

Adherencija *Candida albicans* na oralne epitelne stanice oboljelih od diabetes mellitusa

Adherency of *Candida Albicans* to Oral Epithelium in Diabetics

Borka Obradović
Ana Cekić-Arambašin*

Dom zdravlja
Bosanska Krupa
* Zavod za oralnu patologiju
Stomatološkog fakulteta
u Zagrebu

Sažetak

Sklonost kolonizaciji Candida albicans u ustima oboljelih od diabetes mellitusa upućuje na moguću ulogu adherencije ove gljivice na oralne epitelne stanice, u nastanku patoloških procesa oralne sluznice.

Provedeno je ispitivanje s ciljem da se ustanovi kolonizacija Candida albicans u ustima, adherencija Candida albicans na oralne epitelne stanice i uloga adherencije ove gljivice u nastanku patoloških pojava i simptoma oralne sluznice u osoba oboljelih od diabetes mellitusa.

Ispitano je 76 bolesnika s diabetes mellitusom tipa I., kliničkim pregledom ustanovljeno je stanje oralne šupljine. Kvasnice su određivane kulturom na Saboraud glukoznom agaru.

Verifikacija izolata izvršena je pomoću testa germinacije, fermentacije i asimilacije ugljikohidrata. Adherencija Candida albicans ustanovljena je na epitelnim stanicama ispitanika u odnosu na epitelne stanice zdravih osoba. Test adherencije Candida albicans na oralne epitelne stanice proveden je prema Kimuri i Rayu i sur.

Rezultati pokazuju prisutnost upale oralne sluznice dijabetičara u 51,3%, od toga oralne kandidijaze u 13,24% ispitanika. Učestali su simptomi kserostomije u 81,6% ispitanika, nešto rjeđe glosopiroza i stomatopiroza.

Intenzitet kserostomije pojačavao se s trajanjem šećerne bolesti. Pojava gingivitisa prisutna je kod svih ispitanika bez obzira na trajanje šećerne bolesti. Candida albicans je izolirana u 51,3% dijabetičara.

Izolacija kvasnica pokazuje prisutnost oralne Candida albicans u 82% od ukupno izoliranih kvasaca.

Broj adheriranih blastospora Candida albicans na 100 epitelnih stanica dijabetičara iznosio je 732 ± 40 , u usporedbi s brojem adheriranih blastospora na 100 zdravih epitelnih stanica 278 ± 28 .

Nađen je veći postotak adherencije Candida albicans (86,3%) kod oboljelih od diabetes mellitusa.

Potvrđen je odnos adherencije i nastanka oralnih patoloških simptoma i upala oralne sluznice.

Ključne riječi: Candida albicans, adherencija, epitelne stanice, diabetes mellitus

Acta Stomatologica Croatica
1992; 26: 29-34

IZVORNI
ZNANSTVENI RAD

Primljeno: 4. listopada 1991.

Uvod

Diabetes mellitus kao metaboličko oboljenje uključuje i promjene oralnih struktura. Metabolički poremećaji zahvaćaju i stanice oralne sluznice, dovode do njihovog ubrzanog starenja i narušavanja energetske procesa u stanicama te time smanjuju njihove kvalitete. Za epitelno tkivo oralne sluznice to je od posebnog značenja zbog potrebe stalnog obnavljanja, što je u slučaju diabetes mellitusa poremećeno (1, 2, 3).

Glukoza se kod dijabetičara nalazi intersticijalno i u tkivnim tekućinama, dakle i u slini, što dovodi do promjene pH sline, promjene oralne flore i stvaranja uvjeta za patogene mikroorganizme, posebno kvasnice (4, 5). Tome pridonosi i smanjena salivarna sekrecija kod dijabetičara (6, 7, 8), zbog koje je smanjena zaštitna uloga sline (9, 10).

U dijabetičara mogu se javiti različiti oblici oralne kandidijaze (11), posebno kod nekontroliranog dijabetesa.

Prema Van der Vaalu (12) 17% dijabetičkih pacijenata ima atrofični glositis. Dijabetičari nosioci mobilnih proteza učestalo imaju palatitis uzrokovan Candidom albicans (13, 14, 15).

Povezanost diabetes mellitusa i oralnog lihen (16, 17, 18) je poznata, kao i parodontnih bolesti (1, 2, 19).

Soj kandidate u ustima predstavlja oportunističke gljivice, koje imaju sposobnost adherencije na epitel gastrointestinalne sluznice. Perzistencijom na određenom mjestu omogućena je infekcija kandidom (20, 21, 22).

