

POLSKI

MERKURIUSZ LEKARSKI

dawniej Polski Tygodnik Lekarski

ORGAN POLSKIEGO TOWARZYSTWA LEKARSKIEGO

Rok 2001

TOM XI

Nr 63



BioMarine570®

SKŁAD

120mg alkilogliceroli, 120mg skwalenu, 25mg omega-3, wit. "A" 50 j.m., "D" 5 j.m.

OPAKOWANIE

90 kapsulek, 1 kapsułka zawiera 570mg oleju z wątroby rekina tasmańskiego.

WYSTĘPOWANIE

Trzy podstawowe substancje preparatu występują w szpiku kostnym, wątrobie, śledzionie, mleku matki, mózgu, błonach komórkowych każdej komórki organizmu.

DZIAŁANIE

Wzmacnia, reguluje i aktywuje układ odpornościowy. Wzmacnia układ krążenia i układ nerwowy. Działa korzystnie na układ hormonalny. Znacząco podwyższa skuteczność terapii podstawowej. Zapobiega mutacji komórkowej na przykład: mutacji nowotworowej.

WSKAZANIA

Preparat należy stosować w profilaktyce zdrowotnej i wspomagająco w terapii podstawowej - celem przywrócenia równowagi biologicznej organizmu i właściwej aktywności układu odpornościowego. Wskazany ostonowo dla zmniejszenia skutków ubocznych działania leków. Zalecany wspomagająco w terapii infekcji, alergii, łuszczycy, choroby wieńcowej serca, w nadciśnieniu tętniczym, cukrzycy, w stwardnieniu rozsianym, chorobach nowotworowych i innych, zgodnie z opisem w punkcie „Działanie”.

DAWKOWANIE

Dorośli - profilaktycznie 2x3 kapsułki dziennie przez okres 30 dni, następnie 3-4 kapsułki dziennie. Stosować 2 razy w roku przez min. 4 miesiące. W okresach występowania wzmożonych infekcji, większego stresu, wydłużonych godzin pracy wskazane jest dwukrotne zwiększenie dawki przez kilka dni.

Wspomagająco w terapii podstawowej 3x3 kapsułki dziennie przez 4-6 miesięcy. W zaawansowanych stanach chorobowych, można stosować preparat w dawkach do 20 kapsulek dziennie lub według zaleceń lekarza.

Dzieci - profilaktycznie 2x2 przez pierwsze 30 dni, następnie 1-3 kapsulek dziennie. Wspomagająco do 9 kapsulek dziennie przez 4 miesiące tylko pod kontrolą lekarza.

Przy stosowaniu BioMarine 570® PAMIĘTAJ o kontroli parametrów choroby - może wystąpić konieczność zmniejszenia dawki leków.

STOSOWANIE

Dorośli 1/2 godz. przed posiłkiem lub 1 1/2 godz. po posiłku
Dzieci 15 min przed posiłkiem. Kapsułki ssać lub połykać.

UWAGI

Brak przeciwwskazań i działań niepożądanych.
Dostarcza przynajmniej 2,5 razy więcej związków aktywnych niż inne oleje z rekina. Przechowywać w temperaturze pokojowej w oryginalnym opakowaniu.

CERTYFIKATY

GIS: ZPU-4433-PD-84/HM/97

Alkiloglicerole

Skwalen

Omega-3



2,5 razy więcej związków aktywnych
niż w innych olejach z rekina

Olej z wątroby tasmańskiego
rekina głębinowego



Importer i dystrybutor:
Marinex International

93-482 Łódź, ul. Regatowa 32, tel/fax (0-42) 680-03-33, www.marinex.com.pl

Producent:

Scandinavian Laboratories Inc. 794 Sunrise Boulevard, Mt. Bethel, Pennsylvania 18343, USA

Ocena skuteczności leczenia aft nawrotowych olejem z wątroby rekina w aspekcie badań klinicznych i immunologicznych

Zakład Chorób Błony Śluzowej Jamy Ustnej i Przyzębia Instytutu Stomatologii AM w Łodzi, kierownik: dr med. B. Urbaniak; Zakład Immunologii Klinicznej Instytutu Centrum Zdrowia Matki Polki w Łodzi, kierownik: prof. dr hab. med. H. Tchórzewski

Natalia Gurańska, Przemysław Lewkowicz, Barbara Urbaniak, Małgorzata Banasik, Ewa Głowacka, Bożena Lauk-Puchała, Róża Peterson, Henryk Tchórzewski

Ocena skuteczności leczenia aft nawrotowych olejem z wątroby rekina w aspekcie badań klinicznych i immunologicznych

