

А.И. ГОЖЕНКО, В.П. БАБИЙ, В.В. БАБИЕНКО

**ЭМИГРАЦИЯ ЛЕЙКОЦИТОВ
И ОБМЕН ОКСИДА АЗОТА
ПРИ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ И
ОПУХОЛЕВЫХ ПРОЦЕССАХ**

Одесса
2005

А.И. ГОЖЕНКО, В.П. БАБИЙ, В.В. БАБИЕНКО

ЭМИГРАЦИЯ ЛЕЙКОЦИТОВ И ОБМЕН ОКСИДА АЗОТА ПРИ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ И ОПУХОЛЕВЫХ ПРОЦЕССАХ

Одесса
2005

УДК: 612.112.2:612.127.4

ББК: 55.6+52.526

Авторы: А.И. Гоженко, В.П. Бабий, В.В. Бабиенко

Рецензенты: *Макулькин Р.Ф.*, д.мед.н., профессор, Заслуженный деятель науки и техники Украины;
Реутов В.П., д.мед.н., профессор РАН Института высшей нервной деятельности.

Рекомендовано к печати

Ученым советом Украинского научно-исследовательского института медицины транспорта МОЗ.

Протокол № 4 от 27.05.2005 г.

Эмиграция лейкоцитов и обмен оксида азота при воспалительных и опухолевых процессах / А.И. Гоженко, В.П. Бабий, В.В. Бабиенко. -Одесса: Черноморье, 2005. -с. 223

В монографии обобщены данные литературы и результаты собственных исследований. Изложены новые данные относительно современных представлений о физиологических механизмах и особенностях эмиграции лейкоцитов при наиболее распространенных патологических процессах таких как воспаление и опухолевый рост. Проведен анализ роли оксида азота в процессе эмиграции лейкоцитов в норме и при патологии.

Книга представляет интерес для научных работников, молодых ученых и врачей.

ББК: 55.6+52.526

ISBN 966-555-092-6

© А.И. Гоженко, В.П. Бабий,
В.В. Бабиенко, 2005

Предисловие

Конец XX века ознаменовался открытием универсальной молекулы оксида азота, которая проявила себя в качестве эндотелиального фактора релаксации, медиатора воспаления, регулятора функций митохондрий и ряда других. Имеющиеся в настоящее время многочисленные данные о роли оксида азота в физиологических реакциях и в развитии патологических процессов указывают на важность дальнейшего изучения роли этого соединения в организме человека и животного.

Несмотря на то, что в литературе широко изучены эффекты оксида азота при таких наиболее распространенных патологических процессах как воспаление и опухолевый рост, механизмы влияния оксида азота на различные этапы развития воспалительного и опухолевого процессов изучены недостаточно. Так, следует отметить, что одно из важнейших звеньев указанных процессов как эмиграция лейкоцитов, осталась без должного внимания. Между тем, известно, что именно благодаря активности лейкоцитов – мощнейшего фактора неспецифической защиты, происходит быстрая и окончательная ликвидация повреждающего агента, как при воспалении, либо же уничтожение генетически измененных клеток, возникающих при опухолевом росте.

К настоящему времени стало известно, что источником эндогенного оксида азота могут служить различные клетки организма, в том числе спонтанные и активированные лейкоциты, эндотелий, а при опухолевом росте – сами опухолевые клетки. Вместе с тем, как установлено, гиперпродукция оксида азота по принципу обратной связи способна сама себя контролировать, чтобы сохранить свое регулирующее влияние на различных этапах развития патологических процессов. В связи с этим, безусловно, представляются интересными исследования на этом фоне как

различной функциональной активности лейкоцитов, так и их эмиграционной способности.

Одним из возможных методических подходов такого исследования может быть изучение механизмов выхода лейкоцитов на слизистую оболочку ротовой полости, что в сопоставлении с уровнем нитритов – продукта окисления оксида азота, в различных биологических жидкостях (кровь, слюна), позволит определить роль NO в процессах эмиграции лейкоцитов.

М.А. Ясиновскому принадлежит приоритет в разработке методики, позволяющей количественно определять эмиграцию лейкоцитов на слизистую оболочку ротовой полости, как при общих патологических процессах, так и при местном повреждении (т.е. в ротовой полости). Учитывая данные литературы о том, что эмиграция лейкоцитов в основном определяется их функциональной активностью и состоянием эндотелия, целесообразным на наш взгляд является изучение этого явления при патологических процессах, протекающих на фоне разного количества лейкоцитов в крови и их активности, как при местном, так и системном характере развития процесса. Можно с уверенностью утверждать, что уточнение патогенетической роли оксида азота в процессах эмиграции лейкоцитов послужит основой дальнейшего совершенствования коррекции основного типового патологического процесса – воспаления

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ АСПЕКТЫ ЭМИГРАЦИИ ЛЕЙКОЦИТОВ В НОРМЕ И ПАТОЛОГИИ

1.1. Некоторые истоки изучения процесса эмиграции лейкоцитов.

Несмотря на длительную историю изучения процесса эмиграции лейкоцитов, вопрос о механизмах его развития не теряет актуальности и в настоящее время. Прежде всего это касается различных патологических процессов и заболеваний. На сегодняшний день известно, что эмиграция лейкоцитов из крови в ткани осуществляется в здоровом организме, где они содержатся в трех «отсеках»: красный костный мозг с массой лейкоцитов до 500 г, периферическая кровь с общей массой лейкоцитов около 10 г и, наконец, периферические ткани, в которых масса лейкоцитов составляет приблизительно 600 г. (Пальцын А.А., 1988).

Исследование механизмов миграции лейкоцитов уходит в глубь столетий, еще в первой половине XIX века Jones и Dawaine (1850) детально описали амебоидное движение лейкоцитов (цит. по Алмазову В.А. и др., 1979). Изучая подвижность лейкоцитов миелоидного ряда В.А. Алмазов (1961) пришел к заключению, что способность к самостоятельному движению появляется у нейтрофилов уже на стадии метамиелоцита (Алмазов В.А., Павлов Б.А., 1961). При этом по мере созревания двигательная способность нейтрофилов возрастает и наиболее выражена у зрелых сегментоядерных клеток крови. Установлено, что лимфоциты, эозинофилы и базофилы также обладают способностью к передвижению, однако полиморфноядерные лейкоциты (ПЯЛ) двигаются с большей скоростью (в среднем 20 мкм *in vitro* при $t=37^{\circ}\text{C}$) (Маянский А.Н., Галиуллин А.Н., 1984). Выход лейкоцитов из кровеносного русла в ткани – естественный этап их жизнедеятельности. Выселение лейкоцитов из сосудов

характерно для всех видов, но наиболее выражено у ПЯЛ и связано с тем, что все лейкоциты существенно уступают нейтрофилам в реакции фагоцитоза (Гаврилов О.К. и др., 1985). Установлено, что костный мозг человека с массой тела до 70 кг ежедневно выделяет в кровь 10^{11} нейтрофилов (Шиффман Ф.Д., 2000). Однако, окончательно место специфической функции и, соответственно, деструкции этого огромного количества клеток в здоровом организме пока точно не известно. Считают, что вполне вероятно нейтрофилы гибнут, обеспечивая стерильность подкожной и подслизистой тканей, прежде всего пищеварительного и дыхательного трактов (Маянский А.Н., Пикуза О.И., 1993).

Известно, что зрелые нейтрофилы существуют в двух основных состояниях – покоя и активации. Покоящиеся ПЯЛ находятся в крови, в то время как активированные – в тканях или очаге воспаления (Тугуз А.Р. и др., 2002; Васильева Г.И. и др., 2003; Пасечник А.В. и др., 2003). Кровь является лишь местом передвижения от места образования (костный мозг) к месту выполнения их специфической функции (ткани, очаг воспаления). Однако, не известно, под влиянием каких факторов активируются нейтрофилы в нормальных тканях. Предполагают, что эти факторы лишь количественно отличаются от тех, которые активируют нейтрофилы в очаге воспаления: продукты расщепления комплемента и разрушения клеток, пептиды и некоторые соединения, выделяемые бактериями. Эти вещества, по-видимому, могут появляться и в нормальных тканях, граничащих с внешней средой – коже, слизистой оболочке дыхательных и мочеполовых путей, пищеварительного тракта (Кузник Б.И. и др., 1989). Пожалуй, нет больше в организме человека патологических процессов, при которых бы так четко осуществлялась эмиграция, как при развитии и угасании воспаления. Так, исследуя развитие воспаления на языке и брыжейке лягушки и ухе кролика Ю. Конгейм пришел к утверждению, что три признака воспаления – покраснение, отек и боль – можно объяснить одним нарушением – повышением проницаемости сосудистой стенки, которое обеспечивает

пассивное выхождение в ткани форменных элементов крови и, в частности, лейкоцитов. Биомикроскопические наблюдения Конгейма дали возможность отметить краевое стояние лейкоцитов и их эмиграцию через стенку сосуда. Ученый считал, что одной из причин эмиграции является выдавливание клеток повышенным кровяным давлением, однако, это не вполне объясняло почему в процессе эмиграции участвуют только белые элементы крови. Позже В.В. Воронин (1959) объяснял усиление эмиграции лейкоцитов при воспалении продуктами альтерации и ацидозом, т.е. физико-химическими изменениями в поврежденных тканях, вследствие чего лейкоциты могут втягиваться из изоосмолярного пространства (кровь) в гиперосмолярное (очаг воспаления). При этом автор отмечал, что говорить об эмиграции лейкоцитов вообще нельзя, поскольку она представляет ряд различных процессов: эмиграция из сосудов при воспалении, эмиграция без воспаления, эмиграция на слизистые и серозные оболочки. На последних лейкоциты должны пройти не только через стенку сосуда, но и сквозь некоторый слой тканей, эпителий или мезотелий.

Среди плеяды блестящих имен, как Уоллер, Конгейм, Подвысоцкий, Богомолец, Воронин и многие другие имя И.И. Мечникова занимает почетное место. Создатель фагоцитарной теории впервые в истории объясняет устойчивость и защиту организма к болезнетворным микробам. В его опытах получено подтверждение роли фагоцитов в иммунитете.

Существенный и первичный элемент воспалительного процесса состоит, по Мечникову, в реакции фагоцитов против вредоносных элементов и защитная роль обусловлена именно фагоцитозом. Одним из начальных этапов фагоцитоза – выхода лейкоцитов из сосудов к раздражителю детально описаны Мечниковым дали бесспорные доказательства способности лейкоцитов к активному движению и наличия у них положительного и отрицательного хемотаксиса по отношению к микробам. Было обнаружено, что лейкоциты стимулируют двигательную активность по отношению к ртути, продуктам

распада тканей и даже самих лейкоцитов (Мечников И.И., 1951). И.И. Мечников (1947) отмечал, что при воспалении в тканях и гнойном экссудате больше всего обнаруживаются многоядерные лейкоциты (нейтрофилы), которые первыми начинают двигаться в зону повреждения. По мнению И.И. Мечникова эмиграция и фагоцитоз лейкоцитов в очаге повреждения являются выражением иммунобиологического состояния организма.

Однако, оставался открытым вопрос о строго определенной последовательности передвижения лейкоцитов в очаге воспаления.

Намного позже Фритце У. (1951) объяснял процесс выхода нейтрофильных гранулоцитов изменениями электрического заряда поврежденных тканей в сторону положительного (катафорез) и накоплению ионов водорода в результате чего отрицательно заряженные лейкоциты притягиваются к сосудистой стенке и проходят в зону повреждения (Серов В.В., Пауков В.П., 1995). Однако по мнению А.Д. Адо (1961), катафоретические изменения лейкоцитов не занимают существенного места в их передвижении, а ведущим механизмом направленного движения в большей мере являются хемотаксис, термотаксис и осмотаксис.

Некоторые авторы объясняли эмиграцию, привлекающим лейкоциты действием аденозинтрифосфорной и адениловой кислот, повышением концентрации свободных водородных ионов, а также отмечали важную роль ионов кальция в передвижении лейкоцитов (Ерюхин И.А. и др., 1989).

Ряд исследований указывает на возможность эмиграции лейкоцитов при воспалительных процессах, обусловленной нарушением структуры эндотелия сосудов при действии биологически активных веществ (гистамин, тромбоцитарноактивирующий фактор, C_5 -компонент комплемента, простагландин E_2) (Чернух А.М., 1979). Причем, лейкоциты контактируют только с поврежденной сосудистой стенкой и, таким образом, создаются предпосылки для эмиграции клеток. По мнению L. Majno (1969), гистамин сокращая эндогенные

клетки, расширяет межэндотелиальные соединения и этим облегчает прохождение лейкоцитов (Freeman В.А. et al., 1982). Затем были опубликованы работы, в которых рассматривался другой вид прохождения лейкоцитов – непосредственно через тело эндотелиальной клетки и, что возможно, при действии гистамина, простагландина и других медиаторов воспаления (Шубич М.Г., 1997). Однако, все выдвинутые теории не достаточно полно объясняли все детали и механизмы эмиграции лейкоцитов.

1.2. Роль молекул клеточной адгезии в процессе эмиграции лейкоцитов.

Переломный период в изучении процесса эмиграции лейкоцитов наступил в 80-х годах, когда иммуноморфологические методы исследования позволили обнаружить молекулы клеточной адгезии (МКА) и оценить их роль в процессе передвижения лейкоцитов.

Известно, что адгезия необходима для организма человека. Она обеспечивает физический контакт между клетками, поддерживая целостность тканей, миграцию лейкоцитов, взаимодействие клеток в иммунном процессе (Маянский А.Н. и др., 1983; Шубич М.Г. и др., 1997). Кроме того, было установлено, что МКА способны проводить дополнительный стимулирующий сигнал, а некоторые антитела к молекулам адгезии вместо блокирующего действия могут оказывать на клетки стимулирующее влияние (Александров А.В. и др., 1997). В частности, отмечается, что посредством клейких молекул есть возможность проведения сигнала в двух направлениях: 1) сигнал, который проводится внутрь клетки через рецептор при его взаимодействии с лигандом и вызывает, например, пролиферацию клеток и секрецию цитокинов (так называемый сигнал извне внутрь) и 2) сигнал проводится изнутри клетки, например, при ее активации фоболовыми эфирами и вызывает конформационное изменение самого адгезивного рецептора и

повышение его аффинности к лиганду (сигнал изнутри наружу). Более того, модулирующий сигнал могут получать клетки, несущие рецептор и клетки, несущие лиганд (Адоменко Г.П., 1995). Последующие исследования показали, что любое межклеточное взаимодействие является комплексным и в нем одновременно и последовательно принимают участие разные молекулы адгезии (Gearing A.J.H., Newman W., 1993; Волков В.И., Серик С.А., 2002). Например, при миграции лейкоцитов через эндотелий, которая состоит из нескольких сменяющихся фаз – касания, роллинга (качения), активации, ареста (остановки) и усиления адгезии, а также передвижения в межклеточном матриксе, последовательно участвуют разные клейкие молекулы из различных семейств интегринов, селектинов и семейства иммуноглобулинов. Данные процессы с участием МКА осуществляются путем комплементарного лиганд-рецепторного механизма. При этом роль рецептора выполняет МКА одной клетки, например лейкоцита, а роль лиганда – МКА другой клетки, например эндотелия, и эти взаимодействия подходят как ключ к замку (Hayes B. et al., 1991; McEver R. et al., 1991).

При этом, уместно отметить, что эффективная воспалительная реакция в ответ на инфицирование, а также некробиотические и злокачественные изменения тканей невозможны без локальной аккумуляции лейкоцитов (Goris R.J., 1990; Price D.T., Loscaizo J., 1999).

Многочисленными исследованиями показано, что первоначальное взаимодействие лейкоцитов с эндотелием микрососудов опосредуется адгезивными молекулами семейства селектинов, которые представляют собой лектиноподобные МКА, обладающие способностью специфического узнавания определенных углеводов. Они включают три разновидности - *L*, *P* и *E* селектины – и экспрессируются как на лейкоцитах (*L*-селектин), так и на эндотелиальных клетках (*E*- и *P*-селектины), причем связывание углеводов происходит только в

присутствии ионов Ca^{2+} (Butcher E., 1991; Haring H.P. et al., 1996; Okada Y. et al., 1996).

Как было установлено, *L*-селектин постоянно экспрессируется на поверхности нейтрофилов, макрофагов и лимфоцитов и участвует в эмиграции этих клеток как в здоровом организме, так и при воспалительных процессах. Он, в частности, обеспечивает выход из крови В-лимфоцитов в пейеровы бляшки и Т-лимфоцитов в лимфатические узлы (Butcher E., 1991). Одним из фармакологических эффектов, приводящим к ингибированию адгезии и снижению интенсивности эмиграции нейтрофилов, было применение моноклональных антител к *L*- и *P*-селектинам (Berg E.L. et al., 1995). Более того, исследования с блокадой адгезии нейтрофилов с помощью моноклональных антител (МКА) показали, что не только *L*-селектины, но и другие адгезивные молекулы вовлекаются в процесс трансмиграции нейтрофилов в очаг воспаления. При этом молекулы *L*-селектина присутствуют на поверхности нейтрофила до момента начала их эмиграции через слой эндотелия, затем они быстро (в течение 3-4 мин) слущиваются для предотвращения прикрепления нейтрофилов к эндотелиальным клеткам (Haring H.P. et al., 1996).

В серии экспериментов было показано, что активированные нейтрофилы посредством секреции растворимых молекул (среди них – лактоферрин), вызывают появление на поверхности эндотелиальных клеток *P*-селектина (Arnould T. et al., 1993). В норме *P*-селектины отсутствуют на поверхности эндотелия и находятся в специальных гранулах эндотелиальных клеток и тромбоцитов. Однако, при воздействии различных стимулов, и, в частности, воспалительных (лимфокины, тромбин, антиген), а также гуморального медиатора воспаления – брадикинина *P*-селектины появляются на поверхности эндотелия и тромбоцитов. При этом опосредуется контакт нейтрофилов и тромбоцитов с эндотелием, а тромбоциты, в свою очередь, приобретают способность активировать нейтрофилы и макрофаги (Tayeh M.A. et al., 1998; Ransohoff R.M., 1999). В то же время в эндотелиальных клетках отмечается синтез *E*-

селектина, однако эти молекулы обеспечивают связывание нейтрофилов над поверхностью эндотелия, предшествующее массовой эмиграции (Ransohoff R.M., 1999). Следовательно, их можно считать ключевым фактором защитной роли нейтрофилов в здоровом организме и при развитии воспаления. Поскольку первым секретируется *E*-селектин для нейтрофилов при стимуляции флогогенным агентом, то теперь можно объяснить, почему именно эти лейкоциты эмигрируют первыми в очаг повреждения.

Таким образом, можно заключить, что циркулирующие активированные лейкоциты способны узнавать эндотелий сосудистого русла в очаге воспаления по экспрессированным на его поверхности селектинам, вследствие чего создается механизм перекачивания (роллинга) лейкоцитов вдоль сосудистой стенки, причем происходит это исключительно с помощью селектинов, которые обеспечивают непрочный контакт эндотелия с лейкоцитами. Так, нейтропения, наблюдающаяся в первые часы после введения эндотоксина бактерии *Pseudomonas aeruginosa* (пирогенал), была объяснена повышенной экспрессией *P*- и *E*-селектинов эндотелия и *E*-селектинов лейкоцитов, ведущей к массивному роллингу и эмиграции нейтрофилов (Springer T.A., 1994). Одновременно было показано, что сульфатированные полисахариды (гепарин) ингибирует ролинг нейтрофилов, чем объясняется противовоспалительное действие гепарина (Degraha T.J., 1998).

Вслед за описанным выше роллингом более длительный контакт, т.к. краевое стояние лейкоцитов или маргинация и эмиграция лейкоцитов из сосудистого русла происходят благодаря второй группе МКА-интегринов, которые осуществляют «твердое» прикрепление лейкоцитов к эндотелию (Baggiolini M., 1998; Dabrowski A. et al., 1999). Данный процесс происходит главным образом в венах. С помощью современных методов молекулярной биологии удалось идентифицировать данные МКА, которые обладают способностью не только обеспечивать межклеточную адгезию, но и взаимодействовать с матриксом, что особенно важно в процессе эмиграции

лейкоцитов через сосудистую стенку. В частности, отмечается, что интегрины экспрессируются в основном лейкоцитами, но их источником могут быть также фибробласты и эндотелий (Traub O. et al., 1998; Chakravorty D. et al., 1999). Причем, эндотелий экспрессирует лишь некоторые виды интегринов. Установлено также, что при маргинации и диапедезе ПЯЛ основными участниками являются β_2 -интегрины миелоидных клеток (CR₃, P150, P95 и др.) и α FA-1-лимфоидных клеток (Мацнер Я., 1993; Абдулсадыров К.М. и др., 1998). Получены данные о том, что лейкоциты, выделенные из дыхательных путей при бронхиальной астме, усиленно экспрессирует интегрины β_1 и β_2 , что усиливает проникновение лейкоцитов в очаг воспаления (Adamek-Guzik T. et al., 1996). В серии экспериментов *in vitro*, было обнаружено, что интерлейкин-8 (хемоаттрактант для ПЯЛ) способен увеличивать в 10 раз количество молекул CR₃ на поверхности нейтрофилов, и, что возможно, более важно, в 200 раз повышать аффинность CR₃ к их связывающим лигандам на эндотелиальных клетках, что способствует массовой эмиграции лейкоцитов при воспалении, аллергии, раневой инфекции, отторжении трансплантата и опухолевых процессах (Baggiolini M., 1998; Ransohoff R., 1998).

Интересным представляется факт о недостаточности экспрессии интегринов, которая приводит к нарушению иммунного ответа, вызванному малым поступлением лейкоцитов в очаг воспаления. Недавно был открыт новый вид иммунодефицита – дефицит лейкоцитарной адгезии, рецессивное заболевание проявляющееся врожденным дефицитом экспрессии на лейкоцитах интегрин- β_2 , сопровождающееся резким снижением эмиграции нейтрофилов, что приводит к острым и хроническим инфекциям (Ben-Baruch A. et al., 1995).

Полученные данные о важной роли в эмиграции лейкоцитов непосредственно через эндотелий (диапедез) другой группы МКА – молекул суперсемейства иммуноглобулинов и экспрессируемые эндотелием – ICAM-1,2,3 (Intercellular adhesion

molecule-1,2,3) и VCAM (Vascular adhesion molecular) (Александров А.В. и др., 1997; Шубич М.Г. и др., 1997; Scalia R. et al., 1998; Dabrowski A. et al., 1999). Установлено, что молекула ICAM-2 экспрессируется нормальным неактивированным эндотелием в стабильных для каждой ткани количествах и определяет физиологическую эмиграцию в различных органах. В неактивированных лейкоцитах присутствует ICAM-3, позволяющая им взаимодействовать с другими клетками. Установлено также, что ICAM-1 играет значимую роль в воспалительном процессе, вызванном риновирусами (Frode-Salch T.S. et al., 1999). Как полагают авторы, экспрессия респираторным эпителием молекул ICAM-1 может быть индуцирована или модулирована при инфекции респираторно-синцитиальным вирусом. При хроническом воспалительном процессе аллергического характера (например, бронхиальная астма) также отмечают увеличение экспрессии ICAM-1 (Adamek-Guzik T. et al., 1996). Однако для адгезии лейкоцитов, в частности эозинофилов, еще требуется дополнительная стимуляция гранулярно-макрофагальным колониестимулирующим фактором. При этом ICAM-1 оказывает также выраженное влияние на продукцию эозинофилами супероксид-аниона (Рябиченко Е.В. и др., 2000). Авторы делают вывод, что при бронхиальной астме усиливается экспрессия ICAM-1 эпителиальными клетками и гладкими миоцитами дыхательных путей, а лиганд-рецепторные взаимодействия ICAM-1-интегрины β_1 и β_2 нейтрофилов и эозинофилов приводят к накоплению этих лейкоцитов в очаге воспаления которые, таким образом, играют ведущую роль в развитии аллергического процесса.

Данные других экспериментальных исследований показали, что гипоксия (95% CO₂ при норме – 2-5%), вызванная спазмом сосудов приводила к понижению базальной, но не индуцированной экспрессии ICAM-1 и VCAM-1 (Zhang R. et al., 1995; Young A. et al., 1997). При этом, постепенное увеличение содержания кислорода (21;40 и 95%) стимулировало

повышенную экспрессию данных МКА на эндотелиальных клетках в течение 16 часов после ишемии. С другой стороны, гипероксия (40 и 95% O₂) также вызывала экспрессию обоих МКА, но увеличение их уровня было значительно меньше, чем после ишемии. В первом и во втором случае отмечали интенсивную эмиграцию разных популяций лейкоцитов в зоне гипоксии, как полагают авторы, это является неблагоприятным признаком, особенно при ишемии-реперфузии.

Как мы отметили выше, экспрессия ICAM-1 на эндотелии необходима для эмиграции лейкоцитов в область воспаления. При этом, умеренная (по выраженности и продолжительности) экспрессия ICAM-1 играет положительную роль при локализации, а также ликвидации воспалительных процессов (Zhang R. et al., 1999). В то же время повышенная экспрессия ICAM-1 может приводить к усиленному разрушению тканей активированными лейкоцитами и их продуктами при ряде аллергических и хронических заболеваний, ишемии тканей, аутоиммунных процессах, отторжении трансплантата (Kachroo V.K. et al., 1993; Lerch M. et al., 1994; Springer T.A., 1994; Kurose I. et al., 1999; Ransohoff R.M., 1999). С другой стороны, сниженная экспрессия ICAM-1 может играть отрицательную роль, например, при прогрессировании опухолевого процесса приводя к супрессии и блокировке иммунных реакций, в том числе, нейтрофильного звена (Tomita Y. et al., 1991).

1.3. Роль цитокинов в механизмах эмиграции лейкоцитов.

Нельзя не отметить одну из важных групп молекул, которые регулируют функции лейкоцитов и, в частности, нейтрофильных гранулоцитов и их эмиграцию из сосудистого русла в ткани – это эндогенные клеточные медиаторы (цитокины). Они представляют собой самостоятельную систему регуляции функций организма, обеспечивающих в первую

очередь развитие защитных реакций и поддержание гомеостаза при внедрении патогенов и нарушении целостности тканей (Кисилев О.И. и др., 2003; Симбирцев А.С., 2004). Действительно, цитокины в первую очередь регулируют развитие местных защитных реакций, например, при воспалениях в тканях, с участием различных типов клеток крови, эндотелия, соединительной ткани (Жданов А.В. и др., 2003; Третьякова И.Е., Долгушин И.И., 2004). Так, например, ФНО- α в концентрации 10^{-9} Моль проявляет местное действие (активирует лейкоциты, усиливает фагоцитоз и экспрессию молекул клеточной адгезии, стимулирует синтез хемокинов и цитокинов), в концентрации 10^{-8} Моль вызывает системную воспалительную реакцию с проявлениями лихорадки, лейкоцитоза, усиления синтеза острофазных белков. При септическом шоке концентрация ФНО возрастает до 10^{-7} Моль с падением артериального давления, гипогликемией, увеличением проницаемости эндотелия и т.д. (Кусмарцев С.А. и др., 2003; Симбирцев А.С., 2004). Значимость цитокинов на различных этапах активации и вовлечения лейкоцитов в воспалительные реакции различна.

