

**Univerzita Karlova v Praze
Lékařská fakulta v Hradci Králové**



Chronický vulvovaginální dyskomfort a kvalita poševního prostředí

Jan Kestřánek

Autoreferát disertační práce

Doktorský studijní program Gynekologie a porodnictví

Hradec Králové

2014

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

Autor: MUDr. Jan Kestřánek
Porodnická a gynekologická klinika, FNHK

Školitel: doc. MUDr. Jiří Špaček, PhD., IFEPAG
Porodnická a gynekologická klinika, FNHK

Oponenti: prof. MUDr. Jan Hořejší, DrSc.
Gynekologicko-porodnická klinika 2. lékařské fakulty UK a FN Motol

doc. MUDr. Vít Unzeitig, CSc.
Porodnicko-gynekologická klinika FNO
a LF OU

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

.....
Jméno, příjmení, tituly

Předseda komise pro obhajoby disertačních prací v doktorském studijním programu Gynekologie a porodnictví.

Obsah

1.	Souhrn	4
2.	Summary	5
3.	Úvod	6
4.	Cíle práce	7
5.	Současný stav problematiky.....	8
	5.1 Akutní vulvovaginální dyskomfort	9
	5.2 Chronický vulvovaginální dyskomfort	9
	5.3 Quorum sensing molekuly	9
	5.4 Genetické faktory vzniku VVD	10
6.	Materiál a metody	10
7.	Výsledky.....	11
8.	Diskuse	14
9.	Závěr	18
10.	Použitá literatura	20
11.	Publikační činnost	26
	11.1 Monografie a kapitoly v monografiích	26
	11.2 Původní	27
	11.3 Přehledové články	29
	11.4 Přednášky na odborných setkáních	29

1. SOUHRN

Vulvovaginální dyskomfort (VVD) není život ohrožující onemocnění, avšak jeho dopad na kvalitu života ženy je veliký. Po gynekologické prevenci a prenatální péči je nejčastější příčinou návštěvy gynekologické ambulance. Příčiny vzniku chronické formy nejsou prokazatelně objasněny.

CÍLE PRÁCE: Prvním cílem této práce bylo pokusit se odhalit etiologii chronického vulvovaginálního dyskomfort (CVD), charakterizovat skupinu pacientek s CVD a vztáhnout tuto ke kvalitě poševního prostředí. Druhým cílem bylo vyhodnocení dotazníku, který byl zaměřen na možné příčinné faktory CVD. Třetí část práce je experimentální, zaměřená na problematiku quorum sensing molekul (QSM) a manosa-binding lektin (MBL) polymorfismů.

METODY: Data pro všechny tři části studie byla získána v ambulanci pro chronický vulvovaginální dyskomfort vyšetřením a dlouhodobým sledováním pacientek s CVD. K pátrání po možných příčinných faktorech CVD byl použit dotazník.

VÝSLEDKY: Studie prokázala, že se v naprosté většině případů setkáváme s idiopatickou formou CVD. Je zřejmé, že se jedná hlavně o ženy v produktivním věku, ve většině případů zdravé, bez zjevného spouštěcího momentu. Bylo prokázáno, že se v ambulantní praxi této problematice adekvátně věnuje minimum lékařů a že nejmarkantnějším nálezem u pacientek s CVD je absence laktobacilů prokázaná mikroskopii. Mikroskopie v součinnosti s dalšími klinickými vyšetřeními, má zcela kluciální postavení při vyšetření pacientek s CVD. Vyhodnocení dotazníkové studie přineslo řadu statisticky významných závěrů, např. souvislost s léčbou antibiotiky, sexuální aktivitou atd. V experimentální části výsledky ukázaly, že pacientky s CVD ve srovnání s kontrolami měly ve vaginálním sekretu statisticky významně vyšší hladiny farnesolu a naopak nižší tyrosolu. Výsledky analýzy MBL polymorfismů naznačily, že není významný rozdíl v distribuci jednotlivých polymorfismů.

ZÁVĚR: Výsledky studie potvrzují, že skupina pacientek s CVD není homogenním souborem. Studie prokázala, že kvasinková etiologie není tak častá, jak se předpokládá. Zejména dlouhodobý mikroskopický monitoring pacientek, které byly před vstupem do naší studie opakovaně léčeny antimykotickými prostředky, potvrzoval spíše klidové nálezy, tedy nepřítomnost zánětlivých změn. Naopak převažujícím nálezem bývají velmi chudé nátěry s malým nebo nulovým počtem laktobacilů. Dominující je tak potřeba protekce než pokračování v devastující antimikrobiální léčbě.

Klíčová slova: vulvovaginální dyskomfort, poševní prostředí, kvalita života, mikroskopické vyšetření, quorum sensing molekuly, MBL

2. SUMMARY

„Chronic vulvovaginal discomfort and quality of vaginal environment“

Vulvovaginal discomfort (VVD) is not a life-threatening disease, however, its impact on quality of life is enormous. The causes of the origins of the chronic form are not provably clarified.

OBJECTIVES OF THE THESIS: The first aim of this thesis has been to make an attempt to reveal the etiology of chronic vulvovaginal discomfort (CVD), to characterize a group of patients with CVD and refer it to the quality of vaginal environment. The second aim has been an evaluation of a questionnaire, which had been focused on probable causal factors of CVD. The third part is experimental, focused on the issue of quorum sensing molecule (QSM) and manosa-binding lectin (MBL) polymorfisms.

METHODS: The data for all three parts of the study were gained at the outpatient's department for CVD by examining and following CVD patients. A questionnaire was used when investigating the probable CVD factors.

RESULTS: The study has proved that we come across the idiopathic form of CVD in most cases. According to the results, the issue concerns mainly women at productive age, in most cases healthy, without an evident trigger moment. The study has also shown that the most noticeable finding in CVD patients is an absence of lactobacillus proved when performing a microscopic examination and that microscopy together with other clinical examinations have a crucial position in the examination algorithm of CVD patients. The evaluation of the questionnaire study has brought a range of statistically important conclusions, e.g. that there is a connection with antibiotics treatment, sexual activity, use of contraception and etc. In the experimental part, our pilot results have shown that CVD patients had a statistically significant higher level of farnesol in the vaginal secretion and, on the contrary, a lower concentration of tyrosol. A great margin of values in both QSM supports an assumption that CVD is of multifactorial nature. The results of MBL polymorfisms analysis have implied that there is no significant difference in distribution of single polymorfisms.

CONCLUSION: The results of the study confirm that a group of CVD patients is not a homogeneous group. The study has proved that yeast etiology is not as often as it is assumed. The long-term microscopic monitoring of patients has confirmed rather physiological findings that imply the absence of inflammatory changes. On the contrary, the prevailing findings are with very little or null number of lactobacillus. There is thus a predominant need of protection than continuing in devastating antimicrobial treatment.

Key words: vulvovaginal discomfort, vaginal environment, quality of life, microscopic examination, quorum sensing molecules, MBL

3. ÚVOD

Problematika vulvovaginálního dyskomfortu je nejméně častou příčinou návštěvy gynekologa a s tím souvisí i preskripce antiinfekční léčby. Její objem je obrovský a stále narůstá. Dominujícím nešvarem současnosti je její nadužívání a zářným příkladem v tomto ohledu je i gynekologie, kde kromě simplifikovaného přístupu ze strany ambulujících lékařů je bezprecedentní i možnost volného nákupu antiinfekčních prostředků pro gynekologické použití. Nasazení antimykotik tak závisí v podstatě na osobním rozhodnutí bez jakékoliv lékařské kontroly. Zdaleka ne všechno jde však na vrub dysmikrobii, infekci či zánětu a v době, kdy se pojem personalizovaná medicína skloňuje ve všech pádech, jsme tak svědky pravého opaku, který hrubým způsobem nerespektuje základní pravidla. Zejména v oblasti pochvy a zevního genitálu se setkáváme s případy, kde dominují silné obtíže, ale objektivní nález bývá velmi chudý. Kvalita života bývá narušena zásadním způsobem, ale závěr gynekologického vyšetření může být normální. Situaci pak neřeší ani opakovaná antiinfekční léčba, která postrádá racionální opodstatnění a samozřejmě má dubiozní efekt. Z hlediska vědeckého zájmu je velmi atraktivní mykologická problematika, kde je vztah hlavního potenciálního vyvolavatele *Candida albicans* předznamenán jednak možností bezpříznakového nosičství, na straně druhé se také těmto mikroorganismům přisuzuje právě v souvislosti s vulvovaginálním dyskomfortem nebyvalý význam. Kvasinky tak můžeme označit jako univerzální mikroby, které mohou být přítomny v pochvě zdravých žen, na straně druhé mohou způsobit vulvovaginální kandidózu. Sice se jedná o dobře léčitelné onemocnění, nicméně právě její rekurentní forma je dodnes pro řadu žen stále strašákem.

