

# Procjena imunološke reaktivnosti kod rekurentnih aftoznih ulceracija (RAU) tijekom imunostimulacijske terapije

## Assessment of Immunoreactivity in Recurrent Aphthous Ulcerations (RAU) During Immunostimulation Therapy

Ana Cekić-Arambašin  
Suzana Brozović

Zavod za oralnu patologiju  
Stomatološki fakultet  
Sveučilišta u Zagrebu

### Sažetak

Proveli smo ispitivanje imunostimulacijskog djelovanja ekstrakta *Aloae D4* u terapijskoj primjeni kod oboljelih od rekurentnih aftoznih ulceracija (RAU). Pratili smo kliničke parametre bolesti, kao i stanje staničnog imuniteta u kontrolnoj skupini zdravih ispitanika te u oboljelih prije i poslije provedene imunostimulacijske terapije. Našim istraživanjem utvrdili smo učinkovitost imunomodulacijskog djelovanja ekstrakta *Aloae D4* i važnost njegove primjene u prevenciji i liječenju rekurentnih aftoznih ulceracija.

Ključne riječi: *imunostimulacijska terapija, RAU*

Acta Stomatol. Croat.  
1994; 28: 281—286

IZVORNI  
ZNANSTVENI RAD

Primljeno: 15. prosinca 1994.  
Received: December 15, 1994

### Uvod

RAU su svrstane u mukokutane autoimune bolesti kod kojih sistemni predisponirajući čimbenici mijenjaju imunološku reaktivnost organizma i omogućuju nastanak bolesti (1—2).

Pri tome se pokreće imunološka reakcija na alfa hemolitički streptokok grupe A koji vezanjem na oralnu sluznicu mijenja autoantigenu strukturu epitela i pokreće reakciju celularnog imuniteta, što rezultira i nastankom ulceracija oralne sluznice (3—4).

U liječenju RAU primjenjuju se glukokortikoidni preparati kao antiflogistici i imunosupresivi, te se upotrebljavaju uglavnom lokalno zbog poznatih sistemskih nuspojava kao što su: poremećaji tekućina i elektrolita, hiperglikemija, glikozurija, sklonost infekcijama, peptični ulkus, osteoporoza, miopatija, poremećaj ponašanja,

katarakta, zastoj u rastu i Cushing sindrom (5—9). Osim navedenog, u liječenju RAU imunostimulacijska terapija ima značajnu ulogu, što su u radovima opisali Olson i sur., Pedersen i sur. te Meyer i sur. (10—13).

Stanje celularnog imuniteta i njegove parametre kod oboljelih od RAU ispitivali su različiti autori, i to vrijednosti spontane pokretljivosti i kemotaksije Degalis i sur., NK staničnu aktivnost Sun i sur., citotoksičnost ovisnu o protutijelima (ADCC) Greenspan i sur. (14—17).

Limfocitna aktivnost također je promijenjena, što navode autori (14, 18—21) i što govori u prilog poremećenoj imunoreaktivnosti oboljelih.

Svrha je ovog istraživanja ustanoviti učinak imunostimulacijskog djelovanja ekstrakta *Aloae D4* u terapijskoj primjeni.

## Materijali i postupci

Nakon provedene kliničke registracije vrste aftoznih eflorescencija prema Lehneru i njihovog intenziteta, ispitali smo stanje celularnog imuniteta u akutnoj fazi bolesti, nakon provedene imunostimulacijske terapije, kao i u kontrolnoj skupini ispitanika.

