy v epitelu orální sliznice. Bioptické vyšetření zachytí u CHC rovněž hyperplásii, hyperkeratózu a často přítomnost polymorfonukleárů. Často dochází k odečtu epiteliálních atypií, které však mohou mít jen reaktivní charakter.

Obrázek 1.7-1 Akutní pseudomembranózní kandidóza dutiny ústní (archiv autora)



1.8 Indukční faktory kandidóz dutiny ústní

Orální kandidózy mají několik společných faktorů vzniku klinických manifestací. Kvasinky rodu *Candida*, nejčastěji druhu *Candida albicans* (C. a.) jsou přirozenou součástí mikroflóry dutiny ústní, přibližně u 50-60 % populace. C. a. je saprofyt s potenciálem oportunního patogenu. Změna ve složení mikroflóry však může vést k lokální infekci. Nejčastěji jsou postiženi pacienti věku 60 let. Skutečnost častějšího výskytu chronických či rekurentních potíží ve vyšším věku je vysvětlována akumulací jinak nespecifických indukčních kofaktorů v čase. Stejný fenomén zvrátů s úměrou k věku se prokazuje u OPMD⁶.

Mezi dílčí vyvolávající faktory kandidózy řadíme 1) medikaci: širokospektrální antibiotika; kortikosteroidy (KS) inhalační (asthma bronchiale); kortikosteroidy topické (orální lichen planus, bulózní mukokutánní léze)^{18,19}; kortikosteroidy celkové (autoimunitní onemocnění); antidepresiva; antihypertenziva (inhibitory angiotensin konvertujícího enzymu) 2) jiná onemocnění: diabetes mellitus²⁰, anémie²¹, HIV pozitivita, ostatní imunodeficity, hematologická onemocnění a onkologické choroby, 3) užívání zubních náhrad 4) zlovyky: kouření²², nedostatečný pitný režim a nevyrovnanou stravu s vysokým příjmem cukrů, zejména sladkými a alkoholickými nápoji.

Mezi nežádoucí účinky léků v DÚ patří indukce hyposalivace, kdy anticholinergní efekty léků se sčítají, a jejími následky jsou kandidózy, erytém, vyšší riziko traumatizace epitelu frkci a vyšší palčivost. Subjektivní potíže pacientů zahrnují bolestivost, palčivost, zduření a dyskomfort v dutině ústní. S přihlédnutím k vyvolávajícím faktorům souvisejících mnohdy s primární či navozenou hyposalivací udávají pacienti i xerostomii²³.

1.9 Charakteristika mikrobiálních agens orální kandidózy

U orálních kandidóz diferencujeme několik druhů kandid. Kvasinky jsou 3-6 µm velké eukaryoty, větší než bakterie, ale menší než živočišné buňky. Množí se sexuálně i asexuálně (pučením), kdy v DÚ převládá druhý typ. Jsou nepohyblivé. Odolná membrána kvasinek slouží k epiteliální adhezi. Svými vlastnostmi umožňuje kandidám zmizení ze zorného pole komplementu, inhibicí fagocytózy vyřadí funkci makrofágů. Candidalysin, toxin produkovaný houbami, poškozuje buněčné membrány. Hyfy jsou vláknité formy kvasinek. Jde o řadu buněk vedle sebe tvořící provazce jako vlákno. Jimi produkované metabolity jsou kancerogenní^{24,25}. Diskutovaná onkogeneze u klinické formy CHC je vysvětlována aktivitou aspartyl proteinázy, působením nitrosaminů s rizikem vzniku karcinomu orální sliznice²⁴. Orální kandidózu nejčastěji vytváří kvasinka *Candida albicans*. Z non-*albicans* druhů se nejčastěji setkáváme s *Candida glabrata*, *Candida tropicalis*, kdy tyto subtypy spolu často vytváří kombinované biofilmy s prokázanou zvýšenou rezistencí k antimykotikům.

Candida albicans může zaujmout formu pseudospóry i hyfy. Ke zvýšení své schopnosti perzistovat v prostředí dutiny ústní vytváří biofilmy. Jejich tvorba má 4 fáze: 1. adhezi kvasinek k povrchu; 2. kolonizaci s přípravou hyf; 3. dospívání biofilmu s jeho expanzí, kumulací extracelulární matrix ke zvýšení lékové rezistence; 4. disperzi kvasinek k osídlení okolního prostředí²⁶. Za transkripční faktor k tvorbě hyfových forem je udáván Zap1 (zinek responzivní aktivační protein). Změna v hyfovou formu pomáhá uniknout makrofágům²⁶. Adherence je zajištěna hyfovými zakončeními s produkcí proteináz a lipáz se zvýšením aktivity v kyselém pH.

1.10 *Non-albicans* kandidy dutiny ústní

Candida glabrata je haploidní kvasinkou, která netvoří vlákna, ale váže se k *Candida albicans*. Jde o druhý či třetí nejčastější oportunní kandidový patogen s přirozeně vysokou rezistencí k antimykotikům, zvláště azolům²⁷. Její vysoká epiteliální adherence s tvorbou biofilmů dále zvyšuje antimykotickou rezistenci. V průběhu času vzrůstá i rezistence této kandidy k echinokandinům.

Candida tropicalis je typický patogen neutropenických pacientů, přítomný u leukemií, HIV pozitivních a onkologických pacientů²⁸. Je opět dimorfní s tvorbou kvasinek i hyf. Meziformou jsou neseptované pseudohyfy. Jde o druhý nejvirulentnější druh kandidy, kdy GIT imunitně oslabeného organismu dokáže osídlit již za 30 minut po vstupu. Tvoří biofilmy,

produkuje lytické enzymy, adhezuje k epitelu a endotelu. Sleduje se u ní rizikový rychlý rozvoj flukonazolové rezistence.

Méně často se setkáváme s druhem *Candida krusei*, která je přirozeně rezistentní k flukonazolu²⁹. Bývá často tam, kde byl flukonazol použit profylakticky. Riziková je pro vysokou mortalitu u fungemie. K její přímé léčbě se užívá Amfotericin B nebo echinokandiny. *Candida dubliniensis* je dimorfní kvasinka, která se nachází zejména u osob imunokompromitovaných, po chemoterapii či u insulin dependentního diabetes mellitus (IDDM)³⁰. U zdravých osob je vzácnější. Často se zmiňuje pro svoji snadnou zaměnitelnost s *Candida albicans*, kdy za ni byla retrospektivně považována ve 2-27 % kultur. Problémem je selektivní tlak antimykotik, ale i chlorhexidinu (CHX), který může způsobit pomnožení non-*albicans* druhů v prostředí DÚ.

Marginálně se setkáváme s druhy *Candida parapsilosis*²⁷, *Candida rugosa*³¹, *Candida kefyr*, *Candida fabianii* nebo *Candida lusitanae*. K mykologické kultivaci se řadí rovněž *Sacharomyces cerevisiae*.

1.11 Reakce orálního epitelu na kandidy

Kolonie kandid na povrchu orální sliznice vyvolávají odlišné epiteliální reakce než kvasinkové hyfy. U zdravé osoby kvasinka kolonizující sliznici nespustí zánětlivou reakci³². Tato je spouštěna hyfami s reakcí polymorfonukleárů. Nukleární faktor kappa B (NF- κ B) je spuštěn kvasinkami i hyfami. Je nepostradatelný pro ovlivnění exprese genů pro imunitu a zánětlivou odpověď, kdy sám o sobě nespustí cytokinovou produkci. Obojí forma kvasinek spustí první transkripční fázi c-Jun skrze mitogen aktivovanou protein kinázu (MAPK p 38) závislou na rozpoznání fungální stěny. Druhá transkripční fáze c-Fos a mitogen aktivovaná protein kináza fosfatáza 1 (MKP1) skrze p38 a extracelulární signálem regulovanou kinázu 1/2 (ERK1/2) je spustitelná jen hyfami s produkcí cytokinů³².

1.12 Obrana organismu proti kvasinkám

Lidské tělo může vůči kvasinkám využívat obranu vrozenou a získanou. Jako obrana vrozená je vnímán vzorec rozpoznávající receptory na makrofázích a neutrofilech nasměřovaný na β – glucan a α -mannan komponenty stěny kvasinkových buněk. Získanou obranu tvoří T_H1 , T_H2 , T_H17 lymfocyty, kdy hlavní roli antifungální aktivity má T_H17 . Lymfocyty T_H2 spolupracují s B lymfocyty s cílem produkce protilátek³³. Následně dochází k neutralizaci antigenů, ovlivnění faktorů virulence, ovlivnění adherence a schopnosti kolonizace. Probíhá opsonizace, fagocytóza a aktivace komplementu. Protilátky mají za úkol zabránit diseminaci infekce a kandidémií.

Antimikrobiální peptidy (AMP) β -defensiny naruší buněčnou membránu kandid a působí fungicidně. Složky komplementu C3a, C5a a IgG se váží na povrch mikroorganismů k usnadnění fagocytózy. Defensiny jsou antibiotické peptidy vrozené imunitě³⁴. U klinické

formy CHC je α -defensin-I v polymorfonukleárech (PMN) intravaskulárně, v lamina propria i epitelu, kde je přítomen i v mikroabscesech, U leukoplakií je jen intravaskulárně. α -defensiny jsou produkovány PMN po aktivaci, kdy CHC je svou přítomností stimuluje dlouhodobě. V rámci antimykotické ochrany putují PMN z cév extravaskulárně do lamina propria a do epitelu, kde se PMN organizují v mikroabscesy. Tam degranulují svůj obsah, působí na kandidy a sami se přemísťují k povrchu epitelu. Nejvyšší koncentrace PMN je těsně u povrchu, kde vytvářejí štít proti další kandidové invazi. Množství hyf a α -defensinu-I se nedaří korelovat, jelikož z histologického preparátu se nedá vysledovat, zda se CHC aktuálního pacienta hojí či zhoršuje a zda je pacient imunokompetentní³⁵.

Uvažuje se o neutrofilním chemokinu IL-8, jako o působku interakcí PMN a kandid. IL-8 může rekrutovat PMN z cév do mikroabscesů. Zdá se, že hyfy dokáží detekovat IL-8 a vyhýbají se oblastem s vysokou koncentrací lidského IL-8 a kandidocidních PMN formou chemofobie³⁶.

1.13 Diagnostika chronické hyperplastické kandidózy (CHC)

Počátkem diagnostických úvah o CHC je diferenciaci klinické léze s chronickým projevem bílé, či bílo-červené barvy, připomínající leukoplakii či erytroleukoplakii a většinou nehomogenním povrchem při palpaci. Tento nález vede ošetřující k provedení diagnostické biopsie. Histologicky se v excidátu prokazuje hyperplázie, hyperkeratóza a polymorfonukleáry až jejich mikroabscesy. Imunohistochemické barvení Periodic acid Schiff (PAS) a Grocott obraz doplní potvrzením přítomnosti vláknitých hyf kandid v povrchové vrstvě epitelu. Pro diagnostiku choroby a odhad rekurencí projevů je nutné opakovaně projít veškeré aspekty anamnézy pacientů. Při nedostatku dosud známých indukčních faktorů je nutné imunologické vyšetření a hodnocení stavu salivace.

U pacientů s chronickou kandidózou bývá oproti zdravým osobám nižší nestimulovaná salivace SFR (2 ± 1 ml za minutu oproti 5 ± 1 ml za minutu u zdravých). V případech chronických orálních kandidóz je patrné snížení laktoferrinu, který je součástí vrozené imunity ústní sliznice s účinkem antifungálním, a je produkován fagocyty (PMN). Pokles je pak i u sIgA z plazmatických buněk a B-lymfocytů. Méně je také β -defensinu produkováného epiteliálními buňkami. Chronická kandidová stomatitis je asociovaná s hypofunkcí slinných žláz a snížení slinných antimikrobiálních proteinů indukuje pomnožení kvasinek³⁷.

1.14 Chronická hyperplastická kandidóza v literatuře

Literární popisy a sumarizace CHC jsou nečetné a strohé. Podrobný histologický popis CHC nabízí pouze historická publikace souboru 12 případů Cawsona a Lehnara z roku 1968^{38,39}. Světové písemnictví dále obsahuje jednotlivé klinické kazuistiky^{40,41,42,43,44}, klinický a více či méně podrobný histologický popis léze v učebnici⁴⁵, nebo upozornění na diferenciální diagnostiku CHC a orální intraepiteliální léze bez bližší analýzy. Větší soubory,

ale stále ještě nedostatečné pro většinu statistických hodnocení, byly publikovány až v posledních letech^{24,25}. Největší, dosud publikovaný, soubor popisoval 48 případů CHC²⁵.

1.15 Interakce *Candida albicans* s orálním epitelem u CHC

Kvasinky rodu *Candida* řadíme mezi dimorfní houby s kvasinkovou (blastospóra s účelem diseminace) a vláknitou formou (hyfy se schopností penetrace epitelu). Za nepříznivých podmínek mohou vytvářet i spóry. Hyfy mají schopnost penetrovat do povrchové vrstvy dlaždicového nerohovějícího epitelu sliznice dutiny ústní, což se makroskopicky projevuje jako bílé, někdy tuhé, či naopak měkké adhezující plaky (dříve klinicky označované jako kandidová leukoplakie).

Klinikovi se léze před histologickou verifikací často jeví jako prostá leukoplakie. Specifickou formou jsou hyperkeratotické uzlíky (forma nodulární) či takzvaná speckled (kropenatá) léze se střídáním hyperkeratóz a atrofií^{24,25}. Tyto plošky vystupují mírně nad niveau, zpravidla v oblasti sliznice jazyka (Obr. 1.15-1), retroangulárně (Obr. 1.15-2), na tvářové sliznici, na tvrdém patře (Obr. 1.15-3), zde zejména v zóně přechodu na patro měkké. Chronická, nehojící se léze a případná progresse v čase mohou vést klinika k suspekci na maligní proces s nutností bližšího histologického vyšetření⁴⁰.

Pro patologa jde o méně častou a diagnosticky obtížnou lézi, vzhledem k její histologické nenápadnosti v běžném barvení a časté absenci klinických údajů na průvodce, které by mohly usměrnit diagnostickou úvahu. Je nutno odlišit / identifikovat diferencovaný typ orální intraepiteliální neoplázie (dOIN) v rámci CHC a faktory vedoucích ke zvratu, maligní transformaci (MT) chronických lézí v karcinom sliznice dutiny ústní.

Maligní zvrát není jednorázovým úkazem, ale sukcesivním procesem genetických a histologických změn. Dochází k akumulaci molekulárních mutací. Inaktivuje se tumor supresorový gen p53 a ztrácí se heterozygozita (LOH)⁵. Pacienti s OPMD v době zvratu mívají symptomy jako zvýšené zarudnutí ústní sliznice, intraorální ulcerace, pocit brnění, nebo lokální bolest⁴.

Obrázek 1.15-1 Chronická hyperplastická kandidóza v retroangulární oblasti (archiv autora)



Obrázek 1.15-2 Chronická hyperplastická kandidóza jazyka (archiv autora)



Obrázek 1.15-3 Chronická hyperplastická kandidóza patra (archiv autora)



1.16 Teorie penetrace hyf skrze epitel u lézí CHC

O mechanismu invaze vláknitých forem kvasinek se uvažuje skrze thigmotropismus, tedy schopnost kvasinek cítit a reagovat na kontury povrchu, najít vstup do epitelu a iniciovat invazivní růst ⁴⁶. Dalším fenoménem je chemotropismus, který vysvětluje vzorec hyfové invaze *Candida albicans* do epitelu i endotelu, pokud jsou chemoreptory hyfy v prostředí aktivovány a vyhodnotí vhodnost invaze. Přestavba těla ukončí další povrchové šíření a kandida zahájí invazi epitelu. Kandidy jsou schopné penetrovat orální epitel v kterémkoliv místě, i na zdravé tkáni ⁴⁶.