Předložená disertační práce je výsledkem dlouhodobého prospektivního sledování a mikroskopického monitorování pacientek, které mají v oblasti pochvy a zevního genitálu chronické obtíže. Tyto ženy prošly naší specializovanou poradnou pro vulvovaginální dyskomfort. Práce je dokladem systematického přístupu, který je u těchto pacientek esenciální.

4. CÍLE PRÁCE

Vzhledem k absenci prací, které by problematiku chronického vulvovaginálního dyskomfortu (CVD) řešily komplexněji, bylo cílem tohoto projektu tuto charakteristiku vytvořit. V naprosté většině případů se setkáváme s idiopatickou formou CVD a základní premisa této práce se odvíjí od předpokladu úzké souvislosti mezi přítomnými obtížemi a aktuální kvalitou poševního prostředí.

Většina údajů, které jsou v této práci uvedeny, vychází z prospektivního sledování pacientek s CVD, jež byly v rámci specializované ambulance pro tuto problematiku v průběhu jednoho roku zařazeny. Toto bylo uskutečněno na základě vyhodnocení anamnestických informací od sledovaného souboru pacientek s CVD (**n = 106**). Velmi důležitou součástí práce byl i mikroskopický monitoring, který dosud nebyl u takového souboru realizován.

Část informací pochází též z epidemiologické sondy pilotní studie, která proběhla pomocí dotazníkové akce na Farmaceutické fakulty (FAF) UK v Hradci Králové. Vlastní údaje byly získány na základě: 1) Vyhodnocení epidemiologických a demografických údajů, které byly získány v rámci širší populace od studentek FAF. 2) Vyhodnocení epidemiologických a demografických údajů, které byly získány od pacientek s CVD, zhodnocení spektra anamnestických informací získaných od vytvořeného souboru pacientek s CVD se zaměřením na přítomnost faktorů, které lze považovat za rizikové. 3) Prospektivní vyhodnocování klinického stavu u pacientek a fyzikálního vyšetření u pacientek s CVD. 4) Prospektivní mikroskopické monitorování (nativní mikroskopie a barvené preparáty). 5) Mikrobiologická analýza včetně druhové identifikace kvasinek s určením jejich citlivosti k běžně používaným antimykotikům; (součástí tohoto projektu byla snaha o zjištění skutečné incidence rekurentní vulvovaginální kandidózy). 6) Vyšetření parametrů lokální imunity. 7) Vyšetření manosa-binding lektin (MBL) polymorfismů. 8) Stanovení quorum sensing látek (farnesol a tyrosol) u těchto pacientek.

Za nejčastějšího původce CVD byly považovány tradičně kvasinky a na tyto mikroorganismy je zacílena pozornost právě v experimentální části práce, kde jsme měli, mimo jiné, možnost stanovit úroveň komunikace mezi kvasinkami pomocí quorum sensing látek.

5. SOUČASNÝ STAV PROBLEMATIKY

Vulvovaginální dyskomfort (VVD) můžeme v širším slova smyslu definovat jako akutní, dlouhodobé nebo opakované subjektivně pociťované nepohodlí (dyskomfort) ženy v genitální oblasti, které je doprovázené variabilním klinickým obrazem. Tento nemusí odpovídat rozsahu a intenzitě subjektivních příznaků. Za vyvolávající příčinu VVD je nejčastěji považován mikrobiální původ, ale na jeho vzniku se může podílet celá řada dalších faktorů, včetně nemikrobiálních příčin.^{1;2-5} Vulvovaginální dyskomfort se nejčastěji projevuje svěděním a/nebo pálením a/nebo výtokem. V současné době představuje jeden z nejčastějších důvodů návštěvy gynekologické ambulance. Vedle pacientek s náhle vzniklými problémy, se stále častěji setkáváme také s případy, u kterých se objevují tyto obtíže opakovaně. Za majoritního vyvolavatele VVD jsou dosud považovány kvasinky. Vulvovaginální dyskomfort však může mít rozmanitou etiologii a nutno počítat i s neinfekčními příčinami. Příkladem může být chemická iritace či alergická reakce. Podle internetových serverů je tato problematika jednou z nejsledovanějších a frustrace postižených je mnohdy alarmující.⁶⁻⁹ U akutních, sporadických obtíží se realizuje antimikrobiální preskripcí obvykle v rámci první návštěvy na základě anamnézy a klinického nálezu. Zájem o příčinu však velmi často ustupuje do pozadí a u opakujících se obtíží nejsou pacientky velmi často vyšetřovány vůbec.^{10;11} To má za následek nebyvalé zjednodušení této problematiky. Vše přebíjí bohaté armamentárium řady antiinfekčních a antimykotických preparátů, včetně možnosti aplikace širokospektrých přípravků, řada z nich je dnes volně přístupná i bez receptu. Tyto léky, zejména pak perorální formy, nemíří pouze do cílové oblasti a potenciální komplikace spočívají jak v narušení poševního mikroekosystému, tak i v ovlivnění dalších kompartmentů včetně potenciálního rozvratu složení mikrobiální flóry. Ze strany gynekologů je vyvíjena minimální snaha o diagnostiku a standardně doporučené mikroskopické vyšetření dnes paradoxně téměř nikdo neprovádí. Přitom právě kvalitně provedená mikroskopie představuje u pacientek s vulvovaginálním dyskomfortem velmi důležitý zdroj informací. Máme možnost použití výkonných mikroskopů, které nejsou cenově nedostupné, digitální fotografie umožňuje snadný přenos dat, možné je i sekundární čtení za přítomnosti mikrobiologa. Zejména u chronických obtíží lze dle aktuálního stavu poševního prostředí zacílit i léčebný zásah.^{10;12} Logické by proto mělo být komplexnější pojetí této problematiky. Jednak bychom měli respektovat možnost bezpříznakového nosičství a zvláště u chronických případů se nevyhýbat ani základním otázkám souvisejícím se způsobem života, dietou, stylem oblékání atd. Jinými slovy za každou cenu neusilovat o sterilní prostředí, ale naopak o šetrnou restituci poševního

prostředí a navození tolerance. Vlastními prostředky nastavená bezpříznakovost je určitě užitečnější než postantibiotická dysmikrobie. Ve hře je řada dalších aspektů včetně psychosomatiky a některé případy bude nutné řešit i v rámci mezioborové spolupráce.^{7,13;14}

Vedle klasických vyšetřovacích metod, kterými zůstává klinické a mikroskopické vyšetření se rozvíjejí i nové diagnostické možnosti (např. průkaz mikrobiální DNA a RNA, proteomika). Vzhledem k naléhavosti neodkladného léčebného zásahu je výhodné posunout co nejvíce dovedností přímo k pacientce, tj. těžiště diagnostiky přenést z laboratoře do ambulance. Na straně druhé je logickou snahou zřizovat pracoviště, která se budou věnovat této problematice systematicky.¹⁵

Dizertační práce je zaměřena na zhodnocení kvality poševního prostředí u pacientek s chronickými obtížemi ve vulvovaginální oblasti. Prostor pro teoretický úvod je tak mimořádně široký. S ohledem na mikrobiální koncept, ke kterému se tato práce snaží přispět, je rozčleněn i teoretický úvod, snaha o nadhled a zároveň uvedení experimentální metody.

5.1 Akutní vulvovaginální dyskomfort

Jedná se o náhle vzniklé obtíže v oblasti zevního genitálu a pochvy jako je výtok, svědění nebo pálení. Příčinou bývá kvasinková, bakteriální, virová nebo parazitární infekce. V praxi se nejčastěji setkáváme s vulvovaginální kandidózou a bakteriální vaginózou která není považovaná za infekci, ale za poruchu poševního prostředí. Dále přichází v úvahu aerobní vaginitida, poševní laktobacilóza, popř. herpes genitalis nebo trichomoniáza.^{10;16-}

5.2 Chronický vulvovaginální dyskomfort

Jednou z charakteristik současnosti je narůstající počet žen, které trpí rekurentními, chronickými obtížemi. CVD definujeme jako výskyt výtoků, svědění nebo pálení v oblasti zevního genitálu a pochvy třikrát a více za rok.^{10;19-21}

5.3 Quorum sensing molekuly

Přestože mikroorganismy nemají smyslové orgány, mohou hodnotit okolní prostředí a komunikovat navzájem pomocí quorum-sensing molekul (QSM), tab. 6.4. QSM jsou extracelulární signální molekuly sloužící k základní komunikaci mezi mikroorganismy. U kvasinek, zvláště pak u *C.*

albicans, např. řídí přeměnu z hyfální na jednobuněčnou blastickou formu a naopak (dimorfismus). Ve spojitosti s *C. albicans* byly identifikovány QSM: tyrosol, farnesol a kyselina farnesolová.²²⁻²⁵ Pro klinickou praxi by mohlo být přínosné vytvořit metodu ke stanovení přítomnosti a množství QSM v poševním prostředí a tím pádem i lépe odhadnout invazivní potenciál kvasinek.²⁴⁻³⁷

