

Univerzita Karlova v Praze
Lékařská fakulta v Hradci Králové

Mukokutánní kandidóza a její vztah k ženským pohlavním hormonům

Disertační práce

MUDr. Marie Košťálová

Hradec Králové 2008

Klinika nemocí kožních a pohlavních
přednosta : doc. MUDr. Karel Ettler, CSc.

Porodnická a gynekologická klinika
přednosta : doc. MUDr. Jindřich Tošner, CSc.

MUDr. Marie Košťálová

**Mukokutánní kandidóza a její vztah k ženským pohlavním
hormonům**

Disertační práce

Hradec Králové

2008

OBSAH

1. Úvod	5
2. Současný pohled na mukokutánní kandidózu	8
2.1. Kožní projevy	10
2.2. Slizniční projevy	15
2.3. Predisponující faktory	17
2.4. Hormonální faktory	24
2.5. Imunologické aspekty	29
3. Cíle práce a jejich uskutečnění	33
4. Soubor vyšetřovaných a metodika	35
4.1. Soubor vyšetřovaných	35
4.2. Klinické pozorování	36
4.3. Mikrobiologické vyšetření	44
4.4. Hormonální vyšetření	46
4.5. Sledování vlivu hormonů na růstovou křivku kvasinek	47
4.6. Statistické metody	50
5. Výsledky	51
5.1. Charakteristika souboru, klinická pozorování	51
5.2. Výsledky mikrobiologických vyšetření	65
5.3. Výsledky sledování vlivu hormonů na výskyt kvasinek <i>in vivo</i>	66
5.4. Výsledky sledování vlivu hormonů na růstovou křivku kvasinek <i>in vitro</i>	71
5.5. Porovnání výskytu kožní a vulvovaginální kandidózy a jejich vzájemný vztah	77

6. Souhrn	78
6.1. Anamnestické údaje.....	78
6.2. Hormonální vyšetření.....	79
6.3. Mykologická pozorování dle hladin estrogenů.....	79
6.4. Vztah kvasinek k hladině progesteronu.....	81
6.5. Vztah kvasinek k hladině testosteronu.....	82
6.6. Koincidence kožní a poševní kandidózy.....	82
6.7. Vztah vaginální kandidózy k lokalizaci kožní kandidózy.....	83
6.8. Sledování růstových křivek <i>C. albicans</i> a <i>C. parapsilosis</i> v různém hormonálním prostředí <i>in vitro</i> na přístroji Bioscreen.....	84
7. Diskuse	85
8. Závěr	96
9. Seznam zkratk	99
10. Seznam grafů, tabulek a příloh	102
11. Literatura	105
12. Poděkování	122

1. Úvod

Stoupající výskyt onemocnění vyvolaných širokým spektrem hub je jedna z možných charakteristik současnosti (129). Je pravděpodobné, že některé změny životních podmínek a životního stylu, ale i určité aspekty medicínské péče, přispívají k rozvoji mykotických infekcí. Tato problematika je pochopitelně mezioborová a přitahuje pozornost nejen mykologů, ale i dalších specialistů (dermatologů, gynekologů, onkologů atd.).

Zvyšující se ochrana lidí proti podchlazení, okluzní oblečení, obuv spolu s teplem a vlhkem jsou jistě okolnosti také podporující rozvoj mukokutánní kandidózy. Široká škála kožních projevů kandidózy (viz kapitola 2.1) je buď primárním onemocněním nebo je tzv. superponovaná na jiná onemocnění, včetně kožních. Kandidy jsou druhým nejčastějším vyvolavatelem poševních infekcí. Předpokládá se, že 75% žen v reprodukčním věku alespoň jednou za život prodělá ataku kandidové infekce (140). Asi 5-10% žen trpí rekurentní formou tohoto onemocnění.

Rod *Candida* zahrnuje téměř 200 druhů, z kterých zhruba 20 je spojeno s lidskými nebo zvířecími infekcemi (113). Přitom *C. albicans* je hlavní patogen, i když v poslední dekádě došlo k určitému posunu směrem k non-*albicans* kandidám (113).

V dalším textu používáme pro kandidovou infekci termín kandidóza, neboť je v české literatuře dominující. Zejména v anglosaské literatuře převažuje termín “candidiasis“ nad “candidosis“, ale koncovka –iasis by měla být rezervována spíše pro parazitární onemocnění (např. trichomoniasis), viz doporučení např. německé dermatologické a mykologické společnosti (82).

Z hlediska celkového významu není sice mukokutánní kandidóza (MKK) většinou život ohrožující onemocnění, ale je vnímána často velmi nepříznivě a u postižených může narušovat kvalitu života citelným způsobem. Vezmeme-li navíc v úvahu též nemalé ekonomické náklady většinou opakované preskripce antimykotik, je zřejmé, že problematika MKK je velmi naléhavá a aktuální.

Historicky vzato, vaginální kandidóza byla poprvé popsána Wilkinsonem v r. 1849, který zároveň poukázal na její mykotický původ. V r. 1875 potvrdil Hausmann stejného původce onemocnění v dutině ústní a v pochvě. Tých autor poukázal i na možnost přenosu z pochvy matky do dutiny ústní novorozence. Na dimorfni charakter kvasinky *C. albicans*, pod jménem *Mycoderma vini*, upozornil poprvé v r. 1877 Grawitz (132). O deset let později popsal Audrey výskyt blastické a hyfální formy v závislosti na podmínkách prostředí. V r. 1890 pojmenoval Zopf kvasinku *Monilia albicans*. Odtud pochází dříve běžně používaný název moniliáza (132).

V r. 1923 poukázal Berkhout na morfologické a fyziologické odlišnosti kvasinek, se kterými se setkáváme v medicíně od těch, které způsobují např. rozklad ovoce. Používá označení *Candida* a zařazuje je mezi anasporogenní houby (132). Extenzivní studie na počátku minulého století prováděl Castellani, který popsal poprvé druhy, jež jsou dnes známé jako *Candida guilliermondii*, *C. krusei*, *C. kefyr* (*C. pseudotropicalis*) a *C. tropicalis*. V r. 1943 poukázal Sutphin na možný vztah mezi MKK a endokrinní dysfunkcí (132).

Právě souvislost MKK s ženskými pohlavními hormony se stala tématem naší práce. Názory na vliv estrogenů a gestagenů jsou totiž v literatuře často protichůdné. Pokud je obecná shoda v tom, že vulvovaginální kandidóza

(VVK) má jistou hormonální závislost, pak literatura ohledně ženských pohlavních hormonů a kožní kandidózy téměř chybí. Rovněž tak možná koincidence VVK a kožní kandidózy, jakož i možný přenos z jedné oblasti do druhé je nedostatečně prozkoumán.

Disertační práce vznikala v letech 2005 – 2008 a to spoluprací Kliniky nemocí kožních a pohlavních (přednosta doc. MUDr. Karel Ettler, CSc.) a její mykologické laboratoře (vedoucí MUDr. Marie Košťálová, autorka práce) s Porodnickou a gynekologickou klinikou (přednosta doc. MUDr. Jindřich Tošner, CSc.) a Ústavem klinické mikrobiologie (přednosta doc. RNDr. Vladimír Buchta, CSc.). Část práce (*in vitro* testování) probíhala na půdě Farmaceutické fakulty za přispění Mgr. Marcely Vejsové (Farmaceutická fakulta, Ústav klinické mikrobiologie).

2. Současný pohled na mukokutánní kandidózu (MKK)

V současnosti nejsou k dispozici přesné údaje o incidenci MKK, která zahrnuje především formy vaginální, ústní a kožní projevy včetně onychomykózy a paronychia (113). Nicméně MKK patří k nejběžnějším infekcím postihujícím velké množství lidí (113).

Přehled frekvence slizniční kandidózy v lidské populaci podle Segalové (113).

populace: 6 mld	onemocnění	procento postižených	postižených celkem
50% žen (3 mld)	vaginitis	5	150 milionů
5% dětí (300 milionů)	orální kandidóza	5	15 milionů
10% starších (600 milionů)	orální kandidóza	10	60 milionů

Podle rozsahu a anatomické lokalizace rozlišujeme povrchové (slizniční a kožní, tj. mukokutánní), podkožní a celkové (systémové, hluboké) mykózy. Z hlediska rozšíření se první skupina, kterou se také naše práce zabývá, vyznačuje celosvětovým a relativně častým výskytem, přičemž k nejfrekventovanějším z nich patří právě infekce ženského genitálu. Obecně se má za to, že většina epizod vulvovaginální kandidózy (VVK) je endogenního původu.

Celá řada epidemiologických studií se zabývá zdrojem kvasinek v rámci přirozené mikroflóry organismu a to nejčastěji z oblasti úst, konečníku, pochvy a kůže. Odds a Abbott na základě biotypizace prokázali, že většina kmenů získaných kultivací z pochvy byla identická s kmeny získanými kultivací z dutiny ústní a rekta (92). Zdá se, že gastrointestinální rezervoár je potenciálním zdrojem reinfekce alespoň v některých případech opakujících se

epizod, ale často jsou jeho úloha a význam pro rozvoj rekurentní infekce nadsazovány (116).

Až 73% bezpříznakových žen je kolonizováno kvasinkou *Candida albicans*, jak prokazuje americká studie z Iowy u 52 zdravých žen (122). Tato studie také ukazuje, že nejvyšší frekvence bezpříznakového nosičství byla v ústech (56%), pak vulvovaginální (40%) a anorektální (24%) lokalizace.

Candida albicans je kvasinka velikosti asi 2-6 x 3-9 μm , která patří mezi tzv. asporogenní (nepravé) kvasinky. Vyskytuje se obvykle v kvasinkové formě (blastospóry, blastoconidie), která však za určitých, ne zcela známých podmínek, může přejít ve formu myceliální (hyfální), která je patogenní (73). Mechanismus, kterým kandidy vyvolávají nemoc, není zatím přesně objasněn. Práce *in vitro* potvrzují, že proces zvýšené adherence k epitelu, přeměna v hyfální formu a zvýšená kolonizace pochvy, se objevují ve zvýšené míře za přítomnosti estrogenů (51). Předpokládá se také významné uplatnění různých extracelulárních enzymů a snad i toxinů, o čemž by mohlo svědčit rozsáhlé svědění a zánět, s často minimálním postižením sliznice. Optimální pH pro produkci aktivní kyselé proteázy *C. albicans* je 4,0 až 4,5, tj. pH normálního poševního prostředí.

Všeobecně se za hlavní znaky virulence *C. albicans*, které hrají roli v patogenezi kandidózy, považují následující (113):

- (a) Schopnost adherence k hostitelově tkáni. U *C. albicans* je vyšší než u druhů non-*albicans* (115). *In vitro* je stejná k vaginálním i bukálním epitelům, ale vaginální adherence je rozdílná pro různé osoby (115).
- (b) Schopnost produkovat hydrolytické enzymy jako např. sekreční aspartyl proteinázy (SAPs) a fosfolipázy, které umožňují její přilnutí a invazi do

tkáň. SAPs zahrnují 10 enzymů, z nichž některé jsou specifické k určitým tkáním: SAP 2 k VVK, SAP 1-6 k systémovým kandidózám. Fosfolipázy zase usnadňují penetraci do tkání. SAPs se nachází ve vaginálním sekretu jen u symptomatických žen (115).

- (c) Schopnost přechodu z kvasinkové do hyfální formy, která usnadňuje tkáňovou invazi a umožňuje se vyhnout hostitelovu obrannému systému. Zmutované kmeny *C. albicans*, které nejsou schopny tohoto přechodu, nevyvolají experimentální VVK *in vivo* (115).
- (d) Tzv. fenotypový switching, který zřejmě hraje roli v adaptaci kandidy na různá anatomická prostředí v lidském těle.
- (e) Imunomodulační efekt postihující hostitelův obranný systém.

2.1. Kožní projevy

Epidermální povrch je za normálních okolností chráněn proti mikrobiální invazi mnoha nespecifickými i specifickými mechanismy, z nichž nejdůležitější ve vztahu ke kandidové infekci je epidermální proliferace, přímá fagocytóza kvasinek keratinocyty a imunitní T-lymfocytární reakce. Někdy již malé narušení těchto mechanismů je dostačující pro vyvolání manifestní kožní nebo slizniční kandidové infekce. Nejvirulentnější je *C. albicans*, ale závažnější poškození obranného systému hostitele může vést ke vzniku život ohrožujících hlubokých infekcí, způsobených často méně patogenními druhy (např. *C. parapsilosis*) (139). Obrana hostitele proti kvasinkové invazi je snížena na okludovaných nebo macerovaných místech

kůže a také u osob se sníženou buněčnou imunitou. Uvedené podmínky usnadňují saprofytickým kvasinkám penetrovat do rohové vrstvy epidermis.

C. albicans je schopna exprimovat nejméně tři typy povrchových adhezivních molekul, umožňujících kolonizaci povrchu epitelu, a produkovat enzym aspartyl proteinázu, který usnadňuje iniciální penetraci keratinocytů (76, 139). K hlubší penetraci napomáhá tvorba hyf, které mohou u *C. albicans* sloužit prostřednictvím kontaktního vnímání (tigmotropismu) jako vodící mechanismus.

Ve většině případů pochází infekce *C. albicans* z vlastního rezervoáru v ústech, ve střevě nebo ve vagině, v některých případech však může být zdrojem infekce jiný nemocný. *C. albicans* tvoří 80-90% izolátů, zbytek připadá na jiné druhy kvasinek (139). Ze zdravé kůže se však dá získat velmi zřídka, není součástí normální kožní flóry (139). Snad jen v okolí tělních otvorů a na prstech se může *C. albicans* a některé jiné druhy (*C. parapsilosis*, *C. guilliermondii* a další) vyskytnout (139). Existují však i jiné názory, které považují *C. albicans* za normální součást kožní flóry (51, 113).

Nejčastěji bývají postiženy malé a velké kožní záhyby (interdigitální prostory, třísla, axilla, inter a submamární oblast, pupek, intergluteální rýha), kde okluze, vlhko a macerace vytvářejí optimální růstové podmínky. Predisponujícími faktory jsou obezita, častá práce ve vodě nebo s detergenty, nedostatečné vysušení intertriginózních prostorů, diabetes mellitus a další choroby (139).

Prvními projevy v intertriginózních prostorech jsou vezikuly nebo pustuly, které se po stržení krytu přeměňují na sytě červená vlhnocí erodovaná ložiska, ohraničená límcem macerované rohové vrstvy (69). V okolí hlavního

ložiska bývají četné satelitní papulopustuly nebo kruhové eroze. Obvyklým průvodním jevem bývá svědění, pálení nebo někdy velmi intenzivní bolestivost (69). V meziprstních prostorech se na erytémové spodině tvoří ragády nebo eroze, lemované ztluštělou bělavou rohovou vrstvou (69). Interdigitální kandidóza bývá někdy provázena paronychií nebo postižením nehtů na stejné ruce. Zánět nehtových valů (kandidové paronychium) nebo nehtového lůžka (kandidová onychomykóza), způsobené *C. albicans*, je častější u žen (37, 139) a často postihuje prostřední prst, který přichází do kontaktu s kandidou osídlující konečník nebo vaginu (144).

Výskyt onychomykózy stoupá s věkem (37) pravděpodobně v důsledku zhoršené periferní cirkulace, diabetu, opakovaných nehtových traumat, delší expozici houbám, snížené imunitě, snížené péči o nehty (37). Jako původce je nejčastěji prokazována *C. albicans* a také *C. parapsilosis*. Nejčastěji jsou postiženi lidé máčející si ruce ve vodě, např. zaměstnanci konzerváren, či ženy v domácnosti. Stejně důležitá bývá i přítomnost mouky a jiných uhlovodanů v pracovním prostředí, např. v pekárnách a cukrárnách (139). U kandidového paronychia jsou nehtové valy zarudlé, zduřelé a silně bolestivé. Kutikula chybí a nehtový val je odloučen od nehtové ploténky, což vede ke vzniku kapsovitého záhybu. Často lze vytlačit hustý bělavěžlutý hnis. K postižení nehtových plotének dochází sekundárně v jejich proximální části. Změna barvy zadních nebo postranních částí nehtů, někdy až do zelenočerna, může znamenat přítomnost kvasinkové infekce. Příčinou ale bývá i bakteriální superinfekce, např. *Pseudomonas aeruginosa*. V některých případech dochází k odloučení nehtu od nehtového lůžka (kandidová onycholýza). Tato forma je častější na rukách než nohách (37).

Chronická MKK je perzistující kandidová infekce sliznic, kůže a nehtů, postihující osoby s kongenitálními imunologickými nebo endokrinologickými poruchami, neodpovídajícími na běžnou léčbu. Začíná často v prvních letech života a projevuje se většinou současně se vyskytujícími formami slizniční a kožní kandidózy, např. chronickou stomatitidou, kožní kandidózou často atypického vzhledu, paronychii, onychodystrofiemi a vulvovaginitidou (139). Příčinou perzistující infekce je *C. albicans*. Chronická MKK může mít následující formy (67, 139):

1. familiární autozomálně recesivní forma, většinou s mírnými, perzistujícími projevy v ústech a na nehtech. Nejsou přítomny endokrinologické poruchy ani systémové infekce.
2. difúzní forma s rozsáhlým postižením kůže a v některých případech s tvorbou granulomů. Může vzniknout systémová kandidová infekce i závažné bakteriální infekce. U některých pacientů se zjišťují poruchy pozdní přecitlivělosti.
3. syndrom kandidové endokrinopatie s autozomálně recesivním typem dědičnosti, projevující se v dětství a spojený s některou z možných endokrinologických poruch jako např. hypoparathyreoidismus (79%), hypothyreoidismus (3%), Addisonova choroba (72%), diabetes mellitus (12%), předčasně ovariální selhání (14%) a ovariální insuficience (60%) (28, 67).
4. chronická forma s pozdní manifestací, spojená s myopatiemi, tymomem, HIV infekcí a malignitami. Zjišťují se poruchy buněčné imunity. Začátek bývá

po 30. roce věku a není genetická vazba. Postiženy bývají sliznice, kůže a nehty.

Kirkpatrick ještě přidává lokalizovanou formu s výraznou hyperkeratózou postihující obvykle obě ruce, dále formu chronické MKK spojenou s intersticiální keratitis a nakonec formu spojenou s triádou – keratitis, ichtyósis, hluchota (67).

Chronická MKK spojená s endokrinopatií, známá jako syndrom kandidové endokrinopatie představuje nejméně 50% všech výše uvedených forem, je tedy nejčastější a nejlépe popsanou jednotkou (67). Bývá spojena s poruchami ektodermu jako např. vitiligo, alopecie a dentální dysplazie. Také se někdy nazývá syndrom APECED (autoimunní polyendokrinopatie - kandidóza - ektodermální dystrofie). Tato jednotka je dnes dobře rozpoznána jako autozomálně recesivní autoimunní choroba způsobená mutací genu zvaného autoimunní regulátor – AIRE (67). Většinou se objevuje již v dětství (do 5 let věku) a právě první manifestací choroby je úporná kandidóza později následovaná různými endokrinopatiemi (67). Přitom není žádná korelace mezi závažností endokrinopatie a rozsahem kandidového onemocnění (67). Bohužel léčba endokrinopatie obvykle nezlepší závažnost kandidózy (67). Zvažuje se možnost, že *C. albicans* může indukovat tvorbu autoprotilátek proti žlázám s vnitřní sekrecí (145).

Častý je také výskyt kandidové infekce u pacientů s psoriasou a atopickou dermatitidou (74). Někteří dokonce považují infekci, zejména kandidovou, za spouštěcí mechanismus psoriázy (74). Ganor našel na postižené kůži *Candidu* u 9,3% psoritických pacientek (47). *Candida* ve stolici byla popsána u psoritických pacientek v celé řadě studií (74). Také u atopické dermatitidy se

popisuje zvýšený výskyt zejména oro-intestinální kandidózy. Buslau et al. prokázal většinou *Candida albicans* ve stolici u 70% pacientek s atopickou dermatitidou (14). Leibovici neprokázala rozdíl ve výskytu kandidózy v axilách a tříselech mezi pacienty s psoriázou a atopickou dermatitidou (74). Nicméně zjistila vyšší výskyt kandid (především *Candida albicans*) na jazyku u psoritických pacientů (32%) oproti pacientům s atopií (18%).

2.2. Slizniční projevy

Je prokázáno, že velmi důležitým rezervoárem kvasinek je gastrointestinální trakt, přičemž se zdá, že kyselina chlorovodíková nemá na kandidy žádný nepříznivý efekt (129). Většina prací studujících kvasinky v gastrointestinálním traktu ukázala vysoký podíl jejich nosičství v žaludku a ve střevech. Cohen et al. poukázali u skupiny zdravých dobrovolníků na narůstající koncentraci kvasinkových izolátů v závislosti na místě odběru: čím distálněji byl odběr proveden, tím byla koncentrace vyšší. Autoři podali zprávu o 35% rozšíření kvasinek v orofaryngu, 50% v jejunu, 60% v ileu a 70% v kolon (18). Nejrozšířenějším druhem kvasinek v gastrointestinálním traktu je *Candida albicans* (51%). Za ní následuje *C. glabrata* (9,1%), *C. parapsilosis* (5,4%), *C. krusei* (2,9%) a *C. tropicalis* (2,3%) (91).

Také kolonizace pochvy kvasinkami byla podrobena řadě studií. Většina autorů ukázala, že vaginální nosičství u normální ženské populace je menší než 30%. Studie hodnotící stupeň rozšíření uvádějí pozitivní vaginální kultivaci na *C. albicans* u 10-55% zdravých, zcela asymptomatických žen (32).

Většina autorů uvádí odhad výskytu mezi 15% až 20% (43, 90, 137) nebo 20-25 % (117). *C. albicans* se obyčejně u asymptomatických nosičů nachází v malém množství a to převážně v blastické formě (blastospory). U žen se symptomatickou vaginitidou se nachází častěji relativně více invazivní, hyfální forma (108, 117). Mimořádně vysoké rozšíření (68%) kvasinky *C. albicans* popisuje studie provedená u dobrovolnic z řad vysokoškolských studentek v Nigérii (35). Výskyt a koncentrace kvasinek byly vyšší mezi studentkami, které nosily těsné oblečení a uzavřené spodní prádlo na rozdíl od těch, které nosily vzdušné oblečení (34).

Za normálních okolností existují lokální i systémové obranné mechanismy, které potlačují výskyt VVK. Např. laktobacily, udržující kyselé pH vaginy, soutěží s *Candidou* o metabolický substrát glykogen. Laktobacily též produkují specifický kandidový růstový inhibitor (51). Normální poševní flóra tak tvoří přirozený lokální obranný systém. Navíc protilátky charakteru imunoglobulinů (IgA a IgG) působí protikandidově celkově i místně (51). Důležitou roli hraje i lokální T-lymfocyty zprostředkovaná imunita (51).

Vulvovaginální kandidóza patří mezi nejběžnější genitální infekce, které postihují přibližně 75% žen během jejich života (64). Odhaduje se, že z tohoto množství asi 20% až 40% žen onemocní nejméně dvakrát za život (57). Přibližně dvě třetiny ženské populace prodělají během svého života ataku VVK a to nejčastěji během reprodukčního období.

VVK není všeobecně považována za sexuálně přenosné onemocnění (104, 119) a objevuje se i při absenci pohlavního styku (11). Léčba mužských partnerů se neprokázala jako účinná v prevenci relapsů VVK u ženských sexuálních partnerek (12). Některé studie naznačily zařazení orogenitálního

a anogenitálního styku mezi rizikové faktory (11, 118). Také sprchování pochvy bývá spojeno s VVK, ale nikoliv s bakteriální vaginózou (11).

V etiologii vulvovaginálních mykóz je dnes patrný trend rozšiřování spektra houbových agens, která vyvolávají onemocnění (13). Vedle dominantního výskytu kvasinky *C. albicans*, která odpovídá za 80% až 90% všech případů kandidové kolpitis, se zvláště u rekurentních forem, setkáváme také s dalšími oportunními druhy kandid, zejména *C. tropicalis* a *C. (dříve Torulopsis) glabrata* (56, 87, 93). Jako původci kolpitud byly popsány i jiné druhy kvasinek, z nichž bývá nejčastěji izolována pivní kvasinka *Saccharomyces cerevisiae* (73, 121). Zřídka se vyskytují *C. krusei*, *C. parapsilosis*, *C. kefyr* (dříve *C. pseudotropicalis*), *C. guilliermondii*. Tyto druhy kandid mají menší adheenci k vaginálním epiteliím, což je asi jednou z příčin jejich nižší virulence (116). Jedná se tedy o nedostatek vaginálního tropismu u těchto organismů a tím i vysvětlení vzácnosti jejich výskytu při vaginálních kultivacích (65). Kandidová vulvovaginitis v širším slova smyslu je dnes považována některými autory za infekci způsobenou nejen příslušníky rodu *Candida*, ale i ostatními kvasinkami.

