

Rūkymo poveikis neutrofilų oksidaciniam metabolizmui

Darius Zasimauskas, Gediminas Žekonis

Kauno medicinos universiteto Dantų ir žandikaulių ortopedijos klinika

Raktažodžiai: neutrofilai, rūkymas, aktyviosios deguonies formos, chemiliuminescencija, nitromėlynojo tetrazolio redukcijos testas.

Santrauka. Tabako produktų sukelti neutrofilų funkcijos pokyčiai yra labai svarbūs parodonto ir kitų su rūkymu susijusių sisteminių ligų patogenezėi. Šio darbo tikslas – įvertinti rūkymo poveikį neutrofilų oksidaciniam metabolizmui.

Tyrimo medžiaga ir metodai. Tyrimui atrinkta 17 rūkančių ir sisteminėmis ligomis nesergančių vyrų, kurie dėl įvairių odontologinių ligų kreipėsi į Kauno medicinos universiteto Konsultacinę stomatologijos polikliniką. Tiriamųjų amžius – nuo 22 iki 43 metų. Visi tiriamieji apklausti naudojant anketą, išsiaiškinti jų rūkymo įpročiai. Klinikinio tyrimo metu pagal supaprastintą burnos higienos indeksą įvertinta burnos higiena, pagal Russell parodontinį indeksą įvertinta parodonto audinių būklė, taip pat nustatytas dantų paslankumas pagal Ramfjord indeksą. Rūkymo poveikis oksidaciniam neutrofilų metabolizmui vertintas chemiliuminescencijos metodu ir nitromėlynojo tetrazolio redukcijos testu.

Rezultatai. Tyrimo duomenimis, po rūkymo ekstraląstelinis nuo liucigenino priklausomas chemiliuminescencinis atsakas buvo didesnis nei iki rūkymo, o suminis, t. y. intraląstelinis ir ekstraląstelinis, nuo luminolo priklausomas chemiliuminescencinis atsakas tiek iki rūkymo, tiek po jo išliko toks pats. Po rūkymo neutrofilai parodė reikšmingai didesnę nitromėlynojo tetrazolio redukciją nei iki rūkymo.

Išvada. Rūkymo paveikti neutrofilai išskiria aktyviuosius deguonies radikalus, kurie svarbūs parodonto ligų patogenezėi.

Įvadas

Suaugusiųjų parodontitas – tai lėtinė uždegiminė liga, kurios metu suardomi dantų palaikomieji audiniai (1). Daugelį metų liga gali progresuoti, nesukeldama žmogui didesnio diskomforto (2). Manoma, kad sergančiųjų parodontitu mikrobinė flora susijusi su dantų apnašomis ir sukelia uždegimą bei dantų audinių destruktiją (3, 4). Dažniausiai šią mikroflorą sudaro *Porphyromonas gingivalis* (5), tačiau gali būti ir anaerobinių kokių, *Bacteroides sp.*, *Fusobacterium sp.*, *Capnocytophaga sp.*, *Selenomonas sp.* ir *Treponema sp.* (2).

Tabako produktų sukelti neutrofilų funkcijos pokyčiai yra labai svarbūs parodonto ir kitų su rūkymu susijusių sisteminių ligų patogenezėi. Mokslinių tyrimų duomenimis, rūkančių žmonių neutrofilai išskiria daugiau aktyviųjų deguonies formų nei sveikų kontrolinės grupės tiriamųjų (6–9). T. E. Renkema ir kt. (10) duomenimis, oksidacija ir alfa 1-proteazės inhibitoriaus inaktyvacija rūkančiųjų plaučių skystyje dėl didelio oksidantų kiekio tiek cigarečių dūmuose, tiek neutrofiluose gali sukelti emfizemą. Ligonų, turinčių

emfizemą, neutrofilai pagamina daugiau superoksido anijono nei sveikų kontrolinės grupės tiriamųjų. Skirtumas ypač ryškus tarp rūkančių tiriamųjų.

Neutrofilų susikaupimas dantenų audiniuose gali apsaugoti organizmą nuo galimų patogenų (11). Neutrofilams sąveikaujant su bakterijomis, padidėja deguonies sunaudojimas ir išsiskiria aktyvūs deguonies radikalai, kurie padeda sunaikinti bakterijas (12, 13). Tačiau aktyvūs deguonies radikalai, esantys ekstraląstelinėje terpėje, naikina ir aplinkinius audinius (11).

