

Grzyby drożdżopodobne w układzie pokarmowym u dzieci i młodzieży chorujących na cukrzycę typu 1

Yeast-like fungi in the gastrointestinal tract in children and adolescents with diabetes type 1

¹Beata Kowalewska, ²Małgorzata Kawko, ³Katarzyna Zorena, ²Małgorzata Myśliwiec

¹Zakład Medycyny Tropikalnej i Epidemiologii Instytutu Medycyny Morskiej i Tropikalnej, Gdański Uniwersytet Medyczny

²Katedra i Klinika Pediatrii, Diabetologii i Endokrynologii, Gdański Uniwersytet Medyczny

³Zakład Ochrony Środowiska i Higieny Transportu Instytutu Medycyny Morskiej i Tropikalnej, Gdański Uniwersytet Medyczny

Streszczenie

W ciągu ostatnich lat częstość występowania infekcji grzybiczych w populacji ludzkiej znacznie wzrosła. Najczęściej atakującym ludzki organizm gatunkiem grzyba jest *Candida albicans*. Grzyby drożdżopodobne naturalnie występują w jamie ustnej, jelitach, pochwie czy na skórze, jednak są to ilości, które nie zagrażają zdrowiu człowieka. W dotychczasowych badaniach wykazano, że chorzy z cukrzycą typu 1 (T1DM) w dużym stopniu są narażeni na powikłania związane z rozwojem zakażeń grzybiczych. Wzrost grzybów obserwowany u chorych na cukrzycę może niekorzystnie wpływać na wyrównanie metaboliczne, prowadzić do zwiększenia zapotrzebowania na insulinę jak też trudnej do wyleczenia objawowej grzybicy. Ryzyko rozwoju dolegliwości związanych z zakażeniami grzybami drożdżopodobnymi jest tym większe, im bardziej jest osłabiona odporność immunologiczna u pacjentów chorujących na cukrzycę. W artykule dokonano przeglądu piśmiennictwa ostatnich lat, dotyczącego problemów związanych z występowaniem drożdżaków w układzie pokarmowym dzieci chorujących na cukrzycę typu 1.

Słowa kluczowe

grzyby drożdżopodobne, cukrzyca typu 1, dzieci i młodzież

Abstract

In recent years the frequency of fungal infections in human populations has increased considerably. The most common type of fungus attacking the human organism is *Candida albicans*. Yeast-like fungi occur naturally in the oral cavity, intestines, vagina, or skin, however in amounts not dangerous to human health. The studies so far have shown that patients with diabetes type 1 (T1DM) to a large degree are exposed to complications related to fungal infections. A substantial growth of fungi observed in diabetic patients may unfavorably affect metabolic compensation, and lead to increased demand for insulin, as well as to the difficult to cure symptom infections. The weaker the immune resistance in patients with diabetes, the greater the risk of ailments related to candidiasis. The article contains a review of recent literature regarding the problems related to occurrence of yeast-like fungi in digestive tract of children with diabetes type 1.

Key words

Yeast-like fungi, type 1 diabetes, children and adolescents

Wstęp

Od wielu lat systematycznie wzrasta liczba rozpoznawanych zakażeń grzybiczych. Najczęstszym czynnikiem zakażeń są grzyby drożdżopodobne z rodzaju *Candida*. Grzyby drożdżopodobne są szeroko rozpowszechnione w przyrodzie,

a także bytują w środowisku naturalnym człowieka jako egzogenne saprofity [1,3]. W warunkach fizjologicznych *Candida* sp. występują w niewielkiej ilości komórek, wchodzą w skład naturalnej mikroflory ludzkiego organizmu, kolonizują błony śluzowe jamy ustnej, przewodu pokarmowego jak też dróg rod-

nych kobiet [1–3]. Gatunkiem najczęściej izolowanym z różnych ontocenoz jest *Candida albicans* [4]. Grzyby z rodzaju *Candida* są to organizmy, które występują w formie jednokomórkowej w postaci drobnych, cienkościennych, kulistych lub owalnych komórek wegetatywnych, rozmnażających się poprzez pączkowanie. Wiele gatunków *Candida* posiada zdolność tworzenia pseudostrzępek, *Candida albicans* tworzy także strzępki właściwe [3–4]. Obecnie znanych jest ok. 190 gatunków z rodzaju *Candida*, z czego na podstawie wieloletnich badań za patogenne uznaje się co najmniej 15 gatunków: *C. albicans*, *C. catenulata*, *C. dubliniensis*, *C. guilliermondii*, *C. kefyr*, *C. krusei*, *C. lusitanae*, *C. parapsilosis*, *C. pulcherrima*, *C. tropicalis*, *C. zeylanoides*, *C. dattila*, *C. famata*, *C. glabrata*, *C. inconspicua* [5–6].

Od wielu lat prowadzone są badania nad inwazyjnością drożdżaków z rodzaju *Candida*, jednak nadal określenie, w którym momencie kończy się nosicielstwo, a zaczyna inwazja, kiedy należy stosować profilaktykę przeciwgrzybiczą, nie jest rozstrzygnięte. Samo zasiedlenie przewodu pokarmowego przez grzyby nie oznacza jeszcze infekcji. W rozwoju kandydozy ważną jest liczba komórek grzyba atakującego błonę śluzową i jego wirulencja zależna od zdolności namnażania, zjawiska adherencji, produkcji enzymów oraz toksycznych metabolitów [1–2, 7–8]. Przyjmuje się, że grzyby z rodzaju *Candida* mogą występować bezobjawowo w układzie pokarmowym u 6–60% osób zdrowych. W zdrowym organizmie ludzkim, przy prawidłowo działających mechanizmach obronnych, nie dochodzi do rozwoju zakażenia grzybiczego. Natomiast pojawienie się czynnika, który umożliwia zwiększenie liczby komórek grzyba, zapoczątkowując ich penetrację w głąb tkanki, może doprowadzić do rozwoju objawowej kandydozy [4,9]. Zakażenie następuje w wyniku zaburzeń w mechanizmach obronnych organizmu gospodarza. Grupą ryzyka szczególnie narażoną na rozwój infekcji grzybiczej są chorzy z zaburzeniami układu immunologicznego – wrodzonymi lub nabytymi niedoborami odporności, z chorobami nowotworowymi oraz osoby chorujące na cukrzycę typu 1 (T1DM) jak też cukrzycę typu 2 (T2DM) [7–8,10–12]. Patogenność grzybów drożdżopodobnych zależy między innymi od zdolności przylegania, produkcji toksyn i enzymów, dimorfizmu, zmienności fenotypowej czy też mimikry molekularnej [13–14].