2.3. Predisponující faktory

Genetické

Sporadicky se objevují zprávy o zvýšeném výskytu VVK u Afroameričanek (48) a u lidí s krevní skupinou Lewis (58). Jako autozomálně recesivně dědičný se považuje syndrom kandidové endokrinopatie, zvaný též

APECED (viz kapitola 2.1). Je spojen s chronickou MKK, postihující především nehty, sliznice, kůži a selháváním žláz s vnitřní sekrecí (také zvaný autoimunní polyglandulární syndrom typ I). Tito pacienti vykazují poruchy imunity, hypergamaglobulinémii, deficit IgA a nejčastěji hypoparathyreózu spojenou s primárním či sekundárním ovariálním selháním (28). Ovária obvykle vykazují histologické znaky autoimunní destrukce spojené s deficitem estrogenů, gestagenů a s vysokými hladinami FSH a LH (28) .

Těhotenství

Asymptomatická i symptomatická VVK je častější v těhotenství a její výskyt stoupá s trváním těhotenství. V těhotenství také stoupá rekurence onemocnění a klesá terapeutická odpověď (19, 54). Jde nejspíše o následky vyšší koncentrace steroidních hormonů v době těhotenství a zvýšeného obsahu glykogenu v poševním epitelu, jakožto důsledek stimulace steroidními hormony (29). Estrogeny též zvyšují přilnavost kvasinek k poševnímu epitelu (134). Vedle identifikace receptorů pro estrogeny a progesteron, byl experimentálně popsán i přímý stimulační efekt těchto hormonů na konverzi kandid z blastické do invazivní, hyfální fáze (101). Symptomatická VVK byla pozorována až u 60% až 90% vaginálních nosiček kandidové infekce (84). V prvním trimestru se symptomatická VVK rozvíjí asi u 10% těhotných (84).

Hormonální kontraceptiva, hormonální substituce v přechodu, tamoxifen

Nízkodávková kombinovaná kontracepce nezvyšuje výskyt VVK a vyšší kolonizace pochvy kandidou se uvádí jen v souvislosti s vysokodávkovou hormonální kontracepcí (23, 136). Existuje však i práce s rozporuplnými výsledky (4). Nicméně většina autorů se přiklání k názoru, že orální kontracepce umožňuje rekurenci VVK a přinejmenším zvyšuje kolonizaci pochvy z 20 na 45% (89, 115). Zvýšené nosičství kvasinek je také pozorováno u uživatelů nitroděložní kontracepce (medikované i nemedikované), kontracepčních houbiček, pesarů a kondomů s i bez spermicidních materiálů (4, 27). Téma zůstává diskutabilní.

Hormonální substituční léčba v přechodu zvyšuje výskyt VVK.

Tamoxifen je antiestrogen používaný v léčbě rakoviny prsu. V oblasti genitálu však vykazuje estrogení aktivitu a tak také zvyšuje výskyt VVK (128).

Diabetes mellitus

Kolonizace vaginy kandidou je častější u diabetických žen (115). Nekorigovaný diabetes mellitus s doprovodnou glykosurií a stoupající koncentrací glukózy ve vaginálním sekretu může přivodit klinicky zjevnou vaginitidu. Prevalence VVK však není zvýšena u žen s dobře korigovaným diabetem (50). Ačkoliv je často doporučován glukózotoleranční test u žen s RVVK, málokdy se zjistí jeho abnormality a u premenopauzálních žen není opodstatněný (115). Ženy s diabetem typu 2 jsou častěji kolonizovány

C. glabrata (75).

Dietní návyky

U žen s RVVK se příležitostně zjišťuje vazba mezi pravidelnou a nadměrnou konzumací sladkostí a exacerbací VVK (96, 115) . Donders et. al. prováděli glukózotoleranční testy u žen s RVVK (31). I když koncentrace glukózy v plazmě byla v rozmezí normy, přesto byla vyšší než u zdravých kontrol. Nedostatečná konzumace kysaných výrobků může přispívat k rozvoji RVVK (129). Existuje však i opačný názor, že konzumace acidofilních výrobků je spojena s výskytem VVK (96)

Deficit minerálů

Špaček, J. et al. se zabývali sérovými hladinami vápníku, hořčíku, železa a zinku u žen s RVVK (133). Ačkoliv zjistili, že hodnoty všech těchto minerálů jsou v normálním rozmezí, přesto byly hladiny vápníku, hořčíku a zinku u žen s RVVK signifikantně nižší než u zdravých kontrol. Hladina železa byla nevýznamně zvýšena. Také Davidson nezjistil, že by existoval vztah mezi deficitem železa a VVK (22). Protože zinek hraje důležitou roli v imunitním systému, může hrát i důležitou roli v antikandidové rezistenci. Deficit zinku je také typickým nálezem u acrodermatitis enteropatica, která bývá doprovázena kandidózou (111).

Antibiotika

Použití antibiotik, zejména širokospektrých, ale i ostatních antimikrobiálních látek a to lokálně i celkově, představuje rizikový faktor, který napomáhá vzniku VVK (115). VVK následuje antibiotickou léčbu v 28 až 33% (10, 100), přičemž kolonizace pochvy kandidou se zvyšuje o 10 až 30% (94). Antimikrobiální preparáty redukují normální protektivní vaginální flóru, zejména vaginální laktobacily a tak umožňují kandidám přerůst v zažívacím systému, pochvě nebo v obojím (103).

Postantibiotický nárůst kvasinek je výsledkem přítomnosti méně antagonistického prostředí, které dovolí dříve potlačeným kvasinkám jejich pomnožení a rozšíření (124). Studie žaludeční flóry u krys odhalují harmonické soužití mezi laktobacily a *C. albicans*, přičemž každý kolonizuje anatomicky určitou oblast specifikovanou rozdíly v histologické struktuře (112). Laktobacily obývají oblast vrstevnatého dlaždicového epitelu a kandida kolonizuje oblast sekretorických buněk. Po perorálním podání tetracyklinů dochází k eliminaci laktobacilů, kandidy se pomnoží a dojde k jejich rozšíření a kolonizaci celého slizničního povrchu. Po ukončení léčby a po podání laktobacilů je původní mikroflóra žaludku znovuobnovena a obě populace pokračují ve vzájemně symbiotickém vztahu (112).

Mnoho pacientek pozoruje začátek symptomů VVK během průběhu antibiotické léčby. Rychlost nástupu příznaků VVK při perorální aplikaci antibiotických preparátů naznačuje vedle oslabení přirozených obranných mechanismů vaginální mikroflóry též možnost přímého stimulačního účinku

antibiotik na proliferaci kvasinek (116). U pacientek s vysokým rizikem VVK se zdá rozumné, uvažovat o preventivním podání antimykotika (116).

Existují však i studie, které neprokazují vazbu mezi VVK a antibiotickou léčbou (49). Většina žen totiž po léčbě antibiotiky nevykazuje symptomatickou VVK a opačně většina žen s VVK nebyla nedávno léčena antibiotiky. Pouze ty, které jsou již kandidou kolonizovány, mají zvýšené riziko VVK po antimikrobiální léčbě (99).

Kortikoidy, imunosupresiva

Léčba kortikoidy, imunosupresivy a cytostatiky také přispívá k rozvoji MKK (141).

Oblečení a osobní návyky

Mnoho žen i lékařů považuje nošení těsného a přiléhavého oblečení za rizikové faktory pro vznik nové ataky VVK (96). Špatné větrání a zvýšená vlhkost perinea podporuje proliferaci kvasinek. Totéž platí o mokřích plavkách, které opět vytvářejí podmínky příhodné pro VVK. Je pravděpodobné, že přítomnost chlóru v plaveckých bazénech dráždí vaginální sliznici a zvyšuje pravděpodobnost rozvoje symptomů. Také deodoranty, parfémované toaletní papíry a koupací pěny jsou mnohými ženami uváděny jako možné vyvolávající příčiny VVK. Používání menstruačních tampónů nebylo dosud jako rizikový faktor potvrzeno (129).

Na druhou stranu jsou i sporadické opačné názory, že ženské hygienické návyky, jakož i nošení upnutého nebavlněného prádla, nejsou rizikovým faktorem pro VVK (46).

Pohlavní přenos

VVK není všeobecně považována za sexuálně přenosné onemocnění, ale názory na úlohu sexuálního přenosu při vaginální inokulaci a kolonizaci jsou často kontroverzní (116, 135). Přestože ženy, které nejsou sexuálně aktivní mají také často VVK, incidence dramaticky stoupá v druhé dekádě života, spolu se začátkem sexuálního života a vrcholí ve třetí dekádě (105). Ve čtvrté dekádě života incidence již klesá, pokud ji opět nezvýší permissivní účinek estrogenní substituční léčby. Sexuální přenos během vaginálního pohlavního styku tedy je také možný (105).

Techniky umožňující provedení druhové specifikace naznačují, že postižení partneři jsou nositeli stejných kmenů (89). Několik studií prokázalo bezpříznakovou kolonizaci penisu kvasinkami obvykle v koronárním sulku přibližně u 5 až 25% sexuálních partnerů žen se symptomatickou VVK (90, 135). Kolonizace penisu je čtyřikrát častější mezi mužskými sexuálními partnery infekčních žen než mezi muži normální ženské populace (21). Okolo 80% žen od infekčních sexuálních partnerů má pozitivní kultivaci na kvasinky, oproti 32% žen od neinfekčních mužů. Kolonizace penisu *Candida* spp. je přítomna asi u 20% partnerů s RVVK (21). Také byl prokázán zvýšený výskyt VVK mezi lesbickými ženami (3).

Oro a anogenitální praktiky pohlavního styku se považují za rizikový faktor (11).

Ostatní faktory

Úloha hypothyreoidismu, stresu, vzdělání, frekvence a techniky pohlavního styku, zaměstnání, hmotnosti, kontinence moči, atopie, lokální hypersenzitivity a dalších faktorů, v rozvoji VVK a MKK není dosud přesně vymezena. Meyer H. et al. považují psychosociální faktory, zejména stres, dokonce za primární příčinu VVK (83).

2.4. Hormonální faktory

Vliv hladin pohlavních hormonů na kandidózu zůstává nejasný (40, 69). Zdá se však, že vliv obzvláště estrogenů, na vznik a výskyt atak VVK je zřejmý. Svědčí o tom vyšší výskyt kandidové kolpity u těhotných, dále u žen, které berou hormonální antikoncepci s vyšším obsahem estrogenů nebo preparáty hormonální substituční léčby včetně fytoestrogenů (17). O tom svědčí i experimentálně vyvolaná kandidóza na zvířecím modelu. Je totiž známo, že estrus je nezbytnou podmínkou k navození vaginální infekce kandidou (110, 120, 130). V nepřítomnosti estrogenů trvá infekce jen krátce a jen v malém rozsahu (41).

Některé kvasinky mají cytoplasmatické receptory pro steroidní hormony (39, 77, 80). Bylo zjištěno, že *C. albicans* má receptor pro kortikoidy (corticosteroid binding protein – CBP), mající afinitu ke kortikosteronu a

progesteronu (77, 80), a pro estrogény (estrogen binding protein – EBP), mající afinitu k estradiolu a estronu (78, 114). *Saccharomyces cerevisiae* a *Paracoccidioides brasiliensis* má receptor EBP a prvně zmíněné dokáže konvertovat estron, přítomný v životním prostředí, v estradiol (78). EBP vykazuje oxidoreduktázovou aktivitu, která *in vitro* může být tlumena estradiolem. Je také zajímavé, že EBP *C. albicans* není totožný se savčím EBP a patří do rodiny flavoproteinů (78). Mimo to různé houby mohou na stimulaci stejnými hormony reagovat různě. Tak např. estrogény inhibují růst *S. cerevisiae* a blokuje dimorfní přechod z myceliální do invazivní kvasinkové formy u *P. brasiliensis* (78). Progesteron zase blokuje růst *T. mentagrophytes*, které obsahuje progesteron binding protein (PBP) (78). *C. albicans* je estrogény přímo stimulována k dimorfní přeměně z kvasinkové do více invazivní hyfální formy (78). Kromě toho některé údaje naznačují, že estrogény zvyšují přilnavost vaginálního epitelu pro kvasinku *C. albicans* pomocí kandidového manno-proteinu nebo adhezinu (51, 129).

Changová G. et al. se ve své práci zabývají také vlivem některých druhů estrogenů na *C. albicans* a to v různých koncentracích, od fyziologických až po suprafyziologické (59). Přidání 17- β -estradiolu nebo ethinylestradiolu (standardní složka hormonální kombinované kontracepce) vedlo k růstu kolonií *C. albicans in vitro*. Zatímco přidání 17- α -estradiolu nebo estriolu tento efekt nemělo.

Vedle identifikace cytosolových receptorů pro estrogény a progesteron byl u kandid pozorován také přímý stimulační efekt těchto hormonů na jejich virulenci (102). Hormony tedy neovlivňují pouze vaginální prostředí, včetně pH a množství glykogenu, ale působí také na kvasinky přímo prostřednictvím

kvasinkových receptorů a ovlivněním adherence k vaginálním epitelům (116). Nález hormonálních receptorů u kvasinek může vysvětlit vysokou citlivost a závislost experimentálně vyvolané vaginální kandidózy po injekci estrogenů u krys, kde je pseudoestrus nezbytným předpokladem vzniku vaginitidy (120).

Podobně některé studie *in vitro* odhalují, že je adherence kvasinky *C. albicans* významně vyšší u estrogenizovaných exfoliovaných vaginálních epitelů oproti epitelům od krys po ooforektomii (116). Je tedy možné, že kolísání hladin pohlavních hormonů ovlivňuje vnímavost k vaginální infekci působením změn obranných imunitních mechanismů. Bylo popsáno, že odpovědi periferních lymfocytů jsou během těhotenství a aplikace hormonálních kontraceptiv snižené (68). Navíc se ukázalo, že estrogény snižují reaktivitu kožních testů, oslabují aktivitu NK (natural killer) buněk a potlačují činnost neutrofilů (15). Bylo zjištěno, že estrogény i progesteron tlumí jak vrozenou tak získanou imunitu na lokální i celkové úrovni, včetně kandida-specifické odpovědi lymfocytů z periferní krve nebo neutrofilní antikandidovou aktivitu *in vitro* (40). Kandida specifická odpověď lymfocytů z periferní krve při pokusech *in vitro* byla snížena v luteální fázi cyklu, zároveň se zvýšenou germinací *C. albicans* (40).

VVK se nejčastěji objevuje v luteální fázi menstruačního cyklu, kdy jsou vysoké hladiny estrogenů a progesteronu (tzv. cyklická kandidóza (11)) (17, 63, 128), na rozdíl od bakteriální vaginózy, která bývá spojována s folikulární fází cyklu (11). Imunosupresivní účinek progesteronu je možné vysvětlit jeho inhibičním účinkem na funkci monocytů. Kalo-Klein a Witkin ve své studii poukázali na 50% redukci proliferace kandida – specifických lymfocytů během luteální fáze cyklu (62, 63). Tomuto tlumivému efektu zabraňuje

odstranění kontaminujících monocytů z kultury periferních lymfocytů. V úvahu také přichází nepříznivý účinek progesteronu na činnost polymorfonukleárů. Nedávná zpráva svědčí o tom, že protikandidová aktivita polymorfonukleárů u normálních a estrogeny léčených myší byla po podání progesteronu potlačena (86).

Špaček J. et al. zjistili u rekurentní VVK signifikantně nižší hladiny progesteronu ve srovnání se zdravými kontrolami a předpokládají, že to může být jedna z příčin rekurentní VVK (131). Hladiny progesteronu zjišťovali mezi 21. až 23. dnem menstruačního cyklu, kdy tyto hladiny vrcholí (129, 131). Zajímavé je také jejich zjištění, že 62% žen udávalo vazbu potíží s RVVK na cyklus a z nich 56% je soustředilo do luteální fáze cyklu. Uzavírají, že nejen vysoké hladiny estradiolu, ale i nízký endogenní progesteron může být rizikovým faktorem alespoň u některých pacientek s RVVK a doporučují gestagenní terapii ke zlepšení diskomfortu případně léčbě některých žen s RVVK.

Na druhou stranu práce Fidela P.L. et al. sice potvrzuje ve zvířecím experimentu, že i klesající hladiny estrogenů (estradiol valerát) udržují vaginální infekci *C. albicans*, ale podávání samotného progesteronu v jakýchkoliv dávkách neumožní vznik této infekce (40). Dále prokazují, že progesteron neměl dokonce ani žádný efekt na indukci a perzistenci infekce v přítomnosti estrogenů, na pozdní typ hypersenzitivity u primárně infikovaných myší a na byť částečnou ochranu před sekundární infekcí u myší při pseudoestrusu. Přitom zjistili, že rozsah vaginální infekce *C. albicans* u myší byl podobný nezávisle na tom, zda pseudoestrus byl vyvolán před nebo po inokulaci *C. albicans*. Nicméně stav pseudoestrusu musí být dále udržován,

má-li infekce přetrvávat. Také dokladují ztrátu schopnosti poševních epitelálních buněk inhibovat růst *C. albicans* v přítomnosti estrogenů. Proto uzavírají, že estrogen a nikoliv progesteron je důležitý faktor v rozvoji VVK.

Také některé androgeny (např. dehydro-epiandrosteron) mají schopnost ovlivnit buněčnou imunitu (změna odpovědi Th-2) (25), což má za následek vyšší vnímavost k vybraným typům infekce, včetně kandidózy (109). Naproti tomu glukokortikoidy mají opačný efekt (24).

Zdá se, že kolonizace pochvy houbami je relativně vzácná u prepubertálních dívek, ačkoliv kultivační nálezy v jejich stolici jsou stejné jako u dospělých (53). Vznik i druh vaginitidy obecně závisí na vývojovém období dívky, neboť existence některých patogenů je vázaná na estrogenizovaný terén (98). Mykotický původ vulvovaginitidy přichází tedy spíše v úvahu v novorozeneckém období (45) a v pubertě, kdy je jeho výskyt běžný (52). I když je klidové období rodidel v dětství charakterizováno nízkými hladinami pohlavních steroidů a nízkou koncentrací cukrů v pochvě (na rozdíl od novorozeneckého období a puberty), což vytváří nepříznivé podmínky pro život kvasinek v pochvě, je pozorován i v tomto období pohlavního klidu stoupající podíl mykotických infekcí (130).

Frekvence mykotického výtoku u mladistvých v současné době výrazně stoupá a bude zřejmě podstatně vyšší, než se domníváme: podle Pereka lze u 54% dívek ve věku od 16 do 20 let v pochvě kultivačně zjistit kvasinky (nejčastěji *C. albicans* nebo *C. glabrata*) (97). V 8,7% až 25% jde o mykózu manifestní, zbytek tvoří asymptomatické nosičství (97). Barousse M. et al. zjistili stejnou frekvenci asymptomatického nosičství (22%) u adolescentek jako u dospělých (5).

Kvasinky jsou normálně prokazovány u 5 až 10% zdravých postmenopauzálních žen, toto číslo se přibližuje k období prepuberty (123). Pokud ženy užívají hormonální substituci v postmenopauze, výskyt VVK stoupá až na 26% (123). Postmenopauzální ženy trpí spíše vulvární kandidózou, zatímco premenopauzální mají postiženu obvykle celou vulvovaginální oblast (82).

2.5. Imunologické aspekty

Je zřejmé, že soužití makroorganismu a kvasinek ovlivňuje více faktorů. Mimo virulenci daného kmene kvasinek se na interakci podílí jednak prostředí, ve kterém k ní dochází, jednak imunitní systém hostitele. Vedle lokálního slizničního imunitního systému je to i systémová imunita. Člověk je obecně vysoce imunní k většině infekčních onemocnění vyvolaných houbami. Imunita proti systémovým mykotickým infekcím je v zásadě zprostředkovaná buňkami a zahrnuje neutrofile, makrofágy, lymfocyty a pravděpodobně přirozené zabíječe (buňky NK). Určitou roli zde hraje i specifická složka představovaná lymfocyty T, zvláště u hub se sklonem k intracelulárnímu parazitismu. Svědčí o tom výskyt invazivních mykóz (kryptokokóza, histoplazmóza, pneumocystóza aj.) u lidí s poškozenou imunitou (AIDS) (61).

Častá asymptomatická přítomnost kandid na sliznicích však dokládá, že organismus v těchto případech kvasinky nelikviduje a zároveň, že jejich přítomnost sama o sobě neznamená rozvoj potíží slučitelných s vulvovaginální atakou. Pravidelný výskyt slizničních forem a absence orgánového postižení způsobených kandidami u AIDS pacientů jasně naznačují, že patogenní

projevy kandid jsou v závislosti na anatomické lokalitě pod kontrolou, alespoň částečně, jiných obranných mechanismů (61). Zvláště původci oportunních mykóz nejsou příliš vnímaví na přímý účinek protilátek a komplementu. Má se zato, že vnímavost hub *in vitro* na ničivý nebo inhibující účinek neutrofilů je dělítkem mezi primární patogenitou a oportunistem (129)

Třebaže imunitní systém těla tvoří funkční celek, je zároveň účelně kompartmentalizován. Tomu odpovídá vysoký stupeň autonomie slizničních a podslizničních struktur imunitního systému vulvovaginální oblasti. Oproti jiným slizničním lokalitám působí v této lokalitě steroidní hormony, u kterých lze předpokládat působení na více úrovních. Významně ovlivňují charakter vaginálního prostředí, zvláště pH, dále působí přímo na slizniční imunitní systém pochvy, který se ukazuje v porovnání s jinými lokalitami značně autonomní (61). V závislosti na menstruačním cyklu je tak ovlivněno množství a spektrum protilátek. Za přítomnosti vysokých hladin estrogenů byla popsána v poševním sekretu snížená hladina IgG a IgA (95). Největší počet imunocytů byl prokázán u myši v pochvě a cervixu v období nejnižší koncentrace steroidních hormonů (95). Navíc steroidní hormony, zvláště estrogény, mohou působit přímo na kvasinky prostřednictvím receptorů, a regulovat tak jejich morfogenezi. Proč a za jakých okolností k dimorfním přechodům (z blastické do hyfální formy) dochází, však není zcela jasné. Z hlediska imunitního systému je důležité, že zmíněná morfologická transformace bývá provázena antigenními proměnami v molekulách povrchových struktur (61), což dimorfním organismům umožňuje obcházet nebo překonávat obranné mechanismy hostitele, včetně specifické protikandidové imunitní odpovědi, a přispívá tak k možnosti vyvolávat onemocnění (61). Důsledkem porušené

poševní rovnováhy je pestrý klinický obraz, který závisí mj. na stavu imunity hostitelky a na virulenci daného kmene kvasinky.

Kůže svou fyzikální a chemickou strukturou představuje jinou formu ochrany proti houbám. Kožní povrch je relativně nehostinný k houbám v místech vystavených UV světlu, nízké vlhkosti a soutěži s ostatní bakteriální flórou daného místa (141). Stratum corneum je vystavěno z keratinu, který většina mikroorganismů nemůže využít k výživě (141). Nicméně *C. albicans* a dermatofyty produkují enzymy keratinázy, které hydrolyzují tuto substanci a usnadňují tak vrůstání těchto organismů do stratum corneum (141). Tato povrchová vrstva kůže je však mimo přímý dosah buněk imunitního systému. Ačkoliv neutrofilů a částečně i lymfocytů mohou vstoupit do epidermis, hlavní buněčně zprostředkované odpovědi se odehrávají v hlubších vrstvách kůže (141). Proces, kterým je stratum corneum kontinuálně obnovováno keratinizací z epidermálních buněk, je důležitý obranný mechanismus proti povrchovým mykózám (141). Rovněž tak některé lipidy (sfingoziny) se ukázaly být aktivní proti některým dermatofytům a *C. albicans* (141). Zatímco kožní maz dospělých není více fungistatický než dětský, dospělí produkují tohoto mazu více než děti (141). Navíc z epidermis byly izolovány i fungicidní proteiny (9). *C. albicans* je navíc schopna uvolňovat nízkomolekulární chemotaktické látky, které přitahují protizánětlivé buňky k místu infekce (141). Jsou to především neutrofilů, monocytů a mikrofágů, které se uplatňují v kožní antifugální aktivitě. Neutrofilů přímo napadají patogeny a působí různými mechanismy. Uvolňují mikrobicidní oxydanty (na bázi peroxidu vodíku a monochloramin), katepsiny, defenziny, laktoferin, lysozym, elastasu, azuricidin a další proteiny (141). Neutrofilů mimo to

obsahují velké množství proteinu vázajícího vápník a zinek (calprotectin), který má významný fungistatický a mikrobistatický efekt na *C. albicans* a další houby (127).

Inokulace živé kultury *C. albicans* do kůže myši vyprovokuje buněčnou imunitní odpověď k různým antigenům kandidy (85). Protože i na kůži může být *C. albicans* ve dvou formách, může se i specifická imunitní odpověď dělit do dvou fází dle přítomných antigenů. Skutečně bylo prokázáno, že séra od některých pacientů reagují jen s antigeny *C. albicans* v hyfální fázi, zatímco jiná reagují se sérem z blastické fáze (141). Protilátky proti *C. albicans* jsou nalézány ve vysokých titrech zejména u chronické MKK (141). Také nemocní s hyper – IgE syndromem často trpí chronickou povrchovou MKK (141). Antikandidové IgE protilátky jsou často přítomné ve vaginálních sekretech žen s RVVK, nikoliv však u kontrolních skupin (106).

