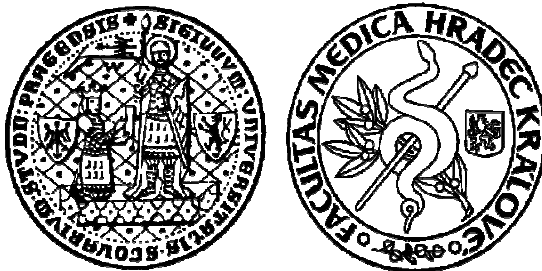


Univerzita Karlova v Praze
Lékařská fakulta v Hradci Králové



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

Marie Košťálová

Autoreferát disertační práce
Doktorský studijní program Gynekologie a porodnictví

Hradec Králové
2008

Univerzita Karlova v Praze
Lékařská fakulta v Hradci Králové



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

Marie Košťálová

Autoreferát disertační práce
Doktorský studijní program Gynekologie a porodnictví

Hradec Králové
2008

Disertační práce byla vypracována v rámci kombinovaného studia doktorského studijního programu Gynekologie a porodnictví na Katedře gynekologie a porodnictví a na Katedře nemocí kožních a pohlavních Lékařské fakulty UK v Hradci Králové.

Student:

MUDr. Marie Košťálová
Klinika nemocí kožních a pohlavních
Univerzita Karlova v Praze, Lékařská fakulta v Hradci Králové

Školitel:

Doc. MUDr. Jindřich Tošner, CSc.
Přednosta Gynekologické a porodnické kliniky
Univerzita Karlova v Praze, Lékařská fakulta v Hradci Králové

Školitel specialista:

MUDr. Miloslav Salavec, CSc.
Klinika nemocí kožních a pohlavních
Univerzita Karlova v Praze, Lékařská fakulta v Hradci Králové

Oponenti:

Prof. MUDr. Milan Kudela, CSc.
Přednosta Porodnicko-gynekologické kliniky
Lékařská fakulta Univerzity Palackého Olomouc

MUDr. Karel Mencl, CSc.
Laboratoř lékařské mykologie, Oddělení klinické mikrobiologie
Pardubická krajská nemocnice, a.s.

S disertační prací je možno se seznámit na děkanátu Lékařské fakulty v Hradci Králové, Univerzity Karlovy v Praze, Šimkova 870, 500 38 Hradec Králové (tel. 495 816 131)

Jindřich Tošner, Doc. MUDr. CSc.
Předseda komise pro obhajoby disertačních prací v doktorském studijním programu Gynekologie a porodnictví

Seznam použitých zkratk

BMI	- body mass index
CBP	- kortikoidy vázající protein
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
IgA	- sérový imunoglobulin A
IgG	- sérový imunoglobulin G
MKK	- mukokutánní kandidóza
n.s.	- statisticky nevýznamné
oGTT	- orální glukózotoleranční test
PG	- progesteron
RVVK	- rekurentní vulvovaginální kandidóza
SGA	- Sabouraudův glukózový agar
SGB	- Sabouraudův glukózový bujón
SHBG	- pohlavní steroidy vázající globulin
T	- celkový testosteron
VVK	- vulvovaginální kandidóza

1. Obsah

2. Souhrn	5
3. Summary	5
4. Úvod do problematiky	6
4.1. Současný pohled na mukokutánní kandidózu	7
4.2. Kožní projevy	7
4.3. Slizniční projevy	8
4.4. Predisponující faktory	9
4.5. Hormonální faktory	10
5. Cíle disertační práce	12
6. Soubor pacientů a použítá metodika	13
6.1. Mikrobiologické vyšetření	14
6.2. Hormonální vyšetření	14
6.3. Sledování vlivu hormonů na růstovou křivku kvasinek ... <i>in vitro</i>	15
6.4. Statistické metody	15
7. Výsledky	16
7.1. Anamnestické údaje	16
7.2. Hormonální vyšetření	18
7.3. Mykologická pozorování dle hladin estrogenů	20
7.4. Vztah kvasinek k hladině progesteronu	21
7.5. Vztah kvasinek k hladině testosteronu	22
7.6. Koincidence kožní a poševní kandidózy	23
7.7. Vztah vaginální kandidózy k lokalizaci kožní kandidózy ...	23
7.8. Sledování růstových křivek <i>C. albicans</i> a <i>C. parapsilosis</i> .. v různém hormonálním prostředí <i>in vitro</i> na přístroji Bioscreen	24
8. Diskuse	24
9. Závěry	28
10. Použitá literatura	29
11. Přehled publikační činnosti autora	34

2. Souhrn

Cílem práce bylo zkoumání vztahu mezi mukokutánní kandidózou (MKK) a ženskými pohlavními hormony. 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 koincidence či jinou souvislost v oblasti vulvovaginální.

Za tímto účelem bylo vyšetřeno celkem 81 žen, rozdělených dle hormonálního vyšetření do dvou skupin (ženy období fertlního a perimenopauzálního a ženy v postmenopauze). K bližšímu porovnání anamnestických údajů byl vypracován "kandidový" dotazník. Vztah MKK k ženským pohlavním hormonům byl sledován *in vivo* i *in vitro*.

Zjistili jsme především, že v době přítomnosti kožní kvasinky byla v obou skupinách v pochvě nejčastěji *C. albicans*, v postmenopauze byl její výskyt významně nižší (významně nižší hladiny E2 a PG).

Také kultivační shoda mezi kůží a vulvovaginální oblastí byla častější v období fertlním a perimenopauzálním než v postmenopauze. Týkala se opět nejvíce *C. albicans* a výraznější byla u žen s prokázanou ovulací (významně vyšší hladiny PG).

Byla-li v pochvě přítomna *C. albicans*, pak se kožní kandidóza způsobená stejnou kvasinkou objevila nejčastěji na horních končetinách. Pravá horní končetina byla postižena zejména v postmenopauze častěji.