Известно, что местная деструкция тканей в результате повреждения ведет к локальному протеолизу белков и появлению пептидов, являющихся хемоаттрактантами для лейкоцитов (Rossi D. Et al., 2000). Вместе с тем, воздействие бактерий, их токсинов и формил-пептидов на клетки кожи, слизистых оболочек, соединительной ткани вызывают продукцию клетками цитокинов, стимулирующих воспалительный процесс (Feiken E. et al., 1995; Mantovani A. et al., 2001). В этом отношении, одним из наиболее важных цитокинов воспаления считают интерлейкин-8 (ИЛ-8), относящийся к α -суперсемейству хемокинов и обладающий способностью выступать в качестве хемоаттрактанта для нейтрофилов (Baggiolini M. et al., 1989). Кроме того, ИЛ-8 является быстродействующим фактором активации нейтрофилов и фактором, задерживающего нейтрофилы в кровеносных

сосудах (посткапиллярных венулах) у мест повреждения, таким образом, стимулируя эмиграцию лейкоцитов (Gross V. et al., 1992). Установлено, что продуцентами ИЛ-8 выступают активированные в результате повреждения тканевые макрофаги и фибробласты, кератиноциты эпителиальные и другие клетки соединительной ткани (Baggiolini M. et al., 1989; Choi A.M., Jacoby D.B., 1992; Gross V. et al., 1992). Вместе с тем, многочисленные данные литературы указывают на существенную роль других групп цитокинов в процессе эмиграции лейкоцитов. Так, было показано, что локальная продукция ИЛ-1, фактора некроза опухолей α (ФНО- α), гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ), гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (Г-КСФ), тромбоцитарного активированного фактора (ТАФ), перечисленными выше клетками, а также активированными эндотелиальными клетками кровеносных сосудов приводили к эмиграции нейтрофилов из кровеносного русла в поврежденные ткани (Feiken E. et al., 1995; Hubner G., 1996; Rossi D. et al., 2000). Важным является то, что данные цитокины в цельной крови не вызывают ответа нейтрофилов, но, по мнению некоторых авторов, могут выступать в качестве мощных костимуляторов после воздействия активирующих агентов (формилпептидов, бактериального липополисахарида – ЛПС, тромбина, гистамина) (Черешнев В.А., Гусев Е.Ю., 2001; Тутельян А.В., Клебанов Г.И., 2004). При этом также отмечали, что ИЛ-1 и ФНО- α индуцировали экспрессию молекул Р-селектина и α и β_1 -интегринов на поверхности лейкоцитов, а позже ICAM-1 и VCAM (Шабанов В.В., 2003). В то время как гистамин, тромбин и ЛПС – экспрессировали молекулы E-селектина (Каратаев Д.Е., 2003; Нагорнев В.А., Васканьянц А.Н., 2004). В обоих случаях зафиксировали массовую эмиграцию лейкоцитов в очаг воспаления. Представляется интересным факт о комбинированном воздействии цитокинов, когда отмечали усиление трансмиграции нейтрофилов через слой эндотелиальных клеток под воздействием ФНО- α , в то же время

супернатант ФНО- α -активированных эндотелиальных клеток, содержащий ИЛ-8, стимулировал трансмиграцию нейтрофилов в 3 раза сильнее, чем сам ФНО- α (Arnold R. et al., 1994; Hasleton P.S., Roberts T.E. et al., 1999). Было продемонстрировано непосредственное влияние цитокинов на ПЯЛ. Так, ИЛ-1, ГМ-КСФ, Г-КСФ, гамма-интерферон (γ -ИФН), но не ИЛ-8 *in vitro* удлинляли жизнь нейтрофилов в 2-3 раза и предотвращали их апоптоз и, таким образом, поддерживали жизнеспособность лейкоцитов при воспалении. При этом отмечали высокую степень экспрессии молекулы ICAM-1 на поверхности эндотелиальных клеток, которая резко повышалась в присутствии γ -ИФН, а также усиление адгезивной способности нейтрофилов в присутствии ФНО- α , ФНО- β , но более слабой адгезии в присутствии ИЛ-1 (Меньщикова Е.Б. и др., 1997; Пылеев Ф.Н. и др., 2004; Рябиченко Е.В. и др., 2004).

Показано, что в очаге повреждения (воспаления) нейтрофилы характеризуются сниженной чувствительностью к стимулирующему действию эндогенных цитокинов воспаления, однако при этом, усиливается их чувствительность к продуктам патогена за счет повышенной экспрессии Р-селектина, связывающегося с комплексом ЛПС плюс сывороточный белок, а также активность рецепторов ПЯЛ к формилпептидам (Потапнев М.П., 1995). Одновременно происходит усиление адгезивных свойств нейтрофилов, активации фагоцитоза, дегрануляции ПЯЛ и выброс в окружающую среду протеолитических ферментов, что способствует формированию аутокринного пути регуляции активности клеток (Комлев А.Д. и др., 2002; Хараева З.Ф. и др., 2003). Авторы утверждают, что на данном этапе жизнедеятельности нейтрофилов роль цитокинов приобретает двойственный характер. С одной стороны, они выступают в качестве факторов, вызывающих дальнейшую активацию (гиперактивацию) нейтрофилов, что может привести к истощению функциональных возможностей нейтрофилов. В связи с этим нейтрофилы способны терять рецепторы (связанные) к цитокинам (например ФНО- α), одни из них

уходят внутрь клетки в среднем на 70%, а некоторые слущиваются (80%) (Фрейдлин И.С., 1995). Таким образом, нейтрофилы могут регулировать уровень цитокинового действия на клетки. С другой стороны, цитокины способны поддерживать функциональную активность нейтрофилов в очаге воспаления (Недоспасов С.А. и др., 2004). Проведенные *in vitro* исследования продемонстрировали способность цитокинов влиять на функциональную активность нейтрофилов при воспалении. Так, важным доказательством стимулирующего влияния таких цитокинов как ФНО- α , ИЛ-1 β , ИЛ-6, ИЛ-12, γ -ИФН явился тот факт, что в их присутствии усиливалось противоинфекционное действие ПЯЛ прямо или опосредованно (через моноциты, лимфоциты, нелимфоидные активированные клетки) (Oppenheim J.J. et al., 1991; Health D. et al., 1993; Menegazzi R. et al., 1994; Ковальчук Л.В. и др., 1995). При этом ФНО- α преимущественно стимулировал адгезивную способность нейтрофилов и фагоцитоз опсонизированных бактерий, но слабо – O_2 -зависимый и O_2 -независимый путь киллинга, сопровождающийся дегрануляцией нейтрофилов (Ковальчук Л.В. и др., 1995). ГМ-КСФ усиливал «респираторный взрыв» в нейтрофилах и, особенно, O_2 -независимый путь киллинга микробов и дегрануляции нейтрофилов (Нестерова И.В. и др., 1999). В то же время ИЛ-1 β , γ -ИФН, ФНО- α усиливал преимущественно фагоцитоз бактерий, но не их киллинг, ИЛ-12 – наоборот. Кроме того адгезивная способность нейтрофилов усиливалась в присутствии ФНО- α и ФНО- β , но подавлялась в присутствии ИЛ-1 и ИЛ-2 (Фрейдлин и др., 1999). Исследования показали, что если нейтрофилы фагоцитировали бактерии, а затем подвергались действию ФНО- α , то не отмечалось усиления киллинга бактерий, а если нейтрофилы сначала были «праймированы» (перестимулированы) с помощью ФНО- α , а затем фагоцитированы бактериями, то наблюдалось усиление киллинга бактерий (Tsujimoto M. et al., 1998). По мнению авторов, это связано с тем, что нейтрофилы после фагоцитоза

бактерий теряют большую часть рецепторов к ФНО- α . Следует отметить, что проведенные исследования *in vitro*, не всегда отображают механизм действия *in vivo*. Однако, это представляет важный, как теоретический, так и практический интерес.

Нельзя не отметить одну из важных функций цитокинов, которая заключается в их способности вызывать экспрессию молекул клеточной адгезии для разных видов лейкоцитов (нейтрофилов, моноцитов, лимфоцитов), что является значимым для понимания патогенеза многих заболеваний и позволяет разрабатывать новые принципы и подходы к их лечению. Так, например, исследования показали, что при инфаркте миокарда состояние ишемии вызывает местное выделение первичного медиатора воспаления ИЛ-1, под действием которого запускаются процессы, ведущие к адгезии активированных нейтрофилов в очаге ишемии (Crowford M.N. et al., 1998; Волков В.И., Серик С.А., 2002). При этом на поверхности нейтрофилов повышается экспрессия β_2 -интегринов CD11/CD18, а на эндотелии коронарных сосудов – P-селектинов и клейких молекул ICAM (Malik I.S. et al., 1999). Адгезия и эмиграция лейкоцитов в свою очередь приводит к нарушению микроциркуляции и препятствует реперфузии в ишемизированной ткани, что усугубляет развитие некроза сердечной мышцы. Авторы предположили, что ограничивая действие ИЛ-1 на молекулы адгезии, следует ожидать уменьшения очага некротизации после реперфузии ишемического миокарда. В последствии действительно, отмечали усиление реперфузионного открытия капилляров, происходящее при воздействии антагониста рецептора ИЛ-1 (Blum A., Miller H., 1998), а также применении антител к интегринам CD11/CD18 и иммунонейтрализации P-селектинов, участвующих в роллинге, и к молекулам ICAM-1, обеспечивающих прилипание лейкоцитов к эндотелию (Leeuwenberg J.E.M. et al., 1992; Jang Y. et al., 1994; Malik I.S., Hascard D.C., 1999).

Исследуя ряд медикаментов, было доказано их специфическое взаимодействие на молекулы адгезии. Так, циклоспорин А подавлял экспрессию молекулы ICAM-1 эндотелия сосудов, таким же свойством обладали некоторые новые производные глюкокортикостероидных гормонов, в частности дефлазокорт (Gern J.E., Busse W.W., 1999). Антигистаминный препарат нового поколения (сетиризин) ингибировал экспрессию ICAM-1 на эндотелиальных клетках в ранней и поздней стадиях аллергической реакции, что обеспечивало их значительный лечебный эффект (Shanaha J.C. et al., 2002). В других исследованиях *in vitro* была установлена способность метилпреднизолона блокировать увеличение количества рецепторов на поверхностной мембране нейтрофилов к формилпептидам и CD11/CD18 и CD14 (Gearing A.J.H., Newman W., 1993). В то же время введение глюкокортикоидов (дексаметазон) способствовало подавлению продукции цитокинов и снижению активности лейкоцитов (Клименко М.О. та ін., 1998). Кроме того, отмечали индукцию и длительное сохранение мРНК ИЛ-1 с рецептором типа II, выступающего в качестве конкурента функционально полноценного ИЛ-1 с рецептором типа I. Показано, что *in vitro* ибупрофен подавлял хемотактическую активность нейтрофилов (и моноцитов) под действием концентраций трансформирующего ростового фактора β (ТРФ- β), сравнимых с таковыми в синовиальной жидкости при заболеваниях суставов воспалительного генеза, обусловленных аутоиммунными нарушениями (Шубич М.Г., Авдеева М.Г., 1997).

Таким образом, в свете современных представлений о молекулярных основах взаимодействия клеток в процессе эмиграции лейкоцитов и обеспечения защиты от патогенных агентов становится очевидным и понятным последовательность эмиграции лейкоцитов в зону повреждения, изменения траектории движения в сосудистом русле, повышение адгезивных свойств лейкоцитов и эндотелия, а также несостоятельность механизмов клеточной защиты,

обусловленной нарушениями образования молекулярных структур как МКА, обеспечивающих двигательную активность фагоцитирующих клеток крови. Поэтому наиболее адекватными способами поддержания механизмов неспецифической защиты в условиях повреждения являются такие средства и методы воздействия, которые будут способны ослаблять или наоборот активировать процессы эмиграции лейкоцитов.

1.4. Механизмы хемотаксиса лейкоцитов.

Согласно современным представлениям направленная миграция лейкоцитов (хемотаксис) в ткани на участки инфицирования и воспаления регулируется хемотаксическими цитокинами-хемокинами, секретируемыми различными клетками (моноцитами, макрофагами, нейтрофилами, Т-лимфоцитами, активированными эндотелиальными и мышечными клетками) в ответ на воспалительные стимулы (Gross V. et al., 1992; Menegazzi R. et al., 1994; Нестерова И.В. и др., 1999; Libby P., 2002). Причем, известно, что направленное движение клетки определяется градиентом концентрации хемоаттрактанта (Маянский А.Н. и др., 1983). На сегодняшний день, выделяют две группы хемоаттрактантов – эндогенные (производные медиаторных систем плазмы: калликреин, фрагменты системы компонента C_{3a} , C_{5a} , $C_{5,6,7}$, активатор плазминогена, фибринопептид-В; производные иммуноглобулинов IgG: коллаген, лейкоэргезин; производные клеток: цитокины – лимфокины, монокины; биологически активные вещества – простагландины, гистамин, лейкотриены) и экзогенные (продукты микроорганизмов, а также продукты разрушения белка бактерий, содержащие N-формилметионин) (Fulor M. et al., 1993; Gerard C., Gerard N.P., 1994; Panaro M.A., Mitolo V., 1999; Козлов И.Г. и др., 2002; Бережная Н.М., 2004). С момента открытия около 25 лет назад первого хемокина до настоящего времени уже выявлено 44 хемокина и 19 рецепторов

к ним, и процесс идентификации новых молекул все еще продолжается.

Хемокины – группа небольших по молекулярной массе белков от 8 до 12 кДа, регулирующих процессы активации миграции клеток в очаг воспаления. Продукция хемокинов характеризуется как индуцибельностью – хемокины вовлеченные в процессы воспаления (эотоксин, MIP-1,2, MCP, RANTES), так и конститутивно – хемокины, вовлеченные в процессы престоимости (хоуминга) – MIP3 (Bittleman D.V. et al., 1996; Ковальчук Л.В., Сайгитов Р.Т., 2000; Dantzer R., 2001). Причем, наряду с «управлением» миграции эти белки могут функционировать как ангиогенные и ангиостатические факторы (MIP-1 α , MCP-2;3 и ИЛ-8, эотаксин), а также как фактор пролиферации клеток (MIP-3, MIP-1 α , MCP-1) (Ajuebor M.N. et al., 1998; Grimm M.C. et al., 1998; Красникова Т.Л. и др., 2003). В зависимости от расположения первых двух цистеиновых остатков в N-концевом домене молекулы хемокина их разделяют на 4 семейства:

СХС – два цистеиновых остатка разделены одной аминокислотой (α -хемокины),

СС – два цистеиновых остатка находятся рядом (β -хемокины);

С – первый и третий цистеиновые остатки отсутствуют (γ -хемокины),

СХ₃С – между двумя цистеинами расположены 3 аминокислоты (δ -хемокины) (таблица).

Действие хемокинов на клетки-мишени характеризуются избирательностью. Так, СХС-хемокины, в том числе ИЛ-8 действуют на нейтрофильные гранулоциты, тогда как СС-хемокины служат хемоаттрактантами для моноцитов, С-хемокины для Т-лимфоцитов, а СХ₃С – моноцитов и Т-лимфоцитов (Grimm M.C. et al., 1998; Mach F., 1999; Matsunaga T. et al., 1999; Давтанян Т.К. и др., 2002; Нагорнев В.А., Каньянц А.И., 2004).

В настоящее время механизм распознавания хемокинов чаще всего ассоциируется с молекулярной рецепцией, которая заключается в специфическом взаимодействии рецептора плазматической мембраны лейкоцита со стимулирующими агентами (лигандами). Необходимо отметить, что именно такое связывание активирует целенаправленную миграцию клеток, а также их двигательный аппарат. Показано, что при связывании хемоаттрактантов с рецепторами происходит активация клеток, в частности нейтрофилов, которая сопровождается метаболическим взрывом (активация потребления кислорода, гликолиза) и секрецией во внеклеточную среду ферментов (Глоба А.Г. и др., 2002; Павленко В.В., Ягода А.В., 2002). Существенная (регулирующая) роль при этом принадлежит циклическим нуклеотидам; установлено, что цАМФ подавляет, а цГМФ стимулирует хемотаксис лейкоцитов (Галкин А.А. и др., 1997; Van Uffelen B.E. et al., 1998). Мембранные рецепторы относятся по своей структуре к большому классу G-белок-сопряженных рецепторов. Рецепторы хемокинов обозначают соответственно типу хемокинов. На сегодня идентифицированы 5 рецепторов – CXCR(1-5), 11 – CCR(1-11), 1 – XCR и 1-CX₃C (Libby P., 2002; Красникова Т.Л. и др., 2003).

Согласно общепринятым представлениям, основными эффекторными клетками многих инфекционных заболеваний и воспалительных процессов в периферической крови человека являются полиморфноядерные лейкоциты (Маянский А.Н. и др., 1983). Впервые, в 1987-1988 гг., как фактор активирующий нейтрофилы и вызывающий их хемотаксис, был выделен и описан хемокин – интерлейкин-8 (Катанаев В.Л., 2001). Позже, рецепторы для ИЛ-8 были обнаружены не только на нейтрофилах, но и Т-лимфоцитах, а также на трансформированных клетках миеломоноцитарного происхождения HL-60 (Dantzer R., 2001). Установлено, что ИЛ-8 способствует стимуляции как хемотаксиса лейкоцитов, так и их адгезии, а по некоторым данным усиливает дегрануляцию и экзоцитоз (Kavalchuk L.V. et al., 2000; Ordonez C.L. et al., 2000). Было отмечено, что при связывании ИЛ-8 с соответствующими

рецепторами на плазматической мембране нейтрофилов включаются противоположные пути внутриклеточной сигнализации (Bittleman D.B. et al., 1996). Так, например, связывание через рецепторы CXCR1 приводит к высвобождению Ca^{2+} из внутриклеточных депо лейкоцита, активации фосфолипазы D, в результате чего происходит дегрануляция клеток, а через рецепторы CXCR2 – усиливается мобилизация Ca^{2+} из внеклеточной среды, что приводит к повышению двигательной активности лейкоцита (Катанаев В.Л., 2001).

Интересным представляется факт регуляции активности рецепторов CXCR1 и CXCR2 гранулоцитов для их лиганда ИЛ-8. Так, выявлено, что CXCR1 медленно подвергается деградации и медленно рециклирует на мембране лейкоцита, а CXCR2 – быстро деградирует и быстро экспрессирует на мембране (Bittleman D.B. et al., 1996; Красникова Т.Л. и др., 2003). Такое влияние ИЛ-8 на работу этих типов рецепторов, как предполагают авторы, позволяет отвечать на хемокин как мгновенно – через CXCR2, так и пролонгировано – через CXCR1, что особенно важно на ранних и поздних этапах развития воспалительных процессов.

Чувствительность рецепторов к действию хемокинов может зависеть также от стадии дифференцировки клетки и ее состояния. Так, например, Т-лимфоциты экспрессируют рецепторы к хемокинам RANTES, MIP-1 α , MIP-1 β , при этом покоящиеся Т-клетки начинают мигрировать только под влиянием RANTES, а активированные лимфоциты отвечают на стимуляцию тремя выше названными хемокинами (Zhang L. et al., 1994; Bacon K.V. et al., 1995; Саидов М.З. и др., 2002).

В исследованиях с применением рекомбинантного человеческого ИЛ-8 отмечали усиление хемотаксиса нейтрофилов по градиенту концентрации ИЛ-8 и данный эффект оказался дозозависимым (Libby P., Mitchell R.N., 1997). Предварительная обработка нейтрофилов ИЛ-8 также усиливала хемотаксис, индуцированный хемотаксическим пептидом бактерий ФМЛФ (формил-L-метионин-лейцин-L-фенилаланин),

при этом максимальный стимулирующий эффект отмечен при использовании достаточно малой концентрации ИЛ-8 (100 нг/мл) (Барсуков А.А. и др., 2004). Установлено также, что ИЛ-8 способен стимулировать функциональную активность фагоцитирующих клеток *in vitro* на 50-100% и более у здоровых людей (Becker S. et al., 1991). Как полагают авторы, создание препарата на основе ИЛ-8 даст возможность с высокой степенью эффективности корректировать нарушения двигательной и функциональной активности фагоцитирующих клеток при острых и хронических воспалительных, инфекционных и вирусных процессах.

Существенное повышение эмиграции эозинофилов *in vitro* а также *in vivo*, у мышей в перитонеальную полость отмечали, используя такие хемоаттрактанты как ФМЛФ и лейкотриен В₄ в дозах 5×10^{-8} моль и 10^{-8} моль соответственно (Zanardo R.C. et al., 1997). Причем, этот процесс был связан с активацией растворимой гуанилатциклазы и синтезом цГМФ. Применение ингибитора цГМФ-дибутирола цГМФ (1мМ) приводило к подавлению не только эмиграции эозинофилов, но также и их двигательной активности. По некоторым данным уже через 1-5 мин. после начала реакции «антиген + IgE» отмечается усиленная эмиграция нейтрофилов, максимум которой достигал через 5-15 мин., и продолжается в течение нескольких часов (Raz M. et al., 1993). Необходимо отметить, что при аллергическом воспалении, в качестве хемоаттрактанта может служить гистамин, высвобождающийся из активированных тучных клеток. Показано, что действуя на Н₁-рецепторы гистамин способен усиливать хемотаксис ПЯЛ, а действуя на Н₂-рецепторы – угнетать (Johnston S.L., 1998).

Стимулируют хемотаксис, а также передвижение лейкоцитов, некоторые ЛПС микробных оболочек (Лобанов В.В., 2004). Так, полисахариды, выделенные из состава *Saccharomyces cerevisiae* привлекали нейтрофилы и макрофаги и напрямую связывали лейкоцитарный рецептор комплемента С₃, что делает их продукт зимозан, а также препараты из данных

микробов, в частности, пропермил, стимуляторами фагоцитоза и активаторами фагоцитов (Albert V.J. et al., 1999).

Пептиды некоторых микроорганизмов, содержащие аминокислоту N-формил-метионин, а также их синтетические аналоги также стимулируют хемотаксис, благодаря наличию у лейкоцитов рецептора к данной аминокислоте, что имеет место при ряде инфекционных воспалений (Johnston S.L. et al., 1996). Так, полученный из парафинов нефти микробный белок «паприн», используемый в качестве кормовой добавки для сельскохозяйственных животных при попадании через дыхательные пути в организм человека способен провоцировать аллергические реакции.

Известна существенная роль системы комплемента в явлениях хемотаксиса лейкоцитов. По данным Weiser M.R. (1996) хемотактической активностью обладают три фактора: продукты распада C_3 и C_5 и макромолекулярный комплекс C_{567} . В дальнейшем было установлено, что на нейтрофилах, эозинофилах и макрофагах присутствуют комплемент-чувствительные рецепторы для фрагментов C_{1-4} , кроме C_2 , рецепторы которого представлены на лимфоцитах (Riordan S.V. et al., 1997).

По данным некоторых авторов лизосомы лейкоцитов тоже обладают хемотактической активностью с присущим комплементу эффектом (Joiner K.A., 1988), освобождение которого усиливается цитохалазином. Был также обнаружен лизосомальный фермент, связанный с продуктами расщепления фрагмента C_5 (Riordan S.V. et al., 1997). Таким образом, сами лейкоциты также могут стимулировать хемотаксис путем активации комплемента.

Ряд исследований свидетельствует о том, что хемотактическими свойствами (по отношению к нейтрофилам, лейкоцитам и эозинофилам) обладает сыворотка крови (Антоняк Г.Л. и др., 1999; Maeda H. et al., 1999). Эти свойства зависят от двух ферментов: калликреина и активатора плазминогена. Так, показано, что при исключении из плазмы прекалликреина наблюдаются не только нарушения коагуляции

и фибринолиза, но и хемотаксиса лейкоцитов. Интересным представляется сообщение о том, что в плазме крови человека содержится фракция, ингибирующая эмиграцию нейтрофилов и моноклеарных макрофагов (Каррьева Б.Ч., 1988; Voza M. et al., 1999). Кроме того, исследованы и другие ингибиторы хемотаксиса, как например, кортикоидные гормоны (гидрокортизон, преднизолон), колхицин, цитохалазин Б (Галкин А.А. и др., 1997; Van Uffelen B.E. et al., 1998; Beer H.D. et al., 2000; Павленко В.В., Ягода А.В., 2002). При этом, было отмечено, что колхицин и цитохалазин Б в дозе 0,2 мкг/кг способны подавлять как хемотаксис, так и подвижность лейкоцитов, что связано, по мнению авторов, с нарушением функции их сократительных белков.

Установлено, что эффект многих препаратов зависит от дозы. В достаточно больших дозах большинство из них угнетает хемотаксис лейкоцитов, а в малых и умеренных, наоборот, усиливает. Например, показано, что D-пенициллин в невысоких концентрациях (менее 40 мг/л) стимулирует движение клеток а, увеличение концентрации приводит к торможению эмиграции лейкоцитов. Эффект действия колхицина зависит как от дозы, так и от функционального состояния клетки в момент действия препарата: колхицин стимулирует хемотаксис неактивных лейкоцитов, но подавляет эмиграцию активированных клеток (Каррьева Б.Ч., 1988).

Известно, что неактивные циркулирующие нейтрофилы являются шароподобными клетками диаметром около 7 мкм (Маянский А.Н., Маянский Д.Н., 1983). При стимуляции они резко изменяют свою форму в результате образования ассиметричных выростов – псевдоподий, необходимых для их миграции, что имеет место при различных видах воспаления (Бережная Н.М., 1988). Дисфункции нейтрофилов, такие как различные формы нейтропении (Копанева Т.Г., Куликова М.М., 1990), дефицит адгезии нейтрофилов (Пашенко О.Е. и др., 2002) или хронический миелолейкоз (Нуянзина В.А., Набокина С.М., 2004), при которых отмечают дефицит двигательной и функциональной активности, приводят к тяжелым формам

подверженности больных бактериальным инфекциям и наоборот, гиперактивация, усиленная и избыточная эмиграция лейкоцитов также приводит к патологии как, например, повреждение тканей при реперфузии (Ishida T. et al., 1999) и сепсисе (Marie C. et al., 2000).

Многочисленными исследованиями была показана значительная роль сократительных белков ПЯЛ в передвижении лейкоцитов, которые представлены актинмиозиновым комплексом (Albrecht-Bueeler G., 1985; Струков А.И. и др., 1990), а также внутриклеточная передача сигнала, контролирующая хемотаксис и локомоцию нейтрофилов и других клеток (Hirsch E. et al., 2000). Обнаружено, что хемоаттрактанты связываются с рецепторами расположенных на мембране ПЯЛ, имеющими семь трансмембранных спиралей. Эти рецепторы в свою очередь активируют G белки класса G_1 . В дальнейшей передаче внутриклеточного сигнала участвует фосфолипаза C_2 , фосфоинозитид 3-киназа (PI3), а также белки содержащие РН-домен и белки семейства Rho. При этом происходит фосфорилирование миозина и полимеризация актина на стороне образования псевдоподий лейкоцита (Hirsch E. et al., 2000; Хапчаев А.Ю. и др., 2004). Более того, было обнаружено, что образование псевдоподий в точности совпадает по времени с увеличением количества полимеризованного актина. С другой стороны, ингибирование полимеризации актина, делает хемотаксис невозможным (Левицкий Д.Н., 2004). Исследования *in vitro*, а также эксперименты с нейтрофилами в суспензии показали, что нейтрофилы при стимуляции каждые 8 секунд изменяют форму путем вытягивания и втягивания псевдоподий, причем каждые 45-60 секунд мигрирующий нейтрофил прерывает движение, чтобы возобновить его иногда в другом направлении (Галкин А.А. и др., 1991). Это происходило в результате реполяризации клетки, и, как полагают авторы, необходимо для выбора правильного направления движения. Таким образом, миграция нейтрофилов контролируется двумя

собственными механизмами, обеспечивающими полную реакцию клеток на стимулы.

Получены данные о том, что активация хемотаксиса и локомоции нейтрофилов происходит при стимуляции тромбоцитактивирующим фактором (Zhou W. et al., 1993). Выявлено, что механизм действия клеток опосредуется активацией тирозинкиназных рецепторов.

Отмечено, что наиболее активным из хемоаттрактантов остается трансформирующий фактор роста- β (ТФР- β), который способен активировать нейтрофилы уже в фемтомольных концентрациях (Саидов М.З. и др., 2002). При этом ТФР- β связывается с серинкиназными рецепторами, что приводит к формированию внутриклеточных белков Smads и передвижению клеток (Handerson B et al., 1996).

Установлено, что «классические» хемоаттрактанты (N-формил-пептиды бактериальных белков, фактор активации тромбоцитов, лейкотриен B_4 , фрагмент компонента C_{5a} (анафилотоксин); хемокины, синтезируемые в различных тканях (ИЛ-8, MIP-1 β , MIP) действуют на лейкоциты посредством рецепторов, называемые серпентиновые и сопряженные с G-белками (Brantzaeg P. Et al., 1989; Sandoval D. et al., 1997; Panaro M.A., Mitalo V., 1999; Ковальчук Л.В., Сайгитов Р.Т., 2000), участвующими в передаче сигнала от рецепторов внутрь на сократительный аппарат клетки (Stoyanov B. et al., 1995).