Dominantním protikandidovým imunoglobulinem je IgA, zejména v cervikálním sekretu (116). V gastrointestinálním traktu jsou IgA protilátky považovány za rozhodující v prevenci kolonizace sliznice aglutinací mikroorganismů, k čemuž patří i snížení přilnavosti ke střevním buňkám. Vaginální titry protilátek jsou nižší u pacientek s pozitivní kvasinkovou kultivací. Význam tohoto jevu a ochranná role protikandidových protilátek není dosud zcela objasněn (116).

3. Cíle práce a jejich uskutečnění

Přes všechny pokroky ve znalostech o etiopatogenezi a diagnostice MKK, zůstává stále mnoho otázek nezodpovězených a zejména vliv ženských pohlavních hormonů na MKK je často posuzován kontroverzně. Cílem naší práce bylo ověřit následující hypotézy:

Hypotéza 1. V případě kultivačně prokázané kožní kandidózy je často přítomná i VVK u žen fertilního a perimenopauzálního období a u žen postmenopauzálního období.

Hypotéza 2. V případě koincidence kožní a vulvovaginální kandidózy je vykultivován shodný původce onemocnění.

Hypotéza 3. Jsme schopni nalézt predilekční místo pro kožní kandidózu při kultivační přítomnosti *C. albicans* v pochvě.

Hypotéza 4. Kožní a VVK je *in vivo* hormonálně závislá (E2, PG, T, fT, SHBG).

Hypotéza 5. Kožní a VVK je *in vitro* hormonálně závislá (E2, PG,T).

K potvrzení nebo vyvrácení výše zmíněných hypotéz jsme si stanovili následující kroky:

1. Vypracovat "kandidový" dotazník a s jeho pomocí zhodnotit spektrum anamnestických informací, zejména s ohledem na možný vliv pohlavních hormonů na probíhající infekci.
2. Provést odběry kultur z kůže a pochvy, provést jejich vyhodnocení.
3. Provést hormonální vyšetření žen (FSH, E2, PG, T celkový a volný, SHBG) a zařadit je do skupin dle hodnot FSH, E2 a PG.
4. Zhodnotit výsledky kultivací z kůže a vaginy dle výše hormonálních hladin.
5. Porovnat navzájem případnou shodu ve výsledku kultivace z kůže a vaginy.
6. Zjistit nejčastější lokalizaci kožní kandidózy při přítomnosti vaginální kandidózy.
7. Zjistit růstové křivky alespoň některých kožních a vaginálních kandid *in vitro* v různě hormonálně saturovaných mediích (estrogeny, gestageny, androgeny).

4. Soubor vyšetřovaných a metodika

4.1. Soubor vyšetřovaných

Soubor tvoří celkem 81 žen (tab. č.1) vyšetřených na ambulanci Kliniky nemocí kožních a pohlavních Fakultní nemocnice v Hradci Králové v letech 2005-2008. Do souboru byly zařazeny pouze ty ženy, u kterých bylo kultivačně ověřeno kvasinkové onemocnění kůže nebo jejích adnex (tab. č. 6). Ženy s kultivačně neprokázanou kvasinkovou nákazou kůže nebyly do souboru zařazeny. Vzhledem k tomu, že kultivační záchytnost je jen asi 40-60 %, muselo být autorkou práce vyšetřeno zhruba kolem 200 žen .

Do souboru také nebyly zařazeny ženy s prokázaným diabetem (léčené dietou, insulinem nebo perorálními antidiabetiky), těhotné, ženy užívající hormonální kontracepci (perorální, injekční i depotní) a ženy užívající kortikoidy, imunosupresiva nebo antibiotika (v posledním měsíci před vyšetřením).

Orientační vyšetření na kvasinky (nativní mikroskopický preparát a kultivační záchyt v SGA) prováděla v mykologické laboratoři kliniky autorka práce. Typizace kvasinek pak byla prováděna mykologickou laboratoří Ústavu klinické mikrobiologie FN v Hradci Králové.

U všech 81 žen bylo zároveň provedeno kultivační mykologické vyšetření pochvy (prováděla autorka práce na gynekologickém vyšetřovacím stole a za použití poševních zrcadel) a hormonální vyšetření (T, fT, SHBG, PG, E2, FSH).

Aby mohl být sledován případný vliv pohlavních hormonů na kvasinkové onemocnění byl soubor rozdělen do dvou skupin :

1. skupina žen (n = 42): fertilní věk + perimenopauza (tj. od menarche až 1 rok po menopauze)
2. skupina žen (n = 39): postmenopauza (1 rok po menopauze a dále)

Přitom byly obě skupiny charakterizovány výše uvedeným hormonálním vyšetřením.

Pro anamnestický odběr dat byl vypracován "kandidový" dotazník.

Práce byla schválena etickou komisí FN v Hradci Králové dne 8.12.2005 (č.j. 200512 S02P).

4.2. Klinické pozorování

Kandidový dotazník čítá 38 otázek se zaměřením ke sledované problematice (viz příloha č.1). V případě prokázaného kvasinkového onemocnění kůže tento dotazník vyplňovala spolu s vyšetřovanou autorka práce. V případě neznalosti některých rizikových faktorů mykotické infekce s nimi byly pacientky v rámci vstupního pohovoru podrobně seznámeny.

Kožní kvasinkové onemocnění se vyskytovalo v různých oblastech kůže (tinea) ale i nehtů (onychomycosis, paronychium), či kombinovaně a i ve více lokalitách najednou. Někdy bylo přidruženo i jiné kožní onemocnění (psoriasis, ekzém apod.). Někdy šlo o první ataku kvasinkové kožní infekce jindy o recidivu (tab. č. 3).

U prvních 32 žen jsme provedli i kultivační vyšetření dutiny ústní. Vzhledem k tomu, že vycházela převážně běžná flóra od dalšího vyšetření ústní dutiny jsme upustili.

DOTAZNÍK

Klinika nemocí kožních a pohlavních, Porodnická a gynekologická klinika Fakultní nemocnice a Lékařské fakulty UK v Hradci Králové

Tento dotazník slouží výhradně k vědeckým a výzkumným účelům. Všechny informace, které budou v průběhu provádění výzkumu o Vás zjištěny, jsou důvěrné.

Mykotické osídlení kůže a sliznic a jeho vztah k profilu ženských pohlavních hormonů

Jméno a příjmení:

Věk:

1.

Povolání:

2.

Ukončené vzdělání:

- základní + vyučení
- středoškolské (maturita)
- vysokoškolské

3.

Váha:

Výška:

BMI (nevyplňujte):

4.

V současnosti užívám tyto léky:

- hormonální antikoncepce (název) –
- hormonální léčba v přechodu (název) –
- inzulín -
- jiné -

5.

Kde na těle máte kožní potíže pro které přicházíte?

- ruce - dlaně + prsty nehty
- nohy - plosky + prsty nehty
- třísla
- pod prsy
- podpaží
- jinde (vypište kde)

6.

Tyto potíže se vyskytly:

- poprvé
- opakovaně
- potíže jsou trvalé

7.

V případě, že se vyskytly opakovaně, kdy byly poprvé (věk)?

8.

V případě, že se vyskytly opakovaně jsou:

- na stejném místě
- na jiném místě (kde byly předtím?)

ve stejném ročním období

- ano
- ne (kdy byly předtím?)

při stejných pracovních podmínkách (žena v domácnosti, práce ve vlhkém prostředí, ...)

- ano
- ne

9.

Jsou tyto kožní potíže vázány na menstruační cyklus?

- ano (jak)
- ne
- nevím
- cyklus již nemám

10.

Jsou tyto kožní potíže doprovázeny poševním výtokem?

- ano svědivý bílý tvarohovitý
 pěnivý zapáchající žlutozelený
- ne

11.

Jsou tyto kožní potíže doprovázeny změnami v ústech (bílé povlaky, pálení, potíže při polykání)?

- ano
- ne
- nevím

12.

Jsou tyto kožní potíže doprovázeny svěděním a pálením konečníku?

- ano
- ne
- nevím

13.

Vyskytly se tyto potíže v době užívání nějakých léků (antibiotika, kortikosteroidy, hormonální antikoncepce, nitroděložní antikoncepce, inzulin, hormonální léčba v přechodu event. jiné)?

- ano (vypište)
- ne
- nevím

14.

Měla jste podobné potíže v těhotenství?

- ano
- ne
- nevím

15.

Měla jste těhotenskou cukrovku?

- ano
- ne
- nevím

16.

Počet porodů:
Počet spontánních potratů:
Počet umělých přerušení těhotenství:
Počet mimoděložních těhotenství:

17.

Hmotnost dětí při porodu, byla-li více než 4 kg (uved'te hmotnost):

18.

Trpí někdo v rodině podobným kožním onemocněním jako Vy?

- Ano (kdo)
- ne
- nevím

19.

Trpíte nebo jste trpěla jiným kožním a/nebo pohlavním onemocněním?

- ano (vypište jakým)
- ne

20.

Trpíte některým z těchto příznaků: vypadávání vlasů, akné, zvýšené ochlupení, mastná kůže?

- ano
- ne

21.

Máte potíže s udržením moči?

- ano
- ne
- někdy

22.

V případě, že neudržíte moč, nosíte pleny nebo vložky?

- ano
- ne

23.

Jaké používáte spodní prádlo a ponožky?

bavlněné

- ano
- ne

s umělými vlákny

- ano
- ne

24.

Kouříte?				
<input type="checkbox"/>	ano – občas	méně než 5	5-10	více než 10
<input type="checkbox"/>	ne			
<input type="checkbox"/>	přestala jsem			

25.

Konzumace alkoholu:	
<input type="checkbox"/>	ano – příležitostně pravidelně
<input type="checkbox"/>	ne

26.

Konzumace cukrovinek:	
<input type="checkbox"/>	ne
<input type="checkbox"/>	1x týdně
<input type="checkbox"/>	denně

27.

Konzumace mléčných kysaných produktů:	
<input type="checkbox"/>	ne
<input type="checkbox"/>	1x týdně
<input type="checkbox"/>	denně

28.

Psychický stres máte:	
<input type="checkbox"/>	nemám
<input type="checkbox"/>	občas
<input type="checkbox"/>	často
<input type="checkbox"/>	velmi často

29.

Fyzickou aktivitu máte:	
<input type="checkbox"/>	nemám
<input type="checkbox"/>	občas
<input type="checkbox"/>	pravidelně

30.

1. měsíčky byly v kolika letech:

31.

Pokud máte menstruační cyklus trvá:	
<input type="checkbox"/>	méně než 22 dnů
<input type="checkbox"/>	je mezi 23-33 dny
<input type="checkbox"/>	více než 33 dnů

32.

Vynechání menstruace (kromě těhotenství) nastalo:

- 1x
- několikrát
- opakovaně
- nevím
- nikdy

33.

Pokud již nemenstruujete, poslední měsíčky byly v kolika letech?:

34.

Prodělala jste nějakou gynekologickou operaci?:

- ano (uveďte jakou) -
- ne

35.

Pohlavní styk máte (alespoň 1x měsíčně)?

- ano
- ne

36.

Partner má svědění a/nebo pálení žaludu a/nebo předkožky?

- ano
- ne
- nevím

37.

Máte alergii?

- ne
- dechovou
- kožní
- potravinovou
- jinou

38.

Má někdo v rodině diabetes mellitus (cukrovku)?

- ano (kdo?)
- ne
- nevím

4.3. Mikrobiologické vyšetření

Kultivační záchyt kvasinek z kůže a kožních adnex :

Odběr byl prováděn z kůže nebo nehtů. Kožní ložisko jsme před odběrem důkladně očistili 70% alkoholem. Po zaschnutí jsme seškrabovali šupiny z okraje ložiska sterilním skalpelem do sterilní Petriho misky. U nehtů jsme materiál získali oškrabáním spodní strany nehtové ploténky.

Dále jsme prováděli mikroskopické vyšetření v louhovém preparátu. Na podložní sklíčko jsme kápli větší kapku 20% KOH, přisypali šupiny, přikryli krycím sklíčkem a nechali asi hodinu macerovat. Zároveň jsme další šupiny kultivovali ve standardním Sabouraudově agaru (SGA). V případě potvrzení kvasinkové infekce jsme materiál posílali k identifikaci kvasinek do mykologické laboratoře Ústavu klinické mikrobiologie FN v Hradci Králové.

Kultivační záchyt kvasinek z vaginálního sekretu:

Odběr materiálu na mykologickou kultivaci byl uskutečněn výtěrem z postranní klenby poševní za použití gynekologických zrcadel. Tento odběr byl u žen majících menstruační cyklus prováděn zároveň s odběrem krve na hormonální vyšetření, tj. mezi 21.-23. dnem cyklu. V rámci jednoho vyšetření byl proveden (standardním tampónem (DispoLab) a tampónem pro záchyt kandid a trichomonád (s půdou C.A.T.). Tampóny s vaginálním sekretem byl inokulován Sabouraudův glukózový agar (SGA) s chloramfenikolem a poté byl zalomen do Sabouraudova bujónu (SGB), kde byl dále inkubován.

Inokulum na SGA bylo izolačně rozočkováno pomocí bakteriologické kličky. Naočkované plotny byly inkubovány při 35°C v termostatu a hodnoceny po 1 až 7 dnech. Bujóny byly inkubovány při 35°C v termostatu a po 48 h vyočkovány na SGA.

Hodnocení:

1) Standardní tampón: pokud byly kvasinkové kolonie patrné pouze v inokulu, byl nález hodnocen +, pokud v první rozočkovací čáře jako ++, pokud ve druhé a další jako +++.

2) Tampón pro záchyt kandid a trichomonád s pomnožovacím médiem (CAT medium): v případě negativního nálezu standardním tampónem byl pozitivní záchyt hodnocen jako +.

Identifikace kvasinek

Čisté kultury kvasinek byly identifikovány na druhovou úroveň. Identifikace byla prováděna pomocí chromogenního agaru. Po 24 h inkubaci při 35°C se hodnotila barva narostlých kolonií (*C. albicans* - barva zelená, *C. tropicalis* – modrá, *C. krusei*- fialová, matná , atd.). V případě, že zkoumaný izolát nebyla *C. albicans*, byla provedena biochemická identifikace na základě cukerných auxanogramů (disky fy ITEST plus, arabinóza, celobióza, galaktóza, glukóza, inositol, laktóza, maltóza, manitol ,melibióza, melezitóza, rafinóza, sacharóza, sorbóza, trehalóza, xylóza) nebo komerčních systémů ID 32°C (BioMérieux) a Candidatest 21 (Pliva Lachema). Případně

byla hodnocena morfologie kolonií narostlých na kukuřičném agaru (Corn Meal) po 48h inkubaci při 27°C.

4.4. Hormonální vyšetření

U všech 81 žen souboru jsme provedli vyšetření celkového testosteronu (T), volného testosteronu (fT), pohlavní hormony vázajícího globulinu (SHBG), 17- β -estradiolu (E2), progesteronu (PG) a folikulostimulačního hormonu (FSH).

Vyšetření hormonálních hladin bylo provedeno na Oddělení nukleární medicíny FN v Hradci Králové ze séra, které bylo získáno z odebrané krve (odběr standardním způsobem z kubitální vény) na ambulanci kožní kliniky. Vyšetření bylo provedeno pomocí imunoanalýzy.

Období fertlní a perimenopauzální jsme od období postmenopauzálního detekovali pomocí hodnoty FSH (≥ 30 IU/l) a podle posledních menses (perimenopauza končí 1 rok po posledních menses).

U žen fertlního období byl odběr prováděn vždy mezi 21. až 23. dnem cyklu (počítáno od prvního dne posledních menses) tak, abychom zjistili, zda šlo o ovulační cyklus či nikoliv. Podle referenčních hodnot Oddělení nukleární medicíny pro progesteron (folikulární fáze do 3,18 nmol/l, luteální fáze 9,5 – 63,6 nmol/l), jsme si za hranici možné ovulace stanovili hodnotu ≥ 5 nmol/l.

U žen v postmenopauze byly odběry prováděny kdykoliv při odběru kožních a/nebo vaginálních kultur.

Ostatní referenční meze jsou pro T (0,14-0,91 µg/l), fT (0,0-3,9 pg/ml), E2 (folikulární fáze 32,7-149,8 pg/ml, luteální fáze 62,2-432,4 pg/ml, postmenopauza (16,32 – 35,36 pg/ml).

4.5. Sledování vlivu hormonů na růstovou křivku kvasinek *in vitro*

V naší práci jsme se snažili také zjistit možný vliv hormonů (estrogenu – 17-β-estradiolu, progesteronu a testosteronu) na růstovou křivku kvasinek *in vitro*. Vzhledem k tomu, že jde o velmi náročné vyšetření, nebylo možno toto provést u všech vykultivovaných kandid. Vybrali jsme proto náhodně mezi ženami s dvěma nejčastěji se na kůži vyskytujícími druhy kandid, tj.

C. albicans (n = 10) a *C. parapsilosis* (n = 10). U dvou z nich byl zároveň stejný druh kandidy na kůži a i ve vagině (1x *C. albicans* a 1x *C. parapsilosis*).

Sledování bylo provedeno Mgr. Vejsovou, asistentkou Farmaceutické fakulty UK v Hradci Králové na přístroji Bioscreen firmy Dynex.

Přístroj automaticky zpracovává výsledky a převádí je do grafické podoby. Jejich zhodnocení bylo provedeno ve spolupráci s přednostou Ústavu klinické mikrobiologie, doc. RNDr. Vladimírem Buchtou, CSc.

K přípravě hormonálních roztoků jsme použili hormony od firmy Fluka a to :

17-β-estradiol (E), C₁₈H₂₄O₂, Mr = 272,39, čistota více než 97% (HPLC)

Progesteron (P) ,C₂₁H₃₀O₂, Mr = 314,47, čistota více než 97% (HPLC)

Testosteron (T), C₁₉H₂₈O₂, Mr = 288,43, čistota více než 99% (HPLC)

Koncentrace hormonů byly zvoleny tak, aby odpovídaly fyziologickému rozmezí v séru ženy v jejím fertilním období.

Vlastní metodika sledování

1. Příprava suspenze kvasinek

- 24h před vlastním pokusem vyočkujeme testované kmeny kvasinek na Sabouraudův glukózový agar a inkubujeme je při 35°C
- do sterilních zkumavek napipetujeme 3ml sterilní vody a nabere malé inokulum kvasinkové kultury, které ve vodě resuspendujeme
- hustota inokula vhodná pro testování je $1,0 - 2,5 \times 10^{-5}$ cfu/ml, což při kontrole Bürkerovou komůrkou odpovídá 25 – 50 cfu/50 čtverců

2. Příprava zásobních roztoků hormonů

- navážíme 10mg hormonu (na analytických vahách) a rozpustíme ho v takovém (vypočteném) množství absolutního etanolu, aby výsledná koncentrace byla 2×10^{-3} M
- postupným ředěním absolutním etanolem získáme zásobní roztoky o nižších koncentracích (2×10^{-7} , 2×10^{-8} , 2×10^{-9})M

3. Příprava růstového média (RM)

- 20 ml RPMI (5x koncentrované definované růstové médium) naředíme 80 ml MOPS (3-[N-Morpholino]propanesulfonová kyselina) s 2% glukózou a upravíme pH do rozmezí 6,5 – 7,9 pomocí NaOH

4. Příprava pracovních roztoků

- zvolené koncentrace pro testování:

estradiol (E) 2×10^{-10} M: 0,1 ml 2×10^{-9} M zásobního roztoku E + 9,9 ml RM

progesteron (P) 2×10^{-9} M: 0,1 ml 2×10^{-8} M zásobního roztoku P + 9,9 ml RM

testosteron (T) 2×10^{-9} M: 0,1 ml 2×10^{-8} M zásobního roztoku T + 9,9 ml RM

kontrola s alkoholem: 0,1 ml absolutního etanolu + 9,9 ml RM

5. Inokulace destičky

Kvasinka 1					Kvasinka 2				
E	P	T	KA	KM	E	P	T	KA	KM
E	P	T	KA	KM	E	P	T	KA	KM
E	P	T	KA	KM	E	P	T	KA	KM
E	P	T	KA	KM	E	P	T	KA	KM
E	P	T	KA	KM	E	P	T	KA	KM
E	P	T	KA	KM	E	P	T	KA	KM
E	P	T	KA	KM	E	P	T	KA	KM
E	P	T	KA	KM	E	P	T	KA	KM
E	P	T	KA	KM	E	P	T	KA	KM
E	P	T	KA	KM	E	p	T	KA	KM

E..... 250μl pracovního roztoku estradiolu

P..... 250μl pracovního roztoku progesteronu

T.....250μl pracovního roztoku testosteronu

KA..... 250μl kontroly s alkoholem

KM..... 250μl kontroly média (samotné růstové médium)

do všech 50 jamek se přidá 10μl suspenze testované kvasinky

takto připravená destička se vloží do Bioscreenu (lze testovat 2 destičky = 4 kvasinky najednou)

6. Nastavení Bioscreenu

celková doba měření: 24h

měřicí interval: 1h

před každým měřením 15min protřepat

teplota inkubace: 35°C

filtr pro měření optické denzity: 540nm

4.6. Statistické metody

Statistické zpracování bylo provedeno na oddělení statistiky Ing. Josefem Bukačem, MS Ph.D. Ke zpracování přesně naměřených hormonálních hladin jsme volili neparametrické testy: Mann-Whitney test a nepárový T-test (data nepochází z Gaussova rozdělení). Kultivační a “dotazníkové“ údaje byly zpracovány Fisherovým přesným testem, který testuje nezávislost klasifikací podle nulové hypotézy při menším množství dat. Použitá hladina významnosti u všech testů je 5%.

Grafické zpracování naměřených a vypočítaných statistických dat bylo provedeno pomocí počítačového programu ve formě histogramů a krabičkových grafů (vyznačený medián s pravděpodobností 0,95).

Hodnoty $p=0,000$ jsou statisticky významnější než $p=0,001$.