Czynniki patogenne mające wpływ na wirulencję grzybów drożdżopodobnych

Zdolność przylegania

Adherencja grzybów drożdżopodobnych stanowi wstępny etap zasiedlenia przez komórki grzyba określonych tkanek żywiciela. Szczepy *C. albicans* cechują najsilniejsze właściwości adherencji, posiadają one zdolność przylegania do komórek i tkanek żywiciela. Adherencja *C. albicans* do komórek nabłonkowych, śródbłonkowych, płytek krwi, leukocytów jak też limfocytów jest kluczowym etapem rozwoju kandydozy jamy ustnej, przełyku, jelit, cewki moczowej lub pochwy [13–15]. *C. albicans*

wykazują również zdolność przylegania do receptorów białkowych umiejscowionych zewnątrzkomórkowo, np. białka śliny, białka macierzy zewnątrzkomórkowej, w tym kolagenu, elastyny, lamininy, fibronektyny czy też vitronektyny, a także albuminy, fibrynogenu, transferyny oraz białka dopełniacza. Adherencja drobnoustroju do komórek układu odpornościowego (makrofagów i neutrofilii, a także do fibroblastów i komórek nabłonkowych) umożliwia proces endocytozy, a następnie fagocytozy [16,17]. Dotychczasowe badania wykazały, że zjawisku adherencji sprzyja stan zaburzonej homeostazy organizmu i w tym procesie zaangażowane są białka adhezyjne (*intracellular adhesion molecule*, ICAM). W organizmach wielokomórkowych są to białka należące do nadrodziny białek immunoglobulinopodobnych, uczestniczące w interakcjach międzykomórkowych w tkance. Pełnią także ważną rolę w procesie odpornościowym organizmu, biorąc udział w przyleganiu leukocytów do śródbłonna, ich aktywacji migracji do miejsca zapalenia. Przykładami tego rodzaju białek mogą być białka *platelet endothelial cell adhesion molecule-1*, PECAM-1/CD31, które wiążą ze sobą komórki śródbłonna oraz wyznaczają drogę leukocytów przez śródbłonek. Ponadto cząsteczki ICAM uczestniczą w procesach zapalnych, wiążąc leukocyty i adhezynę występującą na powierzchni błon śluzowych (*mucosal addressin-cell adhesion molecule 1*, MAdCAM-1) [14,17,18]. W licznych badaniach wykazano również istotny wpływ wydzielniczej immunoglobuliny A (sIgA, *secretory IgA*) zawartej w ślinie na zjawisko adhezji grzybów drożdżopodobnych do powierzchni nabłonka. Dowiedziono, iż sIgA poprzez wiązanie z adhezynami drobnoustrojów blokuje ich połączenie z receptorami komórek nabłonkowych gospodarza i tym samym hamuje kolonizację i dalszą inwazję dotkankową drobnoustroju [19, 20]. Na rozwój zakażeń grzybami drożdżopodobnymi narażone są szczególnie dzieci poniżej 12 roku życia, u których bariery ochronne przewodu pokarmowego nie są w pełni dojrzałe immunologicznie. Dzieci rodzą się z zaprogramowaną odpornością wrodzoną – naturalną, nieswoistą. Ochraniane są przez matczyne przeciwciała oraz czynniki obronne znajdujące się w mleku matki. Wraz z wiekiem stopniowo uzyskiwana jest swoista odpowiedź immunologiczna. Zobrazować to mogą wyniki badań przeprowadzone w grupie 203 osób podzielonych na różne grupy wiekowe. Najniższe wartości IgA w ślinie zanotowano wśród dzieci w grupie wiekowej 1–10 lat. Średnie stężenie IgA w ślinie stopniowo wzrastało w poszczególnych grupach wiekowych, by osiągnąć wartość maksymalną u 51–60-latków. Następnie odnotowano spadek stężenia IgA w grupie 61–70-latków [21]. Podobne wyniki badań zostały przedstawione w publikacji Tappuniego i wsp., w której to autorzy wykazali, że stężenie IgA było wyższe u osób dorosłych niż u dzieci [22].

Zdolność produkcji enzymów i toksyn przez grzyby drożdżopodobne

W patogennej roli grzybów znane jest także działanie toksyn i enzymów hydrolitycznych produkowanych przez komórki grzybów. Toksyny i enzymy produkowane i uwalniane w trakcie rozmnażania i obumierania komórek grzybów inicjują proces zapalny poprzez efekt cytopatogeny prowadzący do uszkodzenia

komórek nabłonka [23–25]. *Candida albicans* wytwarza enzymy hydrolityczne, co ułatwia adhezję patogenu do komórek gospodarza i jest związane z kolonizacją błon śluzowych. Umożliwia to penetrację tkanek oraz trawienie komórek odpornościowych i przeciwciał, a zwiększona aktywność enzymatyczna koreluje ze zwiększoną wirulencją szczepu w badaniach *in vitro* [9]. Wykazano, iż enzymami, które odgrywają najważniejszą rolę w chorobotwórczości grzybów z rodzaju *Candida*, są proteazy i fosfolipazy [23–25]. Proteazy hydrolizują wiązania peptydowe białek gospodarza, również białek mających wpływ na odpowiedź organizmu na zakażenie grzybami. Ponadto wykazano, że proteazy przyczyniają się do niszczenia tkanek gospodarza, polegającego na degradacji keratyn i kolagenu w miejscu inwazji, i tym samym ułatwiają grzybom przyleganie do nabłonka i zajęcie tkanek. Prawdopodobnie wydzielanie kwaśnych proteinaz może chronić komórki *Candida* przed fagocytozą przez komórki gospodarza. Natomiast fosfolipazy odpowiedzialne są za hydrolizę fosfolipidów, ułatwiając penetrację tkanek i rozprzestrzenianie drożdżaków w organizmie żywiciela [26].