1.17 Rizikové faktory vzniku CHC

Chronická hyperplastická kandidóza se obecně vnímá jako slizniční eflorescence častější u mužů starších 30 let a nikotíniků ²⁵. Klinicky jde o lézi připomínající leukoplakii homogenní či nehomogenní za ústními koutky, na jazyku a tvrdém patře (TP) ⁴⁷. Specifickým projevem je pak nález vzhledu erytroleukoplakie kropenaté (speckled), anebo napodobující nodulární leukoplakie s tvorbou uzlíků typicky v retroangulární oblasti.

Etiologické faktory vzniku CHC se mohou lišit u jednotlivých případů či lokalit lézí. CHC tvrdého patra bývá u dospělých mužů, nikotíniků, užívajících snímatelné náhrady s kofaktory v malhygieně DÚ a užívání inhalačních kortikosteroidů. Pod snímatelnou náhradou je anaerobní prostředí s poklesem pH. Existuje určitá kontroverze, zda má kandida primární roli v etiologii CHC či invaduje preexistující hyperkeratotickou lézi. K rizikovým faktorům se řadí i deficiencie železa ²¹, vitamínu B12 a folátu či defekty buněčné imunity. U nikotinizmu vnímáme efekt zvýšení keratinizace epitelu, redukce bariérové IgA, snížení funkce polymorfonukleárů (PMN) a zvýšení hydrofobicity epitelu ²². U diabetes mellitus je sledován pokles imunity, pokles salivace a hyperglykémie zvyšující adheenci kandid k epitelu. Nelze opomenout lokální i systémové komplikace po chemoterapii a radioterapii u onkologických pacientů. Ke zhoršení potíží s kandidózami dochází u HIV pozitivních a uživatelů systémových KS u autoimunitních chorob, kdy dochází k poklesu buněčné imunity a fagocytózy. Z lokálních faktorů nelze vynechat chronickou traumatizaci orální sliznice. Hyposalivace může být způsobená zlovyky v nízkém příjmu tekutin, autoimunitním onemocněním typu Sjögrenova syndromu a nežádoucími účinky léků s anticholinergním efektem ²³, zejména antidepresiv, antihypertenziv typu blokátorů Angiotensin konvertujícího enzymu (ACE). Indukčním faktorem je i vyšší věk pacientů s věkem podmíněnou dystrofizací orální sliznice, latentní imunoinkompetencí, nižší epitelální obměnou, hyposalivací a nižší zručností při orální hygieně.

1.18 Otázky uvažované potenciálně maligní poruchy u CHC

Co se týká CHC, není mezi odborníky konsensus, zdali je OPMD, jelikož se vyskytuje na plochách netypických pro vznik karcinomu: retroangulárně a na hřbetu jazyka ⁶. Asociace mezi fungální infekcí a přítomností epitelální dysplázie existuje, ale otázka možné kauzální

souvislosti dosud vyřešena nebyla. Histologicky je CHC často verifikována s cytologickými atypiami typu vyšší mitotické aktivity a hyperplázie bazálních buněk bez pleomorfismu, což může být jen změna reaktivní ⁴⁸. Někdy se léze podaří vyléčit i antimykotiky, což by mohlo znamenat, že léze primárně způsobené kandidami nejsou potenciálně maligní. Léze s pozitivním barvením PAS mohou být doprovázeny dysplázií.

Je známo, že kandidy mohou produkovat karcinogenní nitrosaminy ^{24,25}. Udává se, že orální leukoplakie se zachycenými kandidami (v 6,8-100 % případů) mají riziko maligní transformace dle studií 2,5-28,7 % ⁴. Excise leukoplakií se provádí pro histologickou verifikaci lézí a pro diferenciaci dysplázií či CHC. Riziko zvratu je připisováno ke kropenatému projevu leukoplakie, což je typický klinický vzhled pro CHC, přítomnosti dysplázie a nekomplexní terapii ⁶. V rámci dispenzarizace a průběžných biopsií bylo zhoršení typu dysplázie u PAS pozitivních případů 3krát častější než u těch PAS negativních ⁴⁸. Aktuálně WHO nemá CHC za orální potenciálně maligní poruchu pro nedostatek potvrzujících studií ³.

1.19 Terapie CHC nespecifická

Terapie nespecifická, režimová, je nezbytná pro dlouhodobou stabilizaci vedoucí k potlačení kvasinek v DÚ na sub-patologické hodnoty. Skládá se z několika částí. Režim snímatelných náhrad (SN) souvisí s nutností správné retence SN s eliminací traumatizace, vyjímáním náhrad přinejmenším na noc, manuálním čištěním zubním kartáčkem s tuhým mýdlem. Toto eliminuje cukerné zbytky a zvyšuje pH. Je vhodné SN 2krát týdně vložit na 30 minut do roztoku CHX, opláchnout vodou a vysušit. Režim inhalačních KS užívaných zejména při asthma bronchiale obnáší mandatorní výplach DÚ vodou po aplikaci přípravku.

Režim u DM spočívá v kontrole základního onemocnění s nutnou vysokou compliance pacienta, řádné ústní hygieně, pH korekci jedlou sodou (výplachy, cucání tablet) při vazbě vyšší glykemie a nižšího pH. Vyšší slinná glukóza zvyšuje kvasinkovou adhezivitu k buňkám epitelu ⁴⁹. Tvoří chemicky zvrátne glykosilační produkty s proteiny tkáně při hyperglykemických epizodách. S hromaděním produktů na epitelových buňkách se zvyšuje počet možných receptorů pro kvasinky. U DM klesá protikvasinková aktivita polymorfonukleárů. Snížená slinná protektivita je u DM daná i sníženým objemem salivace.

Udržování salivace je nutné pro eutrofii orální sliznice a pro zachování její bariérové funkce. Slina je produkována párovými velkými slinnými žlázami: glandulae (gll.) Parotides, gll. Submandibulares, gll. Sublinguales a stovkami malých slinných žlázek. Specifickými jsou žlázy hřbetu jazyka, zejména anteriorní smíšené žlázy (Blandinovy-Nuhnovy), zadní serózní žlázy (v. Ebnerovy-produkce histatinů) v okolí hrazených papil a zadní mucinózní žlázy (Weberovy) ⁴⁵. Faktický zdroj slin pochází z filtrace krevní cirkulace z cévního zásobení parenchymu slinných žláz. Kalikrein v rámci autoregulační fáze způsobí

vasodilataci se zvýšením prokrvení parenchymu, nárůstem filtračního mechanismu a zvýšenou produkcí slin. Slina obsahuje vodu, anorganické a organické látky. Mucin je nezbytný pro lubrikaci a barierovou ochranu slizničních povrchů. Laktoferin sliny produkovaný serozními žlázkami je bakteriostatický až baktericidní (*Streptococcus mutans*), antivirový (HIV, CMV, HCV, HSV), fungicidní, ale i protizánětlivý a imunomodulační. Lysozym je antibakteriální vůči G+ bakteriím (G-bakterie jsou odolnější). Sekreční IgA je ochráncem sliznic DÚ i jícnu. Laktoperoxidázový komplex je antibakteriální. Kalprotektin je protein vážící Ca, Zn s povahou antimikrobiální a stoupá při parodontitis a orální kandidóze.

Histatiny H 1,3,5 jsou antimykotické proteiny, bohaté na histidin se zdrojem ve von Ebnerových žlázkách, ale i v gl. Parotis, gl. Submandibularis a gl. Sublingualis⁵⁰. Mají denní cyklus a nejvíce je jich ve slině mezi 17. – 18. hodinou. Obsah klesá s vyšším věkem. Rezervoárem histatinů je získaná sklovinná pelikula. Histatin H1 podporuje re-epitelizaci a hojení ran dále zlepšené přítomností sliny s obsahem růstových faktorů a chemokinů. Histatin H5 precipituje kyslíkové radikály, má nejvyšší antifungální efekt a pomáhá uzavírat rány. Narušuje plazmatické membrány hub. H5 je snížen u HIV pozitivitu.

Slina při nestimulované salivaci je nasycena draselnými ionty a bikarbonátem HCO₃⁻, nejvyšší objem produkce je odpoledne kolem 16:30 hodin. Je tvořena ze 70 % gl. Submandibularis, 20 % gl. Parotis, 7 % slizničními žlázkami a z 2 % gl. Sublingualis. Stimulovaná salivace produkuje slinu nenasycenou draselnými ionty a bikarbonátem, které se nestačí vyměnit do krevního řečiště za ionty sodíku a chloru. Při kyselé stimulaci ji tvoří ze 45 % gl. Submandibularis a ze 45 % gl. Parotis. Při žvýkací stimulaci je to 30 % z gl. Submandibularis a z 60 % gl. Parotis. Žvýkání přes zátěž mechanoreceptorů v parodontálních vláknech stimuluje přes slinné centrum prodloužené míchy salivaci 3-5krát. Stačí k tomu i žvýkání parafinu bez chuti.

Klidová salivace je obvykle 0,3 ml / minutu ve dne a 0,1-0,3 ml / minutu v noci. Při jídle stoupá až na 7 ml / minutu. Pro objektivizaci schopnosti tvořit slinu provádíme u pacientů Škachův test s 15 minutami nestimulované salivace – Salivary Flow Rate (SFR), následně se stejným časem salivace stimulované žvýkáním parafinu (SFR-S). Norma salivace nestimulované pro 1 minutu je 0,1 ml. Hyposalivace je stanovena při SFR menší 1,5 ml a součtu SFR a SFR-S pod 10 ml. Objem nestimulované salivace je vyšší ve věku 18-35 oproti 65-83 roků. U SFR stimulované je tomu naopak⁵¹. Vyprodukovanou slinu rovněž vyšetřujeme na pH s normou pH +6,3 u SFR a pH +6,8 u SFR-S. Pufrovací systémy salivace jsou bikarbonátový pufr s 90 % kapacity při stimulované salivaci. Dále fosfátový pufr při nestimulované salivaci a systém pufru bílkovinného při nízkém slinném průtoku a pH <5. Stimulovaná slina má vyšší pH. Druhou otázkou je subjektivní xerostomie stanovena jako každodenní pocit sucha v DÚ po více než 3 měsíce, potíže s polykáním suché stravy, časté zapíjení pro polknutí suché stravy a buzení se v noci pro pití.

1.20 Terapie CHC specifická - antimykotika

Antimykotika jsou léčiva s fungistatickým či fungicidním účinkem⁵². Protože je kandida eukaryotní, je těžší najít proti ní léky, které by zároveň neškodily lidským buňkám. Kvasinka je svojí strukturou lidské buňce bližší než bakterie.

Zejména v minulosti byla užívána nespécifická antimykotika, jako tetraboritan sodný (vstřebatelný), jehož nízká účinnost je kompenzována až 20 % koncentrací. Pro jeho výraznou toxicitu a reprodukční toxicitu jde dnes o prostředek obsolentní. Slabě antimykotický je též methylrosanilinium chlorid (vstřebatelný) 0,5 %. Užívá se jen k tečkování sliznice pro hrozící nekrózy sliznice při plošné aplikaci. Chlorhexidin-diglukonát (vstřebatelný) je inhibičně antimykotický až od 0,2 %. V této koncentraci již ale sliznice irituje. Chlorhexidin (CHX) do koncentrace 0,16 % působí na leukocyty chemotakticky, nad 0,16 % již působí leukotoxicky. Výhodou je snížení kandidové adheze na organických i anorganických površích, tedy v DÚ i na snímatelných náhradách. ActiMaris je hypertonický 3 % ionizovaný roztok mořské vody s vysokým pH (9,8). Účinkuje pomocí singletového kyslíku, reaktivní kyslíkovou sloučeninu (ROS) při čištění a eliminaci patogenů defektů kůže a sliznice. Výhodou je, že mikroorganismy nemají mechanismus na tvorbu rezistence vůči singletovému kyslíku. Vyšší pH je důležité pro enzymy a transitory jednotlivých fází hojení. ActiMaris se používá ve formě gelu anebo roztoků Sensitiv či Forte.

Specifická antimykotika dělíme na polyeny (nystatin, amfotericin B), azoly, blíže imidazoly (klotrimazol, mikonazol, ketonazol) a triazoly (flukonazol, itrakonazol, posakonazol)⁵³. Nepříliš rozšířenou skupinou antimykotik jsou echinokandidy. Polyeny jsou nevstřebatelné, klotrimazol a mikonazol jsou částečně vstřebatelné. Plně vstřebatelné jsou flukonazol, itrakonazol, ketokonazol a posakonazol. Od této vlastnosti můžeme očekávat vzrůstající počet mezilékových interakcí.

Stran mechanismu účinku jde u polyenů o inhibici syntézy ergosterolu s poklesem integrity buněčných membrán, nárůstem jejich propustnosti pro buněčné složky a smrtí buňky. U azolů je to inhibice cytochromu P-450, enzymu syntézy ergosterolu s poruchou tvorby buněčné membrány a zástavou růstu buněk. U imidazolů navíc s inhibicí katalázy a peroxidázy, kumulací toxických peroxidů v buňce s její nekrózou. Tímto duálním účinkem jsou imidazoly fungicidní. Stomatologové v České republice jsou limitováni jen k preskripci lokálně působících antimykotik (LAM). Systémová antimykotika (SAM) jsou pacientům předepisována spolupracujícími dermatology či onkology v rámci komplexní péče.

Mikonazol užívaný od roku 1971 je výhodný pro své široké spektrum proti kandidám a strepto-stafylokokům⁵³. Je tedy vhodný na kombinovaný zánět typu anguli infectiosi. V rámci studií bývá často ordinován pro kandidózu spojenou s užíváním snímatelných náhrad⁵⁴. Není tak hořký jako Nystatin (Obr. 1.20-1). Udává se u něj nižší míra relapsů než u ostatních lokálních antimykotik a má dlouhodobější efekt. Nižší pH zvyšuje rozpustnost

mikonazolu ve vodě. Je účinnější než Nystatinová suspenze v léčbě dětí (Obr. 1.20-2). Jeho minimální inhibiční koncentrace MIC₉₀ (dávka vedoucí k usmrcení 90 % cílových organismů) je 12krát nižší než u flukonazolu u rezistentních kmenů. Užívá se jako gel pro dospělé a děti od 6 měsíců⁵⁵. Parciální vstřebatelnost při orálním použití je 25-30 %. Kontraindikací užití mikonazolu je jaterní dysfunkce, užívání Warfarinu (interakce zvyšuje international normalised ratio INR, čas srážení krve k rizikovým hodnotám i přes 10)^{56,57}, Midazolamu, limit je i u statinů (Simvastatinu, Lovastatinu) a u antidiabetika Glyklazidu (Obr. 1.20-3).

Nystatin byl vyvinut v roce 1950. Jedná se o polyenové antibiotikum s antimykotickými účinky. Jeho nevstřebatelnost zajišťuje absenci lékových interakcí. Nevýhodou je hořká chuť a občasné pálivý vjem orální sliznice. Užívá se formou suspenze. U Nystatinu je vyšší inhibice kandid při nižším pH⁵⁸. Je nutno se vyvarovat současné aplikace Nystatinu a CHX, protože chlorhexidin tvoří z Nystatinu neúčinné komplexy. Nystatin lze kombinovat s adjuvans typu *Streptococcus salivarius* K12⁵⁹. Pro kompenzaci rezistencí i u polyenů se mimo zavádění specifických antimykotik testují také účinnosti kompozitních preparátů jako například jodidu sodného vázaného s kyselinou salicylovou⁶⁰.