Есть данные о том, что хемотаксис ПЯЛ регулируется протеинкиназами $C\delta$ и $C\xi$. Было установлено, что протеинкиназа $C\delta$ переносится на мембрану нейтрофилов через 45 сек после стимуляции клеток N-формил-метионином, что совпадает по времени с поляризацией клетки, напротив, протеинкиназа $C\xi$ контролирует полимеризацию актина в течение 10 сек после стимуляции нейтрофилов (Kent J.D. et al., 1996). Вероятнее всего, что протеинкиназа $C\delta$ участвует непосредственно в выборе направления движения клетки. При этом, показано, что блокирование повышения внутриклеточной концентрации Ca^{2+} , не оказывает влияния на хемотаксис лейкоцитов, что, по

утверждению авторов, указывает на Ca^{2+} -независимые новые или нетипичные протеинкиназы C, регулирующие хемотаксис лейкоцитов (Mirabelli F. et al., 1989). Показано, что серпентиновые рецепторы для перечисленных выше хемоаттрактантов, активируют PI3-киназу γ , которая экспрессируется в цитозоле гематопоэтических клеток (Li Z. et al., 2000). С целью выяснения значения этого фермента в хемотаксисе и функционировании нейтрофилов были выведены мыши, лишённые гена PI3-киназы γ (Sasaki T. et al., 2000). Было установлено, что в нейтрофилах этих мышей значительно подавлялся хемотаксис на стимуляцию хемоаттрактантами, а также окислительный взрыв после добавления N-формил-пептида. Нейтрофилы полимеризовали меньше актина и слабее прилипали к фибронектину по сравнению с клетками дикого типа. И, самое важное, способность нейтрофилов и макрофагов к хемотаксису оказалась значительно снижена после удаления PI3-киназы γ , что безусловно демонстрирует ключевую роль PI3-киназы γ в способности фагоцитирующих клеток к движению.

Передача сигнала к актину при хемотаксисе ПЯЛ осуществляется Rho-белками, которые способны стабилизировать филаменты актина, вызывая фосфорилирование белка кофилина (Gordon M.I., 1994; Reif K., Cantrell D.A., 1998). Установлено, что кофилин обладает способностью ускорять пролиферацию актина на быстрорастущих филаментах псевдоподий и его деполяризацию на медленно растущих концах. Более того, было продемонстрировано, что кофилин разрывает филаменты, что приводит к появлению свободных быстродействующих концов филаментов актина и ускоряет движение клеток (Albrecht-Bueler G., 1985). Интересно, что в очень подвижных клетках, таких как нейтрофилы, в норме фосфорилировано около половины кофилина. Напротив, при активации клеток отмечали дефосфорилирование кофилина. При этом кофилин переносился в псевдоподии богатые актином, что свидетельствует, вероятно, о его высокой потребности в

перестройке цитоскелета клеток в связи с движением (Boxer L.A., Stossel T.P., 1983).

Установлено также, что во время хемотаксиса ПЯЛ Rho-белки регулируют фосфорилирование моторного белка – миозина, который располагается в ламеллоподиях нейтрофилов и отсутствует в филоподиях (Reif K., Cantrell D.A., 1998). Показано, что стимуляция нейтрофилов приводит к фосфорилированию легких цепей миозина (Хапчаев А.Ю. и др., 2004). Так, после стимуляции лейкотриеном B_4 происходит фосфорилирование и стимуляция актин-зависимой АТФазной активности миозина и актин-миозиновое сокращение, а применяемые миозиновые ингибиторы предотвращали трансэмиграцию ПЯЛ через эндотелиальные клетки после стимуляции хемоаттрактантами, и вероятнее всего, по мнению авторов указывает на участие миозина в регуляции эмиграции клеток (Stossel T.P., 1994).

Недавно была установлена молекулярная связь между Rho-белком и запуском полимеризации актина в тромбоцитах и нейтрофилах человека – это комплекс из 7 белков, гомологичных актину – Arp2/3 (actin-related proteins 2 and 3) (Mirabelli F. et al., 1989; Clancy R.M. et al., 1995). Показано, что Arp2/3 способен стягивать единичны актиновые филаменты в пучки, что приводит к образованию «кустистых» сетей актиновых филаментов и, таким образом, усилению движения клеток.

Необходимо отметить, что сама локомоция при участии сократительных белков (актина, миозина, гельзолина, филамина и кальмодулина) лейкоцита осуществляется и зависит в большой степени от содержания кальция (Mirabelli F. et al., 1989). Так, было показано, что чем выше концентрация Ca^{2+} в том или ином участке эктоплазмы фагоцита, тем активнее гельзолин ассоциирует с актином и филамином, способствуя образованию ими гелеобразной структуры (Dustin P., 1982). При этом актин переходит из молекулярной в фибриллярную форму. В то же время кальцийсвязывающий белок кальмодулин способствует

сборке миозиновых молекул, что дает возможность миозину в комплексе с актином осуществлять сокращение.

Установлено, что при сокращении лейкоцит подтягивается к передней псевдоподии. При накате цитоплазмы на гелеобразную зону все рецепторы перемещаются к переднему полюсу псевдоподий, при этом концентрация кальция в гелеобразной зоне падает, гельзолин выходит из комплекса с актином, которым мономеризуется, цитоплазма возвращается в состояние золя и сокращение лейкоцита заканчивается (Albrecht-Bueeler G., 1985).

Таким образом, локомоция лейкоцитов состоит из ряда последовательных действий, включая активацию рецепторов разнообразными стимулами, внутриклеточную передачу импульса на сократительные белки, а также изменение состояния цитоплазмы из золя в гель и зависит от внутриклеточной концентрации кальция и связана с потреблением АТФ.

Глава 2.

ОСОБЕННОСТИ ЭМИГРАЦИИ ЛЕЙКОЦИТОВ НА СЛИЗИСТУЮ ОБОЛОЧКУ РОТОВОЙ ПОЛОСТИ В ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ УСЛОВИЯХ И ПРИ ПАТОЛОГИИ

2.1. Метод последовательных промываний и его диагностическое значение.

Несмотря на многочисленные «классические» труды, а также на современные исследования тонких молекулярных механизмов, эмиграция лейкоцитов представляет собой сложный биологический процесс, все еще недостаточно изученный до настоящего времени.

Известно, что в физиологических условиях эмиграция лейкоцитов в ткани организма и на слизистые оболочки совершается постоянно и по количественному составу достаточно точно установлена.

В изучении эмиграции лейкоцитов следует выделить два направления исследований:

in vitro (их большинство) и *in vivo*, которых значительно меньше. В частности, к последующим относятся исследования М.А. Ясиновского и его учеников процесса эмиграции лейкоцитов на слизистую оболочку ротовой полости, десквамации эпителиальных клеток и экссудации белка с помощью разработанного им метода последовательных промываний. Принцип данного метода состоит в последовательном, через определенные промежутки времени, омывании слизистой оболочки ротовой полости одинаковым каждый раз количеством физиологического раствора. При этом жидкость смывает с поверхности слизистой оболочки накопившиеся на ней за это время эмигрировавшие лейкоциты, слущенные эпителиальные клетки, белковые вещества и слизь. Последующие подсчеты клеток в каждой порции в отдельности дают возможность точно выяснить, сколько выселилось

лейкоцитов и слущилось эпителиальных клеток за единицу времени (Ясиновский М.А., 1931).

Методика последовательных промываний с определенными изменениями в деталях была приспособлена для исследований различных слизистых оболочек организма (мочевого пузыря, влагалища, толстого и тонкого кишечника, желудка, носоглотки) (Ясиновский М.А., 1924). Однако, многочисленные работы М.А. Ясиновского и его учеников, а также других отечественных авторов показали, что наиболее удобным объектом для изучения эмиграции лейкоцитов *in vivo* представляется слизистая оболочка ротовой полости (Сенаторова Г.Ф., 1960; Лещинский А.Ф., 1974; Чулак Л.Д., 1997).

Более ранние работы ученых по морфологическому изучению слюны, указывают на обнаруженные в ней округлые образования, названные слюнными тельцами. Одновременно было отмечено и присутствие простых клеток, слущивающихся со слизистой оболочки полости рта. Происхождение этих клеток и слюнных телец долгое время оставалось неясным и существовали разные предположения, объясняющие их природу и место происхождения. Окончательное решение этих вопросов принадлежит М.Н. Ясиновскому (1924), который с помощью предложенного им метода доказал, что слюнные тельца – это нейтрофильные лейкоциты и эмигрировали они из кровеносных сосудов слизистой ротовой полости, преимущественно десен, и количественно определил интенсивность данного процесса.

Так, было выявлено, что у новорожденных и беззубых людей с атрофированными деснами в промывной жидкости лейкоциты практически отсутствуют (Ясиновский М.А., 1931). По мере развития жевательного аппарата интенсивность эмиграции достигает уровня, который присущ людям со здоровой ротовой полостью. Кроме того, исследования показали, что эмиграция лейкоцитов наиболее выражена в области десен и значительно меньше на внутренней поверхности щек, губ и спинки языка, что соответствует анатомическим особенностям слизистой оболочки данного отдела (Будылина С.М., Дегтярев В.П., 2000).

Известно, что основой слизистой оболочки является соединительная ткань, содержащая помимо фибробластов, гистиоцитов и тучных клеток, миелоидные элементы (Боровский Е.В., Леонтьев В.К., 1991; Будылина С.М., Дегтярев В.П., 2000). При микроскопическом исследовании десны выявлены особенности ее структуры в области сулькулярного (от *sulcus* – бороздка), свободного (ороговевающего) и прикрепленного участков. В области свободной зоны десны, обращенной к полости рта, обнаруживается ороговение эпителия, на сулькулярном участке, обращенном к зубу, а также в прикрепленной зоне десны эпителий, как правило, не ороговеет. Между клетками сулькулярного отдела десны в норме наблюдается небольшое количество нейтрофильных лейкоцитов, однако они находятся в неактивном состоянии: в их цитоплазме не содержится фагосом. Между тем, в сулькулярном отделе эпителия присутствует значительное количество нейтрофильных гранулоцитов что указывает на усиление проницаемости эпителия на этом участке (Быков В.Л., 1996). Некоторые авторы (Моисеев И.Н., 1996) считают, что повышенная проницаемость эпителия в этой зоне десны обусловлена увеличенным расстоянием между клетками и связана с активностью лизосомальных протеаз, способных усиливать проницаемость мембран. Не исключают также воздействие на клетки эпителия ферментов микроорганизмов, присутствующих в большом количестве в десневой бороздке, а также биологически активных веществ, образующихся в полости рта (Сукманский О.И., 1991) Значительная часть микрофлоры удаляется за счет сдвигания эпителия и его смыва ротовой жидкостью (Усатова Г.Н., 1989). Исследования показали, что проницаемость слизистой полости рта неодинакова на разных участках. Наибольшая отмечается в области десневой бороздки. Появление этой жидкости исследователи связывают в основном с морфологическими особенностями сосудов и эпителия этой зоны, в которой микрососуды расположены ближе к внутренней поверхности эпителия и лежат параллельно, как посткапиллярные венулы (Иванов В.С., 1993; Быков В.Л., 1996).

Причем обновление поверхностного слоя эпителия данной зоны происходит гораздо быстрее, чем на других участках эпителия полости рта (Банченко Г.В., Быкова И.А., 1996). Кроме лейкоцитов в десневой жидкости содержатся лейкоциты, микроорганизмы, белковые фракции, десквамированные клетки эпителия и другие (Иванюшко Т.П. и др., 2000; Ковальчук Л.В. и др., 2000).

Г.М. Барер и соавторы (1986) указывают на значительные колебания глубины десневой бороздки от 0,5 до 2 мм. Такие колебания оказывают влияние на количество десневой жидкости. По мнению тех же авторов, в норме в течение суток в полость рта поступает 0,5-2,4 мл десневой жидкости. Считают, что при интактном пародонте причиной ее образования является осмотический градиент, т.е. десневая жидкость является трансудатом сыворотки крови. При воспалительных процессах жидкость поступает в десневую бороздку вследствие нарушения микроциркуляции, сопровождающейся увеличением проницаемости сосудов (Григорьев И.В., Чиркин А.А., 1998; Ломакина Н.А., 2001). Сопоставление ионного состава показало, что количество ионов натрия и калия в десневой жидкости ниже, чем в плазме крови, содержание кальция, фосфора, магния, цинка, хлора и фтора практически одинаково, белковый состав одинаков с сывороткой крови (Зайчик В.Е., Багиров Ш.Т., 1991; Лобенко А.А., Асмолов А.К., 1991).

По данным исследований (Шматко В.И. та ін., 1998), эмигрировавшие в ротовую полость лейкоциты способны к фагоцитозу. Причем полный распад лейкоцитов наступает в среднем через 2-3 часа. Однако, процент фагоцитирующих клеток невелик и составляет лишь 6-15%, остальная же часть лейкоцитов разрушается. Установлено, что у взрослых людей 95-97% эмигрировавших лейкоцитов составляют нейтрофилы, 1-2% - лимфоциты и 2-3% - моноциты. По мере удаления зубов количество лейкоцитов в ротовой жидкости снижается (Боровский Е.В., Леонтьев В.К., 1991).

М.А. Ясиновским (1924) впервые был установлен факт постоянной и строго определенной эмиграции лейкоцитов. По

данным автора, количество эмигрировавших лейкоцитов в ротовую полость в норме составляет 200-300 тыс/мин. При стоматитах различной этиологии, пародонтитах интенсивность эмиграции лейкоцитов существенно усиливается, что было подтверждено многими исследованиями других авторов и использовано для диагностики начальных стадий различных форм стоматитов, пародонтоза, а также определения степени тяжести течения и эффективности различных методов лечения при заболеваниях других органов и систем (Барабаш Р.Д. и др., 1981; Машенко И.С., Самойленко А.В., 1997; Нідзельський М.Я., 1998; Григорьев И.В., Чиркин А.А., 1998; Ончул Л.К. и др., 1999; Любимова Л.С. и др., 2000).

Как отмечали выше, метод последовательных промываний позволяет определить количество лейкоцитов эмигрировавших за определенный промежуток времени, суммарно отражает 2 различные фазы процесса – эмиграцию покоя, которая длится 5 мин, и эмиграцию раздражения длительностью $\frac{1}{2}$ мин, что дает основную массу эмигрировавших лейкоцитов. Однако время полосканий автором не учитывалось при расчете эмиграции лейкоцитов. И, только Сукманским О.И. и соавторами (1980) была усовершенствована и апробирована в условиях клиники одномоментная методика дифференциальной оценки эмиграции лейкоцитов в ротовую полость, которая включает определение интегральной эмиграции, эмиграции покоя и раздражения. Исследования показали, что данные определения эмиграции покоя более тесно коррелируют с состоянием полости рта и методика может быть рекомендована для проведения исследований в клинике, а также на экспериментальных моделях.

Метод последовательных промываний был применен в диагностике и оценке выраженности различных форм стоматитов: ящурного, скорбутного, меркуриальных стоматитах, а также при свинцовых гингивитах, при которых наблюдалось значительное увеличение числа эмигрировавших лейкоцитов (Ясиновский М.А., 1931; Гершкович А.Е., 1938). С помощью данного метода удалось обнаружить самые начальные

воспалительные состояния слизистой оболочки ротовой полости еще при отсутствии каких-либо других клинических проявлений.

При местном применении, в отношении ряда веществ было установлено их снижающее эмиграцию действие: анальгина в растворе в концентрации 1:1000, пирамидона в растворах 1:5000 — 1:1000, антипирина — 1:10000 — 1:5000, хинина в 0,5-1,0% растворах. Растворы салицилата натрия, особенно начиная с концентрации 1:5000 и выше, при любом воздействии увеличивали эмиграцию лейкоцитов (Дозорец Ю.Л., 1945).

По данным исследований ротоглоточных смывов рядом авторов (Драгомирецкий В.Р., Бажора Ю.И., 1984; Буйко В.П., Бажора Ю.И., 1992; Драгомирецкий В.Д. и др., 1993) установлены существенные увеличения эмиграции лейкоцитов на слизистую ротоглотки у больных хроническим тонзиллитом и ее нормализация после лечения глубоким холодом и ультразвуком.

Драгомирецким В.Д. (1955) экспериментально установлено, что трофические нарушения, связанные с поражением тройничного нерва, сопровождаются увеличением интенсивности эмиграции лейкоцитов на слизистую оболочку носовой полости. Аналогичные изменения эмиграции лейкоцитов в полость носа и верхнечелюстную пазуху отмечали при гайморитах (Цыганов А.И., 1955), что, по утверждению автора, помогает в диагностике гайморитов.

Таким образом, метод последовательных промываний и определение общего количества лейкоцитов, эмигрировавших на слизистую оболочку полостей имеет диагностическую ценность ввиду его доступности и высокой чувствительности и может быть использован как в клинической практике, так и в экспериментальных исследованиях.

Особо привлекают внимание данные о том, что эмиграция лейкоцитов в ротовую полость претерпевает изменения при различных патологических процессах в организме.

Так, увеличение интенсивности эмиграции отмечались при наличии воспаления бронхо-легочного аппарата

(Глуховская Г.Ф., 1962). При чем данная методика является, по заключению автора, более чувствительным тестом для определения воспалительного процесса в организме, чем гиперлейкоцитоз и ускорение СОЭ. Более того, эмиграция лейкоцитов увеличивалась при усилении воспалительных явлений и уменьшалась при ослаблении и ликвидации последних. При заболеваниях кроветворного аппарата, таких как агранулоцитоз, при значительном уменьшении общего количества нейтрофилов либо полном их отсутствии в периферической крови было отмечено отсутствие эмиграции лейкоцитов в ротовую полость, с явным поражением ее слизистой (Золотарев А.Е., 1967). В то же время характер эмиграции — а именно зрелых нейтрофильных лейкоцитов сохранялся в полной мере при некоторых изменениях морфологического состава крови, как лимфолейкоз, миелолейкоз, эозинофилии, особенно в начальной стадии заболевания и периодах ремиссии. Напротив, при B_{12} -фолиеводефицитных апластических анемиях эмиграция лейкоцитов резко снижалась (Золотарев А.Е., 1967). Г.Ф. Сенаторова (1960) отмечала усиление эмиграции лейкоцитов у больных с истинной полицитемией и замедление этого процесса в результате лечения радиоактивным фосфором.

Важное место определения интенсивности эмиграции лейкоцитов заняло в оценке сдвигов в общем состоянии организма при сенсibiliзации и аллергизации организма экспериментальных животных (Лещинский А.Ф. и др., 1962). Была обнаружена фазность изменений интенсивности эмиграции соответственно периодам сенсibiliзации и воздействия раздражающих доз антигена. При этом обнаруживалась четкая корреляция с различными иммунобиологическими показателями и сдвигами в состоянии гипофизадrenalовой системы.

Усиление эмиграции лейкоцитов отмечали также у больных ревматизмом (Ясиновский М.А. и др., 1961; Ясиновский М.А., Лещинский А.Ф., 1964). При лечении бутадиионом, салицилатом натрия и реопирином, авторы обнаружили тесную связь между выраженностью

благоприятного клинического эффекта и степенью ограничения эмиграции. Так, у лиц с выраженными позитивными клиническими эффектами выселение лейкоцитов резко снижалось. Причем снижение продолжалось практически до исходного уровня даже после отмены препарата. При этом, у больных с менее выраженным лечебным эффектом препаратов интенсивность эмиграции изменялась незначительно.

Л.К. Коровицким и М.А. Ясиновским (1924) было показано усиление интенсивности эмиграции лейкоцитов со здоровой слизистой при воздействии на организм различных бальнеофизиологических факторов (грязи, ванн, глины, диатермии), как при местном, так и общем их применении, что, по мнению авторов, говорило в пользу нервно-рефлекторного происхождения увеличения эмиграции. Было подтверждено противовоспалительное действие анальгина, антипирина, пирамидона, салицилового натрия, атофана, хинина, стрептоцида, сульфидина, норсульфазола, сернокислой магнезии при применении внутрь организма (Ясиновский М.А., Дозорец Ю.Л., 1947; Ясиновский М.А., Фингер О.А., 1950; Ясиновский М.А., Фингер О.А., 1959; Ясиновский М.А., Лещинский А.Ф., 1964). Как отмечали авторы, во всех случаях отмечалась динамика снижения эмиграции лейкоцитов в ротовую полость, которая зависела от дозы и длительности применяемых препаратов.

В серии исследований у больных с воспалительными процессами с применением гормональных препаратов – АКТГ, кортизона, преднизолона и дексаметазона выявлено резкое выраженное снижение интенсивности эмиграции лейкоцитов (Ясиновский М.А. и др., 1960; Ясиновский М.А., Лещинский А.Ф., 1964). Снижение уровня отмечалось у большинства больных уже на 4-й день приема препаратов; но значительного снижения этот процесс достигал на 7-й день. При этом эффект применения преднизона был в отношении снижения эмиграции более мощным, чем от обычных терапевтических доз кортизона и особенно АКТГ. Хомяк Е.Н. (1984) используя метод последовательных промываний, отмечал увеличение

интенсивности эмиграции лейкоцитов у больных с язвенной болезнью желудка и 12-перстной кишки и раком желудка на фоне изменений слизистой оболочки полости рта в виде гингивита, стоматита и глоссита. В послеоперационный период у больных отмечалась тенденция к нормализации числа эмигрирующих лейкоцитов, что является, по мнению автора, отражением благоприятного течения в послеоперационный период.

Таким образом, полученные данные об изменении интенсивности эмиграции лейкоцитов на слизистую оболочку ротовой полости с использованием метода последовательных промываний могут служить в качестве клинического теста при определении прогноза и эффективности лечения заболеваний как при воспалительных процессах в ротовой полости, так и заболеваниях других органов и систем.

2.2. Механизмы эмиграции лейкоцитов на слизистую оболочку ротовой полости.

Клиническая симптоматика воспалительных заболеваний в полости рта формируется как проявление на морфо-функциональном уровне основных компонентов воспаления: а) сосудистых реакций (повышение проницаемости эндотелия); б) экссудативно-инфильтративных (накопление экссудата и лейкоцитов); в) повреждения (альтерации) продуктами метаболизма и активации лейкоцитов (Иванов В.С., 1998; Григорьян А.С., 1999). Так, исследования показали, что в течение 10-20 суток накопления микробного налета на зубах и деснах у здоровых добровольцев отмечались клинические проявления острого катарального гингивита. В соответствии с данными экспериментальных исследований, уже на ранних стадиях гингивита, когда клинические проявления воспаления еще трудно уловимы, в тканевых образцах обнаруживались довольно выраженные морфологические изменения. К ним относились полнокровие капиллярной сети, экссудация,

набухание тканевых протеинов и эмиграция в межсосудистые пространства нейтрофилов (Кунин А.А. и др., 2001; Григорьян А.С. и др., 2002). В десневой жидкости увеличивалось содержание нейтрофилов, а в капиллярной крови десны выявлен нейтрофилез (Барер Г.М. и др., 1986; Григорьян А.С. и др., 2002). Заслуживают особого внимания изменения активности аденилатциклазы и гуанилатциклазы при развитии воспалительного процесса в пародонте: снижение активности цАМФ и увеличение цГМФ (Петрович Ю.А. и др., 1991). Как известно, цГМФ усиливает лейкотаксис и эмиграцию лейкоцитов, а также фагоцитоз, а цАМФ тормозит их. В свете, повышения активности гуанилатциклазы образующей цГМФ, и снижения активности аденилатциклазы, синтезирующей цАМФ, становится понятным один из механизмов резкого увеличения количества лейкоцитов в смывах из ротовой полости при воспалении пародонта (Бобырев В.Н. и др., 1994).

Имеющиеся при воспалении сосудистые нарушения также можно, в известной мере, увязать с изменением соотношения количества цГМФ и цАМФ, которые влияют на эффекты вазоактивных веществ, на нарушение кровообращения и изменение (повышение) проницаемости капилляров (Федоров Н.Л., 1979; Григорьев И.В. и др., 1998), что, в свою очередь, может приводить к изменению эмиграции лейкоцитов. Кроме того, в публикации Григорьева И.В. и соавт. (1998) сообщается о высокой корреляции концентраций цГМФ в крови и слюне и свидетельствует о системных изменениях в ответ на местное повреждение.

Известно, что ведущая роль в патогенезе воспалительных изменений принадлежит микроциркуляторным расстройствам. Эти процессы вызывают гипоксию, в условиях которой активизируются процессы свободно-радикального окисления биомолекул, приводящие к нарушению структуры и функции биомембран клеток пародонта и сосудов, что, в свою очередь, приводит к изменениям эмиграции лейкоцитов через сосудистую стенку (Воскресенский О.Н. и др., 1991; Чеснокова А.Л., 1998; Бабина О.А. и др., 1999; Герелюк В.І., 1999).

Свободно-радикальное окисление имеет патогенетическое значение для ряда патологических процессов, в том числе в тканях ротовой полости (Воскресенский О.Н. и др., 1991; Саянина Л.Н. и др., 1997; Бабина О.А. и др., 1999). Поскольку, перекисное окисление липидов происходит за счет реакций свободно-радикального окисления, то при этом образуются высоко токсичные радикалы кислорода, перекиси, гидроперекиси, которые стимулируют хемотаксис лейкоцитов и их аккумуляцию в зоне повреждения (Иванов В.С., 1998; Нидзельский М.Я., 1998; Герелюк В.И., 1999).

Кроме того известно, что при повреждении мембран метаболиты перекисного окисления липидов интенсифицируют каскад преобразований арахидоновой кислоты, в результате чего образуются простагландины и лейкотриены, содержание которых изучали в ротовой и десневой жидкостях при хроническом пародонтите (Palmer R.J. et al., 1989; Герелюк В.И., 1999). Было установлено преобладание продуктов циклоксигеназного пути обмена – простациклина и тромбоксана в смешанной слюне здоровых людей (Чернов Ю.Н. и др., 1990), в то время как у больных с воспалением пародонта – продуктов липоксигеназного пути – лейкотриенов B_4 и C_4 (Hermann K.S., 1985). Причем, содержание этих метаболитов в слюне возрастало в 7 и 9 раз соответственно в сравнении с показателем у здоровых людей, а концентрация B_4 в десневой жидкости возросла в 12 раз. Воспаление сопровождалось повышением проницаемости сосудистой стенки, отеком и усиленной эмиграцией лейкоцитов и корреляционной взаимозависимостью, что свидетельствовало, по мнению авторов, о влиянии медиаторов на проницаемость эндотелия и эмиграцию лейкоцитов.

В эксперименте при моделировании воспаления 0,1% раствором керрагенина в поднижнечелюстной области морской свинки наблюдали интенсивную эмиграцию ПЯЛ в зону воспаления, повышение их фагоцитарной активности, которые коррелировали с увеличением уровня малонового диальдегида (продукта ПОЛ) и каталазы в крови и ротовой жидкости, что

указывает на тесную связь местных и системных проявлений (Ажицкий Д.Г. и др., 1997; Назарян Р.С., 2004). Интересным представляется факт, отмеченный при лечении воспаления десен с использованием озонотерапии, который выражался снижением количества эмигрировавших нейтрофилов, их биоцидной активности, которая определялась по уровню миелопероксидазы (Безрукова И.В. и др., 2001).

Имеются данные о влиянии фракций системы комплемента десневой жидкости на усиление эмиграции лейкоцитов. Считают, что комплементная система активизируется под влиянием комплекса антиген-антитело, который образуется при взаимодействии бактериальных эндотоксинов и сывороточных белков, содержащихся в зубном налете и десневой жидкости и, таким образом, стимулирует хемотаксис лейкоцитов, фагоцитоз и опосредует через выработку вазоактивных веществ, повышение проницаемости сосудов, что, в свою очередь, приводит к повышению интенсивности эмиграции ПЯЛ (Робустова Т.Г. и др., 1990).