Šio darbo tikslas – įvertinti rūkymo poveikį neutrofilų oksidaciniam metabolizmui.

Tiriamųjų kontingentas ir tyrimo metodai

Tyrimui atrinkti ligoniai, kurie dėl įvairių odontologinių ligų kreipėsi į Kauno medicinos universiteto Konsultacinę stomatologijos polikliniką. Atrinkta 17 vyrų. Tiriamieji buvo rūkantys ir sisteminėmis ligomis nesergantys vyrai, kurių amžius – nuo 22 iki 43 metų. Visi tiriamieji apklausti naudojant anketą ir ištirti kliniškai. Į anketą įtraukti klausimai apie rūkymą: rūkymo trukmė, per dieną surūkytų cigarečių skaičius,

rūkomų cigarečių stiprumas. Taip pat apskaičiuotas suminis rūkymo intensyvumo rodiklis (surūkytų cigarečių skaičius per dieną / $20 \times$ rūkymo trukmė (pakeitiniai metai)).

Klinikinio tyrimo metu įvertinta burnos higiena ir parodonto audinių būklė. Burnos higiena vertinta pagal supaprastintą burnos higienos indeksą (OHI-s), kuris objektyviai rodo tiriamojo burnos būklę (0 balų – puiki, 0,1–1,2 – gera, 1,3–3,0 – patenkinama, 3,1–6,0 – bloga) (14).

Parodonto audinių būklė vertinta pagal Russell parodontinį indeksą PI, taip pat nustatytas dantų paslankumas, kuris yra vienas būdingiausių parodonto audinių būklės požymių diagnozuojant pradines parodontinio audinių patologijos stadijas.

Nustatant Russell parodontinį indeksą PI, ištirtas kiekvienas dantis, įvertintas gingivito sunkumo laipsnis, parodonto kišenės ir dantų paslankumas. Dantis įvertintas balais nuo 0 (nėra ligos) iki 8 (sunki parodontologinė liga, kai nėra kramtymo funkcijos). Kiekvieno tiriamojo PI nustatytas sudėjus visų dantų įvertinimo balus ir padalijus iš dantų skaičiaus. PI nuo 0 iki 0,2 balo – sveiki parodonto audiniai, 0,3–0,9 balai – gingivitas, 1–8 balai – parodontitas (14).

Vertinant dantų paslankumą, pirmiausia dantis judintas horizontalia (prieangine-liežuvine) kryptimi, vėliau lengvai spaustas vertikalia kryptimi. Dantų paslankumas vertintas pagal Ramfjord indeksą (RI), M0 – fiziologinis paslankumas, M1 – šiek tiek padidėjęs paslankumas, M2 – didelis paslankumas, tačiau danties funkcija nepažeista, M3 – labai didelis paslankumas, dantis negali funkcionuoti (14).

Rūkymo poveikis oksidaciniam neutrofilų metabolismui vertintas chemiliuminescencijos metodu ir nitromėlynosio tetrazolio (NMT) redukcijos testu.

Chemiliuminescencijos metodas. Neutrofilų respiracinio sprogo aktyvumas matuotas chemiliuminescencijos metodu pagal L. G. Korkiną ir kt. (15). Leukocitai chemiliuminescenciniam tyrimui gauti paėmus 10 ml tiriamųjų periferinio veninio kraujo. Kraujo imta rytą, tiriamajam nevalgius, steriliu švirkštu, turinčiu heparino (20 VV/ml). Plastikiniai mėgintuvėliai buvo įstatomi 45° kampu ir laikomi vieną valandą termostate 37°C temperatūroje. Po valandos plazma su leukocitais buvo nusiurbta, atskiesta Hank's subalansuotų druskų tirpalu iki 5 ml ir išpilstyta po 2 ml į chemiliuminescencijos tyrimui naudojamus mėgintuvėlius. Du mililitrai suspensijos buvo paliekama leukocitų skaičiui ir jų sudėčiai (procentais) nustatyti.