5.4 Genetické faktory vzniku VVD

V souvislosti s kandidovými infekcemi bylo identifikováno několik genových polymorfismů, z nichž některé mají velmi blízko k VVK. Zřejmě nejvíce prozkoumaný je gen *MBL2* (mannose binding lectin), který u kavkazské populace kóduje MBL proteiny a má tři funkční polymorfismy exonu 1 v místě kodonu 54 MBL proteiny patří mezi proteiny akutní fáze, nacházíme je v séru, ale také ve vaginální tekutině, kde fungují jako opsoniny.³⁸⁻⁴⁰ Pokud jsou přítomny v deficitním množství, v menší míře se vážou na příslušné ligandy kvasinek, které potom nejsou efektivně eliminovány přirozenou imunitou. Zdá se však, že spojení mezi MBL polymorfismem a jeho produkty nebude jednoznačné a bude podléhat jistému stupni. Toto podpořily práce, které naměřily vyšší hladiny MBL proteinů u žen, které braly hormonální antikoncepci či používaly nitroděložní tělíska. Naproti tomu nositelky alely B měly nižší hladiny MBL po léčbě flukonazolem, což lze vykládat jako sníženou nálož kvasinek v pochvě v reakci na úspěšnou antimykotickou terapii.⁴¹⁻⁴⁴ To, že MBL proteiny možná zasahují v širším kontextu do poševní imunity, naznačilo zjištění, že jejich snížené hladiny představují rizikový faktor ovariálního karcinomu.^{45-48;48-50}

6. MATERIÁL A METODY

Studie probíhala v letech 2008-2013. Do studie bylo zařazeno 106 žen, které splňovaly vstupní kritéria pro CVD. Před vlastním zařazením do souboru byly tyto ženy sledovány po dobu 1 roku a vyšetřeny minimálně 2x v období výskytu obtíží a 2x v období remise. U každé pacientky byla odebrána podrobná anamnéza, provedeno klinické vyšetření, doplněné nativním mikroskopickým vyšetřením, včetně odebrání materiálu k nátěru na mikroskopické sklo a jeho následnému k vyhodnocení (nativní a barvený preparát). Kontrolní skupinu tvořilo 48 pacientek, které anamnesticky netrpí CVD, tj. mají méně než tři ataky VVD za rok. U těchto pacientek bylo

provedeno pouze jedno vyšetření, ale dle obdobného vyšetřovacího algoritmu jako pacientky s CVD.

Soubor patientek dotazníkové studie

Dotazníkové části studie se účastnilo 65 žen, 39 patientek vrátilo dotazník zcela vyplněný. V dotazníku je 50 otázek, a prakticky každá otázka má i podotázku. Na první straně dotazníku jsou informace pro pacientku o cílech studie a návod k vyplnění. Jasně je zdůrazněna anonymita dotazníku. Většina otázek se vyplňuje zaškrtnutím, u několika otázek je však požadována i slovní odpověď. Otázky byly strukturovány do 10 tematických okruhů: Gynekologické obtíže a jejich léčba, Menstruace, Gravidita, Oblékání a osobní hygiena, Stravovací návyky, Zdravotní stav, Antikoncepce, Intimní život, Životní spokojenost, Demografie.⁵¹

Soubor patientek s CVD a kontrolní skupina (dotazníková studie)

Kontrolní skupinu tvoří 32 žen, které byly zařazeny do kontrolní skupiny při vyhodnocování již dříve distribuovaných dotazníků hodnotících výskyt CVD v populaci. Skupinu žen s CVD tvoří 39 patientek poradny pro chronický vulvovaginální dyskomfort, Porodnické a gynekologické kliniky FNHK, u kterých byl CVD již prokázán.

Vyšetření QSM a MBL

Ve 3. fázi studie bylo vyšetřeno celkem 48 patientek na přítomnost QSM. 21 (43.8%) patientek s CVD a 27 (56.2%) žen tvořilo kontrolní skupinu. Odběry byly provedeny u skupiny žen s CVD a bez CVD. Odběr QSM byl proveden speciálně pro tento účel vytvořenou komůrkou a za přesně daných kautel zpracován. K vyšetření přítomnosti QSM byla použita ultravysokotlaká kapalinová chromatografie (ultra high performance liquid chromatography, UHPLC).³⁴ V případě MBL bylo vyšetřeno 24 vzorků DNA od patientek s diagnózou rekurentní vulvovaginální kandidóza (medián věku 33 roků, rozmezí 18-47 roků) a 24 vzorků od zdravých žen (medián 31 roků, rozmezí 25-54 roků).

7. VÝSLEDKY

Z vyhodnocení dat získaných v 1. fázi studie vyplývá, že průměrný věk patientek s CVD je 31 roků a většinou se jedná o ženy v produktivním věku (19-45 let, n=87, 82.2%), zdravé, bez zjevného spouštěcího momentu a bez vztahu obtíží k menstruačnímu cyklu. Nebyl signifikantní rozdíl mezi výskytem nemocí ve skupině žen s CVD a kontrolní skupině. Nebyl zjištěn ani signifikantní rozdíl ve výskytu alergií. Obě skupiny byly srovnatelné i co do užívání antikoncepce a počtu gravidit a porodů.

O závažnosti této problematiky vypovídá výskyt symptomů CVD během jednoho roku, kdy 93% patientek (99) udává obtíže 6x a více/rok, v kontrolní skupině byl výskyt obtíží za 5 let následující: 21 patientek nikdy,

26 pacientek měl obtíže 1 až maximálně 5x/rok, pouze jedna pacientka udávala obtíže 8x/5let.

Počet gynekologů provádějících základní ambulantní vyšetření jako jsou pH pochvy a o něco náročnější, mikroskopické vyšetření nativního preparátu byl ve skupině pacientek s CVD 1 gynekolog, v kontrolní skupině nebylo toto provedeno ani u jedné.

U pacientek s CVD byla sledována i délka trvání obtíží a frekvence episod obtíží během jednoho roku. 50% (53) pacientek se neúspěšně léčí pro CVD více než dva roky a 80,2% (85) žen udává obtíže častěji než 6x za rok, přičemž 58,5% (62) žen má obtíže prakticky každý měsíc. U pacientek s CVD nebyl zjištěn „spouštěč“ (trigger moment). 8 pacientek (7,6%) dávalo vznik obtíží do souvislosti s pohlavním stykem a 2 pacientky (1,9%) s jinou událostí (1 pacientka s porodem a 1 s operací). Ke statistickému hodnocení byl použit chí-kvadrát a t-test.

Prokázán byl statisticky významný pokles pH v období od obtíží do první kontroly ($p=0,001$). Taktéž byla prokázána pozitivní korelace u přítomnosti kvasinky nativní mikroskopii a v barveném preparátu a zároveň prokázané kultivaci ($p=0,01$). Bylo taktéž prokázáno, že *Gardnerella vaginalis* je spojena s pozitivním KOH testem, subjektivně udávaným i objektivně prokázaným oděrem, a taktéž s přítomností clue cells, jak v nativním tak i barveném preparátu. Positivní korelace byla prokázána u subj. udávaného fluoru a objektivní nepřítomnosti známek zánětu v pochvě.

U pacientek s CVD bylo prokázáno při první kontrole v období s obtížemi, že při mikroskopickém nálezu kvasinek (v barveném i nativním preparátu) je *C. albicans* prokázána i kultivačně. Nebyla však zjištěna statisticky významná souvislost mezi kultivační pozitivitou *C. albicans* a klinickými známkami zánětu a bílého hrudkovitého výtoku v pochvě.

Kvalita provedeného nativního mikroskopického vyšetření dokládá pozitivní statisticky významná korelace mezi hodnocením nativního a barveného preparátu ($p=0,001$). *C. albicans* považována za hlavní příčinu CVD byla sledována kultivační pozitivita *C. albicans* při kontrolách v období obtíží i v období remise. Při prvním vyšetření v období s obtížemi byla *C. albicans* prokázána ve 20 případech (18.9%) a u 9 pacientek (8.6%) při kontrole druhé. V období remise byla *C. albicans* pozitivní u 1 pacientky (0.9%) a u 6 žen (5.9%) při kontrole druhé. Nejčastější výsledek kultivačního vyšetření byl negativní: 1. období obtíží 38 žen (35.8%), 2. období obtíží 47 žen (44.3%), 1. kontrola bez obtíží 81 žen (80.2%) a 2. období bez obtíží 87 žen (82.1%). Změny v kultivacích při obtížích i mimo obtíže vypovídá o nesourodosti skupiny žen s CVD a zároveň o tom, že nemůžeme určit jednoho nebo i více patogenů způsobujících CVD.

Statisticky významný pokles pH u žen s CVD v období obtíží a v období bez obtíží při první kontrole ($p=0,001$).