Vztah k hladinám T, FT a SHBG jsme *in vivo* neprokázali. Významně častější projevy hyperandrogenismu (akne, seborrhoe, defluvium, hirsutismus) však byly pozorovány v období fertlním a perimenopauzálním.

Při testování růstových křivek *C. albicans* a *C. parapsilosis* v různých hormonálních médiích *in vitro*, jeví poševní kmeny větší citlivost k pohlavním hormonům a vykazují strmější růst než jejich kožní souputníci. Jejich růstový potenciál by kromě E2 mohly ovlivňovat i PG a T. *C. albicans* se zdá k hormonální stimulaci citlivější než *C. parapsilosis*. Vzhledem k malému testovanému souboru *in vitro* nelze učinit relevantní statistické závěry.

3. Summary

The aim of this work was to study relationship between mucocutaneous candidiasis (MCC) and women's sexual hormones. This problem is usually solved by dermatologists, gynaecologists and mycologists separately. Our approach is original, because it is primarily based on skin and/or cutaneous appendages affection and searches for possible coincidence or other relation in vulvovaginal region.

We examined 81 women in our study and divided them into two groups according to hormone-level investigation (women in fertile and perimenopausal period, women in postmenopausal period). We also developed "Candida" questionnaire for further anamnestic data correlation. The relationship between MCC and women's sexual hormones was studied both, *in vivo* and *in vitro*.

We found *C. albicans* in vagina in both studied groups most frequently at the time of cutaneous candidiasis. In postmenopausal period the incidence of vaginal *C. albicans* was significantly lower (significantly lower levels of E2, PG). The cultivation identity between skin and vulvovaginal region was more frequent in fertile and perimenopausal period than in postmenopausal one, too. Predominantly concerned *C. albicans* again, the conformity was considerable in women with established ovulation (significantly higher levels of PG).

In presence of *C. albicans* in vagina, cutaneous candidiasis caused by the same pathogene occurred most frequently on upper extremities. The right upper extremity was affected with higher frequency, mainly in postmenopausal women.

We did not reveal the relation to the levels of T, fT and SHBG *in vivo*. Hyperandrogenic symptoms (acne, seborrhoea, hair-loss, hirsutism) were seen frequently in fertile and perimenopausal women.

According to the growth curve testing of *C. albicans* and *C. parapsilosis* in different hormonal media *in vitro*, the vaginal strains show more sensitivity to sexual hormones and present themselves by steep shape of the curve unlike cutaneous ones. Their growth ability could be influenced not only by E2, but also by PG and T. *C. albicans* seems to be more sensitive to hormone stimulation than *C. parapsilosis*. We can not establish relevant statistical evaluation based on these limited small data tested *in vitro*.

4. Úvod do problematiky

Stoupající výskyt onemocnění vyvolaných širokým spektrem hub je jedna z možných charakteristik současnosti (68). 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.).

Široká škála kožních projevů kandidózy 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 (75). 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 (58). Přitom *C. albicans* je hlavní patogen, i když v poslední dekádě došlo k určitému posunu směrem k non-albicans kandidám (58).

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 opakovaně preskribované antimykotiky, je zřejmé, že problematika MKK je velmi naléhavá a aktuální.

V r. 1943 poukázal Sutphin na možný vztah mezi MKK a endokrinní dysfunkcí (71). 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).

4.1. 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 (58). Nicméně MKK patří k nejběžnějším infekcím postihujícím velké množství lidí (58).

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.

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 (22). 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.

4.2. Kožní projevy

Epidermální povrch je za normálních okolností chráněn proti mikrobiální invazi mnoha nesespecifickými 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) (74). 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.

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 (74). Ze zdravé kůže se však dá získat velmi zřídka, není součástí normální kožní flóry (74). Snad jen v okolí tělních otvorů a na prstech se může *C. albicans* a některé jiné druhy (*C. parapsilosis*, *C. guilliermondii* a další) vyskytnout (74). Existují však i jiné názory, které považují *C. albicans* za normální součást kožní flóry (22, 58).

Nejčastěji bývají postiženy malé a velké kožní záhyby (interdigitální prostory, třísla, axila, inter a submamární oblast, pupek, intergluteální rýha), kde okluzie, 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 (74).

Interdigitální kandidóza bývá někdy provázena paronychii nebo postižením nehtů na stejné ruce. Zánět nehtových valů (kandidové paronychium) nebo nehtového lůžka (kandidová onychomykóza), způsobené *C. albicans*, je častější u žen (14, 74) a často postihuje prostřední prst, který přichází do kontaktu s kandidou osídlující konečník nebo vaginu (78).

Častý je také výskyt kandidové infekce u pacientů s psoriásou a atopickou dermatitidou (37). Někteří dokonce považují infekci, zejména kandidovou, za spouštěcí mechanismus psoriázy (37).

4.3. Slizniční projevy

Je prokázáno, že velmi důležitým rezervoárem kvasinek je gastrointestinální trakt, přičemž se zdá, že kyselina chlorovodíková nemá na kandidy žádný nepříznivý efekt (68). 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 (7). 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%) (49).

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 (11). Většina autorů uvádí odhad výskytu mezi 15% až 20% (19, 48, 73) nebo 20-25 % (61).

C. albicans se obvykle 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 (55, 61).

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 (22). Normální poševní flóra tak tvoří přirozený lokální obranný systém. Navíc protilátky charakteru imunoglobulinů (IgA a IgG) působí protikandidově celkově i místně (22). Důležitou roli hraje i lokální T-lymfocyty zprostředkovaná imunita (22).

Vulvovaginální kandidóza patří mezi nejběžnější genitální infekce, které postihují přibližně 75% žen během jejich života (26). Odhaduje se, že z tohoto množství asi 20% až 40% žen onemocní nejméně dvakrát za život (26). Přibližně dvě třetiny ženské populace prodělají během svého života ataku VVK a to nejčastěji během reprodukčního období.