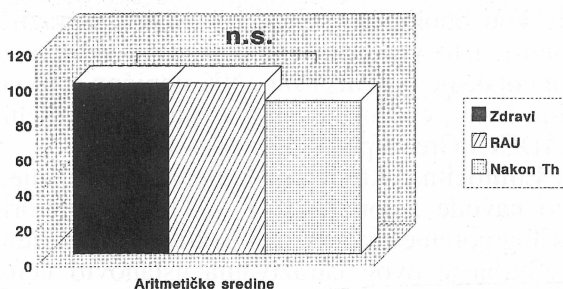
Snižene vrijednosti parametara celularnog imuniteta kod oboljelih od RAU uputile su nas na primjenu imunostimulacijske terapije kod bolesnika s učestalim recidivima ili teškim kliničkim oblikom bolesti, kod kojih je RAU recidivirao i nakon provedene uobičajene terapije. Primijenili smo imunostimulacijsku terapiju ekstraktom Aloae D4 u količini od 2 ml i.j. supkutano dvaput tjedno tijekom pet tjedana. Istraživanja smo proveli na dvije skupine ispitanika: na skupini oboljelih i kontrolnoj skupini zdravih ispitanika. U skupini oboljelih bilo je 10 bolesnika obaju spolova, a u kontrolnoj 27 zdravih ispitanika, također obaju spolova u dobi od 10 do 60 godina.

Ispitali smo vrijednosti funkcionalne sposobnosti limfocita i leukocita u perifernoj krvi i to: inhibiciju migracije s PPD-om, testom po Sabioncellu i sur. (22), spontanu pokretljivost fagocita, te vrijednosti ingestije, digestije i citotoksičnosti (ADCC) PMN leukocita sljedećim testovima (23—27).

Također smo proveli testove za određivanje razine monoklonskih protutijela — ukupnih T i ukupnih B limfocita. Kod T limfocita određene su i subpopulacije CD4 i CD8 stanica laboratorijskom analizom perifernje krvi (23—27).

## Rezultati

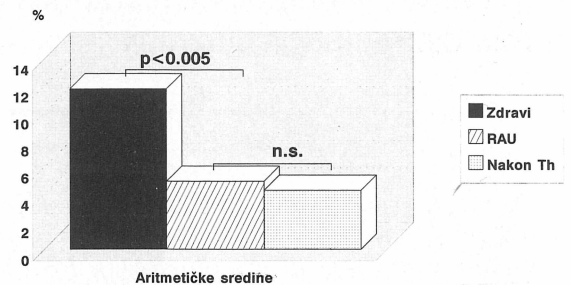
### INHIBICIJA MIGRACIJE



Slika 1. Vrijednosti inhibicije migracije s PPD-om  
Figure 1. Inhibition of migration values with PPD

Na prvoj slici prikazane su vrijednosti inhibicije migracije s PPD-om u kontrolnoj skupini i u skupini oboljelih prije i poslije terapije. Nakon terapije imunostimulatorom inhibicija migracije je snižena, međutim, vrijednosti ne pokazuju statističku značajnost i nalaze se unutar granica normalnih vrijednosti.

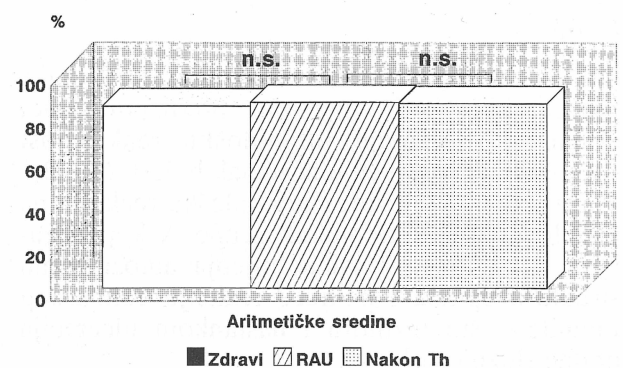
### Ukupni B limfociti (CD2)



Slika 2. Vrijednosti ukupnih B limfocita  
Figure 2. Total B lymphocyte values

Na drugoj slici prikazano je statistički signifikantno sniženje vrijednosti ukupnih B limfocita kod oboljelih u odnosu na zdrave ispitanike. Nakon provedene imunostimulacijske terapije te su vrijednosti snižene.