Průměrná hodnota pH od obtíží do 1. kontroly poklesla téměř na úroveň pH kontrolního souboru. To znamená, že pH může být použito jako diagnostický marker akutní exacerbace CVD.

Zásadní je průkaz statisticky významné pozitivní korelace nepřítomnosti klinických známek zánětu, a nepřítomnost známek zánětu v nativní mikroskopii a barveném preparátu v období obtíží. K tomuto „chudému“ klinickému a mikroskopickému nálezu přispívá průkaz výrazného úbytku či praktické absenci laktobacilů (tyčí) v barveném (BP) a nativním (NAT) preparátu. Úbytek či absence laktobacilů byl prokázán u 78 (BP) a 75 (NAT) pacientek v období obtíží (73,5% BP, 70,7% NAT) a poměrně překvapivě i u 71 (BP) a 53 (NAT) pacientek (67% BP a 50% NAT) v období kontroly bez obtíží. Ještě markantnější byly výsledky při druhé kontrole při obtížích a v době remise. 93 (BP) a 60 (NAT) (99,4% BP, 61,9% NAT) pacientek při obtížích a 66 (BP) a 62 (NAT) (64,7% BP, 60,8% NAT) v období remise. Koky jsme zjistily v BP při první kontrole v období obtíží u 30 pacientek (28,3%) a 26 pacientek v NAT (24,5%), v období remise to byla 1 pacientka v BP (0,9%) a žádná pacientka v NAT. U druhé kontroly v období obtíží to bylo 29 pacientek v BP (28,2%) a 16 pacientek v NAT (15,2%), 1 pacientka v BP (0,9%) a žádná pacientka v NAT v období bez obtíží. Podobně chudé nálezy byly zaznamenány i co do přítomnosti kvasinek, koků a leukocytů. Důkazem heterogenity skupiny pacientek s CVD je srovnání přítomnosti laktobacilů, leukocytů, koků a kvasinek v NAT při prvním a druhém vyšetření v období obtíží a v období remise. Statisticky významné rozdíly byly zaznamenány při srovnání množství laktobacilů, koků a leukocytů v obdobích obtíží.

Výsledky dotazníkové studie⁵¹

V této práci jsou prezentovány hlavně výsledky se statisticky významnými hodnotami.

Dotazníkem bylo prokázáno, že nejčastějším steskem je svědění (79,5%), výtoke (74,4%), pálení (66,7%), nejméně pak otok vnějších rodidel doprovázený bolestí či svěděním (25,6%).

V otázce na kolikrát ženy v posledních pěti letech užívaly léčivé preparáty určené k léčbě VVD. Byl zjištěn statisticky významný rozdíl u frekvence 5 a vícekrát a u frekvence nikdy (0,999). 22 pacientek (56,4%) uvedlo léčbu pouze v době obtíží, jedna pacientka (1,77%) potíže řešila soustavnou léčbou typu prevence a 16 pacientek (41,0%) vyzkoušelo jak soustavnou (preventivní), tak léčbu v období relapsu.

Vaginální irigace a gely používají významně častěji ženy s CVD. Bylo také zjištěno, že ve skupině žen s CVD 62,2% žen používá vaginální irigaci a většina z těchto (60,0%) s výplachy začala až po objevení VVD. Statisticky významný rozdíl byl zjištěn u žen nosících vložky i mimo menstruaci versus nenosí vložky mimo menstruaci vůbec. Statisticky významný rozdíl byl prokázán u žen užívajících probiotika. Probiotika

neužívá 43,6% žen s CVD a 77,4% žen v kontrolní skupině. V otázce hodnotící přítomnost alergií či alergických příznaků byl prokázán rozdíl statisticky významný. U žen s CVD je o něco častější výskyt alergií. Rozdíl statisticky významný je u alergie na léky, kdy tuto udává 11 žen s CVD a žádná žena z kontrolní skupiny (0,95). Dále pak astma bronchiale, které udalo celkem 8 žen, z toho 7 s CVD (0,9). Další otázka byla zaměřena na druh antikoncepce, včetně přirozených metod plánování rodičovství. Významný rozdíl je u žen, které nemají pohlavní styk a u žen, které nepoužívají žádnou antikoncepci (0,9). Rozdíl statisticky významný byl prokázán u žen, které nemají v současnosti sexuálního partnera 32,3% žen z kontrolní skupiny, 10,8% ze CVD. Stálého sexuálního partnera má 86,9% žen ze skupiny CVD a 66,7% z kontroly (0,9). Dále byla sledována frekvence pohlavních styků za poslední rok v kontrolní skupině a skupině s CVD. 32,2% pacientek má mimo dobu obtíží sex více než 2x týdně, v období obtíží 8,7%. Ze 41,0% žen, které měly styk méně než 1x týdně má při potížích styk 8,7% a pro 56,5% žen je v době obtíží styk nemožný. V obou případech byl prokázán statisticky významný rozdíl. V otázce užití lubrikantu při styku se 56,7% žen s CVD a 22,7% z kontrolní skupiny si myslí, že by lubrikant při obtížích pomohl (0,9).

Výsledky experimentální části studie – QSM a MBL

Pilotní výsledky ukázaly, že pacientky s CVD ve srovnání s kontrolními ženami měly vyšší hladiny farnesolu (24,4 vs. 11,9 nmol/L) ve vaginální sekretu a naopak nižší koncentrace tyrosolu (1088 vs. 3170 nmol/L). V případě farnesolu se jednalo o statisticky významný rozdíl ($p = 0,95$), zatímco u tyrosolu se jednalo pouze o trend. Relativně velký rozptyl hodnot u obou QSM a obou skupin žen naznačuje, že jedno z možných vysvětlení může být definice pacientky s CVD respektive podporuje předpoklad, že CVD je multifaktoriální povahy a že ne ve všech případech musí být jeho příčinou kvasinka.³⁶ Výsledky analýzy MBL polymorfismů naznačily, že není významný rozdíl v distribuci jednotlivých polymorfismů, z čehož ale nelze vyvozovat žádné závěry, protože vyšetřovaný soubor pacientek byl relativně malý.³⁵

8. DISKUSE

Jednou z možných charakteristik současnosti je i narůstající počet žen, které trpí chronickými obtížemi ve vulvovaginální oblasti a postiženou nutí vyhledat odbornou lékařskou pomoc více než třikrát za rok (základní definice pro CVD). Jedná se o nehomogenní skupinu, kde u části pacientek sice dochází po nasazení antiinfekční léčby k přechodnému zlepšení, u dalších však nedojde ani k tomu. Cílem tohoto projektu bylo vytvořit

charakteristiku pacientky s chronickým vulvovaginálním dyskomfortem a zejména ji vztáhnout ke kvalitě poševního prostředí.

Tato problematika zahrnuje více aspektů a je jasné, že vulvovaginální dyskomfort provází infekci, zánět a dysmikrobiu. Proč se můžeme setkat i s těžkou formou CVD, aniž by tomu odpovídal objektivní nález a zdali je vůbec možné se dopátrat k prapůvodu příčiny obtíží, jsou krucální otázky, které vymezují základní dimenze této problematiky. Na prvním místě by mělo být především pomýšleno na to, co se momentálně v pochvě odehrává. Předpokládáme, že poševní mikrobiota hraje v tomto ohledu významnou roli. Například její úloha při ochraně své niky pomocí antimikrobiálních působků, quorum sensing faktorů nebo kompetice o živiny.

I když není pochyb o tom, že se jedná o skupinu pacientek, jejíž geneze není jednotná, hlavním prostředkem, který se v současné době promiskue používá je antiinekční léčba a antimykotika. „*Za všechno mohou mikroby a je třeba bojovat za kultivačně negativní nálezy!*“ To je bohužel dogma řady našich kolegů, ze kterého nechtějí slevit.

Naopak smysluplné diagnostice v této oblasti se věnuje téměř nikdo a vše přebíjí preskripce protiinfekční a antimykotické léčby. Problematika vulvovaginálního dyskomfortu se z hlediska personalizované medicíny dostává na samé dno. Vzhledem k tomu, že se jedná o jeden z nejčastějších důvodů návštěvy gynekologické ambulance vůbec, nelze považovat tuto problematiku za marginální.

Práce se soustřeďuje na rozbor údajů souvisejících s diagnostickým úsilím, věnovaném této problematice. Jedná se o epidemiologické a demografické údaje, které byly získány v rámci širší populace a dále od skupiny s CVD. Byl vyhodnocován počet návštěv, četnost preskripce a fakta o tom, jak probíhala diagnostika. Výsledkem naší pilotní studie je zjištění úrovně diagnostického úsilí, které je této problematice věnováno. Naše závěry potvrzují diagnostickou apatii a nihilismus. Faktem zůstává, že právě v naší republice se této problematice z řad praktických gynekologů téměř nikdo nevěnuje a podle výsledků zpracování dotazníků je patrné, že zvláště u recidiv je snaha o objektivizaci obtíží minimální. „*Diagnostickým maximem*“ je kultivační vyšetření, které do problematiky jasno nemůže vnést a naopak o to důležitější mikroskopii nikdo neprovádí. Byl zjištěn zásadní odklon od personalizovaného přístupu, což může mít zejména do budoucna jenom a jenom negativní konsekvence.

