

Parodontito ir opsonizuoto zimozano įtaka kraujo neutrofilinių leukocitų chemoluminescencijai

Gediminas Žekonis, Eglė Ivanauskienė

Kauno medicinos universiteto Ortopedinės stomatologijos klinika

Raktažodžiai: parodontitas, neutrofilai, chemoluminescencija.

Santrauka. Šio darbo tikslas – ištirti sergančiųjų parodontitu neutrofilinių leukocitų, stimuliuotų opsonizuotu zimozanu, oksidacinę funkciją nuo liuminolio ir liucigenino priklausomos chemoluminescencijos metodu. Ištirti 16-kos sergančiųjų parodontitu ir 10-ties kontrolinės grupės asmenų periferinio veninio kraujo neutrofiliniai leukocitai.

Opsonizuotu zimozanu stimuliuotų sergančiųjų parodontitu ir kontrolinės grupės asmenų neutrofilinių leukocitų nuo liuminolio priklausoma chemoluminescencijos tarpusavyje iš esmės ($p > 0,05$) nesiskyrė (atitinkamai sudarė 66849 ± 6372 ir 61243 ± 5240 imp/min.). O sergančiųjų parodontitu nuo liucigenino priklausoma chemoluminescencija (1361 ± 169 imp/min.), veikiant opsonizuotam zimozanui, buvo iš esmės ($p \leq 0,001$) didesnė negu analogiška kontrolinės grupės asmenų (492 ± 56 imp/min.).

Būtina pažymėti, kad sergančiųjų parodontitu nestimuliuotų neutrofilinių leukocitų nuo liuminolio ir nuo liucigenino priklausoma chemoluminescencija (atitinkamai – 381 ± 63 ir 389 ± 52 imp/min.) buvo iš esmės ($p \leq 0,001$) didesnė už analogišką kontrolinės grupės asmenų (atitinkamai – 134 ± 22 ir 138 ± 16 imp/min.).

Gauti tyrimų duomenys rodo, kad padidėjusi sergančiųjų parodontitu neutrofilinių leukocitų oksidacinė funkcija gali turėti įtakos priedančio audiniams.

Įvadas

Pastaraisiais metais pasaulinėje medicinos literatūroje imta plačiau nagrinėti priedančio audinių uždegimines ligas. Šios temos aktualumą pirmiausia lemia didelis minėtųjų ligų paplitimas pasaulyje. Vien parodontitu serga iki 15 proc. visų pasaulio gyventojų (1). Net ir tokioje ekonomiškai išsivysčiusioje šalyje kaip JAV gingivitu ir parodontitu serga 116 mln. gyventojų, o labai sunkia šių ligų forma – 28 mln. (2). Plačiausiai priedančio ligos paplitusios trečiojo pasaulio šalyse (3, 4). Taigi gana jauno amžiaus žmonėms prasideda žandikaulių alveolinės ataugos kaulo tirpimas, kuris sumažina dantų atsparumą kramtymo jėgai. Priedančio ligos ir ėduonis yra pagrindinės dantų netekimo priežastys. Vyresniems kaip 40 metų žmonėms daugiau dantų pašalinama dėl priedančio ligų negu dėl ėduonies (5, 6).

Pastaraisiais dešimtmečiais buvo nustatyti atskiri veiksniai, turintys įtakos gingivitui ir parodontitui atsirasti (7). Apibendrinamas pastarųjų metų tyrimus, R.C. Williams (8) pateikė šiuolaikinį priedančio audinių uždegiminių ligų modelį, kur makroorganizmo imuniniam uždegiminiui atsakui į dantų apnašų mik-

robų skiriamas didžiausias dėmesys.