V etiologii vulvovaginálních mykóz je dnes patrný trend rozšiřování spektra houbových agens, která vyvolávají onemocnění (3). 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* (25, 46, 51). Jako původci kolpitiid byly popsány i jiné druhy kvasinek, z nichž bývá nejčastěji izolována pивní kvasinka *Saccharomyces cerevisiae* (36, 63). Zřídka se vyskytují *C. krusei*, *C. parapsilosis*, *C. kefyr* (dříve *C. pseudotropicalis*), *C. guilliermondii*.

4.4. Predisponující faktory

Predisponující faktory jsou genetické, imunologické, těhotenství, hormonální antikoncepce, hormonální substituce v přechodu, diabetes mellitus, dietní návyky, deficit minerálů, užívání antibiotik, kortikoidů, imunosupresiv, cytostatik, oblečení a osobní návyky.

VVK není všeobecně považována za sexuálně přenosné onemocnění, ale názory na úlohu sexuálního přenosu při vaginální inokulaci a kolonizaci jsou často kontroverzní (60, 72). 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 (54). 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 (54).

Techniky umožňující provedení druhové specifikace naznačují, že postižení partneri jsou nositeli stejných kmenů (47).

Úloha hypothyroidismu, 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 (44).

4.5. Hormonální faktory

Vliv hladin pohlavních hormonů na kandidózu zůstává nejasný (16, 32). Zdá se však, že vliv obzvláště estrogenů, na vznik a výskyt atak VVK je zřejmý. Svědčí o tom vyšší výskyt kandidové kolpitidy u těhotných, dále u žen, které berou hormonální antikoncepci s vyšším obsahem estrogenů nebo preparáty hormonální substituční léčby včetně fytoestrogenů (6). O tom svědčí i experimentálně vyvolaná kandidóza na zvířecím modelu. Je totiž známo, že estrus je nezbytnou podmínkou k navození vaginální infekce kandidou (57, 62, 69). V nepřítomnosti estrogenů trvá infekce jen krátce a jen v malém rozsahu (17).

Některé kvasinky mají cytoplasmatické receptory pro steroidní hormony (15, 38, 41). Bylo zjištěno, že *C. albicans* má receptor pro kortikoidy (corticosteroid binding protein – CBP), mající afinitu ke kortikosteronu a progesteronu (38, 41), a pro estrogeny (estrogen binding protein – EBP), mající afinitu k estradiolu a estronu (39, 59).

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 (27). 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 estrogeny a progesteron byl u kandid pozorován také přímý stimulační efekt těchto hormonů na jejich virulenci (53). 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 epitelium (60). 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 (62).

Podobně některé studie *in vitro* odhalují, že je adherence kvasinky *C. albicans* významně vyšší u estrogenizovaných exfoliovaných vaginálních epitelů oproti epitelium od krys po ooforektomii (60). 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 sniženy (31). Navíc se ukázalo, že estrogeny snižují reaktivitu kožních testů, oslabují aktivitu NK (natural killer) buněk a potlačují činnost

neutrofilů (5). 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* (16). Kandida specifická odpověď lymfocytů z periferní krve při pokusech *in vitro* byla snížena v luteální fázi cyklu, zároveň se zvýšenou germinací *C. albicans* (16).

VVK se nejčastěji objevuje v luteální fázi menstruačního cyklu, kdy jsou vysoké hladiny estrogenů a progesteronu (tzv. cyklická kandidóza (2)) (6, 29, 67), na rozdíl od bakteriální vaginózy, která bývá spojována s folikulární fází cyklu (2). 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 (28, 29). Tomuto tlumivému efektu zabráňuje 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 estrogény léčených myší byla po podání progesteronu potlačena (45).

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 (70). Hladiny progesteronu zjišťovali mezi 21. až 23. dnem menstruačního cyklu, kdy tyto hladiny vrcholí (68, 70). 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.

Také některé androgeny (např. dehydro-epiandrosteron) mají schopnost ovlivnit buněčnou imunitu (změna odpovědi Th-2) (9), což má za následek vyšší vnímavost k vybraným typům infekce, včetně kandidózy (56). Naproti tomu glukokortikoidy mají opačný efekt (8).

Zdá se, že kolonizace pochvy houbami je relativně vzácná u prepubertálních dívek, ačkoliv kultivační nálezy v jejich stolici jsou stejné jako u dospělých (24). Vznik i druh vaginitidy obecně závisí na vývojovém období dívky, neboť existence některých patogenů je vázaná na estrogenizovaný terén (52). Mykotický původ vulvovaginitidy přichází tedy spíše v úvahu v novorozeneckém období (20) a v pubertě, kdy je jeho výskyt běžný (23). 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 (69).

Kvasinky jsou normálně prokazovány u 5 až 10% zdravých postmenopauzálních žen, toto číslo se přibližuje k období prepuberty (64). Pokud ženy užívají hormonální substituci v postmenopauze, výskyt VVK stoupá až na 26% (64). Postmenopauzální ženy trpí spíše vulvární kandidózou, zatímco premenopauzální mají postiženu obvykle celou vulvovaginální oblast (43).

5. Cíle disertační práce

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 případech kultivačně prokázané kožní kandidózy je často přítomná i VVK u žen fertillního a perimenopauzálního období a u žen postmenopauzálního období.

Hypotéza 2.

V případech koincidence kožní a vulvovaginální kandidózy je vykulivován shodný původce onemocnění.

Hypotéza 3.

Jsme schopni nalézt predilekční místo pro kožní kandidózu při kulivační 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 různých hormonálně saturovaných médiích (estrogeny, gestageny, androgeny).