Naše studie prokázala, že se v naprosté většině případů setkáváme s idiopatickou formou tohoto stavu a příčinu nedokážeme vysvětlit. Z uvedených výsledků je patrné, že se jedná většinou o ženy v produktivním věku, v naprosté většině případů zdravé, bez zjevného spouštěcího momentu a bez vztahu těchto vulvovaginálních obtíží k menstruačnímu cyklu. O závažnosti této problematiky vypovídá výskyt symptomů CVD během jednoho roku, kdy 85 (80,2%) pacientek udává obtíže více než 6x/rok.

Zarážející je počet gynekologů provádějících základní ambulantní vyšetření jako jsou pH pochvy a o něco náročnější, mikroskopické vyšetření nativního preparátu (1 gynekolog). Nepříznivým znamením je délka trvání obtíží, kdy 53 (50%) pacientek se neúspěšně léčí pro CVD více než dva roky (1 pacientka dokonce více než 15 let). Dalším alarmujícím zjištěním jsou počty předepsaných léků jednotlivým pacientkám (tab. 2) a preskripce léků bez adekvátního či dokonce jakéhokoliv vyšetření lékařem (17 pacientek, 22,7%). Toto vše svědčí o určité bezradnosti až lhostejnosti k této problematice. Jednorázové úspěšné terapeutické zvládnutí akutní ataky sporadické vaginitidy u většiny pacientek jakoby závažnost této problematiky zlehčuje. Avšak narůstající počet případů s chronickými obtížemi, kde se pravidelně dostáváme do diagnostických rozpaků činí následně terapeutické rozhodnutí často problematickým. Optimální snahou je proto naučit ambuluujícího lékaře na tuto problematiku správně reagovat.

Z hlediska celostního přístupu k těmto pacientkám je však třeba uvažovat i v rámci širších souvislostí. Známe určité faktory, které jsou dávány do souvislosti s možným narušením kvality poševního prostředí a které jsou považovány za rizikové. Například sexuální aktivita a s ní související praktiky změnu pH pochvy. Otázkou zůstává, zda výsledný účinek připadá na vrub zvýšeného pH a nebo jiných antimikrobních či imunologicky aktivních komponent ejakulátu. Například nechráněný sex vede k signifikantnímu zvýšení počtu *E.coli* v pochvě a také v moči, což sebou nese vyšší riziko i močových infekcí. Studium probiotik nepřímo naznačilo, že jedním z faktorů, který byl odpovědný za selhání kolonizace probiotickým kmenem, byl vaginální pohlavní styk ať už chráněný nebo nechráněný.^{52;53} V rámci našeho souboru se nám nepodařilo prokázat přímá souvislost mezi probíhajícím sexuálním životem a ataky VVD- ze 106 pacientek s CVD uvedlo sex jako spouštěč pouze 10 žen (9,5%).

Do dynamiky vývoje a stability vaginální mikrobioty zasahují významně i antibiotika. Jejich aplikace je považována za obecně rizikový faktor vzniku VVD, neboť nevyhnutelně zasahuje přirozenou mikrobiotu člověka. Dle našich výsledků lze konstatovat, že většina pacientek s CVD považuje aplikaci antibiotik jako velmi rizikovou, avšak podle našeho zjištění je toto způsobeno spíše intuitivním strachem z recidivy obtíží, která je aplikaci antibiotik v rámci širší populace takto vnímána.

Základní tezí této práce je předpoklad souvislosti mezi percepcí vulvovaginální oblasti a aktuálním stavem poševního. Podle naší hypotézy tak CVD zřejmě představuje multifaktoriálně podmíněnou situaci, jejíž součástí je i porušení ekologické rovnováhy poševního prostředí. Nemusí se však jednat o infekci a zánět, ani o dysmikrobiu. Možná je i pouhá dysbalance, která nastartuje známý kolotoč. Nosnou součástí práce je proto prospektivní mikroskopický monitoring u CVD, který nemá dosud v současné době obdobu. Je výjimečný jednak z hlediska počtu zachycených

pacientek, ale také vůči délce sledování. Cílem naší práce bylo také, jaká je skutečná prevalence rekurentní vulvovaginální kandidózy v naší části populace.

V porovnání se zdravými kontrolami považujeme za základní zjištění to, že v naprosté většině případů atak nebyla léčba indikovaná a tuto jsme ani neaplikovali. Neboť dle vyhodnocení mikroskopických nálezů, oproti zdravým kontrolám, prokázala naše práce významný deficit přítomnosti laktobacilů.

V další části je diskuse věnována vztahovým záležitostem, vztahu laktobacilů k ostatním mikroorganismům, z nichž někteří mohou být potencenálními patogeny. Tento vztah byl například prověřován u bakteriální vaginózy, dále byl zkoumán vztah laktobacilů respektive H_2O_2 ke kvasince *C. albicans*. Z velkého počtu studií je však obtížné vytvořit koncizní závěry o jejich protektivní roli u VVK. Znovunabytý zájem o tuto problematiku přichází zejména v souvislosti s novými molekulárními technologiemi a taxonomickými poznatky o laktobacilech. Ukazuje se, že snížené riziko vzniku kandidové infekce není primárně navázáno na přítomnost a počty laktobacilů, ale jejich schopnost produkovat peroxid vodíku, což je vlastnost, která je spojená jen s některými jejich druhy a kmeny. Z jedné studie vyplynulo, že přítomnost laktobacilů produkujících H_2O_2 korelovala s větší odolností k vulvovaginální kandidóze, ale ne k bakteriální vaginóze.^{3,54} Z dosavadního výzkumu srovnání žen s VVK se zdravými kontrolami nevyplývaly zásadní odlišnosti ve složení jejich mikrobioty a také pH, a proto mikrobiologické vyšetření založené na stanovení bakterií a pH nemá větší diagnostickou hodnotu. Předpokládá se, že VVK je alespoň pod částečnou kontrolou laktobacilů produkujících peroxid vodíku, ale inhibiční efekt na kvasinky, zvláště v podmínkách poševního prostředí, nebyl jednoznačně doložený a vysvětlený.³

Na druhé straně většina starších experimentů, na kterých stojí tyto závěry, byla provedena v době, kdy byl známý a studovaný jenom „jeden“ *L. acidophilus* a případné rozdíly považované za nitrodruhovou variabilitu. Kandidy můžeme najít nejenom u zdravých žen, ale prakticky u všech doposud popsanych atypických a patologických stavů v pochvě, BV počínaje a trichomonádovou vaginitidou konče. Přitom se ani zdaleka ne vždy musí jednat o smíšenou infekci nebo dysbiózu. Z tohoto důvodu je přítomnost kvasinky v pochvě relativně nejméně patognomická, zvláště pokud není doprovázena konverzí v hyfovou formu spolu příslušnými klinickými projevy a fyziologickými změnami v pochvě. Riziko, které z toho vyplývá, je rovněž zřejmé – diagnóza postavená pouze na nálezu kvasinky může být v mnoha případech zavádějící.^{55,56}

Na rozdíl od anaerobů tedy nelze interakci laktobacilů s kvasinkami hodnotit jednoznačně jako antagonistickou. Způsob jakým laktobacily

potlačují kvasinky, není dostatečně vysvětlen. Nejspíše neexistuje univerzální látka produkovaná některým z vaginálních mikrobů, která by potlačovala kandidy. Tvorba kyseliny mléčné, kyselé prostředí a přítomnost H₂O₂, hrají roli v kontrole kvasinek, ale zjevně ne jedinečnou a absolutní. Je nutné počítat i s jinými způsoby a prostředky, které snižují počty kvasinek. Možnými kandidáty jsou zmíněné látky typu bakteriocinů nebo antibiotik, možná v kombinaci s dalšími známými či neznámými faktory. Antifungální účinek bakteriocinů proti *C. albicans* byl popsán u cyklických dipeptidů a kyseliny fenylmléčné produkovaných *L. plantarum*, pentocinu *L. pentosus* či blíže neidentifikovatelného bakteriocinu u *L. jensenii*.⁵⁷⁻⁵⁹

Experimentální část naší práce se věnovala problematice quorum sensing látek. Neschopnost laktobacilů výrazněji potlačovat kandidy může vyplývat také z protektivního účinku farnesolu. Kandidy jsou prostřednictvím farnesolu adaptovány k oxidativnímu stresu, včetně působení H₂O₂. Zda se tento mechanismus může uplatnit v reálných podmínkách poševního prostředí je zpochybňováno pokusy, které ukázaly, že za anaerobních podmínek roste *C. albicans* přednostně ve vláknité formě, tudíž netvoří farnesol a ani není farnesolem ovlivňována.^{24;32} Klinicky relevantní však může být zjištění, že za nepřístupu vzduchu byla výrazně snížena citlivost *C. albicans* k antifungálním lékům, pravděpodobně alterací metabolismu ergosterolu.⁴³