По данным других авторов, при воспалении тканей пародонта отмечается повышенная коллагеназная активность и активность катепсина нейтрофилов ротовой полости, которые находятся в прямой зависимости от тока десневой жидкости и количества лейкоцитов (Барер Г.М. и др., 1986). Кроме того, было установлено повышение активности гранулярных энзимов нейтрофилов – эластазы и β -глюкоронидазы при гингивите и пародонтите (Барабаш Р.Д. и др., 1981; Van der Welden G.A. et al., 1994; Борисенко А.В., 2000). Так, было обнаружено существенное в 2 раза повышение уровня эластазы в десневой жидкости при пародонтите легкой формы, почти в 4,5 раза, - при тяжелой форме и незначительное повышение при гингивите, а также нарастание активности лейкоцитарной эластазы, что, по мнению авторов, тесно связано с развитием выраженных деструктивных изменений в тканях пародонта, а не с воспалительной реакцией. Это позволило им рекомендовать измерение активности эластазы ПЯЛ для дифференциальной

диагностики гингивита и пародонтита. При пародонтите уровень обоих энзимов коррелировал с тяжестью заболевания, что также соответствует наблюдению других авторов (Борисенко А.В., 2000), которые подчеркивают связь между содержанием этих энзимов в десневой жидкости общим количеством ПЯЛ и степенью поражения тканей полости рта. В исследованиях Машенко И.С. и соавт. (2003) установлено повышение активности миелопероксидазы, катионного белка и метаболической активности эмигрировавших в воспаленный пародонт нейтрофилов при генерализованном пародонтите и снижение всех показателей в случае гнойного процесса, что по мнению авторов представляет прогностическую ценность в оценке функционального состояния ПЯЛ при воспалении. При применении лейкинферона – препарата, содержащего комплекс природных цитокинов ИЛ-1, ФНО- α , ИФН- γ , ИЛ-4, ИЛ-8, ИЛ-10, ИЛ-12, в случае гнойного процесса, отмечали значительное усиление активности микробоцидных веществ (миелопероксидазы и катионного белка) в нейтрофилах (Цымбалов О.В. и др., 2004). Была также обнаружена прямая корреляционная связь между увеличением эмиграции лейкоцитов на слизистую оболочку десны и степенью тяжести заболевания, а также наблюдалась тесная связь между интенсивностью эмиграции лейкоцитов в ткань и образованием медиатора воспаления лейкотриена В₄ (Герелюк В.И., 1999; Иванюшко Т.П. и др., 2000).

Перова А.И. (2001) указывает на интенсивную эмиграцию ПЯЛ в ротовую полость при воспалении пародонта начальной и средней тяжести. Количество лейкоцитов при этом составило 610 клеток в 1 мл, в то время как у здоровых людей только 180-200 клеток, что свидетельствует о напряженности местного клеточного звена неспецифического иммунитета. После проведенного лечения антибиотиками наблюдалась нормализация цитологической картины в сторону снижения количества эмигрирующих лейкоцитов. Параллельно в смывах ротовой полости наблюдали увеличение количества клеток

слущенного эпителия, уменьшение скорости слюновыделения и изменение рН слюны в кислую сторону. После курса лечения наблюдалась тенденция к нормализации всех показателей. Кроме того, отмечалась прямая корреляция между уровнем ПЯЛ, эпителиальными клетками в ротовых смывах и уровнем лейкоцитарных ферментов – кислой и щелочной фосфатаз, а также лизоцима. Имеются также данные о значительном увеличении количества лизоцима в ротовой жидкости, уровня эмиграции лейкоцитов и повышения их фагоцитарной активности, что прямо пропорционально тяжести воспалительного процесса (Робустова Т.Г. и др., 1990). Необходимо отметить, что большая часть (70-90%) нейтрофильных гранулоцитов в начальный период после эмиграции не только сохраняют жизнеспособность, но и обладают высокой функциональной активностью (Бабина О.А. и др., 1999). Так, при воспалении околожелезистых мягких тканей отмечали усиление бактерицидной активности ПЯЛ в протоковой слюне и смывах ротовой полости по спонтанному и активированному 5% раствором фторида натрия НСТ-тесту в среднем на 77% и 61% соответственно. Как известно, у здоровых лиц в протоковой слюне лейкоциты практически не встречаются. Поэтому, определение индекса активации нейтрофилов с помощью НСТ-теста является ненормативным критерием оценки течения воспалительного процесса в тканях (Саяпина Л.М. и др., 1997), однако может служить дополнительным тестом продукции кислородных радикалов активированными клетками.

Одним из существенных показателей тяжести и клинического течения воспалительного процесса, как считают авторы, является определение белковых фракций, а также молекул средней массы, специфических маркеров эндогенного воспаления, в сыворотке крови и слюне больных. Так, например, было установлено увеличение грубодисперсных белков в смешанной слюне в различные фазы одонтогенного воспаления, причем динамика величин их объема находилась в прямой зависимости с тяжестью процесса, что, вероятно, связано с

активацией протеолиза в зоне повреждения и увеличением сосудистой проницаемости слизистой полости рта (Тайченаев А.Я., 1997).

В исследованиях Старокадомского П.Л. и Скибы О.И. (2003) при воспалении слизистой оболочки полости рта установлено усиление скорости проникновения воды, ионов Na^+ , K^+ , Cl^- в ротовую полость, однако скорость всасывания перечисленных веществ оставалась неизменной.

Результаты цитологического исследования клеток слюны и десневой жидкости у людей с легкой и тяжелой формой воспаления слизистой оболочки ротовой полости показали значительное повышение количества эпителиальных клеток. Причем их содержание было выше почти в 3 раза у людей с тяжелой степенью воспаления. Отмечали большой процент незрелых эпителиальных клеток, что указывает, по мнению авторов, на высокую интенсивность пролиферации, а также усиление слущивания эпителия (Кунин А.А. и др., 2001).

Известно, что заболевания слизистой оболочки полости рта возникают на фоне различных заболеваний, в том числе и лейкозов (Ковалева Л.Г., 1990; Ончул Л.К. и др., 1999). Так, по данным Любимова Л.С. и соавторов (2000) у больных с острыми миелобластными лейкозами до и после химиотерапии отмечались поражения слизистой оболочки полости рта. Установлена четкая взаимосвязь между тяжестью повреждения слизистой оболочки и количеством лейкоцитов в периферической крови. При уменьшении их количества до $0,5 - 1,0 \cdot 10^9$ л отмечали гиперемию слизистой ротовой полости и отек. В период выраженных клинических проявлений стоматита уровень лейкоцитов не превышал $0,3 - 0,8 \cdot 10^9$ л. Начало репаративных процессов совпадало с началом выхода больных из фазы агранулоцитоза и увеличением количества лейкоцитов после курса химиотерапии. Полное исчезновение признаков повреждения слизистой отмечалось, когда уровень лейкоцитов уже превышал $1,0 \cdot 10^9$ л. При этом средняя длительность течения стоматита составляла около до 2 недель.

Кроме того отмечали, что в условиях высокой токсичности применяемых химиопрепаратов, ведущих к поражению различных органов и тканей, а также депрессии системы иммунитета, воспалительные процессы протекали, как правило, с отсутствием эмиграции на слизистые полости рта и преобладанием некрозов (Gaibraith L. et al., 1991). Рядом авторов также были обнаружены признаки синдрома повышенной вязкости в крови у некоторых больных с хроническими миело- и лимфолейкозами и их сочетания с десневыми кровотечениями, замедлением скорости кровотока, а также высоким общим количеством лейкоцитов в плазме крови. Нередко у таких больных, особенно в терминальной стадии, развивается кандидоз ротовой полости на фоне снижения лейкоцитов в крови до $1,5 \cdot 10^9$ л и более (Головской Б.В. и др., 1997; Савченко В.Г. и др., 1997). Так, грибковые поражения слизистой оболочки полости рта были обнаружены у $\frac{1}{4}$ больных острым лейкозом, которые развивались как следствие действия лекарственных препаратов (антибиотиков, цитостатиков, кортикостероидов), так и за счет ослабления функциональной способности лейкоцитов (Мельниченко Э.М. и др., 1991; Dreizen S. et al., 1996). При лимфолейкозе, как указывают авторы, изменения слизистой рта менее выражены, хотя нередко встречается язвенно-некротический стоматит (Савченко В.Г. и др., 1997). В целом, проявления в полости рта при лейкозах отмечаются многообразной картиной: геморрагии, десквамация эпителия, гиперплазия десен, язвенно-некротические изменения (Ковалева Л.Г., 1990). Однако, данные об интенсивности эмиграции лейкоцитов в ротовую полость отсутствуют.

Как упоминалось ранее, эмиграция лейкоцитов осуществляется на различные слизистые оболочки организма, в том числе и носовую полость. Так, исследование усиления эмиграции лейкоцитов (ПЯЛ) на слизистую оболочку носа изучал коллектив авторов (Nowak D. et al., 2001) при хронических воспалительных процессах в бронхах с применением иммуномодулятора ИРС 19. Поскольку,

иммунотерапия является хорошо известным методом, применяемым для усиления неспецифического иммунитета в виде митогенного ответа лейкоцитов в крови (Clot J. et al., 1980). При этом было зафиксировано увеличение количества ПЯЛ в смывах из полости носа с 4460 клеток до 10490 клеток на мл. Кроме того, этот эффект сопровождался повышением активности миелопероксидазы – фермента азурофильных гранул нейтрофилов и концентрации перекиси водорода (H_2O_2), обладающих высокой бактериоцидной активностью и прямо коррелировал с общим количеством нейтрофилов в смывах (Nowak D. et al., 2001).

Экспериментально установлено, что трофические нарушения, связанные с патологией тройничного нерва сопровождаются увеличением интенсивности эмиграции лейкоцитов в носовую полость (Драгомирецкий В.Д., 1955). Пользуясь методом последовательных промываний, отмечали усиление эмиграции лейкоцитов на поверхность слизистой оболочки носа у больных с различными формами ринитов. Показано, что диагностика гайморитов облегчается при использовании метода последовательных промываний и установлении факта усиленной эмиграции лейкоцитов в гайморову полость. Таким образом, данные об изменении интенсивности эмиграции лейкоцитов в носовую и гайморову полость могут также служить диагностическим показателем развития патологических процессов, локализованных в лицевой области.

Имеются данные о том, что в ротовой полости, и, в частности, придесневой области клинически здорового пародонта присутствуют провоспалительные цитокины ИЛ-1 и ФНО- α , которые, как предполагают авторы, выполняют защитную функцию непосредственно в полости рта (Adcock J.E., 1998; Ковальчук Л.В. и др., 2000). Суть этого явления состоит в том, что система цитокинов здорового пародонта находится в равновесии с их антагонистами. Поскольку, обнаружено, что наряду с провоспалительными цитокинами как ИЛ-1 и ФНО- α

присутствуют их антагонисты ИЛ-4 и трансформирующий фактор роста (ТФР_{β-1}) (Page R.S., 1996; Ярилин А.А., 1997). Исследования показали, что уровень ИЛ-4 в десневой жидкости у здоровых людей на несколько порядков превышает уровень других цитокинов. Именно этот цитокин блокирует выработку ИЛ-1 и ФНО-α макрофагами, препятствуя развитию воспалительного процесса в пародонте (Ковальчук Л.В. и др., 2000). При воспалении пародонта отмечается значительное снижение концентрации ИЛ-4 и повышение ИЛ-8 – основного хемотактического и активирующего фактора нейтрофилов (Долгих В.Т., 2000; Ковальчук Л.В. и др., 2000). По мнению авторов, такой дисбаланс в системе цитокинов приводит к активации макрофагов пародонта и повышенной выработке ими ИЛ-1 и ФНО-α, а также индукции ИЛ-8 и рассматривается как неблагоприятный признак в течении воспаления в тканях пародонта (Tokого G. et al., 1997).

2.3. Эмиграция лейкоцитов на слизистую ротовой полости при протезных стоматитах.

Особо следует выделить роль механического и аллергического фактора при ношении зубных протезов в развитии воспалительных процессов в ротовой полости. Особенно это касается пожилых людей, у которых наблюдается общее снижение иммунологической активности (Липасова Т.В. и др., 1999). Так, по данным авторов механическое воздействие протезов может приводить к слущиванию эпителия слизистой оболочки, снижению локальной защиты, в результате чего развиваются воспалительные процессы в полости рта в виде «протезных стоматитов», а также непереносимости протезных пластмасс (Коваленко А.Ф. и др., 1994; Павленко О.В. та ін., 1994; Воложин А.И. и др., 1997).

По данным Власовой Л.Ф. и соавт. [64] тканевая реакция на этакрил (АКР-15), входящий в состав протезов, зависит от качества вещества, степени его полимеризации и времени

экстракции из полимера. В эксперименте, при имплантации в ткани клетчатки, фасции, мышцы АКР-15 вызывал воспалительную реакцию, которая проявлялась в виде расстройств микроциркуляции (стаза и сладжа эритроцитов, диапедезных кровоизлияний, эмиграции нейтрофильных лейкоцитов, повышении проницаемости микрососудов, отека ткани и нейтрофильной инфильтрации) (Воложин А.И. и др., 1997). Причем, чем ниже степень полимеризации вещества, тем более выражена воспалительная нейтрофильная инфильтрация, особенно в отдаленные сроки ношения протезов.

Известно, что поверхностный эпителий ротовой полости является основным структурно-функциональным компонентом слизистой оболочки, на котором, в первую очередь, отражаются воздействия различных факторов, в том числе механического действия съемных протезов (Боровский Е.В. и др., 1991; Чулак Л.Д., 1997; Иванов В.С., 1998). При этом, методом микроскопического исследования смывов полости рта отмечали лейкоцитарную инфильтрацию и повышение количества эпителиоцитов (Чулак Л.Д., 1997; Власова Л.Ф. и др., 2000). По данным исследований, была выявлена зависимость реакции слизистой полости рта от физико-химических характеристик акриловых и модифицированных протезов. На 3-и сутки наложения протезов у большинства пациентов наблюдалось увеличение (в 1,5-3 раза) количества эпителиальных клеток и незначительное увеличение лейкоцитов, а также отмечены участки гиперемии. На 14-е сутки адаптации к протезам отмечены разнонаправленные реакции: у одних пациентов количество лейкоцитов и эпителиальных клеток продолжали возрастать, у других значительно уменьшалось, но оставалось выше нормы на всем протяжении исследований. Однако, при обследовании пациентов с модифицированными протезами видимых патологических изменений со стороны протезного ложа выявлено не было.

Более того, анализ цитологической картины клеток слизистой оболочки протезного ложа под полными съемными пластинчатыми протезами, с использованием препаратов

отпечатков протезного ложа, позволил отметить выраженное отрицательное воздействие протезов, которые изготовлены традиционным методом (Бешевли Ю.П. и др., 2000; Кузнецов В.В., 2002). Оно проявлялось в отторжении ядерных клеток глубоких слоев эпителия, наличием обильной микрофлоры, снижением рН и резким повышением количества нейтрофильных лейкоцитов (Арутюнов С.Д. и др., 2002; Бабахин А.А. и др., 2003; Щербаков А.С. и др., 2004). Лизоцимная активность слюны в ранние сроки (3 дня) после протезирования была резко увеличена. Поскольку основным источником лизоцима в слюне служат сегментоядерные лейкоциты, которые эмигрируют на поверхность слизистой оболочки, то повышение активности этого фермента, по мнению авторов, явилось реакцией на действие протезов (Коваленко А.Ф. и др., 1994; Павленко О.В. и др., 1994).

В других исследованиях, используя метод последовательных полосканий М.А. Ясиновского, наблюдали процесс эмиграции лейкоцитов в динамике у больных с акриловыми протезами, протезами с металлическим базисом и протезами с фторопластиковым покрытием (Чулак Л.Д., 1997). Результаты исследований показали, что эмиграция ПЯЛ спустя 3 месяца после установки протезов, была повышена у всех трех групп больных, но достоверно ниже, по сравнению с вышеупомянутыми группами у лиц с протезами с фторопластиковыми покрытиями. Спустя год, у больных, пользующихся обычными акриловыми протезами эмиграция лейкоцитов возросла. В группе больных пользующихся зубными протезами с металлическим базисом эмиграция лейкоцитов снижалась, но не достигала нормы, в группе людей, пользующихся зубными протезами с фторопластиковым покрытием, эмиграция закономерно снижалась и соответствовала показателям нормы. На основании проведенных исследований автор приходит к выводу, что пользование протезов с фторопластиковым покрытием оказывает на ткани протезного поля противовоспалительный эффект, о чем свидетельствует снижение эмиграции лейкоцитов.

По данным исследований некоторых авторов, кроме отрицательного воздействия на слизистую оболочку, акриловые протезы также могут оказывать неблагоприятный эффект на состояние слюнных желез (Чулак Л.Д., 1997). Так, из 150 больных, с жалобами обратились 120 человек. Обследования показали снижение саливации и содержания белка в смешанной слюне. Одновременно отмечали повышение активности α -амилазы, кислой фосфатазы, пероксидазы, кислой и щелочной РНК-азы. Как известно, эти ферменты имеют паротидное происхождение. Наоборот, содержание ферментов как щелочная фосфатаза и катепсинов с $pH=3,5-5,5$ – было существенно пониженным. Эти ферменты имеют субмандибулярное происхождение. Таким образом, совокупность данных указывает на перераспределение функций слюнных желез – угнетение поднижнечелюстной и повышение активности приушных желез.

С целью определения состояния микроциркуляции тканей протезного поля и выраженности воспалительной реакции использовали метод В.И. Кулаженко для определения стойкости капилляров электровакуумным методом. Было выявлено, что стойкость капилляров слизистой оболочки при пользовании различными протезами имеет различную картину (Чулак Л.Д., 1997). Так, пользование акриловыми протезами и протезами с фторопластиковым покрытием оказывает наиболее щадящее действие на сосудистую ткань пародонта спустя 1, 2 и 3 года. Однако, зубные протезы с металлическим базисом оказывали самое негативное воздействие на сосудистую стенку, поскольку показатели снижения стойкости капилляров снижались спустя год и менее. Таким образом, авторы рекомендуют использовать акриловые протезы с фторопластиковым покрытием.

Кроме того, было обнаружено изменение качественного состава микрофлоты у беззубых пациентов в возрасте от 55 до 75 с акриловыми протезами, изготовленными по общепринятой технологии и протезами, прошедшими электромагнитную обработку (Воложин А.И. и др., 1997; Кузнецов В.В. та ін., 2002; Ворес Э.Я. и др., 2004). Через месяц после протезирования в

смывах ротовой полости были обнаружены патогенные колонии стафилококков и стрептококков в обеих группах пациентов. Однако, их концентрация была почти в 2 раза выше в группе людей с протезами, изготовленными по традиционной технологии. Причем, степень проникновения микроорганизмов в толщу протезов до 1 мм также наблюдалась у первой группы. У пациентов второй группы краситель проникал в толщу протезов частично.

Актуальность, при ношении съемных протезов, приобретает проблема перекрестной инфекции (Гожая Л.Д. и др., 1995). Поскольку в таких случаях нельзя исключить наличие в полости рта других патогенных микроорганизмов: вирусов гриппа, герпеса, бактерий туберкулеза, грибов и других, которые могут воздействовать не только местно, но и в целом на макроорганизм и способствовать возникновению аутоинфекции, изменению реактивности организма (Зиновьев А.С. и др., 1997; Арутюнов С.Д. и др., 2002). Исследования показали усиление фагоцитоза, хемотаксиса нейтрофилов, иммуноадгезии, повышения проницаемости сосудов и развития отека при протезировании. Поэтому авторы считают, что в первую очередь есть необходимость в правильной очистке протезов, а также существенное значение имеют сроки годности протезов (Щербаков А.С. и др., 2000; Бабахин А.А. и др., 2003).

По данным некоторых авторов, непереносимость металлических протезов обусловлена химико-токсическим и аллергическим воздействиями на организм, и, в частности, на тучные клетки, которые сопровождаются значительным увеличением гистамина и изменением активности базофилов крови (Воложин А.И. и др., 2004).

Необходимо отметить, что при протезных стоматитах, которые были обусловлены кандидозом и аллергией к пластмассе, с использованием методики восстановления нитросинего тетразолия (НСТ-тест) в нейтрофилах слюны, которая определяет метаболическую активность ПЯЛ во время фагоцитоза, было выявлено уменьшение функциональной активности эмигрировавших лейкоцитов. Причем, более

выраженная реакция наблюдалась у пациентов с протезным кандидозом. При этом функциональный резерв нейтрофилов по данным стимулированного эимозаном НСТ-теста снижался на 50%. Авторы считают, что эти данные свидетельствуют о снижении локальной неспецифической защиты полости рта и являются неблагоприятным признаком (Темирбаев М.А. и др., 1989; Машенко И.С., Сербиеенко Е.В., 2003).

Таким образом, суммируя все вышеизложенное можно с уверенностью утверждать, что исследование процесса эмиграции лейкоцитов на слизистую оболочку ротовой полости с помощью метода последовательных промываний, который обладает достаточно высокой чувствительностью, позволяет проводить не только сравнительную направленность процесса – ограничивается или усиливается эмиграция лейкоцитов, но и с большой точностью определить степень его выраженности. Вместе с тем, интенсивность эмиграции лейкоцитов может быть следствием не только заболевания полости рта, но и отражать сдвиги в общем состоянии организма.

Глава 3.

РОЛЬ ЭНДОГЕННОГО ОКСИДА АЗОТА В МЕХАНИЗМАХ РАЗВИТИЯ ВОСПАЛЕНИЯ

Имеется большое количество данных, подтверждающих исключительно важную роль NO на различных этапах развития воспалительного процесса, NO-сигнальная молекула, вовлекающаяся в регуляцию иммунного ответа. В зависимости от типа и фаз воспаления, а также сосудистых и клеточных реакций, NO обладает как про- так и противовоспалительными свойствами (Реутов В.П. и др., 1994; Марков Х.М., 1996; Малышев И.Ю., 1997; Реутов В.П. и др., 1998; Кастранова В.А., 2004). В ряде публикаций подтверждается антипатогенная роль NO в отношении вирусов, бактерий, грибов, простейших, раковых клеток (Burney S. et al., 1997; Jianrong L. et al., 1999; Проскуряков С.Я. и др., 2000).

Установлено, что синтез избыточного количества NO как эффектора системы клеточного иммунитета связан с индуцибельной NO-синтазой (i-NOS), экспрессируемой под действием цитокинов, бактериального липополисахарида (ЛПС) и гамма-интерферона (γ -ИФН) (Nathan C. et al., 1994; Тейлор Б.С. и др., 1998). При этом концентрация NO связанная с активностью i-NOS в клетках достигает сотен микромолей и сохраняется длительный период (часы, дни), в течении которого опосредуется цитотоксический эффект NO. В то же время, гиперпродукция NO и его дериватов, в частности пероксинитрита, образующийся при инфекционных заболеваниях, сепсисе, ишемии-реперфузии, являются причиной повреждения тканей, модифицируя белки и повреждая нуклеиновые кислоты (Rockett K.A. et al., 1992; Gute D.C. et al., 1998; Проскуряков С.Я. и др., 2000; Каленикова И.Е. и др., 2004).

Макрофаги грызунов оказались одними из первых клеток, на которых была продемонстрирована генерация NO (Moncada S., 1994). В ответ на введение ЛПС эти клетки

синтезировали мРНК i-NOS и сам фермент. При этом обнаруживалось накопление в крови значительного количества нитритов и нитратов (NO_2^- и NO_3^-) – продуктов окисления NO. Например, установлено, что эндогенные неорганические нитраты и нитриты плазмы крови могут явиться важными звеньями ряда патогенетических механизмов у человека (Knight C.J. et al., 1997; Saitoh D. et al., 2001).

На сегодняшний день сравнительно хорошо изучены этапы развития воспалительной реакции при действии повреждающего агента, которые во многом зависят от свойств флогогена. При этом пусковым механизмом начальной фазы альтерации является повреждение клеток, сосудистой стенки и активация факторов свертывания крови (Серов В.В., Пауков В.П., 1995). На данном этапе выделяют два основных механизма активации окислительных процессов с участием активных кислородных радикалов: свободнорадикальные реакции перекисного окисления липидов (СПОЛ) мембран и активацию эндотелиальных ферментативных систем синтеза кислородных радикалов (O_2^- , H_2O_2 , NO, NOOH) (Busse R., 1993; Inoue M. et al., 1999; Третьякова И.Е., Долгушин И.И., 2004). Как известно, усиление СПОЛ представляет собой универсальный ответ клеток на повреждение. По мнению Третьяковой И.Е. (2004), процессы СПОЛ выступают в качестве обязательного компонента и первичного медиатора развития стресс-реакции (Третьякова И.Е., Долгушин И.И., 2004). Установлено, что продукты СПОЛ не только усиливают направленную миграцию лейкоцитов, т.е. способны выступать в качестве хемоаттрактантов, но и могут ингибировать ее: так, при высоких концентрациях (10^{-4} м) 4-гидроксиноненаль практически полностью ингибировал миграцию нейтрофилов, что способствовало формированию лейкоцитарного экссудата в месте повреждения (Levi P. et al., 1997).

Что касается кислородных радикалов, источником которых служит эндотелий сосудов, то к ним относятся эндотелиальные ферменты – ксантиоксидаза, NO-синтаза и, по-видимому, экстрацеллюлярная супероксиддисмутаза (СОД)

(Меньщикова Е.Б., Зенков Н.К., 1997; Lute D.C. et al., 1998). Имеется достаточное количество данных, свидетельствующих о важной роли образования NO-радикалов эндотелиальными клетками, выполняющие физиологическую регуляцию тонуса сосудов и предупреждение тромбообразования: так, показано, что NO ингибирует агрегацию тромбоцитов и адгезию нейтрофилов к эндотелию сосудов (Реутов В.П., Орлов С.Н., 1993), а также снижает тонус мышечного слоя сосудов, т.е. вызывает вазодилатацию (Busse R., 1993; Яроцкий В.В. и др., 2003; Проскураков С.Я., Филимонова М.В., 2003).

В настоящее время доказано, что под воздействием воспалительных стимулов происходит синтез индуцибельной NO-синтазы и гиперпродукция NO в эндотелиальных клетках (Busse R., 1993). Отмечено, что одновременно в условиях гипоксии, которая развивается при повреждении, в эндотелии происходит переход ксантиндегидрогеназы в оксидазную форму в результате окисления дисульфидных связей или ограниченного протеолиза, что сопровождается резким усилением синтеза O_2^- и H_2O_2 (McBride A. et al., 1999). Установлено, что в очаге воспаления активность ксантиноксидазы возрастает на 2/3 и выше в сравнении с ее действием в нормальных условиях (Меньщикова Е.Б., Зенков Н.К., 1997).

Данные экспериментальных исследований свидетельствуют о том, что при повышении уровня NO в эндотелии, по-видимому, происходит образование пероксинитрита ($ONOO^-$) (Kosaha H., 1999). Важным следствием этого, по мнению авторов, является взаимодействие между двумя радикалами с образованием реакционного пероксинитрита: $O_2^- + NO^\circ + H^+ \rightarrow ONOON$ с константой скорости реакции 10^8 М за сек. Таким образом, в результате такого взаимодействия происходит уменьшение NO-радикалов, что в свою очередь, приводит к вазоконстрикции сосудов, повышению адгезии нейтрофилов и агрегации тромбоцитов (Dusting G. et al., 1998). Следовательно, при повреждении ксантиноксидаза, находящаяся на люминальной поверхности

эндотелиальных клеток капилляров, действует как молекулярный переключатель, индуцирующий синтез O_2^- , который, в свою очередь, ингибирует эффекты NO и способствует тромбообразованию, обеспечивает миграцию лейкоцитов из кровеносного русла и их адгезию к эндотелию (Gute et al., 1998; Cuzzocrea S. et al., 1999). Молекулярные механизмы такой регуляции дополняются контролем со стороны экстрацеллюлярной СОД, связанной с обращенной в просвет сосуда поверхностью эндотелиальных клеток, которая как известно ограничивает локальную концентрацию O_2^- (Costantino G., et al., 1999).

Таким образом на ранней стадии развития воспалительного процесса вследствие повреждения происходит ингибирование синтеза NO, результатом которого являются rolling «качение» лейкоцитов вдоль сосудистой стенки, их адгезия к эндотелию и эмиграция в очаг воспаления, обусловленная появлением молекул клеточной адгезии и хемотактических веществ, о которых мы упоминали выше.