6. Soubor pacientů a použítá metodika

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. 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. Kandidový dotazník čítá 38 otázek se zaměřením ke sledované problematice. 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.

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

6.1. 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 oškrábáním spodní strany nehtové ploténky.

Dále jsme prováděli mikroskopické vyšetření v louhovém preparátu. Na podložní sklíčko jsme kápili 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.

6.2. 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 fertilitní 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 fertilního 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 kultivací.

Ostatní referenční meze jsou pro T (0,14-0,91 $\mu\text{g/l}$), 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).

6.3. 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.

6.4. Statistické metody

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 krabíčkových grafů (vyznačený medián s pravděpodobností 0,95).

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

7. Výsledky

7.1. Anamnestické údaje (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 fertlního 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.

Tab. č. 1 Charakteristika souborů dle věku a BMI

Ukazatel	Fertlní a perimenopauzální období (n=42)	Postmenopauzální období (n= 39)	p hodnota
Věk (let)	35,81 (12-51)	60,23 (50-69)	
BMI (kg/m ²)	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 (víc 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 konečnicku	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.	20	18	0,789
stř. š.	18	19	
vys. š.	4	2	
podobné kožní potíže v rodině	10 (23,8%)	9 (23,1%)	1,000

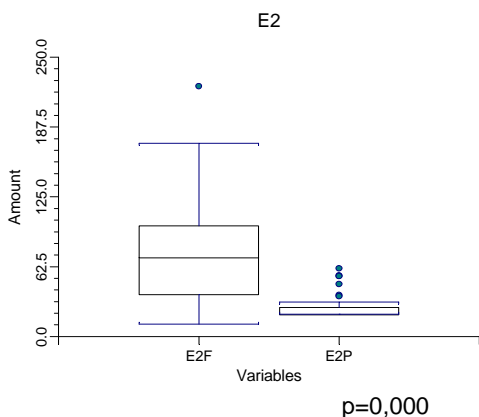
7.2. Hormonální vyšetření (tab. č. 3, graf č. 1, 2, 3)

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.

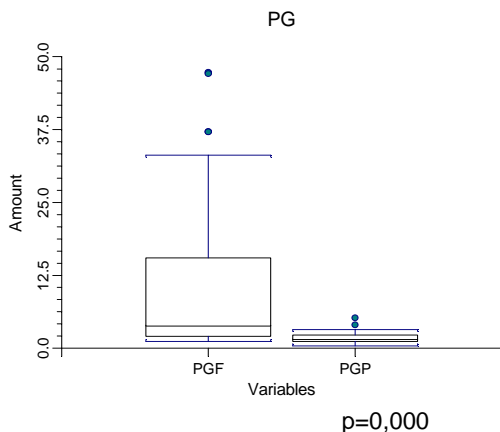
Tab.č. 3 Charakteristika souborů dle hormonálního profilu

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

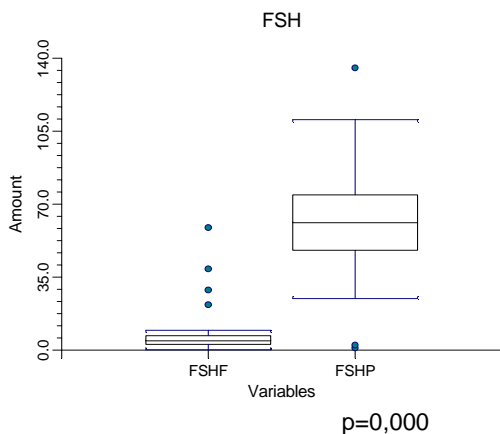
Graf č. 1 Rozložení hodnot E2 u žen ve fertlím + perimenopauzálním věku a v postmenopauze, porovnání pomocí krabičkového grafu



Graf č. 2 Rozložení hodnot PG u žen ve fertilním + perimenopauzálním věku a v postmenopauze, porovnání pomocí krabičkového grafu



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



7.3. Mykologická pozorování dle hladin estrogenů (tab. č. 4) (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. norvegiensis*, *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.

Tab. č. 4 Mykologická charakteristika souborů

Období	Fertilní a perimenopauzální n = 42 E2 ø 74,98 pg/ml		Postmenopauzální n = 39 E2 ø 25,91 pg/ml	
	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. norvegiensis</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 fertálních 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*, $p = 0,373$.

7.4. Vztah kvasinek k hladině progesteronu (tab. č. 5, 6)

Soubor žen ze skupiny fertální a perimenopauzální jsme na základě hladiny PG ≥ 5 nmol/l, kterou jsme považovali za průkaz ovulace, dále rozdělili na ženy s ovulačním cyklem ($n = 18$, $\bar{\text{Ø}} \text{ PG} = 22,91$ nmol/l) a ženy bez ovulačního

cyklu ($n = 24$, $\bar{X} PG = 2,33$ nmol/l, $p = 0,000$). V případě žen s kožní kandidózou a s hladinami $PG \geq 5$ 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 fertillního a perimenopauzálního období s $PG \geq 5$ nmol/l vyšší ($p = 0,029$) než u žen s hladinou $PG < 5$ nmol/l.

Na kůži jsme tuto závislost neprokázali.

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

≥ 5 nmol/l (n = 18)	$\bar{X} PG$ 22,91 (nmol/l)
< 5 nmol/l (n = 24)	$\bar{X} PG$ 2,33 (nmol/l)

Tab. č. 6 Mykologická charakteristika poševních kultivací souboru fertillních a perimenopauzálních žen dle hladiny progesteronu v séru mezi 21.-23. dnem cyklu

Progesteron (nmol/l)	≥ 5 (n = 18), $\bar{X} PG = 22,91$	< 5 (n = 24), $\bar{X} PG = 2,33$
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 $PG \geq 5$ nmol/l (tedy s předpokládanou ovulací), byl výskyt kvasinek v pochvě častější, $p = 0,029$.