Afty nawrotowe są chorobą o niewyjaśnionej etiologii, której nie potrafimy skutecznie leczyć. Celem badań była ocena kliniczna zastosowania preparatu immunomodulującego – oleju z wątroby rekina – u pacjentów z aftami nawrotowymi oraz jego wpływu na układ immunologiczny. W badaniach wzięło udział 25 pacjentów z nasiloną postacią choroby. Zaobserwowano zmniejszenie częstotliwości występowania aft z 1,56/mies. przed leczeniem do 0,95/mies. w pierwszym miesiącu po leczeniu. Liczba zmian aftowych zmniejszyła się istotnie w trakcie leczenia oraz w pierwszych 2 miesiącach po leczeniu. W okresie 2-miesięcznej obserwacji po leczeniu u 4 pacjentów afy nie wystąpiły, u pozostałych pacjentów dochodziło do stopniowego powrotu choroby, ale z nasileniem mniejszym niż przed leczeniem, a u 3 osób nie zaobserwowano złagodzenia choroby ani w trakcie, ani po leczeniu. Stosowanie oleju z wątroby rekina nie doprowadziło do normalizacji wszystkich badanych parametrów immunologicznych. Po leczeniu polepszyła się odpowiedź neutrofilów na opsonizowany zymosan (OZ) i ester forbolu (PMA), wzrósł odsetek limfocytów T, wrócił do zakresu wartości prawidłowych odsetek limfocytów B i limfocytów T CD3/HLA-DR+. Poziom składowej C4 oraz aktywność hemolityczna dopełniacza zmniejszyły się, zbliżając się do zakresu wartości prawidłowych. Związki zawarte w oleju z wątroby rekina mają pozytywne działanie na układ immunologiczny chorych na afy nawrotowe, wpływając na złagodzenie choroby.

Słowa kluczowe: afy nawrotowe; olej z wątroby rekina; badania immunologiczne

Pol. Merk. Lek., 2001, XI, 63, 233

Natalia Gurańska, Przemysław Lewkowicz, Barbara Urbaniak, Małgorzata Banasik, Ewa Głowacka, Bożena Lauk-Puchała, Róża Peterson, Henryk Tchórzewski

The assessment of the effectiveness of the shark liver oil in recurrent aphthous stomatitis treatment: clinical and immunological studies

There is no specific and effective treatment for recurrent aphthous stomatitis (RAS), which is connected with its unexplained etiology. The purpose of this study was to determine the clinical efficiency and immunomodulation of the shark liver oil in treatment of recurrent aphthous stomatitis. Twenty-five patients with severe disease received treatment with shark liver oil during a three-month period. The frequency of occurrence of RAS decreased from 1.56 before treatment to 0.95 after treatment and the number of lesions per month was significantly reduced during the third month of treatment and two months after treatment. During two months after treatment 4 patients had no ulcers and an improvement was exhibited in all except 3 of the remaining patients. The treatment had an influence on some immunological parameters. A better response of neutrophils to OZ and PMA were seen. The B cell and T CD3/HLA DR+ cell percentage returned to normal values. A significantly increased percentage of T cells was observed as compared to the before treatment value. The level of C4 and the hemolytic activity of the complement system decreased after treatment and neared the normal values. The shark liver oil contains compounds that have a positive immunomodulation action and alleviate the course of disease.

Key words: recurrent aphthous stomatitis; shark liver oil; immunological assessment

Pol. Merk. Lek., 2001, XI, 63, 233

Afty nawrotowe są jedną z najczęściej występujących chorób błony śluzowej jamy ustnej. Choroba charakteryzuje się występowaniem nawrotowych bolesnych nadżerek na błonie śluzowej jamy ustnej, które goją się samoistnie. Okresy remisji mogą trwać od kilku dni do kilku miesięcy.

Etiologia aft nawrotowych wciąż nie jest dokładnie poznana. Wiele czynników miejscowych i ogólnych może przyczyniać się do rozwoju i nawrotów choroby, np. uraz, skład śliny, stres, czynniki hormonalne, czynniki genetyczne, zaburzenia immunologiczne, zakażenia wirusowe i bakteryjne. Ponadto współistnienie niektórych chorób ogólnoustrojowych może mieć związek z patogenezą aft nawrotowych [10].

Wielu autorów uważa, że dysfunkcja układu immunologicznego może odgrywać kluczową rolę w rozwoju tej choroby [10]. Jednak pomimo licznych, prowadzonych od wielu lat badań nad rolą układu immunologicznego nie udało się wyjaśnić dokładnego patomechanizmu choroby, a co za tym idzie, brak również ujednoczonych procedur postępo-

wania terapeutycznego prowadzącego do wyleczenia czy choćby zmniejszenia dolegliwości i częstości nawrotów choroby. Leki miejscowe są użyteczne jedynie w łagodzeniu objawów aft, a preparaty ogólne, ingerując w działanie układu immunologicznego, powodują co najwyżej kilkumiesięczne remisje [6, 11, 12, 13, 14, 15, 21, 22, 27, 28]. Żaden lek długotrwale nie zapobiega nawrotom choroby. Do tej pory w leczeniu ogólnym stosowano zarówno leki immunosupresyjne, jak i immunostymulujące [9, 14, 22, 23, 24, 27, 28]. Pierwsze, pomimo wykazanej pewnej skuteczności, nie nadają się do długotrwałego stosowania ze względu na potencjalne działania niepożądane. Leki immunostymulujące natomiast są mniej skuteczne, ale mogą być używane w leczeniu ogólnym wspomagającym, charakteryzując się pozytywnym wpływem na cały organizm, nie dając jednocześnie tylu objawów ubocznych, co preparaty immunosupresyjne. Ciągłe trwają poszukiwania takiego leku, który byłby mało toksyczny, a jednocześnie na tyle sku-

teczny, że jego okresowe stosowanie zapobiegałoby nawrotom choroby i łagodziło jej przebieg.