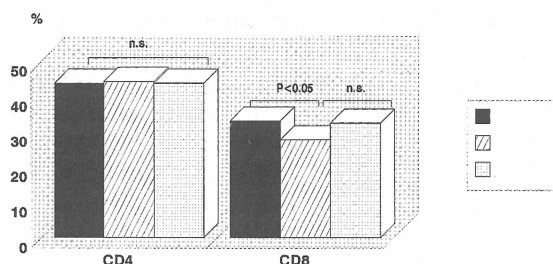
### Ukupni T limfociti (CD20)



Slika 3. Vrijednosti T limfocita  
Figure 3. T lymphocyte values

T limfociti (slika 3) pokazuju nešto povišene vrijednosti u akutnoj fazi bolesti, međutim, one nisu statistički značajne kao ni vrijednosti nakon provedene imunostimulacijske terapije.

## CD4 I CD8 limfociti



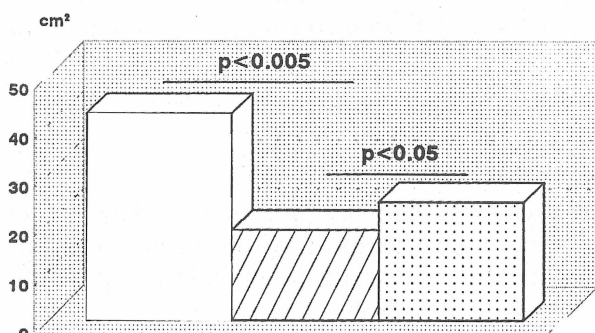
Slika 4. Vrijednosti CD4 i CD8 limfocita

Figure 4. CD4 and CD8 lymphocyte values

Dobivene vrijednosti CD4 i CD8 stanica prikazane su na slici 4. CD4 stanice pokazuju povišene vrijednosti u akutnoj fazi bolesti, no vrijednosti u fazi razvijenih ulceracija kao i nakon terapije nisu statistički značajne.

CD8 stanice značajno su snižene u fazi razvijene bolesti, a nakon imunostimulacijske terapije pokazuju znatan porast.

## Spontana pokretljivost



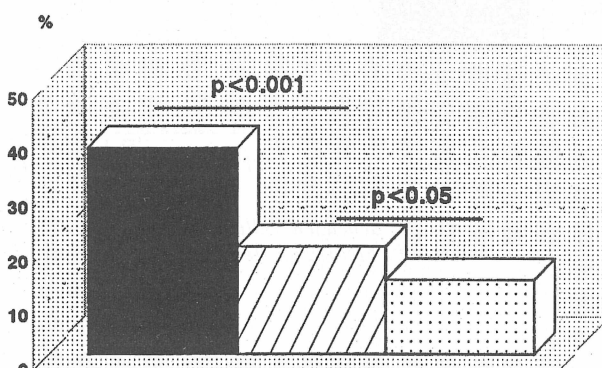
Slika 5. Vrijednosti spontane pokretljivosti PMN leukocita

Figure 5. Spontaneous migration values of PMN leukocytes

Fagocitna aktivnost PMN leukocita pokazuje najveća odstupanja (slika 5). Visoku statističku značajnost pokazuju pad vrijednosti spontane pokretljivosti u akutnom stadiju bolesti i statistički značajno povećanje vrijednosti nakon provedene imunostimulacijske terapije.

Ingestija fagocita prikazana na slici 6 statistički značajno pada u stadiju razvijanja bolesti u odnosu na zdrave ispitanike, a daljnji pad vrijednosti osjetan je i nakon provedene imunostimulacijske terapije.

## Ingestija

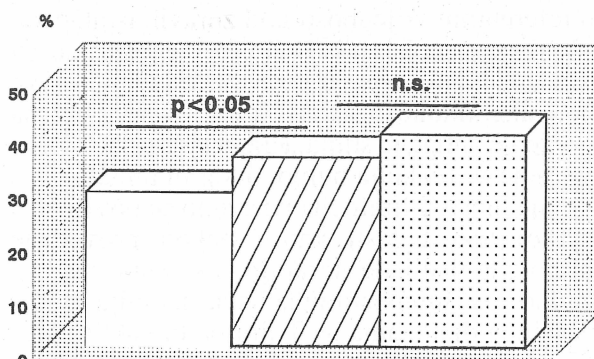


Slika 6. Vrijednosti ingestije PMN leukocita

Figure 6. Ingestion values of PMN leukocytes

Vrijednosti digestije pokazuju statistički značajan porast u akutnoj fazi bolesti (slika 7), s neznatnim porastom vrijednosti i u stadiju nakon provedene imunostimulacijske terapije.