Į vandeniniame termostate laikomus mėgintuvėlius su leukocitų suspensija buvo pridedama 0,1 ml lumi-

nolo ar liucigenino (galutinė koncentracija $50 \mu\text{M}$) ir išmatuojama neaktyvintų neutrofilinių leukocitų chemiliuminescencija, nuo kraujo paėmimo praėjus 3, 15, 30, 45, 60 min., ir rūkymu paveiktų neutrofilinių leukocitų chemiliuminescencija po rūkymo praėjus 3, 15, 30, 45, 60 min.

Leukocitai sudaro pagrindinę dalį kraujo ar leukocitų suspensijos chemiliuminescencijos, todėl chemiliuminescencijos aktyvumas tiesiogiai priklauso nuo neutrofilinių leukocitų skaičiaus leukocitų suspensijoje (16). Neutrofilinių leukocitų chemiliuminescencija apskaičiuojama iš bendrosios leukocitų chemiliuminescencijos pagal formulę:

$$I_{(NL)} = I_{(leuk)} \cdot 100 V/vcn,$$

čia: $I_{(NL)}$ – neutrofilinių leukocitų chemiliuminescencija, $I_{(leuk)}$ – leukocitų suspensijos chemiliuminescencija, V – tyrimams naudoto indelio tūris, v – suspensijos kiekis (ml), c – leukocitų kiekis, n – neutrofilinių leukocitų procentas (15).

Chemiliuminescencijos matavimas atliktas KMU Biologinės ir bioorganinės chemijos katedroje sinciliacinio β -skaitikliu (Delta 300, Model 6891, Trecor Europe BV Analytic Division).

Tyrimo metu įvertintas normalių neutrofilų oksidacinis pliūpsnis, susijęs su šviesos energijos išskyrimu (chemiliuminescencija), priklausančiu nuo pagamintų superoksido anijonų. Nuo liucigenino priklausoma neutrofilinių leukocitų chemiliuminescencija rodo ekstraląstelinį superoksido anijonų kiekį, o nuo luminolo – suminį, t. y. intraląstelinį ir ekstraląstelinį aktyviųjų deguonies formų kiekį.

Nitromėlynosio tetrazolio redukcijos testas. NMT redukcijos testas atliktas pagal H. Nagahata ir kt. metodiką (17). Rytą nevalgiusiems tiriamiesiems steriliais vienkartiniais švirkštais buvo paimama 20 ml veninio kraujo. Krešėjimo procesui stabdyti vartotas heparinas (20 VV/ml). Paimtas kraujas (9,6 ml) išpilstytas po 3,2 ml į mėgintuvėlius, kuriuose NMT koncentracija siekė $116 \mu\text{M}$. Į kontrolinį mėgintuvėlį įpilta 0,4 ml fosfatinio buferio. Po to mėgintuvėliai 20 min. inkubuoti termostate 37°C temperatūroje ir 15 min. centrifuguoti. Mėginiai spektrofotometriniais tyrimams ruošti pagal I. Talstad metodiką (18). Gauta supernatanto optinis tankumas tirtas spektrofotometru „CF-26“ esant bangos ilgiui 570 nm.

NMT redukcijos testo metu dėl neutrofilų pagamintų superoksido anijonų geltonos spalvos NMT redukuoja į tamsiai mėlyną formazaną. Pagal testo metu nustatytą redukciją buvo sprendžiama apie neutrofilų oksidacinį metabolismą (19).

Reagentai. Liucigeninas, luminolas, Dulbecco fos-

fatinis buferis ir Hank's subalansuotų druskų tirpalas įsigyti iš „Sigma Chemical Co“ kompanijos (JAV).

Statistinė analizė. Straipsnyje pateikiami kiekybinių rodiklių vidurkiai, medianos, standartiniai nuokrypiai (SN), 95 proc. pasikliautinieji intervalai (PI), minimalios ir maksimalios reikšmės. Statistinis patikimumas tarp vidurkių tikrintas taikant *t* kriterijų, duomenų skirtumas statistiškai reikšmingas, kai $p < 0,05$. Statistinė duomenų analizė atlikta „STATA 7“ programa.