Zmienność morfologiczna jako czynnik wirulencji grzybów

Zmienność morfologiczna jest uważana za ważny czynnik wirulencji grzybów drożdżopodobnych. Drobnoustroje gatunku *C. albicans* mogą występować w formie drożdżowej (blastospory), określane jako forma Y (*Yeasts*), lub w formie mycelialnej M (*Mycelium*), zawierającej strzępki rzekome lub prawdziwe. Konwersja formy Y w formę M związana jest ze zmianami środowiska: temperatura powyżej 35°C; pH wyższe niż 6.5; niska zawartość tlenu oraz podłoża mikrobiologicznych zawierających m.in. *N*-acetyloglukozaminę, prolinę, alkohol lub surowicę [27–28]. Co więcej, autorzy w swoich badaniach wykazali, że wytworzenie form nitkowych wiąże się również ze zmianami zachodzącymi w komórce grzyba. Zmiany dotyczą przede wszystkim reorganizacji cytoskieletu, składu ściany komórkowej, gdyż strzępki grzyba zawierają więcej chityny niż komórki drożdżowe, oraz syntezy białek strukturalnych i enzymatycznych [29]. Zmiany te decydują też o różnych właściwościach adhezyjnych i patogennych obu form grzyba. Wczesne stadia infekcji związane są z formą drożdżową, posiadającą w ścianie białka biorące udział w rozpoznawaniu komórek gospodarza oraz bardziej odporną na działanie fagocytów. W późniejszych zaś stadiach pojawiają się formy mycelialne, łatwiej wnikające w głąb tkanki, umożliwiając jej zajęcie [29]. W ostatnich latach zidentyfikowano geny odpowiedzialne za kontrolę morfogenezy grzybów *C. albicans*, która jest złożonym procesem uwarunkowanym genetycznie. Podstawowym genem supresorowym filamentacji jest gen TUP1. Regulacja pozytywna odbywa się głównie szlakiem kinazy A zależnej od cAMP-PKA (*cAMP dependent protein kinase A*) oraz kinazy aktywowanej mitogenem (*mitogen activated protein kinase*) [30].

Zmienność fenotypowa mająca wpływ na patogenność rodzaju *Candida*

Kolejnym czynnikiem mającym wpływ na patogenność rodzaju *Candida* jest zmienność fenotypowa polegająca na

występowaniu różnych fenotypów w obrębie gatunku. Poszczególne fenotypy tego samego gatunku mogą różnić się właściwościami biochemicznymi i metabolizmem, zdolnościami adhezyjnymi, produkcją enzymów i toksyn, odpornością na leki, co pozwala drożdżakom omijać obronę gospodarza [31].

Mimikra molekularna

Zjawisko mimikry molekularnej polega na występowaniu u grzybów antygenów podobnych do antygenów gospodarza, co umożliwia drobnoustrojom maskowanie się przed układem immunologicznym i jest jedną ze strategii unikania odpowiedzi immunologicznej przez grzyby [32].

Odpowiedź immunologiczna organizmu na zakażenia grzybami drożdżopodobnymi z rodzaju *Candida*

Rodzaj i natężenie odpowiedzi immunologicznej zależne są od rodzaju infekcji i ich nasilenia. Istotną funkcję w procesach obrony przed zakażeniem *Candida* pełnią mechanizmy odporności związane ze swoistą odpowiedzią komórkową, w której ważną rolę odgrywają limfocyty T oraz odpowiadające za odporność nieswoistą neutrofile, monocyty oraz makrofagi fagocytykujące komórki drożdżaków. W zakażeniach systemowych istotna jest odporność komórkowa ze szczególnym udziałem makrofagów i fagocytozy, podczas gdy w zakażeniach błon śluzowych ważne znaczenie w ochronie mają limfocyty CD4. Mechanizmy eliminacji komórek patogenu muszą być dokładnie regulowane, aby zapobiec uszkodzeniu narządu lub tkanki [33].

Rola odpowiedzi komórkowej i humoralnej na zakażenia grzybami drożdżopodobnymi z rodzaju *Candida* w przebiegu cukrzycy typu 1

Jedną z ogólnoustrojowych chorób predysponujących do zakażeń grzybiczych jest cukrzyca typu 1. W świetle ostatnich badań osoby chorujące na cukrzycę mają większą predyspozycję do rozwoju zakażeń grzybiczych, a przebieg infekcji może być u nich cięższy [34–36]. Autorzy w swoich badaniach wykazali, że jedną z przyczyn zwiększonej podatności na zakażenia grzybicze u osób chorujących na cukrzycę są zaburzenia metaboliczne, prowadzące między innymi do upośledzenia nieswoistych i swoistych mechanizmów obrony zarówno komórkowej, jak i humoralnej [34]. W retrospektywnych badaniach kohortowych, przeprowadzonych w okresie od czerwca 1995 r. do czerwca 2003 r. u 87 chorych na cukrzycę oraz z kandydemią (*C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. krusei*) wykazano, że hiperglikemia upośledza odpowiedź immunologiczną organizmu, niekorzystnie wpływa na liczbę leukocytów oraz fibroblastów [36]. Autorzy sugerują, że ciężka hiperglikemia oraz kandydemia są ważnymi wskaźnikami zwiększonej śmiertelności wśród hospitalizowanych chorych na cukrzycę typu 2 [36]. Koh i wsp. zwracają szczególną uwagę na zaburzenia w chemotaksji neutrofilii, adhezji i zdolności wewnątrzkomórkowego zabijania patogenów [35]. Natomiast u pacjentów z T1DM oraz hiperglikemią zaobserwowano także

