

УНИВЕРЗИТЕТ СВ. „КИРИЛ И МЕТОДИЈ“ - СКОПЈЕ
СТОМАТОЛОШКИ ФАКУЛТЕТ — СКОПЈЕ
КЛИНИКА ЗА БОЛЕСТИ НА УСТАТА И ПАРОДОНТОТ

Киро Ивановски

ИМУНОЛОШКИ СТАТУС НАЈ ЗАБОЛЕНИ
ОД РЕКУРЕНТЕН АФТОЗЕН СТОМАТИТ

-магистерски труд-

М е н т о р:
доц. д-р ссц Златанка Болазелкоска

Скопје, 1993 год.

УНИВЕРЗИТЕТ "СВЕТИ КИРИЛ И МЕТОДИЈ"-СКОПЈЕ
СТОМАТОЛОШКИ ФАКУЛТЕТ-СКОПЈЕ
КЛИНИКА ЗА БОЛЕСТИ НА УСТАТА И ПАРОДОНТОТ

Киро Иваповски

**ИМУНОЛОШКИ СТАТУС КАЈ ЗАБОЛЕНИ
ОД РЕКУРЕНТЕН АФТОЗЕН СТОМАТИТ**

магистерски труд

Ментор: доц. д-р sci Златанка Белазелкоска

Скопје, 1993 година

Искрена благодарност ѝ должам на доц. д-р Златанка Белазелкоска, мојот ментор, која со своите совети, научни упатства и корисни забелешки ми помогна во изработката на магистерскиот труд.

Благодарност му изразувам и на проф. д-р Вангел Димитровски за стручните сугестии при решавањето на одредени проблеми. Им се заблагодарувам на членовите на Клиниката за болести на устата и пародонтот, како и на раководителот на истата Клиника, проф. д-р Марија Накова, за искажаната поддршка во текот на изработката на трудот.

Благодарност чувствувам и кон вработените во Републичкиот завод за трансфузиологија, а особено кон проф. д-р Перко Колевски за помошта при реализацијата на поставената цел.

АБСТРАКТ

Се побрзиот развој на Имунологијата овозможи таа да заземе значајно место во современата медицина. Голем број на паталогски состојби во клиничката пракса се поврзуваат со пореметувања во имунолошкиот систем. Една од нив е и рекурентниот афтозен стоматит (РАС), кој што и покрај сите досегашни истражувања остана со неразјаснети етиопатогенетски збиднувања. Во поголем број на експериментални испитувања потврден е фактот дека во патогенезата на афтозниот стоматит, имунолошките процеси имаат водечка улога. Тргувајќи од овој факт ја поставивме и целта на нашето истражување, да го проследиме имунолошкиот статус кај пациенти со **Stomatitis aphthosa recurrens**.

За реализација на поставената цел беа испитувани 25 пациенти со РАС, во фаза на егзацербација и во фаза на ремисија на заболувањето. И во двете фази од заболувањето беа одредувани следните параметри: серумски и саливарни имуноглобулини, циркулирачки имуни комплекси (СІК) во серум, Т и В - лимфоцити и субпопулации на Т - лимфоцитите.

Резултатите од нашето истражување ги споредувавме со постоечките стандарди од Републичкиот завод за трансфузиологија и ја одредувавме сигнификантноста на разликите преку Student - овата "t" - дистрибуција.

Вредностите на серумските имуноглобулини А и G и во двете фази од заболувањето беа значително намалени. Сигнификантно беше намален и IgM но само во фаза на егзацербација. Нивото на СІК и во

двете фази од РАС беше значително покачено. И во фаза на егзацербација и во фаза на ремисија од **Stomatitis aphthosa recurrens** регистриравме значително намалување на нивото на саливарниот IgA, додека IgG и IgM не покажуваа некои значителни промени во однос на контролната група.

Резултатите од испитувањето на целуларниот имунитет покажаа отстапување од контролните вредности. Застапеноста на T-Ly и во двете фази од заболувањето беше поголема и тоа со висока статистичка значајност, додека пак застапеноста на B-Ly не покажа некои значителни отстапувања во однос на контролната група. Од субпопулациите на T- лимфоцитите (CD4, CD8, CD16) само CD8 (suppressor, cytotoxic) субпопулацијата беше со поголема застапеност во однос на контролната група.

Со цел да се стекнеме со сознание за имуногенетската асоцираност на афтозниот стоматит со антигените одредени од Главниот комплекс на хистокompatибилноста ги одредувавме и HLA - антигените. Статистичка значајност на разликите помеѓу испитуваната и контролната група е потврдена за антигените: A2, A28 и Ax од A-локусот, а од B-локусот за антигените: B35, B40, Bw56 и By.

Анализирајќи ги наодите од хуморалниот и целуларниот имунитет се наметнува заклучокот дека и едниот и другиот се вклучени во патогенезата на РАС и дека кај ова заболување се работи за постојано но умерено пореметување во рамнотежата на имунорегулацијата.

Клучни зборови: афтозен стоматит, имуноглобулини, лимфоцити, имунопатогенеза, имунорегулација.

ABSTRACT

IMMUNOLOGIC STATUS OF THE
PATIENTES WITH RECURRENT
APHTHOUS STOMATITIS

The rapid developments of Immunology has made possibility to it, to take important place in contemporary medicine. A great number of pathological states in the clinical practice, are connected with the disturbance of the immunological system. One of them is **Recurrent aphthous stomatitis (RAS)**, which by all researches nowadays, have remained with unclear etiopatogenetic events. At the great number of the experimental researches it is confirmed, that in the pathogenesis of the aphthous stomatitis, immunological processes have the leading part. Starting with this fact we based the aim of our research, in order to trace the immunologic status of the patients with **Stomatitis aphthosa recurrens**.

To realize the base aim 25 patients were examined with RAS, in the active phase and in the phase of remission of the disease. In both phases of the disease were determined the following parameters: serums and salivarius immunoglobulins, circulars immunocomplexes (CIC) in serum, T&B-lymphocytes and subpopulations of T-lymphocytes.

The results of our researches have been compared with the constant standards of the Republic Institution of Transfuziology and we have determined the signification of the differences through Student "t"-distribution.

The values of the serum immunoglobulins A and G in both phases of the disease were a great deal decreased. The level of IgM was significantly decreased in the active phase of the disease. The level of the CIC

ABSTRACT

in both phases was evidently increased. Both in the phase of exacerbation and in the phase of remission we have registered significant decrease of the level of the salivarius IgA, until IgG and IgM didn't show any important changes comparing the control group.

The results of the research of the cellular immunity showed exception of the control values. Presentation of T-Ly in the both phases in the disease was with high statistic importance till presence of B-Ly didn't show any important exceptions comparing the control group. From subpopulations of T-lymphocytes (CD4, CD8, CD16) only CD8 (suppressor, cytotoxic) subpopulation were with a bigger occurrence comparing the control group.

In order to find out more about the immunogenetic association of the aphthous stomatitis with antigens given of the Major complex of histocompatibility we have determined and HLA-antigens. Statistic significance of the differences between our researches and control group was confirmed of the antigens: A2, A28 and Ax of A-lokus but of B-lokus for antigens: B35, B40, BW56 and By.

Analyzing the medical finding of the humoral & cellular immunity it we came to the conclusion that the one and the another participate in the pathogenesis of RAS and in this disease there is a constant and temperately disturbance of the imunoregulation.

Key words: aphthous stomatitis, immunoglobulins, lymphocytes, immunopathogenesis, immunoregulation.

СОДРЖИНА

1. ВОВЕД	1
2. ИМУНОЛОШКИ СИСТЕМ	7
3. ЛИТЕРАТУРЕН ПРЕГЛЕД	20
4. ЦЕЛ НА ТРУДОТ	28
5. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОД НА РАБОТА	31
6. РЕЗУЛТАТИ	42
7. ДИСКУСИЈА	74
8. ЗАКЛУЧОЦИ	86
9. ЛИТЕРАТУРА	90

1. БОВЕД

Рекурентниот афтозен стоматит (РАС) е хронично рецидивно заболување кое и припаѓа на оралната група на афтозната болест, а го карактеризира основна морфолошка единица "афта". Овој термин води потекло од старогрчкиот јазик а во превод значи гори.

Според **Когој** афтата е морфолошки поим со кој се означува посебна ефлоресценција локализирана само на лигавиците. Истиот автор наведува друг термин "aphthosis" со кој ја истакнува полисимптомноста на заболувањето каде што слузокожните афти се само една од многубројните манифестации во склоп на други афицирани органи.

Од епидемиолошки аспект афтозниот стоматит, покрај гингивитите, е најчесто заболување на оралната лигавица, ги зафаќа сите раси и цивилизации. Американските автори истакнуваат дека РАС почесто се сретнува кај белците и азијатските народи, а поретко кај црниците. Се претпоставува дека секој петти човек во текот на својот живот имал афтозни лезии во усната празнина. Што се однесува до возраста, сите се согласни со фактот дека болеста најчесто започнува во младоста, особено во втората деката од животот, а после четириесеттата година постепено исчезнува и фреквентноста на појавувањето на афтозните лезии е намалена.

Афтозниот стоматит се карактеризира со рецидивност, со периоди на егзацербација и ремисија кои можат да се јават во правилни или неправилни интервали. Понекогаш рецидивите се толку чести што новите налети го следат заздравувањето на старите. Времетраењето на афтозните лезии во склоп на РАС е индивидуално, и зависи од големината, од длабочината, од местоположбата како и од некои други чинители, меѓутоа во просек изнесува 5 до 15 дена.

Во клиничкиот еволутивен развој на афтата постои лесен продром, локално чувство на жарење и на болка, а по 24 часа се јавува црвена макула. Еден до три дена потоа, во центарот на тој енантем, се јавува некроза и се формира улкус. Почетната ексудација се заменува со фибриноген во облик на бело-жолто-црвена мембрана. Во полниот клинички развој афтата е ерозивно-улцерозна промена прекриена со сиво-жолта мембрана, рабовите се правилни, не се поткопани и лежат во ниво на околниот епитал. Афтите се проследени со субјективни потешкотии, особено се болни во првите денови, болката е спонтана, а се потенцира при провокација. Пациентите се нервозни и се со намалена работоспособност.

Клиничката слика има суштествено значење бидејќи нема сигурни лабораториски можности за дијагностика. Се разликуваат три главни клинички презентации на афтозниот стоматит: минорна, мајорна и херпетиформна (2, 41, 57, 59).

Минорната форма на РАС често се јавува и се карактеризира со округли или овални улцерации помали од 5 мм во дијаметар, прекриени со сивкастобеличеста мембрана и обрабени со тенко црвено хало. Најчесто се јавува на лабијалната и букалната мукоза и на подот на усната празнина, а поретко на гингивата, на палатумот и на

дорзалната површина на јазикот. Лезиите заздравуваат во рок од 10 до 14 дена без цикатрикс.

Мајорната форма на РАС поретко се јавува и има побурна клиничка слика а позната е како *Periadenitis mucosae necrotica recurrens*. Лезиите се овални и нивната димензија во дијаметар изнесува од 1 до 3 см. Предилекциони места се усните и мекото непце, меѓутоа лезиите можат да се сретнат и во било која друга регија. Перзистираат и до шест недели а заздравуваат со цикатрикс. Оваа форма на РАС обично почнува после пубертетот, има хроничен тек и може да трае повеќе од 20 години.

Најретка е херпетиформната презентација на заболувањето. Се карактеризира со мултипли, со рекурентни, со мали и со болни улцерации кои се расфрлени низ целата орална празнина. Можат да се јават и до 100 улцерации во налет со пречник од 2 до 3 мм. Имаат тенденција за конfluирање при што со спојување на две или повеќе афтозни морфи се добиваат најразлични облици. Ваква клиничка презентација почесто е застапена кај жени и се јавува во подоцнежна возраст.

И покрај тоа, што современата медицинска наука располага со клинички, со хистолошки и со хистохемиски начин на испитување при што се користат светлосната и електронската микроскопија, вирусолошки, имунофлуоресцентни, алерголошки и микробиолошки испитувања, етиологијата на афтозната болест е сеуште непозната.

Постои сваќањето за мултикаузална етиологија на РАС. Како етиолошки чинители се посочуваат наследството, ендокрината дисрегулација, трауми, психички фактори, бактеријска инфекција, алергија, автоимунни механизми, болести на дигестивниот тракт. Согласно

со тоа што причинителот сеуште е непознат, авторите како причина за појава на афтите ја посочуваат состојбата на организмот во период во кој се јавила афтата. Вакви лезии можат да се видат и во склоп на различни системни заболувања како што е **Behcet** - овата болест (27).

Scully (68) опишува присуство на афтозни лезии кај случаи со изразена неутропенија во периферната крв. Според **Grattan** (19) до појава на афтозни лезии доаѓа и кај различни пореметувања во исхраната со или без пропратни дигестивни пореметувања. Имунодефициенциите вклучувајќи ја и сидата многу често се пратени со присуство на афтозни лезии (25, 69).

Во некои студии од Англија и Северна Америка (7, 60, 80) се истакнува дека феродефицитот, дефицитот на фолна киселина и витаминот B_{12} се двапати почесто застапени кај пациентите со РАС отколку кај контролната група.

Кај некои пациенти со афтозен стоматит клиничката појава на улцерацијата е поврзана со земање на одреден вид на храна. Но по опсежни студии не е најдена корелација помеѓу поедини типови храна и афтите и покрај фактот дека одредени типови храна предизвикуваат позитивна кожна реакција и болка кога ќе се аплицираат површински на самата афтозна лезија (79).

Кај помал број жени појавата на афтите е поврзана со лутеалната фаза на менструалниот циклус заради промени во нивото на прогестеронот (12, 16, 71). Притоа појавата на афтите не може да се поврзе со психолошките фактори (16) иако постојат случаи каде стресот може да предизвика појава на афтозна лезија (47, 72).

На локалните фактори во етиологијата на РАС укажува фактот дека траумата може да предизвика појава на афти како и тоа дека

афтозниот стоматит не е вообичаено да се појави на местата каде што има кератинизација на епителот и кај пушачите (61, 63). **Cekic-Arambasin** (6) истакнува дека од локалните етиолошки фактори во појавата и развојот на афтозните ефлоресценции доминантна улога има бактерискиот дентален плак.

Поновите известувања се повеќе упатуваат на автоимуната етиопатогенеза на афтозната болест, односно на афтозниот стоматит се почесто му се даваат имунопатолошки аспекти.

2. ИМУНОЛОШКИ СИСТЕМ

Имунолошкиот систем е главен регулатор на сите заштитни механизми на човековиот организам, координатор е на сложените хомеостатски механизми кои овозможуваат меѓусебно комуницирање на клетките, нивна меѓусебна толерантност и содејство во разновидни функции. Тој е главен чувар и чинител на биолошкиот идентитет и интегритет на целиот човеков организам па и на оралната празнина.

Постојат два вида на имунитет кај човекоџ, неспецифичен и специфичен. Неспецифичниот имунитет во човековиот организам се реализира преку дејството на полиморфонуклеарните леукоцити, моноцити, хистиоцити и други клетки. Се одвива во две етапи, хемотаксија и фагоцитоза, потпомогнати од хуморални фактори, опсонини и комплемент. Специфичниот имунитет, филогенетски гледано, се јавува после диференцирањето на тимусот и лимфното ткиво. Носители на овој тип на имунитет се лимфоцитите.

Стимулацијата на имунолошкиот систем е сложен процес. Притоа овој систем на тубите антигени во организмот може да одговори со создавање на специфични антитела (хуморелен имун одговор) или преку активација на сензибилизирани Т-лимфоцити (целуларен имун одговор). И при двата типа на имунолошки одговор имунокомпетентни клетки се лимфоцитите (55).

Не е можно потполно да се одвои хуморалниот од целуларниот одговор бидејќи антигените обично предизвикуваат и еден и

друг тип на имунолошки одговор. Притоа може да биде поголема ефикасноста на хуморалниот или на целуларниот имун одговор, што зависи од карактеристиките на патолошкиот агенс.

Во хуморалниот имун одговор клучно место имаат В-лимфоцитите кои создаваат антитела (имуноглобулини) но и Т-лимфоцитите кои што го препознаваат антигенот. Останатите клетки кои учествуваат во хуморалниот одговор се акцесорни и не се со специфично дејство. Кога организмот првпат ќе дојде во контакт со антигенот настанува таканаречен примарен имунолошки одговор при што споро се создаваат антитела. При повторен продор на антигенот во организмот, антителата побрзо се создаваат бидејќи во текот на примарниот имунолошки одговор се издвојува еден број на В-клетки. Овие клетки паметат (Memory cells), долго живеат и специфично реагираат на антиген.

Имуноглобулините се главни носители на хуморалниот имунитет. Молекулата на имуноглобулинот е составена од ист број на лесни и тешки полипептидни синцири, што може да се претстави со општа формула $(H_2L_2)_n$ (10). H-синцирите содржат поголем број на аминокиселини, имаат поголема молекулска тежина и се наречени тешки синцири, додека L-синцирите се со помала молекулска тежина и се наречени лесни синцири.

Полипептидните синцири се поврзани помеѓу себе со помош на нековалентни сили и ковалентни меѓусинцирни дисулфидни мостови со што се создава билатерално симетрична структура. Секој полипептиден синцир е составен од повеќе домени кои се со прилично константна големина (100-110 аминокиселински остатоци). N-терминалниот домен на секој синцир покажува многу поголемо варирање

во распоредот на аминокиселините и е наречен варијабилен (V) регион, за разлика од C-терминалниот домен каде распоредот на аминокиселините е релативно константен и е наречен константен (C) регион. Ензимот папаин ја кине молекулата на имуноглобулинот на 2 Fab фрагменти и 1 Fc фрагмент. Fab фрагментите се носители на специфичноста на имуноглобулинот и го врзуваат антигенот, а Fc фрагментот ги дава билошките особености на антителото. Молекулата на имуноглобулинот е бифункционална молекула, врзува антиген, а започнува и други биолошки феномени кои не зависат од специфичноста на антителото. Специфичноста е одредена и зависи од распоредот на аминокиселините во имуноглобулинот. Врзувањето на антигенот е овозможено со варијабилниот дел од лесниот и тешкиот синцир а останатите активности на имуноглобулините се овозможени со C-регионите на тешките синцири.