Dosavadní poznatky o poševním ekosystému svědčí spíše o koexistenci laktobacilů s kandidami než o konkurenčním boji. Výskyt laktobacilů je nezávislý na vaginální kolonizaci kvasinkami, které tak představují více či méně přirozenou složku vaginální mikrobioty přítomnou u většiny žen.¹⁵ Vzhledem k tomu, že se jedná o prospektivní longitudinální studii a pacientky byly tím pádem v naší péči, řešili jsme i jejich další léčbu. Z hlediska personalizovaného přístupu je třeba obtíže související s VVD, dle našeho názoru, vyhodnocovat velmi uvážlivě a snažit se preskribovat antiinfekční léčbu pouze tam, kde je to nutné. Za majoritního vyvolavatele dlouhodobých obtíží jsou sice považovány kvasinky, nicméně závěry naší studie toto nepotvrzují a naopak poukazují na to, že v oblasti zevního genitálu a pochvy mohou mít právě tyto obtíže zcela odlišnou etiologii a je nutno počítat i se stavy, kde se jakákoliv antiinfekční léčba mívá účinkem a naopak je kontraproduktivní. Na významu nabývají i neinfekční příčiny a zejména využívání podpůrných léčebných prostředků.

9. ZÁVĚR

Výsledky naší studie potvrzují, že skupina pacientek s CVD není homogenním souborem. V naprosté většině případů nejsme schopni identifikovat vyvolávající patogen ani spouštěcí moment. Z hlediska

každodenní praxe tak vyvstává zásadní medicínský problém - absentuje perspnalisovaný přístup a dokola vše přebíjí antimykotická léčba.

Naše studie potvrdila, že kvasinková etiologie není tak častá, jak se všeobecně předpokládá. Mikroskopický monitoring pacientek potvrzoval klidové nálezy, tj. nepřítomnost zánětlivých změn. Převažujícím nálezem bývají velmi chudé mikroskopické s absencí laktobacilů. Dominující je tak potřeba protekce nikoliv pokračování v devastující antimikrobiální léčbě. Výsledky experimentální části jsou pilotní, aby tyto měli vypovídající hodnotu bude nutné soubor rozšířit.

Správný přístup k této problematice se obvykle odvíjí od zachování určité logické posloupnosti. Výsledkem tohoto snažení by mělo být efektivnější diagnosticko-terapeutické schema, které nás bude dále navádět: 1) Komplexní posouzení každého případu. 2)Úprava životního stylu. 3)Prospektivní mikroskopický monitoring považujeme za nejdůležitější diagnostický vstup. 4) Kultivační vyšetření a druhová identifikace etiologického agens je jen doplňující vyšetření. 5) V případě kvasinkové etiologie obtíží je nutné počítat s tím, že dominujícím agens je *C.albicans*, přítomnost ostatních kvasinek je však možná. 6)Je nutno počítat i se značnou diskrepancí mezi výrazně akcentovanými subjektivními příznaky a tomu neodpovídajícím chudým objektivním nálezem. 7) Jako nejdůležitější součást léčebného přístupu u pacientek s CVD vidíme potřebu protekce poševního prostředí nikoliv opakovaní antimykotické léčby. 8) U nálezů s absencí laktobacilů máme dobré zkušenosti s léčbou hormonální a probiotiky 9) Podpůrnou, ale zároveň nezbytnou součástí léčby je i odpovídající psychologický přístup.

10. POUŽITÁ LITERATURA

- (1) Zdolsek B, Hellberg D, Froman G, Nilsson S, Mardh PA. Vaginal microbiological flora and sexually transmitted diseases in women with recurrent or current vulvovaginal candidiasis. *Infection* 1995; 23(2):81-84.
- (2) Donders GG. Definition and classification of abnormal vaginal flora. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2007; 21(3):355-373.
- (3) Hillier SL, Krohn MA, Rabe LK, Klebanoff SJ, Eschenbach DA. The normal vaginal flora, H₂O₂-producing lactobacilli, and bacterial vaginosis in pregnant women. *Clin Infect Dis* 1993; 16 Suppl 4:S273-S281.
- (4) Nam H, Whang K, Lee Y. Analysis of vaginal lactic acid producing bacteria in healthy women. *J Microbiol* 2007; 45(6):515-520.
- (5) Vallor AC, Antonio MA, Hawes SE, Hillier SL. Factors associated with acquisition of, or persistent colonization by, vaginal lactobacilli: role of hydrogen peroxide production. *J Infect Dis* 2001; 184(11):1431-1436.
- (6) Forstl M, Spacek J, Buchta V, Cermak P, Kalousek I. [Differential diagnosis of inflammations of the vagina and external genitalia and possibilities and limits of microbiologic examination]. *Ceska Gynekol* 2005; 70(1):79-86.
- (7) Kestranek J, Jr., Buchta V, Spacek J, Forstl M, Kestranek J, Sr., Jilek P et al. [Multidisciplinary approach to the management of vulvovaginal discomfort]. *Epidemiol Mikrobiol Imunol* 2008; 57(1):23-27.
- (8) Giraldo P, von NA, Gomes FA, Linhares I, Neves NA, Witkin SS. Vaginal colonization by *Candida* in asymptomatic women with and without a history of recurrent vulvovaginal candidiasis. *Obstet Gynecol* 2000; 95(3):413-416.

- (9) Horowitz BJ, Giaquinta D, Ito S. Evolving pathogens in vulvovaginal candidiasis: implications for patient care. *J Clin Pharmacol* 1992; 32(3):248-255.
- (10) Kestranek J, Jilek P, Matula V, Buchta V, Gregor M, Spacek J. [What is the current stage of vulvovaginal discomfort diagnostics in the Czech Republic? Pilot analysis]. *Ceska Gynekol* 2013; 78(6):522-527.
- (11) Sihvo S, Hemminki E. Self-medication of dyspepsia: how appropriate is it? *Scand J Gastroenterol* 1997; 32(9):855-861.
- (12) Lascar RM, Devakumar H, Jungmann E, Copas A, Arthur G, Mercey D. Is vaginal microscopy an essential tool for the management of women presenting with vaginal discharge? *Int J STD AIDS* 2008; 19(12):859-860.
- (13) Berg AO, Heidrich FE, Fihn SD, Bergman JJ, Wood RW, Stamm WE et al. Establishing the cause of genitourinary symptoms in women in a family practice. Comparison of clinical examination and comprehensive microbiology. *JAMA* 1984; 251(5):620-625.
- (14) Buchta V, Spacek J. [Microbiological findings in patients with recurrent vulvovaginal candidiasis in the Hradec Kralove Faculty Hospital 1995-2002]. *Ceska Gynekol* 2004; 69(1):7-14.
- (15) Romero R, Hassan SS, Gajer P, Tarca AL, Fadrosh DW, Nikita L et al. The composition and stability of the vaginal microbiota of normal pregnant women is different from that of non-pregnant women. *Microbiome* 2014; 2(1):4.
- (16) Mašata J, Jedličková A, Poislová M, Mašatová D, Martan A. Současné možnosti diagnostiky vulvovaginálních infekcí. *Česka Gynekol* 2010; 75(2):111-117
- (17) Horowitz BJ, Mardh PA, Nagy E, Rank EL. Vaginal lactobacillosis. *Am J Obstet Gynecol* 1994; 170(3):857-861.
- (18) Hugenholtz P, Goebel BM, Pace NR. Impact of culture-independent studies on the emerging phylogenetic view of bacterial diversity. *J Bacteriol* 1998; 180(18):4765-4774.