Amfotericin B je polyenové antimykotikum pro systémovou intravenózní aplikaci užívané od roku 1958. Na preparát Amfotericin B se zaznamenaly jen minimální rezistence. Byly však popsány jak akutní, tak kumulativní, chronické toxicity s nefrotoxicitou, která se snižuje aplikací ve formě lipid komplexu⁶¹. Ampho-Moronal je suspenzí Amfotericinu B 100 mg / ml suspenze. Tato léková forma je k použití i do DÚ u oslabených pacientů. Zvláště vhodný je pro kojence, batolata a pacienty s omezenou možností polykání. Vzhledem k vysoké osmolalitě je nevhodný pro nedonošence.

Flukonazol (FLC) je SAM účinné na *C. albicans*, ale méně účinné na non-*albicans* druhy (hlavně *C. krusei*, *C. glabrata*), což vytváří selekční tlak, kdy non-*albicans* kandidy mohou po jeho užití narůst. Riziko tvorby rezistencí se dále zvyšuje fungistatickým, ne fungicidním, charakterem FLC. Užívá se v tabletách jako Diflucan a Mycomax. Mycomax je dostupný též jako sirup při léčbě kvasinkového postižení sliznice dutiny ústní a nosohltanu. Rezistence kandid vůči flukonazolu neustále narůstá⁶². Itrakonazol je širokospektrým SAM, jehož lipofilita zajistí dobrou absorpci perorálním podáním. Navíc jeho ponecháním po dobu 30 sekund v ústech dochází k lokální aktivitě. Je třeba dbát na správné dávkování léčiva k dosažení eradikace kandid, zejména non-*albicans* druhů^{27,31}.

Batrafen (ciklopiroxolamin) 10 mg v 1 ml je roztokem určeným k léčbě kožních onemocnění způsobených dermatofyty, kvasinkami, plísněmi a houbami. Má velkou schopnost průniku do kůže a nehtů. Nesmí přijít do oka, není určen pro těhotné, novorozence a děti do 6 let. Některá pracoviště jej užívají i orálně.

Experimentálně bylo k terapii lézí CHC vyzkoušeno mnoho prostředků. Výsledky jsou však pro malé soubory pacientů sporné⁶³. Pro úspěšnost histologické verifikace CHC je nutné vyloučit aplikaci prebiotických antimykotik. Časově nevhodně zvolená preskripce krátce před provedením diagnostické excize může zkomplikovat následný management péče. Histologické změny ústní sliznice způsobené kandidovou infekcí mohou přetrvat, ale dočasná eradikace mikroorganismů léčivem, kdy se nepodaří demonstrovat hyfy ani za použití speciálních barvení může vést k mylnému histologickému závěru s charakterem nespecifické, chronické hyperkeratózy. Ta bude klinikem interpretována jako léze s nižším rizikem. Pacient v tomto případě nebude pravidelně dispenzarizován a tím se zvýší riziko pozdního záchytu karcinomu orální sliznice.

Obrázek 1.20-1 Přehled lokálních antimykotik (archiv autora)



Lokální antimykotické přípravky: ActiMaris gel, Nystatin suspenze, Mikonazol gel, Ampho-Moronal suspenze, Batrafen roztok

Obrázek 1.20-2 Citlivost kandid k Nystatin suspenzi (archiv autora)



Nystatin suspenze je dostatečně účinná na *C. albicans*, *C. glabrata* i *C. tropicalis*. Vůči *C. glabrata* je méně účinná než Mikonazol gel.

Obrázek 1.20-3 Citlivost kandid k Mikonazol gelu (archiv autora)



Mikonazol gel 2-4 % je dostatečně účinný na *C. albicans*, účinnější na *C. glabrata* a méně účinný na *C. tropicalis* v porovnání s Nystatinem.

1.21 Laser terapie chronických lézí orálního epitelu a terapie fotodynamická

Terapie lasery na sliznici dutiny ústní využívá fenoménu indukované redoxní regulace, která v tkáni iritované chronickým zánětem s jeho acidózou a hypoxií umožní tkáňové hojení a regeneraci. Hojení probíhá zvýšením proliferace, diferenciace a migrace fibroblastů a stimulace epiteliální buněk. Diodový laser působí fungicidně⁶⁴, laser Erbium-Chromium: Yttrium-Scandium-Gallium-Granát (Er, Cr: YSGG) také redukuje kolonie formující jednotky (CFU) kandid na orální sliznici i jako příčinu dentální infekce^{65,66}. Pomocí ablace lze léčit i léze nereagující na předchozí medikamentózní terapii⁶⁷. Laser indukuje zvýšenou

produkci β -endorfinů a enkefalinů, redukuje úroveň bradykininu a histaminu, snižuje kondukcii bolestivých stimulů. Vytváří se analgetický efekt a úleva od bolesti. Laserová imunomodulace funkcí žírných buněk skrze vcestování leukocytů do tkání ovlivní průběh zánětu sliznice. Výhodou Er, Cr laseru je minimální rozrušení tkáně. Teplo zde uniká odparem. Vytváří jen tenkou koagulaci, kdy tato způsobuje desenzitivizaci tkání pod ní. Reaktivní O_2 druhy vytvořené Er, Cr laserem mají ve tkáni sterilizační efekt. Antimikrobiálním efektem dále tlumí zánětlivé procesy včetně jejich bolesti (Obr. 1.21-1). Léčbu laserem lze kombinovat s fotodynamickou terapií kyselinou 5 - aminolevulovou, pokud je proces refraktorní k léčbě klasické⁶⁸⁻⁷⁰.

Obrázek 1.21-1 Laser ablace retroangulární léze CHC (archiv autora)



1.22 Imunomodulace ke zvýšení obranyschopnosti vůči kandidózám

Imunor 10 mg je perorální lyofilizát z bílých krvinek vepřové krve (testováním shodné s lidskou krví v otázce transfer faktoru). Navozuje komplexní imunomodulaci. Transfer faktor je látkou z bílých krvinek se schopností reagovat proti některým antigenům. Podání transfer faktoru těm, kteří se s antigenem (vir, bakterie) dosud nesečkali, vede ke zvýšení jejich obranyschopnosti. Následně se aktivují bílé krvinky s úkolem fagocytózy. Zvýší se tvorba mezibuněčných signálních působků (interferon, interleukiny). Dojde ke zvýšení počtu a aktivace lymfocytů. Složky krevního obrazu se upravují směrem k normálům. Užívá se u vrozených i získaných imunodeficitů s projevy recidivujících či chronických infektů, tedy infektů hnisavých, herpetických a plísňových. Režim je 4-6 dávek (1 lahvička týdně), takto obvykle 3-4 kúry za 1 rok. Candivac jsou 5 mg kapsle s purifikovanými lyzáty inaktivovaných mikroorganismů 4 kmenů *C. albicans*, *C. krusei*, *C. glabrata* a *Propionibacterium acnes*. Užívá se 1 cps / D po 10 dnů, pak 20 D pauza, 10 D užívání, 20 D pauza a 10 D užívání.

2 Hypotézy a cíle práce

2.1 Hypotézy

Hypotézy byly stanoveny k průkazu nejprve parciálních indukčních faktorů a posléze jejich interakcí. Na základě takto definovaného systému se určily faktory ovlivňující recidivy onemocnění a subjektivní vnímání chronické hyperplastické kandidózy (CHC) pacienti. Nakonec se prověřily hypotézy odlišného charakteru jednotlivých lokalit výskytu CHC. Toto onemocnění je jednoznačně multifaktoriální ve svém vzniku i vývoji a nelze hierarchicky rozdělit marginální faktor od hlavního pro přítomnost jejich interakcí.

2.2 Cíle práce

1. Zjištění aktuálních informací o diagnostických a léčebných postupech, týkajících se CHC na základě literární rešerše.
2. Stanovení patogenetických faktorů CHC na základě retrospektivní studie početného souboru 128 pacientů léčených na Oddělení parodontologie Stomatologické kliniky FN Plzeň.
3. Stanovení faktorů vedoucích k recidivám onemocnění CHC.

3 Hypotézy

3.1 *Dělení hypotéz*

V rámci disertační práce jsme se zaměřili na souhrn etiologických faktorů směřujících ke klinické manifestaci chronické hyperplastické kandidózy a jejím recidivám. Na počátku se stanovily suspektní atributy patogeneze a v rámci retrospektivní studie souboru pacientů s diagnózou CHC se statisticky vyhodnotily. Ověřilo se působení odlišných vlivů samostatně, ale i jejich interakce a sčítané potenciace působení.

3.2 *Hypotézy popisující změny salivace*

Pro patologické procesy v DÚ je podstatná nejen lubrikace a očista povrchů slinou, ale i aktivita bioaktivních látek v ní přítomných. V rámci hypotéz H001-H020 (Tab. 3.2) se ověřovaly faktory snižující schopnost tvořit slinu včetně vlivů medikace, diabetu, věku a pohlaví pacientů^{49,51}. Byly porovnány hodnoty nestimulované a stimulované salivace uživatelů antihypertenziv, anxiolytik a blokátorů protonové pumpy vůči hodnotám pacientů neužívajících medikaci tohoto typu. Podobně se posoudily hodnoty salivace u diabetiků proti nediabetikům a parametry tvorby slin pacientů rozdílných věkových skupin. V dalším kroku se potvrzovala adice nežádoucích hyposalivačních účinků léků na hypertenzi s léky na reflux, posléze i s přičtením efektu anxiolytik. Následně se ověřila nepřímá úměra růstu na počátku stanovených rizikových faktorů (RF) vzniku orální kandidózy a komorbidit s poklesem nestimulované i stimulované salivace. Poslední hypotézy této kategorie porovnaly objem nestimulované a stimulované salivace mezi pohlavími.

Tabulka 3.2 – Hypotézy - indukční faktory vzniku CHC – hyposalivace

Číslo hypotézy	Hypotéza	Srovnání dat	p-value
H001	antihypetenziva indukují hyposalivaci SFR	SFR u medikace hypertenze dle příbalových letáků vyvolávající suchost DÚ x SFR u 0 hyposalivační medikace	0,0963
H002	antihypetenziva indukují hyposalivaci SFR-S	SFR-S u medikace hypertenze dle příbalových letáků vyvolávající suchost DÚ x SFR-S u 0 hyposalivační medikace	0,0342
H003	antidepresiva indukují hyposalivaci SFR	SFR u medikace anxiety dle příbalových letáků vyvolávající suchost DÚ x SFR u 0 hyposalivační medikace	0,0028
H004	antidepresiva indukují hyposalivaci SFR-S	SFR-S u medikace anxiety dle příbalových letáků vyvolávající suchost DÚ x SFR-S u 0 hyposalivační medikace	0,031
H005	medikace gastroezofageálního refluxu (GERD) indukuje hyposalivaci SFR	SFR u medikace GERD dle příbalových letáků vyvolávající suchost DÚ x SFR u 0 hyposalivační medikace	0,493
H006	medikace GERD indukuje hyposalivaci SFR-S	SFR-S u medikace GERD dle příbalových letáků vyvolávající suchost DÚ x SFR-S u 0 hyposalivační medikace	0,4291
H007	DM zvýšeným výdejem vody močí vede k dehydrataci a nedostatku krve→vody →SFR	SFR u DM x SFR nediabetiků	0,0022
H008	Diabetes mellitus zvýšeným výdejem vody močí vede k dehydrataci a nedostatku krve→vody →SFR-S	SFR-S u DM x SFR-S nediabetiků	0,0909
H009	vyšší věk má nižší SFR	kategorie 18-35 x 35-65 x 65+	0,3864
H010	vyšší věk má nižší SFR-S	kategorie 18-35 x 35-65 x 65+	0,0101

H011	antihypetenziva + medikace GERD výrazněji indukují hyposalivaci SFR	SFR u medikace hypertenze a GERD dle příbalových letáků vyvolávající suchost DÚ x SFR u 0 hyposalivační medikace	0,0039
H012	antihypetenziva + medikace GERD výrazněji indukují hyposalivaci SFR-S	SFR-S u medikace hypertenze a GERD dle příbalových letáků vyvolávající suchost DÚ x SFR-S u 0 hyposalivační medikace	0,0166
H013	antihypetenziva + antidepresiva + medikace GERD výrazněji indukují hyposalivaci SFR	SFR u medikace hypertenze+anxiety a medikace GERD x SFR u 0 hyposalivační medikace	0,0027
H014	antihypetenziva + antidepresiva + medikace GERD výrazněji indukují hyposalivaci SFR-S	SFR-S u medikace hypertenze + anxiety a medikace GERD x SFR-S u 0 hyposalivační medikace	0,0133
H015	s růstem jednotlivých Risk Faktorů klesá SFR	kumulativní dopad RF na pokles SFR, nižší riziko R1-R3, střední R4-R8, vysoké R9-R12	0,0368
H016	s růstem jednotlivých Risk Faktorů klesá SFR-S	kumulativní dopad RF na pokles SFR, nižší riziko R1-R3, střední R4-R8, vysoké R9-R12	0,0085
H017	u vyšších indukčních komorbidit klesá SFR	kumulativní dopad komorbidit na pokles SFR, nižší morbidita SHC0-1, střední morbidita SHC2-4, vysoká morbidita SHC5+	0,0365
H018	u vyšších indukčních komorbidit klesá SFR-S	kumulativní dopad komorbidit na pokles SFR, nižší morbidita SHC0-1, střední morbidita SHC2-4, vysoká morbidita SHC5+	0,0078
H019	ženský sex faktor (SF) spojen s nižší SFR	SFR žen x SFR mužů	0,0078
H020	ženský SF spojen s nižší SFR-S	SFR-S žen x SFR-S mužů	0,0012

3.3 Hypotézy popisující vliv pohlaví v etiologii CHC

Následně se ozřejmily otázky vlivu pohlaví pacientů na etiologii CHC skrze výpočet hodnot u hypotéz H021-H023 (Tab. 3.3). Porovnaly se vztahy uvažovaných komorbidit, indukčních faktorů a objemu nikotinismu pacientů s CHC mezi pohlavími.

Tabulka 3.3 – Hypotézy – vliv pohlaví pacientů v etiologii CHC

Číslo hypotézy	Hypotéza	Srovnání dat	p-value
H021	ženský SF spojen s vyššími indukčními morbiditami	morbidity žen x morbidity mužů	0,3571
H022	ženský SF spojen s vyššími Risk Faktory (RF)	RF žen x RF mužů	0,154
H023	ženský SF spojen s vyšším nikotinismem	nikotinismus žen x nikotinismus mužů	0,1624

3.4 Hypotézy k faktorům změn pH

Změny pH slin⁵⁸ výrazně definují prostředí v DÚ. V rámci hypotéz H024-H034 (Tab. 3.4) se porovnaly hodnoty pH u hyposalivace, gastroezofageálním refluxu a diabetu vůči normální aktivitě slinných žláz a pacientům bez uvedených diagnóz. Zvážil se vliv nikotinismu i korelace kouření a snížené salivace. K oběma formám tvorby slin se zohlednil vliv pohlaví pacientů.