На более поздней стадии развития воспалительного процесса под воздействием цитокинов (ИЛ-1, ФНО- α , γ -ИФН) и ЛПС в клетках организма, в том числе эндотелиоцитах, активируется i-NOS (Suda T. et al., 1996; Stefano G.B. et al., 1998; Bugno M. et al., 1999). Причем, активность ее в эндотелиальных клетках в 100-1000 раз выше активности конституционального фермента (c-NOS) (Stefano G.B. et al., 1998). По данным некоторых авторов, через 3-6 часов после введения ЛПС или ФНО- α у животных фиксируется экспрессия матричной РНК индуцибельной NO-синтазы, максимум индукции наступает через 6 часов (Grasemann H. et al., 1999; Li H., Forstermann U., 2000). Имеются сведения о том, что внутривенное введение ЛПС или цитокинов, таких как ИЛ-1 или ФНО- α вызывает гипотензивный шок вследствие гиперпродукции NO эндотелиальными клетками (Nadel S. et al., 1998; Миронов П.И., Альес В.Ф., 2000). Если убрать NO, развитие гипотензивного шока у крыс после введения ЛПС блокируется, что

подтверждается терапевтическим эффектом ловушки NO – 2-фенил-4,4,5,5-тетраметилимидазолин-1-оксил-3-оксида (PTIO): чем выше его доза, тем меньше гипотензивный эффект (Kong Q. et al, 1997). Таким образом, эти ситуации моделируют состояние системной воспалительной реакции организма (сепсиса), при которой избыточная продукция NO приводит к снижению тонуса сосудов и падению системного артериального давления, что является причиной коллапса и шока. В клинических условиях активация NO-синтазы и развитие гипотензивного состояния наблюдаются при проведении иммунотерапии с использованием цитокинов, в частности, интерлейкина-2 (Bloomfield G.L. et al., 1997).

Индукция NOS может происходить не только в эндотелии, но и в сосудистых гладкомышечных клетках (Kinlay S., Zanz P., 1997). Причем, она может быть вызвана не только ЛПС грамотрицательных бактерий, но также компонентами клеточной стенки грамположительных бактерий (Bloomfield G.L. et al., 1998) и вирусами, в частности, вирусом гепатита (Маеда Х., Акаите Т., 1998). Установлено, что в ходе воспалительной реакции локальная концентрация NO может возрасти более чем в 100 раз, при этом уровень метаболита NO – NO₃ в крови повышается в 15 раз, что приводит к неконтролируемой вазодилатации сосудов в очаге воспаления, в результате чего усиливается кровоснабжение, необходимое для удаления токсических продуктов, а в дальнейшем для поступления субстратов метаболизма и нужных для репарации компонентов, что является защитной реакцией на повреждение (Cirino G., 1998). В экспериментальных работах, выполненных на препаратах аорты, выделенной у крыс, которым вводили ЛПС или на аорте, которую инкубировали с ЛПС *in vitro*, показано снижение вазоконстрикторной реакции на норадреналин и сопутствующее увеличение циклического гуанозин-3',5-монофосфата (цГМФ), которое затем сопровождалось вазодилаторным эффектом, и устранялось ингибитором i-NOS-N^w-монометил-L-аргинином (L-NMMA) (Moncada S.,

Higgs E., 1995; Gibbons G.H. et al., 1997). Аналогичные результаты были получены с применением антагонистов NO, т.е. «ловушкой» NO - гемоглобином, метиленовым синим на аорте кролика, подвергнутого действию ИЛ-1, ЛПС и ФНО- α , которые вызывали снижение реактивности сосудов (Martin W. et al., 1985).

Вазодилататорный эффект NO в настоящее время хорошо изучен и подтвержден во многих экспериментальных и клинических исследованиях с применением доноров NO, как например, нитроглицерин и нитропруссид натрия (Luscher T.J., Tanner F.C., 1993). Установлено, что данный эффект опосредуется путем активации растворимой гуанилатциклазы и синтеза цГМФ – вторичного мессенджера NO в гладких мышцах сосудов, что способствует снижению содержания внутриклеточного Ca^{2+} и обеспечивает релаксацию гладких миоцитов (Северина И.С., 1998). Так, например в опытах *in vivo*, на изолированных сосудах легких, изолированной артерии молочной железы человека (Стокле Ж.К. и др., 1998) и в опытах *in vitro* с культурой эндотелиальных клеток (Rosolowsky M., Campbell W.B., 1993; Cirino G. et al., 1998) при действии воспалительных агентов отмечали повышение активности циклооксигеназы и усиление синтеза простагландина E_2 содружественно с повышением уровня NO, что сопровождалось увеличением проницаемости эндотелия и вазодилатацией. Однако, до сих пор неясно, каким образом осуществляется взаимодействие между NO-синтазой и метаболитами циклооксигеназного пути.

На модели аллергического воспаления обнаружено, что поражение сосудов легких и кожи крысы, вызванное иммунными комплексами, обусловлено высвобождением избыточных количеств NO (Barnes P.J., Liew F.Y., 1995; Cuzzocrea S. et al., 1999). В механизмах такого повреждения, по мнению авторов, важное значение имеет ингибирование дыхания митохондрий в культуре гладкомышечных клеток

сосудов и повреждение эндотелиальных клеток, обусловленных гиперпродукцией NO.

Применение ингибитора NO-синтазы N^w-монометил-L-аргинина (L-NMMA), а, следовательно, блокада избыточного синтеза NO способствовали снижению вазодилатации и препятствовали развитию экссудативных явлений при воспалении (Стокле Ж.К. и др., 1998). Аналогичное действие вызывали глюкокортикоиды, использование которых приводило к снижению синтеза NO (Wong H.R., 1998). Причем, один из этих агентов – дексаметозон – снижал уровень мРНК iNOS на уровне транскрипции (Bohrer H. et al., 1997; Kimura A. et al., 1997). Авторы делают выводы, что такое ослабление обусловлено способностью дексаметозона подавлять активацию NFκappaB, вызванную ИЛ-1 и ФНО-α, таким образом ингибируется транслокация NFκappaB в ядро и экспрессия iNOS.

В некоторых исследованиях показано, что помимо вазодилатации высокие концентрации NO-радикалов в очаге воспаления снижают адгезию и хемотаксис гранулоцитов (Bloomfield G.L. et al., 1997), изменяют метаболическую и секреторную активность макрофагов (MacMicking J. et al., 1997), в частности, ингибируют 5-липоксигеназу и НАДФН-оксидазу и тем самым снижают синтез медиаторов воспаления – лейкотриенов, O₂⁻ и простагландина E₂ (Mohazzab H. et al., 1999).

Усиление эмиграции нейтрофилов и их накопление в воздушном кармане крыс в ответ на инъекцию зимозана, продемонстрировано в работе Рауа М. (1997). Одновременно зафиксировали максимальное увеличение уровня нитритов и нитратов (NO₂⁻/NO₃⁻), хемокинов – макрофагального воспалительного белка-α (MIP-1α), ИЛ-8 и провоспалительного цитокина ИЛ-10 через час после инъекции. В интактной группе животных дикого типа с дефицитом i-NOS показатели уровня выше перечисленных веществ были незначительны, что по мнению авторов демонстрирует провоспалительную роль NO и его влияние на адгезию и эмиграцию лейкоцитов в очаг воспаления. В другой работе показано, что доноры NO sin-1

(3-morpholinohydroxide) и GEA 3162, GEA 3175 (1,2,3,4-oxatriazolixum, 5-amino-3(3,4-dichlorophynel)-chloride) подавляли адгезию ПЯЛ человека к эндотелиальным клеткам и, следовательно, эмиграцию индуцированную ФНО- α *in vitro* (Kosonen O. et al., 1999). Необходимо отметить, что процесс эмиграции зависит от количества NO и связан с увеличением синтеза цГМФ в полиморфноядерных лейкоцитах. При этом, аналоги цГМФ ингибируют адгезию ПЯЛ к эндотелиальным клеткам (Van Uffelen B.E. et al., 1996; Kosonen O. et al., 1999).

Важным источником NO при воспалении являются фагоцитирующие клетки (макрофаги, нейтрофилы), проявляющие, в таком случае, цитотоксические свойства (Mauro C. et al., 1995; MacMicking J. et al., 1997). Показано, что потенциальная способность фагоцитов генерировать NO повышается после их стимуляции. В эксперименте повышение бактерицидной способности достигалось при инкубации фагоцитов с кальциевым ионофором (Mauro C. et al., 1995). Такие стимулированные фагоциты отвечают на активирующий сигнал 2-3 кратным увеличением продукции NO и O_2^- и повышением фагоцитарной активности. Это явление получило название «предстимуляции» (прайминг) (Хараева З.Ф. и др., 2003).

Во многих экспериментальных исследованиях *in vivo* и *in vitro* показана способность провоспалительных цитокинов ИЛ-1, ФНО- α , ИЛ-2, ИЛ-8, ФАТ, Г-КСФ праймировать фагоциты и усиливать продукцию NO и O_2^- радикалов (Wheeler M.A. et al., 1997; Kim J.I. et al., 1999; Третьякова И.Е., Долгушин И.И., 2004), в то время как ИЛ-4, ИЛ-10, ИЛ-13 – снижают их синтез (Kirklin J.K., McGiffin D.C., 1999). Механизмы действия цитокинов до настоящего времени недостаточно ясны. Однако доказано, что эффекты Г-КСФ и ИЛ-8 реализуются посредством активации G-белков в нейтрофилах человека, которая приводит к усиленной эмиграции ПЯЛ в очаг воспаления (Moulding D.A. et al., 1998; De Voer O.J. et al., 1999; Тугуз А.Р. и др., 2002). ИЛ-8 и ФНО- α вызывают экспрессию генов, кодирующих РНК i-NOS,

при этом их эффект проявляется не только в отношении фагоцитирующих клеток, они также усиливают синтез i-NOS в гепатоцитах (Маеда Х., Аколете Т., 1998; Koken T., Inal M., 1999), фибробластах (Xu W. et al., 1996), β -клетках поджелудочной железы (Saols A. et al., 1999; Zumsteg U. et al., 2000) и клетках щитовидной железы (Masullo P. et al., 2002).

В последнее время удалось показать, что в присутствии ИЛ-1 α , ФНО- α и γ -ИФН нейтрофилы человека экспрессируют i-NOS, появляющуюся в первичных гранулах совместно с миелопероксидазой и, в результате чего, убивают *Staphylococcus aureus* путем нитрования тирозиновых остатков бактериальных белков (Wheeler M.A. et al., 1997; Ковальчук Л.В., Хараева З.Ф., 2003).

В литературе имеются данные о том, что NO-синтаза и миелопероксидаза локализованы в первичных гранулах ПЯЛ и попутно секретируются во внеклеточное пространство при активации нейтрофилов. Таким образом, можно ожидать, что миелопероксидаза должна присутствовать там, где наблюдается высокая концентрация NO, а именно в зоне воспаления, что было подтверждено в работе Экменси О.Б. и соавт. (2004) у пациентов с бронхиальной астмой. Кроме того, на моделях воспаления показано, что миелопероксидаза ПЯЛ способна снижать NO-зависимое расслабление кровеносных сосудов и активацию гуанилатциклазы посредством регуляции концентрации NO (Арнхольд Ю., 2004).

Необходимо отметить, что человеческие макрофаги плохо активируются γ -ИФН в отличие от макрофагов грызунов (Toda N., 1999). Однако они хорошо активируются иммунологическими активными витаминами: ретиноевой кислотой и 1,25(OH) $_2$ – витамином D $_3$ (MacMicking J. et al., 1997). Исследуя активирующее действие γ -ИФН отмечали, что макрофаги человека проявляли цитотоксическую активность в отношении *Mycobacterium tuberculosis* в присутствии γ -ИФН, опосредованную продукцией NO, при совместном культивировании с лимфоцитами периферической крови

(Nicholson S. et al., 1996). Экспрессия i-NOS и антибактериальная активность были зарегистрированы не только у сегментоядерных ПЯЛ, но и у промиелоцитов человека линии HL-60 под действием ЛПС и витамина D₃ в отсутствие γ -ИФН (Shacter E., Weitzman S.A., 2002).

Кроме того, исследования на клеточных культурах показали, что на образование кислородных радикалов в период фагоцитоза приходится от 20% до 90% бактерицидного действия фагоцитирующих клеток (Di Mauro C. et al., 1995). Известно, что гранулоциты имеют на вооружении три ферментативных системы синтеза кислородных радикалов: НАДФН-оксидазу, миелопероксидазу и NO-синтазу (Borregart T. et al., 1993). В макрофагах преимущественно представлены НАДФН-оксидаза и NO-синтаза (MacMicking J. et al., 1997).

В ряде исследований установлено резкое усиление продукции O_2^- в результате повышения активности НАДФН-оксидазы при стимуляции гранулоцитов: так, один нейтрофил способен синтезировать 200 млн молекул O_2^- в 1 сек (Grisham M.V. et al., 1998). Считается, что O_2^- не обладает непосредственной микробоцидной активностью, а является инициатором каскада реакций, приводящих к образованию кислородных радикалов и, в частности, ONOON⁻ (Kosaha H., 1999). Пероксинитрит – сильный окислитель с продолжительностью жизни 1-2 сек, способный мигрировать в ткани и окислять NH- и SH-группы белков и индуцировать процессы ПОЛ в мембранах. Показано, что в концентрации 250 мкмоль пероксинитрит повреждает и вызывает 80%-ую гибель бактерий *E. coli* (Chakravotty D., Kumar K., 1999; McBride A. et al., 1999).

На модели каррегинин индуцированного плеврита у крыс отмечали экспрессию i-NOS и нитротирозина в легочных макрофагах, образование большого количества O_2^- и ONOON⁻, что приводило к повреждению ДНК, понижению дыхания митохондрий, дисфункции эндотелия и понижению клеточного

уровня H_2O_2 в макрофагах (Medeiros M.V. et al., 1995; Cuzzocrea S. et al., 1999).

В других исследованиях при использовании в виде ингаляции NO (in vivo) четко зарегистрировано противовоспалительное действие NO , что выражалось в значительном уменьшении повреждения легких и воспаления в ответ на внутривенное введение ЛПС (5 мг ЛПС на 1 кг массы) у кроликов и сопровождалось подавлением активности $\text{NF-}\kappa\text{B}$, снижением уровня белка и экссудата в бронхоальвеолярном лаваже, уменьшением притока нейтрофилов и активности альвеолярных макрофагов (Кастранова В., 2004).

Применение in vivo Mn TBAP ($\text{Mn(III)tetrakis(4-benzoic acid)porphyrin}$) – «уборщика» ONO_2^- и соединений с супероксиддисмутазной активностью понижали образование O_2^- и ONO_2^- , что, в свою очередь, приводило к понижению эмиграции и экссудации в плевральную полость (Cuzzocrea S. et al., 1999). Аналогичные результаты in vivo получены с применением метионина (15мг/кг внутривенно) известного скавенджера (уборщика) пероксинитрита (Van Uffelen B.E. et al., 1998). Авторы делают вывод, что эндогенный метионин может играть защитную роль при повреждении в зоне воспаления.

В исследованиях Kurose G. (1995) также показано, что активированные лейкоциты генерировали значительное количество H_2O_2 потенциального агента, вызывающего нейтрофил-эндотелиальную адгезию, увеличение проницаемости посткапиллярных венул и накопление альбуминов в брюшной полости крыс (Kurose G. et al., 1995). При этом обнаружена обратная корреляция между уровнями H_2O_2 и NO . Анализ результатов других исследований показал, что повреждение эндотелия сосудов и трансэндотелиальная эмиграция лейкоцитов связаны с нарушением баланса между образованием ONO_2^- , O_2^- прооксидантных элементов сосудистого эндотелия с одной стороны и антиоксидантами и NO с другой (Murphy K. et al., 1998). Таким образом, преобладание активности одной из сторон может играть

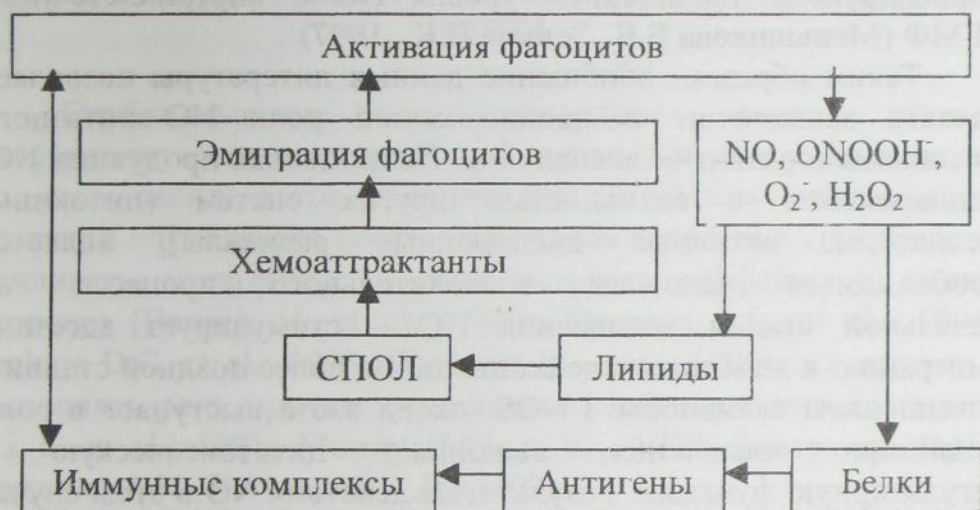
ключевую роль в усилении или ослаблении воспалительного процесса.

При низких концентрациях pH среды, характерных для очага воспаления, существенный вклад в цитотоксическое действие пероксинитрита вносит образующийся из него OH-радикал (Beckman J.S. et al., 1990; Хецуриани Т.Р. и др., 2004). Так, показано, что более чем на 50% повреждающий эффект обусловлен OH-радикалами в реакциях фагоцитоза. При этом в клетках зоны воспаления отмечали деструкцию нуклеиновых кислот и мембранных белков. Применение ингибиторов OH-радикалов (диметилсульфоксид, диметилтиомочевина) приводило к снижению цитотоксического действия фагоцитирующих клеток (Baue A.E., 1997).

Имеются также данные о том, что цитотоксическое действие NO может зависеть от образования нитрита (NO_2^-) и нитрата (NO_3^-), которые являются сильными окислителями (Gryglewski R.E. et al., 1986). Так, была установлена токсичность NO_2^- и NO_3^- в отношении бактерий *E. coli*. Гибель бактерий значительно возрастала при низких pH, в присутствии H_2O_2 и миелопероксидазы (Kosaka H., 1999).

Несмотря на то, что мы рассматривали эффекты NO и его производных при острых воспалительных процессах, нельзя не отметить важную роль NO при хронической патологии: так, воспаление в области поджелудочной железы часто приводит к сахарному диабету, возможной причиной которого является экспрессия NO-синтазы в β -клетках, которая, по мнению авторов, совместно с НАДФН-оксидазой фагоцитов вызывает деструкцию инсулин-продуцирующих клеток (Строков И.А. и др., 2000) и стимулирует клетки иммунной системы, вызывая аутоиммунное поражение β -клеток (Киплани В.А. и др., 2004). В клетках щитовидной железы также отмечали повышенную активность i-NOS, и, в таком случае, тиреоидная железа может явиться мишенью для аутоиммунной атаки у человека (Hermenegildo C. et al., 2002). В основе развития аутоиммунных

патологий и хронических воспалительных процессов может лежать образование так называемого «порочного круга» (рис.).



В настоящее время накопилось значительное количество данных, свидетельствующих об участии NO и его производных в регуляции клеточной пролиферации при воспалительных процессах. Так, отмечено, что NO, образующийся при стимуляции фагоцитов ЛПС, γ -ИФН, ФНО- α , ингибирует пролиферацию гладкомышечных клеток, сосудов и клеток костного мозга (Chung S.J. et al., 1990; Chester A.H. et al., 1998). При некоторых инфекционных патологиях и травмах NO-радикалы ингибируют пролиферацию лимфоцитов, индуцированную Т- и В-клеточными лимфогенами, обусловленную высоким уровнем генерации NO активированными макрофагами, что приводит к иммуносупрессии (Clot J., Andry J.M., 1990; Wang X. Et al., 1998). Предполагается, что в основе антипролиферативного действия NO может лежать инактивация железосодержащих ферментов, отвечающих за синтез АТФ и репликацию ДНК, либо повреждение ДНК (Маеда Х., Акаите Т., 1998; Jensen U.B. et al., 1999). Авторы считают, что антипролиферативный эффект NO опосредуется посредством

регуляции продукции цитокинов, в частности ИЛ-1 β , ИЛ-6, ИЛ-8 и простагландинов, ингибирование синтеза которых коррелирует с увеличением уровня NO и внутриклеточного цГМФ (Меньщикова Е.Б., Зенков Н.К., 1997).

Таким образом, обобщение данных литературы позволяет сделать заключение о неоднозначной роли NO-синтазного механизма в развитии воспаления. Полноценная продукция NO, одновременно с активностью других систем (цитокины, медиаторы, активные кислородные радикалы), является необходимым условием воспалительного процесса: на начальной стадии воспаления NO – стимулирует адгезию, эмиграцию и хемотаксис лейкоцитов. На более поздней стадии с повышением активности i-NOS, оксид азота выступает в роли медиатора воспаления, выполняет цитотоксическую и регуляторную функции. Результатом действия NO в этом случае являются вазодилатация, накопление экссудата и удерживание активированных лейкоцитов в очаге воспаления, фагоцитоз. Поэтому, учитывая особую роль NO в воспалительном процессе, остается актуальным, по нашему мнению изучения его влияния на процессы эмиграции лейкоцитов при местных воспалительных процессах и воспалении с выраженным системным ответом.

Глава 4.

РОЛЬ ОКСИДА АЗОТА В ПАТОГЕНЕЗЕ ОПУХОЛЕВОГО РОСТА

Опубликованные за последние годы данные экспериментальных исследований *in vivo* и *in vitro* указывают на то, что оксид азота обладает двойственным действием в развитии опухолевого роста, которое заключается в способности усиливать мутагенные и канцерогенные эффекты с одной стороны (Bartsch H. et al., 1992; Thomsen L.L. et al., 1994; Jenkins D.C. et al., 1995; Wiseman H. et al., 1996), а с другой – выполнять роль противоопухолевого и антипатогенного агента (Li L. et al., 1991; Murray H.W. et al., 1992; Запорожан В.Н., Гоженко А.И., Корнеенко Т.В., 2002).

Известно, что вследствие своих мультипотентных свойств NO участвует на всех этапах патогенеза неоплазий, традиционно подразделяемого на инициацию, промоцию, прогрессию, инвазию и метастазирование (Bartsch H. et al., 1992; Wiseman H. et al., 1996; Петрищев Н.Н., Дубина М.В., 1999).

В различных экспериментальных условиях показаны мутагенные свойства NO, в частности, способность повреждать структуру ДНК (Zhuang J.C. et al., 1998). Пероксинитрит (ONOO⁻) – производное NO, специфически модифицирует ДНК у 5-го конца в теломере, что может быть одной из причин иммортализации (безсмертия) клеток (Раков А.Л. и др., 1999). Другие реакции этого высокоактивного соединения азота вызывают дезаминирование или нитрование оснований гуанина и аденина (Nguyen T. et al., 1992). Кроме того, отмечают, что избыточная продукция NO в ткани при воспалении приводит к нитрованию тирозиновых остатков p53 белка – противоопухолевого гена в клетках, нарушая его функции и, играя, таким образом, важную роль в канцерогенезе (Aubert L. et al., 2000). Выход мутаций, инактивирующих противоопухолевый ген p53 в клетках рака толстой кишки и аденокарциномы легких,

прямо коррелирует с ростом активности i-NOS в малигнизированной ткани (Ambbs S. et al., 1999). Показано участие NO в окислительной деградации ДНК эпителиальных клеток легких при асбестозе, значимом антропогенном факторе риска развития опухолей легких (Chao C.C. et al., 1996).

Необходимо отметить, что в опухолях репродуктивной системы (рак шейки матки, эндометрия, яичников), функционируют три изоформы NO-синтазы – iNOS, eNOS и nNOS (Hamaoka R. et al., 1999). Анализ экспрессии данных оксидаз показал, что iNOS экспрессируется в 90% опухолей, некоторые виды опухолей экспрессируют в ряде случаев также eNOS и nNOS. Причем, повышение активности iNOS положительно коррелирует со стадией заболевания и степенью инвазии опухолей. Высокая степень корреляции между уменьшением времени жизни без рецидива и повышением содержания i-NOS в малигнизированной ткани была обнаружена у пациентов с аденокарциномой эндометрия (Benitz B.Z. et al., 1997). Увеличение цитоплазматической локализации фермента коррелировало с усилением инвазии. Существенное повышение активности i-NOS было зарегистрировано также в клетках низкодифференцированных опухолей яичников (Thomsen L.L. et al., 1998). Установлено, что нейтрофилы являются доминирующим типом клеток, инфильтрирующих опухоль. Так, при гистологическом изучении растущей подкожно опухоли была выявлена значительная корреляция между количеством нейтрофилов, частотой мутаций, а также iNOS и, соответственно, NO нейтрофильного происхождения. Кроме того, было зафиксировано, что увеличение числа инфильтрирующих нейтрофилов с помощью ИЛ-8 и простагландина E_2 приводило к увеличению числа мутаций. Так как нейтрофилы – мощный источник генотоксического кислорода и/или NO, авторы пришли к выводу, что нейтрофилы инфильтрирующие опухоль являются мутагенными и содействуют генетическим повреждениям, связанным с опухолевой прогрессией (Sanduhu J.K. et al., 2000).

Как свидетельствуют некоторые данные мишенью в клетке, которая может быть чрезвычайно значимой для индукции опухолей, являются ферменты репарации ДНК, а также регуляции белка (Jaiswal M. et al., 2000). В результате изменения активности этих белков повреждения ДНК не удаляются или репарируются неправильно, что в конечном итоге может быть причиной мутации. Так, было обнаружено 3 таких фермента: алкилтрансфераза, ДНК-лигаза, формамидопиримидин – ДНК-гликозилаза (Wink D.A. et al., 1998). Причем, реакция с последним ферментом показала важную способность NO вытеснять Zn^{2+} из мест хелатирования в белках, а эти связи кодируются почти 1% клеточной ДНК и необходимы для связывания регуляторных белков с ДНК. Считают, что подобным образом NO непосредственно связывается с железосодержащими белками, образуя динитрозольные комплексы железа, которые в свою очередь являются эндогенными депо NO.

Установлено, что избыточный синтез NO, который наблюдается при многих инфекционных, воспалительных и аутоиммунных процессах (Маеда Х., Акаике Т., 1998), а в ряде случаев (*Helicobacter pilory*, *Schistosoma haematobium*, гепатит С) может становиться причиной развития опухолевого процесса (Kane J.M. et al., 1997; Yabuki N. et al., 1997; Mohsen A.A. et al., 1999).

Не подлежит сомнению важное значение связи между воспалением и развитием опухоли. Так, результаты исследований, продемонстрированные в работе Маеда Х., Акаике Т. (1998), свидетельствуют о том, что оксид азота, супероксид и продукт их реакции – пероксинитрит, образующиеся при инфекционных заболеваниях, играют существенную роль в патогенезе этих заболеваний, модифицируя белки и повреждая нуклеиновые кислоты. В условиях хронического воспаления, длящегося годами, эти эффекты способствуют мутагенезу и могут инициировать, таким образом, канцерогенез. В работе Jaiswal M. et al. (2000), показано что активация iNOS и избыточная продукция NO,

индуцированная цитокинами ИЛ-1 β , ИФН- γ , ФНО- α в клеточных линиях холангиокарциномы, вызывала повреждение ДНК и ингибировала белки репарации ДНК.

Обнаружено, что у пациентов с карциномой поперечноободочной и прямой кишки значительно повышен уровень плазменных нитратов/нитритов и понижена активность антиоксидантных систем, что указывает, по мнению авторов, на вовлечение эндогенно образованного NO и свободных радикалов в этиологию опухолевого роста (Gallo O. et al., 1999).

Еще один возможный механизм канцерогенного действия NO связан с его влиянием на дифференцировку клеток. Выявлено, что NO (донор NO – нитропруssid натрия) ингибирует дифференцировку человеческих K562 лейкемических клеток, вызванную противоопухолевыми препаратами (акларубицин, доксорубицин, масляная кислота) (Molle I., Jeannesson P., 1999).