zwiększenie ilości białek wiążących produkty przemiany składnika dopełniacza C3, iC3b, iC3d na powierzchni komórek *C. albicans* [17, 36–37]. Układ dopełniacza jest częścią wrodzonego układu odpornościowego, który wytworzył mechanizmy odróżniania antygenów własnych od obcych. Odróżnianie to odbywa się na podstawie obecności w tkankach gospodarza cząsteczek regulacyjnych, hamujących aktywację dopełniacza. Komplement ulega aktywacji w każdym przypadku uszkodzenia tkanek. Ponadto bierze udział w zabijaniu drobnoustrojów, wzbudzaniu i wzmacnianiu odpowiedzi immunologicznej oraz eliminacji kompleksów immunologicznych [17, 37]. Białko iC3b jest ligandem, który gdy zostanie wykształcony na powierzchni komórki grzyba, jest rozpoznany przez receptor dopełniacza CR3, znajdujący się na różnych komórkach gospodarza, w tym na neutrofilach i makrofagach. Co więcej, receptor dopełniacza CR3 uczestniczy w rozpoznawaniu drobnoustrojów zopsynizowanych przez iC3b i stanowi jeden z ligandów dopełniacza C3b (CR1), C3d (CR2) iC3g (CR4). Autorzy sugerują, że podobieństwo antygenów powierzchniowych komórki może spowodować uniknięcie mechanizmów obronnych gospodarza przez drobnoustroje [17, 37]. Dotychczasowe badania wykazały, że podstawową rolę w obronie przed zakażeniami grzybiczymi pełni fagocytoza jak też odporność komórkowa. Fagocytoza jest to zjawisko polegające na wychwytywaniu i wchłanianiu drobnych cząsteczek organicznych, m.in. bakterii, pierwotniaków, grzybów i wirusów, przez komórki układu odpornościowego. Energia potrzebna do prawidłowego przebiegu fagocytozy uzyskiwana jest w procesie glikolizy. Jednakże u pacjentów chorujących na cukrzycę typu 1 niedobór insuliny upośledza proces glikolizy, przez co również zaburzony jest przebieg fagocytozy. Mimo że u pacjentów z cukrzycą typu 1 istnieje nadmiar glukozy, to brak insuliny sprawia, że w leukocycie nie może dojść do wytworzenia odpowiedniej ilości energii potrzebnej do zniszczenia pasożyta [10, 12, 36]. W prawidłowych warunkach fagocytoza drobnoustrojów w ciągu kilku sekund pobudza procesy oddechowe, powodując powstanie związków tlenowych, które są bardzo toksyczne dla patogennych drobnoustrojów. Jednak przy wysokim poziomie glukozy u chorych na cukrzycę najprawdopodobniej dochodzi do zaburzenia tworzenia związków tlenowych, przez co osłabiona może być zdolność do wewnątrzkomórkowego zabijania drobnoustrojów. Ponadto zakażenia grzybami drożdżopodobnymi występują częściej u osób z niewyrównaną glikemią [36, 38]. W badaniach *in vitro* wykazano, że w odpowiedzi na antygeny *Candida* dochodzi do rozwoju odpowiedzi immunologicznej typu Th1, charakteryzującej się zwiększeniem produkcji interleukiny 2 (IL-2) oraz interferonu gamma (IFN- γ), przy niskim stężeniu interleukiny 4 (IL-4) oraz interleukiny 10 (IL-10) [39–41]. Badania ostatnich lat dowiodły, że przewód pokarmowy jest głównym rezerwuarem grzybów *Candida* i stanowi punkt wyjścia dla ich destrukcyjnej działalności, mogąc być źródłem zakażenia innych narządów. Masywny wzrost grzybów może wpływać nie tylko na wystąpienie objawowej grzybicy, ale również mieć negatywny wpływ na przebieg cukrzycy. U pacjentów chorujących na cukrzycę zakażenia grzybicze wpływają niekorzystnie na wyrównanie metaboliczne. W trakcie infekcji grzybami drożdżopodobnymi

mi wzrasta zapotrzebowanie na insulinę i trudniej jest uzyskać normoglikemię [8, 12, 34, 36].

Zakażenia grzybicze jamy ustnej dzieci chorujących na cukrzycę typu 1

Autorzy w dotychczasowych badaniach wykazali, że u pacjentów z cukrzycą grzyby z rodzaju *Candida* częściej i w większej liczbie zasiedlają jamę ustną niż u ludzi zdrowych [42–45]. Kumar i wsp. wykryli obecność grzybów drożdżopodobnych w jamie ustnej u 83,6% osób z cukrzycą typu 1 i 68,5% z cukrzycą typu 2 i tylko 27% u osób bez cukrzycy. Również Tapper-Jones i wsp. wykryli obecność grzybów u 60% pacjentów z cukrzycą typu 1 i 42% zdrowych [43]. U 75% pacjentów z cukrzycą i 35,1% bez cukrzycy (wiek 9–76 lat) stwierdzono obecność drożdżaków w badaniach Bartholomew i wsp. [44]. Interesujące wyniki badań przedstawili włoscy badacze Majorana i wsp. [45]. Autorzy dokonali przeglądu różnych zmian chorobowych występujących w jamie ustnej u 10128 dzieci do 12 roku życia. Analizowali dwie grupy: dzieci chore, m.in. na cukrzycę, astmę, kardio- i nefropatię, choroby hematologiczne, przeszczepy, pierwotne i wtórne niedobory odporności, encefalopatie, oraz dzieci zdrowe. Badacze wykazali, że grzybica była najczęstszą przyczyną zmian w jamie ustnej, stwierdzoną u 28,4% dzieci. Wykrywana była częściej u dzieci chorych niż u dzieci zdrowych. Co więcej, grzybica jamy ustnej była najczęstszą przyczyną zmian chorobowych wykrytych u ok. 75% badanych dzieci z cukrzycą [45].

Obecność grzybów drożdżopodobnych w przewodzie pokarmowym u dzieci chorujących na cukrzycę typu 1