Takie właściwości wydaje się mieć preparat zawierający olej z wątroby rekina (skład: skwaleń 120 mg, alkoglicyrole 120 mg, kwasy tłuszczowe omega-3 25 mg, witamina A 50 j.m., witamina D 5 j.m.), który wykazuje działanie modulujące system odporności. Naturalne związki pochodzące z wątroby rekina wpływają wielokierunkowo na odporność nieswoistą organizmu. Skwaleń pobudza komórkową i humoralną odpowiedź układu odpornościowego, chroni komórki przed niszczącym działaniem reaktywnych form tlenu. Ma ponadto bezpośrednie działanie przeciwbakteryjne (hamuje wzrost bakterii), działa też pośrednio poprzez „opłaszczanie” bakterii, ułatwiając ich fagocytozę [1, 2, 16]. Alkiloglicyrole biorą udział w regulacji aktywności komórek układu immunologicznego: pobudzają hemopoiezę, fagocytozę, wzmagają wytwarzanie przeciwciał. Mają również bezpośrednie działanie przeciwbakteryjne i przeciwgrzybicze [31]. Dieta z zawartością wielonienasyconych kwasów tłuszczowych szeregu omega-3 powoduje zahamowanie syntezy IL-1, IL-2, IL-6, TNF- α , INF- γ przez limfocyty krwi obwodowej oraz redukcję powstawania PGE₂ [5, 7, 30]. Stwierdzono także zmniejszenie ekspresji HLA-DP, -DQ i -DR oraz ICAM-1 i LFA-1 na monocytach [4].

W niniejszej pracy oceniono skuteczność preparatu zawierającego olej z wątroby rekina (BioMarine 570) w leczeniu aft nawrotowych poprzez obserwację kliniczną oraz ocenę wybranych parametrów odpowiedzi immunologicznej u pacjentów biorących udział w 3-miesięcznej kuracji.

MATERIAŁ I METODY

Badania przeprowadzono za zgodą Uczelnianej Komisji Etyki Badań Naukowych przy AM w Łodzi. W badaniu wzięło udział 25 osób: 16 kobiet i 9 mężczyzn w wieku 19-60 lat (średnia wieku 39,4 \pm 13,76 lat). Do grupy badanej na podstawie wywiadu i badania klinicznego zakwalifikowano osoby z aftami nawrotowymi występującymi przynajmniej raz na miesiąc, bez chorób ogólnoustrojowych i nie przyjmujące żadnych leków.

Pacjenci byli obserwowani przez 2 miesiące przed podjęciem kuracji w celu obliczenia średniej liczby aft oraz ilości nawrotów w miesiącu. Przed rozpoczęciem przyjmowania leku oraz po zakończonym leczeniu od każdej z osób pobrano 2 ml krwi na heparynę litową i 3 ml krwi na skrzep w celu wykonania badań immunologicznych i oceny morfologii krwi obwodowej. Każdy z pacjentów w chwili rozpoczęcia badań był w fazie aktywnej choroby (2-4 dzień od momentu pojawienia się zmiany).

Oceniono następujące parametry immunologiczne:

- Czynność neutrofilów poprzez badanie wytwarzania reaktywnych form tlenu (RFT) w układzie: bez pobudzenia oraz po stymulacji receptorowo zależnymi stymulatorami (formylo-metionylo-leucylo-fenylalanina – fMPLP i opsonizowany zymosan – OZ) i receptorowo niezależnym stymulatorem (ester forbolu – PMA) metodą chemiluminescencji krwi pełnej [18]. Pomiar przeprowadzono aparatem MLX Microtiter® Plate Luminometr; wartości chemiluminescencji krwi pełnej skorygowano o liczbę bezwzględną neutrofilów oraz stężenie hemoglobiny i wyrażono w umownych jednostkach luminescencji RLU_{max} (Relative Light Units Max) wg wzoru:

$$CL \text{ wyliczona} = CL \text{ zmierzona [RLU max]} \times \frac{Hb [\%]}{WBC [\text{tys.}/\mu\text{L}] \times PMN [\%]}$$

gdzie:

WBC – bezwzględna liczba białych krwinek (white blood cell) [10³/ μ l]

CL – chemiluminescencja [RLU_{max}]

Hb – hemoglobina (haemoglobin) [%]

PMN – neutrofile krwi obwodowej (polymorphonuclear leucocytes) [%].

- Skład odsetkowy subpopulacji limfocytów T (CD3, CD4, CD8), odsetek limfocytów B (CD19), komórek NK (CD16/CD56) i odsetek limfocytów T CD3 z ekspresją HLA-DR krwi obwodowej, znakowanych przeciwciałami monoklonalnymi firmy Becton-Dickinson, oceniony przy użyciu cytometru przepływowego FACS Calibur firmy Becton-Dickinson.