- (19) Kumari A, Bishier MP, Naito Y, Sharma A, Solimene U, Jain S et al. Protective effect of an oral natural phytonutrient in recurrent vulvovaginal candidiasis: a 12-month study. *J Biol Regul Homeost Agents* 2011; 25(4):543-551.
- (20) Buchta V, Spacek J. [Pitfalls of the current laboratory diagnosis and treatment of vulvovaginal candidiasis]. *Klin Mikrobiol Infekc Lek* 2011; 17(5):158-163.
- (21) Aballea S, Guelfucci F, Wagner J, Khemiri A, Dietz JP, Sobel J et al. Subjective health status and health-related quality of life among women with Recurrent Vulvovaginal Candidosis (RVVC) in Europe and the USA. *Health Qual Life Outcomes* 2013; 11:169.
- (22) Cugini C, Calfee MW, Farrow JM, III, Morales DK, Pesci EC, Hogan DA. Farnesol, a common sesquiterpene, inhibits PQS production in *Pseudomonas aeruginosa*. *Mol Microbiol* 2007; 65(4):896-906.
- (23) Lengeler KB, Davidson RC, D'souza C, Harashima T, Shen WC, Wang P et al. Signal transduction cascades regulating fungal development and virulence. *Microbiol Mol Biol Rev* 2000; 64(4):746-785.
- (24) Hornby JM, Jensen EC, Lisec AD, Tasto JJ, Jahnke B, Shoemaker R et al. Quorum sensing in the dimorphic fungus *Candida albicans* is mediated by farnesol. *Appl Environ Microbiol* 2001; 67(7):2982-2992.
- (25) Hazen KC, Cutler JE. Autoregulation of germ tube formation by *Candida albicans*. *Infect Immun* 1979; 24(3):661-666.
- (26) Jabra-Rizk MA, Shirliff M, James C, Meiller T. Effect of farnesol on *Candida dubliniensis* biofilm formation and fluconazole resistance. *FEMS Yeast Res* 2006; 6(7):1063-1073.
- (27) Kruppa M. Quorum sensing and *Candida albicans*. *Mycoses* 2009; 52(1):1-10.
- (28) Lingappa BT, Prasad M, Lingappa Y, Hunt DF, Biemann K. Phenethyl alcohol and tryptophol: autoantibiotics produced by the fungus *Candida albicans*. *Science* 1969; 163(3863):192-194.

- (29) Hazen KC, Cutler JE. Isolation and purification of morphogenic autoregulatory substance produced by *Candida albicans*. *J Biochem* 1983; 94(3):777-783.
- (30) Oh KB, Miyazawa H, Naito T, Matsuoka H. Purification and characterization of an autoregulatory substance capable of regulating the morphological transition in *Candida albicans*. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001; 98(8):4664-4668.
- (31) Shchepin R, Hornby JM, Burger E, Niessen T, Dussault P, Nickerson KW. Quorum sensing in *Candida albicans*: probing farnesol's mode of action with 40 natural and synthetic farnesol analogs. *Chem Biol* 2003; 10(8):743-750.
- (32) Hornby JM, Kebaara BW, Nickerson KW. Farnesol biosynthesis in *Candida albicans*: cellular response to sterol inhibition by zaragozic acid B. *Antimicrob Agents Chemother* 2003; 47(7):2366-2369.
- (33) Sato T, Watanabe T, Mikami T, Matsumoto T. Farnesol, a morphogenetic autoregulatory substance in the dimorphic fungus *Candida albicans*, inhibits hyphae growth through suppression of a mitogen-activated protein kinase cascade. *Biol Pharm Bull* 2004; 27(5):751-752.
- (34) Gregus P, Vlckova H, Buchta V, Kestranek J, Krivcikova L, Novakova L. Ultra high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry analysis of quorum-sensing molecules of *Candida albicans*. *J Pharm Biomed Anal* 2010; 53(3):674-681.
- (35) Beranek M, Drastikova M, Buchta V, Kestranek J, Spacek J, Petera J. Jednosměrné sekvenování pcr produktů MBL2 genu pomocí polyadenylovaného sekvenačního primeru. *Chem. Listy*. 2012; 106:783-787.
- (36) Buchta V, Kestřánek J, Novaková L, Špaček J, Jílek P, Křivčíková L. Farnesol and tyrosol in the women with chronic vulvovaginal discomfort. 5th Trends in Medical Mycology, Poster P020 Mycoses. 2-5 October 2011, Valencia, Spain. Abstract, 2011; 54 (Suppl. 2): 66.

- (37) Chen H, Fujita M, Feng Q, Clardy J, Fink GR. Tyrosol is a quorum-sensing molecule in *Candida albicans*. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101(14):5048-5052.
- (38) Fidel PL, Jr., Ginsburg KA, Cutright JL, Wolf NA, Leaman D, Dunlap K et al. Vaginal-associated immunity in women with recurrent vulvovaginal candidiasis: evidence for vaginal Th1-type responses following intravaginal challenge with *Candida* antigen. *J Infect Dis* 1997; 176(3):728-739.
- (39) Giraldo PC, Babula O, Goncalves AK, Linhares IM, Amaral RL, Ledger WJ et al. Mannose-binding lectin gene polymorphism, vulvovaginal candidiasis, and bacterial vaginosis. *Obstet Gynecol* 2007; 109(5):1123-1128.
- (40) Henic E, Thiel S, Mardh PA. Mannan-binding lectin in women with a history of recurrent vulvovaginal candidiasis. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2010; 148(2):163-165.
- (41) Milanese M, Segat L, De SF, Pirulli D, Fabris A, Morgutti M et al. MBL2 genetic screening in patients with recurrent vaginal infections. *Am J Reprod Immunol* 2008; 59(2):146-151.
- (42) Spacek J, Jilek P, Buchta V, Forstl M, Hronek M, Holecikova M. The serum levels of calcium, magnesium, iron and zinc in patients with recurrent vulvovaginal candidosis during attack, remission and in healthy controls. *Mycoses* 2005; 48(6):391-395.
- (43) Kinsman OS, Pitblado K, Coulson CJ. Effect of mammalian steroid hormones and luteinizing hormone on the germination of *Candida albicans* and implications for vaginal candidosis. *Mycoses* 1988; 31(12):617-626.
- (44) Eschenbach DA, Patton DL, Meier A, Thwin SS, Aura J, Stapleton A et al. Effects of oral contraceptive pill use on vaginal flora and vaginal epithelium. *Contraception* 2000; 62(3):107-112.
- (45) Zariffard MR, Novak RM, Lurain N, Sha BE, Graham P, Spear GT. Induction of tumor necrosis factor- α secretion and toll-like receptor 2 and 4 mRNA expression by genital mucosal fluids from women with bacterial vaginosis. *J Infect Dis* 2005; 191(11):1913-1921.

- (46) Babula O, Lazdane G, Kroica J, Linhares IM, Ledger WJ, Witkin SS. Frequency of interleukin-4 (IL-4) -589 gene polymorphism and vaginal concentrations of IL-4, nitric oxide, and mannose-binding lectin in women with recurrent vulvovaginal candidiasis. *Clin Infect Dis* 2005; 40(9):1258-1262.
- (47) Jeremias J, Ledger WJ, Witkin SS. Interleukin 1 receptor antagonist gene polymorphism in women with vulvar vestibulitis. *Am J Obstet Gynecol* 2000; 182(2):283-285.
- (48) Lev-Sagie A, Prus D, Linhares IM, Lavy Y, Ledger WJ, Witkin SS. Polymorphism in a gene coding for the inflammasome component NALP3 and recurrent vulvovaginal candidiasis in women with vulvar vestibulitis syndrome. *Am J Obstet Gynecol* 2009; 200(3):303-306.
- (49) Witkin SS, Gerber S, Ledger WJ. Differential characterization of women with vulvar vestibulitis syndrome. *Am J Obstet Gynecol* 2002; 187(3):589-594.
- (50) Gupta SM, Aranha CC, Mohanty MC, Reddy KV. Toll-like receptors and cytokines as surrogate biomarkers for evaluating vaginal immune response following microbicide administration. *Mediators Inflamm* 2008; 2008:534532.
- (51) Leierová V. Vulvovaginální dyskomfort – příčinné faktory: diplomová práce. Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Univerzita Karlova v Praze, 2012; 105 s. Vedoucí dipl. práce Jílek P.
- (52) Fethers KA, Fairley CK, Hocking JS, Gurrin LC, Bradshaw CS. Sexual risk factors and bacterial vaginosis: a systematic review and meta-analysis. *Clin Infect Dis* 2008; 47(11):1426-1435.
- (53) Hay PE, Ugwumadu A, Chowns J. Sex, thrush and bacterial vaginosis. *Int J STD AIDS* 1997; 8(10):603-608.
- (54) Hawes SE, Hillier SL, Benedetti J, Stevens CE, Koutsky LA, Wolner-Hanssen P et al. Hydrogen peroxide-producing lactobacilli and acquisition of vaginal infections. *J Infect Dis* 1996; 174(5):1058-1063.

- (55) Lamont RF, Sobel JD, Akins RA, Hassan SS, Chaiworapongsa T, Kusanovic JP et al. The vaginal microbiome: new information about genital tract flora using molecular based techniques. *BJOG* 2011; 118(5):533-549.
- (56) Gajer P, Brotman RM, Bai G, Sakamoto J, Schutte UM, Zhong X et al. Temporal dynamics of the human vaginal microbiota. *Sci Transl Med* 2012; 4(132):132ra52.
- (57) Kaewsrichan J, Peeyananjarassri K, Kongprasertkit J. Selection and identification of anaerobic lactobacilli producing inhibitory compounds against vaginal pathogens. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2006; 48(1):75-83.
- (58) Kennedy MJ, Volz PA. Effect of various antibiotics on gastrointestinal colonization and dissemination by *Candida albicans*. *Sabouraudia* 1985; 23(4):265-273.
- (59) Klebanoff SJ, Hillier SL, Eschenbach DA, Waltersdorph AM. Control of the microbial flora of the vagina by H₂O₂-generating lactobacilli. *J Infect Dis* 1991; 164(1):94-100.