7.5. Vztah kvasinek k hladině testosteronu (tab. č. 3, 7)

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 fertillním 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.

Tab. č. 7 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 fertilního a perimenopauzálního období (2,33x), $p = 0,002$. Z těchto projevů dominovalo především akne a seborhoe.

7.6. Koincidence kožní a poševní kandidózy

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 $PG \geq 5$ nmol/l ($p = 0,159$).

7.7. Vztah vaginální kandidózy k lokalizaci kožní kandidózy

Závěr:

Za přítomnosti vaginální kandidózy (*C. albicans*) se objevila nejčastěji kožní kandidóza (*C. albicans*) na horních končetinách (onychomycosis, paronychium, mezíprstí, 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.

7.8. Sledování růstových křivek *C. albicans* a *C. parapsilosis* v různém hormonálním prostředí *in vitro* na přístroji Bioscreen

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 porovnávacích 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.

8. 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 má 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.

Snahou bylo pozorovat výše uvedené kontroverze komplexně na podkladě prvotně kultivačně prokázaného kvasinkového onemocnění kůže. Kultivační vyšetření je standardně používané, i když vyšetření polymerázovou 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% (77).

Ve své experimentální studii na zvířatech (myši, křečci, psi) Fidel P.L. Jr. et al. prokazují, že estrogeny 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 (33, 34, 35).

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) (16).

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 (40).

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 (16).

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 fertillního 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. Protože však soubor byl malý, nepovažujeme tuto domněnku za validní.

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 (10). 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.

Barousse M.M. et al. se zabývali VVK u adolescentek, jejichž pochvy začínají být ovlivněny pohlavními hormony (1). 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 fertlilním a perimenopauzálním ($p = 0,019$). Na kůži a jejich 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. (40). Tentyž 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. Pokud se týká prevalence kožní kandidózy u pacientů s psoriázou a atopickou dermatitidou, jsou údaje kontroverzní. Flystrom nenalezl *Candidu* v intertriginózních oblastech psoriatických pacientů (37). Ganor naopak zjistil, že 9,3% psoriatiků má na postižené kůži *Candidu* (21). Waldman et al. shledali, že psoriatici mají častěji *Candidu* ve slinách a dutině ústní než zdravé kontroly (76). Buslau et al. zjistili *C. albicans* ve stolici u 70% pacientů s atopickou dermatitis (4).

C. albicans je součástí normální ústní flóry u 25-50% zdravých jedinců (37). To byl také důvod, proč jsme upustili od původně zamýšlených mykologických kultivací z úst a konečnicku.

Zajímavé bylo i zjištění, že kandidovou kožní infekcí byla nejčastěji postižena ruka (nehty a jejich okolí, dlaně, meziprstí, hřbet ruky). Podobně zjištění učinili i El Euch D. et al., kteří na rukách prokázali nejčastěji *C. albicans* (13). 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 vagíny (42). My jsme shledali, že u *C. albicans* převládá její lokalizace na ruku, zejména u žen fertlilního a perimenopauzálního věku, a to 2,03x, statistickou významnost jsme však neprokázali. Na rozdíl od Zaiase et al. jsme ne zjistili, že by byl nejčastěji postižen prostředník dominantní ruky (78).

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 (2).

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} (12). Navíc ženy užívající COC trpí častěji RVVK než ženy neužívající (65). Ehrstrom et al. neprokázali

vyšší hladiny glukózy ve vaginálním sekretu u uživatelék COC ať již s přítomností RVVK či u zdravých kontrol (12). 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 fertillního a perimenopauzálního období. Také údaj o psychickém stresu je vysoký. Samy probandky jej uvádějí v 83,3% ve fertillním a perimenopauzálním období a v 66,6% v postmenopauze (tab. č. 2). Výsledky však nejsou statisticky významné.

Efektrem reprodukčních hormonů na experimentální vaginální kandidózu se zabývala celá řada autorů (18, 57, 62, 66). V těchto zvířecích modelech je důležitým požadavkem pro perzistující infekci stav pseudoestrusu (16). Zdá se, že estrogenně podmíněná změna cylindrického epitelu ve vrstevnatý dlaždicobuněčný epitel přispívá k adherenci a růstu *C. albicans* (30). Kvasinkové receptory pro estrogény navíc umožňují hyfální transformaci kvasinky, která zvyšuje její invazivitu (16). Fidel et al. sledovali růstové křivky *C. albicans* pod vlivem estrogenů a progesteronu na experimentálním myším modelu (16). 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 týdně, zůstává velikost kolonie stabilní. Pokud se dávka neopakuje, zhruba do týdne infekce vymizí. Progesteron sám kandidovou infekci v myši pochvě neudržel.

Sami jsme zkoumali růstové křivky pro technické potřeby 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 jejich 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.

9. Závěry

Odpovědi na hypotézy (1-5) vyslovené v kapitole Cíle disertační práce. Zjistili jsme, že:

1. V době přítomnosti kožní kvasinky byla v obou skupinách v pochvě nejčastěji přítomná *C. albicans*. Ve fertilním 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. 4).

2. Ve fertilním a perimenopauzálním období byla kultivační shoda v případě *C. albicans* v 26,1% (11x) a v případě *C. parapsilosis* v 7,1% (3x). 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%). Statistická významnost však nebyla nalezena, $p=0,159$. V postmenopauze byla kultivační shoda jen u *C. albicans* v 12,8 % (5x).

3. 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 ($p=0,055$).

4. VVK způsobená *C. albicans* byla ve fertilním a perimenopauzálním období, tedy při vyšších hladinách E2 (E2 \bar{O} 74,98 pg/ml), 2,5 x častější než v postmenopauze (E2 \bar{O} 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 (tab. č. 6).

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. 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 souputníci. Též se zdá, že *C. albicans* je k hormonální stimulaci citlivější než *C. parapsilosis*.