Класата на тешкиот синцир ја одредува класата на имуноглобулинот, па според тоа постојат следните пет класи на имуноглобулини: IgA, IgG, IgM, IgE и IgD.

Имуноглобулините не се застапени само во серумот туку ги има и во разни секрети како што се: плунката, носниот секрет, млекото и др. Класата на IgA е класа која што преовладува во овие секрети. Во хуманиот серум IgA се наоѓа во вид на четворосинцирна единица со молекулска тежина 160 000. Овој имуноглобулин во секретите се наоѓа во вид на две четворосинцирни единици здружени со два додатни типа на синцири. Едниот е секреторна компонента а другиот е J-синцир. Молекулската тежина на секреторниот IgA е 400 000. Секреторната компонента се врзува само за IgA и е присутна скоро во сите телесни секрети. J-синцирот се наоѓа кај сите полимерни облици на

имуноглобулините. Секреторната компонента ја продуцираат епителните клетки кои се наоѓаат во близината на слузокожата од каде што се излучува IgA. Функцијата на секреторната компонента е да го овозможи транспортот на молекулата на IgA низ мукозното ткиво.

Улогата на секреторниот IgA е да го обезбеди примарниот одбранбен механизам против некои локални инфекции благодарение на тоа што во изобилство се наоѓа во слунката, солзите, бронхиалниот секрет и во други телесни секрети. Се смета дека неговата основна функција не е уништување на антигенот туку спречување на продор на антигените супстанции во имунолошкиот систем. Познато е дека секреторниот IgA може успешно да врзе антиген, како и да ги неутрализира вирусите и бактериските ендотоксини. На тој начин ја спречува покретливоста и го оневозможува продорот на микроорганизмот.

Кај здрави луѓе IgG сочинува околу 75% од вкупните серумски имуноглобулини. Единствено тој од имуноглобулините поминува низ плацентата и е одговорен за заштита на новороденото во текот на првите месеци од животот. Се разликуваат четири поткласи на имуноглобулин G: IgG₁, IgG₂, IgG₃ и IgG₄. Карактеристика на IgG е што може да фиксира и активира комплемент. Оваа негова функција ја остварува поткласата IgG₃ додека останатите поткласи имаат многу мал афинитет кон комплементот. Макрофагите носат површински рецептори преку кои се врзуваат за Fc фрагментот од IgG. Макрофагите тогаш стануваат "вооружени" и можат цитотоксично да делуваат. Оваа реакција е наречена целуларна цитотоксичност зависна од антитела (англ. Antibody dependent cellular cytotoxic = ADCC).

IgM сочинува околу 10% од вкупната концентрација на серумските имуноглобулини. Тој е главен имуноглобулин кој се наоѓа на површината на В-клетката и најефикасно фиксира комплемент.

Имуноглобулините со антигените, кои се солубилни, можат да формираат имуни комплекси. Формираните солубилни имуни комплекси можат да бидат патогени. Тие доведуваат до фиксирање и активирање на комплемент, до активирање на коагулацијата на крвта а можат и да се фиксираат на специфични клеточни рецептори. Активирајќи го комплементот во присуство на неутрофили, на базофили и на мастоцити ослободуваат хистамин и други вазоактивни материи со што ја зголемуваат пермеабилноста на крвните садови. Солубилните имуни комплекси можат да формираат депо на имуни комплекси и заедно со протеолитичните ензими ослободени од еозинофилите да вршат ткивна лезија (11).

Важен елемент на хуморалниот имунитет е и системот на комплементот. Тој е главен хуморален посредник на реакцијата антиген-антитело. Се состои најмалку од 20 хемиски и имунолошки различни протеини на плазмата кои што рагираат помеѓу себе, како и со антителата и со клеточните мембрани (15). Интеракциите до кои доаѓа при активирањето на комплементот педизвикуваат билошки активности, директно поврзани со воспалителните процеси како и со лиза на голем број на клетки, на вируси и на бактерии. За да може да се одвива реакцијата на комплементот секоја од неговите компоненти се активира секвенцијално при одредени услови. Во човековиот организам постојат два паралелни но независни механизми на активација на комплементот, а се нарекуваат класичен и алтернативен (пропердински) пат на активација.

Комплементот по класичен пат го активираат комплекси од антиген и антитело или агрегирани имуноглобулини, особено IgM и IgG. Класичниот пат се состои од реакциите на првата (C₁), на втората (C₂), на третата (C₃) и на четвртата (C₄) компонента на комплементот. При активирањето на протеините, односно на одделни компоненти на комплементот, тие се стекнуваат со ензимска активност и ги активираат останатите компоненти на комплементот. Активацијата на комплементот по алтернативен пат се разликува од активацијата по класичен пат. За да почне активацијата по алтернативен пат потребно е присуство на C₃b компонента која што, несомнено, во мали количини се создава постојано во циркулацијата.

Реакциите и од класичниот и од алтернативниот пат на активација се спојуваат во средишниот дел од системот на комплементот. Понатамошниот след од реакции, во кои учествуваат компонентите од C₅ до C₉, се засднички и за едниот и за другиот пат на активација на комплементот.

Основни носители на целуларниот имун одговор се Т-лимфоцитите. Карактеристично за овој тип на имун одговор е дека може да се пренесува преку Т-лимфоцитите а не може да се пренесува преку серум од еден на друг организам. Т-лимфоцитите се особено сфикасни при препознавањето на антигените кои се наоѓаат на клеточната мембрана. Тие ги препознаваат вирусните антигени, туморските антигени и антигените на хистокompatибилноста.

Кон крајот на шеесетите и почетокот на седумдесетите години од овој век истражувањата покажале дека малите сензибилизирани Т-лимфоцити се специфични за антиген, што значи дека тие имаат рецептор со кој што го препознаваат антигенот (56). Нивниот

рецептор (хетеродимер) се состои од два аминокиселински синцири: α и β синцир. И двата синцира се составен дел на протеинската мембрана на Т- лимфоцитот а со 4 до 5 аминокиселини се протегаат во внатрешноста на клетката. Хетеродимерот е Т-клеточен рецептор за антигенот но тој сам не ги препознава солубилните антигени. Антигениот рецептор го препознава антигенот заедно со продуктите на МНС-гените (т.е. молекулите на класа I и класа II од HLA - комплексот). При постоење на солубилни антигени приознавањето е поврзано со молекулите од класа II од HLA-комплексот, а при вирусни антигени препознавањето е поврзано со молекулите од класа I.

Физички здружени со хетеродимерот на површината на Т-клетката се наоѓаат и три други молекули наречени CD3. Се смета дека овие молекули го стабилизираат антигенскиот рецептор на Т-лимфоцитот и вршат трансдукција на активацискиот сигнал низ мембраната во внатрешноста на клетката.

За активирање на Т-клетката многу важна улога имаат CD₄ и CD8 молекулите. Тие молекули не учествуваат во препознавањето на антигенот, туку учествуваат во препознавањето на продуктите на МНС-гените. Присуството на CD₄ молекулата на површината на Т-клетките значи дека тие се програмирани да ги препознаваат молекулите од II класа на HLA антигените, и се наречени помошнички (*helper/inducer*) Т-лимфоцити. Т-клетките кои носат CD8 молекула на својата површина ги препознаваат молекулите од I класа на HLA комплексот и се наречени цитотоксични (*cytotoxic/suppressor*) Т-лимфоцити.

Откриени се и други Т-клетки кои можат да ги усмртат туморските клетки. Тие клетки сочинуваат посебна популација на големи лимфоцити во чија цитоплазма се забележуваат карактеристични

азурофилни гранули. Клетките се наречени "вродени убијци" (natural killer- NK) или голсми гранулирани лимфоцити (англ. Largegranular lymphocytes LGL) (24). Овие клетки вршат лиза со помош на супстанцата грануларен цитолизин, која ја вметнуваат во мембраната на целната клетка.

Имунолошкиот систем во голема мерка е авторегулаторен. Но во неговата регулација покрај неуролошкиот и ендокриниот систем многу важна улога има и генетската контрола која се остварува преку главниот HLA- комплекс на хистокompatibilност кај човекот (14). Овој комплекс е сместен на покусиот крак од шестиот хромозом. Комитетот за HLA- номенклатура денеска званично признава седум генски локуси и тоа: HLA-A, HLA-B, HLA-C, којшто ги одредуваат антигените од I класа; и HLA-D, HLA-DR, HLA-DQ и HLA-DP којшто ги одредуваат антигените од II класа (9). Во HLA- комплексот се мапирани и додатни генски региони. Регион на комплементот содржи гени кои ја одредуваат втората и четвртата компонента (C_2 и C_4) од класичниот пат на активација, и пропердинскиот фактор В (BF) од алтернативниот пат на активација на комплементот.

На секој локус може да се најде еден од повеќето алтернативни облици (алели) на соодветниот антиген. Продуктите на HLA-A, B, C, D, DR, DQ и DP се молекули сместени на површината на голем број на клетки, на кој што молекули се наоѓаат антигени детерминанти.

Антигените од I класа се наоѓаат практично на секоја клетка во човековиот организам. Нивната најважна функција е генетската контрола на имунолошкиот одговор а се однесува на феноменот на HLA-рестрикција на лиза на клетки инфицирани од вирус, посредувана од клетки CML (англ. Cell mediated lysis). Кога T-

лимфоцитите ќе бидат изложени на вирусни антигени, ги препознаваат заедно со антигените од I класа. Тоа ќе предизвика развој на цитотоксични Т-лимфоцити. Нивната цитотоксична активност ќе биде ограничена само на оние целни клетки кои носат ист вирусен антиген и ист антиген од I класа, кои биле присутни на клетките што предизвикале развој на цитотоксичните Т-лимфоцити.

Антигените од II класа се наоѓаат првенствено на површината на имунокомпетентните клетки: макрофаги (моноцити), неактивни Т-лимфоцити, активни Т-лимфоцити, а особено на В-лимфоцитите. Нивната улога се состои во продуктивна интеракција помеѓу имунокомпетентните клетки со идентични HLA-антигени, а исто така учествуваат и во презентацијата на антигенот на Т-лимфоцитите од страна на макрофагот.

Механизмот на дејство на имунолошкиот систем се остварува во три фази:

-идентификација на антигенот;

-диференцијација на имунокомпетентните клетки;

-ефекторна реакција.

Антигенот на местото на продор во организмот бива прифатен од макрофагот. Во неговата цитоплазма се одвива сложен биохемиски процес со којшто го преработува антигенот. Дел од антигенот, во кој се наоѓа неговата специфична детерминанта, се исфрла на површината од макрофагот блиску до антигените од HLA - комплексот. На овој начин макрофагот им го претставува антигенот на помошничките T₄-лимфоцити, кои го идентификуваат истиот само во склоп на идентификација на антигените од HLA-комплексот.

Откако T_4 -клетката ќе ја прими информацијата за присуството на антигенот, таа ја насочува својата функција врз експресија на оној вид на лимфоцити кои на својата мембрана имаат специфичен рецептор за претставениот антиген и кои најбрзо и најефикасно ќе го неутрализираат антигенот. Ако е во прашање бактериски антиген, токсин или некој друг солубилен антиген тогаш најчесто доаѓа до активирање на В-клетката. Таа го зголемува волуменот на својата цитоплазма и станува чувствителна и на други активирачки сигнали. Во тие активирачки сигнали спаѓаат: фактор кој овозможува растење на В - клетката (англ. В cell growth factor BCGF) и фактор на В-клеточна диференцијација (англ. В cell difference factor BCDF). Нив ги произведуваат Т-лимфоцитите и тоа субпопулацијата Т-помошнички.

Доклолку се работи за вирус доаѓа до диференцирање на цитотоксични Т-лимфоцити, кои го уништуваат вирусот уништувајќи ја истовремено и клетката домаќин.

Ефекторната фаза, В-клетката ја остварува преку нејзино трансформирање во плазма клетка и продукција на имуноглобулини. Која класа на имуноглобулин ќе биде произведена зависи од генетските фактори, но и од типот на антигенот, од неговата количина како и од начинот на продорот на антигенот во организмот. За неутрализација или уништување на антигенот, имуноглобулините го фиксираат и активираат комплементот.

Ефекторната реакција на Т-лимфоцитите се остварува преку директното цитотоксично дејство врз антигенот и преку нивна продукција на лимфокини:

- лимфотоксин, ги уништува клетките мети;
- МАФ-фактор на активација на макрофагот;

- MIF-фактор кој ја инхибира миграцијата на макрофагите;
- интерферон, ја инхибира мултипликацијата на вирусите;
- фактор на активација на остеокластична ресорбција.

Продорот на антигенот од околината во организмот, го доведува организмот во состојба на хиперсензибилност и предизвикува соодветна реакција на имунолошкиот систем. Според времето на јавувањето на имунолошкиот одговор и според учеството на поедини ефекторни клетки во него се разликуваат два вида на реакции:

- реакции од ран сензибилитет и
- реакции од доцен сензибилитет.

Постојат три типа на реакции од ран сензибилитет. Првиот тип е анафилактична реакција, во која учествуваат антигени и антитела (реагини). Антителата се од класата на IgE и се фиксирани за површината на мастоцитите и базофилните леукоцити. При реакцијата антиген антитело се ослободуваат хемиски активни медијатори од типот на хистамин, брадикинин, серотонин и други, кои доведуваат до алергиска манифестација во организмот. Вториот тип е цитолитична или цитотоксична реакција и во нејзе обично учествуваат антителата од класите на IgG и M. Во овој тип на реакција учествува и комплементот. Третиот тип на хиперсензибилна реакција е реакцијата во која учествуваат имуните комплекси (антиген + антитело + комплемент) а наречена е Артусов феномен. Имуните комплекси предизвикуваат лезии на малите крвни садови (32).

Во реакциите од доцен сензибилитет учествуваат тимус зависните лимфоцити и тие во контакт со антигенот се сензибилизираат и се трансформираат. При повторен контакт со антигенот Т-лимфоцитите ослободуваат биолошки активни супстанции, лимфокини,

коишто доведуваат до уништување на клетките и до појава на други реакции од доцен сензибилитет.

3. ЛИТЕРАТУРЕН ПРЕГЛЕД

Точните етиопатогенетски збиднувања кај рекурентниот афтозен стоматит сеуште се неразјаснети и најчесто се смета дека се имунолошки поврзани, а како доказ за тоа се и многубројните експериментални студии. Меѓутоа, ни една уверлива теорија за имунопатогенезата досега не е понудена, теорија која ќе ја објасни интермитентноста на нападите, невозможността да се поврзат симптомите на РАС со симптомите на досега познатите имунолошко зависни заболувања и тоа што заболувањето не реагира на имуномодулаторна терапија.

Лукашова (45) укажува на алергичната основа на рецидивирачките афти, во која значајна партиципација остваруваат токсо-бактериските агенци.

Рибакoв (62) информира дека афтозната минор и мајор форма се од алергијска природа. Тој го испитувал нивото на хепаринот кај 56 болни со РАС при што открил дека тоа во крвта кај болните било повисоко за разлика од контролната група. И Косорукова (30) исто така открила зголемено ниво на хеперинот во плазмата на болните со РАС како и зголемена фибринолитична активност на крвта. Терехова (75) укажува на зголемено ниво на хистамин, како и на ефектите од хистоглобинот во терапијата на рекурентниот афтозен стоматит.

Накова и сораб. (51) ја испитувале активноста на лизозимот во плунката од болни со рекурентен афтозен стоматит. Добиените

результати покажале сигнификантно намалување на активноста на лизозимот во плунката од пациентите со РАС во фаза на егзацербација во споредба со контролната група. После санацијата на афтозните морфи, односно во фазата на ремисија, активноста на лизозимот сигнификантно се зголемила во споредба со фазата на егзацербација но тие вредности биле далеку пониски отколку кај контролната група. Овие резултати им дале за право на авторите да заклучат дека при РАС доаѓа до намалување на локалниот имунитет на оралната лигавица со што се губи нејзината бариерна функција и во такви услови таа претставува *lokus minoris resistence* за секој провоцирачки фактор кој многу лесно го манифестира своето патолошко дејство.

Терехова (74) преку клиничко лабораториски испитувања докажала дека кај пациентите со рекурентен автозен стоматит доаѓа до промени во неспецифичната заштита на организмот, до нарушена фагоцитна функција на неутрофилите и до намалување на комплементарната и бактерицидната активност на серумот.

Во голем број трудови испитувани се квантитативните вредности на имуноглобулините за да се види дали има некоја поврзаност помеѓу појавата на афтозните лезии и квантитативните вариации на имуноглобулините. Литературните податоци за вариациите во вредностите на саливарните и серумските имуноглобулини прилично се контраверзни.

Brody и Silberman (5) кај заболени од афтозен стоматит регистрирале намалено ниво на серумскиот IgA.

Bagg и сораб. (3) споредувајќи ги средните вредности на серумските IgG, IgM и IgA кај 21 пациент со РАС и 12 здрави контролни субјекти, дошле до заклучок дека не постои значителна разлика помеѓу

пациентите со РАС и контролната група за било кои од овие параметри. **Malmstrom** (46) го испитувал нивото на серумските IgA, IgG и IgM кај 20 пациенти со РАС. Неговите сознанија од спроведеното испитување се дека нивоата на овие имуноглобулини се во границите на нормалните вредности.

Лазаревска и сораб. (35) го одредувале нивото на саливарните имуноглобулини кај 25 пациенти со дијагноза *Stomatitis aphthosa chronica recidivans* во два наврата. Првпат, кога болните имале објективни промени карактеристични за оваа дијагноза, а вторпат 15 до 30 дена подоцна кога на оралната лигавица немало улцерозни алтерации. Саливарните протеински фракции биле одредувани по методата на **Mancini** со употреба на партиген плоча за имунодифузија. Резултатите од ова истражување покажале зголемување на протеинските фракции на IgA и на IgG во плунката на пациентите со афтозен стоматит во акутната фаза, а 20 до 30 дена по акутната фаза саливарните IgA и IgG биле намалени, односно биле многу блиску до вредностите кај контролната група.