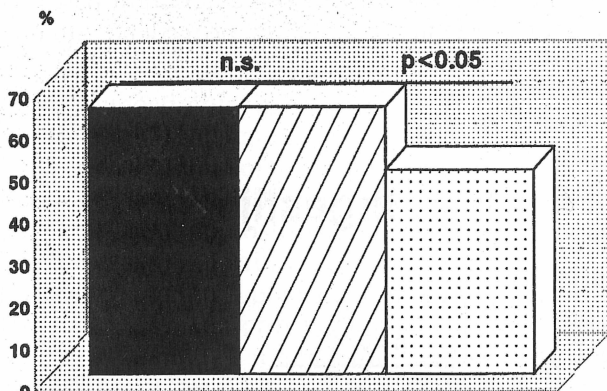
## Digestija



Slika 7. Vrijednosti digestije PMN leukocita

Figure 7. Digestion values of PMN leukocytes

## Citotoksičnost (ADCC)



Slika 8. Vrijednosti citotoksičnosti ovisne o protutijelima (ADCC) PMN leukocita

Figure 8. Antibody - dependent cellular cytotoxicity (ADCC) values of PMN leukocytes

Citotoksičnost PMN leukocita nije promijenjena u akutnom stadiju u odnosu na zdrave ispitanike, dok se nakon terapije uočava statistički značajan pad citotoksičnosti (slika 8).

### Rasprava

U našem istraživanju promijenjeni su parametri celularnog imuniteta osobito u funkcijama fagocitne aktivnosti.

Vrijednosti inhibicije migracije s PPD-om kao funkcije limfocitne aktivnosti kod oboljelih nalaze se unutar normalnih referentnih vrijednosti. Nakon provedene terapije ekstraktom Aloae D4 vrijednosti su snižene, međutim to nije značajan podatak u našem radu jer ne odstupaju od referentnih vrijednosti kod zdravih ispitanika.

Vrijednosti ukupnih B limfocita značajno su snižene u akutnoj fazi bolesti u odnosu na zdrave ispitanike. Imunostimulacijska terapija djeluje na smanjenje antigene stimulacije a u remisiji bolesti smanjuje se funkcija humoralnog imuniteta.

Vrijednosti T limfocita neznatno su povišene u akutnoj fazi bolesti kao i nakon provedene imunostimulacijske terapije, iz čega zaključujemo da imunostimulacijska terapija nema značajnog djelovanja na T limfocitnu aktivnost.

Vrijednosti subpopulacija T limfocita pokazuju povećanu aktivnost CD4 stanica i značajno sniženje aktivnosti CD8 stanica u akutnoj fazi

bolesti, s čime se slažu i autori Brozović (14), Pedersen i sur. (18,19) te Landesberg i sur. (20, 21), koji također nalaze značajnim promijenjen odnos CD4 : CD8 stanica, i to u povećanju aktivnosti CD4 i sniženju funkcije CD8. Imunostimulacijska terapija u našem istraživanju pokazala je efikasnost u povećanoj aktivnosti CD8 stanica, dok na aktivnost CD4 nije značajnije utjecala.

Fagocitna aktivnost u našem istraživanju pokazuje najveća odstupanja.

Spontana pokretljivost značajno je snižena u akutnom stadiju bolesti, dok Degalis i sur. (15) nisu našli promijenjene vrijednosti u odnosu na zdrave ispitanike.