Iz proučavanja bakterijske adherencije poznato je da specifični lecitini na površini tkiva i drugih staničnih struktura olakšavaju adherenciju na rezidualne šećere koji su normalno prisutni na epitelnim stanicama (23).

Kandida na površini ima lecitine koji se vezuju na nanozne ostatke na epitelnim stanicama (24). Faktori obrane domaćina značajni su u sprečavanju adherencije kandidate (25, 26), kako sistemni, koji kao diabetes mellitus pogoduju infekciji kandidom, tako i lokalni oralni.

Prema istraživanjima Kinga i sur. (25) te Holbroocka (27) Candida albicans najčešće adherira na oralne epitelne stanice.

Podaci o mogućoj adherenciji Candide albicans na oralne epitelne stanice (3, 20, 21, 22, 23, 26) i sklonosti prema kolonizaciji kandidate u dijabetičara (3, 27, 28) upućuju na potrebu ispitivanja povezanosti obaju faktora koji mogu izazvati oralne patološke simptome i upalu.

Cilj ovog ispitivanja jest da se ustanovi:

- kakva je kolonizacija Candide albicans kod oboljelih od diabetes mellitusa;
- da li postoji adherencija Candide albicans na oralne epitelne stanice dijabetičara i kakva je ona u odnosu na stanice zdravih osoba;
- koja je uloga adherencije Candide albicans u nastanku oralnih upala i patoloških simptoma.

Materijal i metoda

U ispitivanju je sudjelovalo 76 bolesnika s dijagnostificiranim verificiranim adultnim diabetes mellitusom tip I., 47 ženskog i 28 muškog spola, od 16 do 79 godina starosti. Na temelju oralnog pregleda ustanovljeno je stanje usne šupljine i oralne sluznice, postavljena je dijagnoza oralne kandidijaze. Registrirana je i prisutnost protetskih nadomjestaka koji bi sudjelovali u kolonizaciji kandidate. Adherencija Candide albicans ustanovljena je na epitelnim stanicama zdravih osoba u usporedbi s epitelnim stanicama ispitanika.

Kvasnice su određivane kulturom na Sabouraud glukoznom agaru. Verifikacija izolata napravljena je uz pomoć testa germinacije, zatim uz pomoć fermentacije i asimilacije ugljikohidrata.

Epitelne stanice uzete su sa sluznice obraza blagim struganjem. Stanice su smještene u 1 ml PBS (fosfatna puferirana fiziološka otopina). Centrifugirane su da se oslobode adheriranih bakterija, zatim su dva puta isprane PBS-om. Test adherencije Candide albicans na oralne epitelne stanice proveden je prema Kimuri i sur. (29) i Rayu i sur. (30).

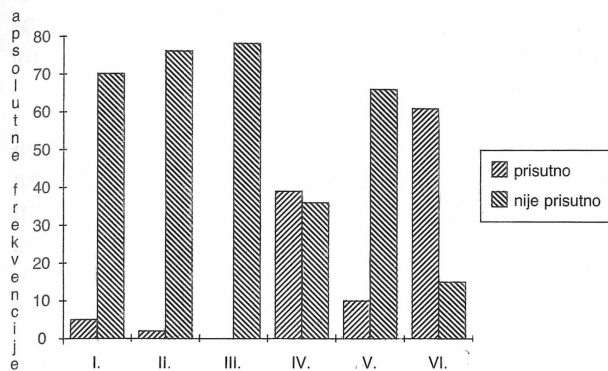
Dobivene stanice prenesene su na predmetno stakalce i obojene metodom po Grammu i Tripan plavo-neutralno crveno.

Rezultati

Ispitivanje kontrole diabetes mellitusa pokazalo je da 68,9% ispitanika ima nekontrolirani, a 31,1% kontrolirani dijabetes.

Na slici 1. prikazani su prisutni patološki oralni simptomi ispitanika dijabetičara. Od očekivanih oralnih simptoma u oboljelih od diabetes mellitusa dominira Xerostomia u 81,6% ispitanika. Glossodinia nije prisutna.

Upale oralne sluznice javljaju se u 51,3% slučajeva. Od toga Candidiasis u 13,2% slučajeva. Neugodni simptomi i Glossopyrosis u 2,6% ispitanika.