Tabulka 3.4 – Hypotézy - indukční faktory vzniku CHC – pokles

Číslo hypotézy	Hypotéza	Srovnání dat	p-value
H024	hyposalivace přináší snížení pH sliny nestimulované	pH u SFR pod 1,5 ml za 15 minut x pH u normální SFR	0,00
H025	hyposalivace přináší snížení pH sliny stimulované	pH u SFR-S pod 8,5 ml za 15 minut x pH u normální SFR-S	0,00
H026	GERD přináší nižší pH sliny nestimulované	pH SFR u GERD x pH u SFR bez hyposalivačních faktorů	0,989
H027	GERD přináší nižší pH sliny stimulované	pH SFR-S u GERD x pH u SFR-S bez hyposalivačních faktorů	0,258
H028	Diabetes mellitus přináší nižší pH sliny nestimulované	pH SFR u DM x pH u SFR bez hyposalivačních faktorů. Pokud byl glykovaný Hemoglobin HbA1c s normou 38 mmol/mol vyšší, snižovalo se pH slin pacientů ⁴⁹ .	0,0174
H029	Diabetes mellitus přináší nižší pH sliny stimulované	pH SFR-S u DM x pH u SFR-S bez hyposalivačních faktorů	0,5126
H030	nikotinismus snižuje pH sliny oproti nekuřákům	nekuřáci x slabí kuřáci x silní kuřáci	0,003
H031	nikotinismus snižuje pH stimulované sliny oproti nekuřákům	nekuřáci x slabí kuřáci x silní kuřáci	0,8021
H032	korelace nikotinismu a hyposalivace na snížení pH SFR	kumulace účinků nikotinismu a nižší SFR na pH SFR x pH normálního SFR nekuřáků	0,00
H033	ženský SF spojen s nižším pH SFR	pH SFR žen x pH SFR mužů	0,5678
H034	ženský SF spojen s nižším pH SFR-S	pH SFR-S žen x pH SFR-S mužů	0,4246

3.5 Hypotézy o faktorech zvyšujících kultivaci kandid.

Ohledně vztahu kultivace kvasinek k induktorům se prošetřily nízká salivace a pokles pH vůči stanoveným normám. Dále se hodnotily hodnoty u refluxu, thyreopatie a diabetu vůči kultivacím u pacientů bez zmíněných komorbidit²⁰. Vyšetřoval se efekt lokálních kortikosteroidů léčby orálního lichenu^{18,19}, asthmatu, užití systémových kortikosteroidů a nikotinismu²². Porovnal se vztah kultivací k počtu rizikových faktorů, vliv pohlaví a komorbidit. Stejně tak se ověřil důsledek faktorů na elevaci non-albicans druhů kandid. Sledoval se vztah nárůstu kultivací za dobu dispenzarizace při působení rozličných faktorů^{18-20,22}. Na předchozí charakteristiky se vztahují hypotézy H035-H059 (Tab. 3.5).

Tabulka 3.5 – Hypotézy - indukční faktory vzniku CHC

– faktory zvyšující kultivaci kandid

Číslo hypotézy	Hypotéza	Srovnání dat	p-value
H035	nižší SFR indukuje zvýšení CFU candidy	CFU u SFR pod 1,5 ml za 15 minut x CFU u normální SFR	0,9418
H036	nižší SFR-S indukuje zvýšení CFU candidy	CFU u SFR pod 1,5 ml za 15 minut x CFU u normální SFR	0,4245
H037	nižší pH SFR indukuje zvýšení CFU candidy	CFU u pH SFR pod 6,3 x CFU u normálního pH SFR	0,0935
H038	nižší pH SFR-S indukuje zvýšení CFU candidy	CFU u pH SFR-S pod 6,8 x CFU u normálního pH SFR-S	0,0456
H039	GERD přináší více CFU candidy	CFU u GERD x CFU u 0 GERD	0,0317
H040	Thyreopatie (TP) přináší více CFU candidy	CFU u TP x CFU u 0 TP	0,3736
H041	Diabetes mellitus přináší více CFU candidy	CFU u DM x CFU u 0 DM Předpokládá se vyšší CFU kvasinek pro kyselé prostředí u vyšší glykemie ⁴⁹ . Některé studie neprokázaly vazbu vyšší HbA1c a vyšší kandidové kultivace ²⁰ .	0,0456
H042	lokální KS léčby orálního lichen planus (OLP) zvyšují CFU candidy ¹⁹	CFU uživatelů lokálních KS na OLP x CFU bez KS V průběhu kortikosteroidní léčby OLP by mělo docházet doporučně s délkou terapie k nárůstu CFU candidy ¹⁸ .	0,2898
H043	lokální KS léčby asthmatu (AB) zvyšují CFU candidy	CFU uživatelů lokálních KS na AB x CFU bez KS	0,2965
H044	systémové KS zvyšují CFU candidy	CFU uivatelů systémových KS x CFU bez KS	0,0198

H045	nikotinismus indukuje zvýšení CFU candidy	CFU u silných kuřáků x CFU u slabých kuřáků x CFU u nekuřáků Dle studie kandidy u nikotinu byla kandida u 50 % zdravých nekuřáků, ale u 100 % nikotinků při kultivaci z výplachu DÚ fyziologickým roztokem ²² .	0,0312
H046	více RF má více CFU candidy	aditivní efekt stanovených Risk Faktorů na růst CFU candidy	0,0006
H047	ženský SF spojen vyšším CFU	CFU žen x CFU mužů ženy by měly mít více kandid pro nižší pH povrchu jazyka	0,3492
H048	více indukčních morbidit přináší vyšší CFU candidy	CFU C. albicans stoupají se vzrůstem nemocí indukující kandidózu	0,3749
H049	DM s více CFU non-albicans candidy	CFU non-albicans u DM x CFU non-albicans u 0 DM NIDDM pacienti měli více non-albicans druhů ⁴⁹ .	0,0394
H050	nižší pH SFR má více CFU non-albicans (N-A) candidy	CFU N-A u SFR pod 1,5 ml za 15 minut x CFU N-A u normálního SFR Pacienti s nižším pH měli více non-albicans druhů ⁴⁹ .	0,3052
H051	nižší pH SFR-S má více CFU non-albicans candidy	CFU N-A u pH SFR-S pod 6,8 x CFU N-A u normálního pH SFR-S	0,7349
H052	ženský SF spojen s vyšším N-A CFU	N-A CFU žen x N-A CFU mužů	0,2636
H053	více indukčních morbidit přináší vyšší CFU N-A candidy	CFU candida non-albicans stoupají se vzrůstem nemocí indukující kandidózu	0,7303
H054	nižší SFR přináší více C-Rise	C-Rise u SFR pod 1,5 ml za 15 minut x C-Rise u normálního SFR C-Rise je sledovaný fenomén zvýšení CFU v rámci dispenzarizace	0,2685
H055	nižší pH SFR přináší více C-Rise	C-Rise u pH SFR pod 6,3 x C-Rise u normálního pH SFR	0,0112
H056	nižší pH SFR-S přináší více C-Rise	C-Rise u pH SFR-S pod 6,8 x C-Rise u normálního pH SFR-S	0,2864
H057	vyšší CFU candidy přináší více C-Rise	srovnání vstupního CFU candidy s četností C-Rise	0,4324
H058	s multiplicitou CHC vzrůstá C-Rise	s vícero-lokalitami projevu CHC stoupá četnost C-Rise	0,2448
H059	ženský SF spojen s více C-Rise	C-Rise žen x C-Rise mužů	0,9416

3.6 Hypotézy ovlivnění recidiv CHC

V hypotézách H060-H070 (Tab. 3.6) se porovnaly rekurence u pacientů s rozdílnou salivací, pH, nikotinismem či morbiditou. Vyšetřil se dopad vícečetných manifestací, korelace počtu stanovených risk faktorů a vlivu pohlaví na riziko recidiv lézí CHC.

Tabulka 3.6 – Hypotézy – okolnosti recidiv CHC

Číslo hypotézy	Hypotéza	Srovnání dat	p-value
H060	nižší SFR indukuje rekurence CHC	rekurence CHC SFR pod 1,5 ml / 15 minut x rekurence CHC u normální SFR	0,9236
H061	nižší SFR-S indukuje rekurence CHC	rekurence CHC SFR-S pod 8,5 ml / 15 minut x rekurence CHC u normální SFR-S	0,5242
H062	nižší pH SFR indukuje rekurence CHC	rekurence CHC u pH SFR pod 6,3 x rekurence CHC u normální pH SFR	0,0899
H063	nižší pH SFR-S indukuje rekurence CHC	rekurence CHC u pH SFR-S pod 6,8 x rekurence CHC u normální pH SFR-S	0,8769
H064	nikotinismus 10+ indukuje rekurence CHC	rekurence CHC u silného nikotinismu x rekurence CHC u nekuřáků	0,0433
H065	vyšší indukční morbidita indukuje rekurence CHC	rekurence CHC se zvyšují se zvýšením indukčních morbidit	0,3618
H066	s multiplicitou CHC rostou rekurence CHC	rekurence CHC se zvyšují s růstem lokalit výskytu CHC	0,7727
H067	stoupající Risk Faktory indukuje rekurence CHC	aditivní efekt stanovených Risk Faktorů na růst rekurencí CHC	0,2057
H068	ženský SF spojen s více rekurencemi CHC	rekurence CHC žen x rekurence CHC mužů	0,0283
H069	fenomén C-Rise koreluje s rekurencemi CHC	C-Rise u nerekurentních CHC x C-Rise u rekurencí CHC	0,7137
H070	korelace rekurencí CHC s různými faktory	vazba rekurencí CHC na jednotlivé indukce	0,0411 0,037

3.7 Hypotézy o faktorech ovlivnění terapie a prognózy CHC

V hypotézách H071-H078 (Tab. 3.7) se zohlednil vztah elevace kvasinkové kultivace k prognóze stavu a managementu lézí CHC. Porovnávala se úspěšnost terapie u různého kontaktního věku pacientů, vliv pohlaví na terapii choroby, koreloval se vztah proteinu p53 k popisovaným dyspláziím biopsií. Hodnotily se kultivace stěrů u lézí s různými popsányými dyspláziemi. Stanovila se vazba nikotinismu na úspěšnost potlačení subjektivních potíží pacientů s CHC.

Tabulka 3.7 – Hypotézy – faktory ovlivnění léčby a prognózy CHC

Číslo hypotézy	Hypotéza	Srovnání dat	p-value
H071	C-Rise ukazuje horší prognózu CHC	pozitivní C-Rise fenomén při dispenzarizaci souvisí s horší prognózou stabilní léčby CHC	0
H072	vyšší věk projevu CHC znamená horší prognózu CHC	vyšší věk prvozáhytu CHC souvisí s horší prognózou stabilní léčby CHC	0,6354
H073	ženský SF je spojen s horší prognózou CHC	horší prognóza léčby CHC žen x horší prognóza léčby CHC mužů	0,0118
H074	více p53 je u dysplázií	rozdíl pozitivity proteinu p53 u lézí s rostoucím histologickým dysplastickým nálezem Protein p53 je kódován tumor supresorickým genem TP53, regulátorem apoptózy chránícím buňky a tkáň před poškozením DNA. Graf zajímavě znázorňuje korelaci OED ke zcela negativnímu p53 s možností poukázání na falešnou negativitu	0,0445
H075	non-albicans candida je u lézí s vyšším maligním potenciálem	nárůst CFU N-A candidy s rostoucím stupněm dysplázie lézí	0,3834
H076	non-albicans candida je u lézí s vyšším maligním potenciálem	vyšší CFU N-A candidy u pacientů s MT v průběhu dispenzarizace	0,6922
H077	nikotinismus komplikuje vyléčení CHC	rozdíl počtu vyléčených CHC u nikotinků a nekuřáků za follow-upu	0,0303
H078	multiplicitou CHC klesá úspěšnost vyléčení CHC	s rostoucím počtem lokalit CHC klesá úspěšnost jejího vyléčení	0,2172

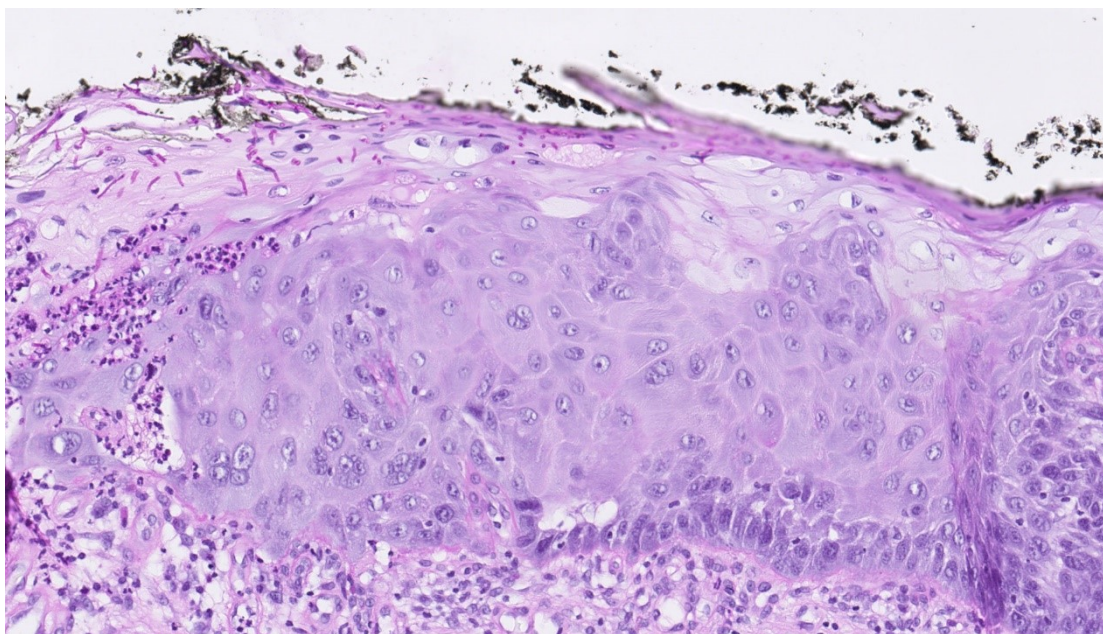
4 Materiál a metodika

4.1 Charakteristika vyšetřované skupiny případů

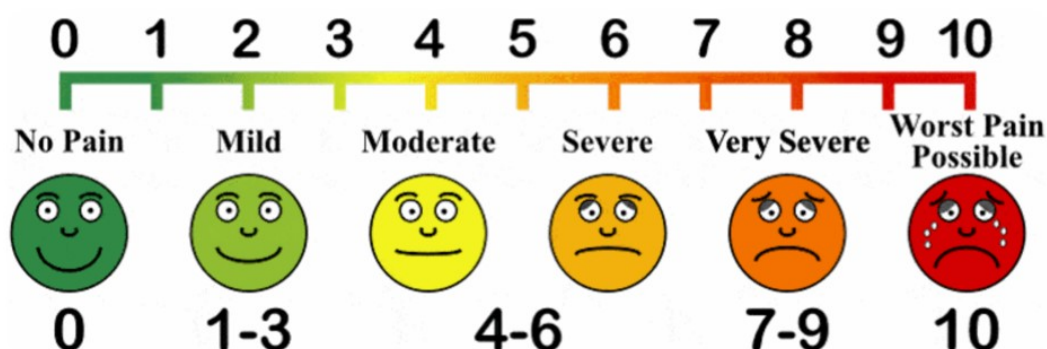
Retrospektivní studie zpracovává data 128 případů onemocnění CHC léčených na Oddělení parodontologie Stomatologické kliniky FN Plzeň v letech 1995 až 2022. Soubor zahrnuje 74 žen a 54 mužů, průměrný věk pacientů byl 58,9 let v rozmezí 25-90 let. Pacienti byli do studie zařazeni až po histologické verifikaci onemocnění standardně doplněnou o barvení Periodic acid Schiff (Obr. 4.1-1). Anamnesticky byla zaznamenána data o výskytu chorob anxiety, arteriální hypertenze, asthma bronchiale, diabetes mellitus, gastroezofageálním refluxu, lichen ruber planus, orálním lichenu planus, revmatoidní artritidě a thyreopatii. Byly dotazovány terapie autoimunitních, hematologických či onkologických onemocnění. Polymorbidita byla kalkulována v rozsahu 0-5 sledovaných chorob s přímým či sekundárním efektem na indukci kandid. Nikotinismus byl dělen na nekuřáctví, kouření do 10 cigaret za den a více než 10 cigaret za den. Vizuální analogická stupnice (VAS scale) je mírou psychomotorické odpovědi v dotaznících, typicky u hodnocení bolesti (Obr. 4.1-1). Jde o nástroj k měření subjektivních charakteristik či postojů, které nelze přímo měřit. V naší práci jsme použili VAS k hodnocení bolesti (P), palčivosti (B) a pocitu sucha v DÚ (X). Následně jsme korelovali hodnoty ke klinickému obrazu a zaznamenávali trendy vývoje stavu objektivního nálezu a subjektivních vjemů pacientů. V rámci studie bylo na subjektivní potíže vyšetřeno 117 pacientů.