В настоящее время известно, что васкуляризация новообразований является важным признаком проявления у них злокачественности. На определенном этапе, когда опухоль достигает размера 2-4 мм, для удовлетворения трансформированных клеток в питании вместе с ними разрастается сосудистая ткань. Причем, число и размеры сосудов в опухоли с высокой достоверностью соответствуют интенсивности ее роста, инвазии и метастазирования (Fidier I.J. et al., 1994). Так, было установлено, что NO повышает проницаемость сосудов, улучшая питание опухоли. При этом пероксинитрит инактивируя ингибитор α 1-протеазы, активизирует металлопротеиназы матрикса (Maeda H. et al., 1999). В других исследованиях обнаружено, что NO содействует регуляции ангиогенеза посредством ангиогенных пептидов (фактора роста фибробластов (ФРФ)). Повышение уровня цитозольных нитратов и цитруллина у пациентов с опухолью мочевого пузыря коррелировало с повышением уровня ФРФ. Следовательно, ангиогенные пептиды, модулируемые NO, могут быть мишенью для антиангиогенной терапии рака мочевого пузыря (Khalifa A. et al., 1999). Применение ингибиторов iNOS

in vivo подавляет ангиогенез в мышечной опухоли C3L5 (Jadeshi L.S., Iala P.K., 1999).

Известно, что фактор роста эндотелия сосудов (ФРЭС) также играет существенную роль в процессах роста опухоли. Так, у пациентов при раке желудка отмечалась значительная корреляция между стадией заболевания, содержанием NO в сыворотке крови (опосредованно через NO_2^-) и показателями ФРЭС (Ziche M. et al., 1999). Ангиогенез в образцах опухолей, имплантированных в переднюю камеру глаза кролика замедлялся при введении ингибитора NO – L - NAME (Ziche M. et al., 1997).

Следует добавить, что пептиды, выделяемые опухолью (например: брадикинин, опухолевый фактор роста – ФРО- β (Lagadec P. et al., 1999)) экспрессируют различные изоформы NOS в опухолевых клетках, эндотелии сосудов малигнизированной ткани. В результате увеличения концентрации NO – радикал взаимодействует с новыми мишенями как, например, ядерный фактор карра В (NF κ B), результатом такой регуляции является увеличение продукции простагландинов E_2 (Wilson K.T. et al., 1998) и ФРЭС (Gallo O. et al., 1998), что в свою очередь, приводит к повышению проницаемости сосудов и усилению притока питательных веществ в опухоль.

Нельзя не отметить способность NO влиять на процесс метастазирования. Так, наблюдалось угнетение спонтанного легочного метастазирования у мышей с опухолью EMT-6 (Edwards P. et al., 1996) и аденокарциномой C3-L5 с применением ингибитора NOS – L-NAME (Orucevic A. et al., 1999). В других исследованиях показано, что экспрессия iNOS в опухолевых клетках подавляет их метастатическую активность и подтверждается это эффективностью терапии печеночных метастазов синтетическим липопептидом – сильным индуктором синтеза NO. Многократная обработка этим веществом мышей с саркомой M5076 приводила к полной регрессии опухолей (Xie K.P., Fidler I.J., 1999).

В литературе также имеются сведения о влиянии клеточных компонентов крови на взаимодействие опухолевых клеток и эндотелия в процессе метастазирования, и что этот процесс зависит от количества и функциональной активности лейкоцитов. Так, наиболее выраженное метастазирование наблюдается в присутствии активированных ПЯЛ и макрофагов, в то время как введение Т- и В- лимфоцитов не влияет на степень метастазирования (Starkey J.R. et al., 1984). Авторы предполагают, что возможно, высокая степень метастазирования объясняется взаимодействием опухолевых и эндотелиальных клеток через контактную поверхность лейкоцитов, а также может определяться взаимодействием опухолевых клеток с разными группами селектинов и их адгезией к нейтрофилам (*L*-селектин), активированного эндотелия (*E*-селектин) или тромбоцитов (*P*-селектин) (Mannori G. Et al., 1995).

Имеются доказательства того, что лейкоциты могут быть механическим препятствием для злокачественных клеток на микроциркуляторном уровне вследствие нарушения способности изменять форму и адгезии лейкоцитов к эндотелию под действием, например, ФНО- α (Betticher D.C. et al., 1993). Поэтому, учитывая увеличение количества данного цитокина при опухолевом росте, можно предположить, что индуцируемое опухолевым процессом увеличение ригидности стенок лейкоцитов будет способствовать адгезии и обструкции ими микрососудов и служить препятствием для циркулирующих злокачественных клеток в различных тканях организма.

Таким образом, обобщенные выше данные показывают, что оксид азота играет значимую роль в индукции канцерогенеза, в частности, мутации, промоции опухолевого роста и ангиогенеза в организме человека и животных.

Как мы упоминали ранее, результаты экспериментов указывают на двойственную роль эндогенно продуцируемого NO при канцерогенезе – про- и антиопухолевом. На основании многочисленных исследований было установлено, что достаточно продолжительная гиперпродукция NO с

накоплением в высоких концентрациях его окисленных метаболитов нитритов и нитратов способны стимулировать канцерогенез. Напротив, временная гиперпродукция NO иммунокомпетентными клетками (макрофагами, нейтрофилами) может оказывать цитолитическое/цитостатическое влияние на опухолевые клетки, тормозить в них синтез ДНК (Stuehr D.J., Marletta M.A., 1987; Li L. et al., 1991; Murray H.W. et al., 1992; Jenkins D.C. et al., 1995; Rosales A.A., Ruque R.S., 1997). Таким образом, анализ результатов позволяет высказать предположение о том, что эффекты NO являются дозозависимыми.

Заслуживает внимания также способность NO индуцировать программированную гибель клетки – апоптоз. В механизмах этих эффектов NO важное значение имеет накопление белка p53 (Gloszcin S. Et al., 1999), увеличение уровня перекиси водорода (H_2O_2) и липидных перекисей (Suzuki K. et al., 2000), а также активация каспаз-1;3;6 (Umansky V. et al., 2000). Кроме того, цитотоксический эффект NO установлен не только в отношении опухолевых клеток, но и клеток системы противоопухолевой защиты, в частности активированных макрофагов, эффекты которых также зависят от их собственной устойчивости к NO-опосредованному апоптозу, которая определяется уровнем цАМФ (von Knetheno A. et al., 1999).

В исследованиях Vernabei P., Vorticardo M. (1999) показано, что NO угнетает пролиферацию, снижает экспрессию антиапоптотического белка Bcl-2 и подвергает апоптозу нормальные и опухолевые Т-лимфоциты человека. Установлено также, что торможение макрофагами опухолевого ответа цитотоксических Т-лимфоцитов опосредуется NO и является побочным эффектом активированных макрофагов *in vivo* (Medot-Pirrenne M., Heilman M.J., 1999). Такая супрессорная деятельность макрофагов является важным регулирующим компонентом в отношении цитотоксичности Т-лимфоцитов.

Цитотоксическое действие NO на опухолевые клетки показано на модели с применением супероксиддисмутазы,

которая элиминирует супероксид-радикал (O_2^-) – мощный перехватчик оксида азота. Инъекции мышам лецитинизированной супероксиддисмутазы подавляли легочное метастазирование Meth A-Т клеток. При добавлении донора NO (SNAP) этот эффект уменьшался (Takenada M. et al., 1999). Таким образом, опухолевые и метастазирующие клетки отличаются высокой чувствительностью к цитотоксическому действию NO.

В целом, приведенные исследования свидетельствуют о существенном значении оксида азота в биологии злокачественных новообразований. Эта молекула может выступать как эффектор противоопухолевой защиты хозяина и как индуктор неоплазий при хроническом воспалении или инфекции. При ряде опухолей показатели метаболизма оксида азота и его взаимосвязь с другими компонентами защиты несут полезную диагностическую и прогностическую информацию. Следовательно, управление синтезом NO в организме опухоленосителя и в самой опухолевой ткани может иметь существенное значение для профилактических мероприятий и для противоопухолевой терапии.

Таким образом, можно заключить, что изучение роли оксида азота при воспалительных и опухолевых процессах остается актуальной проблемой не только для теоретической науки, но и для практического здравоохранения. Представленные выше данные литературы указывают на необходимость изучения активности лейкоцитов и их важную роль при данных патологических процессах. В то же время обзор публикаций указывает на недостаточность сведений о механизмах эмиграции лейкоцитов и роли оксида азота в этом процессе.

Глава 5.

ЭМИГРАЦИЯ ЛЕЙКОЦИТОВ НА СЛИЗИСТУЮ РОТОВОЙ ПОЛОСТИ И ОБМЕН ОКСИДА АЗОТА ПРИ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ И ОПУХОЛЕВЫХ ПРОЦЕССАХ

5.1. Материалы и методы исследования.

При изучении эмиграции лейкоцитов на слизистую оболочку ротовой полости и обмена оксида азота были применены следующие методологические подходы:

- проведено изучение интенсивности эмиграции лейкоцитов на слизистую оболочку ротовой полости у пациентов с опухолевыми процессами (опухоли тела и шейки матки, острый и хронический миелолейкозы) и воспалительными процессами (острое воспаление легких, протезный стоматит).
- изучение функциональной (метаболической) активности лейкоцитов ротовой полости и крови по показателям восстановления нитросинего тетразолия (НСТ-тест).
- исследование метаболизма оксида азота по данным содержания его метаболитов в слюне, смывах полости рта и плазме крови во всех вышеуказанных группах.
- исследование взаимосвязи содержания молекул средней массы, осмоляльности, кальция (Ca^{2+}) в ротовой полости (слюна, смывы) и в плазме крови во всех группах пациентов.
- корреляционный анализ и установление взаимосвязи между изучаемыми показателями слюны, смывов и плазмы крови.
- изучение влияния донора оксида азота – нитроглицерина в составе жидкости для полоскания полости рта на интенсивность эмиграции лейкоцитов у здоровых людей.

Материалы исследования:

Для исследования были выбраны кровь, плазма крови, смешанная нестимулированная слюна и смывы ротовой полости как взаимосвязанные биологические жидкости, компоненты которых отображают состояние системного и местного уровня

защиты организма, а также составляющая часть крови и жидкости полости рта – полиморфноядерные лейкоциты (ПЯЛ).

Исследования проведены у 38 здоровых лиц и у 81 больного с различными видами патологических процессов. Сведения по данным группам представлены в таблице 5.1.1. Как видно из таблицы, первую группу составляли женщины со злокачественными опухолями (аденокарцинома) тела (8 женщин) и шейки матки (8 женщин) первой и второй стадий без метастазов. Исследования у женщин этой группы проводили в динамике – в день операции, через 7 дней после операции и после трехнедельного курса лучевой γ -терапии, день и доза которой определялись врачом индивидуально.

Таблица 5.1.1

Данные о возрасте пациентов и количестве зубов в исследуемых группах ($M \pm m$)

Обследованные группы	Средний возраст, лет	Среднее количество зубов
Женщины с аденокарциномой шейки и тела матки, n=16	44,1 \pm 8,4	29,4 \pm 1,9
Пациенты с острым воспалением легких, n=17	39,6 \pm 8,3	30,4 \pm 1,3
а) Пациенты с острым миелолейкозом, n=14	40,4 \pm 12,4	27,9 \pm 2,2
б) хроническим миелолейкозом, n=17	47,8 \pm 7,2*	28,4 \pm 1,6
Пациенты с протезным стоматитом, n=17	64,4 \pm 3,5*	8,3 \pm 3,9*
Практически здоровые лица, n=10	52,1 \pm 9,1	27,0 \pm 0,8
n=28	25,5 \pm 6,01	31,6 \pm 0,5
Практически здоровые лица (промывание с нитроглицерином 0,025 мг/мл), n=15	20,5 \pm 1,2	31,7 \pm 0,4

Примечание. * – $P \leq 0,05$ – возможность отличий исследуемых показателей в сравнении с контролем.

Вторую группу больных составляли 13 мужчин и 4 женщины с острым воспалением легких. Исследования в этой группе проводились непосредственно в день поступления в стационар.

В третью группу вошли 31 человек (11 женщин и 20 мужчин) с острым миелолейкозом (14 человек) и хроническим (17 человек) в стадии акселерации и бластного криза. Пациентам проводили исследование в первый день поступления до применения необходимого курса химиотерапии.

Четвертую группу составляли пациенты (17 человек) с протезными стоматитами. Исследования проводились через 7 дней после постановки полных или частично съемных мостовидных акриловых протезов.

Дополнительно было проведено исследование интенсивности эмиграции лейкоцитов на слизистую оболочку ротовой полости у здоровых людей (15 человек), с использованием донора оксида азота – нитроглицерина – активного вазодилататора, который используется во врачебной практике в виде таблеток (0,0005г).

Пациенты с кариозной или некариозной патологией зубов и выраженными изменениями пародонта, а также курящие в число обследуемых не включались. Кроме того, здоровые люди перед непосредственным проведением комплекса исследований с целью исключения наличия острых и хронических инфекционных, а также соматических заболеваний, стресса, были обследованы терапевтом, стоматологом и оториноларингологом. Клинические результаты обследования свидетельствовали о том, что в данной группе не выявлено функциональных отклонений со стороны деятельности внутренних органов, а также отсутствовали признаки инфекций и воспалительных процессов, аллергии и др. Отклонений со стороны полости рта таких как кариес зубов, гингивит, пародонтит, тонзилит и т.п. установлено не было. Таким

образом, данная группа могла быть использована как «контрольная».

Методы исследования.

Поскольку объектом исследования служили биологические жидкости организма (плазма крови, слюна, смывы ротовой полости и лейкоконцентрат ПЯЛ) необходимо было выполнить ряд последовательных действий для их получения.

Так, забор крови, получение нестимулированной смешанной слюны и смывов ротовой полости фосфатным буферным раствором $pH=7,2$ проводили в одно и то же утреннее время ($8^{00} - 9^{00}$) до еды. Кровь брали из локтевой вены в количестве 6 мл. Вносили в стерильные пластиковые пробирки, которые содержали гепарин из расчета 25 ед на 1 мл крови, смешивали. Кровь (1 мл) использовали для проведения НСТ-теста, другую часть – (5мл) центрифугировали 15 мин при 2500 об/мин при комнатной температуре для получения плазмы, которая в дальнейшем использовалась для определения содержания нитритов (NO_2^-), кальция (Ca), молекул средней массы (МСМ), а также осмоляльности.

Нестимулированную смешанную слюну получали путем сплевывания в пластиковые пробирки в количестве приблизительно 4 мл. После этого проводили промывания ротовой полости фосфатным буферным раствором $pH=7,2$ по методу последовательных промываний для получения смывов ротовой полости. Затем слюну и смывы очищали от слизи и других веществ путем центрифугирования на протяжении 15 мин при 1500 об/мин. Полученный осадок со смывов, который содержал лейкоконцентрат, состоящий, в основном, из нейтрофилов и клетки слущенного эпителия, в дальнейшем использовали для проведения НСТ-теста. Надосадочную жидкость слюны и смывов использовали для определения концентрации тех же веществ, что и в плазме крови.

Для определения интенсивности эмиграции лейкоцитов на слизистую оболочку ротовой полости, которая позволяет обнаружить патологические изменения организма при заболеваниях клеток системы крови, опухолях, воспалительных процессах местного и системного характера, использовали методику последовательных промываний ротовой полости по Ясиновскому М.А. в модификации Сукманского О.И. и соавт. (1980), с помощью которой динамика эмиграции лейкоцитов стала доступна количественному подсчету. С этой целью, утром до еды, в одно и то же время проводились сначала подряд 4 обычные промывания рта 10 мл фосфатным буферным раствором (рН=7,2) (по 50 ополаскивающих движений, с помощью щек и губ каждое на протяжении 30 сек) для постепенного удаления со слизистой оболочки слизи, а также бактерий, остатков пищи и т.д. При следующих 3-х промываниях, проведенных с промежутками в 5 мин и 30 секундным промыванием (50 ополаскивающих движений), промывная жидкость собиралась в 3 пробирки (5-я, 6-я, 7-я). Каплю промывных вод (5, 6, 7 промываний) помещали пипеткой в камеру Фукс – Розенталя с заранее притертым стеклом и подсчитывали под малым увеличением микроскопа (объектив 10х, окуляр 15х) число лейкоцитов. Количество лейкоцитов, которые эмигрировали за 5½ мин в (5-7 смывах), определяли по формуле:

$$E = \frac{A \cdot 10000}{3,2} \quad 5.1$$

Где: А – число лейкоцитов во всей сетке;

10000 – объем (в мкл) буферного раствора для полоскания (рН=7,2);

3,2 – объем камеры (в мкл).

Количество лейкоцитов, которые эмигрировали за 1 мин, рассчитывают по формуле:

$$\frac{E_{\text{ср}}}{5,5 \text{ мин}} = E_{\text{мин}}, \quad 5.2$$

Где: $E_{\text{ср}}$ – среднее количество лейкоцитов (в 5-7 смывах).

Оксид азота (NO) – одно из соединений системы неспецифичной защиты ПЯЛ. После активации Т-лимфоцитами или бактериальными эндотоксинами макрофаги, нейтрофилы, эндотелиальные клетки синтезируют NO, который быстро проникает в микроорганизмы, опухолевые клетки, где ингибирует ферменты важные для дыхания и жизнедеятельности клеток (Moilanen E., Vapaatato H., 1995; Сахно Л.В. и др., 2000). Методика, в основу которой положен способ определения конечного стабильного продукта неферментативного окисления NO нитрит-аниона (NO_2^-), который образуется в результате взаимодействия NO с водой, дает возможность судить о количестве синтезированного NO (Green L.C. et al., 1982). Суть методики состоит в спектрофотометрическом (при длине волны 540 нм) определении NO_2^- в исследуемых жидкостях – плазме крови, смешанной нестимулированной слюне и смывах ротовой полости. Для выявления (NO_2^-) использовали реактив Грисса (раствора сульфаниламида и N-нафтил-этилендиамин дигидрохлорида в 30% ледяной уксусной кислоте) в качестве цветового реагента (дает малиновое окрашивание при наличии NO_2^- в жидкостях). Полученные результаты соотносили со стандартной калибровочной кривой, полученной на основе серийных разведений растворов нитрита натрия в диапазоне концентраций от 10 до 1000 мкмоль.

Содержание NO_2^- в биологических жидкостях рассчитывали по формуле:

$$\text{NO}_2 \text{ (мкмоль/л)} = \frac{E_{\text{иссл.}} \times K_{(\text{NaNO}_2)} \text{ мкмоль/л}}{E_{\text{ст NaNO}_2}} \quad 5.3$$

Где: $E_{\text{иссл}}$ и $E_{\text{ст}}$ – поглощение, соответственно исследуемой пробы и стандартного образца;

K – концентрация NaNO_2 , рассчитанная по калибровочной кривой.

(5.2) Для изучения состояния функциональной (метаболической) активности ПЯЛ у здоровых и больных людей использовали реакцию восстановления нитросинего тетразолия (НСТ-тест), что дает возможность обнаружить наличие “метаболического взрыва” и образования кислородных радикалов (супероксиданиона, гидроксильного радикала, перекиси водорода, оксида азота), которые образуются в нейтрофильных гранулоцитах в связи с процессом фагоцитоза (Бумагина Т.К., Шмелев Е.И., 1981). Тест базируется на способности гранулоцитов фагоцитировать бесцветный краситель тетразолиевого ряда – нитросиний тетразолий и потом восстанавливать его в нерастворимый формазан темно-синего цвета с помощью НАДН и НАДФН – оксидаз, который может быть выявлен при световой микроскопии. Методику проводили в двух вариантах – для спонтанного восстановления нитросинего тетразолия нейтрофилами (спонтанный НСТ-тест) и стимулированного латексом (искусственно стимулированный НСТ-тест) для выявления “резервной” функциональной активности (Бажора Ю.И. и др., 1981; Темирбаев М.А., Хасенова Б.Д., 1989), то есть усиленной способности ПЯЛ к фагоцитозу. Кровь из локтевой вены брали в силиконизированные пробирки с 25 ед/мл гепарина, к 0,1 мл крови прибавляли 0,05 мл 0,15М фосфатного буферного раствора $\text{pH}=7,2$ (спонтанная реакция) или 0,05 мл суспензии латекса ($0,8 \text{ мкм-}1 \cdot 10^6$ в 1 мкл) (стимулированная реакция), ко всем пробам прибавляли 0,05 мл 2% раствора НСТ. После инкубации в термостате на протяжении 30 мин при 37°C , готовили мазки средней плотности, высушивали на воздухе, а потом фиксировали в этиловом спирте на протяжении 25 мин и окрашивали 0,1 % раствором нейтрального красного на протяжении 2 мин. Нейтрофилы считались положительными по тесту

восстановления НСТ, если они содержали грубодисперсные отложения темно-синего цвета. Подсчет клеток осуществляли под микроскопом с масляной иммерсией на 100 нейтрофилов и выражали в процентах.

Нами разработан способ определения абсолютного количества спонтанных и стимулированных нейтрофилов ротовой полости с использованием показателей НСТ-теста и интенсивности эмиграции лейкоцитов на слизистую оболочку полости рта (Патент Украины №47351 А от 17.06.2002.). Методика состоит в том, что содержание нейтрофилов в смывах незначительно, поэтому необходимо их концентрировать. Для этого пробирки со смывами центрифугировали при 1500 об/мин на протяжении 15 мин., надосадочную жидкость сливали, а в осадок, который образовался, добавляли 0,5 мл фосфатного буферного раствора $pH=7,2$ и проводили определения спонтанного и стимулированного НСТ-тестов в ПЯЛ смывов по той же методике, что и при определении НСТ-теста в лейкоцитах крови, используя вместо крови 0,1 мл лейкоконцентрата. Для оценки и подсчета использовали клетки, которые содержали в плазме гранулы формазана (формазанпозитивные лейкоциты), а по показателям интенсивности эмиграции лейкоцитов за 1 минуту и по НСТ-тестам определяли абсолютное количество спонтанных и стимулированных лейкоцитов.

Подсчет клеток осуществляли под микроскопом с масляной иммерсией на 100 нейтрофилов и выражали в процентах.

Определение содержания молекул средней массы (МСМ), которые являются маркерами эндогенной интоксикации, активности протеолитических ферментов и деградации белка при разных заболеваниях проводили, используя методику В.Б. Гаврилова и соавт. (1999). МСМ являются пептидными компонентами с низкой и средней молекулярной массой от 300-5000 Д, которые образуются в процессе протеолиза в физиологических условиях в здоровом организме и в поврежденных тканях, а также в самой плазме при выходе в

кровь протеолитических ферментов (Нагоев Б.С., Габрилович М.И., 2000) и могут служить также показателями проницаемости сосудистой стенки. Определение содержания МСМ проводили в плазме крови, слюне и смывах ротовой полости. Ультрафиолетовое поглощение исследуемых жидкостей при длинах волн $\lambda=254$ нм и $\lambda=280$ нм регистрировали на спектрофотометре "СФ-46" (США) в кварцевых кюветах с длиной оптического пути 1 см против холостой пробы. Для удобства выражения результатов, полученных в единицах оптической плотности, вводили коэффициент 1000.

Для определения содержания кальция (Ca) в исследуемых жидкостях, концентрация которого может указывать на изменения состояния проницаемости сосудов ротовой полости, использовали методику биохимического определения ионов (Меньшиков В.В., 1987), с применением реактивов (реагента для определения кальция и эталона кальция) фирмы «Simko Ltd». В основе метода лежит образование комплекса кальция с красителем синего цвета, уровень которого определяли фотометрически при длине волны 590 нм на спектрофотометре "СФ-46" (США). Одновременно с определением Ca в исследуемых жидкостях, ставили калибровочную пробу: к 4мл рабочего реагента прибавляли 0,05 мл (50 мкл) калибровочного раствора. Выдерживали 5-10 мин при комнатной температуре и колориметрировали при длине волны $\lambda=590$ нм против контроля при ширине кювета в 1 см. Контроль: к 4 мл реагента прибавляли 0,05 мл дистиллированной воды.

Содержание кальция рассчитывали по формуле:

$$\text{Кальций (ммоль/л)} = \frac{E_{\text{иссл.}} \times 2,5 \text{ ммоль/л}}{E_{\text{ст.}}} \quad 5.4$$

Где: $E_{\text{иссл.}}$ и $E_{\text{ст.}}$ – поглощение, соответственно, исследуемой пробы и стандартного образца с концентрацией 2,5 ммоль/л.

Осмоляльность исследуемых жидкостей (плазма и слюна) определяли на осмометре 3D3 «Advancet» (США), используя

250 мкл пробы, которой заполняли кювету. Показатели осмоляльности определяли по показателям датчика прибора.

Статистическую обработку результатов исследования проводили по общепринятым методам. Достоверность отличий между средними значениями определяли по критерию Стьюдента. Математические расчеты проводили с использованием пакета статистических программ "Excel" на IBM PC - Р II, а также проводили корреляционный анализ (Лакин Г.Ф., 1990).

5.2 Эмиграция лейкоцитов и оксид азота при протезных стоматитах.

Внешней средой для тканей полости рта является жидкость, в состав которой входит секрет слюнных желез (слюна) и компоненты другого происхождения (жидкость зубодесневой бороздки, сывороточные составные, клетки крови (до 98% нейтрофилов) и слущенный эпителий. Секреция слюны и десневой жидкости тесно связаны с системным кровообращением и, как известно, механизм образования десневой жидкости при интактном пародонте обусловлен осмотическим градиентом (Барер Г.М. и др., 1986).

Установлено, что десневая жидкость является трансудатом сыворотки крови и проникает в десневую бороздку благодаря высокой проницаемости посткапиллярных венул, с помощью которой происходит, контролируемый соответствующими гомеостатическими тканевыми механизмами, субстратный обмен между внутритканевой и внешней средой. Слюнные железы, густо обеспеченные кровеносными сосудами, способны использовать разные компоненты крови для синтеза специфического секрета разнообразного по химическому составу (Сукманский О.И., 1991). Таким образом, отмечается тесная взаимосвязь местных процессов в полости рта с системными.

Нами было обследовано 10 здоровых людей, которые составили “контрольную” группу (табл. 5.1.1). У данных людей на основании клинических заключений никаких отклонений от нормы на местном (ротовая полость) и системном уровнях выявлено не было, что дало возможность считать данную группу “контрольной”. У лиц этой группы жидкость ротовой полости представлена изучаемыми нами двумя компонентами: 1-й компонент – клеточный – это полиморфно-ядерные лейкоциты (ПЯЛ), которые постоянно эмигрируют в ротовую полость из крови в составе десневой жидкости; 2-й – неклеточный компонент – молекулы средней массы (МСМ), нитриты (NO_2^-), осмотически активные вещества, кальций, (Ca^{2+}).

Определение эмиграции ПЯЛ на слизистую оболочку ротовой полости, показали, что индивидуальные колебания интенсивности эмиграции лейкоцитов у здоровых лиц находились в пределах от 155,20 тыс/мин до 285,00 тыс/мин и в среднем по группе составили $220,21 \pm 40,03$ тыс/мин (рис. 5.2.1.).

При этом, показатели функциональной активности нейтрофилов смывов ротовой полости составляли в среднем по группе $6,70 \pm 1,70\%$ по спонтанному НСТ-тесту, а по стимулированному латексом повышались на 28 % и достигали $9,43 \pm 1,89\%$, что отображает фагоцитарный метаболический “резерв” лейкоцитов полости рта (рис. 5.2.2.).

В то же время, исследование активности ПЯЛ крови показали некоторое ее увеличение, в сравнении с лейкоцитами слюны, и особенно стимулированной. Так, показатели спонтанного НСТ – теста нейтрофилов крови составляли $8,60 \pm 1,80\%$, стимулированного – $24,50 \pm 2,90\%$ (рис. 5.2.2.). Следовательно, функциональная активность ПЯЛ после выхода в состав жидкости ротовой полости снижается. Однако, возможно это связано с тем, что часть ПЯЛ уже вступила в реакции фагоцитоза и мы определяли лишь активность оставшихся клеток.