5. Výsledky

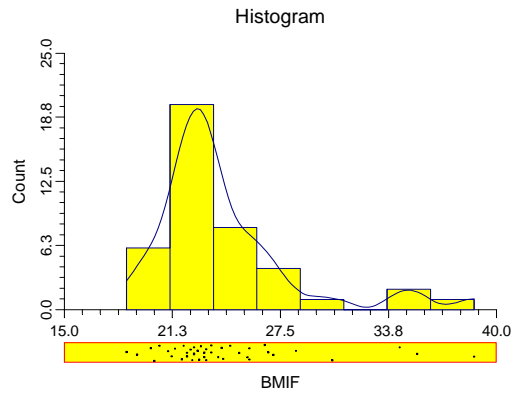
5.1. Charakteristika souboru, klinická pozorování

Vysvětlivky ke grafům 1- 24 (v pořadí histogram, krabičkový graf)

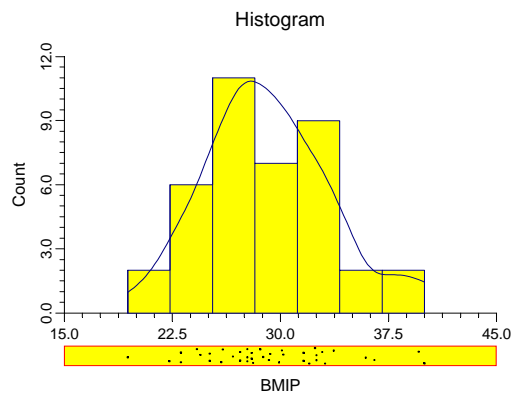
rozložení sledovaných parametrů v souboru žen ve fertilním a perimenopauzálním věku n=42	BMIF	VekF	E2F	PGF	FSHF	TCelkF	TvolnyF	SHBGF
rozložení sledovaných parametrů v souboru žen v postmenopauze n=39	BMIP	VekP	E2P	PGP	FSHP	TcelkP	TvolnyP	SHBGP

BMI

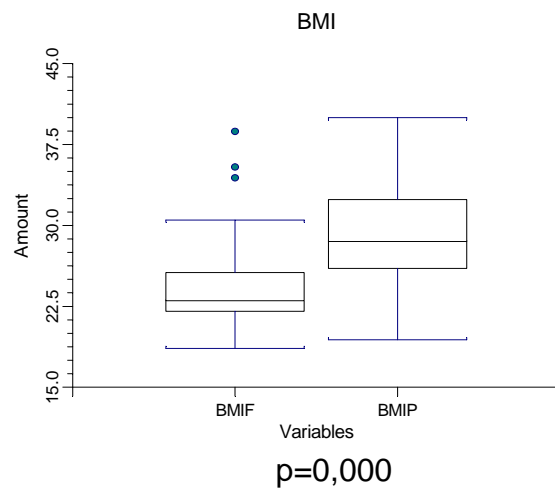
Graf č.1 Rozložení hodnot BMI u žen ve fertlním a perimenopauzálním věku vyjádřené pomocí histogramu



Graf č. 2 Rozložení hodnot BMI u žen v postmenopauze vyjádřené pomocí histogramu

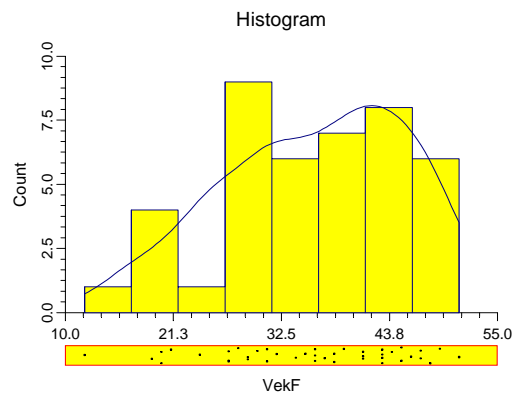


Graf č. 3 Rozložení hodnot BMI u žen ve fertlním + perimenopauzálním věku a v postmenopauze, porovnání pomocí krabičkového grafu

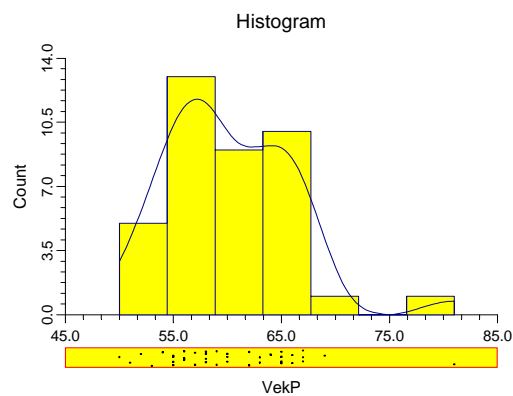


VĚK

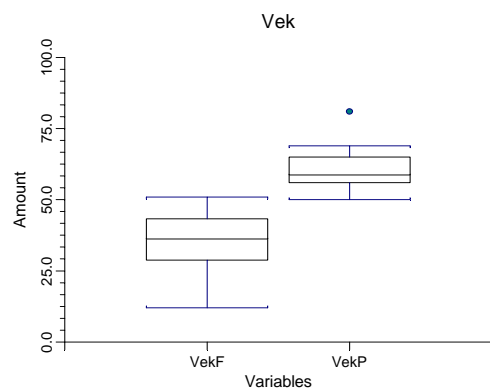
Graf č. 4 Rozložení věku u žen ve fertilním a perimenopauzálním období vyjádřené pomocí histogramu



Graf č. 5 Rozložení věku u žen v postmenopauze vyjádřené pomocí histogramu

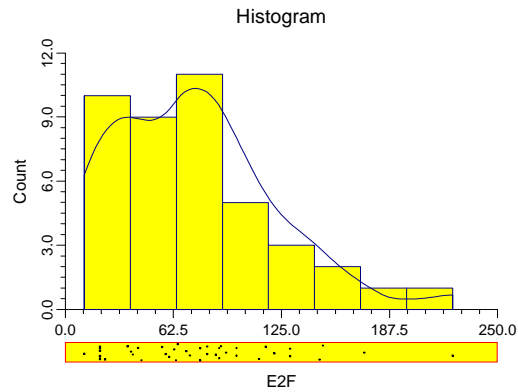


Graf č. 6 Rozložení věku u žen ve fertilním + perimenopauzálním období a v postmenopauze, porovnání pomocí krabičkového grafu

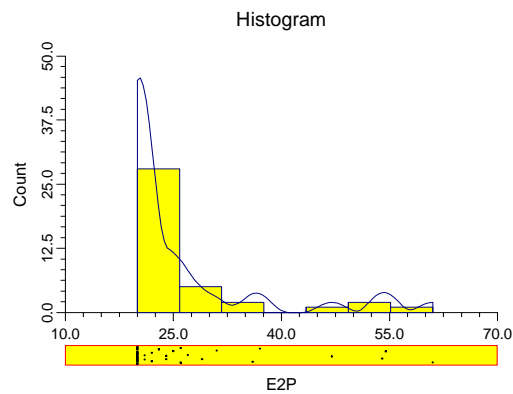


17- β -estradiol

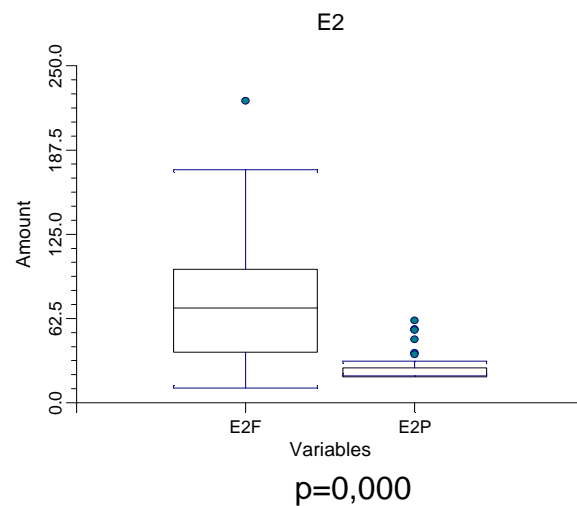
Graf č. 7 Rozložení hodnot E2 u žen ve fertilním a perimenopauzálním věku vyjádřené pomocí histogramu



Graf č. 8 Rozložení hodnot E2 u žen v postmenopauze vyjádřené pomocí histogramu

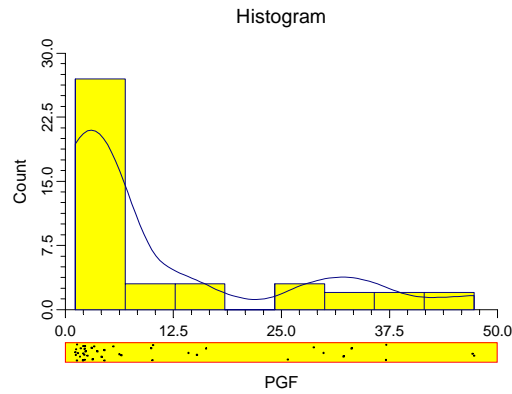


Graf č. 9 Rozložení hodnot E2 u žen ve fertilním + perimenopauzálním věku a v postmenopauze, porovnání pomocí krabičkového grafu

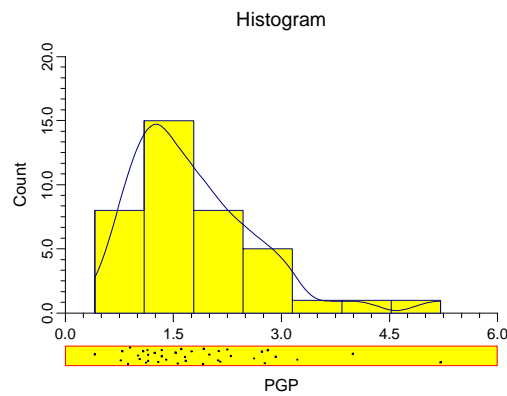


Progesteron

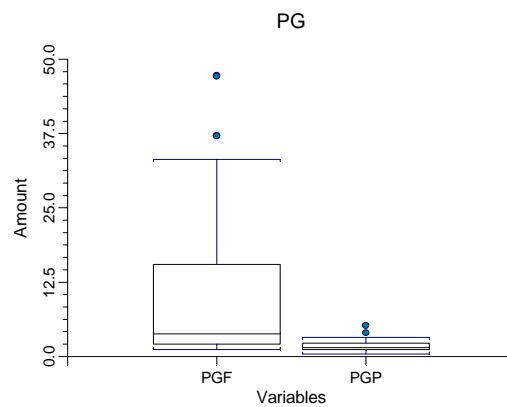
Graf č. 10 Rozložení hodnot PG u žen ve fertlím a perimenopauzálním věku vyjádřené pomocí histogramu



Graf č. 11 Rozložení hodnot PG u žen v postmenopauze vyjádřené pomocí histogramu



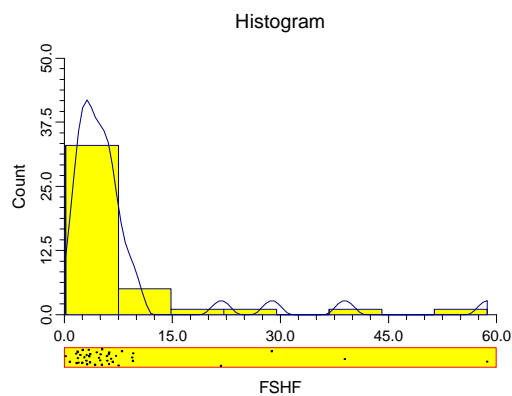
Graf č. 12 Rozložení hodnot PG u žen ve fertlím + perimenopauzálním věku a v postmenopauze, porovnání pomocí krabičkového grafu



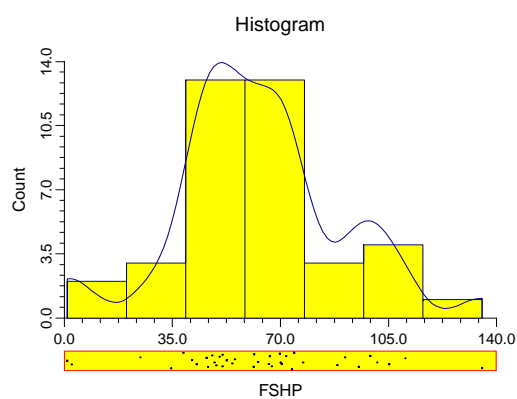
$p=0,000$

FSH

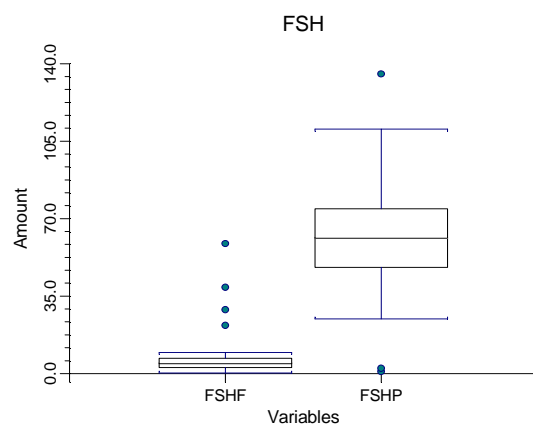
Graf č. 13 Rozložení hodnot FSH u žen ve fertilním a perimenopauzálním věku vyjádřené pomocí histogramu



Graf č. 14 Rozložení hodnot FSH u žen v postmenopauze vyjádřené pomocí histogramu



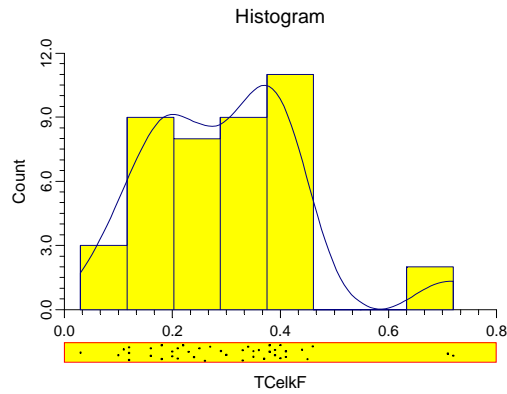
Graf č. 15 Rozložení hodnot FSH u žen ve fertilním + perimenopauzálním věku a v postmenopauze, porovnání pomocí krabičkového grafu



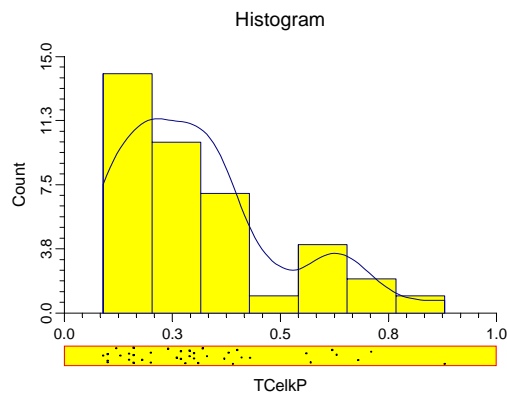
$p=0,000$

T- celkový

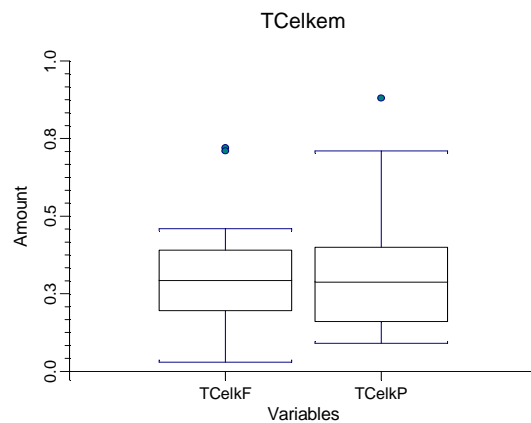
Graf č. 16 Rozložení hodnot Tcelk. u žen ve fertlním a perimenopauzálním věku vyjádřené pomocí histogramu



Graf č. 17 Rozložení hodnot Tcelk. u žen v postmenopauze vyjádřené pomocí histogramu



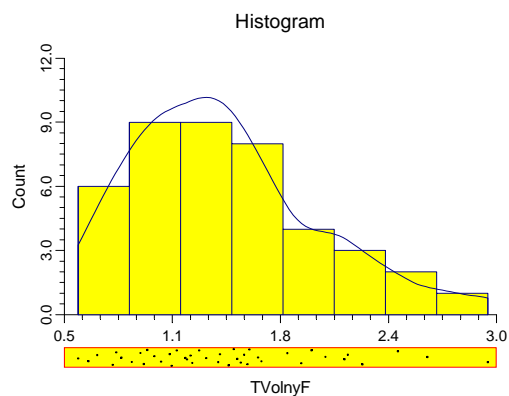
Graf č. 18 Rozložení hodnot Tcelk. u žen ve fertlním + perimenopauzálním věku a v postmenopauze, porovnání pomocí krabičkového grafu



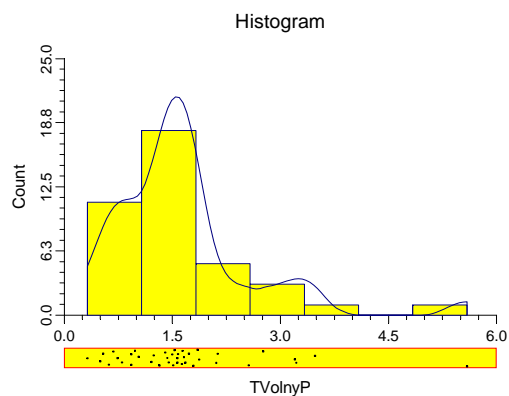
$p=0,895$

T-volný

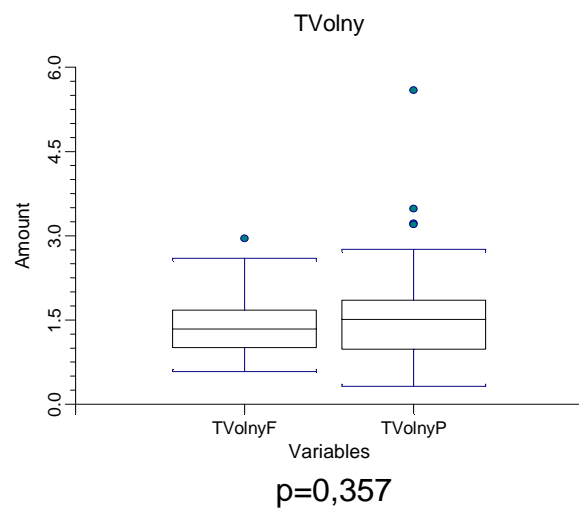
Graf č. 19 Rozložení hodnot Tvolný u žen ve fertilním a perimenopauzálním věku vyjádřené pomocí histogramu



Graf č. 20 Rozložení hodnot Tvolný u žen v postmenopauze vyjádřené pomocí histogramu

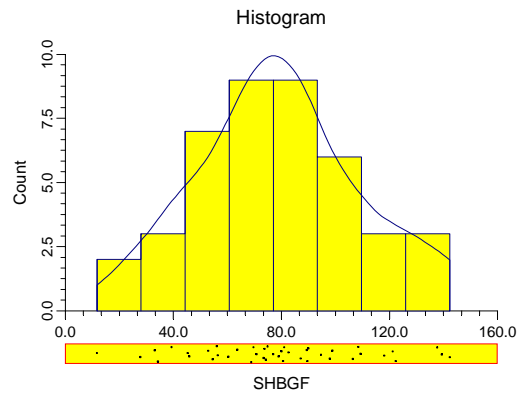


Graf č. 21 Rozložení hodnot Tvolný u žen ve fertilním + perimenopauzálním věku a v postmenopauze, porovnání pomocí krabičkového grafu

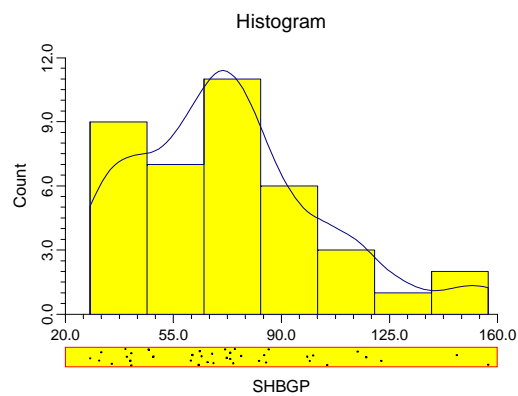


SHBG

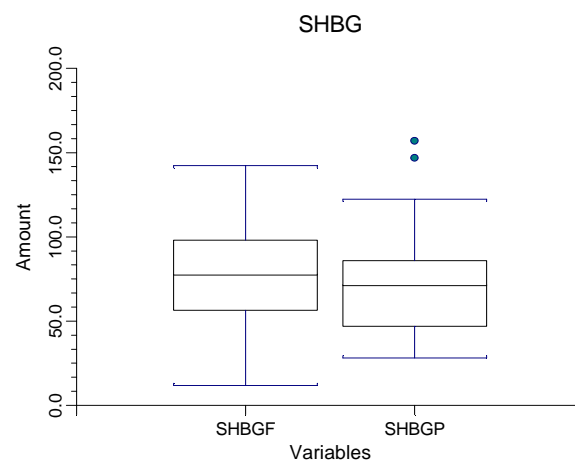
Graf č. 22 Rozložení hodnot SHBG u žen ve fertilním a perimenopauzálním věku vyjádřené pomocí histogramu



Graf č. 23 Rozložení hodnot SHBG u žen v postmenopauze vyjádřené pomocí histogramu



Graf č. 24 Rozložení hodnot SHBG u žen ve fertilním + perimenopauzálním věku a v postmenopauze, porovnání pomocí krabčkového grafu



$p=0,275$

Tab. č.1 Charakteristika souborů dle věku a BMI

Ukazatel	Fertilní a perimenopauzální období (n=42)	Postmenopauzální období (n= 39)	p hodnota
Věk (let)	35,81 (12-51)	60,23 (50-69)	
BMI (kg/m²)	24,21	29,16	p = 0,000

Tab. č. 2 Charakteristika souborů dle “kandidového“ dotazníku

Ukazatel	Fertilní a perimenopauzální období (n = 42)	Postmenopauzální období (n = 39)	p hodnota
poševní výtok (tvarohovitý)	14 (33,3%)	8 (20,5%)	0,221
inkontinence moči	1 (2,4%)	16 (41,0%)	0,000
kouření (více jak 5 cigaret/den)	8 (19,0%)	9 (23,1%)	0,786
psychický stres	35 (83,3%)	26 (66,6%)	0,121
fyzická aktivita (občas až pravidelně)	39 (92,9%)	24 (61,5%)	0,001
svědění a pálení v oblasti konečníku	3 (7,1%)	9 (23,1%)	0,061
svědění a pálení v dutině ústní	3 (7,1%)	5 (12,8%)	0,472
pohlavní styk udává (alespoň 1x měsíčně)	39 (92,4%)	22 (56,4%)	0,000
potíže partnera (svědění, pálení žaludu, předkožky)	3 (7,1%)	0 (0,0%)	0,242
konzumace mléčných kysaných výrobků alespoň 1x týdně	37 (88,1%)	33 (84,6%)	0,751
konzumace cukrovinek alespoň 1x týdně	36 (85,7%)	16 (41,0%)	0,000
DM v rodině	17 (40,4%)	19 (48,7%)	0,507
gestační diabetes	5 (11,9%)	1 (2,5%)	0,203
porod dítěte více než 4 kg	3 (7,1%)	5 (12,8%)	0,472
projevy hyperandrogenismu (defluvium, akné, hirsutismus, seborhoe)	28 (66,7%)	12 (30,8%)	0,002
vzdělání : zákl.š. stř. š. vys. š.	20 18 4	18 19 2	0,789
podobné kožní potíže v rodině	10 (23,8%)	9 (23,1%)	1,000

Tab.č. 3 Rekurence kožního kvasinkového onemocnění ve sledovaných souborech

Výskyt kožní kvasinky	Fertilní a perimenopauzální období (n=42)	Postmenopauzální období (n=39)
poprvé	18	14
opakovaně	14	8
trvale	10	17

Tab.č. 4 Charakteristika souborů dle hormonálního profilu

Ukazatel	Fertilní a perimenopauzální období (n = 42)	Postmenopauzální období (n = 39)	p hodnota
T (µg/l)	0,30	0,32	0,895
fT (pg/ml)	1,42	1,64	0,357
SHBG (nmol/l)	79,03	73,20	0,275
PG (nmol/l)	11,20	1,82	0,000
E2 (pg/ml)	74,98	25,91	0,000
FSH (IU/l)	7,63	63,05	0,000

Tab. č. 5 Průměrné hladiny progesteronu v souboru žen fertilního a perimenopauzálního období (n = 42) rozděleného dle hladiny progesteronu ≥ 5 nmol/l, p = 0,000

≥ 5 nmol/l (n = 18)	Ø PG 22,91 (nmol/l)
< 5 nmol/l (n = 24)	Ø PG 2,33 (nmol/l)

Tab. č. 6 Výskyt kvasinkou postižených kožních lokalit

Tinea	Fertilní a perimenopauzální období (n = 42)	Postmenopauzální období (n = 39)
nehty rukou	16	15
nehty nohou	7	8
ruce	13	7
nohy	4	4
třísla	3	4
pod prsy	1	5
mezi prsty nohou	4	2
mezi hýžděmi	0	2
kštice	0	1
koutky úst	2	1
uši	1	0
podpaží	1	1
zevní genitál	1	2
oční víčka	0	1
tělo (krk,pupek)	1	3

Upozornění: Často bylo postiženo více lokalit u téže probandky.

Závěr: Ruce jsou ve fertlním a perimenopauzálním období postiženy kvasinkou častěji než v postmenopauzálním období, $p = 0,205$.
Opačně tomu bylo s tineou v submamární oblasti, $p = 0,101$.

Tab. č. 7 Další kožní diagnózy v souboru

Další kožní diagnózy	Fertilní a perimenopauzální období (n = 42)	Postmenopauzální období (n =39)
psoriasis	7	10
atop.ekzém	10	1
akne	3	0
vitiligo	1	1

Závěr: Z dalších kožních onemocnění u žen postižených MKK dominovala jednoznačně psoriáza a atopický ekzém.

Tab. č. 8 Projevy hyperandrogenismu na kůži u žen postižených MKK

Projevy	Fertilní a perimenopauzální období (n = 42)	Postmenopauzální období (n = 39)
defluvium	7	5
akne	9	2
hirsutismus	3	3
seborhoe	9	2
celkem	28	12

Závěr: Kožní projevy hyperandrogenismu byly častější ve skupině žen fertálního a perimenopauzálního období (2,33x), $p = 0,002$. Z těchto projevů dominovalo především akne a seborhoe.

5.2. Výsledky mikrobiologických vyšetření

Tab. č. 9 Mykologická charakteristika souborů

Období	Fertilní a perimenopauzální n = 42 E2 ø 74,98 pg/ml		Postmenopuzální n = 39 E2 ø 25,91 pg/ml	
Druh kvasinky	Kůže a její adnexa	Pochva	Kůže a její adnexa	Pochva
<i>C. albicans</i>	14	20	10	8
<i>C. parapsilosis</i>	15	4	18	0
<i>C. guilliermondii</i>	3	0	1	0
<i>C. lusitaniae</i>	1	0	3	1
<i>C. norvegensis</i>	0	0	0	1
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	2	0	2	0
<i>C. krusei</i>	1	0	0	1
<i>C. glabrata</i>	0	0	0	1
<i>C. famata</i>	1	0	0	0
<i>Rhodotorula rubra</i>	5	0	2	0
<i>Scopulariopsis brevicaulis</i>	0	0	1	0
<i>Cryptococcus uniguttulatus</i>	0	0	1	0
<i>Cryptococcus albidus</i>	1	0	1	0
<i>Kloeckera apis</i>	1	0	0	0
<i>C. intermedia</i>	1	0	0	0
<i>C. tropicalis</i>	0	0	1	0
Celkem	45	24	40	12

Vysvětlivka : Větší počty mykotických agens v souboru, než je počet probandek, je způsobeno jejich koincencí u některých z nich.