Rezultatai

Tiriamųjų charakteristika pateikiama 1 lentelėje. Tiriamųjų amžiaus vidurkis – 33,06 metų. Jų OHI-s svyravo nuo 0,2 iki 2, t. y. jų burnos higiena buvo gera arba patenkinama. Gera burnos higiena (0,1–1,2 balai) rasta 70,59 proc. tiriamųjų, patenkinama (1,3–2,0 balai) – 29,41 proc. tiriamųjų. Russell parodontinis indeksas tirtiesiems svyravo nuo 0,1 iki 2. Sveiki parodonto audiniai (0–0,2 balo) nustatyti 35,29 proc., gingivitas (0,3–0,9 balai) – 41,18 proc., parodontitas (1,0–2 balai) – 23,53 proc. tiriamųjų. Fiziologinis dantų paslankumas (M0) pagal Ramfjord indeksą rastas 82,35 proc., šiek tiek padidėjęs paslankumas (M1) – 17,65 proc. tiriamųjų.

Tiriamieji surūkėdavo vidutiniškai 17,94 cigarečių per dieną. Cigarečių stiprumo vidurkis – 2,06. Rūkymo trukmės vidurkis – 14,41 metų, suminis rūkymo intensyvumo rodiklis – 13,09 pakelinių metų (2 lentelė).

Ekstraląstelinės bei suminės (intraląstelinės ir eks-

traląstelinės) chemiliuminescencijos rezultatai pateikiami 1 ir 2 paveiksluose. Ištyrus rūkymu paveiktus neutrofilus, paaiškėjo, kad ekstraląstelinis nuo liucigenino priklausomas chemiliuminescencinis atsakas buvo didesnis nei nepaveiktų, o suminis (intraląstelinis ir ekstraceliulinis) nuo luminolo priklausomas chemiliuminescencinis atsakas tiek iki rūkymo, tiek po jo išliko toks pats.

Oksidacinis neutrofilų metabolizmas įvertintas NMT redukcijos testu, kurio rezultatai pateikiami 3 paveiksle. Po rūkymo neutrofilai statistiškai reikšmingai redukavo NMT nei prieš rūkymą (atitinkamai – 54,07 ir 47,47, $p < 0,05$).

Rezultatų aptarimas

Pirminė parodonto ligų priežastis yra bakterijos, tačiau ne mažiau svarbus organizmo atsakas, kuris sąlygoja žmogaus jautrumą ligai. Mokslinių tyrimų duomenimis, rūkymas kenkia imuniniam organizmo atsakui (20). Neutrofilai yra pirmoje gynybos prieš mikrobinę infekciją grandyje, nors rūkančiųjų kraujyje randama žymiai daugiau neutrofilų periferiniame kraujyje, jų funkcijos yra pažeistos (21). Sumažėja šių ląstelių chemotaksis (22), fagocitozė (23, 24) ir adherencija (23).

Šio tyrimo duomenimis, po rūkymo matuojant nuo liucigenino priklausomą chemiliuminescenciją, pastebėtas padidėjęs ekstraląstelinio superoksido anijono išsiskyrimas. Tuo tarpu nuo luminolo priklausoma chemiliuminescencija, rodanti intraląstelinį bei ekstra-

1 lentelė. Tiriamųjų charakteristika

Rodiklis	N	Mediana	Vidurkis	SN	Min.	Maks.
Amžius	17	33	33,06	4,48	22	43
OHI-s	17	0,9	1,05	0,50	0,2	2
PI	17	0,5	0,62	0,57	0,1	2
RI	17	0	0,18	0,39	0	1

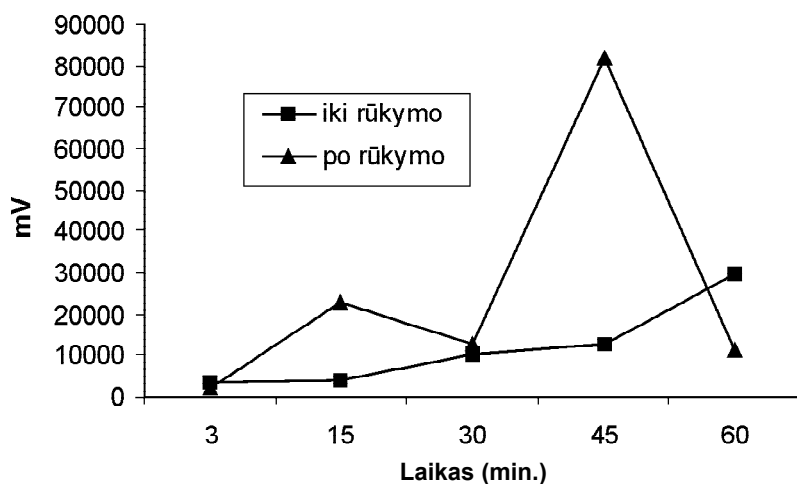
SN – standartinis nuokrypis; OHI-s – supaprastintas burnos higienos indeksas;