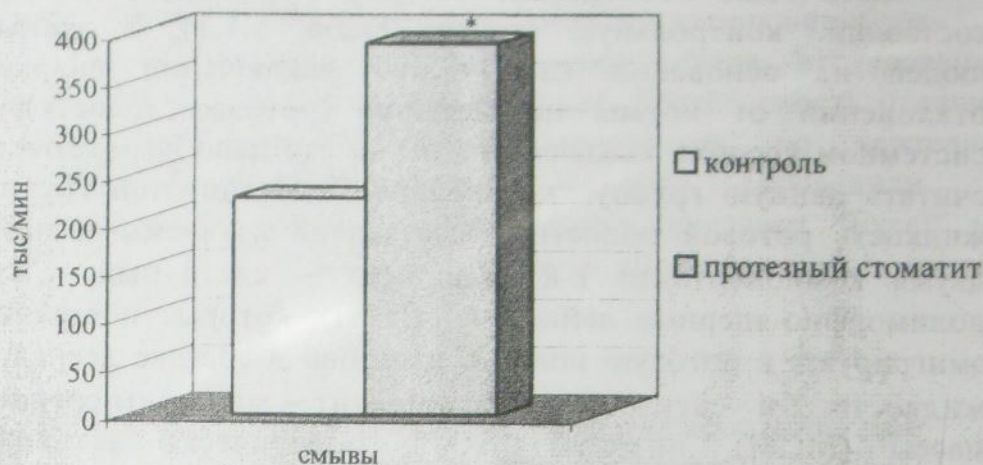


Рис.5.2.1. Показатели интенсивности эмиграции ПЯЛ на слизистую оболочку ротовой полости при протезном стоматите.

Примечание. * – $P \leq 0,05$ – достоверность отличий показателей в сравнении с контролем.

Показатели неклеточных компонентов слюны и плазмы крови контрольной группы представлены в таблицах 5.2.1 и 5.2.2. Так, осмоляльность слюны и плазмы крови отображает концентрацию всех водорастворимых компонентов в жидкостях организма (ОАВ), то есть соотношение растворенных веществ (натрий, калий, кальций) и воды. Из представленных данных видно, что осмоляльность плазмы крови в 3 раза выше чем слюны. Это указывает на то, что движение компонентов ОАВ из крови в ротовую полость происходит по градиенту концентрации. Известно, что МСМ, которые образуются в здоровом организме в процессе протеолиза, а также при патологических процессах способны служить маркерами “эндогенной интоксикации” (Тайченаев А.Я., 1998) и показателями проницаемости сосудов. Нами установлено, что в группе здоровых лиц содержание МСМ с длинами волн $\lambda=254$

нм и $\lambda=280$ нм в слюне и плазме крови практически одинаково (табл. 5.2.1 и 5.2.2).

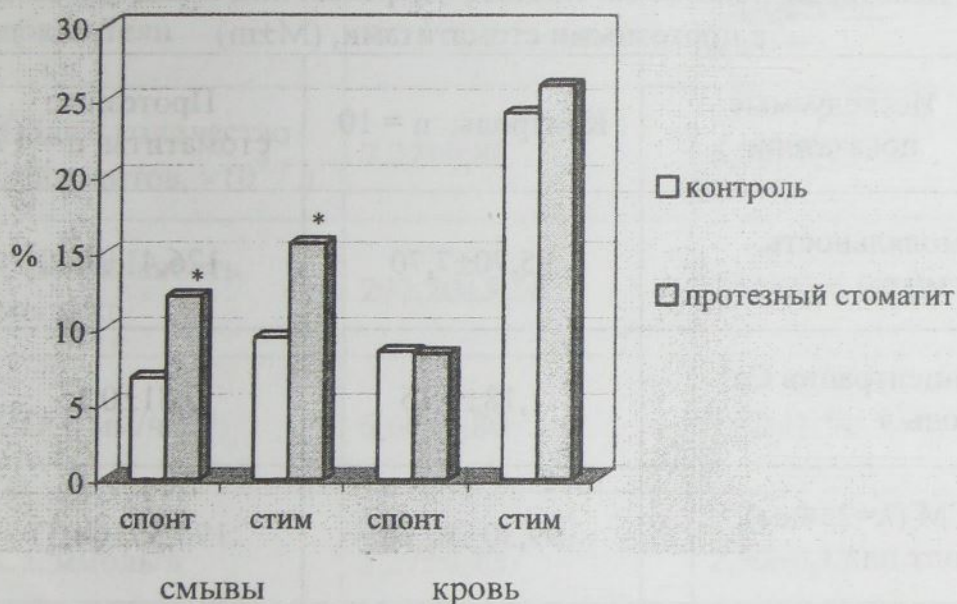


Рис.5.2.2. Показатели активности лейкоцитов по спонтанному и стимулированному НСТ-тестам у здоровых лиц и у пациентов с протезным стоматитом.

Примечание. * – $P \leq 0,05$ – достоверность отличий исследуемых показателей в сравнении с контролем.

Важным компонентом жидкостей (плазма, слюна) организма является кальций. Основным источником поступления Са в ротовую полость, по мере его использования, служит слюна (Григорьев И.В., Чиркин А.А., 1998). С точки зрения регуляции секреторной деятельности клеток слюнных желез важно учитывать их функциональное состояние и уровень Са в крови, поскольку слюнные железы реагируют на сдвиг содержания Са в крови. В таблицах 5.2.1 и 5.2.2 представлены данные о содержании Са в слюне и плазме здоровых людей. Из

полученных данных видно, что концентрация Са в плазме крови почти в 2 раза выше, чем в слюне.

Таблица 5.2..1.

Некоторые показатели слюны у здоровых лиц и пациентов с протезными стоматитами, ($M \pm m$)

Исследуемые показатели	Контроль, n = 10	Протезные стоматиты, n = 17
Осмоляльность, мосм/кг	95,70±7,70	126,41±8,60
Концентрация Са, ммоль/л	1,18±0,15	0,81±0,15
МСМ ($\lambda=254\text{нм}$), ед.опт.пл.	99,30±10,96	195,59±64,57
МСМ ($\lambda=280\text{нм}$), ед.опт.пл.	125,10±12,70	209,65±48,41

Примечание. * – $P \leq 0,05$ достоверность отличий показателей относительно контрольной группы.

Исследования NO в слюне и плазме здоровых людей определяли по содержанию его метаболита-нитрита (NO_2^-). Так, уровень NO_2^- в слюне составляло $35,62 \pm 8,48$ мкмоль/л с диапазоном индивидуальных колебаний от 21,46 мкмоль/л до 52,78 мкмоль/л (рис. 5.2.3.). Содержание NO_2^- в плазме было в 1,6 раза меньше, чем в слюне и с более узким диапазоном колебаний (13,92 мкмоль/л – 26,62 мкмоль/л) и составлял $17,81 \pm 2,24$ мкмоль/л.

Таблица 5.2.2

Некоторые показатели крови у здоровых людей и у пациентов с протезными стоматитами, ($M \pm m$)

Исследуемые показатели	Контроль, n = 10	Протезные стоматиты, n = 17
Общее количество лейкоцитов, $\times 10^9 / л$	7,22 \pm 0,88	6,86 \pm 1,42
Осмоляльность, мосм/кг	292,20 \pm 5,36	299,00 \pm 6,96
СОЭ, мм/ч	6,60 \pm 1,80	7,82 \pm 1,74
Са, ммоль/л	2,27 \pm 0,13	2,50 \pm 0,17
МСМ ($\lambda=254$ нм), ед.опт.пл.	95,00 \pm 8,40	131,65 \pm 12,17*
МСМ ($\lambda=280$ нм), ед.опт.пл.	110,60 \pm 8,88	155,06 \pm 17,00*
С-реактивный белок	(-) – отрицательный	(-) – отрицательный

Примечание. * – $P \leq 0,05$ достоверность отличий показателей относительно контрольной группы.

Из цифровых данных таблицы 5.2.2, в которых приведенные статистически усредненные показатели общего

количества лейкоцитов, СОЭ и наличие С-реактивного белка в плазме крови, видно, что они целиком отвечают общепринятым показателям нормы. Лейкоцитарная формула при этом имела такой вид: базофилы – 0; эозинофилы – 1,2; миелоциты – 0; юные – 0; палочкоядерные – 3,5; сегментоядерные – 54,1; лимфоциты – 30,6; моноциты – 10,6 (%).

Дополнительным информативным источником в отношении выше перечисленных исследуемых показателей являются смывы ротовой полости. Из представленных цифровых данных (табл. 5.2.3. и рис. 5.2.3.) видно, что значение исследуемых показателей NO_2^- , Са, МСМ ($\lambda=254$ нм и $\lambda=280$ нм) в смывах ротовой полости здоровых лиц ниже, чем уровень этих же показателей в слюне. Причем, снижение их содержания почти в 4 раза является характерным для Са и МСМ с $\lambda=254$ нм и $\lambda=280$ нм, в то время как уровень NO_2^- снижался только в 2,4 раза. Диапазон индивидуальных колебаний показателей всех исследуемых образцов в смывах был значительно меньше в сравнении с уровнем этих же показателей в слюне.

Таким образом, результаты исследований в группе здоровых лиц по изученным показателям свидетельствуют о том, что патологических отклонений в слюне, плазме и смывах ротовой полости выявлено не было.

Актуальность проблемы воспаления, как местного процесса, приводит к поиску новых направлений исследований и изучению роли разных факторов на развитие и течение данного процесса. Известно, что массовое использование акриловых протезов приводит к значительному количеству осложнений и, в частности, возникновению протезных стоматитов различного характера (Коваленко А.Ф. и др., 1994; Чулак Л.Д., 1997; Бешевли Ю.П. и др., 2000). Нами, с целью изучения местных процессов неспецифичной защиты ротовой полости и их связи с системными изменениями, проведены исследования у лиц с протезными стоматитами механического происхождения, то есть, возникающими в результате механического травмирования, обусловленного тем, что базисы протезов постоянно делают

микроэкскурсии, создавая давление по вертикали и трение по горизонтали при скольжении твердых базисов на поверхности слизистой оболочки десен (Коваленко А.Ф. и др., 1994). При этом, степень механического травмирования слизистой оболочки зависит от качества изготовленных протезов, а также стойкости самой слизистой к механическому влиянию (Чулак Л.Д., 1997; Кузнецов В.В., 2002).

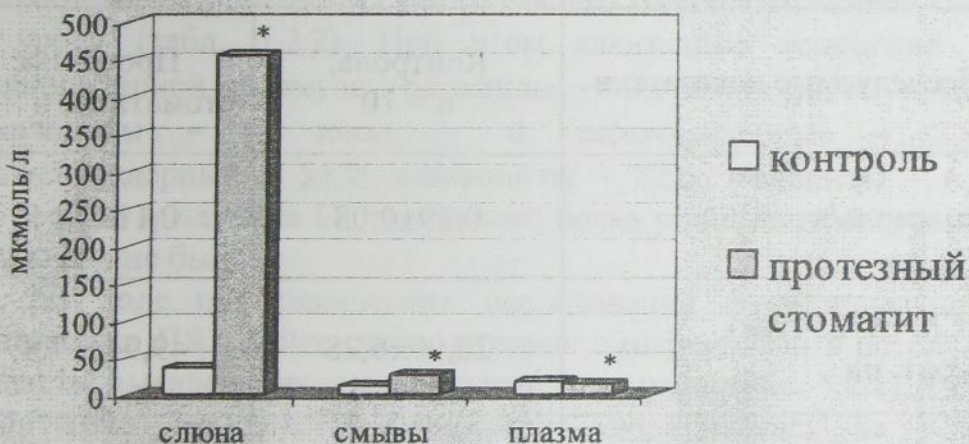


Рис. 5.2.3. Показатели уровня NO₂⁻ в исследуемых жидкостях у здоровых людей и у пациентов с протезными стоматитами.

Примечание. *- P ≤ 0,05 – достоверность отличий исследуемых показателей в сравнении с контролем.

С целью реализации задач данного исследования была обследована группа лиц с частичной или полной адвентицией зубов нижней и верхней челюстей, которым были изготовлены полные или частично съемные протезы из акриловых пластмасс. Клиническая картина была однородной: в ротовой полости на разных участках десен в местах механического раздражения протезами были выявлены в большей или меньшей степени покраснение, гиперемия десен, отек и гиперсаливация.

Пациенты жаловались на наличие боли, невозможность носить протезы и употреблять пищу. Другие субъективные ощущения как онемение, покалывание и нарушение вкусовых ощущений, которые являются характерными для аллергических стоматитов, отсутствовали у пациентов данной группы.

Таблица 5.2.3

Некоторые показатели смывов ротовой полости у здоровых людей и у пациентов с протезными стоматитами, ($M \pm m$)

Исследуемые показатели	Контроль, n = 10	Протезные стоматиты, n = 17
Са, ммоль/л	0,29±0,08	0,11±0,04*
МСМ ($\lambda=254$ нм), ед.опт. пл.	23,90±6,28	49,94±17,47
МСМ ($\lambda=280$ нм), ед.опт.пл.	32,10±4,32	54,24±15,48
Абсолютное число спонтанно-активных лейкоцитов, тыс/мин	14,75±5,42	46,30±5,45*
Абсолютное число стимулированных лейкоцитов, тыс/мин	20,48±6,07	59,06±7,32*

Примечание. * – $P \leq 0,05$ – достоверность отличий исследуемых показателей в сравнении с контролем.

Из представленных данных (рис. 5.2.1) видно, что эмиграция лейкоцитов на слизистую оболочку ротовой полости у пациентов с протезными стоматитами, через неделю после

постановки протезов, повышалась на 77% в сравнении с группой здоровых людей $220,21 \pm 40,03$ тыс/мин и достигала $390,20 \pm 66,36$ тыс/мин ($p \leq 0,05$). Необходимо отметить, что усиление интенсивности эмиграции отмечали у всех пациентов данной группы, несмотря на наличие разного количества зубов от 0 до 22, число которых было достоверно снижено относительно показателей контрольной группы (табл. 5.1.1). Исследования показали, что усиление эмиграции ПЯЛ наблюдали на фоне нормального общего количества лейкоцитов в крови (табл. 5.2.2). При этом каких-либо изменений в лейкоцитарной формуле (базофилы – 0; эозинофилы – 1,2; миелоциты – 0; юные – 0; палочкоядерные – 3,9; сегментоядерные – 55,9; лимфоциты – 32,6; моноциты – 6,4 (%)), СОЭ и наличия С-реактивного белка у лиц данной группы выявлено не было.

В ходе цитохимических исследований функциональной активности ПЯЛ лейкоцитов, которые эмигрировали в ротовую полость, выявлены их значительные изменения (рис. 5.2.2). Так, спонтанная активность лейкоцитов увеличивалась на 81% относительно показателей в контроле ($6,70 \pm 1,70\%$) и составляла $12,12 \pm 1,55\%$; ($p < 0,05$). Значения стимулированной латексом активности ПЯЛ достигали $15,59 \pm 1,85\%$; ($p < 0,05$) и были увеличены на 68% в сравнении с контрольной группой ($9,30 \pm 1,76\%$). Одновременно отмечали достоверное увеличение (в 3 раза) абсолютного числа спонтанных и стимулированных лейкоцитов полости рта относительно контрольных показателей (табл. 5.2.3.). В то же время, исследование функциональной активности лейкоцитов крови как по спонтанному, так и стимулированному НСТ-тестам не обнаружили каких-либо изменений их активности. Значение их показателей не отличались от таковых в группе здоровых людей (рис. 5.2.2).

При определении содержания NO_2^- были выявлены существенные изменения его уровня в исследуемых жидкостях, которые представлены на рис. 5.2.3. Так, максимальное увеличение количества NO_2^- наблюдалось в слюне, что в 12 раз

превышало показатели контрольной группы (35,62±8,48 мкмоль/л) и достигало 455,27±161,68 мкмоль/л, ($p < 0,05$). В смывах уровень NO_2^- увеличивался в среднем в 2 раза (27,64±5,68 мкмоль/л, $p \leq 0,05$) относительно показателей контроля (14,85±5,04 мкмоль/л). Содержание NO_2^- в плазме крови составляло 28,69±2,23 мкмоль/л, ($p < 0,05$) и в 1,7 раза превышало значения контрольной группы (17,16±3,26 мкмоль/л). Проведенный корреляционный анализ обнаружил положительную корреляционную зависимость между значениями NO_2^- слюны, спонтанным НСТ-тестом ПЯЛ слюны ($r = +0,78$; $p < 0,05$) и стимулированным латексом ($r = +0,75$; $p < 0,05$), а также положительную корреляционную связь между показателями уровня NO_2^- смывной жидкости и интенсивностью эмиграции лейкоцитов ($r = +0,85$; $p < 0,05$). Выявлена корреляционная зависимость между показателями NO_2^- плазмы и слюны ($r = +0,53$).

Изучение белковых фракций МСМ в биологических жидкостях организма является одним из наиболее информативных источников оценки состояния организма, тяжести заболевания и клинического течения. Поскольку, молекулы средней массы являются неспецифичными маркерами эндогенного воспаления, а в смывах полости рта и слюне проницаемости сосудов и активности протеаз их изменение нашло отображение при протезных стоматитах.

Так, из представленных в таблице 5.2.1 данных видно, что содержание фракций МСМ, в смешанной слюне при протезных стоматитах значительно повышался. Уровень МСМ ($\lambda = 254$ нм) возрос на 96 %, а МСМ ($\lambda = 280$ нм) на 64 % в сравнении с показателями контрольной группы. В смывах также наблюдали изменение концентраций исследуемых фракций (табл. 5.2.3). Так, уровень МСМ ($\lambda = 254$ нм) увеличился на 98 %, а МСМ ($\lambda = 280$ нм) – на 69 % относительно средних показателей этих фракций в контрольной группе. Однако, изменения показателей МСМ как в слюне, так и смывах были недостоверны ($p \geq 0,05$). Что касается МСМ плазмы крови у лиц с протезными

стоматитами, то изменения их содержания были существенными и достоверно превышали показатели контроля в 1,4 раза (табл. 5.2.2). Это позволяет высказать предположение о том, что образующиеся в слизистой и подслизистом слое ротовой полости МСМ поступают как в кровь, так и в слюну. Установлена высокая степень положительной корреляционной связи между показателями содержания фракций МСМ ($\lambda=254\text{nm}$ и $\lambda=280\text{nm}$) в плазме ($r=+0,88$; $p<0,05$) и смывах ($r=+0,80$; $p<0,05$); а также между показателями уровня этих же фракций МСМ в смывах и плазме ($r=+0,58$; $r=+0,55$, $p<0,05$) соответственно. Корреляционная зависимость наблюдалась также между показателями содержания NO_2^- смывной жидкости и МСМ плазмы крови ($r=+0,61$; $p<0,05$).

Необходимо отметить изменение концентрации Са в слюне и смывах при стоматитах (табл. 5.2.1 и 5.2.3). Уровень Са в слюне пациентов снижался в 1,4 раза ($p>0,05$), в смывах – в 2,6 раза ($p<0,05$) в сравнении с показателями контрольной группы.

Показатели осмоляльности крови оставались в пределах контрольных значений (табл. 5.2.2). Однако, отмечалась тенденция к увеличению осмоляльности слюны на фоне гиперсаливации (табл. 5.2.1).

Таким образом, данные этих исследований показали, что в условиях развития локального воспалительного процесса в ротовой полости механического происхождения происходит увеличение эмиграции лейкоцитов на слизистую полости рта на фоне даже уменьшения количества зубов. Кроме того, наблюдается усиление спонтанной и стимулированной активности эмигрировавших ПЯЛ, а также увеличение абсолютного количества спонтанных и стимулированных лейкоцитов ротовой полости. Существенно повышается уровень нитритов в слюне, смывах и плазме крови, а также содержание фракций МСМ ($\lambda=254\text{ nm}$ и $\lambda=280\text{ nm}$) в этих же жидкостях. Однако, показатели системного ответа организма (СОЭ, С-реактивный белок, общее количество лейкоцитов), которые бы отображали реакцию на данный воспалительный процесс,

оставались в пределах нормальных величин. Таким образом, можно сделать вывод, что процесс эмиграции лейкоцитов и их активность полностью обусловленные теми изменениями, которые происходят в полости рта.

5.3. Эмиграция лейкоцитов и обмен оксида азота при остром воспалении легких.

Вторым этапом исследования было изучение NO-зависимых механизмов эмиграции лейкоцитов в условиях интактной слизистой оболочки ротовой полости, но при наличии воспаления в других органах и тканях, т.е. с системными проявлениями воспаления.

Моделью, которая была выбрана нами для данного исследования, служил острый воспалительный процесс в легких – пневмонии, вызванные стрептококками и стафилококками. Аргументом к выбору данной модели, было то, что в силу особенностей функционирования и структуры легких (прямой контакт с кислородом атмосферного воздуха, высокий уровень крово- и лимфотока, высокие концентрации субстратов окисления, присутствие огромного количества альвеолярных макрофагов, которые продуцируют в процессе фагоцитоза активные формы кислорода), и в целом, мезенхимальная ткань легких дает возможность формирования быстрого и выраженного системного ответа на возникновение и развитие острого воспаления.

Все пациенты с диагнозом острое воспаление легких, были госпитализированы в отделение пульмонологии Одесской областной клинической больницы в основном на 2-3 день после начала проявления заболевания.

Как показали наши исследования смывов ротовой полости (данные представленные в таблице 5.3.1), интенсивность эмиграции лейкоцитов на слизистую оболочку ротовой полости у данной группы лиц не изменялась относительно показателей в контрольной группе. Однако, диапазон индивидуальных

колебаний показателей интенсивности эмиграции лейкоцитов находился в более узких границах в исследуемой группе (201,81 – 310,93 тыс/мин), в сравнении с группой здоровых людей (137,40 – 294,80 тыс/мин). Кроме того, проведенный корреляционный анализ обнаружил отрицательную корреляционную зависимость между показателями интенсивности эмиграции лейкоцитов и уровнем NO_2^- в смывной жидкости ($r=-0,56$; $p<0,05$).

Развитие пневмонии сопровождалось повышением функциональной активности нейтрофилов полости рта и крови (рис. 5.3.1.). Так, из представленных данных видно, что показатели спонтанного НСТ-теста ПЯЛ смывов увеличились на 82% в сравнении с контролем ($6,75\pm 1,69\%$) и достигали $12,29\pm 1,76\%$, ($p<0,05$). Значения показателей стимулированного НСТ-теста повысились только на 56% ($p<0,05$) относительно контрольных величин. Аналогичные изменения показателей НСТ-теста выявлены при исследовании ПЯЛ крови. Так, установлено значительное увеличение функциональной активности нейтрофилов крови по спонтанному НСТ-тесту, показатели которого достигали $22,53\pm 3,74\%$, ($p<0,05$) и в 2,5 раза превышали значения контрольной группы ($8,79\pm 1,67\%$).

Стимулированная активность нейтрофилов крови составляла $45,47\pm 4,80\%$, ($p<0,05$) и в 2 раза превышала значения в группе здоровых лиц ($24,14\pm 2,68\%$). Таким образом, полученные данные свидетельствуют о повышении активности нейтрофилов ротовой полости и крови у больных с острым воспалением легких. Кроме того, отмечали тенденцию к увеличению абсолютного количества спонтанных и стимулированных ПЯЛ, которые эмигрировали в полость рта, на 73 % и 46%, ($p>0,05$) соответственно, но их значения были статистически недостоверные.

Таблица 5.3.1

Показатели смывов ротовой полости у лиц с воспалением легких, ($M \pm m$)

Исследуемые показатели	Контроль, n=28	Воспаление легких, n=17
Интенсивность эмиграции лейкоцитов, тыс/мин	226,53±30,92	246,09±21,84
Концентрация Са, ммоль/л	0,27±0,08	0,35±0,08
МСМ ($\lambda=254$ нм), ед.опт.пл.	25,21±7,55	49,82±8,11
МСМ ($\lambda=280$ нм), ед.опт.пл.	32,18±7,23	38,76±7,31

Примечание. * – $P \leq 0,05$ – достоверность отличий показателей в сравнении с контрольной группой.

Исследование уровня метаболита оксида азота – NO_2^- показало увеличение этого продукта в слюне, смывах и плазме крови (рис. 5.3.2).

Максимальное увеличение NO_2^- (в 9 раз) отмечали в слюне у больных пациентов, эти показатели достигали $339,98 \pm 65,55$ мкмоль/л, ($p < 0,05$), в контроле – $36,89 \pm 11,33$ ммоль/л. В смывах ротовой полости уровень нитритов почти в 4,5 раза превышал значения показателей в группе здоровых людей ($13,20 \pm 5,04$ мкмоль/л) и составлял $56,81 \pm 12,05$ мкмоль/л, ($p < 0,05$). В плазме крови концентрация NO_2^- также значительно увеличивалась в сравнении с контролем ($18,77 \pm 2,61$ мкмоль/л) и достигала $68,13 \pm 11,62$ мкмоль/л, ($p < 0,05$).

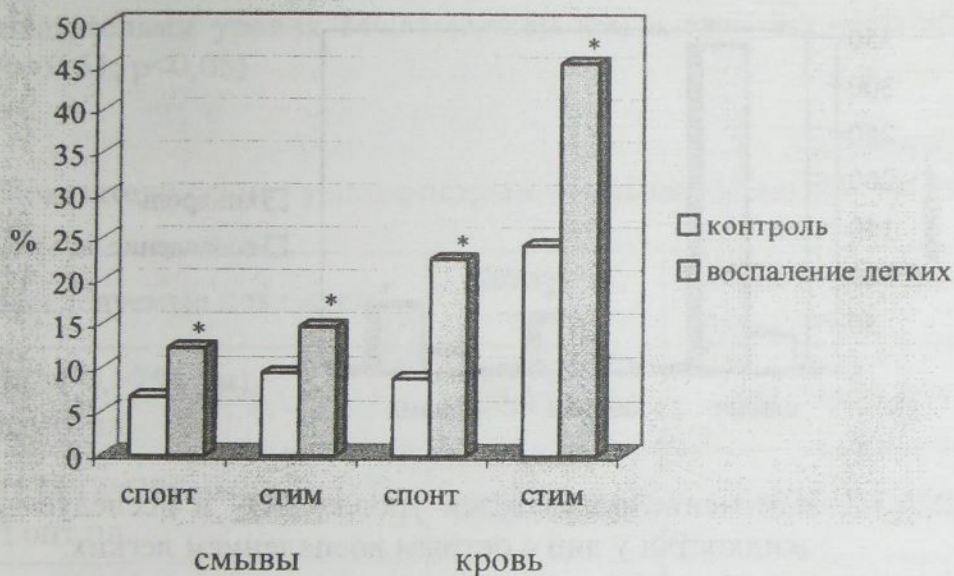


Рис. 5.3.1. Изменение функциональной активности ПЯЛ по НСТ-тесту в исследуемых жидкостях у лиц с острым воспалением легких.

Примечание. *- $P \leq 0,05$ – достоверность отличий исследуемых показателей в сравнении с контролем.

Необходимо отметить, что наиболее высокие показатели NO_2^- были отмечены в слюне у людей с тяжелой формой воспалительного процесса. Уровень нитритов у этих пациентов находился в диапазоне от 287,68 до 486,04 мкмоль/л. У лиц с пневмониями средней тяжести концентрация NO_2^- колебалась от 226,78 мкмоль/л до 419,92 мкмоль/л. В плазме крови и смывах индивидуальный уровень NO_2^- был более стабильным.

Корреляционный анализ обнаружил положительную взаимосвязь между показателями уровня NO_2^- в слюне и спонтанным и стимулированным НСТ-тестами ПЯЛ смывов $r=+0,66$ и $r=+0,77$; $p<0,05$ соответственно, а также между значениями NO_2^- плазмы и спонтанным и стимулированным НСТ-тестами ПЯЛ в крови $r=+0,70$ и $r=+0,78$; $p<0,05$ соответственно.

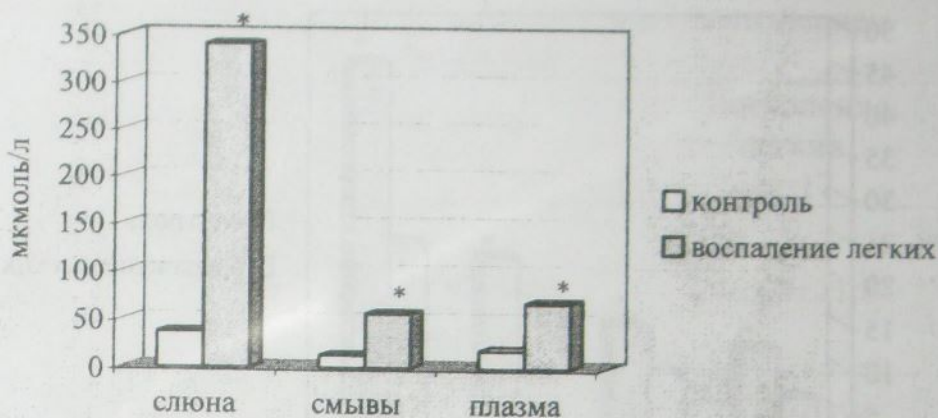


Рис. 5.3.2. Изменение показателей уровня NO_2^- в исследуемых жидкостях у лиц с острым воспалением легких.