Хазанова (23) преку сопствените испитувања дошла до заклучок дека нивото на серумските имуноглобулини кај афтозниот стоматит покажува слаба тенденција на пораст.

Orlov (52) кај 78% од пациентите со афтозни лезии регистрирала зголемување на имуноглобулинската фракција M.

Lehner (42) и **Levinsky** (44) укажуваат дека во патогенезата на РАС поверојатен е В - лимфоцитно зависниот механизам, вклучувајќи ја и целуларната цитотоксичност зависна од антитела (ADCC) како и циркулирачките имуни комплекси. **Greenspan** (20) забележал дека пациентите со РАС имаат сигнификантно покачена активност на ADCC

во почетокот на болеста додека **Savage** (64) докажал дека клетките наречени LGL (големи гранулирани лимфоцити) во лезиите се способни за ADCC.

Во литературата се среќаваат податоци кои упатуваат на зголемување на нивото на циркулирачките имуни комплекси (ЦИК). **Gupta** (21) забележал присуство на имуни комплекси во крвта од периферната циркулација кај пациенти со РАС, а во поголема мерка кај пациенти со **Behcet**-ов синдром.

Испитувајќи го нивото на ЦИК со помош на моноклонален реуматоден фактор, **Wagg** и сораб. (3) не успеале да докажат пораст на истите кај пациентите со РАС. Авторите тврдат дека треба да се земе во предвид и можноста од постоење на оштетувања на ткивата предизвикани од имуни комплекси создадени на клеточната мембрана или во градбените протеини на клетките. Тие сметаат дека овој механизам е соодветен за РАС ограничен во пределот на устата и би можел да помогне во објаснувањето на хистолошката слика на васкулитот и покрај привидното ниско ниво на ЦИК. Во овој контекст е интересно да се спомнат и сознанијата на **Dagalis** (8) според кој имуните комплекси во оралната празнина би можеле да предизвикаат лезии, со тоа што ги привлекуваат неутрофилните полиморфонуклеари кои преку либерација на лизозомални ензими го уништуваат ткивото.

Интересот за улогата на целуларниот имунитет во патогенезата на афтозниот стоматит бил поттикнат од фактот дека првите хистолошки промсни кај овој стоматит го вклучуваат присуството на лимфоцитарниот инфилтрат, а другите клетки се појавуваат во подоцнежните фази од развојот на лезиите (9).

Schroeder (67) земал биоптичен материјал од афтозни морфи (од првиот до седмиот ден од развојот на улцерацијата) кај пациенти со минорна форма на РАС, кај пациенти со **Behcet**-овиот синдром, како и од здрава мукоза кај афтозни болни. Примероците ги подвргнал на квантитативна стереолошка анализа со електронски микроскоп. Резултатите покажале дека инфилтратот во латералните делови од улцерацијата се разликува од инфилтратот во централниот дел од улцерацијата. Во него било забележано присуство на голем број на леукоцити (18% во латералниот сегмент, а 23% во централниот сегмент) и тоа повеќе биле застапени моноцитите. Бластни форми на Т-лимфоцитите биле присутни, додека бластни форми на В-лимфоцитите и плазма клетки биле малку застапени. Мастоцитите биле застапени повеќе отколку кај нормалната мукоза. Споредбата на инфилтратот од афтите кај минорната форма на РАС со инфилтратот од афтите кај **Behcet**-овиот синдром, покажала дека патогенезата на овие две форми на улцерации се разликува.

Rogers (58) смета дека при патогенетските збиднувања на афтозниот стоматит се работи за одложена хиперсензитивна реакција. Авторот испитувајќи ја цитотоксичноста на лимфоцитите утврдил дека постои поврзаност помеѓу лимфоцитарната трансформација и цитотоксичноста од една страна и клиничката манифестација на заболувањето од друга страна. Истото укажува на можната патогенетска корелација помеѓу лимфоцитите и болеста.

Orlov (52, 81) смета дека самиот ритам на формирањето на афтозната лезија е карактеристичен за алергиските реакции од доцен тип, кој факт го потврдува со хисто-цитолошки испитувања.

Склиар (73) го испитувал Т и В-системот кај болни од афтозен стоматит и дошол до заклучок дека е намален вкупниот број на лимфоцитите кај испитуваните лица. Авторот констатирал нарушување на регулаторната функција на Т-лимфоцитите, односно намалена функција на супресорните Т-клетки, зголемена активност на хелперните Т-клетки и соодветно на тоа зголемена активност на В-имунитетот. Истиот автор истакнува дека неговото испитување дозволува да се претпостави дека афтозниот стоматит им припаѓа на имунодефициентните состојби со дефицит на Т-супресорите.

Pedersen (54) укажува на фактот дека испитувањата на крвта од периферната циркулација односно на субпопулациите на Т-лимфоцитите упатуваат на постоење на општа нерамнотежа во имунорегулацијата кај пациентите со афтозен стоматит. Најчесто испитувани субпопулации на Т-лимфоцитите се Т₄, CD₄ (хелперни клетки) и Т₈, CD₈ (супресорни или цитотоксични клетки). Од интерес во испитувањето бил и соодносот на Т₄/Т₈ клетките.

Landesberg (33) се согласува со ставот дека кај пациентите со РАС има пореметување во рамнотежата на имунорегулацијата. Според истиот автор намалениот сооднос на CD₄/CD₈ клетките се должи на намалување на бројот на CD₄ - лимфоцитите за време на акутната фаза од заболувањето. Според Kayavis (29), пак, намалениот сооднос на CD₄/CD₈ се должи на опаѓање на бројот на CD₄ - клетките и на зголемување на бројот на CD₈ - клетките во периферната циркулација.

Нејасната етиологија како и фактот дека афтозната болест често се јавува кај повеќе членови на едно семејство, биле поттик да се проследи свентуалната поврзаност на афтозната болест со HLA - антигените од главниот комплекс на хистокompatibilност.

Savage (65) ги открил антигените од класата I и II на HLA - комплексот во базалните клетки од преулцерозните афтозни лезии. Како лезиите напредувале кон улцеративна фаза, антигените биле регистрирани во клеточните мембрани низ целата дебелина на епителот. Со заздравувањето на улцерациите, присуството на HLA - антигените се намалувало до исчезнување или со малубројна застапеност на клеточните мембрани.

Колевски (31) вршел HLA - типизација кај 31 болен од Morbus Behcet и добил зголемена фреквенција на антигениот A11 а особено на антигенот B5. Кај 27 болни од Stomatitis aphthosa, авторот забележал зголемена фреквенција на антигените B5, B14, B33 и B39.

Lehner (43) вршел HLA - типизација кај 17 пациенти со PAC и дошол до заклучок дека постои сигнификантна корелација помеѓу заболувањето и HLA -DR2 антигенот (обично во хаплотип HLA -DR2/B12).

4. ЦЕЛ НА ТРУДОТ

Во функција на разрешувањето на повеќевековниот проблем на етиопатогенезата на афтозното заболување направени се бројни научни испитувања и известувања. Тие обилуваат со податоци, претпоставки и толкувања кои неретко се контрадикторни и недоискажани.

Во последниве неколку десетлетија клиничката имунологија е во голем подем, таа дава можност за проследување на имунолошките аспекти на многу заболувања меѓу кои и на афтозните.

Тргувајќи од фактот дека имунолошките процеси имаат битна улога во патогенезата на афтозниот стоматит, целта на овој труд е да го проследиме имунолошкиот статус (хуморалниот и целуларниот) кај пациенти со *Stomatitis aphthosa recurrens* преку одредување на:

- Концентрацијата на саливарните и серумските имуноглобулини- IgA, IgG, IgM;
- Нивото на циркуларчките имуни комплекси (СИК);
- Т и В - лимфоцитите;
- Субпопулациите на периферните Т - лимфоцити.

Посочените параметри ги проследивме во две фази, во фаза на егзацербација и фаза на ремисија.

Со цел да се стекнеме со сознание дали постои имуногенетска поврзаност на афтозниот стоматит со антигените

одредени од Главниот комплекс на гените на хистокомпатибилноста (ГКГХ) или HLA - системот ги одредуваат и

- HLA - антигените и тоа само во еден наврат.

5. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОД
НА РАБОТА

За реализацијата на поставената цел, на Клиниката за болести на устата и пародонтот се проследени 25 пациенти од обата пола со дијагноза *Stomatitis aphthosa recurrens*. Дијагнозата е поставувана врз основа на:

- темелно земена анамнеза при што се акцентирани фамилијарната предиспозиција и заболувањата од интерес вклучувајќи ги и инфективната моноклеоза, хепатитот, цитомегалиските инфекции, сидата и др.;

- објективен наод и

- субјективен наод.

Имунолошкиот статус-имуноглобулините, СИК, Т (CD3) и В лимфоцитите и субпопулациите на периферните Т-лимфоцити се одредувани во два наврата. Првпат во фазата на егзацербација на заболувањето а вторпат, по сенацијата на афтозните лезии со соодветно применетата терапија, односно во фазата на ремисија. HLA - антигените беа одредувани само во еден наврат.

Како контролна група за компарација на добиените резултати за вредностите на СИК и на имуноглобулините А, G и М во серум ни послужи оформената група во Заводот за трансфузиологија која ја сочинуваат 224 здрави лица кај кои клинички е утврдено дека немаат афтозен стоматит ниту пак било кое друго интеркурентно заболување.

Добиените резултати од вредностите на имуноглобулините А, G и M во салива се споредувани со контролната група која ја сочинуваат 54 здрави лица кај кои клинички е утврдено дека не заболуваат од некое заболување меѓу кое е и P.A.C.

Контролната група за споредување на вредностите на T (CD3) и B-лимфоцитите како и на субпопулациите на T-лимфоцитите е оформена од Заводот за трансфузиологија. Нејзе ја сочинуваат 50 здрави лица кај кои клинички е утврдено дека немаат афтозен стоматит ниту пак било кое друго заболување.

За споредба на добиените резултати од HLA-типизацијата се користени стандардите од Републичкиот завод за трансфузиологија.

1. Одредување на имуноглобулини во серум и салива

Мешаната плунка е земена наутро по пат на просто извлекување во количина од 2 до 5 ccm во чисти садови. Претходно е правена тоалета на забалото со физиолошки раствор. Материјалот е испраќан во најдолг рок од 2 часа во Заводот за трансфузиологија каде што е извршено центрифугирање и замрзнување на плунката. За одредување на нивото на серумските имуноглобулини беше земена крв со венспункција од кубиталната вена. Имуноглобулините беа одредувани со помош на радијална имунодифузија по Mancini. За таа цел се користени партиген плочи од Торлак-Белград. Во нив се наоѓа агар гел кој содржи моноспецифичен серум посебно за секоја класа на имуноглобулините.

Примероците од крвта или плунката се разредувани со физиолошки раствор според упатството од Торлак и потоа се внесувани во постоечките алвеоли на плочките. Следува затворање на плочките со

поклопец и инкубирање на собна температура 50 часа за имуноглобулин А и имуноглобулин G, а 80 часа за имуноглобулин М. Во овој период настапува реакција на преципитација помеѓу специфичните антитела од плочката и имуноглобулините од испитуваниот материјал, во вид на кружна преципитирачка линија и нејзиниот пречник се мери со помош на РИД-метар.

Одредувањето на вредностите на имуноглобулините се врши од плочката врз основа на измерениот дијаметар или пак се чита на калибрациона крива која се изготвува врз основа на стандардни раствори. Добиените вредности на имуноглобулин А се множат со 2 за имуноглобулин G со 10 а за имуноглобулин М не се мултиплицираат. Нормални вредности за имуноглобулин А се 1,20-4,00 мг/мл, за имуноглобулин G 7,60-20,00 мг/мл и имуноглобулин М 0,80-1,40 мг/мл во серум, додека пак во плунка имуноглобулин А 8-12 мг/мл, имуноглобулин G во трагови и имуноглобулин М 0,00 мг/мл.

2. Определување на СIK во серум

Определувањето е вршено по методата која користи ПЕГ (полиетилен гликол). На 1,5 мл. серум се додава 0,5 мл. 10% ПЕГ. Се остава да стои 5 - 30 мин. на 4°C. Потоа се префрлува во епрувети и се центрифугира 2 мин. на 5000 вртежи во минута. Талогот се пере трипати со 2% ПЕГ. Така испраниот талог се раствара со 1 мл. пуфер. Овде се користат определени реагенси во определен сооднос (1% CuSO_4 , 2% NaCO_3 и калиум тартарат). Од нивната смеса се зема по 5 мл. и се додава на претходниот талог добиен со центрифугирање. По инкубација од 20 мин. на собна температура се додава 0,5 мл. фолни раствор претходно припремен во однос 1 : 5 со дестилата. По 30 мин. инкубација на собна

температура се спектрофотометрира. Добиената суспензија се чита на подготвена крива и резултатот се изразува во милиграм %. Нормални вредности се од 0 до 0,05 мг %.

3. Определување на лимфоцитни субпопулации (CD маркери)

Субпопулациите на Т-лимфоцитите, како и оние на В-лимфоцитите, можат да се определат со помош на т.н. **Clusters of Differentiation** (CD) маркери. Користена е методата на индиректна имунофлуоресценција. Тест постапката е следната:

-на 50 микролитри лимфоцитна суспензија ($5000 \text{ Ly}/\text{mm}^3$) се додава 5 микролитри моноклонално антитело и по инкубација од 30 мин. на 4°C се пере со ФП, 7 мин./1500 вртења на 4°C .

-супернатантот се отфрла и на лимфоцитниот талог се додава 5 микролитри антитела маркирани со флуорохром. Се промешува и инкубира 30 мин. на 4°C во темно, па повторно се пере со истиот пуфер под исти услови.

-се отфрла супернатантот, а клеточниот талог се промешува и поставува на предметно стакло и чита со флуоресцентен микроскоп (веднаш или со правење траен препарат по 4 или 18 часа до 7 дена). Се бројат вкупните клетки и флуоресцентните во сооднос, па се добива процент на соодветните маркери.

- нормални вредности за $\text{CD}_3 = 46-64\%$, $\text{CD}_4=30-46\%$, $\text{CD}_8=16-30\%$, $\text{CD}_{16}=15\%$ и В-лимфоцити -6-10%.

4. Микролимфоцитотоксичен тест според Терасаки

За типизација на HLA-антигените е користен микролимфоцитотоксичниот тест според Терасаки. Реакцијата е врз принципот на цитотоксичност, а потребни се лимфоцити од лицето што типизира, тест серум и комплемент. Се изведува во два интервала: прво се ставаат во контакт испитуваните лимфоцити со тест серумите, а потоа се додава комплементот. Доколку има на лимфоцитите соодветни антигени за антителата од тест серумите, во присуство на комплементот ќе настане лиза на клетките-лимфоцитотоксичност. Реакцијата се одвива во микроплочки т.н. терасаки плочки, во кои се поставува течен парафин.

Лимфоцитната маса се добива од 10 мл. периферна хепаринизирана крв (10 ед. хепарин на 1 мл. крв). Примерокот крв со еднаков волумен се помешува со физиолошки раствор и се поставува внимателно врз 10 мл. градиент фикол-триозил со специфична тежина 1076. Издвојувањето на лимфоцитите и сите други дејства се одвиваат во пластична или во стаклена силиконизирана амбалажа. Потоа следува центрифугирање на 4°C за 20 мин. /1000 гр. Така се добиваат 5 слоја во епруветката, а лимфоцитите се наоѓаат во вториот слој, меѓу плазмата со тромбоцитите и градиентот -фикол- триозил. Издвоениот лимфоцитен слој се центрифугира во конусна епруветка на 4°C за 10 мин./900 гр. Потоа, лимфоцитниот талог се ресуспендира во Ханксов пуфер, се дотерува до 2 - 3000 лимфоцити/мм³ и се користи за типизација со претходна проверка на вијабилност на клетките.

Определувањето на антигените од локусите А и В е вршено со помош на повеќе серуми за 14 антигени од локус А и 23 од локус В. Серумите се набавени комерцијално, а определен број типизации се направени со серуми добиени од Франс-Трансплант, од Центарот за

типизација на болницата "Ребро" од Загреб, како и од сопствено производство.

Зајачкиот комплемент е добиван со издвојување серум од крвта добиена од 10 машки неимунизирани зајаци. Се испитува да не е сам по себе цитотоксичен и ако е негативен се користи понатаму како реагенс во тестот.

Тестот се одвива со поставување по 1 микролитар лимфоцитна суспензија во плочките каде веќе се разлеани серумите според определен план. По инкубација од 30 минути на собна температура, се додават по 5 микролитри комплемент и пак се инкубира 1 час во исти услови. Потоа се врши декантирање на сета содржина од плочките, освен лимфоцитите и се додава по 1 микролитар подготвен раствор на трипан сино (1% раствор). Доколку настапила реакција, односно на лимфоцитната мембрана соодветниот антиген е врзан со адекватните антитела од серумот, во присуство на комплемент, антителата ја убиваат клетката: издупчената мембрана ја пропушта бојата и лимфоцитите набабруваат и сино се обоени. Доколку нема реакција клетките се живи, со вообичаена големина, под микроскоп лесно просветлуваат. Читањето се врши со инверзен микроскоп, при што се определува процентот на мртвите клетки и тоа: 21-50% мртви лимфоцити е два поена, 51-80% е три поена и 81-100% е четири поена. Позитивна реакција е онаа која има 4 или 3 поени.

Плановите на батериите (серија различни плочки од исти серуми) беа составувани на таков начин за да се избегнат грешките од вкрстените реакции, преку поставување повеќе серуми за еден ист антиген или за збирни антигени.

Посочените испитувања се реализирани во Републичкиот завод за трансфузиологија при Медицинскиот факултет во Скопје.