PI – Russell parodontinis indeksas; RI – dantų paslankumas vertintas pagal Ramfjord indeksą.

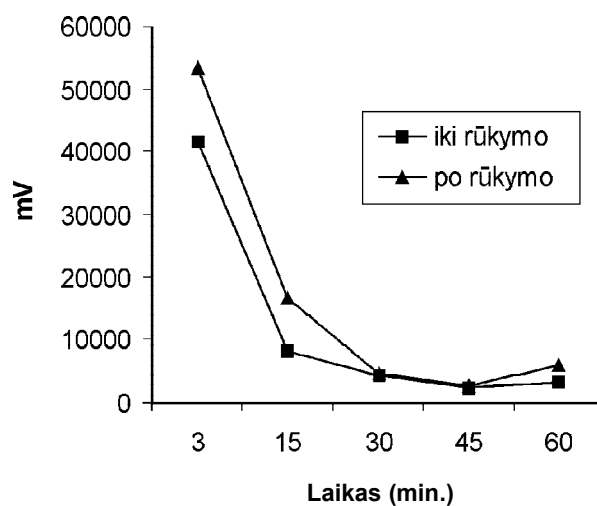
2 lentelė. Tiriamųjų rūkymo ypatybės

Rodiklis	N	Mediana	Vidurkis	SN	Min.	Maks.
Cigarečių sk/d.	17	20	17,94	3,98	10	25
Cigarečių stiprumas	17	2	2,06	0,75	1	3
Rūkymo trukmė	17	16	14,41	4,49	6	23
Pakeliniai metai	17	15	13,09	5,35	5	23

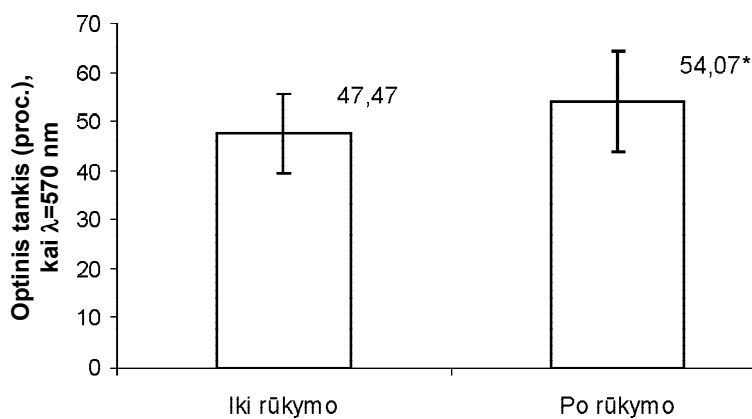
SN – standartinis nuokrypis.



1 pav. Neutrofilų ekstraląstelinis nuo liucigenino priklausomas chemiluminescencinis atsakas iki ir po rūkymo



2 pav. Neutrofilų intraląstelinis ir ekstraląstelinis nuo luminolo priklausomas chemiluminescencinis atsakas iki ir po rūkymo



3 pav. Neutrofilų sukelta nitromėlynojo tetrazolio redukcija iki ir po rūkymo

* $p < 0,05$.

ląstelinį aktyviųjų deguonies formų suminį kiekį, tiek iki rūkymo, tiek po jo nesiskyrė ir turėjo tendenciją mažėti. Neutrofilų NBT redukcija po rūkymo buvo žymiai didesnė nei iki rūkymo. Tai reiškia, kad po rūkymo neutrofilai išskyrė žymiai daugiau superoksido anijono nei iki rūkymo. M. I. Ryder ir kt. (8) tyrimų duomenimis, rūkymo paveikti nestimuliuoti neutrofilai išskiria padidėjusį aktyviųjų deguonies formų kiekį. Panašius duomenis pateikė ir kiti mokslininkai (9, 25). Tačiau J. Kalra ir kt. (6) priešingai nei mes nustatė padidėjusį nuo luminolo priklausomos chemiluminescencijos atsaką, o R. Q. Zhang (26) teigia, kad tiek nuo luminolo, tiek nuo liucigenino priklausoma

soma chemiluminescencija yra slopinama cigarečių dūmuose esančių dervų.