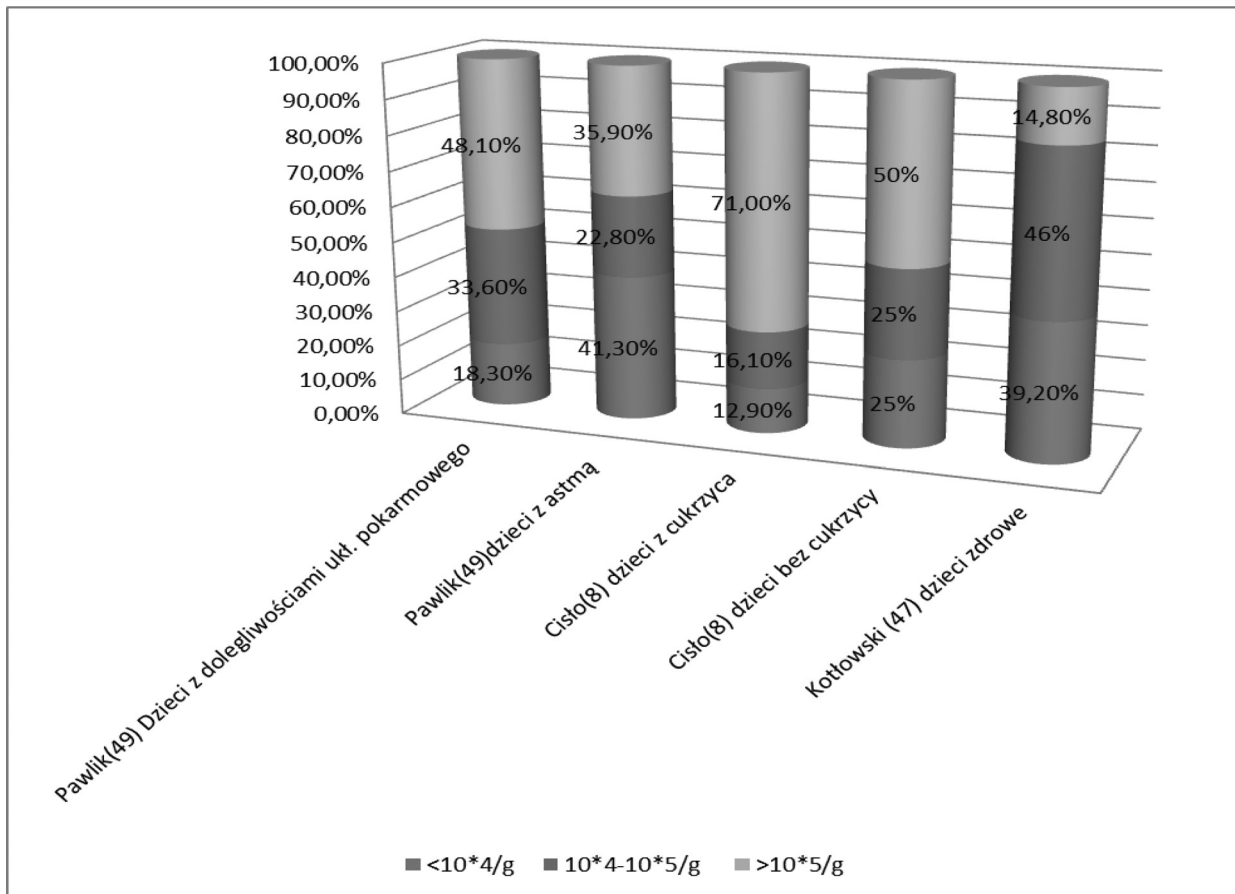
W dostępnych publikacjach najczęściej wykrywanym grzybem drożdżopodobnym w przewodzie pokarmowym był gatunek *Candida albicans*. W pojedynczych przypadkach stwierdzano obecność również innych gatunków grzybów drożdżopodobnych: *C.krusei*, *C.glabrata*, *C.parapsilosis*, *C.tropicalis*, *C.guilliermondii*, *C.famata*, *C.lusitaniae*. Ciekawy wydaje się fakt, że w badaniach dorosłych, mimo iż dominującym gatunkiem był *C.albicans*, to jednak inne gatunki z rodzaju *Candida* były wykrywane w znacznie większych ilościach niż u dzieci. Gatunek *C.albicans* u dzieci stanowił 91,7% wszystkich wyhodowanych grzybów, u dorosłych zaś tylko 37,4% [46]. U dzieci z cukrzycą częściej wykrywano infekcje więcej niż jednym gatunkiem grzyba w porównaniu do badanych dzieci z innymi jednostkami chorobowymi [35]. W rozwoju kandydozy ważna jest liczba komórek grzyba atakującego błonę śluzową i jego wirulencja, zależna od zdolności namnażania, zjawiska adhezencji, produkcji enzymów oraz toksycznych metabolitów [8]. W dotychczasowych badaniach wykazano, że grzyby *Candida* mogą występować bezobjawowo w układzie pokarmowym u 6–60% osób zdrowych. W badaniach własnych wykryto grzyby *Candida* w kale u 62,9% zdrowych dzieci [47]. Podobnie

wyniki badań innych autorów wykazały, że grzyby wyhodowano u 66,5% badanych zdrowych dzieci w kale i u 61 % w jamie ustnej [8]. Autorzy zaobserwowali, że przed rozwinięciem objawowej grzybicy wykryto zwiększenie ilości komórek grzybów w poszczególnych ontocenozach. Wyniki badań przedstawiono na ryc. 1 [8, 47–49].