Анамнестичките податоци, локалниот орален наод и добиените резултати се внесувани во картони специјално подготвени за таа намена. Добиените резултати се статистички обработени и е одредуван степенот на сигнификантноста на разликите. Резултатите (за вредностите на имуноглобулините, на СIK, на Т (CD3) и В-лимфоцитите) се споредувани со контролните, како и меѓусебно, односно резултатите добиени во фаза на егзацербација со резултатите добиени во фазата на ремисија. За овие вредности и од контролната и од испитуваните групи се пресметувани средните големина (\bar{X}), стандардните девијации (SD) и стандардните грешки (Se) по следните формули:

$$\bar{X} = \frac{\sum a}{n}$$

каде a - поединечни резултати,

n - бројот на случаите во секоја група и

\bar{X} - средна големина т.е. величина.

$$SD = \sqrt{\frac{\sum d^2}{n-1}}$$

каде d - ја означува разликата помеѓу поединечните резултати и средната вредност,

$\sum d^2$ - го означува збирот на разликите помеѓу поединечните резултати и средната вредност
SD - стандардна девијација.

$$Se = \frac{SD}{\sqrt{n}}$$

каде SD - стандардна девијација,
n - број на поединечните случаи во секоја група и
Se - стандардна грешка.

Сигнификантноста на разликите на вредностите е одредувана преку Student-овата "t"-дистрибуција, а соодветната "t" вредност е пресметувана по формулата:

$$t = \frac{\bar{X}_1 - \bar{X}_2}{SD_{\bar{X}_1 - \bar{X}_2}}$$

$$SD_{\bar{X}_1 - \bar{X}_2} = \sqrt{\frac{n_1 SD_1^2 + n_2 SD_2^2}{n_1 + n_2 - 2} \cdot \frac{n_1 + n_2}{n_1 n_2}}$$

каде \bar{X}_1 - средна аритметичка големина на една група,
 \bar{X}_2 - средна аритметичка големина на втората група,
SD₁ - стандардна девијација на едната група,
SD₂ - стандардна девијација на втората група,

n_1 - вкупен број на индивидуални големини на едната група

n_2 - вкупен број на индивидуални големини на втората група.

Добиените "t" вредности, во зависност од бројот на степени на слобода (df), која се пресметува по формулата: $df = n_1 + n_2 - 2$, се споредувани со вредностите за "t" дадени во **Appendix V** од книгата на **Croxtan**, од каде се отчитува степенот на сигнификантност (P) на разликите на вредностите помеѓу испитуваните групи (0,90 - 0,001), при што за степенот на сигнификантност се користени додатни статистички симболи (0 - несигнификантна, • - слабо сигнификантна, * - умерено сигнификантна, ** - високо сигнификантна и *** - многу високо сигнификантна разлика на вредностите).

Одредуван е и соодносот на CD4/CD8 лимфоцитите од периферната циркулација.

Кај пациенти со афтозен стоматит и контролната група кај кои е извршена HLA-типизација, статистичката анализа е извршена со определување на фактор на релативен ризик (RR) за можните асоцирани антигени според формулата:

$$RR = \frac{f_6 (1 - f_3)}{f_3 (1 - f_6)}$$

каде f_3 - антигенска фреквенција на здрави лица и

f_6 - антигенска фреквенција на болни лица

За определување на сигнификантност на наодите е користен хи квадрат тест (χ^2), кој се определува со следната формула:

$$\chi^2 = \frac{\sum (f - f')}{f'}$$

каде f - фактичка фреквенција и

f' - очекувана фреквенција.

Врз основа на најдената вредност за χ^2 директно од таблица се чита вредноста на "P" кој ја одредува сигнификантноста која се движи од 0,05 до 0,001.

Добиените вредности се табеларно и графички прикажани.

6. РЕЗУЛТАТИ

На табеларните и графичките прикази кои ќе следат презентирани се средните големини на серумските имуноглобулини, саливарните имуноглобулини и серумските циркулирачки имуни комплекси (СИК) изразени во гр/л. Исто така дадени се и средните големини за Т (CD3), В-лимфоцитите како и субпопулациите на Т-лимфоцитите изразени во проценти. Прикажани се вредностите на средните големини кај контролната група и кај болни со PAC во двете фази од заболувањето. Истовремено се претставени и стандардните девијации, стандардните грешки, сигнификантноста на разликите како и бројот на испитуваните случаи.

Даден е и табеларен приказ од HLA-типизацијата кај болни од *Stomatitis aphthosa recurrens*. На табелите е презентирана и корелацијата на HLA-типизираните антигени кај пациентите со PAC и контролната група.

На табела 1 претставени се резултатите од добиените вредности на имуноглобулините во серум кај болни од *Stomatitis aphthosa recurrens* во фаза на егзацербација и кај контролната група. Од добиените резултати се гледа дека средната вредност на имуноглобулин А кај контролната група изнесува 2,7 гр/л. а кај болните испитаници средната вредност изнесува 0,96 гр/л. Разликата помеѓу нив е статистички сигнификантна и изнесува ($p < 0,001$). За имуноглобулин G средната

вредност кај контролната група изнесува 12,75 гр/л. а кај пациентите со РАС е 7,37 гр/л. така што нивната разлика е статистички значајна и изнесува ($p < 0,001$). Средната вредност за имуноглобулин М кај контролната група е 1,55 гр/л. а кај болните со афтозен стоматит таа изнесува 1,19 гр/л. и нивната разлика покажува статистичка сигнификантност од ($p < 0,001$).

Средните вредности за серумските имуноглобулини кај контролната група и кај афтозните болни во фаза на ремисија на заболувањето се прикажани на табела 2. Средната вредност на имуноглобулин А е 0,95 гр/л., на имуноглобулин G 9,27 гр/л. и на имуноглобулин М 1,38 гр/л. Статистичка значајност на разликите од ($p < 0,001$) помеѓу испитаниците и контролната група постои кај имуноглобулин А и имуноглобулин G. Разликата за имуноглобулин М покажува ниска статистичка сигнификантност ($p < 0,1$).

Статистичката обработка на резултатите за серумските имуноглобулини добиени во фаза на егзацербација и во фаза на ремисија на заболувањето е прикажана на табела 3. Разликите помеѓу средните вредности, за имуноглобулините во серум во двете фази на заболувањето, не се статистички значајни; за имуноглобулин А ($p < 0,9$), за имуноглобулин G ($p < 0,1$) и за имуноглобулин М ($p < 0,3$).

Средните вредности на серумските имуноглобулини од двете фази на заболувањето компарирани со контролната група, како и помеѓу себе се прикажани на графиконите 1, 2 и 3. Како од табелите така и од графиконите може да се забележи дека средните вредности за имуноглобулините А и G и во двете фази на РАС се на пониско ниво во однос на контролната група. За имуноглобулин М средната вредност во фаза на егзацербација на заболувањето е на ниско ниво, додека пак во

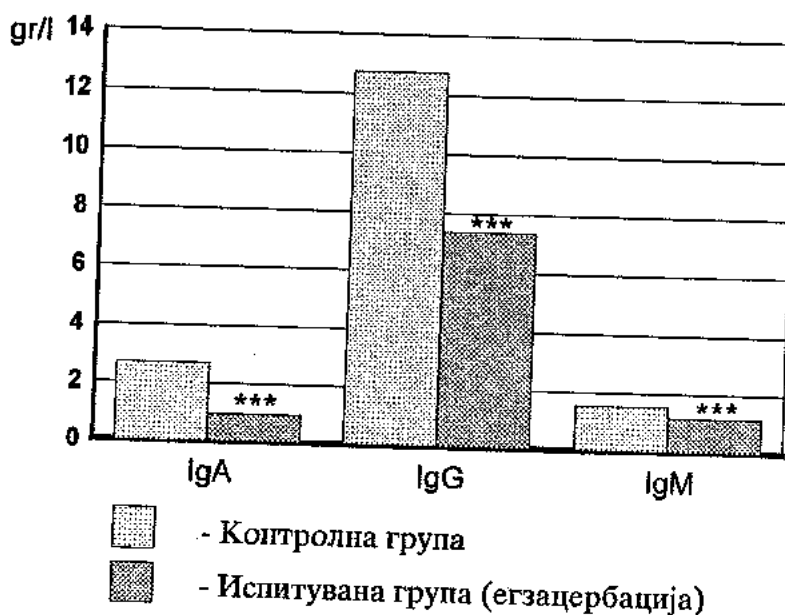
фаза на ремисија таа се доближува до средната вредност кај контролната група.

Вредности на серумски имуноглобини кај пациенти со РАС
во фаза на егзацербација

gr/l	контролна група n = 224			испитувана група (егзацербација) n = 25		
	IgA	IgG	IgM	IgA	IgG	IgM
\bar{X}	2.7	12.75	1.55	0.96	7.37	1.19
SD	0.63	5.27	0.43	0.69	3.98	0.71
Se	0.04	0.35	0.02	0.14	0.80	0.14
t				13.38	5.22	3.60
p				<0.001	<0.001	<0.001

*** *** ***

Табела 1



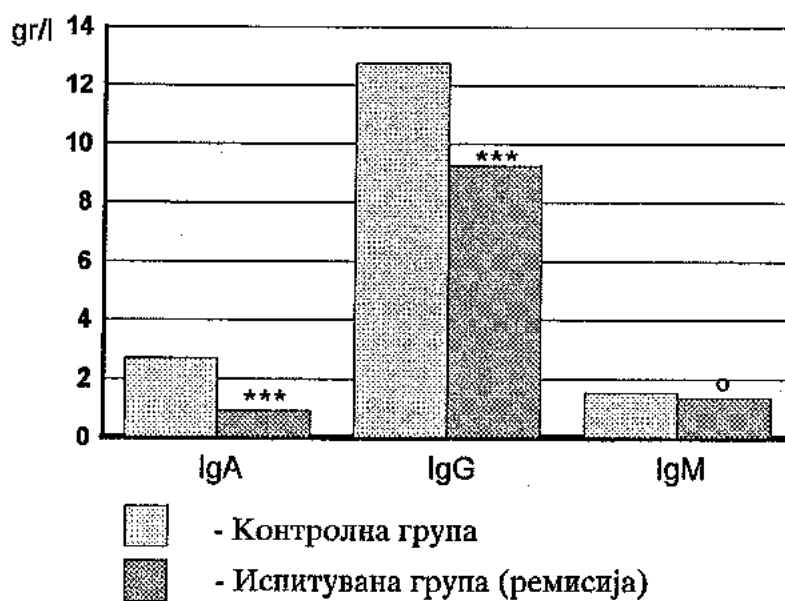
графикон 1

Вредности на серумски имуноглобулини кај пациенти со РАС
во фаза на ремисија.

gr/l	контролна група n = 224			испитувана група (ремисија) n = 25		
	IgA	IgG	IgM	IgA	IgG	IgM
\bar{X}	2.7	12.75	1.55	0.95	9.27	1.38
SD	0.63	5.27	0.43	0.47	3.56	0.60
Se	0.04	0.35	0.02	0.09	0.71	0.12
t				14.58	3.38	1.70
p				<0.001	<0.001	<0.1

*** *** 0

Табела 2

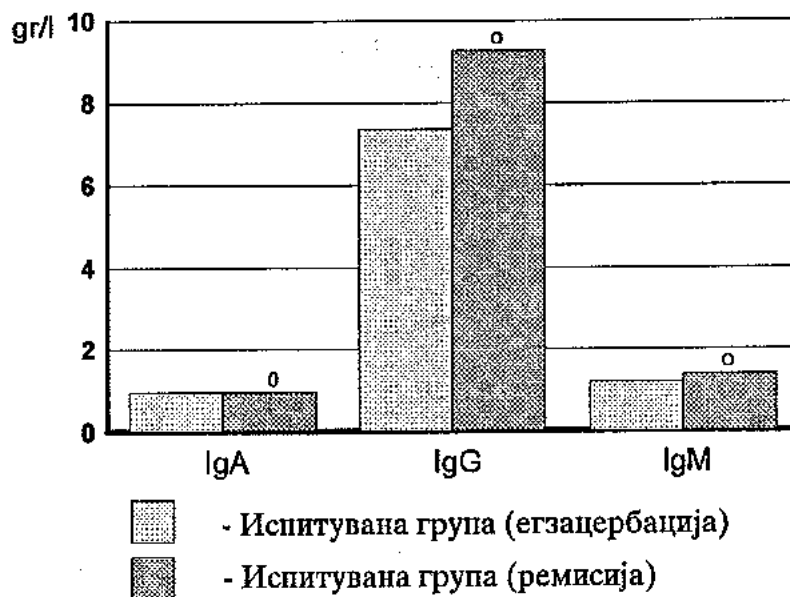


Графикон 2

Вредности на серумски имуноглобулини кај пациенти со РАС
во фаза на егзацербација и во фаза на ремисија

gr/l	испитувана група (егзацербација) n = 25			испитувана група (ремисија) n = 25		
	IgA	IgG	IgM	IgA	IgG	IgM
\bar{X}	0.96	7.37	1.19	0.95	9.27	1.38
SD	0.69	3.98	0.71	0.47	3.56	0.60
Se	0.14	0.80	0.14	0.09	0.71	0.12
t				0.06	1.74	1.00
p				<0.9	<0.1	<0.3

Табела 3



Графикон 3

На табелите 4, 5 и 6 се презентирани средните вредности на циркулирачките имуни комплекси (СИК) во серум кај контролната група и кај пациентите со РАС во период на егзацербација и во период на ремисија на заболувањето.

Од табела 4 и графикон 4 се гледа дека средната вредност на СИК во серум кај контролната група изнесува 0,05 гр/л. а кај пациенти со РАС во фаза на егзацербација изнесува 0,15 гр/л. Овие резултати покажуваат дека разликата помеѓу средните вредности е статистички значајна и изнесува ($p < 0,001$).

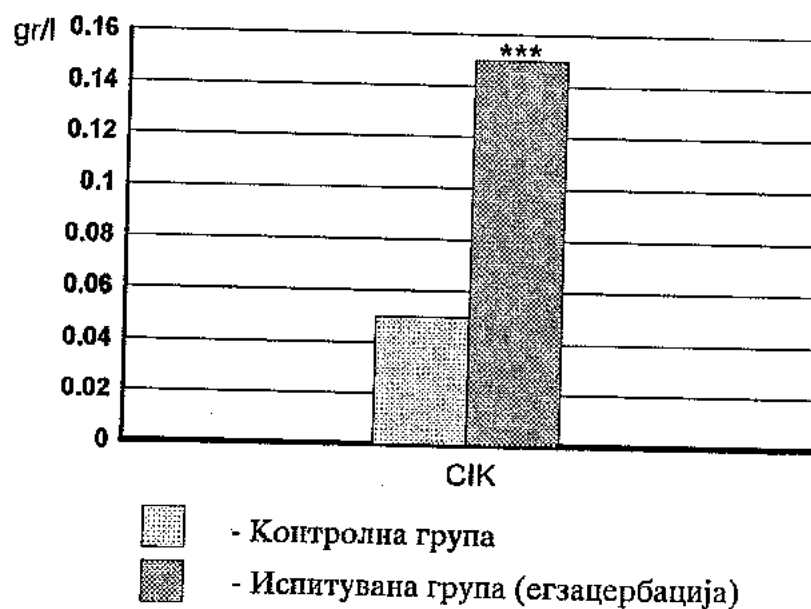
Средната вредност на СИК, во фаза на ремисија која изнесува 0,11 гр/л. како и таа на контролната група се прикажани на табела 5 и графикон 5. Од табелата може да се забележи дека постои статистичка сигнификантност на разликата од ($p < 0,001$) помеѓу овие две средни вредности.

Табела 6 и графикон 6 се приказ на средните вредности на СИК во период на егзацербација и на ремисија на афтозниот стоматит. Разликата помеѓу овие две вредности не покажува статистичка значајност ($p < 0,3$).