Priedančio audinių apsauginę funkciją vykdo neutrofiliniai leukocitai (NL). Jie turi gausybę įvairių medžiagų, reikalingų patogeniniams mikroorganizmams sunaikinti. Sumažėjus NL kiekiui ar (ir) sutrikus jų funkcijai, pasireiškia priedančio audinių ligos. Makroorganizmo apsauginę funkciją NL atlieka per daugelį nuoseklių etapų. Vienas iš galutinių etapų yra mikroorganizmų fagocitozė ir jų sunaikinimas fagolizosomoje (9). Be fagocitozės mikrobų, virusais infekuotas ląstelių bei vėžines ląsteles NL gali sunaikinti išskirdami savo lizosominių granuliu turinį į ekstraląstelinę aplinką (10). Įrodyta, kad iš sveikų priedančio audinių išsiskyrę NL spontaniškai išskiria tam tikrą kiekį aktyviojo deguonies radikalų (11).

Aktyviojo deguonies radikalai, pasigaminantys NL respiratorinio sprogo metu (superoksido anijonas (O_2^-), vandenilio peroksidas (H_2O_2), hidroksilo radikalas ($\cdot OH$) ir singletinis deguonis (1O_2)) (12, 13) sudaro veiksmingą baktericidinę NL sistemą. Respiratorinio sprogo intensyvumas priklauso nuo NL stimulatoriaus rūšies ir koncentracijos (14). Aktyviojo deguonies radikalai, būdami stiprūs oksidatoriai, ne

tik efektyviai naikina bakterijas (15), bet gali pažeisti ir makroorganizmo audinius (16).

Šio darbo tikslas – ištirti sergančiųjų parodontitu ir sveikų asmenų periferinio veninio kraujo NL aktyviojo deguonies radikalų generaciją nuo liuminolo ir liucigenino priklausomos chemoluminescencijos (CL) metodu stimuliuojant leukocitus opsonizuotu zimozanu.

Tirtųjų kontingentas ir tyrimo metodai

Chemoluminescencijos tyrimui NL buvo gauta iš sergančiųjų parodontitu (16) ir kontrolinės grupės asmenų (10) periferinio veninio kraujo. Tiriamųjų asmenų amžius buvo nuo 18 iki 50 metų. Tiriamųjų grupių asmenys pagal amžių ir lytį iš esmės nesiskyrė nuo kontrolinės grupės asmenų ($p > 0,05$).

Nuo liuminolo ir liucigenino priklausoma CL buvo matuojama L. G. Korkina ir kt. metodu (16). Matavimai atlikti Kauno medicinos universiteto Biochemijos katedroje esančiu scintiliaciniu β -skaitikliu.

Liumonolo, liucigenino, zimozano bei Hanks subalansuotų druskų tirpalo (pH 7,3) įsigyta iš „Sigma Chemical Co“ (JAV).

Zimozanas buvo opsonizuojamas R. Zeiger ir kt. metodu (17).

Leukocitų mėginių paruošimas. Chemoluminescencijos tyrimui leukocitų buvo gauta iš sergančiųjų parodontitu ir kontrolinės grupės asmenų periferinio veninio kraujo. Veninio kraujo (10 ml) buvo imama steriliu švirkštu, turinčiu heparino (20 vv/ml), iš ryto, tiriamajam nevalgius. Plastikiniai mėgintuvėliai su krauju buvo statomi 45° kampu ir laikomi 1 val. termostate 37°C temperatūroje. Po to plazma su leukocitais buvo nusiurbama ir atskiedžiama Hanks subalansuotų druskų tirpalu iki 5 ml. Tada į chemoluminescencijos tyrimui naudojamus mėgintuvėlius buvo išpilstoma po 1 ml ląstelių suspensijos. 1 ml šios suspensijos buvo paliekamas leukocitų skaičiui ir procentinei jų sudėčiai nustatyti.

Chemoluminescencijos matavimas. Į mėgintuvėlius su leukocitų suspensija, laikomus vandeniniame termostate (37°C temperatūroje), buvo pridedama 0,1 ml liuminolo arba liucigenino (galutinė koncentracija 50 mM) ir išmatuojamas nestimuliuotų NL chemoluminescencijos lygis. Po penkių minučių į mėgintuvėlius buvo pridedama 0,1 ml opsonizuoto zimozano (galutinė koncentracija 2,5 mg/ml).