- Poziomy składowych C3c i C4 układu dopełniacza, oznaczone metodą nefelometryczną, odczynnikami firmy Behring, oraz aktywność hemolityczną drogi klasycznej dopełniacza (CH50), ocenioną zmodyfikowaną metodą Mayera. Grupę kontrolną do badań chemiluminescencji neutrofilów i układu dopełniacza stanowiło 19 zdrowych osób, które nie chorowały nigdy na afty nawrotowe. Wartości odsetkowe subpopulacji limfocytów osób chorych porównywano do wartości referencyjnych, opracowanych dla populacji polskiej [29].

Pacjenci zostali poinstruowani o zalecanym sposobie przyjmowania leku (kapsułki trzymane w ustach aż do ich pęknięcia, następnie olej rozprowadzony po błonie śluzowej jamy ustnej i połknięty). Dawkowanie preparatu: 3 kapsułki 3 razy dziennie przez 3 miesiące. Co 2 tygodnie pacjenci zgłaszali się na badania kontrolne w celu oceny wykwitów aftowych (ilość, wielkość, bolesność, gojenie) oraz odczuć subiektywnych, ocenionych wg dwupunktowej skali: 0 – brak poprawy, 1 – poprawa. Po zakończonym leczeniu pacjenci byli badani raz w miesiącu przez okres dwóch miesięcy.

Dla wszystkich parametrów obliczono wartość średnią, odchylenie standardowe (SD), a dla ocen klinicznych także błąd standardowy średniej (SEM). Do weryfikacji statystycznej danych zastosowano następujące testy: Kołmogorowa-Smirnowa z poprawką Lillieforsa, Fishera-Snedecora, t-Studenta, Cohrana-Coxa, t-Studenta dla zmiennych powiązanych. Za wynik istotny statystycznie przyjęto $p \leq 0,05$.

WYNIKI

Ocena kliniczna. W momencie zakończenia leczenia u trzech pacjentów występowały afty, pozostali nie mieli żadnych zmian w jamie ustnej. Zaobserwowano zmniejszenie częstotliwości występowania aft w 1. i 3. miesiącu leczenia w stosunku do stanu przed leczeniem. Częstotliwość występowania aft zmniejszyła się z 1,56/miesiąc przed leczeniem do 0,95/miesiąc w pierwszym miesiącu po leczeniu (tab. 1). Liczba zmian aftowych zmniejszała się w trakcie leczenia, a najniższa była w 1. miesiącu po leczeniu. Subiektywne odczucia pacjentów dotyczące skuteczności leczenia mieściły się w granicach 56-67% w trakcie leczenia, ale w 1. miesiącu po leczeniu odsetek osób zgłaszających poprawę zmniejszył się do 33%, co jest niezgodne z obiektywnie zaobserwowaną redukcją zarówno częstotliwości, jak i ilości zmian aftowych. W okresie 2-miesięcznej obserwacji po leczeniu u 4 pacjentów afty nie wystąpiły. U 3 osób nie zaobserwowano złagodzenia choroby ani w badaniu obiektywnym, ani w subiektywnym odczuciu pacjentów. U pozostałych osób w 2. miesiącu po leczeniu nastąpiło zwiększenie częstotliwości i liczby aft, ale z mniejszym nasileniem.

Badania immunologiczne. Badania składu odsetkowego niektórych subpopulacji limfocytów krwi obwodowej wykazały u osób chorych zmniejszenie odsetka limfocytów B oraz wzrost odsetka limfocytów T z markerem HLA-DR+, którego zwiększoną ekspresję obserwuje się na pobudzonych limfocytach. Po leczeniu stwierdzono wzrost odsetka limfocytów T CD3 i B oraz spadek odsetka limfocytów T HLA-DR+ w stosunku do wartości przed leczeniem (tab. 2).

U pacjentów przed rozpoczęciem leczenia zaobserwowano zwiększone wytwarzanie RFT przez neutrofile spontanicznie i stymulowane fMPLP. Neutrofile stymulowane PMA generowały mniejszą ilość RFT w porównaniu do osób zdrowych (tab. 3). Po leczeniu znacząco wzrosło wytwarzanie RFT przez neutrofile stymulowane OZ, po stymulacji PMA wartości chemiluminescencji nie odbiegały od prawidłowych,

Tabela 1. Zestawienie częstotliwości występowania oraz średniej liczby zmian aftowych na miesiąc
Table 1. Clinical manifestations of RAS: the frequency of incidence and the number of ulcers per month

	Częstotliwość występowania Frequency of incidence per month Śr ± SD (SEM) Mean ± SD (SEM)	Liczba zmian aftowych Number of aphthous lesions per month Śr ± SD (SEM) Mean ± SD (SEM)
Przed leczeniem Before treatment n=25	1,56 ± 0,507 (0,101)	4,04 ± 2,715 (0,543)
Pierwszy miesiąc leczenia First month of treatment n=25	1,32 ± 0,557 (0,111) *	3,48 ± 3,572 (0,714)
Drugi miesiąc leczenia Second month of treatment n=21	1,38 ± 1,024 (0,223)	3,33 ± 3,454 (0,754)
Trzeci miesiąc leczenia Third month of treatment n=20	1,11 ± 0,994 (0,228) *	3,32 ± 3,772 (0,865) *
Pierwszy miesiąc po leczeniu First month after treatment n=20	0,95 ± 0,705 (0,162) * #	2,47 ± 2,412 (0,533) * #
Drugi miesiąc po leczeniu Second month after treatment n=20	1,18 ± 0,809 (0,196) *	2,96 ± 2,633 (0,639) * a