Вредности на циркулирачки имуни комплекси (СИК) во серум
кај пациенти со РАС во фаза на егзацербација

gr/l	контролна група n=224	испитувана група (егзацербација) n=25
\bar{X}	0.05	0.15
SD	0.02	0.17
Se	0.001	0.03
t		10
p		<0.001

Табела 4

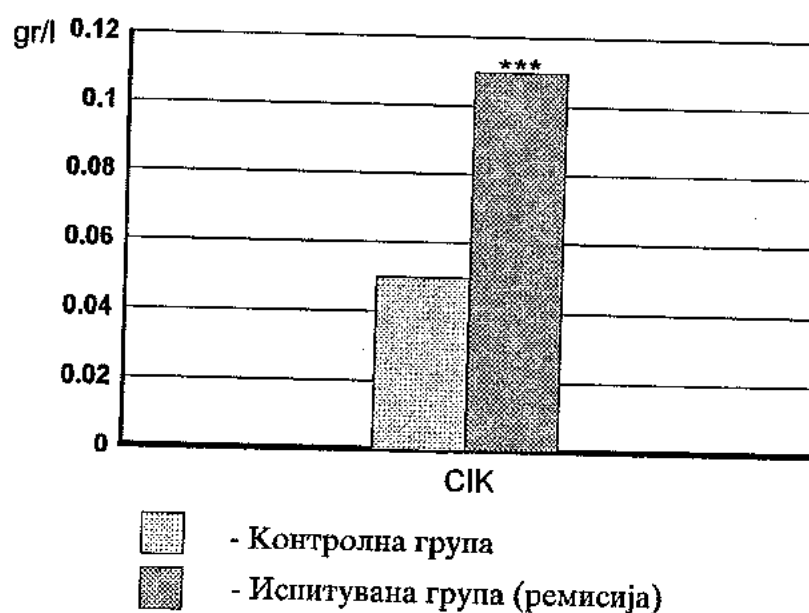


Графикон 4

Вредности на циркулирачки имуни комплекси (СИК) во серум
кај пациенти со РАС фо фаза на ремисија

gr/l	контролна група n=224	испитувана група (ремисија) n=25
\bar{x}	0.05	0.11
SD	0.02	0.08
Se	0.001	0.02
t		6
p		<0.001

Табела 5

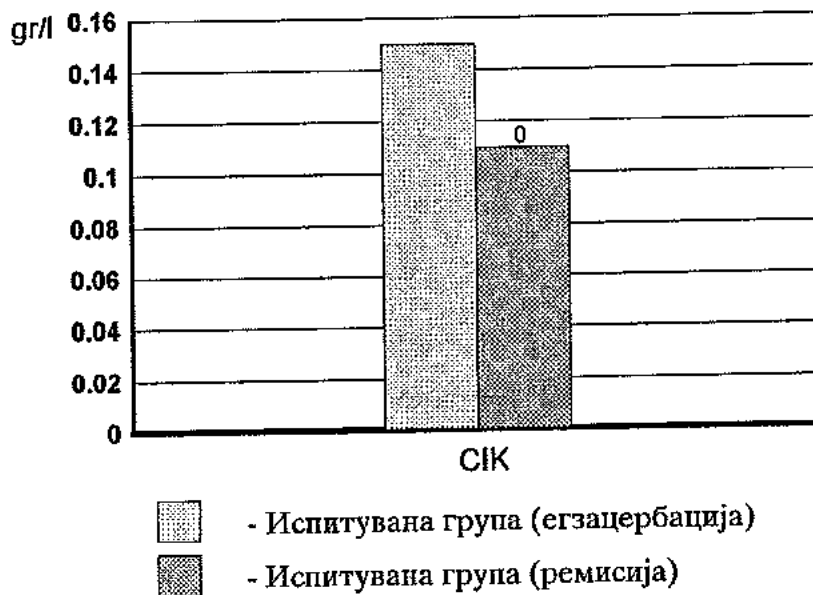


Графикон 5

Вредности на циркулирачки имуни комплекси (ЦИК) во серум кај пациенти со РАС во фаза на егзацербација и во фаза на ремисија

gr/l	испитувана група (егзацербација) n=25	испитувана група (ремисија) n=25
\bar{X}	0.15	0.11
SD	0.17	0.08
Se	0.03	0.02
t		1
p		<0.3

Табела 6



Графикон 6

Кај контролната група, која ја сочинуваат 54 здрави испитаници одредувани се средните вредности на саливарните имуноглобулини. Утврдено е дека средната вредност на имуноглобулин А е 10 гр/л. а на имуноглобулин G е 0,02 гр/л. Овие средни вредности како и средните вредности на саливарните имуноглобулини кај пациенти со РАС во фаза на егзацербација се прикажани на табела 7. Имуноглобулин А во фаза на егзацербација е сигнификантно намален ($p < 0,001$) во споредба со контролната група. Разликата помеѓу вредностите за имуноглобулин G во плунка, кај пациентите и кај контролната група, не покажува статистичка сигнификантност ($p < 0,1$).

Слични резултати се добиени и во фаза на ремисија на заболувањето (табела 8). Имуноглобулин А е сигнификантно намален ($p < 0,001$) додека имуноглобулин G не е сигнификантно зголемен ($p < 0,2$) во споредба со контролната група.

Средните вредности на саливарните имуноглобулини од двете фази на заболувањето споредени помеѓу себе се прикажани на табела 9. Разликата помеѓу средните вредности за овие имуноглобулини во плунка не покажува статистичка значајност. Имуноглобулин M во плунка не е откриен ни кај контролната група ниту пак кај испитуваните групи.

Графиконите 7а и 7б се приказ на средните вредности на имуноглобулин А и имуноглобулин G во плунка во фаза на егзацербација на заболувањето и средните вредности на овие имуноглобулини кај контролната група. Во фаза на егзацербација средната вредност на

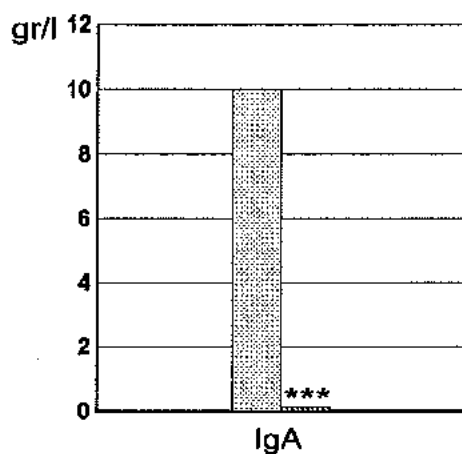
имуноглобулин А изнесува 0,13 гр/л. и е повеќекратно намалена во однос на контролната група, додека оваа вредност за имуноглобулин G е 0,05 гр/л. На графикон 8а и 8б се прикажани вредностите на саливарните имуноглобулини во фаза на ремисија на заболувањето и вредностите на овие имуноглобулини кај контролната група. Во фаза на ремисија имуноглобулин А изнесува 0,13 гр/л. а имуноглобулин G 0,06 гр/л. Вредностите на имуноглобулин А и во фаза на егзацербација и во фаза на ремисија се исти, а на имуноглобулин G вредноста е незнатно поголема во фаза на ремисија што се гледа од графикон 9.

Вредности на саливарни имуноглобулини кај пациенти со РАС
во фаза на егзацербација

gr/l	контролна група n = 54			испитувана група (егзацеребација) n = 25		
	IgA	IgG	IgM	IgA	IgG	IgM
\bar{x}	10	0.02	0.00	0.13	0.05	0.00
SD	2.0	0.002	0.00	0.14	0.14	0.00
Se	0.27	0.00	0.00	0.03	0.03	0.00
t				24.07	1.50	0.00
p				<0.001	<0.1	

*** 0 0

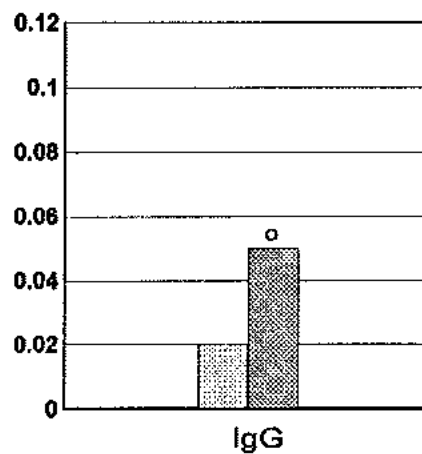
Табела 7



IgA

- Контролна група

- Испитувана група (егзацербација)



IgG

Графикон 7а

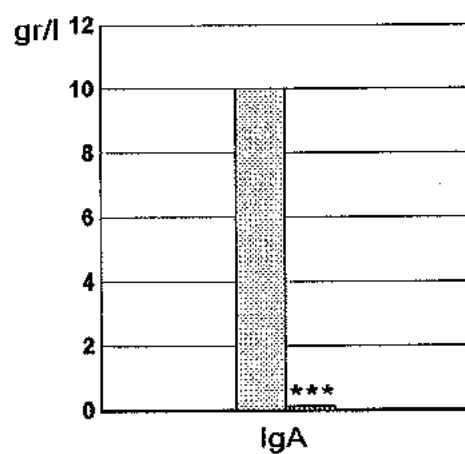
Графикон 7б

Вредности на саливарни имуноглобулини кај пациенти со РАС во фаза на ремисија

gr/l	контролна група n = 54			испитувана група (ремисија) n = 25		
	IgA	IgG	IgM	IgA	IgG	IgM
\bar{X}	10	0.02	0.00	0.13	0.06	0.00
SD	2.0	0.002	0.00	0.10	0.20	0.00
Se	0.27	0.00	0.00	0.02	0.04	0.00
t				24.07	1.33	0.00
p				<0.001	<0.2	

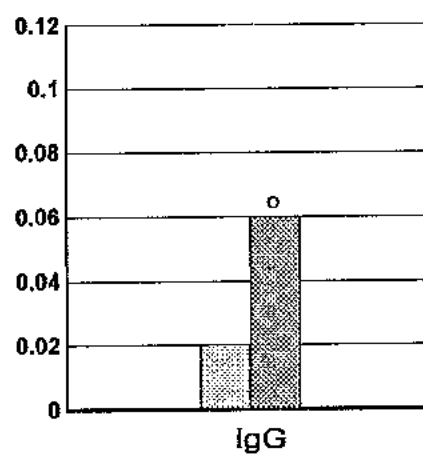
*** 0 0

Табела 8



- Контролна група
 - Испитувана група (ремисија)

Графикон 8а

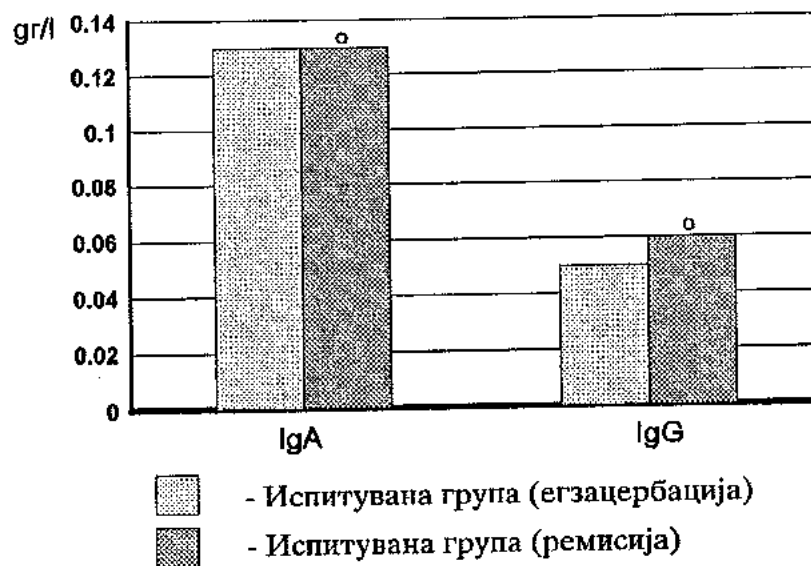


Графикон 8б

Вредности на саливарни имуноглобулини кај пациенти со РАС во фаза на егзацербација и во фаза на ремисија

gr/l	испитувана група (егзацербација) n = 25			испитувана група (ремисија) n = 25		
	IgA	IgG	IgM	IgA	IgG	IgM
\bar{x}	0.13	0.05	0.00	0.13	0.06	0.00
SD	0.14	0.14	0.00	0.10	0.20	0.00
Se	0.03	0.03	0.00	0.02	0.04	0.00
t				0.00	0.25	0.00
p					<0.8	

Табела 9



Графикон 9

На следните табеларни и графички прикази се презентирани наодите добиени од испитувањето на целуларниот имунитет. Средните вредности за Т (CD3) и В-лимфоцитите како и за субпопулациите на Т- лимфоцитите од испитуваната и од контролната група се изразени во проценти.

На табела 10 се претставени резултатите од вредностите на Т (CD3) и В-лимфоцитите во периферната циркулација кај болни од афтозен стоматит (во фаза на егзацербација) и кај контролната група. Од добиените резултати се гледа дека средната вредност кај контролната група за Т-лимфоцитите изнесува 55% а кај болните испитаници таа изнесува 65,2%. Разликата меѓу нив е статистички сигнификантна и изнесува ($p < 0,001$). За В-лимфоцитите средната вредност кај испитуваната група изнесува 9,08% а кај контролната група е 8% така што помеѓу нив не постои статистичка значајност ($p < 0,1$).

Резултатите добиени во фаза на ремисија на **Stomatitis aphthosa recurrens** и тие од контролната група се прикажани на табела 11. Може да се забележи дека и во оваа фаза од заболувањето Т-лимфоцитите, кој се со средна вредност 64,2%, се сигнификантно покачени ($p < 0,001$). В-лимфоцитите во оваа фаза од заболувањето се со средна вредност 9,04%, така што разликата меѓу оваа вредност и истата кај контролната група не покажува статистичка значајност ($p < 0,05$).

Од табела 12 може да се види дека разликата помеѓу двете фази на заболувањето, за вредностите на Т и В-лимфоцитите, не се со статистичка сигнификантност. Таа за Т-лимфоцитите изнесува ($p < 0,5$) а за В-лимфоцитите ($p < 0,9$).

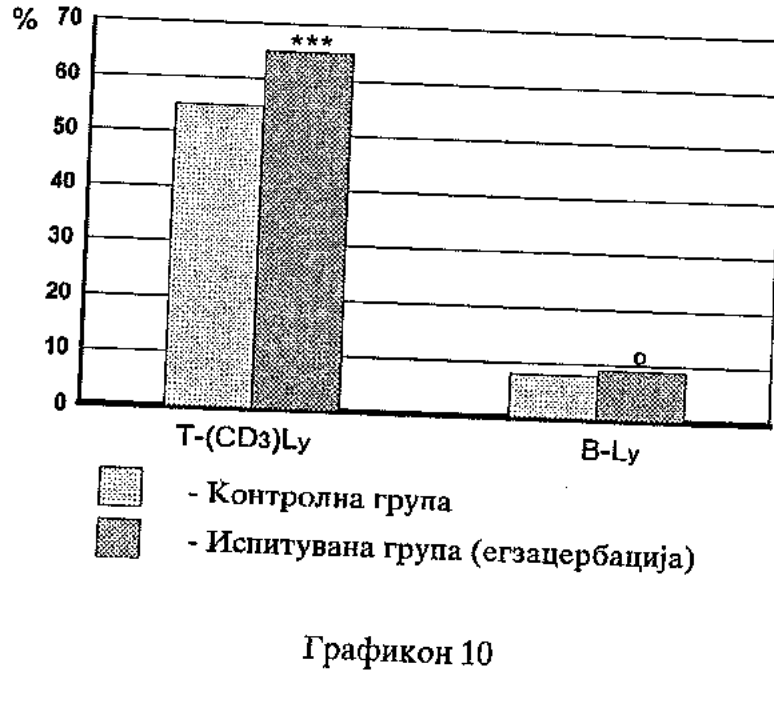
Добиените резултати за Т и В-лимфоцитите од испитуваната и од контролната група се прикажани на графиконите 10,11 и 12.

Вредности на T(CD₃) и B-лимфоцити во периферната циркулација кај пациенти со PAC во фаза на егзацербација

%	контролна група n = 50		испитувана група (егзацербација) n = 25	
	T(CD ₃)Ly	B Ly	T(CD ₃)Ly	B Ly
\bar{X}	55	8	65.2	9.08
SD	9	2	5.19	2.88
Se	1.27	0.28	1.04	0.58
t			5.18	1.86
p			<0.001	<0.1

o

Табела 10



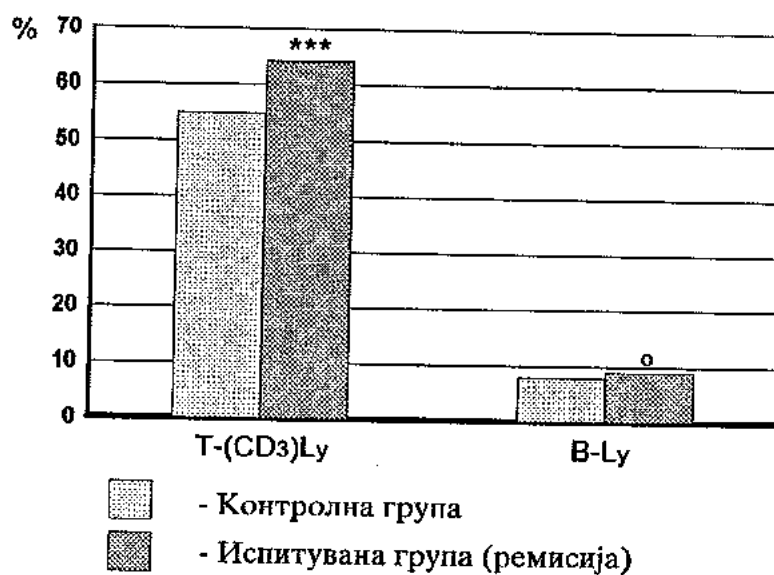
Графикон 10

Вредности на T(CD3) и B-лимфоцити во периферната циркулација
кај пациенти со PAC во фаза на ремисија

%	контролна група n = 50		испитувана група (ремисија) n = 25	
	T(CD ₃)Ly	B Ly	T(CD ₃)Ly	B Ly
\bar{X}	55	8	64.2	9.04
SD	9	2	4.94	2.15
Se	1.27	0.28	1.01	0.43
t			4.69	2.08
p			<0.001	<0.05

*** 0

Табела 11

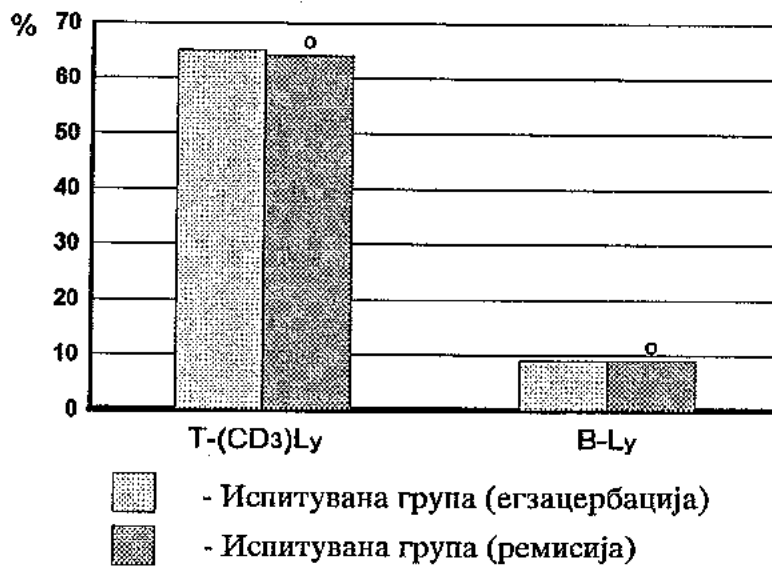


Графикон 11

Вредности на T(CD3) и B-лимфоцити во периферна циркулација кај пациенти со PAC во фаза на егзацербација и во фаза на ремисија

%	испитувана група (егзацербација) n=25		испитувана група (ремисија) n=25	
	T(CD ₃)Ly	B Ly	T(CD ₃)Ly	B Ly
\bar{x}	65.2	9.08	64.2	9.04
SD	5.19	2.88	4.94	2.15
Se	1.04	0.58	1.01	0.43
t			0.68	0.06
p			<0.5	<0.9

Табела 12



Графикон 12

Кај контролната група (која е формирана за одредување на нивото на субпопулациите на Т-лимфоцитите) која ја сочинуваа 50 здрави испитаници е утврдено дека средната застапеност на CD4 (helper/inducer) е 38%, на CD8 (Suppressor/cytotoxic) е 23% и на CD16 (natural killer) е 15%. Вредностите на овие субпопулации на периферните Т-лимфоцити кај болните во фаза на егзацербација и кај контролната група се претставени на табела 13 и графикон 13. За CD4 средната вредност во фаза на егзацербација изнесува 36,28%. Разликата меѓу оваа вредност и средната вредност за CD4 кај контролната група не е статистички значајна ($p < 0,3$). И разликата на вредностите за CD16, кои во фаза на егзацербација се со средна вредност 15,28% не е статистички значајна ($p < 0,7$). Статистички слаба сигнификантност од ($p < 0,02$) покажува разликата помеѓу вредностите за CD8 субпопулацијата. Средната вредност за CD8 клетките во фаза на егзацербација е поголема и изнесува 26,40%, во однос на контролната група.