Leukocitai sudaro pagrindinę dalį bendrojo kraujo arba leukocitų suspensijos chemoluminescencijos (18). Todėl stimuliuotos ar nestimuliuotos CL intensyvumas tiesiogiai priklauso nuo NL skaičiaus leukocitų suspensijoje. NL sukeltos CL intensyvumas gali būti

apskaičiuotas pagal formulę iš bendrosios leukocitų chemoluminescencijos (16):

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

kur: $I_{(NL)}$ – 1×10^9 NL chemoluminescencija (imp/min.), $I_{(leuk)}$ – leukocitų suspensijos chemoluminescencija, v – suspensijos kiekis (ml), c – leukocitų kiekis, n – NL procentas, V – tyrimams naudojamo indelio tūris (ml).

Rezultatai

Sergančiųjų parodontitu ir asmenų, kurių priedančio audiniai buvo sveiki, periferinio veninio kraujo NL nuo liuminolo ir liucigenino priklausomos CL veikiant opsonizuotam zimozanui, tyrimų duomenys pateikiami lentelėje. Lentelės duomenimis, sergančiųjų parodontitu periferinio veninio kraujo nestimuliuotų 1×10^9 NL nuo liuminolo priklausoma CL siekė 381 ± 63 imp/min. ir statistiškai reikšmingai ($p \leq 0,001$) buvo didesnė už analogišką kontrolinės grupės asmenų (134 ± 22 imp/min.). Nuo liucigenino priklausoma CL (389 ± 52 imp/min.) taip pat iš esmės ($p \leq 0,001$) buvo didesnė už analogišką kontrolinės grupės asmenų (138 ± 16 imp/min.).

Lentelėje pateiktais duomenimis, sergančiųjų parodontitu periferinio veninio kraujo 1×10^9 NL nuo liuminolo priklausomos CL maksimali reikšmė, veikiant opsonizuotam zimozanui, sudarė 66849 ± 6372 imp/min. ir iš esmės nesiskyrė ($p > 0,05$) nuo analogiškos kontrolinės grupės asmenų, kuri buvo lygi 61243 ± 5240 imp/min.

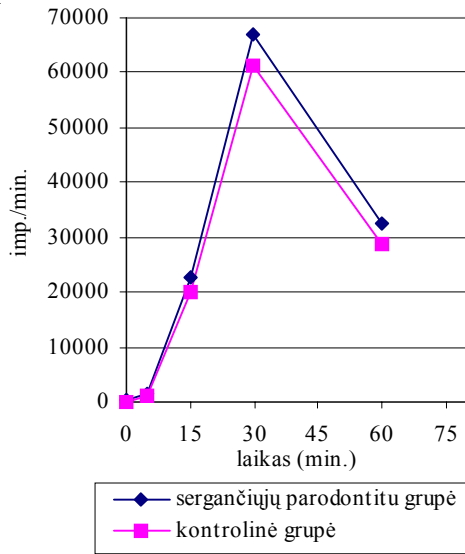
Sergančiųjų parodontitu periferinio veninio kraujo 1×10^9 NL nuo liucigenino priklausoma CL, veikiant opsonizuotam zimozanui, sudarė 1361 ± 169 imp/min. ir iš esmės skyrėsi ($p \leq 0,001$) nuo analogiškos kontrolinės grupės asmenų CL, kuri buvo lygi 492 ± 56 imp/min.

Reikėtų pažymėti, kad sergančiųjų parodontitu periferinio veninio kraujo NL nuo liucigenino priklausomos CL, veikiant opsonizuotam zimozanui, santykis su priklausoma nuo liuminolo minėtųjų ląstelių CL dėl opsonizuoto zimozano poveikio buvo lygus 0,02, o kontrolinės grupės asmenų – 0,01, t. y. sergančiųjų parodontitu minėtasis santykis buvo du kartus didesnis už kontrolinės grupės asmenų analogišką santykį.