10. Použitá literatura

1. 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.
2. Bradshaw, C.S., Morton, A.N., Garland, S.M., et al.: Higher-risk behavioral practices associated with bacterial vaginosis compared with vaginal candidiasis. *Obstet. Gynec.*, 106, 2005, 1, s. 105-114.
3. Buchta, V., Špaček, J., Jílek, P.: Mykotické infekce ženského genitálu I. *Epidemiologie a mikrobiologie. Gynekolog*, 6, 1997, s. 67-70.
4. Buslau, M., Menzel, I., Holtzman, H.: Fungal flora of human faeces in psoriasis and atopic dermatitis. *Mycoses*, 33, 1990, s. 90-94.
5. 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.
6. 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.
7. Cohen, R., et al.: Fungal flora of the normal human small and large intestine. *N. Engl. J. Med.*, 297, 1968, 340-344.
8. 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.
9. Daynes, R.A., Dudley, D.J., Araneo, B.A.: Regulation of murine lymphokine production in vivo. *Eur. J. Immunol.*, 20, 1990, s. 793-802.
10. 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.
11. Drake, T.E., Mailbach, H.I.: *Candida* and candidiasis: cultural conditions, epidemiology, and pathogenesis. *Postgrad. Med.*, 53, 1973, s. 83.

12. 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.
13. 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.
14. Elewski, B.E.: Onychomycosis: pathogenesis, diagnosis and management. *CMR*, 11, 1998, 3, s. 415-429.
15. Feldman, D., Krishnan, A.: Estrogens in unexpected places: possible implications for researchers and consumers. *Environ. Health Perspect.*, 103 (Suppl. 7), 1995, s. 129-133.
16. Fidel Jr., P.L., Cutright, J., Steele, Ch.: Effects of reproductive hormones on experimental vaginal candidiasis. *IAI*, 68, 2000, 2, s. 651-657.
17. Fidel Jr., P.L., Lynch, M.E., Sobel, J.D.: *Candida*-specific Th1-type responsiveness in mice with experimental vaginal candidiasis. *Infect. Immun.*, 61, 1993, s. 4202-4207.
18. 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.
19. Fleury, F.J.: Recurrent candida vulvovaginitis. *Chemotherapy*, 28 (suppl. 1), 1982, s. 48.
20. Fořt, J., Kawaciuková, L.: Léčba poševního výtoku jako prevence onemocnění matky a novorozence. *Čs. Gynek.*, 41, 1976, s. 173-175.
21. Ganor, S.: Disease sometimes associated with psoriasis. I. Candidosis. *Dermatologica*, 154, 1977, s. 268-272.
22. Granger, S.E.: The aetiology and pathogenesis of vaginal candidosis. Janssen Pharmaceutical Co., Wantage, UK, 1992 Medicom International.
23. Heinz, M.: Gynäkologie im Kindes- und Jugendalter. Leipzig, VEB G. Thieme Verlag 1985, s. 162.
24. Heinz, M., Hoyme, S.: Gynäkologie des Kindes- und Jugendalters. Überarbeitete Auflage. F Enke Verlag, Stuttgart, 1974.
25. Horowitz, B.J., Giaquinta, D., Ito, S.: Evolving pathogens in vulvovaginal candidiasis: implications for patient care. *J. Clin. Pharmacol.*, 32, 1992, s. 248-255.
26. Hurley, R.: Recurrent *Candida* infections. *Clin. Obstet. Gynecol.*, 8, 1981, s. 209-213.

27. Cheng, G., Yeater, K., Hoyer, L.L.: Cellular and molecular biology of *Candida albicans* estrogen response. *Eukaryotic Cell*, 5, 2006, 1, s. 180-191.
28. 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.
29. 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.
30. Kinsman, O.S., Collard, A.E.: Hormonal factors in vaginal candidiasis in rats. *Infect. Immun.*, 53, 1986, s. 498-504.
31. Klink, M., Rozalaska, B., Rudnicka, W.: Weakness of cellular response to *Listeria* antigens in pregnant mice. *Med. Dosw. Mikrobiol.*, 45, 1993, s. 51-54.
32. Košťálová, M., Ettler, K., Košťál, M.: Mukokutánní kandidóza a její vztah k ženským pohlavním hormonům. *Čes.-Slov. Derm.*, 82, 2007, 5, s. 268-271.
33. 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.
34. 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.
35. 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.
36. Kubec, K.: *Mykotické choroby kůže a jejích adnex*. Praha, Avicenum. 1983.
37. 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.
38. Loose, D.S., Feldman, D.: Characterization of a unique corticosterone-binding protein in *Candida albicans*. *J. Biol. Chem.*, 257, 1982, s. 4925-4930.
39. 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.
40. Malani, P.N., Kauffman, C.A.: Diagnosis and management of fungal infections in older adults. *Clinical Geriatrics*, 11, 2003, 9, s. 36-44.