Nakon provedene imunostimulacijske terapije povećava se funkcija spontane pokretljivosti, što je važno za odstranjenje antigena i postizanje remisije bolesti. Ingestija PMN leukocita također je značajno snižena u akutnoj fazi bolesti. Nakon provedene imunostimulacijske terapije zamjećuje se daljnji pad vrijednosti, što odgovara nalazu očekivanom u remisiji bolesti.

Vrijednosti digestije očekivano su povećane u stadiju bolesti, što je razumljivo jer PMN leukociti svojom povećanom funkcijom digestije nadoknađuju neodgovarajuću aktivnost funkcije spontane pokretljivosti i ingestije.

Citotoksičnost (ADCC) ne pokazuje promjene u akutnom stadiju bolesti, što su utvrdili Degalis i sur. (15) u svojim istraživanjima.

Provedena imunostimulacijska terapija značajno ubrzava eliminaciju antigenog čimbenika u organizmu, pa prikladno tome toksičnost u remisiji pada.

### Zaključci

Imunostimulacijska terapija pokazala se djelotvornom u terapijskoj i preventivnoj primjeni. Blaži su klinički oblici bolesti i povećan stadij remisije bolesti.

Celularni imunološki odgovor kod oboljelih od RAU pokazuje značajne promjene u funkcionalnoj aktivnosti PMN leukocita. Sistemni odgovor limfocitne aktivnosti također je promijenjen.

Posebno treba istaknuti vrijednosti spontane pokretljivosti, ingestije i citotoksičnosti.

Vrijednosti spontane pokretljivosti pokazuju značajan porast.

Ingestija PMN leukocita snižena je nakon provedene imunostimulacijske terapije.

Vrijednosti ukupnih B limfocita kao i citotoksičnosti ovisne o protutijelima padaju, što je rezultat smanjene obrambene aktivnosti organizma.

Ovim istraživanjem pokazali smo djelotvornost primjene imunostimulacijske terapije kod oboljelih od RAU.

### ASSESSMENT OF IMMUNOREACTIVITY IN RECURRENT APHTHOUS ULCERATIONS (RAU) DURING IMMUNOSTIMULATION THERAPY

#### Summary

*Immunostimulative effect of Aloae D4 Extract therapy was studied in subjects with recurrent aphthous ulcerations (RAU) by the follow-up of clinical parameters of the disease, as well as by the assessment of cellular immunity in the control group of normal subjects and in patient group before and after immunostimulation therapy. Results pointed to the efficient immunomodulatory action of Aloae D4 Extract and to the importance of its use in the prevention and treatment of recurrent aphthous ulcerations.*

Key words: immunostimulation therapy, RAU

Adresa za korespondenciju:  
Address for correspondence:

Prof. dr. sc. Ana  
Cekić-Arambašin  
Zavod za oralnu patologiju  
Stomatološki fakultet  
Gundulićeva 5  
41000 Zagreb  
Hrvatska