Скоро идентични резултати се добиени и во фаза на ремисија на афтозниот стоматит (табела 14 и графикон 14). CD4 се со средна вредност 36,08% и не се сигнификантно намалени ($p < 0,3$). CD8 се со средна вредност 26,40% и се слабо сигнификантно покачени ($p < 0,02$) во однос на контролната група. CD16 се со средна вредност 15,84% и не се значајно покачени ($p < 0,2$).

Табела 15 и графикон 15 се приказ на средните вредности на субпопулациите на периферните Т-лимфоцити во двете фази на заболувањето. Разликите помеѓу вредностите во фаза на егзацербација и вредностите во фаза на ремисија не се статистички значајни.

На табела 16 се прикажани поединечните вредности на хелперните (CD4) и супресорните (CD8) клетки во фаза на ремисија и на

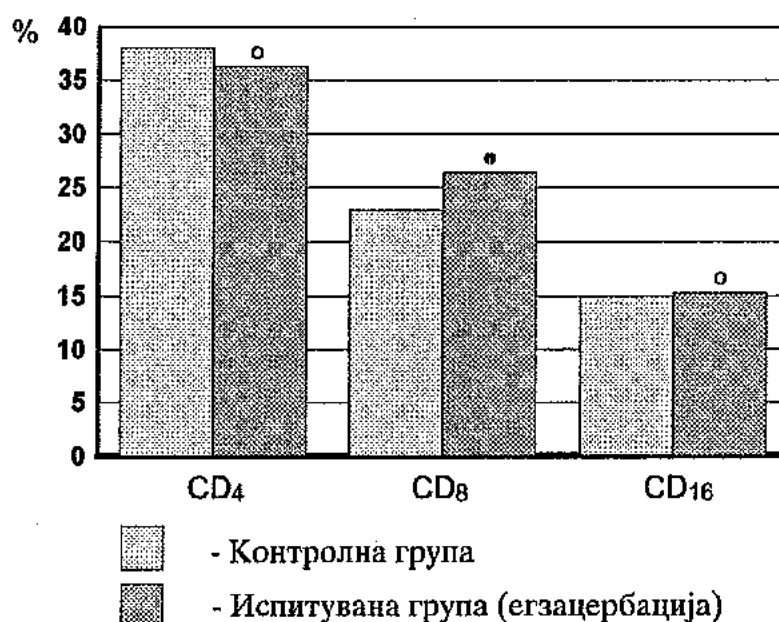
егзацербација на заболувањето. Може да се забележи дека застапеноста на CD4 клетките е во границите на нормалните контролни вредности (30 - 46%). Застапеноста на CD8 клетките е исто така во границите на нормалните вредности (16 - 30%). Меѓутоа кај најголем број од пациентите тие се на горната граница од нормалните вредности. На оваа табела и на графикон 16 е претставен и соодносот на CD4/CD8 субпопулациите на периферните Т-лимфоцити кај секој пациент поединечно во двете фази од заболувањето. Овој сооднос кај испитаниците од контролната група се движи од 1,53 до 1,87. И во двете фази од заболувањето соодносот на CD4/CD8 е мален кај најголем број од испитаниците (кај 22 од вкупно 25 испитаници).

Вредноси на субпопулации на Т-лимфоцитите во периферната
циркулација кај пациенти со РАС во фаза на егзацербација

%	контролна група			испитувана група (егзацербација)		
	n = 50			n = 25		
	CD ₄	CD ₈	CD ₁₆	CD ₄	CD ₈	CD ₁₆
\bar{X}	38	23	15	36.28	26.40	15.28
SD	8	7	1	5.49	1.89	4.61
Se	1.13	0.99	0.14	1.09	0.38	0.92
t				0.95	2.36	0.40
p				<0.3	<0.02	<0.7

o • o

Табела 13

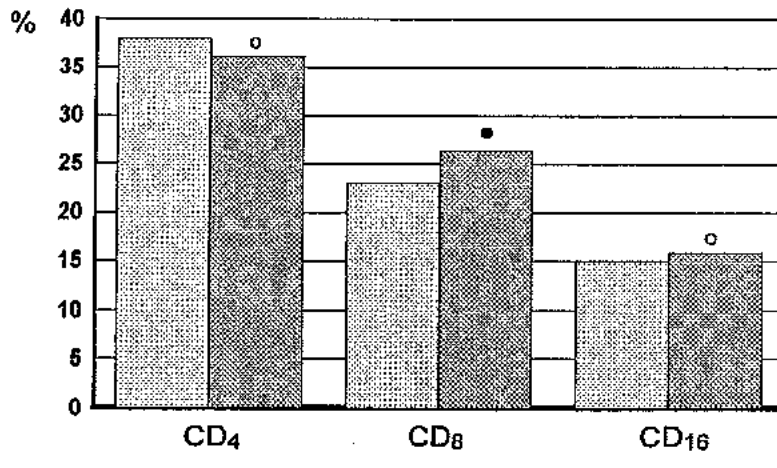


Графикон 13

Вредности на субпопулации на Т-лимфоцити во периферната
циркулација кај пациенти со РАС во фаза на ремисија

%	контролна група			испитувана група (ремисија)		
	n = 50			n = 25		
	CD ₄	CD ₈	CD ₁₆	CD ₄	CD ₈	CD ₁₆
\bar{X}	38	23	15	36.08	26.40	15.84
SD	8	7	1	5.72	1.98	4.49
Se	1.13	0.99	0.14	1.14	0.40	0.89
t				1.05	2.36	1.25
p				<0.3	<0.02	<0.2

Табела 14



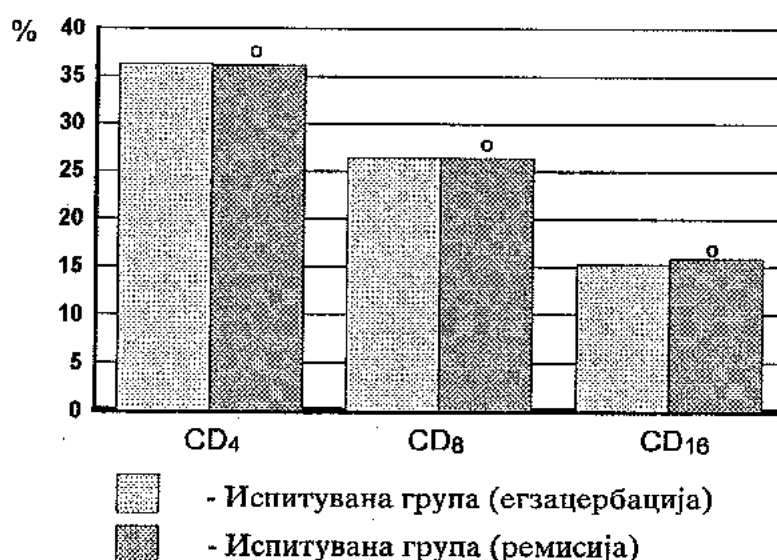
Графикон 14

Вредности на субпопулации на Т-лимфоцити во периферна циркулација кај пациенти со РАС во фаза на егзацербација и во фаза на ремисија

%	испитувана група (егзацербација) n = 25			испитувана група (ремисија) n = 25		
	CD ₄	CD ₈	CD ₁₆	CD ₄	CD ₈	CD ₁₆
\bar{X}	36,28	26,40	15,28	36,08	26,40	15,84
SD	5,49	1,89	4,61	5,72	1,98	4,49
Se	1,09	0,38	0,92	1,14	0,40	0,89
t				0,12	0,00	0,42
p				<0,9		<0,7

o o o

Табела 15

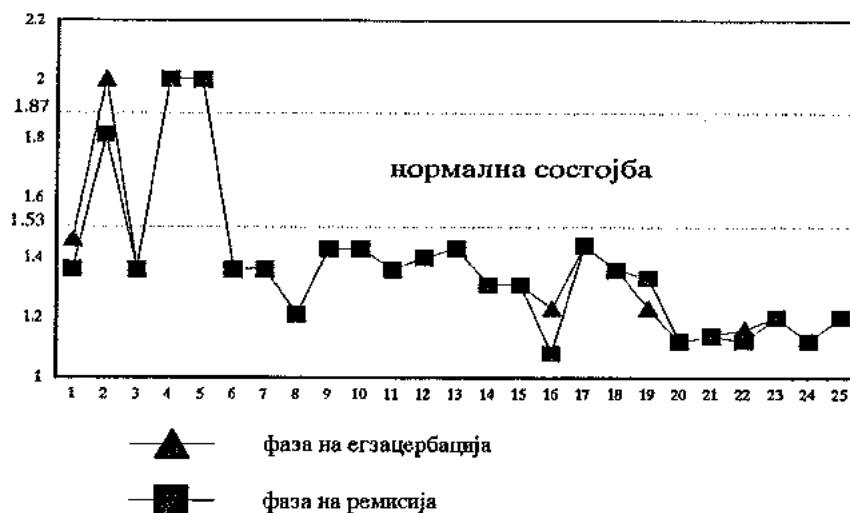


Графикон 15

Поединечни вредности на CD4 и CD8 клетките кај пациентите со PAC
во фаза на егзацербација и во фаза на ремисија

ред. број. %	фаза на егзацербација			фаза на ремисија		
	CD4	CD8	CD4/CD8	CD4	CD8	CD4/CD8
1	38	26	1.46	38	28	1.36
2	44	22	2.00	40	22	1.81
3	38	28	1.36	38	28	1.36
4	46	23	2.00	46	23	2.00
5	48	24	2.00	48	24	2.00
6	38	28	1.36	38	28	1.36
7	38	28	1.36	38	28	1.36
8	34	28	1.21	34	28	1.21
9	40	28	1.43	40	28	1.43
10	40	28	1.43	40	28	1.43
11	38	28	1.36	38	28	1.36
12	42	30	1.40	42	30	1.40
13	40	28	1.43	40	28	1.43
14	34	26	1.31	34	26	1.31
15	34	26	1.31	34	26	1.31
16	32	26	1.23	28	26	1.08
17	36	26	1.44	36	26	1.44
18	38	28	1.36	38	28	1.36
19	32	26	1.23	32	24	1.33
20	28	25	1.12	28	25	1.12
21	32	28	1.14	32	28	1.14
22	29	25	1.16	28	25	1.12
23	30	25	1.20	30	25	1.20
24	28	25	1.12	28	25	1.12
25	30	25	1.20	30	25	1.20

Табела 16



Графикон 16

HLA - типизацијата на антигените од A и B-локусот, кај здрави лица изразена во проценти и апсолутни вредности, е претставена на табелите 17 и 18.

Од табелите се гледа дека најголема застапеност на антигените од A локусот во нашата популација има антигенот A2 кој е присутен кај 52,07% од случаите, додека од B-локусот доминира B5 со антигенска фреквенција 34,07%.

Резултатите од HLA - типизацијата на A-локусот кој ги добивме кај испитуваната група се претставени на табела 19. Уочливо е дека од A-локусот доминираат A1 со антигенска фреквенција од 60% и A9 со антигенска фреквенција 44%.

Корелацијата на типизираните HLA - антигени од A локусот кај пациентите со PAC и контролната група е презентирана на табела 20. На истата табела може да се види дека помеѓу контролната и испитуваната група во A локусот постои сигнификантност на разликите кај следните антигени: A2 со релативен ризик (RR) 0,23, $\chi^2=10,40$ а

статистичка значајност ($p < 0,005$); A28 со релативен ризик (RR) 2,94, $\chi^2=5,98$ а статистичка значајност ($p < 0,02$) и кај Ax со релативен ризик (RR) 3,60, $\chi^2=11,57$ а статистичка значајност ($p < 0,001$).

HLA - антигенска типизација на A-локус

контролна група

HLA-антигени	n=1300	Антигенска фреквенција
A-локус		%
A1	341	26.23
A2	677	52.07
A3	187	14.38
A9	358	27.53
A10	197	15.15
A11	111	8.53
A23	39	3.76
A24	298	23.62
A25	88	6.72
A26	107	8.24
A28	126	9.69
A29	35	2.69
A30+31	59	4.53
A32	26	2.00
Ax	382	29.38

Табела 17

HLA-антигенска типизација на В-локус

контролна група

HLA-антигени	n=1300	Антигенска фреквенција
В-локус		%
В5	443	34.07
В7	163	12.53
В8	170	13.07
В12	227	17.46
В13	83	6.38
В14	44	3.38
В15	41	3.15
В16	34	2.61
В17	95	7.30
В18	91	7.00
В21	73	5.61
В22	54	4.15
В27	105	8.07
В35	347	26.69
В37	29	2.23
В38	18	1.18
В39	12	0.92
В40	125	9.61
В44	219	16.85
В45	4	0.30
В51	13	1.00
Вw 54	11	0.84
Вw 56	14	1.07
Вy	387	29.76

Табела 18

HLA-антигенска типизација и фреквенција на А-локус
кај пациенти со РАС

HLA-антигени	n=25	Антигенска фреквенција
А-локус		%
A1	9	36.00
A2	5	20.00
A3	1	4.00
A9	11	44.00
A11	1	4.00
A23	1	4.00
A28	6	24.00
A32	1	4.00
Ax	15	60.00

Табела 19

Корелација на типизираните HLA-антигени од А-локус
кај пациенти соРАС и контролна група

испитувана група			контролна група			RR	X ²	P<
HLA-антигени А-локус	n=25	антигенска фреквенција %	HLA-антигени А-локус	n=1300	антигенска фреквенција %			
A1	9	36.00	A1	341	16.23			
A2	5	20.00	A2	677	52.07	0.23	10.40	<0.005 **
A3	1	4.00	A3	187	14.38			
A9	11	44.00	A9	358	27.53			
A11	1	4.00	A11	111	8.53			
A23	1	4.00	A23	39	3.76			
A28	6	24.00	A28	126	9.69	2.94	5.98	<0.02 •
A32	1	4.00	A32	26	2.00			
Ax	15	60.00	Ax	382	29.38	3.60	11.57	<0.001 ***

Табела 20

HLA - антигенската типизација и фреквенција на антигените од В-локусот кај пациенти со РАС е прикажана на табела 21. Од табелата јасно се гледа дека од В-локулот доминираат антигените: В_у со антигенска фреквенција 64% и В₄₀ со антигенска фреквенција 44%.

На табела 22 се презентирани резултатите од корелацијата на типизираните HLA - антигени од В-локусот кај пациенти со РАС и контролната група. Од истата табела може да се забележи дека сигнификантност на разликите помеѓу испитуваната и контролната група постои кај следните антигени: В₃₅ со релативен ризик (RR) 0,01, X²=6,88 и статистичка значајност (p< 0,01); В₄₀ со релативен ризик (RR) 7,39, X²=31,30 и статистичка значајност (p< 0,001); В_{w56} со релативен ризик

(RR) 12,52, $\chi^2=23,20$ и статистичка значајност ($p < 0,001$) и B_y со релативен ризик (RR) 4,19, $\chi^2=13,81$ а статистичка значајност ($p < 0,001$).

HLA-антигенска типизација и фреквенција на B-локус
кај пациенти со PAC

HLA-антигени	n=25	Антигенска фреквенција
B-локус		%
B5	6	24.00
B7	1	4.00
B8	2	8.00
B12	1	4.00
B13	4	16.00
B17	1	4.00
B18	1	4.00
B27	1	4.00
B35	1	4.00
B37	1	4.00
B40	11	44.00
Bw 54	1	4.00
Bw 56	3	12.00
B_y	16	64.00

Табела 21

Корелација на типизираните HLA-антигени од В-локус
кај пациенти со РАС и контролна група

испитувана група			контролна група			RR	X ²	P<	
HLA-антигени В-локус	n=25	антигенска фреквенција %	HLA-антигени В-локус	n=1300	антигенска фреквенција %				
B5	6	24.00	B5	443	34.07				
B7	1	4.00	B7	163	12.53				
B8	2	8.00	B8	170	13.07				
B12	1	4.00	B12	227	17.46				
B13	4	16.00	B13	83	6.38				
B17	1	4.00	B17	95	7.33				
B18	1	4.00	B18	91	7.00				
B27	1	4.00	B27	105	8.07				
B35	1	4.00	B35	347	26.69	0.01	6.88	<0.01	*
B37	1	4.00	B37	29	2.33				
B40	11	44.00	B40	125	9.61	7.39	31.30	<0.001	***
Bw54	1	4.00	Bw54	11	0.84				
Bw56	3	12.00	Bw56	14	1.07	12.52	23.20	<0.001	***
Bу	16	64.00	Bу	384	29.76	4.19	13.81	<0.001	***

Табела 22

7. ДИСКУСИЈА

Испитувањето на имунолошкиот систем побудува зголемен интерес и кај научните работници и кај клиничарите. Првите ги дооткриваат механизмите на неговото функционирање, а вторите ја истражуваат имунопатогенетската поврзаност на голем број заболувања. Големиот број на елементи од имунолошкиот систем даваат можност за многу експериментални испитувања. Иако неможе во потполност да се разграничи хуморалниот од целуларниот имунитет сепак испитувајќи одредени параметри, можеме да судиме за зголемена или намалена активност на едниот односно на другиот тип на имунолошки одговор.