41. 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.
42. 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.
43. 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.
44. 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.
45. 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.
46. Nyirjesy, P, et al.: Chronic fungal vaginitis: the value of culture. Am. J. Obstet. Gynecol., 173, 1995, s. 820-823.
47. Odds, F.C.: Candida and candidosis. Clin. Exp. Dermatol., 17, 1979, s. 251.
48. Odds, F.C.: Genital candidosis. Clin. Exp. Dermatol., 7, 1982, s. 345.
49. Odds, F.C.: Candidosis of the genitalia. In: Odds, F.C., ed.: Candida and Candidosis, 2nd ed., London, Ballierer Tindall, 1988.
50. 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.
51. Oriol, J.D., Partridge, B.M., Denny, M.J., et al.: Genital yeast infections. Br. Med. J., 4, 1988, s. 761-764.
52. Peter, R.: Klasifikace výtoku z dětských rodidel. Č. Gynek., 15, 1950, s. 247-250.
53. 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.
54. 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.
55. 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.
56. 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.
57. Ryley, J.F., McGregor, S.: Quantitation of vaginal *Candida albicans* infections in rodents. *J. Med. Vet. Mycol.*, 24, 1986, s. 455-460.
58. Segal, E.: *Candida*, still number one – What do we know and where are we going from there? *Mycoses*, 48, 2005, 1, s. 3-11.
59. Skowronski, R., Feldman, D.: Characterization of an estrogen-binding protein in the yeast *Candida albicans*. *Endocrinology*, 124, 1989, s.1965-1972.
60. Sobel, J.D.: Epidemiology and pathogenesis of recurrent vulvovaginal candidiasis. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 152, 1985, s. 924-935.
61. Sobel, J.D.: Pathogenesis and epidemiology of vulvovaginal candidiasis. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 544, 1988, s. 547-557.
62. Sobel, J.D., Muller, G., McCormick, J.F.: Experimental chronic vaginal candidosis in rats. *Sabouraudia*, 23, 1985, s. 199-206.
63. 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.
64. 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.
65. Spinillo, A., Capuzzo, E., Nicola, S., et al.: The impact of oral contraception on vulvovaginal candidiasis. *Contraception*, 51, 1995, s. 293-297.
66. Steele, C., Ratterree, M., Fidel Jr., P.L.: Differential susceptibility to experimental vaginal candidiasis in macaques. *J. Infect. Dis.*, 180, 1999, s. 802-810.
67. 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.
68. Špaček, J.: Vybrané klinické a laboratorní parametry u pacientek s rekurentní vulvovaginální kandidózou. Disertační práce 2000, Hradec Králové (LF UK).

69. Špaček, J., et al.: Recidivující vaginální kandidóza u nejmaldší věkové skupiny. XXIII. Pracovní schůze sekce gynekologů dětí a dospívajících. 1997, Sborník, s.25.
70. 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.
71. Špaček, J., Buchta, V., Kestřánek, J.: Vulvovaginální kandidóza – problém stále aktuálnější. *Gynekolog*, 15, 2006, 4, s. 149-152.
72. Thin, R.N., Leighton, M., Dixon, M.J.: How often is genital yeast infection sexually transmitted? *Br. Med. J.*, 2, 1977, s. 93-94.
73. Unzeitig, V., et. al.: Bakteriologie pochvy asymptomatických žen. *Čs. Gyn.*, 53, 1988, s. 91-97.
74. Vosmík, F., Skořepová, M.: *Dermatomykózy*, Galén. 1995.
75. Vráblik, J., Mašata, J., Jedličková, A., Hájičková, M.: Prospektivní sledování zastoupení a citlivosti jednotlivých druhů kvasinek u žen s vulvovaginální kandidózou. *Čes. Gynec.*, 72, 2007, 1, s. 27-32.
76. 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.
77. 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.
78. Zaias, N.B., Glick, B., Rebell, G.: Diagnosing and treating onychomycosis. *J. Fam. Pract.*, 42, 1996, s. 513-518.

11. Přehled publikační činnosti autora

Původní články a statě ve sbornících

1. **Košťálová M.**, Košťál M., Ettler K., Hadži Nikolov D., Jandová E., Šimková M.: Melanoma clitoridis. *International Journal of Dermatology*, 2007, 46, s. 393-395. **IF 1,130**
2. **Košťálová M.**, Bartoňová J., Ettler K., Šimková M., Hamáková K., Neumann D.: Epidermolysis bullosa simplex with acquired partial Lipodystrophy. *JEADV (13th Congress of the European Academy of Dermatology and Venereology, Florencie 17.-21.11.2004)*, 18 (2), 2004, s. 473 (poster č. 11.94).
3. Bartoňová J., **Košťálová M.**, Ettler K., Hamáková K.: The Tricho-rhino-phalangeal