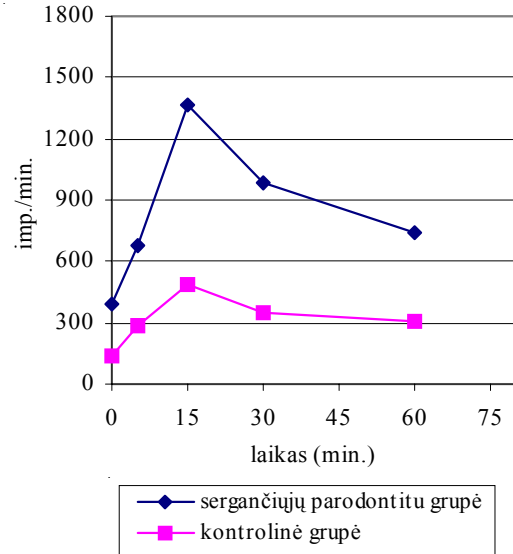
Sergančiųjų parodontitu, kaip ir kontrolinės grupės asmenų, periferinio veninio kraujo NL nuo liuminolo priklausoma CL dėl opsonizuoto zimozano poveikio maksimumą pasiekia praėjus 30 min. po stimuliavimo (1 pav.), o nuo liucigenino priklausoma CL – praėjus 15 min. (2 pav).

Rezultatų aptarimas

NL yra pirmosios ląstelės, kurios migruoja į audinius



1 pav. Nuo liuminolo priklausomos CL dinamika dėl opsonizuoto zimozano poveikio



2 pav. Nuo liucigenino priklausomos CL dinamika dėl opsonizuoto zimozano poveikio

kaip makroorganizmo atsakas į ten patekusius patogeninius mikroorganizmus (19). Šioms ląstelėms migruojant į uždegimo vietą, pakinta jų aktyvumas. Pastarasis yra svarbus organizmo nespecifinės imuninės sistemos funkcijos, kuri veikia prieš mikrobu invaziją, veiksnys, kartu galintis pažeisti ir makroorganizmo audinius (20, 21).

Lentelės duomenimis, sergančiųjų parodontitu nestimuluoti NL generavo iš esmės daugiau aktyviųjų deguonies radikalų negu kontrolinės grupės asmenų analogiški leukocitai. Tai galima būtų paaiškinti sergančiųjų parodontitu asmenų didesniu NL aktyvumu (22, 23). Tačiau reiktų pažymėti, kad NL aktyvumo padidėjimui įtakos gali turėti toksinai, išsiskyrę iš mikroorganizmų, esančių priedančio audinių aplinkoje.

Lyginant sergančiųjų parodontitu ir kontrolinės

grupės asmenų nuo liuminolo priklausomą periferinio veninio kraujo NL chemoluminescenciją (1 pav.) dėl opsonizuoto zimozano poveikio, nerasta esminių skirtumų ($p > 0,05$). Taigi gauti tyrimų duomenys patvirtina P. Mouynet ir kt. duomenis, rodančius, kad sergančiųjų gingivitu, jaunatviniu ir suaugusiųjų parodontitu, taip pat asmenų, kurių priedančio audiniai sveiki, periferinio veninio kraujo NL nuo liuminolo priklausoma CL iš esmės nesiskiria (24). Tačiau mūsų tyrimo duomenys nesutampa su kai kurių autorių (22, 25–28) duomenimis, kurie rodo padidėjusią sergančiųjų parodontitu periferinio veninio kraujo NL nuo liuminolo priklausoma CL. G. J. Whyte ir kt. nurodo, kad sergančiųjų parodontitu minėtųjų ląstelių nuo liuminolo priklausoma CL yra tik nežymiai padidėjusi (29). Tokius skirtingus duomenis minėtieji autoriai

Lentelė. Tiriamųjų grupių asmenų periferinio veninio kraujo NL nuo liuminolo ir liucigenino priklausoma CL dėl opsonizuoto zimozano poveikio