* – $p \leq 0,05$ porównanie do wartości przed leczeniem # – $p \leq 0,05$ porównanie do wartości z pierwszego miesiąca leczenia

* – $p \leq 0,05$ as compared to before treatment values # – $p \leq 0,05$ as compared to first month of treatment values

a – $p \leq 0,05$ porównanie do wartości z pierwszego miesiąca po leczeniu

a – $p \leq 0,05$ as compared to first month after treatment values

Tabela 2. Porównanie wartości odsetkowych limfocytów T i ich subpopulacji, limfocytów B, komórek NK i limfocytów T aktywowanych w grupie osób przed i po leczeniu oraz wartości referencyjnych

Table 2. Percentage of T cells and its subsets, B cells, NK cells and activated T cells of patients before and after treatment and reference values

	Przed leczeniem Before treatment n=25 Śr ± SD	Po leczeniu After treatment n=20 Śr ± SD	Wartości referencyjne Reference values Śr ± SD
CD3	70,82 ± 6,531	72,11 ± 7,928 #	69,4 ± 6,20
CD4	45,18 ± 6,502	44,89 ± 6,900	45,2 ± 7,20
CD8	36,06 ± 7,709	35,33 ± 7,348	33,8 ± 5,50
CD19	11,76 ± 3,833 *	12,56 ± 3,972	13,3 ± 4,10
NK	16,06 ± 6,036	15,33 ± 7,550	17,6 ± 5,90
CD4/CD8	1,35 ± 0,523	1,37 ± 0,578	1,38 ± 0,340
CD3/HLA-DR+	9,80 ± 5,759 *	6,75 ± 3,919 #	5,0 ± 1,00

* – $p \leq 0,05$ porównanie do wartości referencyjnych # – $p \leq 0,05$ porównanie do wartości przed leczeniem

* – $p \leq 0,05$ as compared to reference values # – $p \leq 0,05$ as compared to before treatment values

Tabela 3. Średnie wartości chemiluminescencji krwi pełnej u pacjentów przed i po leczeniu oraz w grupie kontrolnej

Table 3. The average chemiluminescence values of neutrophils in patients and controls

	Neutrofile niestymulowane Unstimulated neutrophils	fMLP	OZ	PMA
Przed leczeniem Before treatment n=25	* 0,22 ± 0,126	* 0,34 ± 0,194	0,78 ± 0,417	* 0,53 ± 0,330
Po leczeniu After treatment n=20	* 0,18 ± 0,091	* 0,35 ± 0,189	# 1,10 ± 0,544	0,64 ± 0,422
Grupa kontrolna Control group n=19	0,10 ± 0,056	0,17 ± 0,074	0,92 ± 0,339	0,68 ± 0,231

n – liczebność grupy

n – number of performed investigations

* – $p \leq 0,05$ porównanie do grupy kontrolnej

* – $p \leq 0,05$ significant differences as compared to controls

– $p \leq 0,05$ porównanie do wartości przed leczeniem

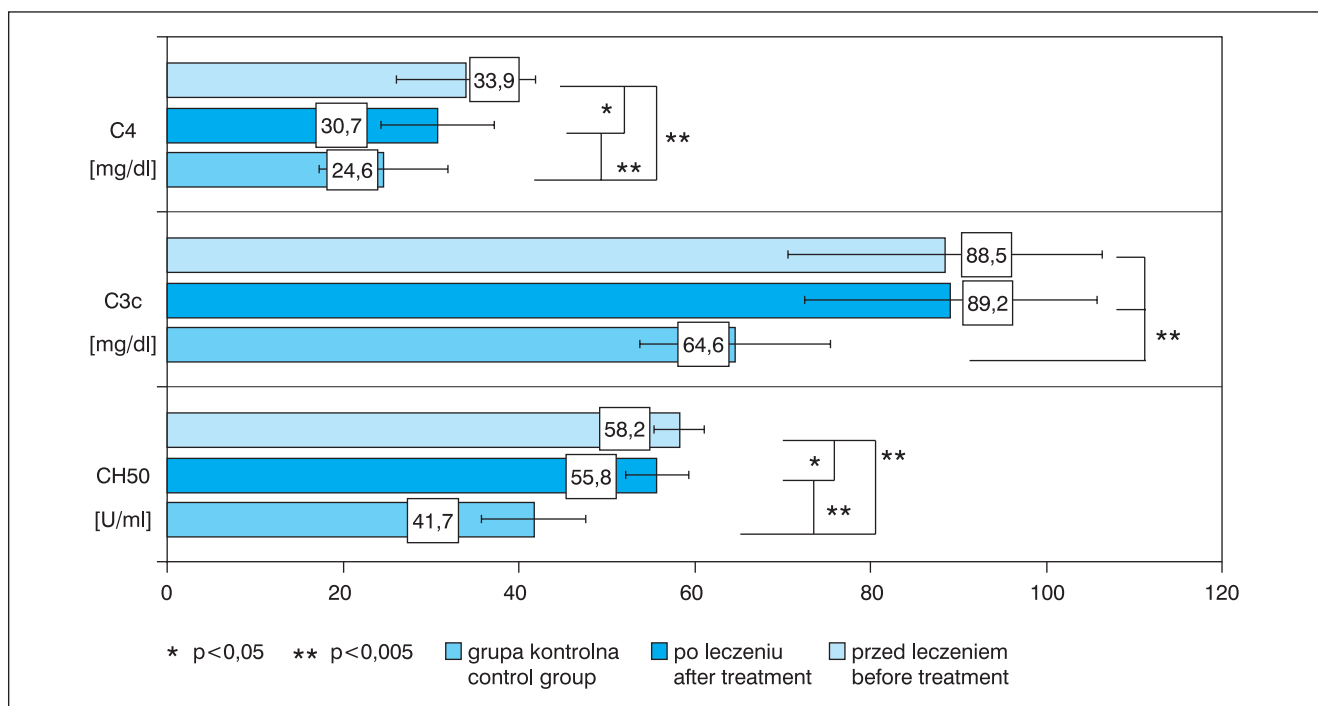
– $p \leq 0,05$ as compared to before treatment values