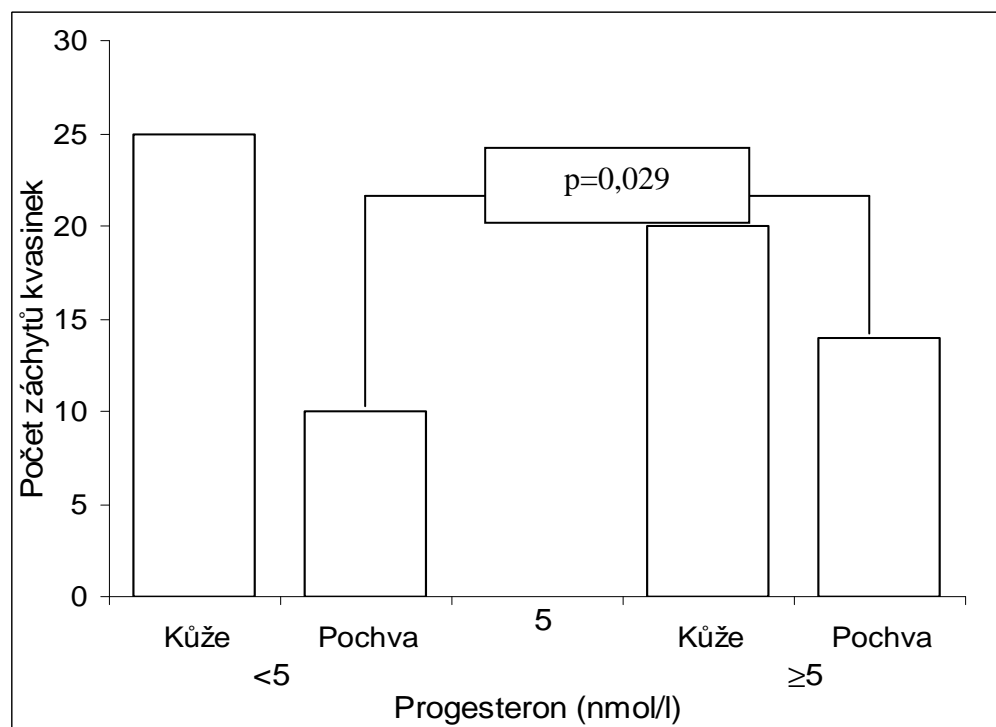
Závěr: U fertilních a perimenopauzálních žen se *C. albicans* objevila v pochvě častěji (47,6%) než u žen v postmenopauze (20,5%), $p = 0,019$.

U kožního výskytu byly rozdíly nevýznamné.

Zatímco v pochvě v obou souborech dominuje *C. albicans*, na kůži zejména v postmenopauze převládá *C. parapsilosis*, $p = 0,373$.

5.3. Výsledky sledování vlivu hormonů na výskyt kvasinek *in vivo*

Graf. č. 25 Počet záchytů kvasinek na kůži a jejích adnexech a v pochvě dle hladiny PG v séru mezi 21.-23.dnem cyklu



Závěr: Je-li hladina PG v séru mezi 21.-23.dnem menstruačního cyklu ≥ 5 nmol/l vyskytují se kvasinky v pochvě častěji než v případě hladiny PG < 5 nmol/l, $p = 0,029$. Na kůži jsme statisticky významné změny neprokázali.

Tab. č. 10 Mykologická charakteristika poševních kultivací souboru fertálních a perimenopauzálních žen dle hladiny progesteronu v séru mezi 21.-23. dnem cyklu

Progesteron (nmol/l)	≥ 5 (n = 18), Ø PG = 22,91	< 5 (n = 24), Ø PG = 2,33
Druhy kvasinek v pochvě	<i>C. albicans</i> (10x) <i>C. parapsilosis</i> (4x)	<i>C. albicans</i> (10x)
% postižení kvasinkou	77,7%	41,6 %

Závěr: U žen s PG ≥ 5 nmol/l (tedy s předpokládanou ovulací), byl výskyt kvasinek v pochvě častější, p = 0,029.

Tab. č. 11 Srovnání kožních a poševních kultivací souboru fertálních a perimenopauzálních žen dle hladiny sérového PG mezi 21.-23. dnem cyklu

	Kvasinky na kůži a jejich adnexech	Kvasinky v pochvě
PG ≥ 5 nmol/l (n = 18)	<i>C. albicans</i> (7x)	<i>C. albicans</i> (10x)
	<i>C. parapsilosis</i> (7x)	<i>C. parapsilosis</i> (4x)
	<i>C. intermedia</i> (1x)	
	<i>C. crusei</i> (1x)	
	<i>Rhodotorula rubra</i> (1x)	
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (1x)	
	<i>Kloeckera apis</i> (1x)	
	<i>Cryptococcus albidus</i> (1x)	
PG < 5 nmol/l (n = 24)	<i>C. albicans</i> (7x)	<i>C. albicans</i> (10x)
	<i>C. parapsilosis</i> (8x)	
	<i>C. famata</i> (1x)	
	<i>C. guilliermondii</i> (3x)	
	<i>C. lusitaniae</i> (1x)	
	<i>Rhodotorula rubra</i> (4x) <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (1x)	

Upozornění: V některých případech šlo o výskyt více druhů kvasinek u jedné probandky.

Závěr: Na kůži je pestřejší výskyt kvasinek než v pochvě a to bez závislosti na hladinách progesteronu. V pochvě se vyskytuje *C. albicans* u žen s PG ≥ 5 nmol/l v 55,5 %, u žen s PG < 5 nmol/l ve 41,6% , p = 0,533.

Tab č. 12 **Lokalizace *C. albicans* na kůži a jejích adnexech za přítomnosti *C.albicans* v pochvě (28x)**

Lokalizace	Období	
	Fertilní a perimenopauzální (n = 42), Ø E2 74,98 pg/ml	Postmenopauzální (n = 39) Ø E2 25,91 pg/ml
pravá horní končetina (onychomycosis, paronychium)	9	5
levá horní končetina (onychomycosis, paronychium)	3	0
meziprstí (tinea)	1	0
dlaň (tinea)	1	1
celkem horní končetina	14	6
dolní končetina (onychomycosis)	3	1
inguiny	1	1
submamární oblast	1	1
periorální oblast	1	1
krk	1	0

Upozornění : V některých případech šlo o výskyt ve více lokalitách najednou.

Závěr: U *C. albicans* převládá její lokalizace na rukou a to 2,03x ($p = 0,075$) častěji ve fertilním období a perimenopauze než v postmenopauze. Pravá horní končetina (onychomycosis, paronychium) byla postižena ve fertilním období a perimenopauze 3x častěji než levá ($p = 0,116$) a v postmenopauze dokonce 5x ($p = 0,055$).

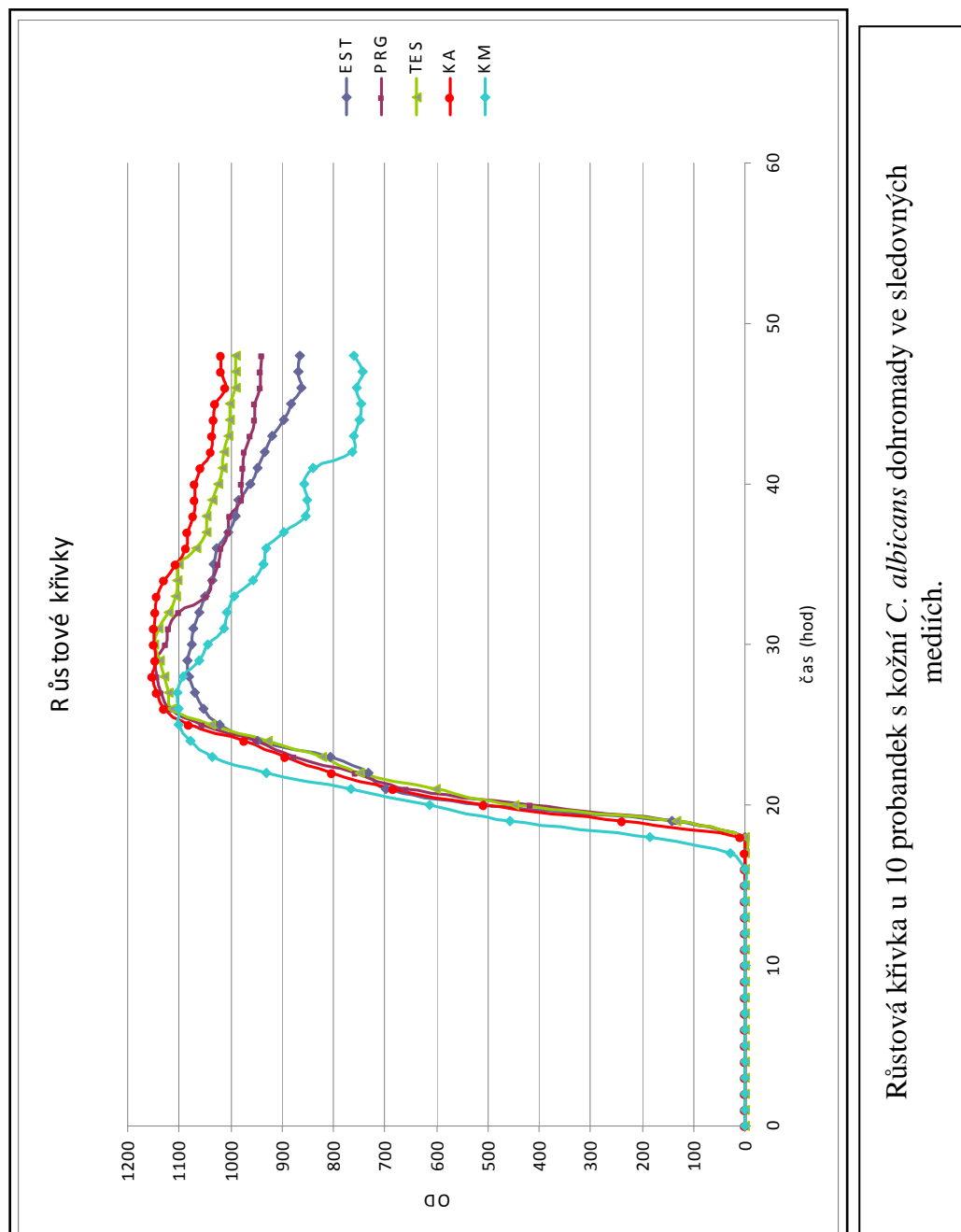
Tab.č. 13 Lokalizace *C. parapsilosis* na kůži a jejích adnexech za přítomnosti *C. parapsilosis* v pochvě (4x)

Lokalizace	Období	
	Fertilní a perimenopauzální (n=42) ØE2 74,98 pg/ml PG ≥ 5 nmol/l	Postmenopauzální (n=39) ØE2 25,91 pg/ml
dlaň	1x	0x
onychomykóza nohou	1x	0x
onychomykóza nohou a rukou	1x	0x

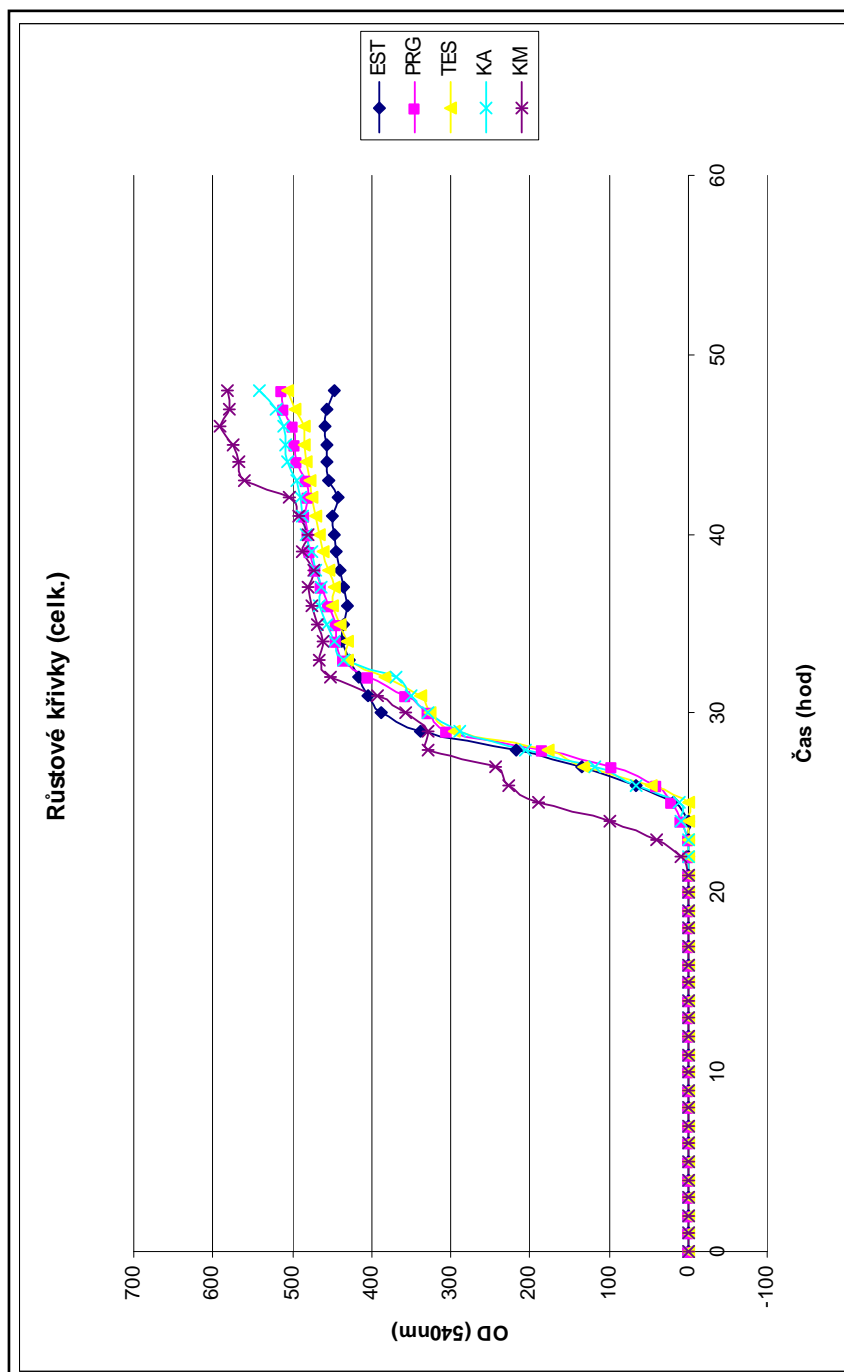
Závěr: *C. parapsilosis* se kultivačně prokázala v pochvě pouze 4x a to jen u žen fertilního a perimenopauzálního období s hladinou PG v séru ≥ 5 nmol/l mezi 21.-23. dnem cyklu. Stejný druh kandidy byl nalezen 3x i na kůži.

5.4. Výsledky sledování vlivu hormonů na růstovou křivku kvasinek *in vitro*

Graf č. 26

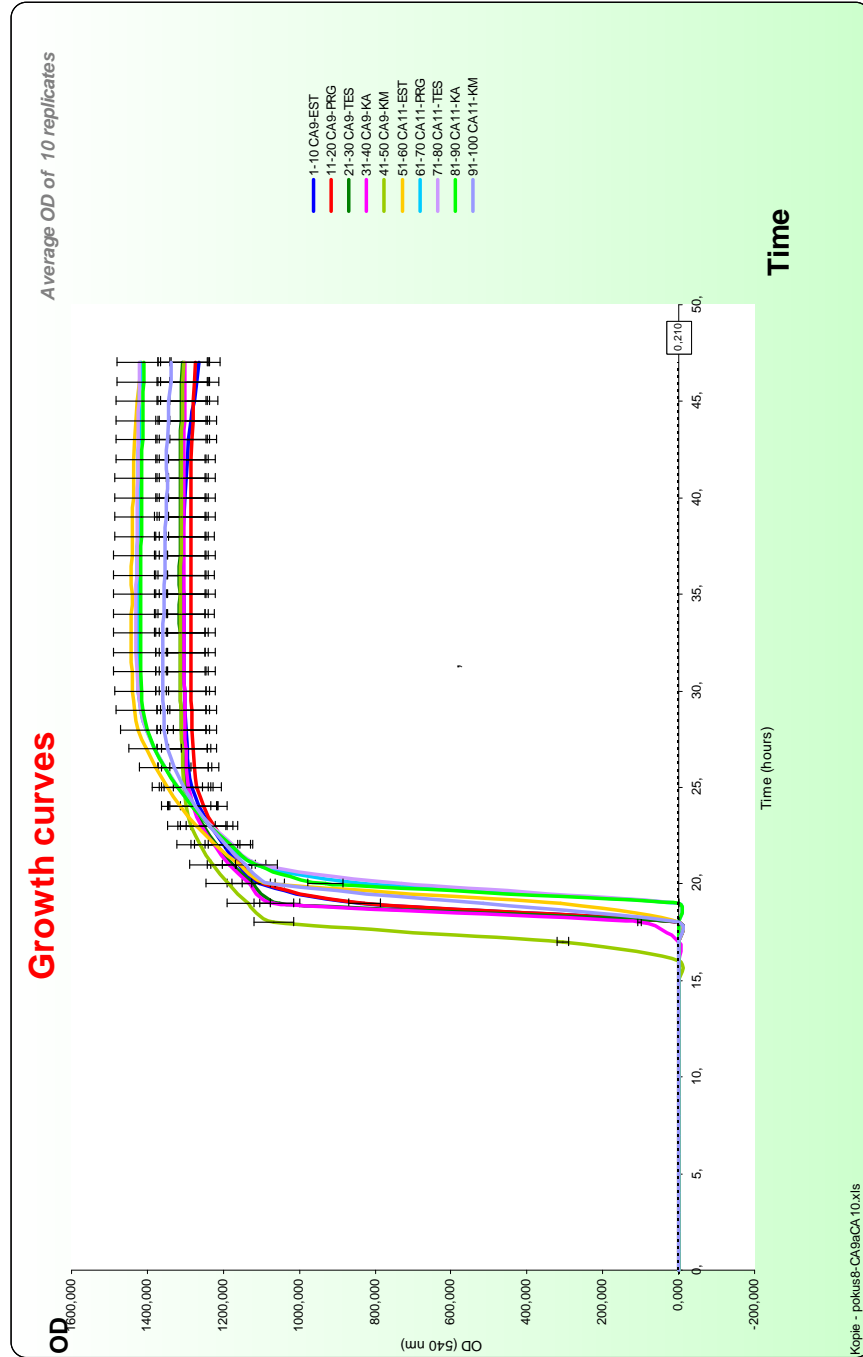


Graf č. 27



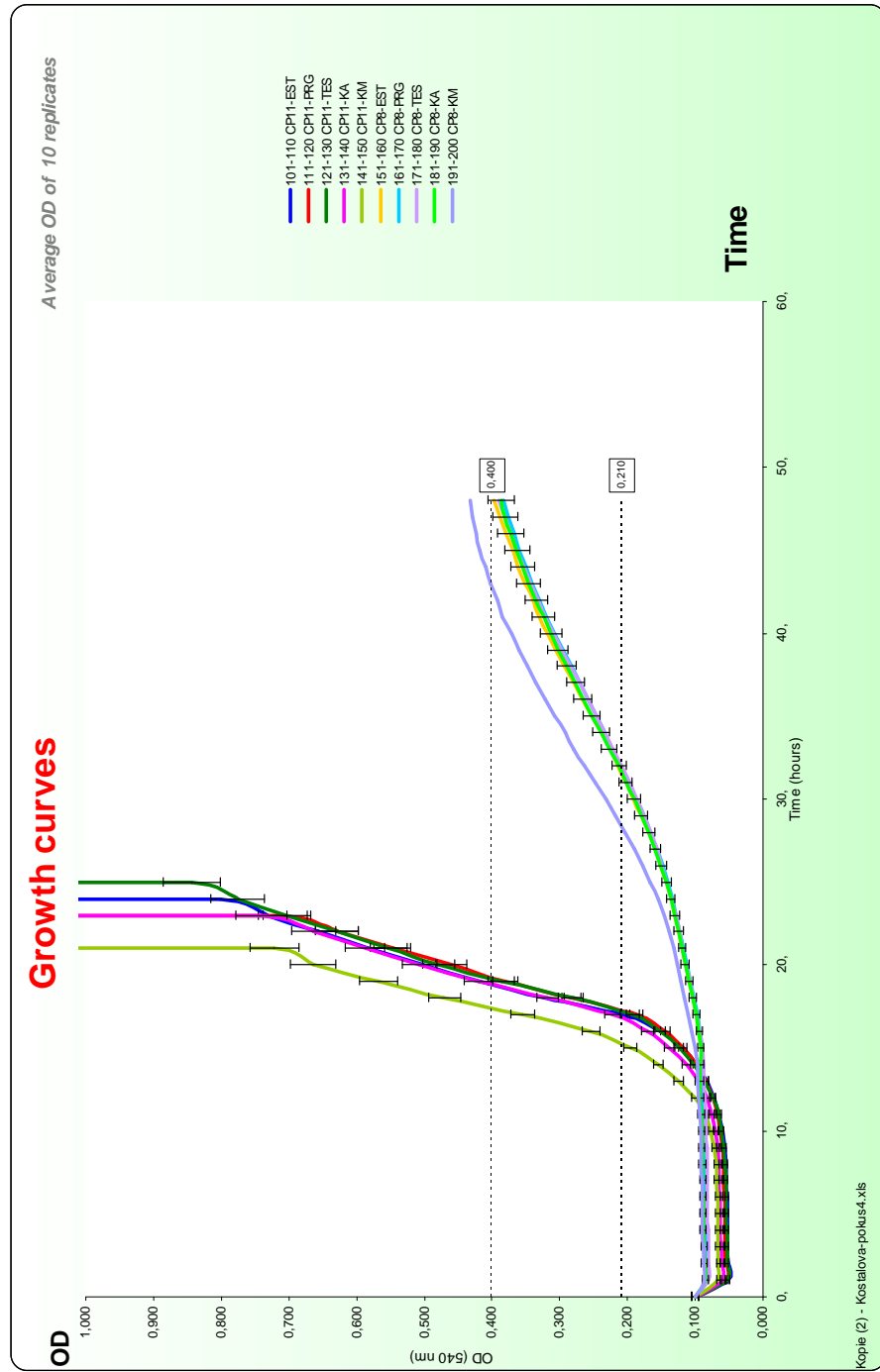
Růstová křivka u 10 probandek s kožní *C. parapsilosis* dohromady ve sledovných mediích.

Graf č. 28



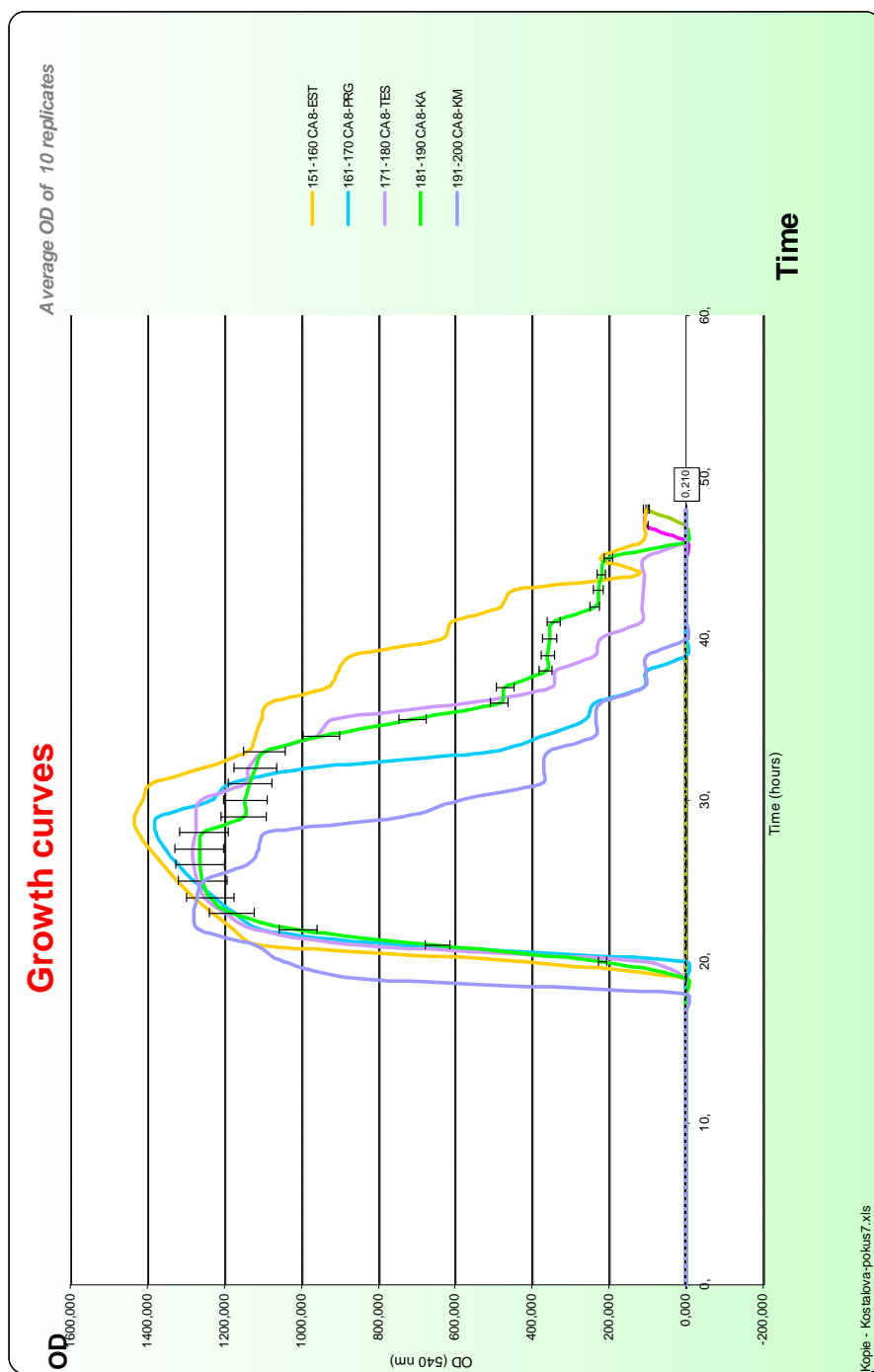
Růstová křivka u *C. albicans* (CA 9) ze submamární oblasti a *C. albicans* (CA 11) z pochvy u téže probandky.