Obrázek 4.1-1 Biopsie CHC se zachycením hyf barvením Periodic acid Schiff

(archiv prof. MUDr. Denisy Kacerovské, Ph.D.)



Obrázek 4.1-2 Vizuální analogová stupnice (archiv Google)



4.2 Diferenciace kultivací kandid, CHROMagar

Klinická verifikace přítomnosti kandid probíhá stěrem povrchu ústní sliznice a kultivací v Sabouraudově půdě s mezidruhovou detekcí systémem CHROMagar. Barvení zde značí *Candida albicans* (*Candida dubliniensis*) zeleně, *Candida tropicalis* tmavě kovově modře, *Candida krusei* růžově, *Candida glabrata* rudě, *Candida rugosa* tyrkysově a *Candida parapsilosis* oranžově (Obr. 4.2-1). Kultivace byla provedena u 125 ze 128 pacientů, u většiny pacientů byla prováděna při pravidelných kontrolách opakovaně.

Obrázek 4.2-1 Značení kandid systémem CHROMagar (archiv autora)



CHROMagar barvení: *Candida albicans* (*Candida dubliniensis*) zelené, *Candida tropicalis* tmavě kovově modré, *Candida krusei* růžové, chlupaté, *Candida glabrata* rudě, *Candida rugosa* tyrkysově, *Candida parapsilosis* oranžové

4.3 Průkaz vláknitých forem kandid *Periodic Acid Schiff*

Histologický průkaz CHC získáváme skrze *Periodic acid Schiff (PAS)*, standardní barvení plísni typu candida s konečným červeným, karmínovým zbarvením. PAS reaguje s mananem, glukánem a dalšími polysacharidy hyf. Je u něj známa až 13 % falešná negativita. Metoda Grocott (GMS) je methaminovým barvením na černo-modrou. Barvení PAS se provádělo standardně u všech 128 případů.

4.4 Doplnující prebioptické metody

Pro zlepšení klinického plánování re-excisí k vyloučení rekurence prekanceróz či při suspekci na vznik neoplázie se užívají doplňující techniky v prebioptické fázi vyšetření. Používají se techniky pro přímou fluorescenci Velscope⁷¹ a barvení Toluidinovou modří, kyselinou octovou a Lugolovým činidlem. Tyto techniky pak vedou ke zlepšení stanovení rozsahu excise⁵. Dochází ke zlepšení radikality u biopsie dysplastických změn. Dalším přínosem je upřesnění klinického rozhodnutí, zda výkon provádět i ve vztahu ke komunikaci s pacientem. Všechny zmíněné techniky vyžadují interpretaci zkušeným klinikem. Metoda barvení toluidinovou modří v kombinaci s kyselinou octovou a Lugolovým činidlem byla v rámci studie použita 13x. Bylo tomu tak jen v případech rozvahy, zda excisi provádět, či při horší spolupráci pacienta k usnadnění interpretace nálezu laikem. Přímá fluorescence Velscope byla použita k upřesnění rozsahu excise v oblasti patra, ventrální a laterální plochy jazyka, či spodiny, celkem pak v 11 případech.

4.5 Vyšetření imunologické a alergologické

K vyšetření na Ústavu imunologie a alergologie byli odesláni pacienti nereagující na léčbu. Dále bylo vyšetření indikováno v případech absence anamnestických faktorů indukce orální kandidózy. Byly provedeny krevní náběry k vyšetření krevního obrazu, krevního diferenciálu, dále pak látkové a buněčné imunity. Provedla se vyšetření k vyloučení autoimunitních chorob včetně vyšetření funkce štítné žlázy. Celkem bylo imunologickým specialistou vyšetřeno 61 pacientů retrospektivní studie.

4.6 Imunohistochemická vyšetření

V rutinně zpracovaných slizničních excizích byla imunohistochemicky hodnocena exprese p16 proteinu (protilátkou p16 (klon INK 4 a, Syntec, pro automatický systém Ventana) u 36 pacientů a exprese p53 proteinu (protilátkou CONFIRMTM anti-p53 (DO-7), pro automatický systém Ventana) u 73 pacientů. Vyšetření proliferací aktivity stanovením exprese jaderného proteinu Ki-67 pomocí MIB1 protilátky bylo provedeno v 17 vzorcích CHC.

4.7 *Terapeutické metody*

Chirurgická terapie, kterou je péče o léze typu CHC uváděna už jen pro účel diagnostický a lokálně kurativní, je nedílnou součástí léčby. Z důvodů vícečetných lézí se v rámci studie provedlo u 128 pacientů 161 primárních excisí. Dále pak v průběhu 27 let dispenzarizace bylo u 27 pacientů provedeno 30 rebiopsií. Antimykotická terapie byla provedena u všech pacientů po verifikaci CHC biopsií. Antimykotika se ordinovala v průběhu dispenzarizace při pozitivní kultivaci ze stěru či klinických známkách rekurence choroby. Dle pravidel citlivosti jednotlivých kandid vůči léčivům byly užity preparáty Nystatin suspenze a Mikonazol gel.

5 Výsledky

5.1 Hodnocení klinicko patologické korelace

Mikrobiologické vyšetření stěru lézí bylo negativní u 22 ze 125 pacientů z naší vyšetřované skupiny i přes pravidelně prováděné stěry. U 34 pacientů byla v průběhu dispenzarizace zaznamenána vysoká hodnota kultivace přes 100 kolonie formujících jednotek.

Imunohistochemicky byla exprese antigenu p16 vyšetřována ve 36 případech, vždy s negativním výsledkem. Exprese proteinu p53 byla pozitivní v 66 ze 73 imunohistochemických vyšetření, z toho ve 24 případech byla pozitivita v dlouhé nepřerušené řadě buněčných jader.

Z rizikových faktorů jsme zaznamenali léčenou arteriální hypertenzi spojenou se xerostomií (64/128); kouření (65/128); kortikoterapii inhalační při léčbě astmatu, či chronické bronchopulmonální nemoci, lokální kortikoterapii orálního lichen planus (OLP) v rámci této kožně-slizniční autoimunitní nemoci nebo u orálních lichenoidních lézí (OLL)⁷², coby ústních manifestací poruch napodobujících lichen (41/128); diabetes mellitus 2. typu (24/128); anémii (14/128). Ani u jednoho z 61 pacientů vyšetřených imunologickým specialistou se neprokázal těžký imunodeficit.

Subjektivní potíže: bolest orální sliznice popisovalo 55 ze 117 pacientů dotazovaných metodou VAS. Pocit palčivosti udávalo 59 ze 117 pacientů. Ze stejného počtu dotazovaných udávalo 69 pacientů pocit suchosti DÚ.

Kompletní remise CHC ve smyslu absence klinických lézí CHC, snížení objemu kultivace a absence subjektivních potíží dosáhlo 49 pacientů ze 128. K dosažení parciálního, tedy jen klinického či jen subjektivního zlepšení došlo 122krát.

K progresi léze se vznikem diferencované orální intraepiteliální neoplázie (dOIN) došlo v 16 případech. Trvajících, klinicky nezvladatelných, potíže přetrvávaly u 12 pacientů. Recidiva nastala u 20 ze 128 pacientů, z toho klinicky významné recidivy / progrese s indikací rebiopsie nastaly po 1 až 10 letech od prvotní histologické diagnózy. Léze, které progredovaly do dOIN v průběhu 6 let (16 ze 128), se v rebiopsii vyznačovaly segmentálními abnormalitami bazální vrstvy epitelu ve smyslu nápadné anizokaryózy (jádra měla nepravidelný tvar, oválný, trojúhelníkový i polygonální), s nápadným, zpravidla jedním makrojadérkem, s fokální přítomností atypických mitóz a s ojedinělou uniceleulární dyskeratózou. Stratum basale bylo nepravidelně rozšířené až do rozsahu cca 3 buněčných řad. Konkomitantní kandidóza byla potvrzena metodou PAS. (Tab. 5.1-1)

Dle výsledků naší studie CHC histomorfologicky charakterizuje kromě přítomnosti mikroorganismů 1) akantóza, 2) parakeratóza a/nebo hyperkeratóza, 3) intraepiteliální neutrofilní leukocyty a jejich mikroabscesy, 4) typické mitózy v bazální vrstvě epitelu, 5) buněčná jádra se známkami aktivace (zvětšená, světlá s nápadnými i vícečetnými jádérky, pravidelná jaderná membrána bez zářezů a bez ztlustění, s jemným chromatinem), 6) subepiteliální lymfocyto-plazmocyární infiltrát různé intenzity, 7) prodloužené epitheliální valy. CHC histologicky někdy napodobuje OIN, ve své vystupňované formě i dobře diferencovaný dlaždicový karcinom. V hodnocených případech CHC jsme však 16x zastihli ložiskový obraz OIN, a to diferencovaného typu, s narušením pravidelnosti stratum basale, atypické mitózy a dyskeratózu.

Orální epitheliální dysplázie se prokázaly ve 20 případech. U třech pacientů s CHC se verifikovaly v biopsiích těžké epitheliální dysplázie. Karcinom orální sliznice vznikl v 11 případech. V pohledu na celou skupinu 128 sledovaných pacientů jde o 8,59 % poměr maligní transformace. Popis rizikových faktorů u případů s maligní transformací je zobrazen v tabulce (Tab. 5.1-2)

Tabulka 5.1-1 – Klinické a patologické znaky CHC

Parametr	Hodnoty
Pohlaví pacientů	74/128 ženy, 54/128 muži
Mykologická kultivace	22/125 negativní, 103/125 pozitivní kultivace ze stěru – z toho 16/125 kultivace masivní
Rizikové anamnestické faktory vzniku CHC	64/128 arteriální hypertenze, 65/128 nikotinismus, 74/128 lokální kortikoterapie, orální lichen planus 41/128, diabetes mellitus 24/128, anémie 14/128
Lokality CHC	Jazyk 65/128, retroangulární sliznice 32/128, bukální sliznice 30/128, sliznice alveolu 15/128, patro 11/128, ret 6/128, spodina DÚ 4/128
p16 protein	Hodnocen 36x s negativním výsledkem - 22/36 zcela negativní, 14/36 slabě nespecificky pozitivní
p53 protein	Hodnocen 73x - 6/73 negativní, 66/73 pozitivní – z toho 24/73 pozitivní v dlouhé nepřerušené řadě bazálních jader
Orální epiteliální dysplázie	Verifikována u 20/128 případů, ve 3 případech těžká OED, 16x diferencován dOIN, maligní transformace u 11/128 pacientů
Výsledky terapie	Kompletní remise 49/128 ve smyslu absence klinického nálezu, kultivace ze stěru a absence subjektivních potíží, progresu v dOIN 16/128, rekurence s nutností rebiopsie 20/128

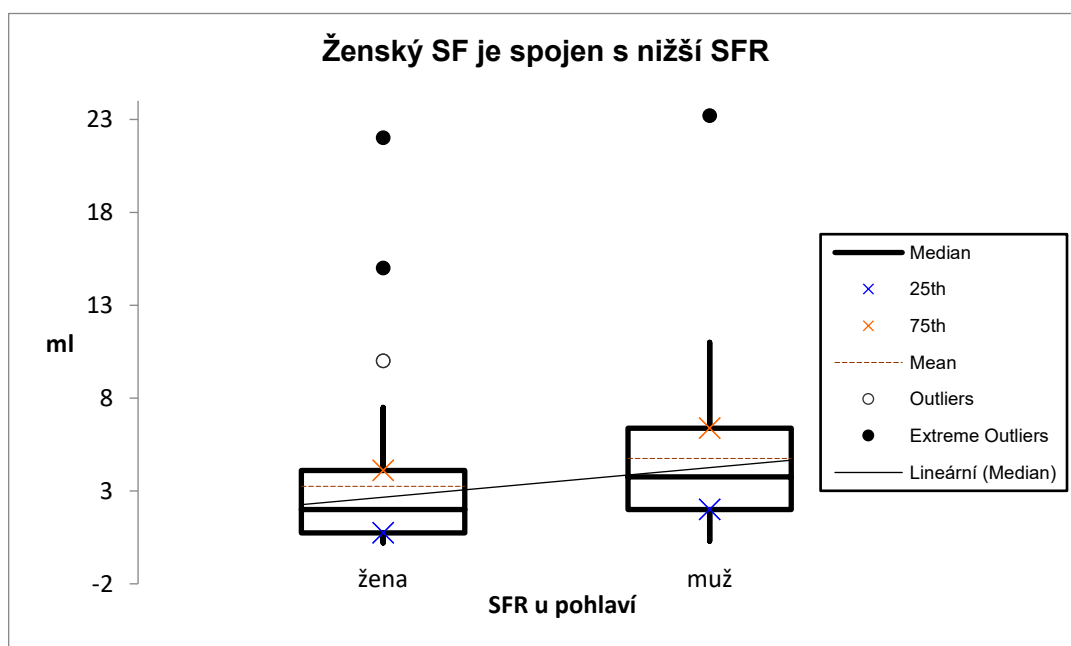
Tabulka 5.1-2 – Rizikové znaky u případů CHC s maligní transformací léze

Parametr	Hodnoty
Pohlaví pacientů	9/11 ženy, 2/11 muži
Rizikové anamnestické faktory	9/11 lokální kortikoterapie, 6/11 arteriální hypertenze, 5/11 orální lichen planus, 4/11 nikotinismus, 3/11 thyreopatie, 3/11 anémie
Kultivace kandid	9/11 pozitivní kultivace, 2/11 negativní
Lokality vzniku karcinomu	5/11 bukální sliznice, 3/11 jazyk, 2/11 alveol, 1/11 retroangulární sliznice, 1/11 ret – u 1/11 rekurence karcinomu jazyka, 1/11 duplicita na jazyku a bukální sliznici
p53 protein	1/11 negativní, 10/11 pozitivní, z toho 4/11 pozitivní v dlouhé nepřerušené řadě
Nutnost rebiopsie	7/11 případů
OED předcházející vzniku karcinomu	6/11 případů

5.2 Hodnocení hypotéz ovlivnění salivace a vlivu sex faktoru u pacientů s CHC

Při vyhodnocení faktorů hyposalivace se prokázala jako významná antihypertenziva se snížením salivace nestimulované SFR i stimulované SFR-S, kdy byly porovnány hodnoty tvorby slin u hypertoniků s terapií ACE inhibitorů vůči pacientům bez hyposalivační medikace ($p=0,0963$, $p=0,0342$). Stejným způsobem porovnání se ještě výrazněji hyposalivačně projevila anxiolytika ($p=0,0028$, $p=0,031$). U polymorbidních pacientů se medikací tlumila salivace aditivně u kombinací antihypertenziv, léků na gastroezofageální refluxní chorobu (GERD) a anxiolytik opět vůči pacientům bez léčiv tlumících tvorbu slin ($p=0,0027$, $p=0,0133$). Nižší schopnost tvořit slinu se prokázala u diabetiků vůči pacientům CHC bez diabetu ($p=0,0022$, $p=0,0909$). Vyšší věk byl asociován se sníženou stimulovanou salivací ($p=0,0101$), ale u nestimulované se markantní rozdíly neprojevíly ($p=0,3864$). S poklesem salivace obou typů byly spřaženy i nárůsty před studií nastavených risk faktorů CHC i indukčních morbidit ($p=0,0368$, $p=0,0085$, $p=0,0365$, $p=0,0078$). Prokázala se nižší schopnost žen s CHC tvořit slinu nestimulovanou ($p=0,0078$), viz (Obr. 5.2-1) i stimulovanou ($p=0,0012$) vůči mužům s diagnózou těchto chronických orálních lézí. (Tab. 3.2) Nepotvrdila se signifikantní asociace ženského pohlaví k vyšší morbiditě, přítomnosti vyšších sledovaných risk faktorů či většímu objemu nikotinu. (Tab. 3.3)