natomiast chemiluminescencja spoczynkowa i stymulowana fMLP nie zmieniły się w porównaniu do stanu przed leczeniem.

Poziom składowych C3c i C4, a także aktywność hemolityczna dopełniacza (CH50) były zwiększone w grupie pacjentów w fazie aktywnej choroby w stosunku do wartości obserwowanych u osób zdrowych. Po leczeniu poziom składowej C4 układu dopełniacza oraz wartość CH50 zmniejszyły się znacząco w stosunku do wartości w fazie aktywnej choroby, aczkolwiek nie powróciły do zakresu wartości prawidłowych (ryc. 1).

OMÓWIENIE

W badaniach wzięły udział osoby cierpiące na ciężką postać aft nawrotowych. W trakcie pierwszych 2 miesięcy leczenia nie doszło do znaczącej redukcji częstotliwości występowania i ilości zmian aftowych, jednakże odnotowano wówczas największy odsetek pacjentów deklarujących złagodzenie objawów choroby (56-67%). W pierwszym miesiącu po zakończeniu leczenia częstotliwość występowania i liczba aft była najmniejsza, a odsetek pacjentów deklarujących poprawę wyniósł zaledwie 33%. Rozbieżność pomiędzy oceną kli-



Ryc. 1. Poziom składowych dopełniacza C3c i C4 oraz wartość aktywności hemolitycznej układu dopełniacza (CH50) u pacjentów przed i po leczeniu oraz w grupie kontrolnej.

Fig. 1. Levels of components C3c, C4 and hemolytic activity of the complement system in patients before and after treatment and controls.

niczną a subiektywną pacjentów może wynikać z pozytywnego nastawienia do preparatu na początku leczenia i braku oczekiwanych wyników w momencie zakończenia leczenia (mimo że pacjenci zostali poinformowani przed rozpoczęciem leczenia o braku doniesień na temat skuteczności oleju z wątroby rekina w leczeniu aft nawrotowych, większość z nich oczekiwała całkowitego ustąpienia choroby).

Afty nawrotowe są chorobą o złożonej etiologii, w której zaburzenia immunologiczne odgrywają znaczną rolę. Oceniono następujące parametry układu immunologicznego: skład odsetkowy limfocytów T, odsetek limfocytów B, komórek NK i odsetek limfocytów T z ekspresją HLA-DR, generację RFT przez neutrofile, poziomy C3c i C4 oraz aktywność hemolityczną układu dopełniacza. Zastosowany system badawczy pozwolił na wstępną ocenę zaangażowania układu immunologicznego w patomechanizm powstawania aft nawrotowych, a badania wykonane po leczeniu u pacjentów w stanie remisji i konfrontacja z wcześniejszymi badaniami w próbach powiązanych wskazywać mogą na wpływ preparatu na oznaczane parametry i jego skuteczność w leczeniu.

Neutrofile krwi obwodowej chorych zarówno przed, jak i po leczeniu znajdowały się w stanie pobudzenia, co objawiało się zwiększonym wytwarzaniem RFT komórek spoczynkowych i stymulowanych fMLP. Po leczeniu poprawiła się odpowiedź neutrofilów na OZ i PMA. Dzięki zastosowaniu pomiaru RFT we krwi pełnej wyeliminowano możliwość pobudzenia neutrofilów przez sam proces izolacji komórek. Nadmierna reaktywność neutrofilów krwi obwodowej może wynikać z wpływu endogenego TNF- α , którego zwiększony poziom stwierdzono u chorych na afty nawrotowe [3, 19, 25]. Nadmierne wytwarzanie RFT *in vivo* może mieć różnorakie konsekwencje, łącznie z niszczeniem własnych komórek, zmianą właściwości autoantygenów, pobudzeniem innych komórek układu immunologicznego oraz zwiększeniem wytwarzania cytokin prozapalnych przez aktywację jądrowego czynnika transkrypcyjnego NF- κ B [26].