Grupės	n	1×10^9 NL CL (imp./min.)				CL liucig./ CL liumin. (po stimuliavimo)
		nuo liuminolo priklausoma CL		nuo liucigenino priklausoma CL		
		prieš stimuliavimą	po stimuliavimo (maks.)	prieš stimuliavimą	po stimuliavimo (maks.)	
Sergančiųjų parodontitu	16	381±63	66849±6372	389±52	1361±169	0,02
Kontrolinė	10	134±22	61243±5240	138±16	492±56	0,01
p		≤0,001	>0,05	≤0,001	≤0,001	

galėjo gauti, panaudoję skirtingus NL stimulatorius: A. Gustafsson ir B. Åsman (25) vartojo opsonizuotą gamaglobulinu *S. aureus*, M. Fredrikson ir kt. (22) – LPS ir opsonizuotas bakterijas. Kiti autoriai vartojo opsonizuotą zimosaną.

Pažymėtina, kad sergančiųjų parodontitu periferinio veninio kraujo NL nuo liucigenino priklausoma CL, veikiant opsonizuotam zimosanui (1 pav.), iš esmės skyrėsi ($p \leq 0,001$) nuo analogiškos kontrolinės grupės asmenų.

Medicinos literatūroje nepavyko rasti duomenų apie sergančiųjų parodontitu periferinio veninio kraujo NL nuo liucigenino priklausomą CL.

Žinoma, kad nuo liucigenino priklausoma NL chemoluminescencija rodo šių ląstelių gaminamą superoksido anijoną, kuris dėl Haber-Weiss reakcijos virsta kitu labai aktyviu laisvuju deguonies radikalu – hidroksilo radikalu (30).

Į fagosomą arba į ekstraląstelinę aplinką NL išskiriami laisvieji deguonies radikalai pakeičia mikroorganizmų membranos struktūrą ir destrukūrizuoja pagrindinius intraląstelinius mikroorganizmo komponentus, atlikdami antimikrobinę funkciją (13). Patologinių būsenų metu laisvieji deguonies radikalai pažeidžia ir organizmo audinius.

Manoma, kad daugiau informacijos apie aktyviojo deguonies radikalų žalojančią poveikį audiniams suteikia ne tiek tarp tiriamųjų grupių nustatyti NL

chemoluminescencijos intensyvumo skirtumai, kiek nuo liucigenino ir nuo liuminolo priklausomos CL intensyvumo santykis, t. y. kuo didesnė NL chemoluminescencijos dalis tenka nuo liucigenino priklausomai CL, tuo didesnė tikimybė, kad NL turės audinius pažeidžiantį poveikį (16).

Mūsų tyrimų duomenys rodo, kad sergančiųjų parodontitu CL liucigenino ir CL liuminolio santykis buvo lygus 0,02, o kontrolinės grupės asmenų analogiškas santykis – 0,008. Galima teigti, kad sergančiųjų parodontitu, veikiant NL opsonizuotam zimosanui, jie išskiria didesnę kiekį labai aktyvių deguonies radikalų.

Išvados

1. Sergančiųjų parodontitu nestimuliuoti periferinio veninio kraujo neutrofiliniai leukocitai generuoja iš esmės daugiau tiek visų laisviojo deguonies radikalų, tiek superoksido anijonų negu asmenų, kurių priedančio audiniai sveiki, analogiški leukocitai.

2. Opsonizuotas zimosanas sustiprina periferinio veninio kraujo neutrofilinių leukocitų aktyviojo deguonies radikalų generaciją ir asmenims, kurių priedančio audiniai sveiki, ir sergantiems parodontitu.

3. Sergančiųjų parodontitu periferinio veninio kraujo neutrofiliniai leukocitai, stimuliuoti opsonizuotu zimosanu, generuoja iš esmės daugiau superoksido anijonų negu asmenų, kurių priedančio audiniai sveiki, analogiški leukocitai.