Graf č. 29



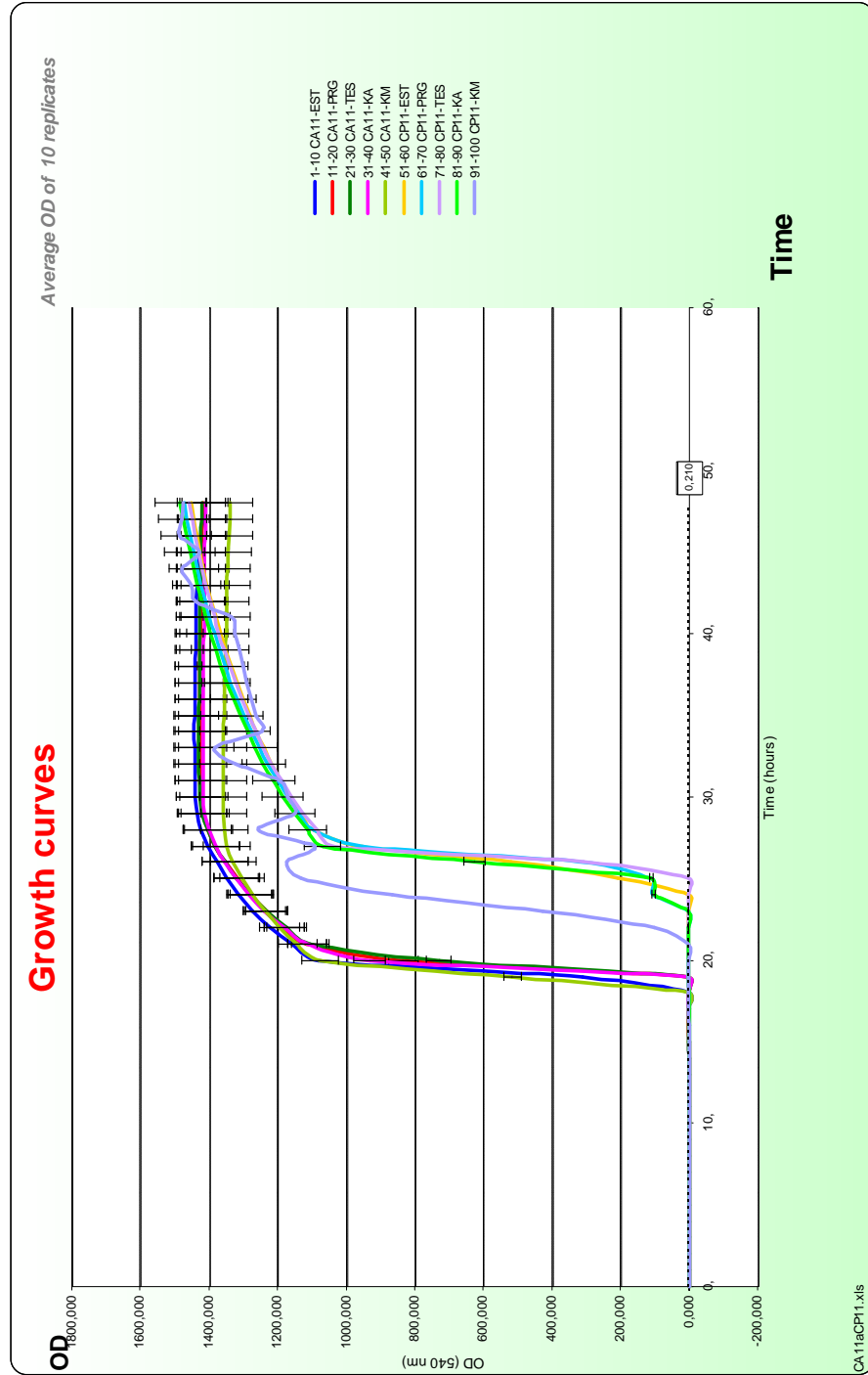
Růstové křivky *C. parapsilosis* z pochvy (CP 11) a *C. parapsilosis* z nehtu palce levé dolní končetiny (CP 8) u těžce probandky

Graf č. 30



Růstová křivka *C. albicans* z nehtů dolních končetin

Graf č. 31



Růstové křivky u *C. albicans* z pochvy (CA 11) a *C. parapsilosis* z pochvy (CP 11) od jiných probandů

5.5. Porovnání výskytu kožní a vulvovaginální kandidózy a jejich vzájemný vztah

Tab. č. 14 Koincidence kožní a poševní kandidózy

Období	Pochva <i>Candida spp.</i>	Kůže <i>Candida spp.</i>	Počet společných výskytů
Fertilní a perimenopauzální (n = 42)	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	11 (26,1%)
	<i>C. albicans</i>	<i>C.parapsilosis</i>	4
	<i>C.parapsilosis</i>	<i>C.parapsilosis</i>	3 (7,1%)
Celkem			18 (42,8%)
Postmenopauzální (n = 39)	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	5 (12,8%)
	<i>C. albicans</i>	<i>C.parapsilosis</i>	3
	<i>C.parapsilosis</i>	<i>C.parapsilosis</i>	0
Celkem			8 (20,5%)

Závěr: Koincidence kožní a poševní kandidózy byla častěji ve fertlím a perimenopauzálním období než v postmenopauzálním (2,25 x), $p = 0,036$. Nejčastěji se koincidence objevila u *C. albicans* a to 2,2 x častěji opět ve fertlím a perimenopauzálním období, $p = 0,167$.

Tab. č. 15 Koincidence *C. albicans* v pochvě, na kůži a jejich adnexech v souboru fertlím a perimenopauzálním žen dle hladin progesteronu, $p = 0,159$

Hladina progesteronu	Počet společných výskytů
PG ≥ 5 nmol/l (n = 18)	7 (63,6%)
PG < 5 nmol/l (n = 24)	4 (36,4%)

Závěr: Je-li hladina PG mezi 21.-23. dnem cyklu ≥ 5 nmol/l, je společný výskyt kožní a poševní *C. albicans* častější (63,6%), než při hladinách < 5 nmol/l (36,4%), $p=0,159$.

6. Souhrn

6.1. Anamnestické údaje (dotazník, tab.č. 1, 2)

Za tímto účelem jsme vypracovali dotazník, který pomocí 38 otázek napomohl k lepší charakteristice sledovaných souborů a může být využit i dále k zjištění rizikivosti výskytu kvasinkových onemocnění u žen .

Závěr:

Ženy fertilního a perimenopauzálního období postižené kultivačně prokázanou kožní kandidózou měly oproti stejně postiženým ženám postmenopauzálního období :

- nižší BMI 24,21 vs 29,16 kg/m², p = 0,000
- častější kožní projevy hyperandrogenismu (akne, seborrhoe, defluvium, hirsutismus), 28x vs 12x, p = 0,002
- vykazovaly větší konzumaci sladkostí, p = 0,000
- větší frekvenci pohlavního styku (39x vs 22x), p = 0,000
- nižší výskyt močové inkontinence, p = 0,000

Také udávaly statisticky nevýznamně častější vaginální výtok, výskyt těhotenské cukrovky, psychického stresu, svědění a pálení kolem konečníku a v oblasti úst. Mužští partneři udávali pouze v této skupině také svědění penisu (3x). Z ostatních kožních chorob se objevil atopický ekzém (10x) a psoriáza (7x). V postmenopauze byl ekzém 1x a psoriáza 10x.

6.2. Hormonální vyšetření (tab. č. 4)

Obě sledované skupiny (fertilní a perimenopauzální období, n = 42 a postmenopauzální období, n = 39) se lišily významně v hladinách E2 74,98 pg/ml vs 25,91 pg/ml (p = 0,000), PG 11,20 nmol/l vs 1,82 nmol/l (p = 0,000) a FSH 7,63 IU/l vs 63,05 IU/l (p = 0,000). Statisticky významně se nelišily v hladinách fT, T a SHBG.

6.3. Mykologická pozorování dle hladin estrogenů (tab. č. 9)

**(E2 Ø 74,98 pg/ml – fertilní a perimenopauzální období
E2 Ø 25,91 pg/ml – postmenopauzální období)**

Na základě takto hormonálně definovaných souborů jsme zjistili:

Vagina:

- V době přítomnosti kožní kvasinky byla v obou skupinách ve vagině nejčastěji přítomná *C. albicans*, i když v postmenopauze byl její výskyt významně nižší (20x vs 8x, p = 0,019).
- *C. parapsilosis* se ve fertilním a perimenopauzálním období objevila 4x ve vagině, žádný jiný druh kvasinky se v pochvě v tomto období nezjistil.
- V postmenopauze bylo spektrum kvasinek v pochvě širší (*C. albicans*, *C. lusitaniae*, *C. norvegensis*, *C. krusei*, *C. glabrata*)

Kůže a její adnexa:

Na kůži ve fertilním a perimenopauzálním období byla nejčastěji z kvasinek *C. parapsilosis* 15x (*C. albicans* 14x) a v postmenopauze 18x (*C. albicans* 10x), (n.s.). Dominovala tedy *C. parapsilosis* v obou sledovaných obdobích, i když více v postmenopauze (15x vs 18x, n.s.). Spektrum ostatních kvasinek na kůži v obou obdobích bylo srovnatelné a podstatně širší než ve vagině.

Závěr:

Výskyt *C. albicans* v pochvě je hormonálně závislý a to především na hladině estrogenů. Na kůži jsme toto neprokázali. *C. parapsilosis* na kůži dominuje v obou skupinách bez ohledu na hladiny hormonů. Spektrum kožních kvasinek je širší než ve vagině a to v obou skupinách, bez zjevné hormonální závislosti.

6.4. Vztah kvasinek k hladině progesteronu (tab. č. 5,10, graf č. 25)

Soubor žen ze skupiny fertlní a perimenopauzální jsme na základě hladiny PG ≥ 5 nmol/l, kterou jsme považovali za průkaz ovulace, dále rozdělili na ženy s ovulačním cyklem (n = 18, $\bar{PG} = 22,91$ nmol/l) a ženy bez ovulačního cyklu (n = 24, $\bar{PG} = 2,33$ nmol/l, p = 0,000).

V případě žen s kožní kandidózou a s hladinami PG ≥ 5 nmol/l (n = 18) byla kvasinka nalezena v pochvě v 77,7% případů (*C. albicans* 10x, *C. parapsilosis* 4x), zatímco u žen s hladinami PG < 5 nmol/l (n =24), byla nalezena pouze *C. albicans* (10x), tj.v 41,6% (p = 0,029). Při samotném srovnání *C. albicans* by to bylo u ovulujících žen v 55,5% případů a u neovulujících v 41,6% případů (n.s.).

Na kůži a jejích adnexech byla *C. albicans* nalezena stejně často u ovulujících žen (7x) jako u neovulujících (7x). Podobné to bylo i s dalšími kvasinkami.

Závěr:

Celkový výskyt kvasinek (*C.albicans*,*C.parapsilosis*) v pochvě byl u žen fertlního a perimenopauzálního období s PG ≥ 5 nmol/l vyšší (p = 0,029) než u žen s hladinou PG < 5 nmol/l.

Na kůži jsme tuto závislost neprokázali.

6.5. Vztah kvasinek k hladině testosteronu (tab. č. 4, 8)

Obě skupiny se statisticky významně nelišily v hladinách T, fT a SHBG. Nicméně kožní projevy hyperandrogenismu (akne, seborrhoe, defluvium, hirsutismus) se častěji objevily u žen ve fertilním a perimenopauzálním období (28x vs 12x, $p = 0,002$).

Závěr:

Kromě kožních známek hyperandrogenismu, které jsou častější ve fertilním a perimenopauzálním období u žen s kožní kandidózou, jsme jinou závislost nezjistili.

6.6. Koincidence kožní a poševní kandidózy (tab. č. 14, 15)

Byla častější ve fertilním a perimenopauzálním období a to celkem 18x (42,8%), ($p = 0,036$). Přitom v případě *C. albicans* byla shoda 11x. Častěji u žen s $PG \geq 5$ nmol/l, 7x (63,6%), u žen s $PG < 5$ nmol/l 4x (36,4%), statistická významnost však nebyla nalezena ($p = 0,159$). V případě *C. parapsilosis* 3x a koincidence *C. albicans* v pochvě a *C. parapsilosis* na kůži se objevila 4x.

V postmenopauze byla koincidence kožní a vaginální kandidózy výrazně nižší (8x, tj. 20,5%, n.s.) a to v případě *C. albicans* 5x a koincidence *C. albicans* v pochvě a *C. parapsilosis* na kůži se objevila 3x.

Závěr:

Koincidence kandid na kůži a ve vagině je častější ve fertilním věku a perimenopauze než v postmenopauze ($p = 0,036$) a týká se především *C. albicans*. Zdá se vyšší u žen s hladinou PG ≥ 5 nmol/l ($p = 0,159$).

6.7. Vztah vaginální kandidózy k lokalizaci kožní kandidózy

(tab. č. 12,13)

Závěr:

Za přítomnosti vaginální kandidózy (*C. albicans*) se objevila nejčastěji kožní kandidóza (*C. albicans*) na horních končetinách (onychomycosis, paronychium, meziprstí, hřbet ruky a dlaň) a to ve fertilním a perimenopauzálním období 14x a v postmenopauze 6x ($p = 0,075$).

Pravá horní končetina (onychomycosis, paronychium) byla postižena ve fertilním období a perimenopauze 3x častěji než levá ($p = 0,116$) a v postmenopauze dokonce 5x ($p = 0,055$). Ostatní lokality (dolní končetiny, submamární oblast, inguiny, okolí úst, krk) byly vzácnější.

Neprokázali jsme, že by byl nejčastěji postižen prostředník dominantní ruky v souvislosti s kontaktem v anogenitální oblasti.

C. parapsilosis se v pochvě prokázala kultivačně pouze 4x ve fertilním období a perimenopauze. Jí způsobená kožní kandidóza byla na nehtech horních a dolních končetin a na dlani.

6.8. Sledování růstových křivek *C. albicans* a *C. parapsilosis*

v různém hormonálním prostředí *in vitro* na přístroji

Bioscreen (graf. č. 26, 27, 28, 29, 30, 31)

Růstové křivky *C. albicans* (n = 10) i *C. parapsilosis* (n = 10) získané z kůže nevykazují zřetelnou preferenci některého ze sledovaných pohlavních hormonů. Kromě E2 je podobně ovlivňují i PG a T.

Z dalších křivek porovnávajících růst stejného druhu kvasinky (*C. albicans* a *C. parapsilosis*) získané zároveň z kůže a pochvy od dvou probandek je patrné, že poševní kmeny jsou citlivější k přítomnosti hormonů a vykazují strmější růst než jejich kožní souputníci. Toto pozorování je výraznější u *C. albicans*.

Závěr:

Vzhledem k malému souboru nepovažujeme závěry pozorování za statisticky významné, ale spíše jen ilustrativní.

7. Diskuse

Vliv ženských pohlavních hormonů na MKK je posuzován často kontroverzně. Většinou se připouští stimulující vliv estrogenů na VVK. Pokud jde o gestageny, jsou závěry naprosto protichůdné. O vlivu androgenů ani nemluvě. I když se prokazuje často, že intestinální, vaginální a kožní kandidóza mívá geneticky shodnou *C. albicans* jako vyvolávající agens, není známo, zda tedy ta samá *C. albicans* podléhá vlivu pohlavních hormonů jen v pochvě nebo i na kůži.

Problematikou se většinou zabývají zvláště dermatologové, gynekologové nebo mykologové. Náš přístup je zajímavý v tom, že primárně vychází z postižení kůže a/nebo jejích adnex a hledá případnou koincidenci či jinou souvislost v oblasti vulvovaginální. Snahou bylo pozorovat výše uvedené kontroverze komplexně na podkladě prvotně kultivačně prokázaného kvasinkového onemocnění kůže. Kultivační vyšetření je standardně používané, i když vyšetření polymerázovou řetězovou reakcí (PCR) vykazuje vyšší záchytnost kandid. Dle Weissenbachera T. et al. u RVVK je záchytnost *Candida spp.* kultivačně 29,8% a při užití PCR 42,3% (143).

Ve své experimentální studii na zvířatech (myši, křečci, psi) Fidel P.L. Jr. et al. prokazují, že i klesající koncentrace estrogenů mohou zvyšovat vaginální titry *C. albicans* u myši, zatímco experimentální infekce se nezdařila u myši léčených různými koncentracemi samotného progesteronu (16, 40). Dále uvádí, že progesteron neměl dokonce ani vliv na indukci a perzistenci

kandidové infekce i za přítomnosti estrogenu, na pozdní typ hypersenzitivity u primárně infikovaných myší nebo na částečnou ochranu před sekundární vaginální infekcí. Nicméně stav pseudoestrusu musel být u myší udržován, aby mohla perzistovat kandidová infekce pochvy. Také prokázali, že estrogény redukuje schopnost poševních buněk brzdit růst *C. albicans*. Tyto výsledky podporují jejich domněnku, že estrogen, nikoliv progesteron, je důležitým faktorem náklonnosti k VVK. V naší práci jsme ověřili, že pod vlivem estrogenů je kolonizace pochvy častější ve fertilním a perimenopauzálním období než v období postmenopauzálním ($p = 0,019$). Na kůži jsme podobnou závislost neprokázali. Předběžné výsledky jsme zveřejnili již dříve (70, 71, 72).

Estrogen se tedy zdá být primárním faktorem náklonnosti pochvy ke kandidóze během luteální fáze cyklu, navzdory tomu, že koncentrace progesteronu jsou v této době vyšší než estrogenů (40). Toto je v souladu s nízkým výskytem VVK u žen užívajících čistě gestagenní kontracepci (např. Depo-Provera) (40). Špaček J. et al. potvrzuje u žen s RVVK více cyklů s nižšími hladinami progesteronu než u zdravých kontrol (131). Toto koreluje i s nižšími hladinami pregnadiolu v moči. Tato hormonální dysbalance může modifikovat imunitní odpověď obzvláště lokálně na sliznicích. Gestagenní terapie může zlepšit či dokonce vyléčit některé ženy s RVVK (131). Hypoteticky, expozice neoponovaným estrogenům může hrát roli v etiopatogenezi RVVK (131). Zajímavé přitom je, že většina žen s RVVK udávala vazbu na menstruační cyklus a to především na jeho luteální fázi. Rovněž tak těhotenství a vysokodávková hormonální kontracepce jsou faktory podporující vznik VVK (131). V těhotenství je údajně vysoký výskyt VVK

spíš kvůli vysokým hladinám estrogenů navzdory vysokým hladinám progesteronu (40). Tato dominantní role estrogenů nad progesteronem ve vyvolání a podpoře VVK je ovšem v rozporu s faktem, že séra žen z luteální fáze cyklu mají větší efekt na hyfální transformaci *C. albicans* než séra žen z folikulární fáze cyklu (62). Tento transformační efekt však může být bez souvislosti s přítomností samotných hormonů v séru.

Práce brazilských autorů Cleff M.B. et al. na psích samicích také dokládá pozitivní vliv březosti a éstru na rozvoj kandidové infekce (16). Zjistili, že zdravé fenky jsou kolonizovány kandidovou infekcí pochvy v 37% podobně jako zdravé ženy (20-48%) (107). Kandidy byly dříve běžně prokazovány u psích fenek v ušním kanálu, na kůži, v čenichu, tlamě a konečnicku (16). Literatura však nedokládala dosud jejich výskyt v pochvě (16). Vysoká incidence kvasinek rodu *Candida* během dioestru (62%) je spojována s vysokými hladinami progesteronu v této fázi. Pokles imunoglobulinů IgA a IgG v důsledku vysokých hladin estrogenů ve fázi proestru může podpořit růst kvasinek (16). Kvasinky byly prokázány u březích fenek v pochvě v 71,4% (u těhotných žen v 68%), (1). U březích fenek byla v pochvě nejčastěji prokázána *C. albicans* a u ostatních fenek *C. parapsilosis*, *C. guilliermondii*, *C. kefyr*, *C. albicans*, *C. glabrata* a *C. krusei* (četnost v uvedeném pořadí) (16).

Vztah luteální fáze cyklu k VVK tak zůstává nejasný. Jsou i názory, že předovulační vrchol estrogenů spouští rozvoj VVK, která se ovšem manifestuje až v luteální fázi cyklu (40).

Dle naší práce se zdá, že výskyt *C. albicans* v pochvě je častější, mají-li ženy ovulační cykly, ($p = 0,029$). Také jsme zjistili (statisticky nevýznamně), že koincidence *C. albicans* v pochvě a na kůži je častější u ovulujících žen, ($p = 0,159$).

Vliv testosteronu na pomnožení kvasinek jsme neprokázali hormonálním vyšetřením, neboť v obou skupinách se hodnoty statisticky významně nelišily. Nicméně u žen fertilního a perimenopauzálního věku byly častěji na základě dotazníku zjištěny známky hyperandrogenismu ($p = 0,002$) a dle růstových křivek kvasinek v hormonálním prostředí *in vitro*, se zdá, že i testosteron by mohl růst kvasinek ovlivňovat (graf č. 26). Protože však soubor byl malý, nepovažujeme tuto domněnku za validní.

Reprodukční hormony také ovlivňují imunitu spojenou s *C. albicans*. Estrogeny i progesteron tlumí jak vrozenou tak získanou imunitu na systémové i lokální úrovni, včetně *candida* – specifické odpovědi lymfocytů z periferní krve nebo neutrofilní antikandidovou aktivitu *in vitro* (40). Pozoruhodné je, že specifická odpověď periferních krevních lymfocytů na *C. albicans in vitro* byla redukována u žen v luteální fázi menstruačního cyklu zároveň se vzestupem sérum žen z luteální fáze indukované germinace *C. albicans* (62).

Kandidová infekce vykazuje tedy jistou souvislost s hormonálním prostředím, může se však vyskytnout v kterémkoliv věku. Tak např. Diana A. et al. popisují dokonce kongenitální kožní kandidózu u nedonošených i termínových novorozenců (30). Bývá přítomný celotělový exantém s mikroabscesy na placentě a v pupečníku. Je vždy spojena s kandidovou chorioamniitidou. Přestože je VVK v těhotenství častá, kandidová chorioamniitida je vzácná a kongenitální kožní kandidóza ještě vzácnější.

Obvykle jde o onemocnění s dobrým průběhem a zdá se, že není proto často ani správně diagnostikováno. Důležitá je spolupráce mezi porodníkem a neonatologem. Rychlý pokles hladin mateřských hormonů z těla novorozence může hrát příznivou roli (30). Adler A. et al. popisují ovšem přechod kongenitální kožní kandidózy do kandidové sepse u nedonošeného novorozence, způsobené *C. albicans* a *C. parapsilosis* (2). U nedonošenců jsou popsány i kandidové meningitidy a multifokální osteoartritidy (38, 60).

Významnou roli zde hraje předchozí expozice systémově podávaným steroidům, antibiotikům a po narození i katecholaminům (7). Také prodloužená aplikace cefalosporinů třetí generace byla spojena u novorozenců s kandidemií (7). Nejistili však rozdíl v morbiditě a mortalitě mezi kandidemií způsobenou *C. albicans* a *C. parapsilosis*. *C. albicans* je vždy považována za patogen pro zdravé donošené novorozence v prvních týdnech života (82). Případná kožní kolonizace novorozence v prvním týdnu života (téměř vždy jako výsledek vaginálního porodu) znamená často rozvoj kandidové infekce až v 90% případů s maximem mezi 2-4 týdnem života (82). Orální a anogenitální kolonizace je podobná či ještě častější (82). Německá gynekologicko-porodnická společnost proto doporučuje v 34. týdnu těhotenství odebrat z pochvy mykologickou kultivaci a 1 týden před očekávaným porodem zahájit jednorázovou intravaginální léčbu azoly (82). U novorozenců narozených předčasně s hmotností méně než 1 500g hrozí riziko nosokomiální kandidové septikémie a proto doporučují podat orální profylaxi nystatinem, (81).