Składowe układu dopełniacza C3c i C4 są czułymi wskaźnikami toczącego się procesu zapalnego. Składowa C4 bierze udział w aktywacji drogi klasycznej układu dopełniacza, a składowa C3c zarówno drogi klasycznej, jak i alternatyw-

nej. Spadek poziomu składowej C4 oraz wartości CH50 świadczy o remisji aktywnego procesu zapalnego.

Niektóre wyniki naszych badań różnią się od wyników wcześniejszych doniesień. Nie zaobserwowaliśmy odchyleń od zakresu wartości prawidłowych u pacjentów z aftami w zakresie odsetka limfocytów T CD4 i T CD8, prawidłowy był także współczynnik CD4/CD8, podczas gdy inni autorzy odnotowali zwiększenie odsetka limfocytów T CD8, zmniejszenie T CD4 i obniżenie CD4/CD8 [17, 20]. Także przeciwnie niż w naszych badaniach, obserwowano wzrost odsetka limfocytów B [8] oraz spadek odsetka limfocytów T HLA-DR+ [20]. Po leczeniu stwierdziliśmy wzrost odsetka limfocytów T i B oraz spadek odsetka limfocytów pobudzonych T HLA-DR+. Istotny spadek odsetka limfocytów aktywowanych T CD3/HLA-DR+ wskazuje na remisję choroby.

Zastosowanie preparatu zawierającego olej z wątroby rekina przez 3 miesiące istotnie zmniejszyło częstotliwość występowania i ilość aft, jednak po zaprzestaniu przyjmowania leku u większości pacjentów afty powracały, ale z nasileniem mniejszym niż przed leczeniem. Leczenie wprowadziło nie doprowadziło do normalizacji wszystkich parametrów immunologicznych, ale zdecydowanie poprawiało odpowiedź neutrofilów na OZ i PMA, spowodowało wzrost odsetka limfocytów T CD3, powrót do zakresu wartości prawidłowych odsetka limfocytów B i limfocytów T CD3/HLA-DR+. Ponadto po leczeniu zaobserwowano znaczący spadek poziomu składowej C4 dopełniacza oraz wartości aktywności hemolitycznej dopełniacza CH50, zbliżające się do zakresu wartości prawidłowych.

Afty nawrotowe są jednostką chorobową o przewlekłym przebiegu i ciężko poddającą się leczeniu. Uzasadnieniem stosowania preparatu zawierającego olej z wątroby rekina jest stwierdzona poprawa ocenionych parametrów odpowiedzi immunologicznej oraz brak przeciwwskazań i objawów niepożądanych. Olej z wątroby rekina w leczeniu samodzielnym wydaje się być niewystarczająco skuteczny, ale z uwagi na pozytywny regulujący wpływ na układ immunologiczny, może być polecany w leczeniu skojarzonym z preparatami miejscowymi bądź innymi lekami immunomodulującymi.

WNIOSKI

1. Leczenie preparatem zawierającym olej z wątroby rekina zmniejsza częstotliwość występowania i liczbę zmian aftowych w trakcie leczenia oraz w pierwszych dwóch miesiącach po leczeniu.
2. Pod wpływem leczenia normalizacji ulega odsetek limfocytów B i limfocytów T HLA-DR+. Poziom składowej C4 oraz aktywność hemolityczna układu dopełniacza (CH50) zbliżają się do zakresu wartości prawidłowych. Wytwarzanie RFT przez neutrofile stymulowane PMA ulega normalizacji, a po stymulacji OZ wzrasta w porównaniu ze stanem przed leczeniem.
3. Olej z wątroby rekina może być polecany u pacjentów z aftami nawrotowymi jako leczenie wspomagające w skojarzeniu z leczeniem miejscowym lub innym leczeniem ogólnym.

Autorzy składają podziękowania firmie Marinex International oraz Sebastianowi Kędziarskiemu za pomoc przy realizacji pracy.