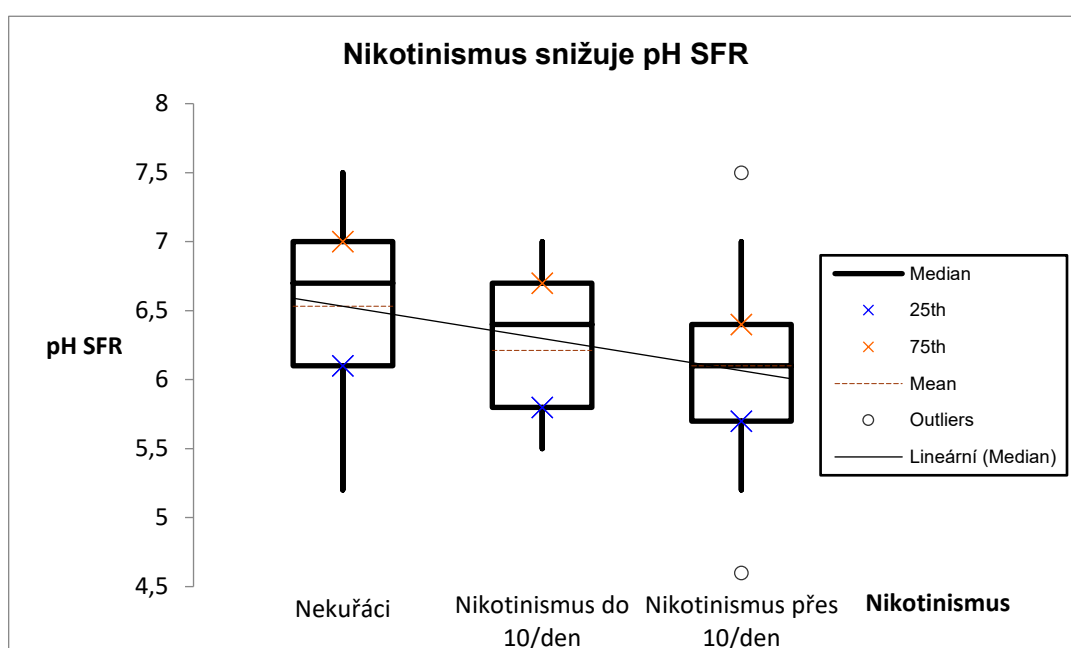
Obrázek 5.2-1 Graf Box-plot Ženský sex faktor je asociován s nižším objemem nestimulované salivace (stat. autora)



5.3 Hodnocení hypotéz ovlivnění pH slin

Na pokles pH slin měly největší vliv hyposalivace u nestimulované i stimulované tvorby slin za podmínek porovnání snížené a normální salivace ($p=0,00$). Pacienti s refluxem neměli nižší pH slin vůči pacientům bez faktorů snižujících tvorbu slin. U diabetiků byl tento rozdíl vůči nediabetikům bez hyposalivační medikace signifikantní u nestimulované salivace ($p=0,0174$). Projevil se signifikantní efekt nikotinismu na pokles pH nestimulované salivace ($p=0,003$), viz (Obr. 5.3-1). (Tab. 3.4)

Obrázek 5.3-1 Graf Box-plot Nikotinismus snižuje pH nestimulované sliny (stat. autora)



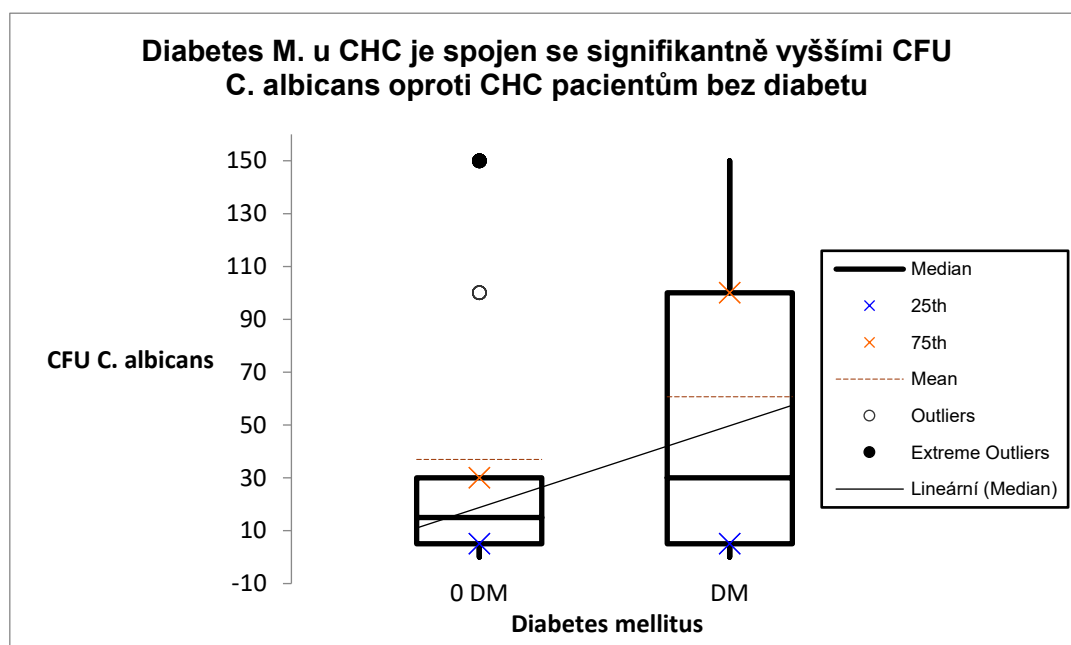
5.4 Hodnocení hypotéz elevace kandidových kultivací u CHC

Na vyšším počtu CFU *C. albicans* se podílelo nižší pH slin pod 6,3 u salivace nestimulované a zejména pod 6,8 u salivace stimulované ($p=0,0935$, $p=0,0456$). Vyšší kultivace byly přítomné u pacientů s GERD oproti pacientům bez refluxu ($p=0,0317$) a s diabetem oproti pacientům bez DM ($p=0,0456$). (Obr. 5.4-1)

Zvýšení CFU bylo nesignifikantní u lokálních KS na OLP (0,2898) i těch užívaných na terapii astmatu ($p=0,2965$). Jako jednoznačně indukující faktory zvýšení CFU se prokázaly systémové KS ($p=0,0198$) a nikotinismus při jeho větším objemu ($p=0,0312$)⁷³. S růstem CFU přesně koreloval i vzestup hodnocených risk faktorů ($p=0,006$). Nepotvrdil se signifikantní vliv pohlaví na mykotické CFU.

Souhlasila hypotéza o vyšší přítomnosti non-albicans kandid u diabetu ($p=0,0394$). Vzhledem k pravidelným kontrolám mykologické kultivace se vysledoval fenomén C-Rise jako vzestup kultivací kandid v rámci probíhající dispenzární péče o jeden kultivační řád. Tento fenomén byl statisticky signifikantně asociován s nižším pH salivace ($p=0,0112$). (Tab. 3.5)

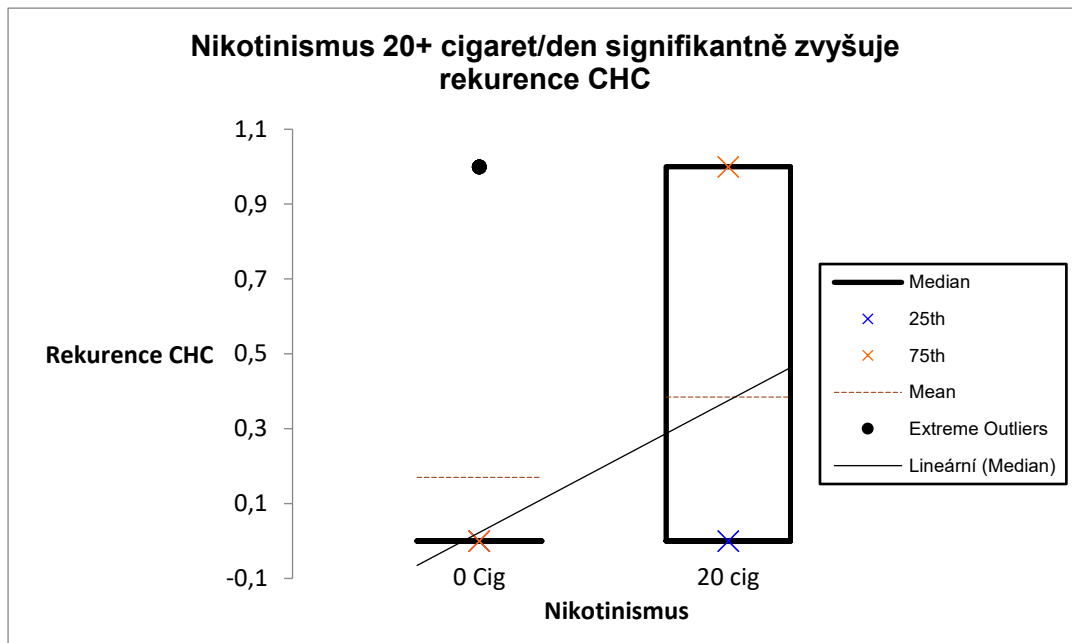
Obrázek 5.4-1 Graf Box-plot Diabetes mellitus u CHC je spojen s vyšší kultivací kandid oproti CHC pacientům bez diabetu (stat. autora)



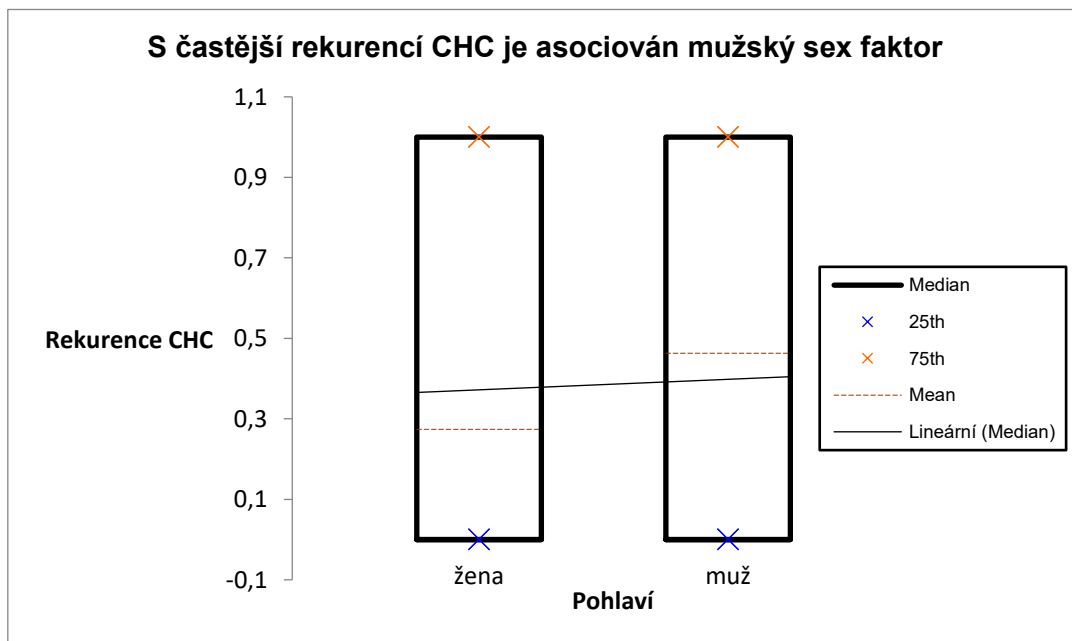
5.5 Hodnocení hypotéz o recidivách CHC

Pro recidivy CHC v rámci dispenzarizace byla významná vazba s nízkým pH nestimulovaných slin v porovnání s případy s pH SFR nad 6,3 ($p=0,0899$) a jednoznačně silný nikotinismus ve srovnání s recidivami u nekuřáků ($p=0,0433$). (Obr. 5.5-1) Rekurence CHC byly významně častější u mužů oproti původně uvažované vyšší rekurenci u ženského sex faktoru ($p=0,0283$). (Obr. 5.5-2), (Tab. 3.6)

Obrázek 5.51 Graf Box-plot Silný nikotinismus je asociován s vyššími recidivami CHC (stat. autora)



Obrázek 5.5-2 Graf Box-plot Mužský sex faktor je asociován s vyššími recidivami CHC (stat. autora)

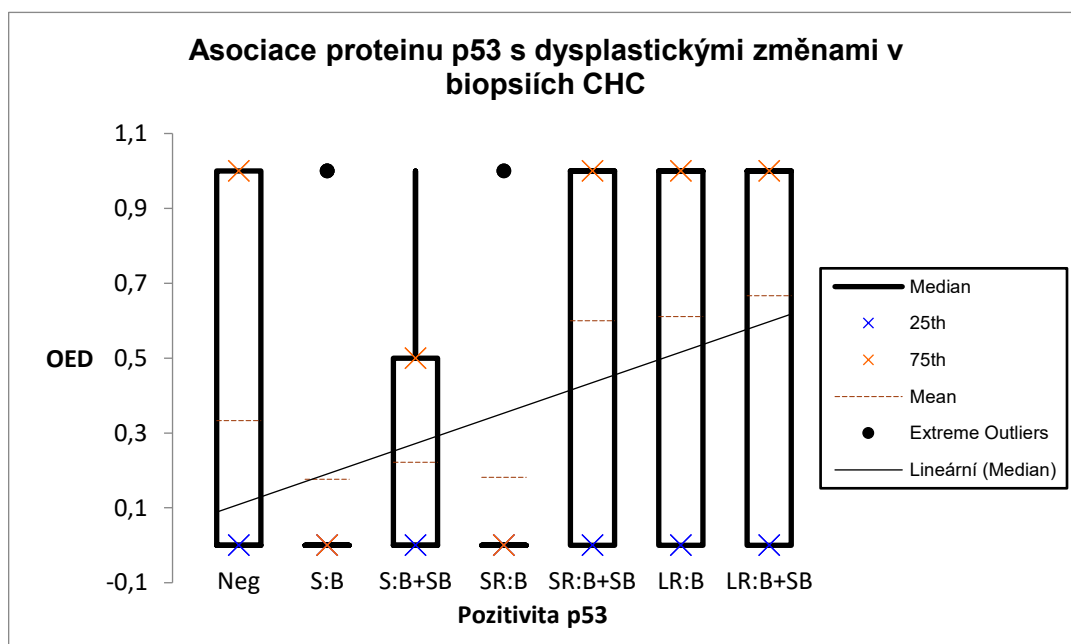


5.6 Hodnocení hypotéz o ovlivnění léčby a prognózy CHC

Fenomén C-Rise (zvýšení kultivace kandid o 1 řád za probíhající dispenzarizace) byl jednoznačně asociován s horší prognózou CHC, coby stabilní udržitelnosti klinického, subjektivního a kultivačního zlepšení ($p=0,00$). S horší prognózou tohoto cíle nebyl asociovaný vyšší věk pacientů. Horší udržitelnost orálního zdraví pacientů s CHC je vázána k mužům ($p=0,0118$).