I. - STOMATOPYROSIS IV. - INFLAMATIO
 II. - GLOSSOPYROSIS V. - CANDIDIASIS
 III. - GLOSSODINIA VI. - XEROSTOMIA

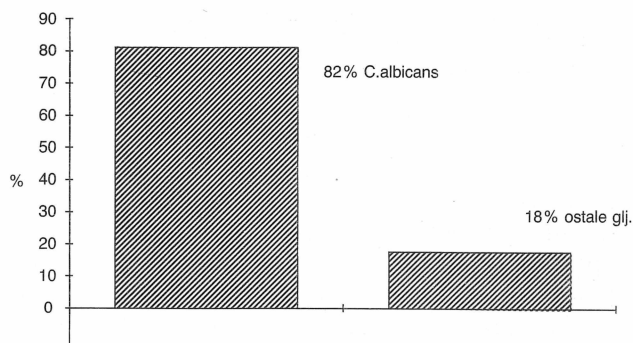
Slika 1. Patološki oralni simptomi
 Figure 1. Pathologic oral symptoms

Tablica 1 prikazuje oralne patološke promjene u odnosu na trajanje diabetes mellitusa. Iz rezultata je moguće uočiti da se visina šećera u krvi nešto povećava s dužinom trajanja bolesti, posebno u skupini od 5. – 9. godine. – S godinama trajanja šećerne bolesti povećava se i intenzitet kserostomije. Pojava gingivitisa prisutna je kod svih ispitanika bez obzira na trajanje šećerne bolesti. Najviše je izražena kod ispitanika s trajanjem šećerne bolesti duljim od 9 godina. Pojavu palatitisa nije moguće povezati s trajanjem šećerne bolesti.

Tablica 1. Oralno patološke promjene i simptomi u odnosu na trajanje diabetes mellitusa
 Table 1. Pathologic oral alterations and symptoms according to the duration of diabetes mellitus

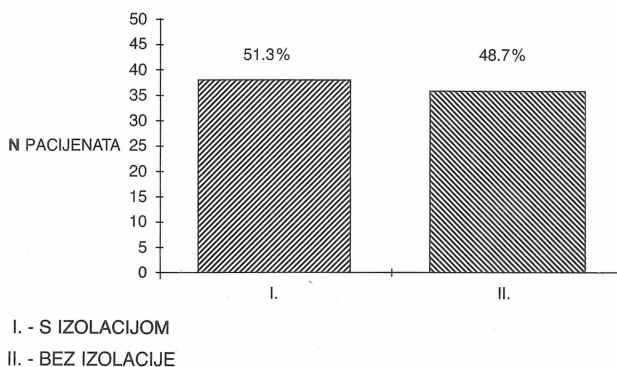
Trajanje bolesti/god.	N	\bar{X} ŠUK-a	Xerost.	Ging.	Palat.
0–4	38	11,10	71%	23%	15%
5–9	19	13,94	73%	10%	0%
9–10	10	13,14	78%	26%	10%

Izolacija kvasaca prikazana slikom 2 pokazuje laboratorijsko mikološkom identifikacijom izoliranih kvasaca prisutnost *Candida albicans* u 82% slučajeva, a svega 18% čine ostali kvasci.



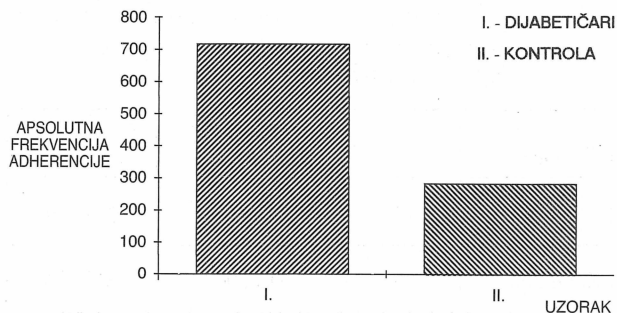
Slika 2. Izolacija kvasaca
 Figure 2. Isolation of the fungi

Moguća izolacija *Candida albicans* u ispitanika pokazuje na slici 3 da je *Candida albicans* izolirana u 51,3% slučajeva, a u 48,7% nije bilo izolacije te gljivice u ustima dijabetičara.