Nepaisant kai kurių prieštaravimų, kurie galėtų būti paaiškinti metodikų skirtumu, dauguma mokslininkų pažymi, kad rūkymas, veikdamas tiek stimuliuotus, tiek nestimuliuotus neutrofilus, sukelia oksidacinį pliūpsnį, kuris, sukeldamas tiesioginius ir netiesioginius toksinius poveikius, sustiprina audinių destruktiją (21).

Išvada

Rūkymo paveikti neutrofilai išskiria aktyviasias deguonies formas, kurios svarbios parodonto ligų patogenezėi.

Effect of smoking on neutrophil oxidative metabolism

Darius Zasimauskas, Gediminas Žekonis

Department of Prosthodontics, Kaunas University of Medicine, Lithuania

Key words: neutrophils; smoking; reactive oxygen species; chemiluminescence; nitroblue tetrazolium reduction test.

Summary. Alterations in neutrophil function by tobacco products may play a central role in the pathogenesis of periodontal diseases and several smoking-related systemic diseases. *The aim of the study* was to evaluate the effect of smoking on neutrophil oxidative metabolism.

Materials and methods. The study included 17 smoking men free of systemic diseases who were referred for treatment of various odontological diseases to outpatient department of Kaunas University of Medicine Hospital. The age of subjects varied from 22 to 43 years. All subjects answered the questions about smoking habits. Clinical examination included assessment of oral hygiene status according to the OHI-s index and periodontal status according to Russell and Ramfjord indices. To evaluate the oxidative metabolism of neutrophils, luminol- and liucigenin-dependent chemiluminescence and nitroblue tetrazolium test were used.

Results. After smoking, extracellular liucigenin-dependent chemiluminescence response was higher as compared to the response before smoking, but total (intra- and extracellular) luminol-dependent chemiluminescence response was the same both before and after smoking. Exposure of neutrophils to smoking caused a significant increase in nitroblue tetrazolium reduction.

Conclusion. The release of reactive oxygen species in neutrophils exposed to smoking may alter the pathogenic processes in periodontal diseases.

Correspondence to G. Žekonis, Department of Prosthodontics, Kaunas University of Medicine, Sukilėlių 51, 50106 Kaunas, Lithuania. E-mail: gediminas.zekonis@gmail.com

Literatūra

1. Robert FA, Hockett RD, Bucy RP, Michalec SM. Quantitative assessment of inflammatory cytokine gene expression in chronic adult periodontitis. *Oral Microbiol Immunol* 1997;12: 336-44.
2. Heimdahl A, Nord CE. Treatment of orofacial infections of odontogenic origin. *Scand J Infection Dis Suppl* 1985;46:101-5.
3. Tuttle RS, Mangan DF. Interaction of *Fusobacterium nucleatum* 191 with human peripheral blood lymphocytes. *J Periodont Res* 1990;25:364-71.
4. Edlund C, Hedberg M, Nord CE. Antimicrobial treatment of periodontal diseases disturbs the human ecology: a review. *J Chemotherapy* 1996;5:331-41.
5. Fenesy KE. Periodontal disease: an overview for physicians. A review. *Mount Sinai J Med* 1998;65:362-9.
6. Kalra J, Chaudhary AK, Prasad K. Increased production of oxygen free radicals in cigarette smokers. *Int J Exp Pathol* 1991;72(1):1-7.
7. Ludwig PW, Hoidal JR. Alterations in leukocyte oxidative metabolism in cigarette smokers. *Am Rev Respir Dis* 1982; 126(6):977-80.
8. Ryder MI, Fujitaki R, Johnson G, Hyan W. Alterations of neutrophil oxidative burst by *in vitro* smoke exposure: impli-