11. PUBLIKAČNÍ ČINNOST

12.1 Monografie a kapitoly v monografiích

Kestřánek J, Špaček J. Vulvodynie ve Vulvovaginální dyskomfort a poruchy poševního prostředí. Grada, Praha 2013; s.231-240.

Špaček J, Soukup T, Jílek P, Bavor J, Kestřánek J. Anatomické a histologické poznámky, ontogenetické aspekty vulvovaginální oblasti ve Vulvovaginální dyskomfort a poruchy poševního prostředí. Grada, Praha 2013; s.17-30.

Špaček J, Buchta V, Kestřánek J. Rozdělení vulvovaginálního dyskomfortu, možnosti diagnostiky v ambulanci ve Vulvovaginální dyskomfort a poruchy poševního prostředí. Grada, Praha 2013; s.93-112.

Špaček J, Buchta V, Jílek P, Kestřánek J. Vulvovaginální kandidóza ve Vulvovaginální dyskomfort a poruchy poševního prostředí. Grada, Praha 2013; s.155-178.

Buchta V, Špaček J, Jílek P, Kestřánek J. Rekurentní vulvovaginální kandidosa na začátku 3. tisíciletí ve Vulvovaginální dyskomfort a poruchy poševního prostředí. Grada, Praha 2013; s.177-196.

12.2 Původní články

Kestřánek J, Špaček J, Ryška P, Adamkov J, Matula V, Buchta V. Radiofrequency therapy for severe idiopathic vulvodinia. J Low Genit Tract Dis. 2013;17(4):1-4. **IF 1,21**

Kestřánek J, Jílek P, Matula V, Buchta V, Gregor M, Špaček J. Jaký je aktuální stav diagnostiky vulvovaginálního dyskomfortu v České republice? Pilotní analýza. Ceska Gynekol 2013; 78(6):522-527.

Kestřánek J, Špaček J, Matula V. Nový pohled na problematiku vulvodynie. Česká gynekologie, 2010; 75(6):521-526

Kestřánek J, Buchta V, Špaček J, Förstl M, Kestřánek J sr., Jílek P, Matula V. Problematika vulvovaginálního dyskomfortu z hlediska mezioborové spolupráce. EMI 2008; 57(1):23-27

Kestřánek J. Antiinfekční terapie v graviditě a laktaci. Gynekolog 2006; 16(3):107-109.

Gregus P, Vlckova H, Buchta V, Kestranek J, Krivcikova L, Novakova L. Ultra high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry analysis of quorum-sensing molecules of *Candida albicans*. J Pharm Biomed Anal 2010; 53(3):674-681. **IF 2,453**

Unzeitig V, Kestřánek J, Špaček J. Podání transfer-faktoru (IMUNOR) u žen s chronickým vulvovaginálním diskomfortem: výsledky klinické studie. Praktická gynekologie. 2012, 16(1):3-6

Beránek M, Draščíková M, Buchta V, Kestřánek J, Špaček J, Petera J. Jednosměrné sekvenování pcr produktů MBL2 genu pomocí polyadenylovaného sekvenačního primeru. Chem. Listy. 2012; 106:783-787.

Buchta V, Matula V, Kestřánek J, Vejsová M, Krivčíková L, Špaček J. Je diabetes mellitus rizikový faktor kvasinkového poševního zánětu? Ceska Gynekol 2013; 78(6):537-544.

Matula V, Kestřánek J, Buchta V, Broďák M, Špaček J. Jak dále v diagnostice kvasinek u gynekologických pacientek? Česka Gynekol 2010; 75(6): 547-552.

Špaček J, Buchta V, Jílek P, Krejsek J, Pidrman V, Kalousek I et al. Rekurentní vulvovaginální kandidóza - současný stav problematiky a léčebné možnosti. Česká Gynekol 2008; 73(3):179-184.

Špaček J, Buchta V, Kestřánek J. Vulvovaginální dyskomfort mykotického původu – současný stav a léčebné možnosti. Interní medicína pro praxi. 2012; 14(3):119-121.

Špaček J, Buchta V, Jílek P, Kestřánek J, Matula V. Quo vadis v antimykotické léčbě gynekologických obtíží na začátku třetího tisíciletí? Dermatologie pro praxi. 2011; 5(2): 81-85.

Špaček J, Buchta V, Jílek P, Halada P, Kestřánek J. Současné trendy v léčbě vulvovaginálního dyskomfortu. Medicína pro praxi 2011; 8(2):77-82.

Jiří Špaček, Petr Jílek, Vojtěch Matula, Jan Kestřánek Vliv vaginálního ekosystému na komplikace v graviditě Gynekológia pre prax. 2007, roč. 5, č. 4, s. 197-199.

Špaček, Vladimír Buchta, J. Kestřánek Vulvovaginální kandidóza - problém stále aktuálnější Gynekolog. 2006, Roč. 15, č. 4, s. 149-152

Řezáč A, Sedláková I, Tošner J, Špaček J, Kestřánek J, Kříž J.
Význam testování chemosenzitivity u ovariálního. Gynekolog.
2006, Roč. 15, č. 5, s. 193-196.

Náležinská M, Soukal A, Zachoval R, Kerekes Z, Kestřánek J,
Chovanec J. Schwannom v pánevní lokalizaci – kazuistika.
Gynekolog. 2014, 23(1):13-17.

Špaček J jr, Navrátil P, Kestřánek J, Špaček J, Doležal J, Broďák
M. Vezikouterinní vlasová píštěl osm let po cisářském řezu –
kazuistika. Česká gynekologie. 2013, 78(6):528-530.

12.3 Přehledové články

Kestřánek J. Diskuse na celostátním sjezdu gyn.-por. společnosti
v Českém Krumlově. Gynekolog 2004; 13(4):185-187.

12.4 Přednášky na odborných setkáních

Kestřánek J., Matula V., Dvořák O.: První zkušenosti s fixací
předního prolift like meshe do sakrospinózních ligament. Praktická
urogynekologie, Mělník 2010

Kestřánek J. Vulvodynie – pohled odborníka. Konference ČGPS a
SSG, Praha 2013

Kestřánek J, Špaček J. Jaké mikroskopické nálezy můžeme
očekávat u pacientek s chronickým vulvovaginálním
dyskomfortem?. 3. Konference sekce infekčních nemocí
v gynekologii a porodnictví, Praha 2010

Kestranek J, Matula V, Dvorak O. Fixation of anterior Prolift-like
mesh in sacrospinous ligaments – firts expirience (poster 438), 36.
annual meeting of the IUGA, 2011, Lisbon, Int Urogynecol J
2011; 22 (Suppl 3):1954.

Kestřánek J. Chronický vulvovaginální dyskomfort – problém
stále aktuálnější (poster). 4. česko – slovenská mezioborová
konference lékařské mykologie, 31.5.-2.6.2007, Pardubice 2007.

Kalousek I, Kopecky P, Kestranek J. Overactive bladder – Multimedia interactiv CD (poster 312), 33. annual IUGA meeting, Book of abstracts, Taipei 2008; S232.

Kalousek I, Kopecky P, Kestranek J. Success of stress incontinence treatment by means of TOT Ureas H system in the region of Hradec Králové (the Czech Republic) (poster P630), XIX FIGO World Congress of Gynecology & Obstetrics, 2009, Cape Town, Int J Gynecol Obstet 2009; 1:107.

Dvořák O, Kestřánek J, Matula V. Nekrotizující fasciitida - pooperační komplikace TOT. Praktická urogynekologie, Mělník 2010

Matula V., Kestřánek J.: Zkušenosti s využitím implantátů v terapii sestupu dna pánevního ve FN v letech 2006-2010, Praktická urogynekologie, Mělník 2010

Matula V, Dvořák O, Kestřánek J. TRANSURETRÁLNÍ MALINZERCE TOT–CASE REPORT. Praktická urogynekologie, Praha 2011

Dvořák O, Kestřánek J, Matula V. FIXACE PŘEDNÍHO PROLIFT-LIKE MESHE DO SAKROSPINÁLNÍCH LIGAMENT (12-18 MĚSÍČNÍ FOLLOW UP). Praktická urogynekologie, Praha 2011

Spacek J, Buchta V, Jilek P, Kalousek I, Kestranek J, Matula V. Gestagens in the management of recurrent vulvovaginal candidiasis. J Chemother. 2007; 19(supp. 3): 101.

Buchta V, Kestřánek J, Novaková L, Špaček J, Jílek P, Křivčíková L. Farnesol and tyrosol in the women with chronic vulvovaginal discomfort. 5th Trends in Medical Mycology, Poster P020 Mycoses. 2-5 October 2011, Valencia, Spain. Abstract, 2011; 54 (Suppl. 2): 66.