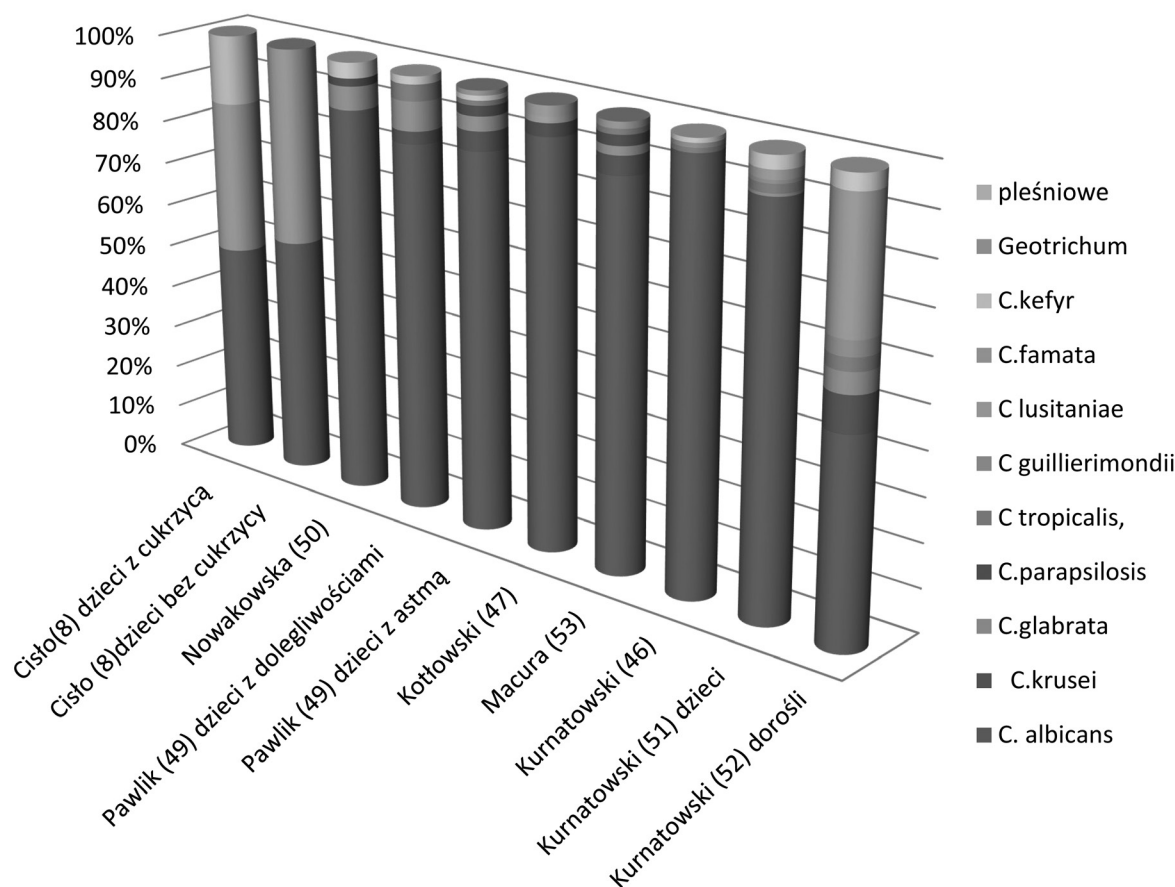
Dlatego ważne jest badanie ilościowe grzybów w płwocinie, moczu jak też kale. W dotychczasowych doniesieniach autorzy podkreślają fakt, że u osób z cukrzycą ilość wyhodowanych grzybów była często wyższa niż u osób zdrowych [8, 12, 16]. Autorzy prac często przyjmują, że istotna diagnostycznie dla zakażenia grzybami jest obecność ponad 10^5 komórek w 1 g kału. Liczbę poniżej 10^3 komórek w 1 g kału można uznać za nieistotną, zaś w przypadku ilości 10^4 – 10^5 komórek grzybów wymagane są badania kontrolne [8,49]. Odsetek osób z diagnostycznie zwiększoną liczbą grzybów w przewodzie pokarmowym wyhodowanych od osób z cukrzycą (67,7%) jest wyższy niż uzyskany w ilościowych posiewach od osób zdrowych lub z innymi dolegliwościami (14,8%–50%) [48,50]. Cisto i wsp. w badaniach dotyczących występowania grzybów w przewodzie pokarmowym, dzieci z cukrzycą typu 1 wyhodowali grzyby

w kale u 91% dzieci, a w popłuczynach jamy ustnej u 92,5% dzieci. U dzieci zdrowych grzyby wyhodowano odpowiednio u 66,5% w kale i 61% w jamie ustnej [8]. W innych badaniach dotyczącej flory bakteryjnej i grzybiczej dzieci z cukrzycą grzyby wyhodowano tylko w 44,6% przypadkach. Materiał stanowiły mocz, wymazy z jamy ustnej i gardła oraz okolic cewki moczowej lub przedstonka pochwy [50]. W badaniach dotyczących dzieci z dolegliwościami ze strony przewodu pokarmowego oraz z astmą grzyby wykryto w kale u 76% dzieci – 83,6% dzieci z astmą i 70,3% dzieci z zaburzeniami układu pokarmowego [49]. W badaniach Kurnatowskiego i wsp. obejmujących dzieci z przewlekłymi bólami brzucha obecność grzybów stwierdzono u 78% badanych [51]. W kolejnej publikacji Kurnatowskiego i wsp. dotyczącej dzieci z dolegliwościami ze strony przewodu pokarmowego prewalencja grzybów w układzie trawiennym dzieci wyniosła 69,8% [52].

Interesujące wyniki badań przedstawił zespół Macury i wsp. [53]. Autorzy opublikowali wyniki retrospektywnej analizy pięcioletniego okresu badań mikologicznych kału pacjentów z dolegliwościami przewodu pokarmowego. Badaniu poddano zarówno dzieci, jak i osoby dorosłe. Z 2242 przebadanych



Ryc. 1. Procent komórek grzybów w poszczególnych ontocenozach
 Fig. 1. The percentage of fungal cells in individual ontocenoses



Ryc. 2. Zestawienie wyników badań wyizolowanych gatunków grzybów drożdżopodobnych u dzieci oraz osób dorosłych
Fig. 2. A list of study results for yeast species isolated in children and adults

pacjentów z dolegliwościami przewodu pokarmowego grzyby z kału wyhodowano w 1378 przypadkach, co stanowiło 61,5%. Badacze zaobserwowali tendencję wzrostową w częstotliwości izolacji grzybów z kału zależną od wieku. U niemowląt prevalencja wynosiła 35,8% u dzieci w wieku 1–3 lat 64,8%, 4–10 lat 51,7%, 11–30 lat 61,0%, 31–59 lat 64,8% natomiast powyżej 60 roku życia 82,4% [53]. Zestawienie wyników badań wyizolowanych gatunków grzybów u badanych osób w omówionych publikacjach przedstawiono na ryc. 2 [8, 46–47, 50–53].

Reasumując, u zdrowych osób przewód pokarmowy zasiedlony jest przez występujące w niewielkich ilościach grzyby drożdżopodobne niewywołujące dolegliwości. Natomiast w sprzyjających warunkach dla grzyba w organizmie ludzkim może nastąpić rozwój grzybiczy. Nieliczne dotychczas badania dotyczące dzieci z cukrzycą typu 1 wykazały, że grzyby drożdżopodobne zasiedlają ich przewód pokarmowy częściej niż dzieci zdrowych. Równoczesne zakażenie więcej niż jednym gatunkiem grzyba jest częstsze u pacjentów chorujących na cukrzycę typu 1 niż u osób bez cukrzycy. Co więcej, dzieci z cukrzycą typu 1 w większym stopniu narażone są na powi-

klania związane z rozwojem zakażeń grzybiczych. Masywny wzrost grzybów, obserwowany u pacjentów, może wpływać niekorzystnie na przebieg cukrzycy, powodując trudności z wyrównaniem metabolicznym, zwiększenie zapotrzebowania na insulinę, jak też prowadzić do trudnych do wyleczenia zakażeń objawowych. Ryzyko rozwoju poważnych dolegliwości powiązanych z grzybicą będzie tym większe, im więcej czynników ryzyka pojawi się u danej osoby (osłabiona odporność immunologiczna, stosowanie antybiotyków) i im bardziej patogeny będzie szczep wyizolowany od pacjentów z cukrzycą. Biorąc pod uwagę powyższe przesłanki, autorzy niniejszego artykułu uważają, że ważna jest wczesna profilaktyka i leczenie infekcji grzybiczych. Należałoby rozważyć wykonywanie badań mikologicznych w rutynowych badaniach dzieci z cukrzycą, w tym również badań ilościowych kału. W przypadku izolacji grzybów drożdżopodobnych konieczne jest określenie ich lekooporności ze względu na pojawianie się coraz większej ilości szczepów opornych na ogólnie stosowane leki.