Influence of parodontitis and opsonized zymosan upon chemiluminescence of blood neutrophils

Gediminas Žekonis, Eglė Ivanauskienė

Clinic of Prosthetic Dentistry, Kaunas University of Medicine, Lithuania

Key words: parodontitis, neutrophils, chemiluminescence.

Summary. The objective of the present investigation was to explore oxidative function of parodontitis patient's blood neutrophils stimulated with opsonized zymosan by method of luminol- and lucigenin-dependent chemiluminescence. The leukocytes for this study were obtained from peripheral venous blood of 16 parodontitis patients and 10 healthy subjects.

The luminol-dependent chemiluminescence of stimulated neutrophils of parodontitis patients did not differ ($p > 0.05$) from control subjects (66849 ± 6372 cpm and 61243 ± 5240 cpm, respectively). Lucigenin-dependent chemiluminescence of stimulated neutrophils of parodontitis patients was increased ($p \leq 0.001$) comparing with control subjects (1361 ± 169 cpm and 492 ± 56 cpm respectively).

The luminol- and lucigenin-dependent chemiluminescence (381 ± 63 cpm, and 389 ± 52 cpm, respectively) of nonstimulated neutrophils of parodontitis patients was significantly higher ($p \leq 0.001$) than analogous CL (134 ± 22 cpm and 138 ± 16 cpm respectively) of control subjects.

The results indicate that increased oxidative function of neutrophils of parodontitis patients possibly can affect parodontal health.

Correspondence to G. Žekonis, Clinic of Prosthetic Dentistry, Kaunas University of Medicine, Sukilėlių 51, 3000 Kaunas, Lithuania. E-mail: zekonis@hotmail.com