Barousse M.M. et al. se zabývali VVK u adolescentek, jejichž pochvy začínají být ovlivněny pohlavními hormony (5). Zjistili, že adolescentky jsou

asymptomaticky kolonizovány kvasinkou ve 22% případů. Adolescentky podobně jako dospělé ženy jsou nejčastěji kolonizovány *C. albicans* (85-90%) následovanou *C. glabrata*. Symptomatickou VVK však vykazuje jen méně než 2% adolescentek (oproti 6,3% u dospělých). Nejistili také žádný vztah mezi estro-gestagenní kontracepcí a VVK u adolescentek. Nepotvrdili také, že by čistě gestagenní kontracepce snižovala kolonizaci vaginy kvasinkou. Prokázali, že dívky mezi 14 až 17 lety mají silnou lokální rezistenci k projevům VVK.

S postupujícím věkem, zejména po přechodu, kdy klesají hladiny estrogenů, klesá i výskyt VVK. To platí za předpokladu, že žena neužívá hormonální substituci, nemá diabetes, neužívá širokospektrá antibiotika, kortikoidy nebo imunosupresiva. Přidružují se však jiné nepříznivé faktory jako obezita, macerace kůže v intertriginózních oblastech, inkontinence a inzulinorezistence.

U postmenopauzálních žen jsme zjistili výrazně nižší výskyt *C. albicans* v pochvě než u žen v období fertilním a perimenopauzálním ($p = 0,019$). Na kůži a jejích adnexech pak převažovala *C. parapsilosis* jejíž výskyt se v obou skupinách statisticky významně nelišil. Také poševní svědivý tvarohovitý výtok byl častěji udáván u žen v premenopauze. Močovou inkontinenci, kromě jedné ženy, udávaly převážně ženy postmenopauzální. Nejistili jsme vyšší výskyt kandidových tineaí u postmenopauzálních pacientek v námi sledovaných skupinách, podobně jako Preeti N. Malani et al. (79). Tentýž autor také upozorňuje na pohlavní závislost u některých tineaí. Tak např. tinea cruris se vyskytuje převážně u mužů v oblasti třísel a na přední straně steh. Tinea pedis je také častější u mužů než u žen.

Dále jsme si také povšimli koincidence kožní kandidové infekce s jiným kožním onemocněním, zejména psoriázou a atopickou dermatitidou (tab. č. 7). Pokud se týká prevalence kožní kandidózy u pacientů s psoriázou a atopickou dermatitidou, jsou údaje kontroverzní. Flystrom nenalezl *Candidu* v intertriginózních oblastech psoriatických pacientů (74). Ganor naopak zjistil, že 9,3% psoriatiků má na postižené kůži *Candidu* (47). Waldman et al. shledali, že psoriatici mají častěji *Candidu* ve slinách a dutině ústní než zdravé kontroly (142). Buslau et al. zjistili *C. albicans* ve stolici u 70% pacientů s atopickou dermatitis (14).

C. albicans je součástí normální ústní flóry u 25-50% zdravých jedinců (74). To byl také důvod, proč jsme upustili od původně zamýšlených mykologických kultivací z úst a konečníku.

Zajímavé bylo i zjištění, že kandidovou kožní infekcí byla nejčastěji postižena ruka (nehty a jejich okolí, dlaně, meziprstí, hřbet ruky). Podobné zjištění učinili i El Euch D. et al., kteří na rukách prokázali nejčastěji *C. albicans* (36). Vysvětlení se nabízí celá řada, od práce ve vlhkém prostředí, používání ochranných pomůcek, ale nelze vyloučit ani přenos z jiných částí těla, zejména z anogenitální oblasti. Mardh et al. udávají zvýšený výskyt *Candid* v extragenitálních lokalitách u žen, které měly pozitivní kultivaci z introitu poševního nebo vaginy (81). My jsme shledali, že u *C. albicans* převládá její lokalizace na rukou, zejména u žen fertilního a perimenopauzálního věku, a to 2,03x, statistickou významnost jsme však neprokázali. Na rozdíl od Zaiase et al. jsme nezjistili, že by byl nejčastěji postižen prostředník dominantní ruky (144).

Mezi faktory ovlivňující výskyt MKK se považuje i diabetes mellitus, zejména nedostatečně kontrolovaný léčbou. Podobně zřejmě působí i kortikoidní léčba, potažmo chronický stress aktivující nadledviny (33). Má se za to, že dietní faktory jako excesivní příjem karbohydrátů nebo sladkostí může zvýšit riziko rekurence VVK. Podle jedné studie měly ženy s RVVK zvýšenou sekreci glukózy v moči (55). Také se uvádí zhoršená tolerance glukózy u žen s RVVK (31). Ehrstrom et al. neprokázali při sledování hladin glukózy ve vaginálním sekretu během orálního glukózotolerančního testu se 75g glukózy, žádné rozdíly mezi skupinou žen s RVVK a zdravými kontrolami (33). Tyto rozdíly neprokázali ani v plasmě, na rozdíl od Donderse et al., jehož soubor byl však starší a s větším BMI (31). Horowitz et al. zjistili vyšší hladiny cukru v moči u žen s RVVK (55). Darwazeh et al. zjistili, že diabetičky mající kandidu v ústech, mají vyšší hladinu glukózy ve slinách než diabetičky či zdravé kontroly bez kandid v ústech (20). Belazi et al. prokázali 64% kolonizaci úst *Candida* spp. u diabetiků oproti 40% u zdravých kontrol, ale zdá se, že xerostomie, umělý chrup, věk, pohlaví a kontrola glykémie nejsou jediné faktory v incidenci kandid v dutině ústní (6).

Důležitou roli jistě hraje úroveň glykolýzy z glykogenu uloženého v poševních epitelích. Ženy užívající kombinovanou orální kontracepci (COC) mají zvýšené hladiny glukózy v plazmě a HbA_{1C} (33). Navíc ženy užívající COC trpí častěji RVVK než ženy neužívající (125). Ehrstrom et al. neprokázali vyšší hladiny glukózy ve vaginálním sekretu u uživatelék COC ať již s přítomností RVVK či u zdravých kontrol (33). Domnívají se, že jak v těhotenství tak u inzulin dependentního diabetu je zhoršena lokální imunitní funkce.

Do našeho souboru nebyly zařazeny ženy trpící cukrovkou, užívající kortikoidy, COC, imunosupresiva nebo antibiotika. Také jsme neprováděli orální GTT. Přesto jsme se v “kandidovém“ dotazníku zaměřili na nepřímé známky možné poruchy glycidů. Zajímala nás především cukrovka v I. příbuzenské linii, porod novorozenců s hmotností vyšší než 4 kg, výskyt těhotenské cukrovky, dietní návyky a psychický stres. Téměř polovina probandek v obou souborech měla diabetes v příbuzenstvu (tab. č. 2). Těhotenská cukrovka byla v našem souboru 5x častěji u žen fertilního a perimenopauzálního období. Také údaj o psychickém stresu je vysoký. Samy probandky jej uvádějí v 83,3% ve fertilním a perimenopauzálním období a v 66,6% v postmenopauze (tab. č. 2). Výsledky však nejsou statisticky významné.

Dle “kandidového“ dotazníku udávají ženy fertilního období a perimenopauzy významnou konzumaci cukrovinek a to v 85,7% případech, která je více jak 2x vyšší než v postmenopauze ($p = 0,000$). Vědecký důkaz o vlivu “antifungální diety“ na kolonizaci střev kvasinkou však chybí. Intestinální flóra se sestává z velkého množství mikroorganismů (kolem 10^{14}), ze kterých tvoří kvasinka jen malou frakci (82). Složení střevní flóry v každé etáži střev je extrémně stabilní a typické pro daný střevní úsek (82). Je nepravděpodobné, že *Candida* spp. v tlustém střevě může být ovlivněna dietou bez cukrů, jelikož mono- a disacharidy jsou absorbovány již v tenkém střevu (8).

Je také zajímavé, že ženy s vulvodynií často udávají předchozí léčbu pro VVK (26). De Knott et al. testovali kožní hypersensitivitu k *C. albicans* pomocí náplasti s antigeny *C. albicans* (26). Ženy s vulvodynií významně

častěji reagovaly v testech než ženy bez vulvodynie a dovozují, že předchozí VVK může iniciovat následnou hypersenzitivní odpověď k antigenům *C. albicans*. Naproti tomu ale vulvodynie může být i projevem jiných potíží, např. maskované deprese, kde bude antifungální léčba bez efektu (82).

Efektem reprodukčních hormonů na experimentální vaginální kandidózu se zabývala celá řada autorů (42, 110, 120, 126). V těchto zvířecích modelech je důležitým požadavkem pro perzistující infekci stav pseudoestrusu (40). Zdá se, že estrogenně podmíněná změna cylindrického epitelu ve vrstevnatý dlaždicobuněčný epitel přispívá k adhezenci a růstu *C. albicans* (66). Kvasinkové receptory pro estrogenu navíc umožňují hyfální transformaci kvasinky, která zvyšuje její invazivitu (40). Fidel et al. sledovali růstové křivky *C. albicans* pod vlivem estrogenů a progesteronu na experimentálním myším modelu (40). Zjistili, že po aplikaci estradiol valerátu a inokulaci kolonie *C. albicans* do pochvy, tato kolonie roste do 7. dne od aplikace. Pokud se dávka opakuje po týdnu, zůstává velikost kolonie stabilní. Pokud se dávka neopakuje, zhruba do týdne infekce vymizí. Progesteron sám kandidovou infekci v myší pochvě neudržel.

Sami jsme zkoumali růstové křivky pro technické potíže jen u omezeného souboru žen. Růstové křivky kožních *C. albicans* (10x) a *C. parapsilosis* (10x) *in vitro* neukazují na jednoznačnou dominanci estrogenního prostředí v jejich růstu a zdá se, zejména u kožní *C. albicans*, že i progesteron a testosteron může mít podobný vliv.

Při srovnání růstové křivky *C. albicans* získané z pochvy a kůže (submamární oblast) téže ženy se zdá, že poševní kmen je k hormonům citlivější a roste mnohem rychleji než jeho kožní protějšek. Totéž v menší míře

platí i pro *C. parapsilosis* z pochvy a kůže nebo jejích adnex (onychomycosis pedis) u jiné ženy. Vzhledem k malému souboru však tato pozorování mají jen informativní charakter.

Zdá se tedy, že nejen hormonální prostředí, přítomnost receptorů pro hormony, ale i lokální prostředí, celkový stav organismu a nepochybně místní a celková imunita hrají významnou roli v rozvoji MKK. V experimentálních modelech, ať již prováděných *in vivo* nebo *in vitro*, obvykle tato komplexnost všech ovlivňujících faktorů jistě chybí. Nicméně jsou dalším přínosem k rozpoznání etiopatogeneze MKK.

8. Závěr

Odpovědi na hypotézy vyslovené v kapitole Cíle práce:

- 1. V případě kultivačně prokázané kožní kandidózy je často přítomná i VVK u žen ve fertlím a perimenopauzálním období a u žen v postmenopauzálním období. (Hypotéza 1)**

Odpověď:

V době přítomnosti kožní kvasinky byla v obou skupinách v pochvě nejčastěji přítomná *C. albicans*. Ve fertlím období a perimenopauze ve 47,6% (20x) a v postmenopauze ve 20,5% (8x). V postmenopauze byl její výskyt 2,5x nižší, $p=0,019$ (tab. č. 9).

- 2. V případě kožní a vulvovaginální koincidence kvasinek je vykultivován shodný původce onemocnění. (Hypotéza 2)**

Odpověď:

Ve fertlím a perimenopauzálním období byla kultivační shoda v případě *C. albicans* v 26,1% (11x) a v případě *C. parapsilosis* v 7,1% (3x), (tab. č.14). V případě *C. albicans* je vyšší u žen s hladinou sérového PG ≥ 5 nmol /l mezi 21.-23. dnem cyklu (63,6%), u žen s PG < 5 nmol/l je nižší (36,4%), (tab. č.15). Statistická významnost však nebyla nalezena, $p=0,159$.
V postmenopauze byla kultivační shoda jen u *C. albicans* v 12,8 % (5x), (tab. č. 14).

3. Jsme schopni nalézt predilekční místo pro kožní kandidózu při kultivační přítomnosti *C. albicans* v pochvě. (Hypotéza 3)

Odpověď:

Je-li přítomna *C. albicans* v pochvě, pak se kožní kandidóza způsobená *C. albicans* objevila nejčastěji na horních končetinách (onychomycosis, paronychium, meziprstí, hřbet ruky a dlaň) a to 2,03x častěji ve fertilním období a perimenopauze 14x (n=42) než v postmenopauze 6x (n=39), $p=0,075$. Pravá horní končetina byla postižena ve fertilním období a perimenopauze 3x častěji než levá ($p=0,116$) a v postmenopauze dokonce 5x ($p=0,055$), (tab. č.12).

4. Kožní a VVK je *in vivo* hormonálně závislá (E2, PG, T, fT, SHBG).

Odpověď:

VVK způsobená *C. albicans* byla ve fertilním a perimenopauzálním období, tedy při vyšších hladinách E2 (E2 $\bar{\varnothing}$ 74,98 pg/ml), 2,5 x častější než v postmenopauze (E2 $\bar{\varnothing}$ 25,91 pg/ml), $p=0,019$. Na kůži a jejích adnexech jsme toto neprokázali (tab. č. 9).

Je-li hladina PG v séru mezi 21.-23.dnem cyklu ≥ 5 nmol/l (tedy s předpokládanou ovulací) vyskytují se kvasinky (*C. albicans*, *C. parapsilosis*) v pochvě častěji -14x (77,7%, n=18) než v případě hladiny PG < 5 nmol/l -10x (41,6%, n=24), $p=0,029$. Na kůži a jejích adnexech jsme toto neprokázali (graf č. 25, tab. č.10).

Vztah k hladinám T, fT a SHBG jsme neprokázali. Kožní projevy hyperandrogenismu (akne, seborhoe, defluvium, hirsutismus) se častěji objevily u žen ve fertilním a perimenoapuzálním období (28x vs 12x), $p=0,002$, (tab. č. 2).

5. Kožní a VVK je *in vitro* hormonálně závislá.

Odpověď:

Z malého počtu růstových křivek *C. albicans* (10x) a *C. parapsilosis* (10x) nelze učinit relevantní statistické závěry. Zdá se však, že poševní kmeny jsou citlivější k pohlavním hormonům a jejich růstový potenciál by mohly ovlivňovat kromě estrogenů i PG a T. Vykazují strmější růst než jejich kožní soupeřníci (graf č. 26 až 30). Též se zdá, že *C. albicans* je k hormonální stimulaci citlivější než *C. parapsilosis* (graf č. 31).

9. Seznam zkratek

AIDS	- syndrom získané imunodeficiency
APECED	- syndrom autoimunní polyendokrinopatie –kandidózy- ektodermální dystrofie
BMI	- body mass index
CBP	- kortikoidy vázající protein
cfu	- colony forming units
COC	- kombinovaná orální kontracepce
DM	- diabetes mellitus
EBP	- estrogeny vázající protein
E2	- 17- β -estradiol
FSH	- folikulostimulační hormon
fT	- volný testosteron
HbA _{1c}	- glykovaný hemoglobin
HPLC	- High Performance Liquid Chromatography (vysoce účinná kapalinová chromatografie)

HRT	- hormonální substituční léčba
IgA	- sérový imunoglobulin A
IgE	- sérový imunoglobulin E
IgG	- sérový imunoglobulin G
KA	- kontrolní médium s alkoholem
KM	- samotné kontrolní růstové médium
LH	- luteinizační hormon
MKK	- mukokutánní kandidóza
Mr	- molekulární hmotnost
n	- počet vyšetřovaných v souboru
n.s.	- statisticky nevýznamné
oGTT	- orální glukózotoleranční test
p	- statistická významnost
PBP	- progesteron vázající protein
PCR	- polymerázová řetězová reakce
PG	- progesteron
RVVK	- rekurentní vulvovaginální kandidóza

SAPs	- sekreční aspartylproteinázy
SGA	- Sabouraudův glukózový agar
SGB	- Sabouraudův glukózový bujón
SHBG	- pohlavní steroidy vázající globulin
T	- celkový testosteron
VVK	- vulvovaginální kandidóza

10. Seznam grafů, tabulek a přílohy

Graf č. 1, 2, 3	rozložení hodnot BMI u sledovaných skupin
Graf č. 4, 5, 6	věková skladba obou souborů
Graf č. 7, 8, 9	rozložení hodnot 17- β -estradiolu
Graf č. 10, 11, 12	rozložení hodnot progesteronu
Graf č. 13, 14, 15	rozložení hodnot FSH
Graf č. 16, 17, 18	rozložení hodnot celkového T
Graf č. 19, 20, 21	rozložení hodnot volného T
Graf č. 22, 23, 24	rozložení hodnot SHBG
Graf č. 25	počet záchytů kvasinek na kůži a jejích adnexech a v pochvě dle hladiny PG v séru mezi 21.-23. dnem cyklu
Graf č. 26	výsledky sledování vlivu hormonů na růstovou křivku kvasinek <i>in vitro</i>
Graf. č. 27	růstová křivka u 10 probandek s kožní <i>C. parapsilosis</i> dohromady ve sledovaných mediích
Graf č. 28	růstová křivka u <i>C. albicans</i> (CA9) ze submamární oblasti a <i>C. albicans</i> (CA11) z pochvy u téže probandky
Graf č. 29	růstové křivky <i>C. parapsilosis</i> z pochvy (CP11) a <i>C. parapsilosis</i> z nehtu palce levé dolní končetiny (CP8) u téže probandky

Graf. č. 30	růstová křivka <i>C. albicans</i> z nehtů dolních končetin
Graf č. 31	růstové křivky u <i>C. albicans</i> z pochvy (CA11) a <i>C. parapsilosis</i> z pochvy (CP 11) od jiné probandky
Tab. č. 1	Charakteristika souborů dle věku a BMI
Tab. č. 2	Charakteristika souborů dle “kandidového dotazníku“
Tab. č. 3	Rekurence kožního kvasinkového onemocnění ve sledovaných souborech
Tab. č. 4	Charakteristika souborů dle hormonálního profilu
Tab. č. 5	Průměrné hladiny progesteronu v souboru žen fertilního a perimenopauzálního období (n = 42) rozdělené dle hladin progesteronu ≥ 5 nmol/l, p = 0,000
Tab. č. 6	Výskyt kvasinkou postižených kožních lokalit
Tab. č. 7	Další kožní diagnózy v souboru
Tab. č. 8	Projevy hyperandrogenismu na kůži u žen postižených MKK
Tab. č. 9	Mykologická charakteristika souborů
Tab. č. 10	Mykologická charakteristika poševních kultivací souboru fertilních a perimenopauzálních žen dle hladiny progesteronu v séru mezi 21.-23. dnem cyklu
Tab. č. 11	Srovnání kožních a poševních kultivací souboru fertilních a perimenopauzálních žen dle hladiny sérového PG mezi 21.-23.dnem cyklu

- Tab. č. 12 Lokalizace *C. albicans* na kůži a jejích adnexech
za přítomnosti *C. albicans* v pochvě (28x)
- Tab. č. 13 Lokalizace *C. parapsilosis* na kůži a jejích adnexech
za přítomnosti *C. parapsilosis* v pochvě (4x)
- Tab. č. 14 Koincidence kožní a poševní kandidózy
- Tab. č. 15 Koincidence *C. albicans* v pochvě, na kůži a jejích
adnexech v souboru fertálních a perimenopauzálních žen dle
hladin progesteronu, $p = 0,159$
- Příloha č. 1 “kandidový dotazník“

11. Literatura

1. Abu-Elteen, K.H., Malek, N., Amma Wahid, N.A.A.: Prevalence and susceptibility of vaginal yeast isolates in Jordan. *Mycoses*, 40, 1997, s. 179-185.
2. Adler, A., Litmanovitz, I., Regev, R., et al.: Breakthrough candida infection in preterm infant with congenital cutaneous *Candida albicans* infection. *Am. J. Perinatol.*, 22, 2005, 3, s. 169-172.
3. Bailey, J., V., Benato, R., Owen, Ch., Kavanagh, J.: Vulvovaginal Candidiasis in Women Who Have Sex With Women. *Sex. Trans. Dis.*, 35(6), 2008, s. 533-536.
4. Barbone, F., Austin, H., Louv, W.C., et al.: A follow-up study of methods of contraception, sexual activity, and rates of trichomoniasis, candidiasis, and bacterial vaginosis. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 136, 1990, s. 510-514.
5. Barousse, M.M., Van Der Pol, B.J., Fortenberry, D, et al.: Vaginal yeast colonisation, prevalence of vaginitis, and associated local immunity in adolescents. *Sex. Transm. Infect.*, 80, 2004, s. 48-53.
6. Belazi, M., Velegraki, A., Fleva, A., et al.: Candidal overgrowth in diabetic patients: potential predisposing factors. *Mycoses*, 48, 2005, s. 192-196.
7. Benjamin Jr., D.K., Ross, K., McKinney Jr., R.E., et al.: When to suspect fungal in neonates: A clinical comparison of *Candida albicans* and *Candida parapsilosis* fungemia with coagulase-negative Staphylococcal bacteriemia. *Pediatrics*, 106, 2000, 4, s. 712-718.
8. Bernhard, H.: Candida in Ökosystem des Orintestinaltraktes. *Mycoses*, 38, 1996, s. 44-47.

9. Bibel, D.J., Aly, R., Shah, S., et al.: Sphingosines: antimicrobial barriers of the skin. *Acta Dermato. Venereol.*, 73, 1993, s. 407-411.
10. Bluestein, D., Rutledge, C., Lumsden, L.: Predicting the occurrence of antibiotic-induced candidal vaginitis (AICV). *Fam. Pract. Res. J.*, 11, 1991, s. 319-326.
11. Bradshaw, C.S., Morton, A.N., Garland, S.M., et al.: Higher-risk behavioral practices associated with bacterial vaginosis compared with vaginal candidiasis. *Obstet. Gynecol.*, 106, 2005, 1, s. 105-114.
12. Buch, A., Christensen, E.S.: Treatment of vaginal candidosis with natamycin and effect of treating the partner at the same time. *Acta Obstet. Gynecol. Scand.*, 61, 1982, s. 393-396.
13. Buchta, V., Špaček, J., Jílek, P.: Mykotické infekce ženského genitálu I. *Epidemiologie a mikrobiologie. Gynekolog*, 6, 1997, s. 67-70.
14. Buslau, M., Menzel, I., Holtzman, H.: Fungal flora of human faeces in psoriasis and atopic dermatitis. *Mycoses*, 33, 1990, s. 90-94.
15. Carlsten, H., Holmdahl, R., Tarkowski, A.: Analysis of the genetic encoding of oestradiol suppression of delayed-type hypersensitivity in (NZBxNZW) F1 mice. *Immunology*, 73, 1991, s. 186-190.
16. Cleff, M.B., Lima, A.P., Osório de Faria, R., et al.: Isolation of *Candida spp* from vaginal microbiota of healthy canine females estrus cycle. *Braz. J. Microbiol.*, 36, 2005, 2, s. 99-105.
17. Clemons, K.V., Spearow, J.L., Parmar, R., et al.: Genetic susceptibility of mice to *Candida albicans* vaginitis correlates with host estrogen sensitivity. *IAI*, 72, 2004, 8, s. 4878-4880.

18. Cohen, R., et al.: Fungal flora of the normal human small and large intestine. *N. Engl. J. Med.*, 297, 1968, 340-344.
19. Cotch, M.F., Hillier, S.L., Gibbs, R.S., et al.: Epidemiology and outcomes associated with moderate to heavy candida colonisation during pregnancy. Vaginal infections and prematurity study group. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 178, 1998, s. 374-380.
20. Darwazeh, A.M., MacFarlane T.W., MacCuish, A., et al.: Mixed salivary glucose levels and candidal carriage in patients with diabetes mellitus. *J. Oral. Pathol. Med.*, 20, 1991, s. 280-283.
21. Davidson, F.: Yeasts and circumcision in the male. *Br. J. Vener. Dis.*, 53, 1977, s. 121-123.
22. Davidson, F., et al.: Recurrent genital candidiasis and iron metabolism. *Br. J. Vener. Dis.*, 53, 1977, s. 126.
23. Davidson, F., Oates, J.K.: The pill does not cause „thrush“. *BJOG*, 92, 1985, s. 1265-1266.
24. Daynes, R.A., Aranco, B.A.: Contrasting effects of glucocorticoids on the capacity of T cells to produce the growth factors interleukin 2. *Eur. Immunol.*, 19, 1989, s. 2319-2325.
25. Daynes, R.A., Dudley, D.J., Araneo, B.A.: Regulation of murine lymphokine production in vivo. *Eur. J. Immunol.*, 20, 1990, s. 793-802.
26. De Knott, H.M.R., McCormick, T.S., Do, S.O., et al.: Cutaneous hypersensitivity to *Candida albicans* in idiopathic vulvodynia. *Contact . Dermatitis*, 53, 2005, s. 214-218.