- syndrome type I. JEADV (13th Congress of the European Academy of Dermatology and Venereology, Florencie 17.-21.11.2004), 18 (2), s. 327 (poster č. 5.107).
4. **Košťálová M.**, Vejsová M., Buchta V., Košťál M., Ettler K.: Mucocutaneous candidiasis and women's sexual hormones. 65. Annual meeting AAD, Washington DC, 2.-6.2.2007, Abstract book s. 29.
 5. **Košťálová M.**, Vejsová M., Tošner J., Buchta V., Košťál M., Ettler K.: Premenopausal and postmenopausal mucocutaneous candidiasis. 21st World Congress of Dermatology, Buenos Aires, 30.9.-5.11.2007, Abstract book s. 812-813.
 6. **Košťálová M.**, Košťál M., Ettler K., Hadži Nikolov D., Jandová E., Šimková M.: Melanoma clitoridis a biopsie sentinelové uzliny, Česko-Slovenská dermatologie, 82, 2007, 4, s. 194-197.
 7. **Košťálová M.**, Vejsová M., Buchta V.: Mukokutánní kandidóza a ženské pohlavní hormony – pilotní studie. 4. Česko-slovenská mezioborová konference lékařské mykologie, 31.5.-2.6.2007, Pardubice, Sborník abstrakt s. 47.
 8. **Košťálová M.**, Vejsová M., Košťál M., Buchta V., Ettler K.: Mukokutánní kandidóza ve vztahu k ženským pohlavním hormonům – pilotní studie. Lékařské listy, 11/2007, s. 23, Česko-Slovenská dermatologie 82, 2007, 4, s. 220.
 9. **Košťálová M.**, Košťál M., Ettler K., Hadži Nikolov D., Jandová E., Šimková M.: Melanoma clitoridis a biopsie sentinelové uzliny. II. kongres slovenských a českých dermatovenerológov s medzinárodnou účasťou, Bratislava, 15.-17.6.2006, Kniha abstraktov s. 48.
 10. **Košťálová M.**, Košťál M., Ettler K., Hadži Nikolov D., Jandová E., Šimková M.: Biopsie sentinelové uzliny u melanomu klitorisu. Gynekolog, 15, 2006, 3, s. 100-103.
 11. Bartoňová J., **Košťálová M.**, Ettler K., Hamáková K.: Tricho-rhino-phalangeální syndrom typu I. I.kongres českých a slovenských dermatovenerologů 9.-11.6.2005, Brno, Sborník abstrakt, s. 72.
 12. **Košťálová M.**, Bartoňová J., Ettler K., Šimková M., Hamáková K., Neumann D.: Epidermolysis bullosa simplex s progresivní lipodystrofií. I. kongres českých a slovenských dermatovenerologů 9.-11.6.2005, Brno, Sborník abstrakt, s. 78.
 13. Neumann D., **Košťálová M.**, Jütnerová V., Minxová L., Gayer J.: Je ztráta tuku tvář nebezpečná? Česko-Slovenská pediatrie, 60, 2005, 11, s. 644-645.
 14. **Košťálová M.**: Fortbildungswoche, vzdělávací týden pro praktické dermatology, Mnichov, 25.- 30.7.2004. Referátový výběr Dermatovenerologie, 46, 2004, 4, s. 68-69.
 15. **Košťálová M.**: Zpráva z 13. kongresu EADV ve Florencii v r. 2004 – II. Část. Česko-Slovenská dermatologie, 4, 2005, s. 239-242.
 16. **Košťálová M.**: Fostering Dermatology, Vídeň 18.-22.7.2005. Česko-Slovenská Dermatologie, 81, 2006, 1 s. 53.
 17. **Košťálová M.**: 65th AAD Annual meeting, Washington D.C. 2.- 6.2.2007. Dermatologie pro praxi, 2, 2007, s. 93.
 18. **Košťálová M.**, Bartoňová J., Košťál M., Hanousek L.: Ulcus vulvae acutum sec. Lipschütz. Gynekolog, v tisku.

Přehledové články

1. **Košťálová M.**, Ettler K., Košťál M., Rousková L.: Kožní změny v těhotenství. Gynekolog, 14, 2005, 3, s. 108-116.

2. **Košťálová M., Ettler K., Košťál M.:** Autoimunitní progesteronová dermatitida. *Gynekolog*, 14, 2005, 6, s. 282-286.
3. **Košťálová M., Ettler K., Košťál M.:** Mukokutánní kandidóza a její vztah k ženským pohlavním hormonům. *Česko-Slovenská dermatologie*, 82, 2007, 5, s. 268-271.
4. **Košťálová M., Košťál M.:** Menopauza a stárnutí kůže. *Gynekolog*, 16, 2007, 3, s. 96-102.

Přednášky na odborných setkáních

1. Košťálová M., Bartoňová J., Hamáková K.: Lipodystrofie a epidermolysis bullosa u dítěte (kasuistické sdělení). Krajský dermatologický seminář, Hradec Králové, 22.9.2004.
2. Košťálová M.: Některé poznatky z 19. Fortbildungswoche – Mnichov 2004. Krajský dermatologický seminář, Hradec Králové, 22.9.2004.
3. Košťálová M.: Deep mycosis in kidney transplanted patient, EADV – Fostering Dermatology, Kuzr mikrobiologie EADV, Vídeň 17.-23.7.2005.
4. Košťálová M.: Některé dermatologické následky dovolené v tropech a subtropích. Krajský dermatologický seminář, Hradec Králové, 21.9.2005.
5. Košťálová M., Košťál M., Ettler K., Hadži Nikolov D., Jandová E., Šimková M.: Melanoma clitoridis a biopsie sentinelové uzliny. II. kongres slovenských a českých dermatovenerológov s medzinárodnou účasťou, Bratislava, 15.-17.6.2006.
6. Košťálová M.: Hyperandrogenizmus u žen. Krajský dermatologický seminář, Hradec Králové, 21.6.2006.
7. Košťálová M.: Mukokutánní kandidóza a ženské pohlavní hormony. Krajský dermatologický seminář, Hradec Králové, 22.11.2006.
8. Košťálová M., Košťál M., Ettler K., Hadži Nikolov D., Jandová E., Šimková M.: Melanoma clitoridis a biopsie sentinelové uzliny. Krajský dermatologický seminář, Hradec Králové, 22.11.2006.
9. Košťálová M., Bartoňová J., Kolesárová J., Třeštlík P.: Terbinafin v rukou dermatologa. Krajský dermatologický seminář, Hradec Králové, 14.2.2007.
10. Košťálová M., Ettler K.: Zprávy z AAD 2007. Krajský dermatologický seminář, Hradec Králové, 14.2.2007.
11. Košťálová M., Vejsová M., Buchta V.: Mukokutánní kandidóza a ženské pohlavní hormony – pilotní studie. 4. Česko-slovenská mezioborová konference lékařské mykologie, Pardubice, 31.5.-2.6.2007.
12. Košťálová M., Vejsová M., Košťál M., Buchta V., Ettler K.: Mukokutánní kandidóza ve vztahu k ženským pohlavním hormonům – pilotní studie. III. Kongres českých a slovenských dermatológů, Praha, 14.6.-16.6.2007.
13. Košťálová M., Vejsová M., Košťál M., Buchta V., Ettler K.: Mucocutaneous candidiasis and women's sexual hormones 3rd postgraduate medical students conference, Hradec Králové, 25.10.2007 - 3. místo.
14. Košťálová M., Ettler K.: Zprávy z AAD 2007. Krajský dermatologický seminář, Hradec Králové, 14.2.2007.
15. Košťálová M.: Vícečetný výskyt kožních nádorů - kasuistické sdělení. Krajský dermatologický seminář, Hradec Králové, 20.2.2008.