Literatūra

1. Kinane DF. The immune system in periodontitis. *J Clin Periodontol* 2000;27(1):11.
2. Douglas CW, Fox CH. Determining the value of a Periodontal Diagnostic Test. *J Periodontol* 1991;62(12):721-30.
3. Lopez NJ, Rios V, Fernandez O. Periodontal conditions in 15-19 year old Chileans. *Int Dent J* 1996;46(3):161-4.
4. Tinoco EM, Beldi MI, Loureiro CA, Lana M, Campedelli F, Tinoco NM, et al. Localized juvenile periodontitis and *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in a Brazilian population. *Eur J Oral Sci* 1997;105(1):9-14.
5. Bailit HL, Braun R, Maryniuk GA, Camp P. Is periodontal disease the primary cause of tooth extraction in adults? *J Am Dent Assoc* 1987;114(1):40-5.
6. Reich E, Hiller KA. Reasons for tooth extraction in the western states of Germany. *Community Dent Oral Epidemiol* 1993;21(6):379-83.
7. Genco RJ. Current view of risk factors for periodontal diseases. *J Periodontol* 1996;67(10):1041-9.
8. Williams RC. Periodontal disease: the emergence of a new paradigm: A supplement to compendium of continuing education in dentistry. *Periodontal Aspects of Systemic Health* 1998;19(1):4-10.
9. Taillander G, Benque EP, Gineste M. Les polynucléaires neutrophiles et les maladies parodontales. (Polynuclear neutrophils and periodontal diseases.) *J Parodontol* 1989;9(2/90):181-8.
10. Labro MT. Host defense and infection. New York etc.: Hoechst. M. Dekker; 1994. p. 68.
11. Charon JA, Joachim F, Lempereur G, Thomas T, Capron A. The activity of a chlorhexidine mouthwash in the production of free radicals. Demonstration of anti-inflammatory activity. *Inf Dent* 1987;69(21):1847-53.
12. Babior BM, Curnutte JT, Okamura N. The respiratory burst oxidase of the human neutrophil. In: B. Halliwell editor. Oxygen radicals and tissue injury. Federation Am Soc Exp Biol: Bethesda; 1988. p. 43-8.
13. Weiss SJ. Tissue destruction by neutrophils. *New Engl J Med* 1989;320(6):365-76.
14. Hansen PR. Role of neutrophils in myocardial ischemia and reperfusion. *Circulation* 1995;91(6):1872-85.
15. Myiasaki KT, Wilson ME, Genco RJ. Killing of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* by the human neutrophil myeloperoxidase-hydrogen peroxide-chloride system. *Infect Immun* 1986;53(1):161-5.
16. Korkina LG, Samochatova EV, Maschan AA, Suslova TB, Cheremisina ZP, Afanas'ev IB. Release of active oxygen radicals by leukocytes of Fanconi anemia patients. *J Leukoc Biol* 1992;52(3):357-62.
17. Zeiger RS, Twarog FJ, Colten HR. Histaminase release from human granulocytes. *Exp Med* 1976;144(4):1049-61.
18. Lindena J, Burkhardt M. Separation and chemiluminescence of human, canine and rat polymorphonuclear cells. *J Immunol Methods* 1988;115(1):141-7.
19. Biasi D, Carletto A, Dell'Agnola C, Caramaschi P, Montesanti F, Zavateri G, et al. Neutrophil migration, oxidative metabolism, and adhesion in elderly and young subjects. *Inflammation* 1999;20:673-81.
20. Follin P, Wymann MP, Dewald B, Ceska M, Dahlgren C. Human neutrophil migration into skin chambers is associated with production of NAP-1/IL8 and C5a. *Europ J Haematol* 1991;47:71-6.
21. Nurcombe HL, Bucknall RC, Edwards SW. Neutrophils isolated from the synovial fluid of patients with rheumatoid arthritis: priming and activation in vivo. *Ann Rheum Dis* 1991;50(3):147-53.
22. Fredriksson M, Gustafsson A, Åsman B, Bergström K. Hyperreactive peripheral neutrophils in adult periodontitis: generation of chemiluminescence and intracellular hydrogen peroxide after *in vitro* priming and Fc gamma R-stimulation. *J Clin Periodontol* 1998;25(5):394-8.
23. Fredriksson M, Figueredo CM, Gustafsson A, Bergström K, Åsman B. Effect of periodontitis and smoking on blood leukocytes and acute-phase proteins. *Periodontol* 1999;70:1355-60.
24. Mouynet P, Picot C, Nicolas P, Genetet B, Apiou J, Genetet N et al. *Ex vivo* studies of polymorphonuclear neutrophils from patients with early-onset periodontitis. (III). CR3 and LFA-1 expression by peripheral blood and gingival crevicular polymorphonuclear neutrophils. *J Clin Periodontol* 1995;22(2):110-7.
25. Gustafsson A, Åsman B. Increased release of free oxygen radicals from peripheral neutrophils in adult periodontitis after Fcγ-receptor stimulation. *J Clin Periodontol* 1996;23(1):38-44.
26. Leino L, Hurttia HM, Sorvajärvi K, Sewom LA. Increased respiratory burst activity in associated with normal expression of IgG-Fc receptors in peripheral neutrophils from patients with juvenile periodontitis. *J Periodont Res* 1994;29(3):179-84.
27. Shapira L, Borinski R, Sela MN, Soskolne A. Superoxide formation and chemiluminescence of peripheral polymorphonuclear leukocytes in rapidly progressive periodontitis. *J Clin Periodontol* 1991;18(1):44-8.
28. Varani J, Jones J, Dame M, Sulavik C, Gibbs DF, Johnson KJ. Effects of all-trans retinoic acid on neutrophil mediated endothelial cell injury *in vitro* and immune complex injury in rats. *Am J Pathol* 1991;139(4):901-9.
29. Whyte GJ, Seymour GJ, Cheung K, Robinson MF. Chemiluminescence of peripheral polymorphonuclear leukocytes from adult periodontitis. *J Clin Periodontol* 1989;16(2):69-74.
30. Gyllenhammar H. Lucigenin chemiluminescence in the assessment of neutrophil superoxide production. *J Immunol Methods* 1987;97(2):209-13.

Straipsnis gautas 2001 04 18, priimtas 2002 06 05
 Received 18 April 2001, accepted 5 June 2002