I. - S IZOLACIJOM
 II. - BEZ IZOLACIJE
 Slika 3. Izolacija *Candida albicans*
 Figure 3. Isolation of *Candida albicans*

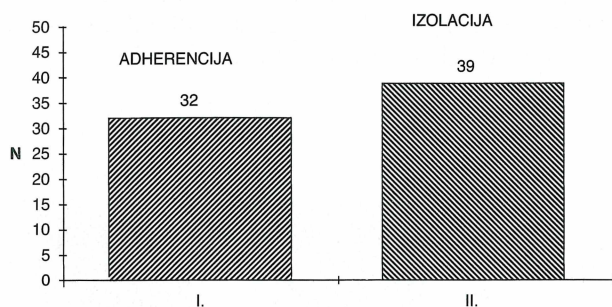
Adherencija *Candida albicans* na oralne epitelne stanice dijabetičara i zdravih ispitanika prikazana je grafikonom 4. Prisutnost adheren-



Slika 4. Adherencija *Candida albicans*
 Figure 4. Adherence of *Candida albicans*

cije na oralnim epitelnim stanicama ispitanika dijabetičara ustanovljena je u većem postotku (71,8%) nego kod zdravih ispitanika. Broj adheriranih blastospora na 100 epitelnih stanica dijabetičara iznosio je 732 ± 40 , u usporedbi s brojem adheriranih blastospora na 100 epitelnih stanica zdravih ispitanika 278 ± 28 . Dobivena je visoko signifikantna statistička razlika između adherencije *Candida albicans* na oralne epitelne stanice dijabetičara i zdravih ispitanika ($t = 8,05054$, $p = 0,001$).

Na grafikonu 5 pokazuje se odnos adherencije i izolacije *Candida albicans* na oralne epitelne stanice dijabetičara. *Candida* je izolirana u 51,3% ispitanika, kod kojih je adherencija *Candida albicans* nađena u 82,2%.



Slika 5. Odnos adherencije i izolacije *Candida albicans*
Figure 5. Relationship between adherence and isolation of *Candida albicans*

Odnos adherencije i postojanja oralnih dijagnoza i oralnih simptoma prikazan je tablicom 2. Kod dominantnog oralnog simptoma kserostomije adherencija *Candida albicans* na oralne epitelne stanice prisutna je u 90,6% ispitanika. Stomatitisi se javljaju u nešto manjem broju ispitanih osoba, ali je stupanj adherencije *Candida albicans* u slučaju stomatitisa najveći. Kandi-

Tablica 2. Odnos adherencije i oralnih bolesti i simptoma
Table 2. Relationship between adherence, and oral diseases and symptoms

Oralna dijagnoza	N	Adherencija kod dijabetičara	Adherencija kod zdravih
Upala Stomatitisi	17	765,141	252,549
Kandidijaza	5	710,600	213,404
Kserostomija	29	733,552	244,509

dijaza je nađena kod svega 5 ispitanika, ali s visokim postotkom adherentnih blastospora *Candida albicans* na oralnim epitelnim stanicama.

Rasprava

Nekontroliranost diabetes mellitusa izaziva sklonost patološkim promjenama i simptomima u ustima (5,7,8,16), što je ovim ispitivanjem ustanovljeno. Našim je ispitivanjem potvrđena i korelacija kserostomije s razinom ŠUK-a, koja je posljedica poremećaja metabolizma vode i makroangiopatija (5, 6, 8, 11).

Kserostomija koju smo u ovom ispitivanju susreli u 81,6% ispitanika pogoduje razvoju *Candida albicans*, što može dovesti i do manifestacije infekcija ovom gljivicom (7, 13, 14, 17, 18). Prisutnost gingivitisa i parodontitisa u ovom ispitivanju potvrđuje već prije ustanovljenu povezanost diabetes mellitusa i bolesti parodontita (1, 5, 19).

Ispitanici dijabetičari pokazuju visok postotak palatitisa pri nošenju mobilnih proteza. O povezanosti palatitisa i infekcije *Candida albicans* izvještavaju mnogi autori (13, 14, 15).

Ovim smo ispitivanjem ustanovili najveću prisutnost *Candida albicans* (82%) od svih izoliranih kvasnica, što je u skladu s ispitivanjima Sandina i sur. (23) i Arendorfa (5). Našli smo kod dijabetičara prisutnu *Candida albicans* u 54,3% slučajeva. To nije visok postotak u odnosu na populaciju zdravih osoba (5).

Dobiveni rezultati adherencije kandidate na oralne epitelne stanice kod ispitanika s diabetes mellitusom pokazuju znatno veću adherenciju na oralne epitelne stanice u usporedbi s istim mehanizmom u zdravih osoba koje su ispitali King i sur. (25) i Sandin (23) i sur.