#### Literatura

- JONES H, MASON D K. Oral manifestation of systemic diseases. London: Bailliere Tindall, 1990.
- LEHNER T. Autoimmunity in oral diseases, with special reference to recurrent oral ulceration. Proc Roy Soc Med 1968; 61:514—24.
- CEKIĆ-ARAMBAŠIN A. Karakteristike i učestalost aftoznih rekurentnih eflorescencija na oralnoj sluznici u ovisnosti o općim i lokalnim predisponirajućim faktorima. Acta Stomatol Croat 1979; 13:41—8.
- BRODY H A. Studies on recurrent oral aphthae. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1969; 27:27—34.
- RODU B, MATTINGLY G. Oral mucosal ulcers: Diagnosis and management. 1992; 123:83—6.
- PEDERSEN A, KLAUSEN B. Glucocorticosteroids and oral medicine. J Oral Pathol 1984; 13:1—15.
- MILES D A, BRICKER S L, RAZMUS T F, POTTER R H. Triamcinolone acetone versus chlorhexidine for treatment of recurrent stomatitis. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1993; 75:397—402.
- GILMAN A G, RALL T W, NIES A S, TAYLOR P. The pharmacological basis of therapeutics. New York: Macmillan Publishing Co. 1990: 1436—58.
- KATZUNG B G. Basis-clinical pharmacology. London: Lange Medical Publications. 1992: 543—52.
- OLSON J A, SILVERMAN S. Double blind study of levamisole therapy in recurrent aphthous stomatitis. J Oral Pathol 1978; 7:383—99.
- PEDERSEN A, KLAUSEN B, HOUGEN H P, RYDER L, WINTHER K. Immunomodulation by Longo Vital in patients with recurrent aphthous ulceration. J Oral Pathol Med 1990; 19: 376—80.
- PEDERSEN A, HOUGEN H P, KLAUSEN B, WINTHER K. Longo Vital in the prevention of recurrent aphthous ulceration. J Oral Pathol Med 1990; 19:371—5.
- MEYER J D, DEGRAEVE M, CLARYSSE J, LOOSE P D, PEREMANS W. Levamisole in aphthous stomatitis: evaluation of three regimens. Brit Med J 1977; 12: 671—4.
- BROZOVIĆ S. Cellular immunity in patients with recurrent oral ulcerations. Medicinar 1991; 37:67—74.
- DEGALIS P, BAGG J, WALKER D M. Spontaneous migration and chemotactic activity of neutrophil polymorphonuclear leucocytes in recurrent aphthous ulceration. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1987; 64: 298—301.
- SUN A, CHU C T, WU Y C, YUAH J H. Mechanisms of depressed natural killer cell activity in recurrent aphthous ulcers. Clin Immunol Immunopathol 1991; 60:83—92.

17. GREENSPAN J S, GADAL N, OLSON A, TALAL N. Antibody-dependent cellular cytotoxicity in recurrent aphthous ulceration. *Clin Exp Immunol* 1981; 44: 603—10.
18. PEDERSEN A, KLAUSEN B, HOUGEN H P, STENVANG J P. T-lymphocyte subsets in recurrent aphthous ulceration. *J Oral Pathol Med* 1989; 18: 59—60.
19. PEDERSEN A, KLAUSEN B, HOUGEN H P, RYDER L P. Peripheral lymphocyte subpopulations in recurrent aphthous ulceration. *Acta Odontol Scand* 1991; 49:203—6.
20. LANDESBERG R, FALLON M, INSEL R. Altered T4/T8 ratios in a patient with severe recurrent aphthous ulcers: report of a case. *J Oral Maxillofac Surg* 1987; 45:980—2.
21. LANDESBERG R, FALLON M, INSEL R. Alterations of T helper/inducer and T suppressor/inducer cells in patients with recurrent aphthous ulcers. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1980; 69:205—8.
22. SABIONCELLO A, RABATIĆ S, DEKARIS D. Relation between the results of migration inhibition test and the migration ability of indicator cells. *Period Biol* 1979; 81: 451—3.
23. BENNET W E, COHN Z. The isolation and selected properties of blood monocytes. *J Exp Med* 1966; 123: 145—60.
24. RABATIĆ S, SABIONCELLO A, DEKARIS D. Correlation between phagocytosis and macrophage spreading. *Period Biol* 1977; 443—4.
25. SABIONCELLO A, RABATIĆ S, KADRINKA-LOVRENČIĆ M, OBERITER V, DEKARIS D. Decreased phagocytosis and antibody-dependent cellular cytotoxicity (ADCC) in type-1 diabetes. *Bio-medicine* 1981; 35:227—9.
26. RABATIĆ S, SABIONCELLO A, DEKARIS D. Digestion of ingested erythrocytes: a new test for evaluation of the digestive function of phagocytes. *Period Biol* 1986; 88:270—2.
27. RABATIĆ S, SABIONCELLO A, DEKARIS D, KARDUM A. Age-related changes in functions of peripheral blood phagocytes. *Mechanics of Aging and Development* 1988; 45:223—9.
28. FEDERLIN K, MAINI R N, RUSSEL A S, DUMONDE D C. A micromethod for peripheral leucocyte migration in tuberculin sensitivity. *J Clin Pathol* 1971; 24:533—6.