За етиопатогенезата на *Stomatitis aphthosa recurrens* по прегледот на најновите литературни и научни сознанија, може да се каже дека е нерешен проблем и дека е предмет на понатамошни испитувања на оралните патолози. Во последното десетлетие доминира мислењето за автоимуната генеза на РАС како и изменетата реактивност на оралната мукоза условена од неадекватен одговор на имунокомпетентниот систем. Резултатите добиени од литературата, за имунопатогенетската асоцираност на афтозната болест, во голема мерка се контрадикторни и неускладени.

Веќе е истакнато дека имуноглобулините се основни носители на хуморалниот имунитет. Нивното одредување во серум и во слунка ги дава базичните сознанија за активноста на овој имунитет кај

голем број на заболувања па и кај *Stomatitis aphthosa recurrens*. Во реакциите на специфичниот хуморален имунитет учествуваат специфични одбрамбени антитела кои им припаѓаат на класите: IgG, IgM и IgA. Првите два воглавно делуваат во крвта, додека IgA има активно дејство во мукозните ткива. Со неговата секреторна продукција се обезбедува "првата одбрамбена линија" на овие ткива.

Scully (70) укажува на намалено ниво на серумските имуноглобулини, додека пак **Lehner** (40) и **Ben-Aryeh** (4) тврдат дека во серумот кај болни од PAC има зголемено ниво на фракциите IgA, IgG, IgD и IgE. **Güven** (22) кај пациенти со PAC забележал зголемено ниво на серумските IgA и IgM но не и на IgG.

Од нашето истражување може да се забележи дека нивото на серумските имуноглобулини А и G е намалено и во фаза на егзацербација и во фаза на ремисија на заболувањето. Средната вредност во фаза на егзацербација за IgA изнесува 0,96 гр/л и за IgG 7,37 гр/л, а во фаза на ремисија IgA е со средна вредност 0,95 гр/л и IgG 9,27 гр/л. Разликата за овие параметри помеѓу испитуваната и контролната група покажува статистичка значајност од ($p < 0,001$). Имуноглобулин M во серум, во фаза на егзацербација на заболувањето, е со средна вредност 1,19 гр/л и е намален во однос на контролната група каде што неговата средна вредност изнесува 1,55 гр/л. Разликата помеѓу овие две средни вредности е со статистичка значајност од ($p < 0,001$). Во фаза на ремисија IgM е со средна вредност 1,38 гр/л што е многу блиску до контролната средна вредност.

Хистолошкиот наод, на самиот почеток од развојот на афтозните лезии укажува на инфилтрација со мононуклеари, односно на васкулит причинет од имуни комплекси (39). И **Williams** (78) укажува на

истиот факт како и на тоа дека имуните комплекси биле пронајдени во крвта од периферната циркулација кај одреден број на пациенти со РАС а во поголема мерка кај пациенти со **Behçet**.

Кај 36 болни со поставена дијагноза **Stomatitis aphthosa recurrens** е испитувано нивото на циркулирачките имуни комплекси во серум (38). Авторите евидентирале зголемување на нивото на СИК за 2 до 4 пати и заклучиле дека патогенетските збиднувања кај РАС му припаѓаат на III-от тип на имунолошка реакција од ран сензибилитет, позната како Артусов феномен.

Резултатите за циркулирачките имуни комплекси во серум, којшто ги добивме во текот на нашето истражување, укажуваат на зголемување на нивното ниво и во двете фази од заболувањето. Во фаза на егзацербација средната вредност на СИК е 0,15 гр/л а во фаза на ремисија е 0,11 гр/л. Разликата на овие вредности и вредноста на СИК кај контролната група, која изнесува 0,05 гр/л, покажува статистичка значајност од ($p < 0,001$).

Циркулирачките имуни комплекси се создаваат при коњугирање на циркулирачките антители со хуморално присутните антигени. Антиген-антитело комплексите со помош на комплементот се фиксираат за ендотелните клетки на малите крвни садови. Новостворениот антиген-антитело-комплемент комплекс ги деполимеризира и разградува ендотелните клетки, ја декомпонира основната супстанција на капиларниот ѕид, ја зголемува екстравазацијата на плазмата и клеточните елементи од крвниот сад во периваскуларниот простор. Примарните лезии на малите крвни садови доведуваат до дефекти во морфологијата на епителот и на **lamina propria mucosae** и забрзана инфилтрација со мононуклеарни инфламаторни клетки.

Евидентираното зголемено ниво на СIK кај нашите пациенти упатува на можната асоцираност на патогенезата на PAC со оштетувањето на малите крвни садови кое настанува под дејство на овие комплекси. Веќе беше истакнато дека нашите испитаници имаа намалено ниво на серумските имуноглобулини. Ова привидно намалување на имуноглобулините може да се должи на нивната асоцираност со антигените и создавање комплекси од антиген-антитело. Кон вакво размислување не наведе фактот дека кај нашите испитаници сигнификантно беше зголемено нивото на СIK во серум. Несомнена е улогата на комплементот при формирањето на овие комплекси. Кај нашите испитаници не го одредувавме нивото на одделни компоненти на комплементот. Нивното одредување, можеби уште повеќе ќе ја разјасни улогата на СIK во патогенезата на PAC.

Lazarevska (34) кај пациенти со рекурентен афтозен стоматит евидентирала одсуство на IgM во плунка кај 20 испитаници од вкупно опсервираните, додека IgA и IgG покажувале ниски вредности. **Kakizawa** (28) укажува на зголемена концентрација на саливарен IgA кај болни со хронични рецидивирачки улцерации. **Lazarevska** и **Nakova** (36) испитувајќи го нивото на саливарните IgA и IgG, кај пациенти со PAC забележале дека тоа е зголемено.

Резултатите од нашето истражување покажаа дека нивото на саливарниот имуноглобулин A и во двете фази од заболувањето е сигнификантно намалено ($p < 0,001$). Неговата средна вредност беше 0,13 гр/л и во двете фази од заболувањето, а кај контролната група таа беше 10 гр/л. Имуноглобулин G кај болните испитаници не покажа значајно зголемување. Неговата вредност во фаза на егзацербација беше 0,05 гр/л во фаза на ремисија 0,06 гр/л додека пак кај контролната група 0,02 гр/л.

Саливарните имуноглобулини се главен фактор во одбранбениот механизам на оралните ткива (1). Се смета дека инфламаторната афекција на мукозната мембрана, ја стимулира продукцијата на glandуларниот имуноглобулин А и ја зголемува екстравазалната елиминација на ткивните IgG и IgM. Сосема ни е прифатлива претпоставката за учеството на плунковните имуноглобулини во регулацијата на нормалната микробиоза во устата, преку инхибиција на ендоинфекцијата и стимулација на резистентноста кон егзогената микробна инвазија.

Резултатите добиени од нашето истражување укажуваат на фактот дека кај заболените од *Stomatitis aphthosa recurrens*, и во фаза на ремисија и во фаза на егзацербација од заболувањето, нивото на саливарниот имуноглобулин А е намалено. Тоа доведува до смалена резистентност на оралната слузокожа, како кон егзогената микробна инвазија така и кон голем број на други антигени. Нетреба да се пренебрегне и фактот дека намалувањето на имуноглобулинот А се должи на тоа што дел од него во мешаната плунка се поврзува со муциниот градејќи една преципитирачка покривка "прва одбранбена линија". На овој факт укажува и Nakova (50) анализирајќи ги резултатите добиени од испитувањето на вредностите на IgA во паротидна и во мешана плунка, кај пациенти со прогресивна пародонтопатија. Резултатите на ова истражување покажале дека зголемувањето на концентрацијата на IgA во мешана плунка, кај пациенти со прогресивна пародонтопатија, е многу помало во однос на концентрацијата во паротидната плунка.

Издадени се многу студии во кои се потврдува дека основата на етиопатогенетските збиднувања, кај афтозниот стоматит, е во клеточниот имунолошки одговор.

Donatsky (13) споредувајќи го клеточниот и хуморалниот имунитет наспроти стрептококните антигени, а во врска со егзацербацијата на афтозните лезии, укажува на фактот дека и едниот и другиот имунитет би можеле да бидат вклучени во патогенезата на рекурентниот афтозен стоматит.

Savage (66) кај 15 пациенти со поставена дијагноза **Stomatitis aphthosa recurrens** спровел континуирана цитометријска анализа на лимфоцитите од периферната циркулација, во двете фази од заболувањето. Бројот на Т (CD3)-лимфоцитите бил во границата на нормалните вредности и во двете фази од заболувањето. CD8-клетките биле застапени во поголемо количество и во фаза на егзацербација и во фаза на ремисија, додека пак бројот на CD4-клетките бил намален и во двете фази од заболувањето. Застапеноста на **Natural killer** клетките била во границите на нормалните вредности.

Според **Kayavis** (29) бројот на пан Т (CD3)-лимфоцитите е намален кај пациентите со афтозен стоматит во споредба со контролната група.

Lazarevska и сораб. (38) преку сопствени сознанија дошле до заклучок дека кај пациенти со рекурентен афтозен стоматит, бројот на В-лимфоцитите покажува умерен пораст а бројот на Т-лимфоцитите е помал во однос на контролната група.

Резултатите од нашето истражување не се во согласност со резултатите добиени од литературата. Во нашиот материјал бројот на Т-лимфоцитите е сигнификантно покачен ($p < 0,001$) и во двете фази од

заболувањето. Бројот, пак, на В-лимфоцитите и во фаза на егзацербација и во фаза на ремисија е во границите на нормалните вредности.

Pedersen (53) спровел квантитативно испитување на CD4 и на CD8-клетките кај 20 пациенти со РАС во акутна фаза на заболувањето и во фаза на ремисија. Податоците биле споредувани со вредностите на субпопулациите на Т-лимфоцитите од контролни даватели на крв без РАС. Пропорцијата на CD4/CD8 била значително пониска кај РАС пациентите, во двата стадиуми на заболувањето, во споредба со контролната група. Намалувањето на пропорцијата CD4/CD8 се должела на значително зголемениот број на CD8-клетките. Бројот на CD4-клетките не се разликувал од бројот на CD4 кај контролната група.

Во двете фази од заболувањето бројот на CD4-клетките, кај нашите пациенти остана во границите на нормалните контролни вредности. Бројот на CD8-клетките и во фаза на егзацербација и во фаза на ремисија покажа благ пораст во однос на контролната група. Разликата за вредностите на CD8-клетките помеѓу испитуваната и контролната група е со статистичка значајност од ($p < 0,02$), а разликата помеѓу контролната и испитуваните групи, за CD16 (**natural killer**) клетките, не покажува статистичка значајност. Нормалните вредности за застапеноста на НК-клетките не значи дека тие имаат и намалена ADCC-активност на што укажува **Savage (64)**.

Во поголем број на лаборатории, воглавно поради интересот и загриженоста за епидемијата на AIDS, се одредува соодносот на CD4/CD8 клетките од периферните Т-лимфоцити. При одредувањето на овој сооднос треба да се биде внимателен бидејќи тој може да се менува заради промените во бројот на хелперите, на супресорите или пак и на двата типа на клетки. Нормалните вредности за соодносот на CD4/CD8

клетките не се стандардизирани, ниту пак во целост е согледано значењето на малите отстапувања од нормалните вредности за овој сооднос.

Според повеќето автори кај *Stomatitis aphthosa recurrens*, соодносот на хелперите и супресорите е намален што доведува и до пореметување во рамнотежата на имунорегулацијата. Постои неусогласеност во литературните податоци околу причината за намалувањето на овој сооднос. Така според **Landesberg** (33) соодносот е намален заради намалување на бројот на CD4-клетките, а според **Pedersen** (53) тој е намален заради зголемување на CD8-клетките. **Savage** (66) и **Kayavis** (29) тврдат дека соодносот CD4/CD8 е намален заради намалување на бројот на хелперите но и заради зголемување на бројот на супресорите.

Нашите наоди покажуваат дека соодносот на хелперите и супресорите е намален кај поголем број од пациентите со афтозен стоматит. Намалувањето на овој сооднос кај нашите испитаници се должи на умереното зголемување на бројот на CD8-клетките.

Зголмениот број на CD8-клетките кај нашите пациенти, го наметнува прашањето: каква е точната активност на овие клетки (супресорна или цитотоксична)? Ако го прифатиме фактот дека нивната улога е супресорна, во тој случај, намалувањето на концентрацијата на имуноглобулините кај афтозните болни наспроти нормалниот број на В-лимфоцитите, може да се должи токму на активноста на супресорните клетки. Можеби овие клетки ги потиснуваат активациските сигнали од CD4-клетките, кои се усмерени кон активирање на В-клетката, нејзино бластно трансформирање и продукција на имуноглобулини. Меѓутоа повеќето од литературните сознанија го побиваат ваквото наше

размислување и укажуваат на цитотоксичната активност на лимфоцитите кај пациентите со РАС.

Thomas (77) ја испитувал, *ин витро*, цитотоксичната активност на леукоцитите од периферната циркулација наспроти култура од глувчешки фибробласти, кај 13 пациенти со РАС и ја спроведувал со цитотоксичноста кај здрави особи кои немале афтозни улцерации. Испитувањето покажало дека леукоцитите од пациентите со РАС имаат сигнификантно поголема цитотоксична активност во споредба со истата, кај леукоцитите кај здрави особи. Авторот укажува дека оваа цитотоксична активност се должи на Т-лимфоцитите и дека истата не е под контрола на МНС-рестрикцијата.

Според Johanson (26) и Ting (76) во афтозните лезии CD4-клетките создаваат силен лимфокин-интерферон. Како резултат на создадениот интерферон, антиген стимулираните клетки продуцираат интерлеукин-2. Понатаму овој интерлеукин дава сигнал за диференциација и пролиферација на цитотоксичните прекурсори на Т-лимфоцитите. Gillis (18) укажува дека интерлеукин-2 ја зголемува литичната активност на цитотоксичните Т-лимфоцити.

Значајна новина во оваа област е направена со дисекцијата на CD4 популацијата со користење на 2H4 и 4B4 моноклонални антители (66). Клетките од фенотипот CD4⁺, 2H4⁺ формираат околу 41% од CD4-клетките во периферната циркулација и се означени како *suppressor inducer T-cells* а се смета дека се поттикнувачи на CD8⁺ - клетките (48).

Втората субпопулација на CD4-клетките добиена при дисекција е CD4⁺, 4B4⁺. Се смета дека и оваа субпопулација сочинува околу 41% од вкупната популација на CD4-клетките и дека е одличен поттикнувач на синтезата на имуноглобулините па уште е наречена и

helper-inducer субпопулација на Т-лимфоцитите (49). CD4+, 4B4+ субпопулацијата е присутна во зголемен број кај PAC-пациентите, но нивната улога не е со сигурност утврдена. Според Savage (66), променливото зголемување на нивото на имуноглобулините кај пациентите со PAC би било тешко да се поврзе со зголемениот број на CD4 +, 4B4 + - клетките. Понатамошната дисекција на CD8+ популацијата би можела да покаже дека овие клетки се цитотоксични кај PAC-пациентите а не се супресорни.

Добиените резултати за параметрите на хуморалниот и целуларниот имунитет, неопходно е да се анализираат заедно за да се стекнат правилни сознанија за имунолошкиот статус кај *Stomatitis aphthosa recurrens*.

Анализирајќи ги добиените резултати се наметнува впечатокот дека има нарушување во механизмите и на хуморалниот и на целуларниот имунолошки одговор. Тоа значи дека и едниот и другиот тип на имунолошки одговор се вклучени во патогенезата на PAC. Реакциите од хуморалниот имунитет се вклучуваат преку механизмот на делувањето на циркулирачките имуни комплекси врз малите крвни садови. Овој механизам е својствен за III-от тип на имунолошка реакција, позната како Артусов феномен. Реакциите од целуларниот имунитет во патогенезата на PAC се вклучуваат преку цитотоксичното дејство на CD8-клетките.

Ако се проследат резултатите добиени во фаза на егзацербација и оние добиени во фаза на ремисија на заболувањето ќе се забележи дека нема некоја поголема разлика меѓу нив. Тоа не наведува на заклучок дека имунолошкиот статус останува непроменет и кога пациентите имаат афтозни лезии во усната празнина и кога афтозните

лезии се одсутни. Голема е веројатноста дека се вклучуваат и некои додатни фактори, кои што допринесуваат споменатите имуно-патолошки механизми да го остварат своето дејство.

Резултатите добиени од литературата за можната предиспозиција на организмот кон одредени заболувања а асоцирани со антигените од HLA-системот се неусогласени и контрадикторни.

Malmstrom (46) сугерира на поврзаност на афтозниот стоматит со антигенот B12, додека **Gallina** (17) го негира тоа.

Лазаревска и сораб. (37) ја одредувале најчестата застапност на алоантигените од A, B и C-локусот на класа I од MHC-антигените и притоа регистрирале дека од A-локусот доминираат алоантигените од сублокусите A2, Ax кај 20 болни и A9 кај 12 болни; од B-локусот доминираат алоантигените од сублокусите B_u кај 23 и B5 кај 16 болни а од локусот C, алоантигените од сублокусот Cw₄ кај 6 болни.

Од направената корелација на типизираните HLA-антигени од A-локусот, кај нашите пациенти и контролната група може да се види дека постои статистичка значајност за следните антигени: A2 ($p < 0,005$), A28 ($p < 0,02$) и Ax ($p < 0,001$). Кај HLA-антигените од B-локусот статистичка значајност постои за антигените: B35 ($p < 0,01$), за B40 ($p < 0,001$), за Bw56 ($p < 0,001$) и за B_u ($p < 0,001$).

Анализирајќи ги нашите резултати (за HLA-типизацијата) и споредувајќи ги со резултатите од другите автори забележавме дека постои расчекор помеѓу нив. Главна причина за овој расчекор лежи во малата група на испитаници наспроти големата контролна група. Причина може да биде и недостигот на одредени серуми за типизација на антигените и од другите локуси, а не само од локусите A и B.