Tako količine adheriranih kandida na epitelne stanice koje smo dobili kod dijabetičara potvrđuju da je to stanje koje pogoduje razvoju ove gljivice i uz smanjene mehanizme zaštite izaziva infekciju (20, 26).

Pojava povećane adherencije blastospora na oralne epitelne stanice dijabetičara upućuje na važnost mehanizma adherencije kandidate u nastanku patoloških procesa u ustima.

Ovim je ispitivanjem potvrđena veća adherencija kod osoba s patološkim oralnim simptomima i upalama oralne sluznice.

Zaključak

Kolonizacija *Candida albicans* u ustima dijabetičara odgovara kolonizaciji zdravih osoba;

– adherencija *Candida albicans* na oralne epitelne stanice dijabetičara znatno je veća nego na stanice zdravih ispitanika;
 – adherencija *Candida albicans* u korelaciji je s postojanjem oralnih simptoma i upalom oralne sluznice;

– adherencija *Candida albicans* na oralne epitelne stanice dijabetičara važna je komponenta u nastanku infekcije oralne sluznice tom gljivicom.

ADHERENCY OF CANDIDA ALBICANS TO ORAL EPITHELIUM IN DIABETICS

Adresa za korespondenciju:
Address for correspondence:

Summary

A liability to Candida albicans colonization in the mouth of diabetic patients points to the possible role of adherence of this fungus to oral epithelial cells in the genesis of pathologic processes affecting the gingiva.

This study was conducted to assess the colonization of Candida albicans in the oral cavity, the adherence of Candida albicans to oral epithelial cells and the role of adherence of this fungus in the onset of pathologic processes and symptoms on the gingiva of subjects suffering from diabetes mellitus.

The study was carried out in 76 patients with diabetes mellitus type I. The state of oral cavity was assessed by clinical examination. The fungi were determined by culture on Sabouraud glucose agar.

Verification of isolates was performed by the tests of germination, fermentation and assimilation of carbohydrates. Candida albicans adherence was determined on diabetic subjects' epithelial cells and compared to epithelial cells of normal subjects. Candida albicans adherence to oral epithelial cells was tested according to Kimura and Ray et al.

Results showed the presence of gingivitis in 51.3% of diabetic patients, with 13.24% referring to oral candidiasis. The symptoms of xerostomia were observed in 81.6%, followed by glosso- and stomatopyrosis.

The severity of xerostomia increased with the duration of diabetes mellitus, whereas the occurrence of gingivitis was present in all diabetic patients regardless of the duration of the disease. Candida albicans was isolated in 51.3% of diabetics.

Isolation of the fungi revealed the presence of oral Candida albicans in 82% of the fungi isolated in total.

The number of adhered Candida albicans blastospores per 100 diabetic epithelial cells was 732 ± 40 , whereas the number of adhered blastospores per 100 healthy epithelial cells was 278 ± 28 .

The percentage of Candida albicans adherence was higher (86.3%) in diabetic than in normal control subjects.

A relationship between the adherence, and the occurrence of pathologic oral symptoms and gingivitis was thus confirmed.

Key words: Candida albicans, adherence, epithelial cells, diabetes mellitus

Prof. dr. Ana
Cekić-Arambašin
Stomatološki fakultet
Gundulićeva 5
41000 Zagreb
Hrvatska