Konflikt interesów: Autorzy nie zgłaszają konfliktu interesów

Piśmiennictwo

1. Arendrup MC. *Candida and candidaemia. Susceptibility and epidemiology*. Dan Med J. 2013 Nov; 60(11): B4698.
2. Richardson M, Warnock DW. *Grzybnice. Rozpoznanie i leczenie*. Springer PWN 1995.
3. Dynowska M, Góralaska K, Szewczyk T et al. *Godne uwagi gatunki grzybów izolowane z przewodu pokarmowego osób poddanych endoskopii – badania rekonesansowe*. Mikol Lek. 2008; 15(2): 80-83.
4. Macura A. *Patomechanizm zakażeń grzybiczych*. [W:] E Baran (red.) *Zarys mikologii lekarskiej*. Wrocław Volved, 1998: 297-309.
5. Odds FC. *Candida and Candidosis: A review and bibliography*. London, Balliere Tindall, 1988.
6. Jordan RP, Williams DW, Moran GP et al. *Comparative adherence of Candida albicans and Candida dubliniensis to human buccal epithelial cells and extracellular matrix proteins*. Med Mycol. 2014 Mar 11. [Epub ahead of print].
7. Curran J, Hayward J, Sellers E et al. *Severe vulvovaginitis as a presenting problem of type 2 diabetes in adolescent girls: a case series*. Pediatrics. 2011 Apr; 127(4): e1081-5. doi: 10.1542/peds.2010-2311.
8. Cisto M, Wąsik-Kuprianowicz A, Baran E et al. *Występowanie grzybów drożdżopodobnych i grzybów pleśniowych w przewodzie pokarmowym dzieci chorych na cukrzycę typu 1. Część II Jakościowa i ilościowa ocena grzybów w kale*. Mikol Lek. 2003; 10(3): 193-198.
9. Staniszevska M, Bondaryk M, Piłat J et al. *Czynniki zjadliwości Candida albicans*. Przegl. Epidemiol. 2012; 66: 629-633.
10. Bremenkamp RM, Caris AR, Jorge AO et al. *Prevalence and antifungal resistance profile of Candida spp. oral isolates from patients with type 1 and 2 diabetes mellitus*. Arch Oral Biol. 2011 Jun; 56(6): 549-555.
11. Poradzka A, Jasik M, Karnafel et al. *Clinical aspects of fungal infections in diabetes*. Acta Pol Pharm. 2013 Jul-Aug; 70(4): 587-596.
12. Szypowska A. *Zakażenia grzybicze w cukrzycy*. Borgis – Nowa Pediatria 1999/5.
13. Silva CR, Oliveira LD, Leão MV et al. *Candida spp. adherence to oral epithelial cells and levels of IgA in children with orthodontic appliances*. Braz Oral Res. 2013 Dec 2; 28(1): 28-32.
14. Li D, Bernhardt J, Calderone R. *Temporal expression of the Candida albicans genes CHK1 and CSSK1, adherence, and morphogenesis in a model of reconstituted human esophageal epithelial candidiasis*. Infect Immun. 2002 Mar; 70(3): 1558-1565.
15. Antony G, Saralaya V, GopalkrishnaBhat K et al. *Effect of phenotypic switching on expression of virulence factors of Candida albicans causing candidiasis in diabetic patients*. Rev Iberoam Micol. 2010; 26: 202-205.
16. Geerlings SE, Hoepelman AI. *Immune dysfunction in patients with diabetes mellitus (DM)*. FEMS Immunol Med Microbiol. 1999 Dec; 26(3-4): 259-265.
17. Luo S, Skerka C, Kurzai O et al.: *Complement and innate immune evasion strategies of the human pathogenic fungus Candida albicans*. Mol Immunol. 2013 Dec 15; 56(3): 161-169.
18. Dong H, Burke SD, Croy BA. *Vascular addressins in the uterus and pancreas of type 1 diabetic mice in early pregnancy*. Placenta. 2008 Feb; 29(2):201-9. Epub 2007 Nov 26.
19. Omaetxebarria MJ, Moragues MD, Elguezabal N et al. *Antifungal and antitumor activities of a monoclonal antibody directed against a stress mannoprotein of Candida albicans*. Curr Mol Med. 2005 Jun; 5(4): 393-401.
20. Holmes AR, Bandara BM, Cannon RD. *Saliva promotes Candida albicans adherence to human epithelial cells*. J Dent Res. 2002 Jan; 81(1): 28-32.
21. Yang YL. *Virulence factors of Candida species*. J. Microbiol. Immunol. Infect. 2003; 36: 223-228.
22. Tappuni AR, Challacombe SJ. *A comparison of salivary immunoglobulin A (IgA) and IgA subclass concentrations in predentate and dentate children and adults*. Oral Microbiol Immunol. 1994 Jun; 9(3): 142-145.
23. Tsang CS, Chu FC, Leung WK et al. *Phospholipase, proteinase and haemolytic activities of Candida albicans isolated from oral cavities of patients with type 2 diabetes mellitus*. J Med Microbiol. 2007 Oct; 56(Pt 10): 1393-1398.
24. Boriollo MF, Bassi RC, dos Santos Nascimento CM et al. *Distribution and hydrolytic enzyme characteristics of Candida albicans strains isolated from diabetic patients and their non-diabetic consorts*. Oral Microbiol Immunol. 2009 Dec; 24(6): 437-450.
25. Rajendran R, Robertson DP, Hodge PJ et al. *Hydrolytic enzyme production is associated with Candida albicans biofilm formation from patients with type 1 diabetes*. Mycopathologia. 2010 Oct; 170(4): 229-235.
26. Schaller M, Schackert C, Korting HC et al. *Invasion of Candida albicans correlates with expression of secreted aspartic proteinases during experimental infection of human epidermis*. J Invest Dermatol. 2000; 114: 712-717.
27. Bilhan H, Sulun T, Erkose G et al. *The role of Candida albicans hyphae and Lactobacillus in denture-related stomatitis*. Clin Oral Investig. 2009; 13(4): 363-368.
28. López-Ribot JL. *Candida albicans biofilms: more than filamentation*. Curr Biol. 2005 Jun 21; 15(12): R453-5.
29. Staniszevska M, Bondaryk M, Rabozenko D et al. *Cell wall carbohydrates content of pathogenic Candida albicans strain morphological forms*. Med Dośw Mikrobiol. 2013; 65(2): 119-128.
30. Moyes DL, Murciano C, Runglall M et al. *Activation of MAPK/c-Fos induced responses in oral epithelial cells is specific to Candida albicans and Candida dubliniensis hyphae*. Med Microbiol Immunol. 2012 Feb; 201(1): 93-101.
31. Jain N, Hasan F, Fries BC. *Phenotypic Switching in Fungi*. Curr Fungal Infect Rep. 2008 Sep 1; 2(3): 180-188.
32. Guzmán EA, Chen YH, Langowski JL et al. *Abrogation of delayed type hypersensitivity response to Candida albicans produced by a molecular mimic of phosphorylated prolactin*. J Neuroimmunol. 2005 Dec 30; 170(1-2): 31-40.
33. Hajishengallis G, Lambris JD. *Microbial manipulation of receptor crosstalk in innate immunity*. Nat Rev Immunol. 2011 Mar; 11(3): 187-200.
34. Bader MS, Lai SM, Kumar V et al. *Candidemia in patients with diabetes mellitus: epidemiology and predictors of mortality*. Scand J Infect Dis. 2004; 36(11-12): 860-864.