Vyšší pozitivita p53 proteinu korelovala s histologickým popisem atypií epitelu ($p=0,0445$). (Obr. 5.6-1) Graf této korelace ukazuje na souvislost kvantifikovaného proteinu p53 s popisem OED a zachycuje i zajímavou asociaci OED se zcela negativním p53 k upozornění na možnou falešnou negativitu. Přítomnost non-albicans candid nebyla spojena s výskytem vyšších dysplázií či případy neoplázie u pacientů s CHC. Neschopnost ukončit nikotinismus komplikuje dosažení stabilního vyléčení CHC ($p=0,0303$).

Obrázek 5.6-1 Graf Box-plot Souvislost proteinu p53 s popisem dysplázií u biopsií CHC



6 Diskuze

V rámci hodnocených faktorů pro vznik kandidových stomatitid se potvrdily klinicky hyposalivační efekty medikace arteriální hypertenze, GERD a anxiety, jak se uvádí v příslušných příbalových létacích léků. Shodně s ostatními studii se potvrdilo navýšení hyposalivačního efektu s růstem objemu medikace²³. Dále se verifikovaly závěry studie o snížení pH slin u pacientů s diabetem⁵⁸. Stejně tak souhlasné jsou výsledky stran vyšších CFU candid při DM^{49,74}, což jiné studie neprokazovaly¹⁸. Signifikantně se neprojevovalo navýšení CFU candid při léčbě orálního lichenu lokálními kortikoidy, na což poukazovaly jiné studie^{18,19}. Rozhodujícím rozdílem může být odlišná frekvence aplikace kortikoidů i to, zda se používají topicky jako laky na eroze lichenu, či se jimi vyplachuje celá DÚ. Potvrdilo se tvrzení o nárůstu candid u nikotinků²².

Non-albicans kandidy byly vskutku častější u diabetiků a pacientů s nižším pH slin⁵⁸. Ve shodě s dalšími pracemi se non-albicans kandidy prokazovaly samostatně či v biofilmech s *C. albicans*⁷⁵. Oproti studiím zabývajících se rozboru druhů non-albicans u CHC se v našem souboru projevovaly častěji *C. glabrata* a *C. krusei* a naopak vzácně *C. lusitaniae*⁷⁶. U našich pacientů nebyl vázán průkaz non-albicans druhů candid jen na vysoký věk pacientů⁷⁷. Při úvahách o použití systémových antimykotik se vycházelo z rizik selektivního tlaku léčiv a rostoucích rezistencí zejména non-albicans kandid vůči azolům^{29,78-80}. Oproti studiím přítomnosti candid u OPMD v rozsahu 32-45,7 %, byla u naší studii CHC kultivace pozitivní v 82,4 %^{80,81}. Ve shodě s dalším výzkumem docházelo k pozitivní kultivaci druhově totožných candid i po dokončené antimykotické léčbě⁸².

V pohledu na celou skupinu 128 sledovaných pacientů vznikl v 11 případech karcinom orální sliznice, což obnáší 8,59 % poměr maligní transformace slizničních lézí. Na bukálních sliznicích je udáváno riziko MT premalignit kolem 3-4 %⁶. Dle stupně dysplázie mírná: minimální změny architektury a cytologie jen ve spodní 1/3 epitelu (MT 4,8 %); střední: spodní 2/3 epitelu (MT 15,7 %); těžká: výraznější změny přesahující spodní 2/3 epitelu (MT 26,7 %)^{6,83}. Riziko MT dle klinického vzhledu je u homogenní leukoplakie 3-6,5 %, u nehomogenní leukoplakie 14,5 až 23,4 %. Dle věku: do 50 let prochází MT jen 1 % OPMD, nad 70 let je to již 6,4 %. Dle pohlaví je více MT u žen - 13,1 %, než u mužů - 1,7 %⁷. Přítomnost kandidových hyf se stále považuje za rizikový faktor při vzniku dysplázií a onkogeneze pro nitrozační schopnost nitrosaminových složek podílejících se při započetí karcinogeneze⁸⁴. U pacientů s maligní transformací lézí orální sliznice v průběhu dispenzarizace se nepotvrdil signifikantní nárůst non-albicans kandid⁸⁵. Dle názoru autorů aktuálního přehledu publikací a meta-analýzy by se při zprůměrované maligní transformaci 12,1 % mělo nahlížet na CHC jako na prekancerózu⁸⁶. S počtem 11 karcinomů u 128 pacientů naší studie (8,59 %) se hodnoty neoplastických procesů proporčně shodují. Rozsáhlejší a detailní studie v rámci meta-analýzy měly MT obecně nižší.

K limitům naší studie musíme řadit její retrospektivní design, stále ještě nedostatečný počet případů k průkazu některých faktorů vzniku a potenciace onemocnění CHC a omezenou přístupnost k anamnestickým datům pacientů léčených internisty na pracovištích

mimo FN Plzeň. K překonání limitů je nutná velkoobjemová prospektivní multicentrická studie případů CHC.

7 Závěry

Díky většímu počtu celkem 128 případů došlo ke statistickému vyhodnocení validity faktorů indukce a potenciace onemocnění CHC. Jako rizika pro rekurenci choroby CHC byly potvrzeny: přítomný nikotinismus přes 10 cigaret za den, mužské pohlaví pacientů a nízké pH slivace.

Ve 20 případech vznikla orální epiteliální dysplázie, z toho třikrát dysplázie těžkého typu. Diferencovaný typ orální epiteliální neoplázie byl prokázán u 16 pacientů. Orální lichen planus byl histologicky diferencován v 41 případech. Leukoplakie vznikla u 20 pacientů. Exprese proteinu p53 byla pozitivní v 66 ze 73 imunohistochemických vyšetření, z toho ve 24 případech byla pozitivita v dlouhé nepřerušené řadě buněčných jader.

U 11 ze 128 (8,59 %) dispenzarizovaných pacientů s CHC došlo ke vzniku karcinomu orální sliznice. Rizikovými faktory u případů zvratu v malignitu byly ženské pohlaví, lokalita tvářové sliznice, klinická rekurence CHC, pozitivní kultivace kvasinek ze stěru a užívání lokálních kortikosteroidů. U případů maligní transformace se 7krát prováděla rebiopsie a u 6 z 11 případů předcházel vzniku karcinomu průkaz orální epiteliální dyplázie.

Použitá literatura

1. Bates TJ, Richards A, Pring M. Oral potentially malignant disorders: a practical review for the diagnostic pathologist. *Diagn Histopathol*. 2023;29(4):208-224.
2. Warnakulasuriya S, Kujan O, Aguirre-Urizar JM, Bagan JV, González-Moles MÁ, Kerr AR, Lodi G, Mello FW, Monteiro L, Ogden GR, Sloan P, Johnson NW. Oral potentially malignant disorders: A consensus report from an international seminar on nomenclature and classification, convened by the WHO Collaborating Centre for Oral Cancer. *Oral Dis*. 2021;27(8):1862-1880.
3. Odell EW, Muller S, Tilakaratne WM, ed. Oral cavity and mobile tongue tumours. In: WHO Classification of Tumours Editorial Board. Head and neck tumours [Internet; beta version ahead of print]. Lyon (France): International Agency for Research on Cancer; 2022. (WHO classification of tumours series, 5th ed.; vol. 9). Available from: <https://tumourclassification.iarc.who.int/chapters/52>.
4. Warnakulasuriya S. Oral potentially malignant disorders: A comprehensive review on clinical aspects and management. *Oral Oncol*. 2020;102:104550.
5. Awadallah M, Idle M, Patel K, Kademani D. Management update of potentially premalignant oral epithelial lesions. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol*. 2018;125(6):628-636.
6. Warnakulasuriya S, Kovacevic T, Madden PP, et al. Factors predicting malignant transformation in oral potentially malignant disorders among patients accrued over a 10-year period in South East England. *J Oral Pathol Med*. 2011;40:677-683.
7. Speight P.M, Khurram S.A, Kujan O. Oral potentially malignant disorders: risk of progression to malignancy. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol*. 2018;125(6):612-627.
8. Izumo T. Oral premalignant lesions: from the pathological viewpoint. *Int J Clin Oncol*. 2011;16(1):15-26.
9. Warnakulasuriya S, Soussi T, Maher R, Johnson N, Tavassoli M. Expression of p53 in oral squamous cell carcinoma is associated with the presence of IgG and IgA p53 autoantibodies in sera and saliva of the patients. *J Pathol*. 2000;192(1):52-57.

10. Sanketh DS, Kumari K, Rao RS, Haragannavar VC, Sarode SC, Sarode GS, Raj AT, Patil S. Expression of Ki-67, p53, α -SMA and COX-2 in lichen planus and related lesions: A pilot study. *J Oral Biol Craniofac Res.* 2019;9(2):230-235.
11. Villa A, Celentano A, Glurich I, Borgnakke WS, Jensen SB, Peterson DE, Delli K, Ojeda D, Vissink A, Farah CS. World Workshop on Oral Medicine VII: Prognostic biomarkers in oral leukoplakia: A systematic review of longitudinal studies. *Oral Dis.* 2019;25 Suppl 1(Suppl 1):64-78.
12. Sistig S, Vucićević-Boras V, Lukac J, Kusić Z. Salivary IgA and IgG subclasses in oral mucosal diseases. *Oral Dis.* 2002;8(6):282-286.
13. Bouček J, Betka J, Kastner J, Betka J, Eckschlager T, Říhová B. Regulační T-lymfocyty a jejich význam pro zhoubné novotvary hlavy a krku. *Prakt. Lék.* 2009;89(1):16-19.
14. Ajila V, Shetty V, Babu S, Hegde S, Rao S. Immunoglobulin A in oral potentially malignant disorders and oral squamous cell carcinoma. *J Med Sci* 2017;37(5):195-200.
15. Kisand K, Boe Wolff AS, Trebušak Podkrajšek K, Tserel L, Link M, Kisand KV, Ersvaer E, Perheentupa J, Moter Erichsen M, Bratanic N, Meloni A, Cetani F, Perniola R, Ergun-Longmire B, Maclaren N, Krohn KJE, Pura M, Schalke B, Strobel P, Leite MI, Battelino T, Husebye ES, Peterson P, Willcox N, Meager A. Chronic mucocutaneous candidiasis in APECED or thymoma patients correlates with autoimmunity to Th17-associated cytokines. *J Exp Med.* 2010;207(2):299-308.
16. Liu X, Hua H. Oral manifestation of chronic mucocutaneous candidiasis: seven case reports. *J Oral Pathol Med.* 2007;36(9):528-532.
17. Carey B, Lambourne J, Porter S, Hodgson T. Chronic mucocutaneous candidiasis due to gain-of-function mutation in STAT1. *Oral Dis.* 2019;25(3):684-692.
18. Bombeccari GP, Gianni AB, Spadari F. Oral Candida colonization and oral lichen planus. *Oral Dis.* 2017;23(7):1009-1010.
19. Marable DR, Bowers LM, Stout TL, Stewart CM, Berg KM, Sankar V, DeRossi SS, Thoppay JR, Brennan MT. Oral candidiasis following steroid therapy for oral lichen planus. *Oral Dis.* 2016;22(2):140-147.

20. Zomorodian K, Kavooosi F, Pishdad GR, Mehriar P, Ebrahimi H, Bandegani A, Pakshir K. Prevalence of oral *Candida* colonization in patients with diabetes mellitus. *J Mycol Med*. 2016;26(2):103-110.
21. Lu SY. Perception of iron deficiency from oral mucosa alterations that show a high prevalence of *Candida* infection. *J Formos Med Assoc*. 2016;115(8):619-627.
22. Mokeem SA, Abduljabbar T, Al-Kheraif AA, Alasqah MN, Michelogiannakis D, Samaranyake LP, Javed F. Oral *Candida* carriage among cigarette- and waterpipe-smokers, and electronic cigarette users. *Oral Dis*. 2019;25(1):319-326.
23. Yuan A, Woo SB. Adverse drug effects in the oral cavity. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol*. 2015;119(1):35-47.
24. Pina PSS, Custodio M, Sugaya NN, de Souza SCOM. Histopathologic aspects of so called chronic hyperplastic candidiasis: An analysis of 36 cases. *J Cutan Pathol*. 2021;48(1):66-71.
25. Zhang W, Wu S, Wang X, Gao Y, Yan Z. Malignant transformation and Treatment Recommendations of Chronic Hyperplastic Candidiasis-A Six-year Retrospective cohort study. *Mycoses*. 2021;64:1422-1428.
26. Finkel JS, Mitchell AP. Genetic control of *Candida albicans* biofilm development. *Nat Rev Microbiol*. 2011;9(2):109-118.
27. Miranda-Cadena K, Marcos-Arias C, Mateo E, Aguirre JM, Quindos G, Eraso E. Prevalence and antifungal susceptibility profiles of *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis* and their close related species in oral candidiasis. *Arch Oral Biol*. 2018;95:100-107.
28. Chai LY, Denning DW, Warn P. *Candida tropicalis* in human disease. *Crit Rev Microbiol*. 2010;36(4):282-298.
29. Rambach G, Oberhauser H, Speth C, Lass Florl C. Susceptibility of *Candida* species and various moulds to antimycotic drugs: use of epidemiological cutoff values according to RUCAST and CLSI in an 8- year survey. *Med Mycol*. 2011;49(8):856-863.

30. Willis AM, Coulter WA, Sullivan DJ, Coleman DC, Hayes JR, Bell PM, Lamey PJ. Isolation of *C. dubliniensis* from insulin-using diabetes mellitus patients. *J Oral Pathol Med.* 2000;29(2):86-90.
31. Ludwig A, de Jesus FPK, Dutra V, Cândido SL, Alves SH, Santurio JM. Susceptibility profile of *Candida rugosa* (*Diutina rugosa*) against antifungals and compounds of essential oils. *J Mycol Med.* 2019;29(2):154-157.
32. Netea MG, Kullberg BJ. Epithelial sensing of fungal invasion. *Cell Host Microbe.* 2010;8(3):219-220.
33. Speakman EA, Dambuza IM, Salazar F, Brown GD. T Cell Antifungal Immunity and the Role of C-Type Lectin Receptors. *Trends Immunol.* 2020;41(1):61-76.
34. Tomalka J, Azodi E, Narra HP, Patel K, O'Neill S, Cardwell C, Hall BA, Wilson JM, Hise AG. β -Defensin 1 plays a role in acute mucosal defense against *Candida albicans*. *J Immunol.* 2015;194(4):1788-1795.
35. Ali A, Niissalo S, Hietanen J, Laine M, Rautemaa R, Konttinen Y. Expression of alpha-defensin-1 in chronic hyperplastic candidosis. *J Oral Pathol Med.* 2005;34(6):347-351.
36. Ali A, Rautemaa R, Hietanen J, Järvensivu A, Richardson M, Konttinen YT. Expression of interleukin-8 and its receptor IL-8RA in chronic hyperplastic candidosis. *Oral Microbiol Immunol.* 2006;21(4):223-230.
37. Tanida T, Okamoto T, Okamoto A, Wang H, Hamada T, Ueta E, Osaki T. Decreased excretion of antimicrobial proteins and peptides in saliva of patients with oral candidiasis. *J Oral Pathol Med.* 2003;32(10):586-594.
38. Cawson RA, Lehner T. Chronic hyperplastic candidiasis--candidal leukoplakia. *Br J Dermatol.* 1968;80(1):9-16.
39. Hasek J. New medicinal substances in extemporaneous prescription - miconazole and miconazole nitrate. *Prakt lekaren.* 2013;9(4-5):192-195.
40. Shah N, Ray JG, Kundu S, Sardana D. Surgical management of chronic hyperplastic candidiasis refractory to systemic antifungal treatment. *J Lab Physicians.* 2017;9(2):136-139.