PIŚMIENNICTWO

1. Ahn Y.K., Kin J.H.: *Effects of squalene on the immune response in mice (II). Cellular and non-specific immune response and antitumor activity of squalene*. Arch. Pharmacol. Res., 1992, 15, 20.
2. Allison A.: *Squalene and squalene emulsions as adjuvants*. Methods A Comp. Methods in Enzymol., 1999, 19, 87.
3. Buno I.J. i wsp.: *Elevated levels of interferon gamma, tumor necrosis factor alpha, interleukins 2, 4, and 5, but not interleukin 10, are present in recurrent aphthous stomatitis*. Arch. Dermatol., 1998, 134, 827.
4. Calder P.: *Fat chance of immunomodulation*. Immunol. Today, 1998, 19, 244.
5. Cleland L., James M.: *Inhibition of human neutrophil LTB₄ synthesis*. Lipids, 1994, 3, 151.
6. Eisen D., Ellis C.: *Topical cyclosporin for oral mucosal disorders*. J. Am. Acad. Dermatol., 1990, 23, 1259.
7. Endres S. i wsp.: *The effect of dietary supplementation with n-3 polyunsaturated fatty acids on the synthesis of interleukin-1 and tumor necrosis factor by mononuclear cells*. N. Eng. J. Med., 1989, 32, 265.
8. Górska R.: *Badania subpopulacji limfocytów we krwi obwodowej u osób cierpiących na afty nawracające*. Czas. Stomat., 1997, 10, 652.
9. Górska R., Dwilewicz-Trojaczek J., Gliński W.: *Cymetydyna w leczeniu aft nawracających*. Czas. Stomat., 1997, L, 9, 611.
10. Gurańska N. i wsp.: *Afty nawrotowe – etiologia ze szczególnym uwzględnieniem teorii immunologicznych*. Pol. Merk. Lek., 2000, 2, 113.
11. Holbrook W., Kristmundsdottir T., Loftsson T.: *Aqueous hydrocortisone mouthwash solution: clinical evaluation*. Acta Odontol. Scand., 1998, 56, 3, 157.
12. Hutchinson V., Angenend J., Mok W.: *Chronic recurrent aphthous stomatitis: oral treatment with low-dose interferon alpha*. Mol. Biother., 1990, 2, 160.
13. Jańczuk Z. i wsp.: *Preparat Torfowy Tolpa (PTT) w leczeniu wybranych chorób jamy ustnej*. Badania kliniczne. Stomat. Wsp., 1996, 3, 4, 272.
14. Katz J., Langevitz P., Shemer J.: *Prevention of recurrent aphthous stomatitis with colchicine: An open trial*. J. Am. Acad. Dermatol., 1994, 31, 459.
15. Khandwala A., Van-Inwegen R., Alfano M.: *5% amlexanox oral paste, a new treatment for recurrent minor aphthous ulcers: I. Clinical demonstration of acceleration of healing and resolution of pain*. Oral Surg., Oral Med., Oral Pathol., Oral Radiol. Endod., 1997, 83, 2, 222.
16. Kohno Y., Egawa Y., Itoh S.: *Kinetic study of quenching reaction of singlet oxygen and scavenging reaction of free radical by squalene in n-butanol*. Biochem. Biophys. Acta Lipids and Lipid Metab., 1995, 1256, 52.
17. Landesberg R., Fallon M., Insel R.: *Alterations of T helper/inducer and suppressor/inducer cells in patients with recurrent aphthous ulcers*. Oral Surg., Oral Med., Oral Pathol., 1990, 69, 205.
18. Lewkowicz P. i wsp.: *Próba standaryzacji pomiaru chemiluminescencji krwi pełnej jako metody oceny funkcji ludzkich granulocytów w badaniach in vitro*. Diag. Lab., 1999, 35, 497.
19. Natah S. i wsp.: *Immunolocalization of tumor necrosis factor-alpha expressing cells in recurrent aphthous ulcers lesions (RAU)*. J. Oral Pathol. Med., 2000, 29: 19.
20. Pedersen A., Ryder L.P.: *γδ T-cell fraction of peripheral blood is increased in recurrent aphthous ulceration*. Clin. Immunol. Immunopathol., 1994, 72, 98.
21. Rattan J. i wsp.: *Sucralfate suspension as a treatment of recurrent aphthous stomatitis*. J. Intern. Med., 1994, 236, 341.
22. Revuz J., Guillaume J., Janier M.: *Crossover study of thalidomide vs placebo in severe recurrent aphthous stomatitis*. Arch. Dermatol., 1990, 126, 923.
23. Skotnicki A.: *Calf Thymus Extract TFX-Polfa. Kraków, Jelenia Góra 1995*.
24. Sun A., Chiang C., Chiou P.: *Immunomodulation by levamisole in patients with recurrent aphthous ulcers or oral lichen planus*. J. Oral Pathol. Med., 1994, 23, 172.
25. Taylor L.J. i wsp.: *Increased production of tumour necrosis factor by peripheral blood leukocytes in patients with recurrent oral aphthous ulceration*. J. Oral Pathol. Med., 1992, 21, 21.
26. Tchórzewski H. i wsp.: *Zapalenie. Patofizjologia i klinika*. Medpress, Warszawa 1998.
27. Ueta E., Osaki T., Yoneda K.: *A clinical trial of Azelastine recurrent aphthous ulceration, with an analysis of its actions on leukocytes*. J. Oral Pathol. Med., 1994, 23, 123.
28. Wahba-Yahav A.: *Pentoxifylline in intractable recurrent aphthous stomatitis: An open trial*. J. Am. Acad. Dermatol., 1995, 33, 680.
29. Zeman K. i wsp.: *Skład odsetkowy podstawowych subpopulacji limfocytów oraz komórek NK we krwi obwodowej populacji polskiej*. Centr. Eur. J. Immunol., 1996, 21, 107.
30. Ziemiański Ś., Budzyńska-Topolowska J.: *Współczesne poglądy na rolę fizjologiczną wielonienasyconych kwasów tłuszczowych z rodziny n-3*. Żyw. Człow. Med., 1992, 19, 71.
31. Zurier R.B.: *Fatty acids, inflammation and immune responses*. Prostaglandins Leukotrienes EFAs., 1993, 48, 57.

Otrzymano 30 stycznia 2001 r.

Adres: Zakład Chorób Błony Śluzowej Jamy Ustnej i Przyzębia IS AM, ul. Pomorska 251, 92-213 Łódź, tel. (0 42) 675-75-40