8. ЗАКЛУЧОЦИ

Анализирајќи ги нашите резултати, добиени од испитувањето на хуморалниот и целуларниот имунитет, како и од HLA-типизацијата, дојдовме до следните заклучоци:

1. Нивото на серумските имуноглобулини А, G и M во фаза на егзацербација на *Stomatitis aphthosa recurrens* е пониско во однос на нивното ниво кај контролната група. Разликата помеѓу овие две нивоа покажува статистички висока сигнификантност од ($p < 0,001$).

2. Во фаза на ремисија на заболувањето сигнификантно се намалени серумските IgA и IgG ($p < 0,001$). Разликата помеѓу вредностите за IgM, во оваа фаза од заболувањето и контролната група, не покажува статистичка сигнификантност.

3. Циркулирачките имуни комплекси во серум и во двете фази од заболувањето се сигнификантно покачени од ($p < 0,001$).

4. Намаленото ниво на серумските имуноглобулини, најверојатно се должи на нивното коњугирање со антигените и создавање на имуни комплекси. Ова го потврдува и сигнификантно покаченото ниво на CIK.

5. Концентрацијата на имуноглобулин А во мешана плунка е намалена и во двете фази од афтозниот стоматит, со статистичка значајност од ($p < 0,001$). Концентрацијата на IgG во мешана салива кај

болните испитаници е поголема, но тоа зголемување не е статистички значајно.

6. Процентуалната застапеност на Т (CD3)-лимфоцитите, и во фаза на егзацербација и во фаза на ремисија на заболувањето, е сигнификантно поголема од ($p < 0,001$). Разликата за застапеноста на В-лимфоцитите, помеѓу испитуваната и контролната група не покажува статистичка значајност.

7. Од субпопулациите на Т-лимфоцитите, само CD8-лимфоцитите се слабо сигнификантно покачени ($p < 0,02$) и во двете фази од заболувањето. Вредностите пак на CD4 и CD16-лимфоцитите се во границите на нормалните контролни вредности.

8. Соодносот помеѓу хелперните CD4-клетки и суперсорните (цитотоксични) CD8-клетки и во фаза на егзацербација и во фаза на ремисија од *Stomatitis aphthosa recurrens* е намален.

9. Не постои статистичка сигнификантност на разликите помеѓу вредностите за сите параметри од хуморалниот и целуларниот имунитет, во фаза на ремисија и во фаза на егзацербација на заболувањето.

10. Со пресметување на антигенската фреквенција, X^2 тестот и реалативниот ризик, статистичка значајност на разликите помеѓу испитуваната и контролната група, е потврдена за антигените: A2 ($p < 0,005$), A28 ($p < 0,02$) и Ax ($p < 0,001$) од А-локусот, а од В-локусот за антигените: B35 ($p < 0,01$), B40 ($p < 0,001$), Bw56 ($p < 0,001$) и By ($p < 0,001$).

11. Согледувајќи ги наодите добиени од хуморалниот и од целуларниот имунитет, можеме да заклучиме дека и едниот и другиот се вклучени во имунопатогенетските збиднувања кај *Stomatitis aphthosa recurrens*.

12. Одсуството на разлики помеѓу резултатите добиени во фаза на егзацербација и во фаза на ремисија на заболувањето, како и намалениот сооднос на CD4/CD8-клетките во двете фази на PAC, упатува на заклучокот дека при *Stomatitis aphthosa recurrens* се работи за постојано но умерено пореметување во рамнотежата на имунорегулацијата.

ЛИТЕРАТУРА

1. Anđić J.

Određivanje sekretornih imunoglobulina A parotidne žlezde.

Stomatoloski Glasnik Srbije 1969; 5:7

2. Antoon JW, Miller RL.

Aphthous ulcers: a review of the literature on etiology, pathogenesis, diagnosis and treatment.

JADA 1980; 101: 803-8

3. Bagg J.

Absence circulating IgG immune complexes in minor recurrent aphthous ulceration.

J Oral Pathol 1987; 16 (2) : 53-56

4. Ben-Aryeh H, Malberger E, Gutman D, Anavi Y.

Salivary IgA and serum IgG and IgA in recurrent aphthous stomatitis.

Oral Surg 1976; 42 : 746-52

5. Brody HA and Silberman S.

Studies on recurrent oral aphthae.

Oral Surg 1969; 27 : 27-34

6. Cekić-Arambašin A.

Karakteristike i učestalost altoznih rekurentnih efflorescencija na oralnoj sluznici u ovisnosti o općim i lokalnim predisponirajucim faktorima.

Acta Stomatol Croat 1979; 13 :41-6

7. Challacombe SJ, Scully C, Keevil B, Lehner T.
Serum ferritin in recurrent oral ulceration.
J Oral Pathol 1983; 12 : 290-9
8. Dagalis P.
Spontaneous migration and chemotactic activity of neutrophil polymorphonuclear leukocytes in recurrent aphthous ulceration.
Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1987; 64 (3) : 298-301
9. Daniel P Stites, John D Stobo, J Vivian Wells
Osnova i klinička imunologija.
Beograd: Savremena administracija, 1989 : 654-5
10. Davies DR, Metzger H.
Structural basis of antibody function.
Annu Rev Immunol 1983; 1:87
11. Димитровски В.
Промена во имунолошката реактивност кај заболени од пародонталната болест .
(Докторска дисертација) Скопје, 1990 : 30
12. Dolby AE.
Recurrent Mikulicz's oral aphthae- their relationship to the menstrual cycle.
Br Dent J 1968; 124 : 359-60
13. Donatsky O.
Comparison of cellular and humoral immunity against streptococcal and adult human oral mucosa antigens in relation exacerbation of recurrent aphthous stomatitis.
Acta Path Microbiol Scand SCC 1976; 84 (4) : 270-82

14. Englement E.
Genetic control of the human immune response.
J Exp Med 1980; 152 :2
15. Fearon DT, Wong WW.
Complement ligant receptor interactions that mediate biological responses.
Annu Rev Immunol 1983; 6 : 195
16. Ferguson MM, Carter J, Boyle P.
An epidemiological study of factors associated with recurrent aphthae in women.
J Oral Med 1984; 39 : 212-7
17. Gallina G, Cumbo V, Messina P, Caruse C.
HLA-A, B, C, DR, MT, and MB antigens in recurrent aphthous stomatitis.
Oral Surg 1985; 59 : 364-70
18. Gillis S, Mochijuki OY, Conlon PJ
Molecular sharacterization of interleukin-2.
Immunol Rev 1982; 62 : 267
19. Grattan CEH, Ssully C.
Oral ulceration: a diagnostic problem.
Br Med J 1986; 292 : 1093-4
20. Greenspan JS, Gadof N, Olson JA, Talal N.
Antibody-dependent cellular cytotoxicity in recurrent aphthous ulceration.
Clin Exp Immunol 1981; 44 : 603-10

21. Gupta RC.
Circulating immune complexes in active Behcets disease.
Clin Exp Immunol 1978; 32 : 193
22. Güven O.
Serum immunoglobulins in recurrent aphthous stomatitis.
J Nihon Univ Sch Dent 1988; 30 (4) : 294-301
23. Хазанова ВВ.
Иммуноглобулини слюни и сиворотки крови у болних рецидивирущим афтозним стоматитом.
Вестн Акад Мед Наук СССР 1977; 1 : 44-6
24. Herberman R, Reynolds C, Ortaldo J.
Mechanism of cytotoxicity by natural killer (NK) cells.
Annu Rev Immunol 1986; 4 : 651
25. Joan A.
Major aphthous like ulcers in patients with AIDS.
Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1991; 71 : 68-72
26. Johanson HN, Farrar WI
The role of a gamma interferon-like lymphokine in the activation of T cells for expression of interleukin-2 receptors.
Cal Immunol 1983; 75:154
27. Jorizzo JR.
Behcets disease.
Arch Dermatol 1986; 122 : 556

28. Kakizawa T, Noma H, Omori K.
The evaluation of Secretory IgA in Human Saliva.
Bull Tokyo Dent Coll 1973; 14 : 125-139
29. Kayavis I.
T-lymphocyte subsets in recurrent aphthous ulceration.
J Oral Med 1987; 42 : 198-200
30. Косорукова НИА, Персиц ММ, Терехова НВ.
**Влиание неферметативного фибринолиза на
фибринолитическу активност крови болних
хроническим рецидивирущим афтозним
стоматитом.**
Стоматологиа 1989; 68(1) : 11-3
31. Колевски П.
ХЛА регија и болестите.
Скопје: Студентски збор, 1988: 125-30
32. Korać D.
Klinička imunologija i alergijske bolesti kod dece.
Zagreb: Medicinska knjiga, 1988 : 120-1
33. Landesberg R.
**Altered T4/T8 ratios in a patient with severe recurrent
aphthous ulcers: report of a case.**
J Oral Maxillofac Surg 1987; 45 (11) : 980-2
34. Lazarevska B.
**Imunoglobulini u pljuvački i krvi kod Stomatitis aftoza hronica
recidivans.**
Stomatološki Glasnik Srbije - vanredni broj 1971; 222-7

35. Лазаревска Б, Накова М, Димитровски В.
**Промени во саливарните протиненски фракции при
Stomatitis aphthosa chronica recidivans.**
V Конгрес на стоматолозите на Југославија (Зборник на
трудови). Охрид: Здружение на стоматолозите на
Југославија, 1972: 539
36. Lazarevska B, Nakova M.
**Salivarne i serumske vrednosti imunoglobulina kod bolesnika sa
progresivnom parodontopatijom i hroničnim recidivnim aftoznim
stomatilom.**
**Slovenski stomatološki dnevi. (Zbornik predavanj) Portorož: Zveza
zobozdravstvenih delavcev, 1975: 112-6**
37. Лазаревска Б, Димитровски В, Поповска М.
**Корелација помеѓу антигените од ХЛА-систем и
афтозната болест.**
Макед Стоматол Прегл 1987; 11 (1-2) : 20-7
38. Lazarevska B, Dimitrovski V, Popovska M, Atanasova E.
Imunogenetski aspekti aftozne bolesti.
9 Kongres USJ. (Zbornik predavanj) Ljubljana: Slovensko
zdravnisko drustvo, 1988 : 19
39. Lehner T.
**Pathology of recurrent oral ulceration and oral
ulceration in Behcets syndrome: light, electron and
fluorescence microscopy.**
J Oral Pathol 1969; 97 : 481

40. Lehner T.
Immunoglobulin estimation of blod and saliva in human recurrent ulceration.
Archs Oral Biol 1969; 14 : 351-364
41. Lehner T.
Progress report: Oral ulceration and Behcets syndrome.
Gut 1977; 18 : 491-511
42. Lehner T, Losito A, Williams DG.
Cryoglobulins in Behcets Syndrome and recurrent oral ulceration: assay by laser nephelometry.
Clin Exp Immunol 1979; 38 : 436-44
43. Lehner T, Welsh KI, Batchelor JR.
The relationship of HLA-B and DR phenotypes to Behcets syndrome, recurrent oral ulceration and the class of immune complexes.
Immunology 1982; 47 : 581-7
44. Levinsky RJ, Lehner T.
Circulating Soluble immune complexes in recurrent oral ulceration, and Behcets syndrome.
Clin Exp Immunol 1978; 32 : 193-98
45. Лукашова ВЕ.
Бактериологическа алергия и специфична десензибилизация при PAC
Стоматология 1971; 1:5

46. Malmström M, Salo OP, Fyhrquist F.
Immunogenetic markers and immune response in patients with recurrent oral ulceration.
Int J Oral Surg 1983; 12 : 23-30
47. Miller MF, Ship II, Ram C.
A retrospective study of the prevalence and incidence of recurrent aphthous ulcers in a professional population.
Oral Surg 1977; 43 : 532-7
48. Morimoto C.
The isolation and characterization of the human suppressor inducer T cell subset.
J Immunol 1985a; 134 : 1508
49. Morimoto C.
The isolation and characterization of the human helper inducer T cell subset.
J Immunol 1985b; 134 : 3762
50. Nakova M.
Prilog kon poznavanjeto na proteinite, jaglenohidratite i lipidite vo plazmata i plunkata od pacienti so progresivna parodontopatija.
(Magisterski trud) Skopje, 1976: 62-4
51. Накова М, Корнети П, Белазелкоска З, Лазарева Б, Симоновски М.
Активноста на лизозимот во плунката од пациенти со Stomatitis aphthosa cronica recidivans.
I Конгрес специјалиста за болести уста, зуба и пародонта Југославије (апстракти). Охрид, 1983: 84

52. Orlov S.
Bakterioloski, imunoloski, histoloski i virusoloski aspekti recidivirajucih aftoznih lezij.
(Doktorska disertacija) Nis, 1977 : 116-7
53. Pedersen A, Klausen B, Hougen HP, Stenvang JP.
T-lymphocyte subsets in recurrent aphthous ulceration.
J Oral Pathol Med 1989; 18 (1) : 59-60
54. Pedersen A.
Immunomodulation by LongoVital in patients with recurrent arthous ulceration.
J Oral Pathol Med 1990; 19 (8) : 376-80
55. Поповска М.
Лихен планус. Клинички манифестации и неговата имуногенетска асоцираност со антигените од ХЛА-системот.
(Магистерски труд) Скопје, 1991 : 7
56. Reinherz EL, Schlossman S.
The differentiation and function of human T lymphocytes.
Cell 1980; 19 : 821
57. Rennie JR, Reade PC, Hay KD, Scully C.
Recurrent aphthous stomatitis.
Br Dent J 1985; 159 : 361-7
58. Rogers RS.
Lymphocytotoxicity in recurrent aphthous stomatitis.
Arch Dermatol 1974; 109 (3) : 361-3

59. Rogers RS.
Recurrent aphthous stomatitis: clinical characteristics and evidence for an immunopathogenesis.
J Invest Dermatol 1977; 69 : 499-501
60. Rogers RS, Hutton KP.
Screening for hematinic deficiencies in patients with recurrent aphthous stomatitis.
Aust J Derm 1986; 27 : 98-103
61. Ross R, Kutscher AH, Zegarelli EV, Silvers H, Pire JD.
Relationship of mechanical trauma to recurrent ulceration (aphthae) stomatitis.
NY State Dent J 1958; 24 : 101-2
62. Рибакoв АИ, Куликова ВС, Терехова НВ, Косорукова НИА.
Содержание гепарина в крови больных хроническим рецидивирущим афтозным стоматитом.
Стоматология 1972; 51 (3) : 38
63. Sallay K, Banoczy J.
Remarks on the possibilities of the simultaneous occurrence of hyperkeratosis of the mucous membrane and recurrent aphthae.
Oral Surg 1968; 25 : 171-5
64. Savage NW, Seymour GJ, Kruger BJ.
T Lymphocyte subset in recurrent aphthous stomatitis.
Oral Surg 1985; 60 : 175-81
65. Savage NW, Seymour GJ, Kruger BJ.
Expresion of class I and class II major histocompatibility.

Complex antigens on epithelial cells in recurrent aphthous stomatitis.

J Oral Pathol 1986; 15 (4) : 191-5

66. Savage NW.

The proportion of suppressor-inducer T-lymphocytes is reduced in recurrent aphthous stomatitis.

J Oral Pathol 1988; 17 (6) : 293-7

67. Schroeder HE, Muler-Glauser W, Sallay K.

Stereologic analysis of leukocyte infiltration in oral ulcers of developing Mikulicz aphthae.

Oral Surg 1983; 56 (6) : 629-40

68. Scully C, Macfadyen EE, Campbell A.

Orofacial manifestation in cyclic neutropenia.

Br J Oral Surg 1982; 20 : 96-101

69. Scully C, Porter SR.

Orofacial manifestations of HIV infection.

Lancet 1988; 1 : 976-7

70. Scully C, Porter SR.

Recurrent aphthous stomatitis: current concepts of etiology, pathogenesis and management.

J Oral Pathol Med 1989; 18 : 21-27

71. Segal AL, Katsher AH, Brightman KJ, Miller MF.

Recurrent herpes labialis, recurrent aphthous ulcers, and the menstrual cycle.

J Dent Res 1974; 53 : 797-803

72. Schip II, Morris AL, Durocher RT, Burket LW.

Recurrent aphthous ulceration in a professional school student population. IV. Twelve month study of natural disease patterns.

Oral Surg 1961; 14 : 30-9

73. Скляр ВЕ, Висковатова ТН, Скиба ВИА.

Состояние иммунологической реактивности организма больных хроническим рецидивирующим афтозным стоматитом.

Стоматология 1983; 62 (4) : 27-8

74. Терехова НВ.

Отдельные результаты лечения тяжелых форм хронического рецидивирующего афтозного стоматита.

Стоматология 1983; 62 (4) : 28-30

75. Терехова НВ, Вертенинская АГ, Косорукова НИА.

Гистамин и факторы его инактивации при лечении хронического рецидивирующего афтозного стоматита гистаглобулином.

Стоматология 1987; 66 (5) : 30-2

76. Ting C, Yang SS, Hargreave ME.

Induction of suppressor T cells by interleukin 2.

J Immunol 1984; 133 : 261

77. Thomas DW, Bagg J, Walker DM.

The in vitro cytotoxic effect of leukocytes from patients with recurrent aphthous ulceration upon mouse 3T3 fibroblasts.

J Oral Pathol 1988; 17 : 421-425

78. Williams BD, Lehner T.

Immune complexes in Behcets synderome and recurrent oral ulceration.

Br Med J 1977; 1 : 1387

79. Wilson CWM.

Food sensitivities, taste changes, aphthous ulcers and atopic symptoms in allergic disease.

Ann Alergy 1980; 44 : 302-7

80. Wray D.

Recurrent aphthae: treatment with vitamin B12, folic acid and iron.

Br Med J 1975; 2 : 490-3

81. Đajić D, Orlov S, Mirković B.

Oboljenja mekih tkiva usne duplje.

Beograd: Dečija novine, 1987: 276-7 .