41. Shibata T, Yamashita D, Hasegawa S, Saito M, Otsuki N, Hashikawa K, Tahara S, Nibu K. Oral candidiasis mimicking tongue cancer. *Auris Nasus Larynx*. 2011;38(3):418-420.
42. Darling MR, McCord C, Jackson-Boeters L, Copete M. Markers of potential malignancy in chronic hyperplastic candidiasis. *J Investig Clin Dent*. 2012;3(3):176-181.
43. Arruda C, Artico G, Freitas R, Filho A, Migliari D. Prevalence of *Candida* spp. in Healthy Oral Mucosa Surfaces with Higher Incidence of Chronic Hyperplastic Candidiasis. *J Contemp Dent Pract*. 2016;17(8):618-622.
44. Galletta VC, Campos MS, Hirota SK, Migliari DA. Hyperplastic candidosis on the palate developed as a 'kissing' lesion from median rhomboid glossitis. *Braz J Otorhinolaryngol*. 2010;76(1):137.
45. Lewis MAO, Lamey PJ. *Oral Medicine in Primary Dental Care, 4th ed.* BDJ Books, London 2011. ISBN 978-3-030-15431-8.
46. Davies JM, Stacey AJ, Gilligan CA. *Candida albicans* hyphal invasion: thigmotropism or chemotropism? *FEMS Microbiol Lett*. 1999;171(2):245-249.
47. Akpan A, Morgan R. Oral candidiasis. *Postgrad Med J*. 2002;78(922):455-459.
48. Barrett AW, Kingsmill VJ, Speight PM. The frequency of fungal infection in biopsies of oral mucosal lesions. *Oral Dis*. 1998;4(1):26-31.
49. Sashikumar R, Kannan R. Salivary glucose levels and oral candidal carriage in type II diabetics. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2010;109(5):706-711.
50. Torres P, Castro M, Reyes M, Torres VA. Histatins, wound healing, and cell migration. *Oral Dis*. 2018;24(7):1150-1160.
51. Navazesh M, Brightman VJ, Pogoda JM. Relationship of medical status, medications, and salivary flow rates in adults of different ages. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 1996;81(2):172-176.
52. Horák P. Specifická antimykotika a jejich použití u vybraných patologických stavů. *Interní Med*. 2011;13(4):171-175.

53. Millsop JW, Fazel N. Oral candidiasis. *Clin Dermatol*. 2016;34(4):487-494.
54. Zhang LW, Fu JY, Hua H, Yan ZM. Efficacy and safety of miconazole for oral candidiasis: a systematic review and meta-analysis. *Oral Dis*. 2016;22(3):185-195.
55. Hoppe JE, Hahn H. Randomized comparison of two nystatin oral gels with miconazole oral gel for treatment of oral thrush in infants. Antimycotics Study Group. *Infection*. 1996;24(2):136-139.
56. Mumtaz S. Topical miconazole and warfarin. *Br J Oral Maxillofac Surg*. 2019;57(3):291.
57. Quindós G, Gil-Alonso S, Marcos-Arias C, Sevillano E, Mateo E, Jauregizar N, Eraso E. Therapeutic tools for oral candidiasis: Current and new antifungal drugs. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2019;24(2):e172-e180.
58. Aitken-Saavedra J, Lund RG, González J, Huenchunao R, Perez-Vallespir I, Morales-Bozo I, Urzúa B, Tarquinio SC, Maturana-Ramírez A, Martos J, Fernandez-Ramires R, Molina-Berríos A. Diversity, frequency and antifungal resistance of *Candida* species in patients with type 2 diabetes mellitus. *Acta Odontol Scand*. 2018;76(8):580-586.
59. Hu L, Mao Q, Zhou P, Lv X, Hua H, Yan Z. Effects of *Streptococcus salivarius* K12 with nystatin on oral candidiasis-RCT. *Oral Dis*. 2019;25(6):1573-1580.
60. Petruzzi M, Grassi FR, Nardi GM, Martinelli D, Serpico R, Luglie PF, Baldoni E. Sodium iodide associated to salicylic acid in the topical management of chronic oral candidiasis: a randomized trial. *J Biol Regul Homeost Agents*. 2010;24(3):381-384.
61. Van Daele R, Spriet I, Wauters J, Maertens J, Mercier T, Van Hecke S, Brüggemann R. Antifungal drugs: What brings the future? *Med Mycol*. 2019;57(Supplement_3):S328-S343.
62. Morschhäuser J. The development of fluconazole resistance in *Candida albicans* - an example of microevolution of a fungal pathogen. *J Microbiol*. 2016;54(3):192-201.
63. Scardina GA, Ruggieri A, Messina P. Chronic hyperplastic candidosis: a pilot study of the efficacy of 0.18% isotretinoin. *J Oral Sci*. 2009;51(3):407-410.

64. Maver-Biscanin M, Mravak-Stipetic M, Jerolimov V, Biscanin A. Fungicidal effect of diode laser irradiation in patients with denture stomatitis. *Lasers Surg Med.* 2004;35(4):259-262.
65. Onay EO, Alikaya C, Seker E. Evaluation of antifungal efficacy of erbium, chromium: yttrium-scandium-gallium-garnet laser against *Candida albicans*. *Photomed Laser Surg.* 2010;28 Suppl 1:S73-78.
66. Ozkan L, Cetiner S, Sanlidag T. Effect of Er, Cr:YSGG laser irradiation with radial firing tips on *Candida albicans* in experimentally infected root canals. *Biomed Res Int.* 2014;2014:938245.
67. Matulić N, Bago I, Sušić M, Gjorgievska E, Kotarac Knežević A, Gabrić D. Comparison of Er:YAG and Er, Cr:YSGG Laser in the Treatment of Oral Leukoplakia Lesions Refractory to the Local Retinoid Therapy. *Photobiomodul Photomed Laser Surg.* 2019;37(6):362-368.
68. Li B, Fang X, Hu X, Hua H, Wei P. Successful treatment of chronic hyperplastic candidiasis with 5 - aminolevulinic acid photodynamic therapy: A case report. *Photodiagnosis Photodyn Ther.* 2022;37:102633.
69. Zhang W, Wu S, Wang X, Wei P, Yan Z. Combination treatment with photodynamic therapy and laser therapy in chronic hyperplastic candidiasis: A case report. *Photodiagnosis Photodyn Ther.* 2022;38:102819.
70. AlGhamdi AS, Qamar Z, AlSheikh R, Al Hinai MTA, Abdul NS, Aljoghaiman EA, Ali S. Clinical efficacy of 5 - aminolevulinic acid-mediated photodynamic therapy versus topical antifungal agent and surgical excision for the treatment of hyperplastic candidiasis. *Photodiagnosis Photodyn Ther.* 2023;41:103258.
71. Awan KH, Morgan PR, Warnakulasuriya S. Evaluation of an autofluorescence based imaging system (VELscope™) in the detection of oral potentially malignant disorders and benign keratoses. *Oral Oncol.* 2011;47(4):274-247.
72. Artico G, Freitas RS, Santos Filho AM, Benard G, Romiti R, Migliari DA. Prevalence of *Candida* spp., xerostomia, and hyposalivation in oral lichen planus--a controlled study. *Oral Dis.* 2014;20(3):e36-41.
73. Holmstrup P, Bessermann M. Clinical, therapeutic, and pathogenic aspects of chronic oral multifocal candidiasis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1983;56(4):388-395.

74. Guggenheimer J, Moore PA, Rossie K, Myers D, Mongelluzzo MB, Block HM, Weyant R, Orchard T. Insulin-dependent diabetes mellitus and oral soft tissue pathologies: II. Prevalence and characteristics of Candida and Candidal lesions. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2000;89(5):570-576.
75. Tomičić Z, Zupan J, Matos T, Raspor P. Probiotic yeast *Saccharomyces boulardii* (nom. nud.) modulates adhesive properties of *Candida glabrata*. *Med Mycol.* 2016;54(8):835-845.
76. Arya NR, Rafiq NB. Candidiasis. *StatPearls.* 2023. PMID:32809459.
77. Taylor M, Brizuela M, Raja A. Oral Candidiasis. *StatPearls.* 2023. PMID: 31424866.
78. Isham N, Ghannoum MA. Antifungal activity of miconazole against recent *Candida* strains. *Mycoses.* 2010;53(5):434-437.
79. Yu SY, Zhang L, Chen S, Kong F, Xiao M, Wang H, Hou X, Zhou ML, Zhang G, Zhang JJ, Duan SM, Kang W, Xu YC. *Candida* isolates causing refractory or recurrent oropharyngeal candidiasis in 11 hospitals in China. *Infect Drug Resist.* 2019;12:865-875.
80. Gall F, Colella G, Di Onofrio V, Rossiello R, Angelillo IF, Liguori G. *Candida* spp. in oral cancer and oral precancerous lesions. *New Microbiol.* 2013;36(3):283-288.
81. Bansal R, Pallagatti S, Sheikh S, Aggarwal A, Gupta D, Singh R. Candidal Species Identification in Malignant and Potentially Malignant Oral Lesions with Antifungal Resistance Patterns. *Contemp Clin Dent.* 2018;9(Suppl 2):S309-S313.
82. Williams DW, Bartie KL, Potts AJ, Wilson MJ, Fardy MJ, Lewis MA. Strain persistence of invasive *Candida albicans* in chronic hyperplastic candidosis that underwent malignant change. *Gerodontology.* 2001;18(2):73-78.
83. Ranganathan K, Kavitha L. Oral epithelial dysplasia: Classifications and clinical relevance in risk assessment of oral potentially malignant disorders. *J Oral Maxillofac Pathol.* 2019;23(1):19-27.
84. Sanjaya PR, Gokul S, Gururaj Patil B, Raju R. *Candida* in oral pre-cancer and oral cancer. *Med Hypotheses.* 2011;77(6):1125-1128.

85. Nawaz A, Mäkinen A, Pärnänen P, Meurman JH. Proteolytic activity of non-albicans *Candida* and *Candida albicans* in oral cancer patients. *New Microbiol.* 2018;41(4):296-301.

86. Lorenzo-Pouso AI, Pérez-Jardón A, Caponio VCA, Spirito F, Chamorro-Petronacci CM, Álvarez-Calderón-Iglesias Ó, Gándara-Vila P, Lo Muzio L, Pérez-Sayáns M. Oral Chronic Hyperplastic Candidiasis and Its Potential Risk of Malignant Transformation: A Systematic Review and Prevalence Meta-Analysis. *J Fungi (Basel)*. 2022;8(10):1093.

Přehled publikační činnosti autora

1. Původní články

Liska J, Liskova V, Trcka O, Ondic O, Hauer L, Baxa J, Kacerovska D. Oral presentation of paraneoplastic pemphigus as the first sign of tonsillar HPV associated squamous cell carcinoma. A case report. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub.* 2022;166(4):447-450. IF=1,648

Hauer L, Gencur J, Posta P, Kasl Z, Rusnak S, Skalova A, Chalupova M, Liska J, Merglova V. Cervical lymphocele: A rare complication following salvage surgery for ocular adnexal apocrine adenocarcinoma. A case report and review of the literature *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub.* 2022;166(1):117-125. IF=1,648

Hauer L, Posta P, Gencur J, Micopulos C, Liska J, Podesvova J, Pivovarcikova K, Moztarzadeh O. Novel Local Chimeric Flap Based on Tunnelized Facial Artery Myomucosal Island Flap and Submandibular Gland Flap for Reconstructions After Oral Squamous Cell Carcinoma Surgery. *J Craniofac Surg.* 2023;34(1):76-82. IF=1,172

Vokurka S, Holeckova P, Navratilova-Hrabankova D, Jirsova K, Liska J, Novosadova M, Janska V, Faber E, Sipova S, Cvek J, Pochop L, Kozakova S, Kourilova P, Labudikova M. Oral cavity complications in oncological and hemato-oncological patients. *Klin Onkol.* 2021;34(2):153-162. 0 IF.

Vokurka S, Kozakova S, Janska V, Cerna A, Liska J. Stomatitis in mTOR inhibitors treatment and other targeted cancer therapy, possibilities of influencing it, and the use of local corticotherapy. *Klin Onkol.* 2020;33(6):436-439. 0 IF.

2. Přednášky na odborných setkáních

1. Liška J. B-lymfom v oblasti DÚ. 11. Plzeňské pracovní dny, 21-22. listopadu 2014, Hotel U Pramenů, Plzeň
2. Liška J. Slizniční dispenzář oddělení Parodontologie FN Plzeň, Primární projevy Hemato-onkologických chorob v DÚ. 13. Plzeňské pracovní dny, 11-12. listopadu 2016, Hotel U Pramenů, Plzeň
3. Liška J. 23. Možnosti léčby chorob s projevy na sliznicích DÚ. Lipenské stomatologické dny, 23. září 2017, Hotel Barborka, Přední Výtoň
4. Liška J. TUGSE, 14. Plzeňské pracovní dny, 10-11. listopadu 2017, Hotel U Pramenů, Plzeň
5. Liška J. Základní diferenciální diagnostika slizničních onemocnění a jejich léčba, 23. Kutnohorské stomatologické dny, 8-9. září 2018, Kulturní dům Lorec, Kutná Hora
6. Liška J. Diodový laser v léčbě parodontopatií a slizničních lézí, 24. Lipenské stomatologické dny, 22. září 2018, Hotel Barborka, Přední Výtoň
7. Liška J. Projevy chorob na sliznicích DÚ v souvislostech, Přednášky pro OSK Trutnov, 4. dubna 2019, Hotel Harmonie, Lánov
8. Liška J. Laserterapie orálních slizničních afekcí, 16. Plzeňské pracovní dny, 1-2. listopadu 2019, Hotel and Congress center Primavera, Plzeň
9. Liška J, Lišková V, Trčka O, Ondič O, Hauer L, Baxa J, Kacerovská D. Paraneoplastický pemphigus sliznice DÚ jako první projev karcinomu tonzily, 17. Plzeňské pracovní dny, 12-13. listopadu 2021, Hotel and Congress center Primavera, Plzeň
10. Liška J, Lišková V, Malkusová I, Kacerovská D. Chronická hyperplastická kandidóza – klinická studie, 25. Pražské dentální dny, 14-15. října 2022, O2 universum, Praha
11. Liška J, Lišková V, Malkusová I, Kacerovská D. Chronická hyperplastická kandidóza – klinická studie, Večer stomatologické kliniky, 26. října 2022, Lékařská fakulta v Plzni, Plzeň

12. Liška J. Vyšetření hyposalivace – Škachův test (sekce NELZP), Liška J, Lišková V, Malkusová I, Kacerovská D. Chronická hyperplastická kandidóza – klinická studie, 18. Plzeňské pracovní dny, 4-5. listopadu 2022, Hotel and Congress center Primavera, Plzeň

13. Liška J, Lišková V, Malkusová I, Kacerovská D. Chronická hyperplastická kandidóza – klinická studie, Úsměv 23. 23. března 2023, Klinika zubního lékařství LF UP, Olomouc

14. Liška J, Lišková V, Janečková P, Hauer L, Moztarzadeh O, Ferda J, Topolčan O. Orální kandidózy a neoplázie – klinická studie, Den výzkumných prací. 2. června 2023, Výzkumný ústav stomatologický, Praha

15. Liška J, Lišková V, Janečková P, Hauer L, Moztarzadeh O, Ferda J, Topolčan O. Orální kandidózy a neoplázie – klinická studie, 43. Imunoanalytické dny. 8. června 2023, Lékařská fakulta v Plzni, Plzeň

Poster: 1. Liška J, Malkusová I, Hauer L, Kacerovská D. Benefits of Immunologic Supervision on Patients with Chronic Hyperplastic Candidiasis, EAACI Hybrid Congress 2022, 1-3. července 2022 – Imunologický evropský kongres, O2 universum, Praha