- cations for oral and systemic diseases. *Ann Periodontol* 1998; 3(1):76-87.
9. Sharma RN, Deva C, Behera D, Khanduja KL. Reactive oxygen species formation in peripheral blood neutrophils in different types of smokers. *Indian J Med Res* 1997;106:475-80.
 10. Renkema TE, Postma DS, Noordhoek JA, Sluiter HJ, Kaufman HF. Influence of *in vivo* prednisolone on increased *in vitro* O₂⁻ generation by neutrophils in emphysema. *Eur Resp J* 1993;6:90-5.
 11. Passo SA, Syed SA, Silva J. Neutrophil chemiluminescence in response to *Fusobacterium nucleatum*. *J Periodont Res* 1982;17:604-13.
 12. Serrander L, Fallman M, Stendahl O. Activation of phospholipase D is an early event integrin-mediated signalling leading to phagocytosis in human neutrophils. *Inflammation* 1996;20: 439-50.
 13. Žekonis G, Ivanauskienė I. Parodontito ir opsonizuoto zimosano įtaka kraujo neutrofilinių leukocitų chemiluminescencijai. (Influence of parodontitis and opsonized zymosan upon chemiluminescence of blood neutrophils.) *Medicina (Kaunas)* 2002;38(9):896-900.
 14. Pūrienė A, Matulienė G, Ivanauskaitė D. Periodonto ligos: periodontologinis tyrimas, diagnozė, gydymo planavimas ir prognozė. Vilnius: Etnomedijos spauda; 2000. p. 45.
 15. Korkina LG, Samochatova EV, Maschan AA. Release of active oxygen radicals by leukocytes of Fanconi anemia patients. *J Leukoc Biol* 1992;52:357-62.
 16. Lindena J, Burkhardt M. Separation and chemiluminescence of human, canine and rat polymorphonuclear cells. *J Immunol Methods* 1988;115(1):141-7.
 17. Nagahata H, Sako T, Reiter JA. Neutrophil adherence, phagocytic-nitroblue tetrazolium reduction and chemiluminescence in canine whole blood. *Ver Res Commun* 1991;15(3):181-8.
 18. Talstad I, Dalen H, Lehmann V. Degranulation and enzyme release during phagocytosis of inert particles and of bacteria by polymorphonuclear neutrophil granulocytes. *Acta Pathol Microbiol Immunol Scand* 1983;76:301.
 19. Herting E, Jarstrand C, Rassool O. Effect of surfactant on nitroblue tetrazolium reduction of polymorphonuclear leucocytes stimulated with type Ia group B streptococci. *Acta Pediatr* 1995;84:922-6.
 20. Barbour SE, Nakashima K, Zhang JB, Tangada S, Hahn CL, Schenkein HA, et al. Tobacco and smoking: environmental factors that modify the host response (immune system) and have an impact on periodontal health. *Crit Rev Oral Biol Med* 1997;8(4):437-60.
 21. Johnson GK, Slach NA. Impact of tobacco use on periodontal status. *J Dent Education*. 2001;65(4):313-21.
 22. Kraal JH, Kenney EB. The response of polymorphonuclear leucocytes to chemotactic stimulation for smokers and non-smokers. *J Periodontol Res* 1979;14:383-9.
 23. MacFarlane GD, Herzberg MC, Wolff LF, Hardie NA. Refractory periodontitis associated with abnormal polymorphonuclear leucocyte phagocytosis and cigarette smoking. *J Periodontol* 1992;63:908-13.
 24. Kenney EB, Kraal JH, Saxe R, Jones J. The effect of cigarette smoke on human oral polymorphonuclear leucocytes. *J Periodontol Res* 1977;12:227-34.
 25. Hoidal JR, Fox RB, LeMarbe PA, Perri R, Repine JE. Altered oxidative metabolic responses *in vitro* of alveolar macrophages from asymptomatic cigarette smokers. *Am Rev Respir Dis* 1981;123(1):85-9.
 26. Zhang RQ. Effect of cigarette-smoke tar on oxygenation activity of granulocytes detected by luminol- and lucigenin-enhanced chemiluminescence response of rabbit whole blood. *Zhongguo Yi Xue Ke Xue Yuan Xue Bao* 1989;11(1):25-9.

Straipsnis gautas 2005 09 08, priimtas 2007 11 26

Received 8 September 2005, accepted 26 November 2007