Literatura

1. BAČIĆ M, GRANIĆ M. Uloga šećerne bolesti u patogenezi parodontnih oboljenja. *Acta Stomatol Croat* 1986; 20:71-9.
2. LYNCH M A. *Oral Medicine*. Lipnocott Co 1984; 843-849.
3. OBRADOVIĆ B, CEKIĆ-ARAMBAŠIN A. Oralne manifestacije kod šećerne bolesti. *Acta Stomatol Croat* 1991; 25:59-64.
4. MARTINEZ A B. Recherche du glucose dans la salive. *Arch Union Med Book* 1974; 12:180-2.
5. ARENDORF T M, WALKER D M. Oral Candidial populations in health and disease. *Brit Dent J* 1979; 147:267-72.
6. SOTOŠEK B. Kerostomia u odnosu na aktivnost amilaze u slini kod insulin neovisnog diabetesa mellitusa. *Diabetol Croat* 1983; 12:55-7.
7. TENOVUO J. et al. Immunoglobulins and Innate Antimicrobial Factors in Whole of Patients with Insulin dependent Diabetes Mellitus. *J. Dent Res.* 1986; 65: 62-6.
8. SORTINO F, et al. Ricerche sulle Iga Salivari in Pazienti affetti da diabete mellito. *Minerva Stomatol* 1984; 34:243-6.
9. CEKIĆ-ARAMBAŠIN A i sur. Mjerenje salivarne sekrecije. *Acta Stomatol Croat* 1987; 20:219-225.
10. CEKIĆ-ARAMBAŠIN A, TEMMER K, BAŠIĆ Z. Kvalitativne i kvantitativne analize mikroorganizama slina u osoba s kerostomijom. *Acta Stomatol Croat* 1986; 20:23-30.
11. AMATO R, PECORA A. Incidenza della Candidozi orale in gruppo campione di soggetti affetti da diabete mellito. *Bull soc Ital Biol Sper* 1983; 59:532-4.
12. WAAL DER V. *Diseases of Tongue*. Chicago Quintessence 1986.
13. BUDŽ-JÖRGENSEN N, STENDRUP A, GROBARSKI M. An epidemiologic study of Yeasts in elderly denture wearers. *Community Dent Biol Epidemiol* 1975; 3:115-9.
14. CEKIĆ-ARAMBAŠIN A i sur. Povezanost Candide albicans i patogenih bakterija u etiologiji palatitisa protetica. *Acta Stomat Croat* 1986; 20:225-233.
15. RENNAR R P. et al. The role of *C. albicans* in denture stomatitis. *Oral Surg* 1979; 47:323-8.
16. GEENSPAN D. et al. Lichen ruber planus de la muqueus buccale et son association a un diabète. *Bul Sol Fr Dermatol Syph* 1966; 73:898-91.
17. DOBRENIĆ M, CEKIĆ-ARAMBAŠIN A. Sistemске bolesti i lokalne iritacije u etiologiji oralnog lichena. *Acta Stomatol Croat* 1985; 19:133-41.
18. CEKIĆ-ARAMBAŠIN A, ĐURČEVIĆ-MATIĆ A. Oralni lichen ruber. *Acta Stomatol Croat* 1989; 23: 167-172.
19. LJUŠKOVIĆ B. Parodontopatija u juvenilnih i adultnih dijabetičara. *Vojnosanitet Pregl.* 1986; 20:230-34.
20. RAY T L, DIGRE K B, PAYNE C D. Adherence of *Candida* species to human epidermal conecytes. *J Invest Dermatol* 1984; 83:37-41.
21. CALDERONE R A. et al. Adherence of *Candida albicans* to buccal and vaginal epithelial cells, ultrastructural observations. *Can J Microbil* 1989; 30:1001-7.
22. DOUGLAS C J. Surface composition and adherence of *Candida albicans*. *Biochem Sol Proc* 1985; 13: 982-4.
23. SANDIN R L, et al. Evidence for manose adherence of *Candida albicans* to human buccal cells in vitro. *Infect Immun* 1982; 35:79-85.
24. McCOURTIE J, DOUGLAS L J. Relationship between cell surface composition adherence, and virulence of *Candida albicans*. *Infect Immun* 1984; 45:6-12.
25. KING R D, LEE J C, MORRIS A L. Adherence of *Candida albicans* and other *Candida* species to mucosae epithelial cells. *Infect Immun* 1980; 27:667-74.
26. VUDHICHAMNONG K, WALKAR D M, RYLEY H C. The effect of secretory Immunoglobulin A on the In vitro Adherence of Yeast *Candida albicans* to Human oral Epithelial Cells. *Arch Oral Biol* 1982; 22:617-21.
27. HOLBROOCK W P, SOFAER J A, SOTHAM J C. Experimental oral infection of mice with a pathogenic and non-pathogenic strain of the yeast *Candida albicans*. *Arch Oral Biol* 1983; 28:1089-91.
28. COLLINS-LECH C et al. Inhibition by Sugars of *Candida albicans* to human buccal mucosal Cells and corneocytes in vitro. *Infect Immun* 1984; 46:831-4.
29. KIMURA L H, PEARSAL N N. Relationship between germination of *Candida albicans* and innervised adherence to human buccal epithelial cells. *Infect Immun* 1980; 28:464-68.
30. RAY T L, PAYNE C D. Scanning electron microscopy of epidermal adherence and cavitation in murine candidiasis: a role for Candidiacid proteinase. *Infect Immun.* 1988; 56:1942-50.