27. Demirezen, S., Dirlik, O.D., Beksac, M.S: The association of candida infection with intrauterine contraceptive device. *Cent. Eur. J. Public. Health*, 13, 2005, s. 32-34.
28. Dempsey, A.T., De Swiet, M., Dewhurst, J.: Premature ovarian failure associated with the candida endocrinopathy syndrome. *B. J. Obstet. Gynaec.*, 88, 1981, s. 563-565.
29. Dennerstein, G.J., Ellis, D.H.: Oestrogen, glycogen and vaginal candidiasis. *Aust. N. Z. J. Obstet. Gynaecol.*, 41, 2001, s. 326-328.
30. Diana, A., Epiney, M., Ecoffey, M., et al.: „White dots on the placenta and red dots on the baby“: congenital cutaneous candidiasis – a rare disease of the neonate. *Acta Paediatr.*, 93, 2004, 7, s. 996-999.
31. Donders, G.G., Prenen, H., Verbeke, G., et al.: Impaired tolerance for glucose in women with recurrent vaginal candidiasis. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 187, 2002, s. 989-993.
32. Drake, T.E., Mailbach, H.I.: Candida and candidiasis: cultural conditions, epidemiology, and pathogenesis. *Postgrad. Med.*, 53, 1973, s. 83.
33. Ehrström, S., Yu, A., Rylander, E.: Glucose in vaginal secretions before and after oral glucose tolerance testing in women with and without recurrent vulvovaginal candidiasis. *Obstet. Gynecol.*, 108, 2006, 6, s.1432-1437.
34. Elegbe, I.A., Elegbe, I.: Quantitative relationships of *Candida albicans* infections and dressing patterns in Nigerian women. *Am. J. Public. Health*, 73, 1980, 450-452.
35. Elegbe, I.A., Juba, A.: Candidiasis in Nigerian students. *J. R. Soc. Health*, 10, 1986, s. 213-215.

36. El Euch D., Ben Ammar F., Ben Sassi M., et al.: Superficial fungal infections. Epidemiology, clinical and mycologic study over a three years period. *Tunis Med.*, 84, 2006, 7, s. 407-410.
37. Elewski, B.E.: Onychomycosis: pathogenesis, diagnosis and management. *CMR*, 11, 1998, 3, s. 415-429.
38. Evdoridou, J., Roilides, E., Bibashi, E.: Multifocal osteoarthritis due to *Candida albicans* in a neonate: serum level monitorig of liposomal amphotericin B and literature review. *Infection*, 25, 1997, 2, s. 112-116.
39. Feldman, D., Krishnan, A.: Estrogens in unexpected places: possible implications for researchers and consumers. *Environ. Health Perspect.*, 103 (Suppl. 7), 1995, s. 129-133.
40. Fidel Jr., P.L., Cutright, J., Steele, Ch.: Effects of reproductive hormones on experimental vaginal candidiasis. *IAI*, 68, 2000, 2, s. 651-657.
41. Fidel Jr., P.L., Lynch, M.E., Sobel, J.D.: *Candida*-specific Th1-type responsivness in mice with experimental vaginal candidiasis. *Infect. Immun.*, 61, 1993, s. 4202-4207.
42. Fidel Jr, P.L., Lynch, M.E., Sobel, J.D.: *Candida*-specific cell-mediated immunity is demonstrable in mice with experimental vaginal candidiasis. *Infect. Immun.*, 61, 1993, s. 1990-1995.
43. Fleury, F.J.: Recurrent candida vulvovaginitis. *Chemotherapy*, 28 (suppl. 1), 1982, s. 48.
44. Flystrom, I., Bergbrant, I.M., Brared, J., et al.: Microorganisms in intertriginous psoriasis: no evidence of *Candida*. *Acta Derm. Venerol.*, 83, 2003, s. 121-123.

45. Fořt, J., Kawaciuková, L.: Léčba poševního výtoku jako prevence onemocnění matky a novorozence. Čs. Gynek., 41, 1976, s. 173-175.
46. Foxman, B.: The epidemiology of vulvovaginal candidiasis: risk factors. Am. J. Public. Health, 80, 1990, s. 329-331.
47. Ganor, S.: Disease sometimes associated with psoriasis. I. Candidosis. Dermatologica, 154, 1977, s. 268-272.
48. Geiger, A.M., Forman, B.: Risk factors for vulvovaginal candidiasis: a case-control study among university students. Epidemiology, 7, 1996, s. 182-187.
49. Glover, D.D., Larsen, B.: Relationship of fungal vaginitis therapy to prior antibiotic exposure. Infect. Dis. Obstet. Gynecol., 11, 2003, s. 157-160.
50. Goswami, R., Dadhwal, V., Tejaswi, S., et al.: Species-specific prevalence of vaginal candidiasis among patients with diabetes mellitus and its relation to their glycaemic status. J. Infect., 41, 2000, s. 162-166.
51. Granger, S.E.: The aetiology and pathogenesis of vaginal candidosis. Janssen Pharmaceutical Co., Wantage, UK, 1992 Medicom International.
52. Heinz, M.: Gynäkologie im Kindes- und Jugendalter. Leipzig, VEB G. Thieme Verlag 1985, s. 162.
53. Heinz, M., Hoyme, S.: Gynäkologie des Kindes- und Jugendalters. Überarbeitete Auflage. F Enke Verlag, Stuttgart, 1974.
54. Hopsu-Havu, V.K., Grönroos, M., Punnoren, R.: Vaginal yeasts in parturients and infestation of the newborns. Acta Obstet. Gynecol. Scand., 59, 1980, s. 73

55. Horowitz, B.J., Edelstein, S.W., Lippman, L.: Sugar chromatography studies in recurrent *Candida* vulvovaginitis. *J. Reprod. Med.*, 29, 1984, s. 441-443.
56. Horowitz, B.J., Giaquinta, D., Ito, S.: Evolving pathogens in vulvovaginal candidiasis: implications for patient care. *J. Clin. Pharmacol.*, 32, 1992, s. 248-255.
57. Hurley, R.: Recurrent *Candida* infections. *Clin. Obstet. Gynecol.*, 8, 1981, s. 209-213.
58. Chaim, W., Foxman, B., Sobel, J.D.: Association of recurrent vaginal candidiasis and secretory ABO and Lewis phenotype. *J. Infect. Dis.*, 176, 1997, s. 828-830.
59. Cheng, G., Yeater, K., Hoyer, L.L.: Cellular and molecular biology of *Candida albicans* estrogen response. *Eukaryotic Cell*, 5, 2006, 1, s. 180-191.
60. Jarlov, J.O., Born, P., Bruun, B.: *Candida albicans* meningitis in a 27 weeks premature infant treated with liposomal amphotericin-B (AmBisome). *Scand. J. Infect. Dis.*, 27, 1995, 4. s. 419-420.
61. Jílek, P., Špaček, J., Buchta, V., et al.: Systémová imunita u pacientek s rekurentní vulvovaginální kandidózou. *Čes. Gynek.*, 70, 2005, 6, s. 453-454.
62. Kalo-Klein, A., Witkin, S.S.: *Candida albicans*: cellular immune system interactions during different stages of the menstrual cycle. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 161, 1989, s. 1132-1136.
63. Kalo-Klein, A., Witkin, S.S.: Prostaglandin E2 enhances and gamma interferon inhibits germ tube formation in *Candida albicans*. *Infect. Immun.*, 58, 1990, s. 260-262.

64. Kent, H.L.: Epidemiology of vaginitis. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 165, 1991, s. 1168-1176.
65. King, R.D., Lee, J.C., Morris, A.L.: Adherence of *Candida albicans* and other candida species to mucosal epithelial cells. *Infect. Immun.*, 27, 1980, s. 667.
66. Kinsman, O.S., Collard, A.E.: Hormonal factors in vaginal candidiasis in rats. *Infect. Immun.*, 53, 1986, s. 498-504.
67. Kirkpatrick, C.H.: Chronic mucocutaneous candidiasis. *J. Amer. Acad. Dermatol.*, 31 (suppl. 2), 1994, s. 14-17.
68. Klink, M., Rozalaska, B., Rudnicka, W.: Weakness of cellular response to *Listeria* antigens in pregnant mice. *Med. Dosw. Mikrobiol.*, 45, 1993, s. 51-54.
69. Košťálová, M., Ettler, K., Košťál, M.: Mukokutánní kandidóza a její vztah k ženským pohlavním hormonům. *Čes.-Slov. Derm.*, 82, 2007, 5, s. 268-271.
70. Košťálová M., Vejsová M., Buchta V., Košťál M., Ettler K.: Mucocutaneous candidiasis and women's sexual hormones. Abstrakt: 65. Annual meeting AAD, Washington DC, 2.-6.2.2007, s. 29.
71. Košťálová, M., Vejsová, M., Buchta, V.: Mukokutánní kandidóza a ženské pohlavní hormony – pilotní studie. Abstrakt: 4. Česko-slovenská mezioborová konference lékařské mykologie, 31.5.-2.6.2007, Pardubice, s. 47.

72. Košťálová, M., Vejsová, M., Tošner, J., Buchta, V., Košťál, M., Ettler, K.: Premenopausal and postmenopausal mucocutaneous candidiasis. Abstrakt: 21st World Congress of Dermatology, Buenos Aires, 30.9.-5.11.2007, s.812-813.
73. Kubec, K.: Mykotické choroby kůže a jejích adnex. Praha, Avicenum. 1983.
74. Leibovici, V., Alkalay, R., Hershko, K., et al.: Prevalence of *Candida* on the tongue and intertriginous areas of psoriatic and atopic dermatitis patients. *Mycoses*, 51, 2007, s. 63-66.
75. Leon, de E.M., Jacober, S.J., Sobel, J.D., et al.: Prevalence and risk factors for vaginal candida colonization in women with type 1 and type 2 diabetes. *BMC Infect. Dis.*, 2, 2002, s. 1-4.
76. Lian Cui Hong, Liu Wei Da: Differential expression of *Candida albicans* secreted aspartyl proteinase in human vulvovaginal candidiasis. *Mycoses*, 50, 2007, 5, s. 383-390.
77. Loose, D.S., Feldman, D.: Characterization of a unique corticosterone-binding protein in *Candida albicans*. *J. Biol. Chem.*, 257, 1982, s. 4925-4930.
78. Madani, N., Malloy, P.J., Rodriguez-Pombo, P., et al.: *Candida albicans* estrogen-binding protein gene encodes an oxidoreductase that is inhibited by estradiol. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 91, 1994, s. 922-926.
79. Malani, P.N., Kauffman, C.A.: Diagnosis and management of fungal infections in older adults. *Clinical Geriatrics*, 11, 2003, 9, s. 36-44.
80. Malloy, P., Zhao, X., Madani, N., et al.: Cloning and expression of the gene from *Candida albicans* that encodes a high-affinity corticosteroid-binding proteins. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 90, 1993, s. 1902-1906.

81. Mardh, P.-A., Novikova, N., Stukalova, E.: Colonisation of extragenital sites by *Candida* in women with recurrent vulvovaginal candidosis. *BJOG*, 110, 2003, 10, s. 934-937.
82. Mendling, W., Seebacher, C.: Guideline vulvovaginal candidosis: Guideline of the German Dermatological Society, the German Speaking Mycological Society and the Working Group for Infections and Infectimmunology of the German Society for Gynecology and Obstetrics. *Mycoses*, 46, 2003, 9-10, s. 365-372.
83. Meyer, H., Goettlicher, S., Mendling, W.: Stress as a cause of chronic recurrent vulvovaginal candidosis and the effectiveness of the conventional antimycotic therapy. *Mycoses*, 49, 2006, s. 202-209.
84. Morton, R.S., Rashid, S.: *Candida* vaginitis: Natural history, predisposing factors and prevention. *Proc. R. Soc. Med.*, 70 (suppl. 4), 1977, s. 3.
85. Moser, S.A., Domer, J.E., Mather, F.J.: Experimental murine candidiasis: cell-mediated immunity after cutaneous challenge. *Infect. Immun.*, 27, 1980, s. 140-149.
86. Nohmi, T., Abe, S., Dobashi, K., et al.: Suppression of anti-*Candida* activity of murine neutrophils by progesterone in vitro: a possible mechanism in pregnant women's vulnerability to vaginal candidiasis. *Microbiol. Immunol.*, 39, 1995, 405-409.
87. Nyirjesy, P, et al.: Chronic fungal vaginitis: the value of culture. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 173, 1995, s. 820-823.
88. O'Conner, M.I., Sobel J.D.: Epidemiology of recurrent vulvovaginal candidiasis: Identification and strain differentiation of *Candida albicans*. *J. Infect. Dis.*, 154, 1986, s. 358-363.

89. Odds, F.C.: Candida and candidosis. Clin. Exp. Dermatol., 17, 1979, s. 251.
90. Odds, F.C.: Genital candidosis. Clin. Exp. Dermatol., 7, 1982, s. 345.
91. Odds, F.C.: Candidosis of the genitalia. In: Odds, F.C., ed.: Candida and Candidosis, 2nd ed., London, Ballierer Tindall, 1988.
92. Odds, F.C., Abbott, A.B.: A simple system for the presumptive identification of *Candida albicans* and differentiation of strains with the species. Sabouraudia, 18, 1980, s. 301.
93. Oriel, J.D., Partridge, B.M., Denny, M.J., et al.: Genital yeast infections. Br. Med. J., 4, 1988, s. 761-764.
94. Oriel, J.D., Waterworth, P.M.: Effects of minocycline and tetracycline on the vaginal yeast flora. J. Clin. Pathol., 28, 1975, s. 403-406.
95. Parr, M.B., Parr, E.I.: Mucosal immunity in the female and male reproductive tracts. In: Ogra P.L., Mestecky, J., Lamm, M.E., Strober W., McGhee, J.R., Bienenstock J. (eds). Handbook of mucosal immunity. 1st ed. San Diego: Academic Press, 1994, s. 677-689.
96. Patel, D., A., Gillespie, B., Sobel, J., D. et al.: Risk factors for recurrent vulvovaginal candidiasis in women receiving maintenance antifungal therapy: Results of a prospective cohort study. AJOG, 190, 2004, s. 644-653.
97. Perek, E.: Z zagadnień zarażenia grzybami dziewcząt i młodocianych. IV. Ogólnopolskie sympazjum ginekologii i zieleceje. Pamietnik. Łódź/Warszawa, WDL, 1980, s. 199-204.
98. Peter, R.: Klasifikace výtoku z dětských rodidel. Č. Gynek., 15, 1950, s. 247-250.

99. Pirotta, M.V., Garland, S.M.: Genital candida species detected in samples from women in Melbourne, Australia, before and after treatment with antibiotics. *J. Clin. Microbiol.*, 44, 2006, s. 3123-3217.
100. Pirotta, M.V., Gunn, J.M., Chondros, P.: „Not thrush again!“ Women’s experience of post-antibiotic vulvovaginitis. *Med. J. Aust.*, 179, 2003, s. 43-46.
101. Powell, B.L.: Identification of a 17- β -estradiol-binding protein in *Candida albicans* and *Candia (Torulopsis) glabrata*. *Exp. Mycology.*, 8, 1984, s. 304.
102. Powell, B.L., Frey, C.L., Drutz, D.J.: Estrogen receptor in *Candida albicans*. A possible explanation for hormonal influences in vaginal candidiasis (Abstract 751). Twenty-third Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy, Las Vegas. 1983, s. 222.
103. Pultz, N.J., Stiefel, U., Channoum, M., et al.: Effect of parenteral antibiotic administration on establishment of intestinal colonization by *Candida glabrata* in adult mice. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 49, 2005, as. 438-440.
104. Reed, B.D.: Risk factors for candida vulvovaginitis. *Obstet. Gynecol. Surv.*, 48, 1992, s. 551-560.
105. Reed, B.D., Zazove, P., Pierson, C.L., et al.: Candida transmission and sexual behaviors as risks for a repeat episode of Candida vulvovaginitis. *J. Womens Health (Larchmt)*, 12, 2003, s. 979-989.
106. Regulez, P., Garcia Fernandez, J.F., Moragues, M., et al.: Detection of anti-*Candida albicans* IgE antibodies in vaginal washes from patients with acute vulvovaginal candidiasis. *Gynecol. Obstet. Invest.*, 37, 1994, s. 110-114.

107. Ribeiro, M.A., Dietze, R., Paula, C.R., et al.: Susceptibility profile of vaginal yeast isolates from Brazil. *Mycopathologia*, 151 (1), 2001, s. 5-10.
108. Rodrigues, A.G., Mardh, P.A., Pina-Vaz, C., et al.: Is the lack of concurrence of bacterial vaginosis and vaginal candidosis explained by the presence of bacterial amines? *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 181, 1999, s. 367-370.
109. Romani, L., Mocci, S., Bietta, C., et al.: Th1 and Th2 cytokine secretion patterns in murine candidiasis: association of Th1 responses with acquired resistance. *Infect. Immun.*, 59, 1991, s. 4647-4654.
110. Ryley, J.F., McGregor, S.: Quantitation of vaginal *Candida albicans* infections in rodents. *J. Med. Vet. Mycol.*, 24, 1986, s. 455-460.
111. Sandstrom, B., Cederblad, A., Lindblad, B.S., et al.: Acrodermatitis enteropathica, zinc metabolism, copper status, and immune function. *Arch. Pediatr. Adolesc. Med.*, 148, 1994, s. 980-985.
112. Savage, D.C.: Microbial interference between indigenous yeast and lactobacilli in the rodent stomach. *J. Bacteriol.*, 98, 1969, s. 1278.
113. Segal, E.: *Candida*, still number one – What do we know and where are we going from there? *Mycoses*, 48, 2005, 1, s. 3-11.
114. Skowronski, R., Feldman, D.: Characterization of an estrogen-binding protein in the yeast *Candida albicans*. *Endocrinology*, 124, 1989, s.1965-1972.
115. Sobel, J.D.: Vulvovaginal candidosis. *The Lancet*, 369, 2007, 9577, s.1961-1971.

116. Sobel, J.D.: Epidemiology and pathogenesis of recurrent vulvovaginal candidiasis. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 152, 1985, s. 924-935.
117. Sobel, J.D.: Pathogenesis and epidemiology of vulvovaginal candidiasis. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 544, 1988, s. 547-557.
118. Sobel, J.D.: Vaginal infections in adult women. Sexually transmitted diseases. In: *Medical Clinics of North America*, 74, 1990, s. 1573-1602.
119. Sobel, J.D., Faro, S., Force, R.W., et al.: Vulvovaginal candidiasis: Epidemiologic, diagnostic, and therapeutic considerations. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 17, 1998, s. 203-211.
120. Sobel, J.D., Muller, G., McCormick, J.F.: Experimental chronic vaginal candidosis in rats. *Sabouraudia*, 23, 1985, s. 199-206.
121. Sobel, J.D., Vazquez, J., Lynch, M., et al.: Vaginitis due to *Saccharomyces cerevisiae*-epidemiology, clinical aspects and therapy. *Clin. Infect. Dis.*, 16, 1993, s. 93-99.
122. Soll, D.R., et al.: Genetic dissimilarity of commensal strains of *Candida spp.* carried in different anatomical locations of the same healthy women. *J. Clin. Microbiol.*, 29, 1991, 1702-1710.
123. Spinillo, A., Bernuzzi, A., Cevini, C., et al.: The relationship of bacterial vaginosis, *Candida* and *Trichomonas* infection to symptomatic vaginitis in postmenopausal women attending a vaginitis clinic. *Maturitas*, 27, 1997, s. 253-260.
124. Spinillo, A., Capuzzo, E., Acciano, S, et al.: Effect of antibiotic use on the prevalence of symptomatic vulvovaginal candidiasis. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 180, 1990, s. 14-17.

125. Spinillo, A., Capuzzo, E., Nicola, S., et al.: The impact of oral contraception on vulvovaginal candidiasis. *Contraception*, 51, 1995, s. 293-297.
126. Steele, C., Ratterree, M., Fidel Jr., P.L.: Differential susceptibility to experimental vaginal candidiasis in macaques. *J. Infect. Dis.*, 180, 1999, s. 802-810.
127. Steinbakk, M., Naess-Andresen, C.F., Lingass, E., et al.: Antimicrobial actions of calcium binding leucocyte L1 protein, calprotectin. *Lancet*, 336, 1990, s, 736-765.
128. Stewart, E.G., Spencer, P.: *The V Book: A Doctor's Guide to Complete Vulvovaginal Health*. 2002. In Bantam Books, New York, s. 191-219.
129. Špaček, J.: Vybrané klinické a laboratorní parametry u pacientek s rekurentní vulvovaginální kandidózou. Disertační práce 2000, Hradec Králové (LF UK).
130. Špaček, J., et al.: Recidivující vaginální kandidóza u nejmaldší věkové skupiny. XXIII. Pracovní schůze sekce gynekologů dětí a dospívajících.. 1997, Sborník, s.25.
131. Špaček, J., Buchta V., Jílek, P., Förstl, M.: Clinical aspects and luteal phase assessment in patients with recurrent vulvovaginal candidiasis. *European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology*, 131, 2007, s. 198-202.
132. Špaček, J., Buchta, V., Kestřánek, J.: Vulvovaginální kandidóza – problém stále aktuálnější. *Gynekolog*, 15, 2006, 4, s. 149-152.

133. Špaček, J., Jílek, P., Buchta, V., et al.: The serum levels of calcium, magnesium, iron and zinc in patients with recurrent vulvovaginal candidosis during attack, remission and in healthy controls. *Mycoses*, 48, s. 391-395.
134. Tarry, W., Fischer, M., Shen, S., et al.: *Candida albicans*: the estrogen target for vaginal colonization. *J. Surg. Res.*, 129, 2005, s. 278-282.
135. Thin, R.N., Leighton, M., Dixon, M.J.: How often is genital yeast infection sexually transmitted? *Br. Med. J.*, 2, 1977, s. 93-94.
136. Tömölová, Z., Zmrhal, J.: Mykotické vulvovaginitidy v našich ambulancích. *Prakt. Gyn.*, 9, 2005, 2, s. 35-39.
137. Unzeitig, V., et. al.: Bakteriologie pochvy asymptomatických žen. *Čs. Gyn.*, 53, 1988, s. 91-97.
138. Vanbreuseghem, R.: Post-mortem mycological investigation of 100 cancerous patients. *Mykosen*, 13, 1970, 337-350.
139. Vosmík, F., Skořepová, M.: *Dermatomykózy*, Galén. 1995.
140. Vráblik, J., Mašata, J., Jedličková, A., Hájíčková, M.: Prospektivní sledování zastoupení a citlivosti jednotlivých druhů kvasinek u žen s vulvovaginální kandidózou. *Čes. Gynek.*, 72, 2007, 1, s. 27-32.
141. Wagner, D.K., Sohnle, P.G.: Cutaneous defense against dermatophytes and yeasts. *CMR*, 8, 1995, 3, s. 317-335.
142. Waldman A., Gilhar, A., Duck, L., et al.: Incidence of *Candida* in psoriasis. A study of the fungal flora of psoriatic patients. *Mycoses*, 44, 2001, s. 77-81.

143. Weissenbacher, T., Witkin, S., S., Ledger, W., J., et al: Relationship between clinical diagnosis of recurrent vulvovaginal candidiasis and detection of *Candida* species by culture and polymerase chain reaction. Arch Gynecol Obstet, www.springerlink.com, May 28, 2008, přečteno 18.6.2008.
144. Zaias, N.B., Glick, B., Rebell, G.: Diagnosing and treating onychomycosis. J. Fam. Pract., 42, 1996, s. 513-518.
145. Zouali, M., Drouhet, E., Eyquem, A.: Evaluation of auto-antibodies in chronic mucocutaneous candidiasis without endocrinopathy. Mycopathologia, 84, 1984, 2-3, s. 87-93.

12. Poděkování

Pokládám za svou milou povinnost poděkovat všem, kteří přispěli k uskutečnění a dokončení této práce.

Především bych chtěla poděkovat svému školiteli doc. MUDr. Jindřichu Tošnerovi, CSc., přednostovi Katedry gynekologie a porodnictví Lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Hradci Králové, za vstřícnost, odborné vedení, věcné připomínky a možnost uskutečnění a dokončení této práce.

Dále patří můj dík doc. MUDr. Karlu Ettlerovi, CSc., přednostovi Katedry Dermato-venerologie Lékařské fakulty UK v Hradci Králové za to, že mi umožnil pracovat v mykologické laboratoři Dermatovenerologické kliniky a prezentovat výsledky své práce na světovém kongresu dermatologů ve Washingtonu (2006) a v Buenos Aires (2007) a za cenné rady v průběhu vzniku této práce.

Velmi také děkuji doc. RNDr. Vladimíru Buchtovi, CSc, přednostovi Ústavu klinické mikrobiologie, za cenné rady a pomoc při uskutečnění *in vitro* pozorování.

Také děkuji as. Mgr. Marcele Vejsově za spolupráci při detekci růstových křivek některých druhů kandid.

Touto cestou chci poděkovat ambulantním sestřám dermatologicko-venerologické kliniky a laborantkám mykologické laboratoře za pomoc, trpělivost a vstřícnost při odběru potřebného materiálu.

Můj velký dík patří Ing. Josefu Bukačovi, MS Ph.D. za statistické zpracování výsledků.

V neposlední řadě děkuji všem v blízkém okolí za trpělivost a pochopení při realizaci této práce.