35. Koh G, Peacock SJ, van der Poll T et al. *The impact of diabetes on the pathogenesis of sepsis*. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2012; 31: 379-388 DOI 10.1007/s10096-011-1337-4.
36. Bader MS, Hinthorn D, Lai SM et al. *Hyperglycaemia and mortality of diabetic patients with candidaemia*. Diabet Med. 2005 Sep; 22(9): 1252-1257.
37. Hostetter MK. *The iC3b receptor of Candida albicans and its roles in pathogenesis*. Vaccine. 2008; 30:26 Suppl 8:1108-112.
38. Michalopoulos AS, Geroulanos S, Mentzelopoulos SD. *Determinant of candidemia and candidemia-related death in cardiothoracic ICU patients*. Chest 2003; 124: 2244-2255.
39. Xiong J, Kang K, Liu L et al. *Candida albicans and Candida krusei differentially induce human blood mononuclear cell interleukin-12 and gamma interferon production*. Infect Immun. 2000 May; 68(5): 2464-2469.
40. Ashman RB, Papadimitriou JM. *Production and function of cytokines in natural and acquired immunity to Candida albicans infection*. Microbiol Rev. 1995 Dec; 59(4): 646-672.
41. Aybay C, Imir T. *Tumor necrosis factor (TNF) induction from monocyte/macrophages by Candida species*. Immunobiology. 1996; 196(4): 363-374.
42. Kumar BV, Padshetty NS, Bai KY et al. *Prevalence of Candida in the Oral Cavity of Diabetic Subjects*. JAPI VOL. 2005; 53: 599-602.
43. Tapper-Jones LM, Aldred MJ, Walker DM et al. *Candidal infections and populations of Candida albicans in mouths of diabetics*. J Clin Pathol. 1981; 34: 706-711.
44. Bartholomew GA, Rodu B, Bell D. *Oral candidiasis in patients with diabetes mellitus: a thorough analysis*. Diabetes Care. 1987; 10(5): 607-612.
45. Majorana A, Bardellini E, Flocchini P et al. *Oral mucosal lesions in children from 0 to 12 years old: ten years' experience*. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2010;110: 13-18.
46. Kurnatowski M, Wąsowska-Królikowska K, Kurnatowska A. *Analiza prevalencji grzybów i ich gatunków w przewodzie pokarmowym osób dorosłych i dzieci*. Wiad Parazytol. 2002; 48,4: 435-439.
47. Kotłowski A, Rudzińska M, Kowalewska B et al. *Faecal fungal flora in the gastrointestinal tract of potentially healthy children attending randomly selected kindergartens in the Tri-City area (Poland)*. Gastroenterol Polska. 2012; 19,1: 9-12.
48. Niczyporuk W, Krajewska-Kulak E. *Zakażenia grzybicze u chorych z obniżoną odpornością*. W: E Baran (red.): *Zarys mikologii lekarskiej*. Wrocław 1998: 465-469.
49. Pawlik, Macura A, Bialek-Kaleta J. *Występowanie grzybów w kale u dzieci*. Med Dośw Mikrobiol. 2002; 54: 273-279.
50. Nowakowska M, Jarosz-Chobot P. *Flora bakteryjna i grzybicza w wybranych materiałach klinicznych u dzieci z cukrzycą typu 1*. Endokrynologia, Diabetologia i Choroby Przemiany Materii Wieku Rozwojowego. 2002; 8,2: 83-88.
51. Kurnatowski M, Wasowska-Królikowska K, Toporowska-Kowalska E et al. *Inwazje grzybami przewodu pokarmowego dzieci*. Wiad Parazytol. 2001; 47(4): 923-928.
52. Kurnatowski M, Wąsowska-Królikowska K, Kurnatowska A. *Badania mikologiczne próbek kału dzieci z objawami czynnościowych zaburzeń przewodu pokarmowego*. Pediatria Współczesna. Gastroenterologia, Hepatologia i Żywnienie Dziecka. 2003; 5, 4: 233-235.
53. Macura A, Witalis J. *Grzyby izolowane z kału pacjentów z doległościami przewodu pokarmowego w latach 2005–2009*. Przegl Epidemiol. 2010; 64: 313-317.