Примечание. *- $P \leq 0,05$ – достоверность отличий исследуемых показателей в сравнении с контролем.

При определении содержания фракций МСМ в слюне, смывах и плазме крови были выявленные значительные изменения их количества. Так, содержание МСМ ($\lambda=254$ нм) в слюне увеличилось в 3,3 раза в сравнении с контрольной группой; МСМ ($\lambda=280$ нм) – в 2 раза (табл. 5.3.2).

В смывах ротовой полости (табл. 5.3.1) наблюдали увеличение уровня МСМ ($\lambda=254$ нм) на 98 % ($p>0,05$) относительно контрольной группы, тогда как уровень МСМ ($\lambda=280$ нм) повышался только на 20 % ($p<0,05$).

Как видно из представленных в таблице 5.3.3 данных, в плазме крови отмечали увеличение концентрации МСМ ($\lambda=254$ нм) на 100 % ($p<0,05$), МСМ ($\lambda=258$ нм) на 63% ($p<0,05$) в сравнении с показателями группы здоровых людей. Установлена положительная корреляционная зависимость между показателями уровня фракций МСМ ($\lambda=254$ нм и $\lambda=280$ нм) в плазме крови ($r=+0,68$; $p<0,05$) и слюне ($r=+0,73$; $p<0,05$), а также между показателями NO_2^- смывной жидкости и МСМ ($\lambda=254$ нм) плазмы крови ($r=+0,46$; $p<0,05$), содержанием МСМ

($\lambda=254$ нм) в плазме и смывной жидкости ($r=+0,44$; $p<0,05$) и показателями уровня МСМ ($\lambda=280$ нм) в этих же жидкостях ($r=+0,51$; $p<0,05$).

Таблица 5.3.2

Показатели слюны у лиц с острым воспалением легких, ($M\pm m$)

Исследуемые показатели	Контроль, n=28	Воспаление легких, n=17
МСМ ($\lambda=254$ нм), ед.опт.пл.	100,46 \pm 9,51	331,76 \pm 66,46*
МСМ ($\lambda=280$ нм), ед.опт.пл.	127,51 \pm 15,66	256,65 \pm 35,52*
Осмоляльность, мосм/кг	95,04 \pm 8,03	102,06 \pm 8,41
Концентрация Са, ммоль/л	1,13 \pm 0,22	1,09 \pm 0,17
Абсолютное количество спонтанных ПЯЛ, тыс/мин	17,31 \pm 6,58	29,87 \pm 2,83
Абсолютное количество стимулированных ПЯЛ, тыс/мин	24,53 \pm 7,97	35,92 \pm 2,78

Примечание. * – $P \leq 0,05$ – достоверность отличий показателей в сравнении с контрольной группой.

Необходимо отметить, что показатели содержания Са в слюне и плазме крови, а также уровень осмоляльности оставались в пределах контрольных величин (табл. 5.3.2 и 5.3.3).

Системным отражением развития воспалительного процесса в легких было достоверное (1,5 раза) увеличение общего количества лейкоцитов в крови как защитной реакции на

повреждение, а также сдвиг лейкоцитарной формулы влево к палочкоядерным нейтрофилам, среднее количество которых увеличилось до $17,1 \pm 5,2$ % ($p < 0,05$), в контроле – $4,2 \pm 1,5$ % (табл. 5.3.3). Лейкоцитарная формула имела следующий вид: базофилы – 3,5; эозинофилы – 1,5; палочкоядерные нейтрофилы – 17,1; сегментоядерные – 52,9; лимфоциты – 21,2; моноциты – 5,8 (%). Выявлено наличие С-реактивного белка в плазме, содержание которого колебалось в диапазоне от минимальных 35 % (условно принятые единицы) до 100%, а также повышение СОЭ в 6 раз относительно контрольной группы.

Таким образом, проведенные исследования больных с острым воспалением легких показали, что интенсивность эмиграции лейкоцитов в ротовую полость не изменялась и находилась в пределах контрольных величин. Однако наблюдалась высокая функциональная спонтанная и стимулированная активность нейтрофильных гранулоцитов полости рта и крови. Одновременно отмечали значительное увеличение уровня нитритов во всех исследуемых жидкостях. Показатели осмоляльности и содержания Са в биологических жидкостях находились в пределах нормы. Системный ответ выражался существенным изменением лабораторных показателей крови – СОЭ, С-реактивного белка, лейкоцитарной формулы, а также повышением температуры тела.

Данные последних лет показывают, что эндогенный NO – один из важных факторов неспецифической защиты макроорганизма при различных инфекциях (Mattner J. et al., 2000; Wan S.J. et al., 2000; Wang J.S. et al., 2000). Доказательством служили исследования, в которых уменьшение синтеза NO стимулировало размножение возбудителей и обострение течения экспериментальных инфекций (Xu D. et al., 1998).

Исследуемые показатели крови у лиц с острым воспалением
легких ($M \pm m$)

Исследуемые показатели	Контроль, n = 28	Воспаление легких, n = 17
Общее количество лейкоцитов, $\times 10^9 / \text{л}$	7,13 \pm 1,09	11,28 \pm 1,74*
С-реактивный белок	(-) – отрицательный	100% (+) – положительный
СОЭ, мм/ч	6,50 \pm 1,93	38,59 \pm 9,49*
Осмоляльность, мосм/кг	295,46 \pm 5,14	302,41 \pm 7,09
МСМ ($\lambda=254$ нм), ед.опт.пл.	91,96 \pm 8,65	193,53 \pm 23,74*
МСМ ($\lambda=280$ нм), ед.опт.пл.	111,61 \pm 7,33	182,47 \pm 14,33*
Концентрация Са, ммоль/л	2,31 \pm 0,18	2,46 \pm 0,16

Примечание. * – $P \leq 0,05$ – достоверность отличий показателей относительно контрольной группы.

Отмечалось, что на ранней стадии воспаления зафиксировано уменьшение синтеза NO-радикалов вследствие повреждения эндотелия сосудов (Меньщикова Е.Б., Зенков Н.К., 1997). Последнее особенно важно, поскольку результатом этого является кратковременная ишемия, адгезия гранулоцитов к эндотелию и их эмиграция в очаг воспаления. Продолжительность данного процесса занимает от 12 до 24 часов (Серов В.В., Пауков В.П., 1995). Необходимо добавить, что снижение синтеза NO стимулирует тучные клетки к синтезу

проадгезивных агентов, активацию нейтрофилов и эндотелиальных клеток, экспрессию клейких молекул адгезии – Р и L-селектинов, а позже интегринов и ICAM, следствием этого является эмиграция лейкоцитов в зону повреждения. Как упоминалось выше, весь процесс эмиграции контролируется цитокинами и хемокинами, молекулярные механизмы которого исследуются до настоящего времени (Mach F., 1994; Dantzer R., 2001; Нагорнев В.А., Каньянц А.И., 2004).

В ряде исследований (Guidot D.M. et al., 1996; Lopez-Neblina F., et al., 1996; Клименко Н.А., Павлова Е.А., 1998; Chakravorty D., Kumar K.S., 2000) показано, что период врожденных воспалительных проявлений характеризуется усиленным синтезом NO и пролонгированным поддержанием аккумуляции лейкоцитов в очаге воспаления.

Несмотря на многочисленные исследования, посвященные механизмам развития воспаления и, в частности, эмиграции лейкоцитов за пределы сосудов и влияния NO на различные звенья данного процесса интерпретация полученных результатов в клинике ограничивается только констатацией тех или иных изменений в жидких средах организма, в основном, крови. Тем временем, объяснение патофизиологических механизмов изменений уровня NO, не только в крови, но и в слюне и возможной связи с эмиграцией лейкоцитов на слизистую оболочку ротовой полости *in vivo* при местной воспалительной реакции как протезные стоматиты и воспалении легких с системным ответом особенно важно для разработки методов диагностики, оценки эффективности лечения, создания препаратов усиливающих, либо ослабляющих действие NO.

В этой связи, прежде всего нас интересовали изменения, которые развивались в ротовой полости и в крови. Подобных исследований в этом направлении, в доступной нам литературе, не найдено.

Как упоминалось ранее, протезный стоматит механического происхождения исследовали у людей при использовании частично съемных и полных акриловых протезов, которые вызывали местное повреждение вследствие

скольжения, либо присутствию каких-либо изъянов в их изготовлении. Острое воспаление легких обусловлено инфекционным фактором и известно быстрым системным ответом (Копьева Т.Н., Амосова О.М., 1990; Никонова Е.В. и др., 1997).

Полученные экспериментальные данные засвидетельствовали, что интенсивность эмиграции лейкоцитов и другие исследуемые показатели претерпевали изменения в биологических жидкостях. Как уже упоминалось, при протезных стоматитах происходило усиление интенсивности эмиграции лейкоцитов на слизистую оболочку полости рта на фоне разного количества зубов (от их отсутствия до 22). В исследованиях М.А. Ясиновского (1924, 1931) показано, что эмиграция лейкоцитов в ротовую полость осуществляется в здоровом организме при наличии зубов и является величиной постоянной, однако отсутствует у новорожденных и уменьшается у старых людей на фоне снижения количества зубов. Поэтому, увеличение эмиграции лейкоцитов при протезных стоматитах можно объяснить усилением неспецифических механизмов локальной защиты и теми изменениями, которые происходят при воспалении местно.

Ряд авторов (Моисеев И.Н. и др., 1996; Бабина О.А. и др., 1999) отмечали увеличение количества лейкоцитов в оральных смывах, дезинтеграцию эндотелия сосудов и повышение их проницаемости при действии протеолитических ферментов активированных лейкоцитов, гистамина и серотонина. Другие авторы (Бобырев В.Н. и др., 1994; Перова А.И., 2001) установили корреляционную связь между тяжестью заболевания и эмиграцией лейкоцитов, а также образованием медиатора воспаления лейкотриена B_4 , который, как известно, является сильным хемотактическим агентом, способствует эмиграции лейкоцитов и повышает проницаемость сосудов. Усиление интенсивности эмиграции лейкоцитов зарегистрировано при использовании акриловых протезов с фторопластиковым покрытием (Липасова Т.Б. и др., 1999). Результаты этих исследований показали высокий уровень эмиграции даже через

час после протезирования, что указывает на наличие повреждений, которые индуцируют воспалительный процесс.

Необходимо отметить, что протезный стоматит сопровождается гиперемией слизистой оболочки и отеками в местах механического раздражения протезами.

В то же время при остром воспалении легких не наблюдались какие-либо визуальные изменения слизистой ротовой полости, а показатели интенсивности эмиграции лейкоцитов не отличались от контроля.

Таким образом, мы можем сделать заключение, что при воспалении легких ткани полости рта остаются интактными. А, в целом, именно местные механизмы в очаге воспаления увеличивают эмиграцию лейкоцитов.

Критерием оценки состояния местного иммунитета, кроме эмигрирующих лейкоцитов, является их способность к фагоцитозу, образованию свободных радикалов, усилению антибактериальных свойств.

Изучая функциональную (метаболическую) активность ПЯЛ в период фагоцитоза, наблюдали усиление спонтанной и стимулированной активности нейтрофилов ротовой полости как при протезных стоматитах, так и остром воспалении легких. Причем, их показатели практически не различались между группами. Однако, если сравнить абсолютное количество спонтанных и стимулированных ПЯЛ, эмигрировавших за 1 мин., то при протезных стоматитах их число на 55% и 64% соответственно увеличено, и может свидетельствовать о выраженности воспалительного процесса в полости рта. Кроме того, как отмечалось ранее, в группе с острым воспалением легких установлены высокие показатели как спонтанного, так и стимулированного НСТ-тестов лейкоцитов крови, в то время как активность ПЯЛ крови при протезных стоматитах не изменялась и оставалась в пределах нормальных величин.

Оценивая полученные результаты, возможно сделать вывод, что при протезных стоматитах повышается активность ПЯЛ ротовой полости, не связанная с системным процессом (судя по активности ПЯЛ крови), и активация лейкоцитов

происходит локально. По некоторым данным активация лейкоцитов может быть вызвана продуктами катаболизма белков в области микротравмы (Полевщиков А.В. и др., 1995; Нестерова И.В., Колесникова Н.В., 1999). Это предположение можно подтвердить также и отсутствием температуры, С-реактивного белка, изменения СОЭ, лейкоцитарной формулы, т.е. других показателей системного ответа у людей данной группы. В то время как при воспалении легких отмечали повышение всех перечисленных показателей, т.е. отмечали системный ответ на воспалительный процесс, который также индуцировал повышение активности лейкоцитов крови. Подобное усиление спонтанной и стимулированной активности ПЯЛ крови отмечали при острой пневмонии в эксперименте (Новоженков В.Г. и др., 1994), а другие авторы зафиксировали образование свободных радикалов кислорода в период «метаболического взрыва» при фагоцитозе (Фархутдинов У.Р., Фархутдинов Р.Р., 2000). Эти данные свидетельствуют об усилении механизмов неспецифической защиты. Подтверждением этому является нейтрофильный лейкоцитоз с палочкоядерным сдвигом влево. Необходимо отметить, что по данным литературы (Полевщиков А.В. и др., 1995) С-реактивный белок самостоятельно способен стимулировать «метаболический взрыв» в спонтанных нейтрофилах, усиливать ими продукцию цитокина ИЛ-1 и эмиграционную способность ПЯЛ.

Необходимо обратить внимание на механизм восстановления нитросиногемоглобина на клеточном уровне, который заключается в стимуляции внешней мембраны нейтрофилов природным стимулом (в организме) или искусственным поглощением (*in vitro*) комплекса НСТ-гепариин-фибриноген и переносом его в фагосому нейтрофила, где происходит восстановление бесцветного НСТ в окрашенный формазан и образование свободных радикалов кислорода как O_2^- , OH^- и NO (Маянский А.Н., Маянский Д.Н., 1983; Kharitonov S.A. et al., 1994; Невзорова В.А. и др., 1998). Как отмечалось выше, NO на всех этапах развития воспаления имеет

самое непосредственное отношение к процессу эмиграции лейкоцитов, а также является одним из главных «орудий» антипатогенной активности клеток, в том числе и нейтрофилов, тем самым обеспечивая защиту организма при инфекциях (Hiskey M.J. et al., 1995; Uysal G. et al., 1999; Голиков П.П. и др., 2003). Таким образом, становится понятным, что число нейтрофилов, способных восстанавливать НСТ, может свидетельствовать о степени их метаболической и функциональной активности, которая имеет место в ПЯЛ при остром воспалении легких и протезных стоматитах механического происхождения.

Результаты исследований показали, что уровень NO_2^- повышался в биологических жидкостях у людей с острым воспалением легких и с протезными стоматитами.

Так, в условиях механического повреждения ротовой полости, концентрация NO_2^- была больше на 35%, чем у людей с острым воспалением легких и в 9 раз выше относительно контроля. Однако в смывах отмечался обратный процесс: уровень NO_2^- был в 2 раза ниже, чем при воспалении легких, что, возможно, свидетельствует о достаточно высокой активности ПЯЛ не только в крови, но и в ротовой полости. Вероятнее всего, это является защитной реакцией в условиях инфекционного процесса, при котором четко выражен системный ответ. Данные изменения можно объяснить следующим образом: в ответ на инфекцию, по мнению многих исследователей, происходит экспрессия индуцибельной NO-синтазы (i-NOS) (Guastafsson L.E. et al., 1991; Kharitonov S.A. et al., 1995). Механизм этого процесса заключается в активации лейкоцитов крови (лимфоциты, моноциты, нейтрофилы) бактериальными эндотоксинами, вследствие чего, лейкоциты проявляют свои цитотоксические и антипатогенные свойства посредством синтеза NO, который нарушает пролиферацию клеток микроорганизмов (Gaboury J. et al., 1993; Moilanen E., Vapaataho H., 1995; Frade-Salch T.S. et al., 1999). Пусковой механизм синтеза NO опосредуется системой цитокинов (ИЛ-1,

ФНО- α , γ -ИФН) и хемокинов (ИЛ-8, ГМ-КСФ) (Mogi M. et al., 1999; Mattner J. et al., 2000; Stoiser B. et al., 2000). Как указывалось ранее, в литературе обсуждение цитотоксических свойств NO производилось, в основном, в отношении макрофагального NO. Не так давно, показано, что фагоцитарная активность нейтрофилов также связана с продукцией NO (Гоженко А.И., Шибко Т.Н., Николаевская И.В. и др., 1998; Гоженко А.И., Николаевская И.В., Федорук А.И. и др., 1998). При этом нейтрофилы экспрессируют i-NOS, которая появляется совместно с миелопероксидазой в первичных гранулах.

Интересным, на наш взгляд, представляется сообщение о том, что НАДФН-диафороза, восстанавливающая НСТ в диформазаан солокализована с NO-синтазой, как с конститутивной формой, так и индуцибельной. Судя по локализации диформазаана (восстановленного НСТ), фермент имеют бронхиальные артерии, вены, эпителий бронхов, альвеолы, альвеолярные макрофаги. Можно предположить, по результатам НСТ-теста, что такая же связь NOS и НАДФН-диафорозы имеется в лейкоцитах крови и слюны. Кроме того, это предположение подтверждается высокой корреляционной взаимосвязью между показателями уровня NO_2^- и НСТ-тестом лейкоцитов крови и полости рта. Однако, в крови при протезных стоматитах такая связь отсутствовала, что может указывать на поступление нитритов из полости рта. Таким образом, исходя из вышесказанного можно предположить, что одним из источников NO в организме в целом, и, в частности, в ротовой полости могут служить активированные нейтрофилы.

Безусловно, что результаты исследований и продемонстрированные данные литературы не в полной степени раскрывают всю проблему относительно роли NO в реализации процессов воспаления и функции его лейкоцитарного звена. Однако, здесь бы хотелось вспомнить о некоторых полученных результатах. Во-первых, установлено, что NO продуцируется многими клетками респираторного тракта и выполняет регуляторную и защитную роль (Flak T.A. et al., 1996;

Невзорова В.А. и др., 1998). NO выявлен в выдыхаемом воздухе (Gustafsson L.E. et al., 1991). Кроме того, концентрация выдыхаемого NO возрастает у пациентов с такими воспалительными заболеваниями как астма (Kharitonov S.A. et al., 1994; Невзорова В.А. и др., 1998; Назаретян Э.Е. и др., 2000) и бронхоэктазы (Kharitonov S.A. et al., 1995). Высокие уровни NO регистрировались также в носу и носоглотке при носовом выдыхании (Moncada S., Higgs E.A., 1995). При этом выявлялась жесткая корреляция между уровнем NO, изменениями в бронхах и выдыхаемом NO ротовой полости (Азаретян Э.Е. и др., 2000). Однако, механизмы синтеза NO и его значение при воспалительных процессах респираторной системы имели разнонаправленный характер. Во-вторых, предполагают, что NO ротовой полости выполняет регуляторную функцию в отношении тонуса сосудов, таким образом усиливается кровоток и согревается вдыхаемый воздух. Поскольку, как упоминалось в таких исследованиях, источником NO могут служить лейкоциты ротовой полости, спонтанная активность которых составляет от 6 до 15% (Саяпина Л.М., Цебржинский О.И., 1997; Бабий В.П. и др., 2003; Голиков П.П. и др., 2003), очевидно, что эндотелиоциты сосудов полости рта также могут продуцировать NO. Необходимо вспомнить, что активация эндотелиоцитов осуществляется тем же путем, что и ПЯЛ, то есть через систему цитокинов, экспрессию eNOS и синтез NO (Niebauer J. et al., 1999; Jonhson B.A. et al., 2000).

Результаты наших исследований показали усиление эмиграции лейкоцитов на слизистую оболочку при протезных стоматитах и в пределах нормы эмигрировали лейкоциты при остром воспалении легких. Как мы упоминали выше, такой характер изменений мог быть связан с локализацией воспалительного процесса. Очевидно, что при воспалении легких процесс эмиграции исследовали на периферическом уровне (ротовая полость), где синтез NO отличался по количеству от синтеза NO при стоматитах, и, поэтому его эффекты могли носить дозозависимый характер. Подтверждением этому служит проведенный корреляционный

анализ между показателями уровня NO_2^- смывов ротовой полости и интенсивности эмиграции лейкоцитов: $r=-0,56$ и $r=+0,85$; $p<0,05$ соответственно при остром воспалении легких и протезных стоматитах. На наш взгляд, наличие отрицательной корреляционной зависимости при воспалении легких может указывать на модулирующее влияние повышенной концентрации NO на интенсивность эмиграции в ротовую полость на фоне нормальных показателей и согласуется с данными литературы о реализации подобных эффектов достаточно высокими уровнями NO при воспалении (Moilanen E., Vapaatato H., 1995; Van Uffelen et al., 1996; Маеда Х., Акаике Т., 1998; Middelfeld R.J. et al., 1999; Кастранова В.А., 2004). Однако, при местном воспалительном процессе в ротовой полости корреляционная зависимость между показателями содержания нитритов и интенсивностью эмиграции лейкоцитов является позитивной и эти данные могут свидетельствовать о стимулирующем влиянии оксида азота на эмиграцию непосредственно в зоне воспаления. Таким образом, оксид азота проявляет разнонаправленное действие на состояние эмиграции лейкоцитов в зависимости от его места синтеза, дозы, и локализации воспалительного процесса. Кроме того, процесс эмиграции лейкоцитов в ротовую полость не зависит от системного синтеза оксида азота, который обнаруживается в плазме крови.

Как отмечалось выше, содержание нитритов существенно увеличивалось в плазме и слюне в обеих группах людей. Однако, метаболическая активность ПЯЛ различалась – повышалась в ПЯЛ плазмы и слюны при воспалении легких, а при протезных стоматитах – только в ПЯЛ слюны. Возможно, высокий уровень NO_2^- в плазме крови при стоматитах связан с его образованием в ротовой полости. Опосредованно это предположение подтверждается корреляционной связью между показателями уровня NO_2^- смывов и плазмы крови ($r=+0,53$; $p<0,05$), а также между показателями уровня NO_2^- смывов и МСМ плазмы ($r=+0,56$; $p<0,05$) и может указывать на повышение проницаемости сосудов ротовой полости, и,

возможно, обусловлено влиянием оксида азота эндотелиального происхождения. Прямая корреляционная зависимость между показателями МСМ плазмы и NO_2^- ротовой полости ($r=+0,48$; $p<0,05$) при остром воспалении легких, также может свидетельствовать о повышении проницаемости сосудов ротовой полости.

Исследуя содержание МСМ в биологических жидкостях выявили их увеличение в обеих группах пациентов. Известно, что по МСМ определяют степень эндогенной интоксикации организма, так как они являются маркерами тяжести воспалительного процесса и активности протеолитических ферментов, а также могут служить показателем проницаемости сосудистой стенки (Гринаш Ю.И. и др., 1999; Нагоев Б.С., Габрилович, 2000). МСМ с длинами волн $\lambda=254$ нм и $\lambda=28$ нм представляют собой полипептиды с молекулярной массой близкой к 5000 Д и являются продуктами деградации белков при действии на них протеолитических ферментов плазмы крови или тканей.

Полученные результаты исследований указывают на увеличение МСМ в смывах ротовой полости, в плазме при протезных стоматитах и остром воспалении легких, что могут свидетельствовать, по мнению авторов, о наличии инфекции, воспалении и повышении активности протеолитических ферментов (Моисеев И.Н. и др., 1996; Гаврилов В.Б. и др., 1999; Фархутдинов У.Р., Фархутдинов Р.Р., 2000), а с другой стороны указывает на снижение детоксикационной функции гепатоцитов и уменьшение синтеза альбуминов при воспалении легких. Интересным на наш взгляд представляется повышение содержания МСМ ($\lambda=254$ нм) на 70% в слюне при воспалении легких, в сравнении с протезными стоматитами, несмотря на практически одинаковую функциональную активность ПЯЛ ротовой полости, а также меньшее абсолютное количество спонтанных и стимулированных ПЯЛ, эмигрировавших в полость рта.

Вероятно, что более информативным показателем являются смывы ротовой полости, в которых реестрировались одинаковые значения МСМ в обеих группах, причем, концентрация МСМ ($\lambda=280$ нм) превышала эти значения на 40% у лиц с протезными стоматитами. Поэтому, высказанное ранее предположение, что действие протеолитических ферментов дегранулированных нейтрофилов ротовой жидкости приводит к увеличению уровня МСМ, является наиболее вероятным учитывая высокие показатели НСТ-теста. Повышенное содержание МСМ в плазме крови у больных с острым воспалением легких обусловлено, на наш взгляд, возросшей активностью нейтрофилов и их лизосомальных протеаз, которые обладают высоким деструктивным потенциалом, с последующим действием в очаге воспаления, а также увеличенным дренажем сосудистой сети в легочной ткани, что обуславливает поступление МСМ в общий кровоток.

Высокий уровень МСМ в плазме, а также положительная взаимосвязь между показателями МСМ в полости рта и крови при протезных стоматитах и воспалении легких ($r=+0,58$ и $r=+0,39$; $p<0,05$) соответственно, может свидетельствовать о поступлении МСМ в кровь, что связано с повышенной проницаемостью сосудов в очаге воспаления (Тайченаев А.Я., 1998; Нагоев Б.С., Габрилович М.И., 2000). Косвенным подтверждением повышенной проницаемости сосудов ротовой полости может быть корреляционная зависимость между показателями содержания NO_2^- в полости рта и МСМ ($\lambda=254$ нм) в крови ($r=+0,58$ и $r=+0,39$; $p\leq 0,05$) при протезных стоматитах и воспалении легких соответственно. Эти данные подтверждаются исследованиями авторов о том, что активность системы протеолиза зависит от интенсивности образования NO и тесно коррелирует с общим содержанием МСМ в крови (Гринаш Ю.И. и др., 1999).

Исследования содержания кальция, который способен влиять на изменение сосудистой проницаемости и регулировать поступление воды и электролитов в ротовую полость, а также

определение осмоляльности, показали незначительные изменения данных показателей в исследуемых группах. Однако, у лиц с протезными стоматитами выявлена тенденция к снижению уровня Са в слюне до $0,81 \pm 1,15$ ммоль/л относительно контрольной группы ($1,13 \pm 0,22$ ммоль/л), что обусловлено, как объясняют авторы (Долгих В.Т., 2000), снижением количества зубов и возросшей потребностью в кальции. Определение содержания Са в плазме крови не выявило значительных отклонений от нормы, однако, индивидуальные колебания уровня Са были более существенными, их диапазон составлял 2,2-3,2 ммоль/л. Как объясняют авторы, данный эффект может быть связан с определенным остеопорозом и гормональным дисбалансом у людей пожилого возраста. В группе людей с воспалением легких полученные показатели не отличались от нормы. С точки зрения особенности кальция влиять на межклеточную проницаемость сосудов, которая значительно усиливается в ротовой полости по данным наших исследований, можно думать о том, что повышение проницаемости сосудов, не влияет на обмен осмотически активных веществ, а также не зависит от их уровня в плазме крови и полости рта.

Таким образом, анализ полученных результатов в исследуемых жидкостях на моделях острого воспаления легких и протезных стоматитах механического происхождения, предоставил новую информацию о возможной связи интенсивности эмиграции лейкоцитов с эндогенным синтезом оксида азота при воспалительных процессах. Так, повышенный уровень нитритов в исследуемых жидкостях указывает на усиленный синтез NO при данных воспалительных процессах. Источником NO, с одной стороны, могут быть активированные нейтрофилы в зоне воспаления, а с другой – клетки активированного эндотелия. С учетом данных современной литературы можно сделать заключение, что при протезных стоматитах повышенную продукцию NO в ротовой полости обуславливает механическая травма, способная стимулировать

синтез цитокинов, которые в свою очередь, вызывают экспрессию iNOS и повышенный синтез на ее основе NO в активированных нейтрофилах ротовой полости и эндотелии. Возможно, что лизосомальные ферменты расширяют зону воспалительного процесса. Об этом свидетельствуют высокие концентрации МСМ в слюне и смывах ротовой полости, повышенная проницаемость сосудистой стенки, отек и гиперемия. Усиление интенсивности эмиграции лейкоцитов сопровождалось повышенным синтезом NO, а положительные корреляционные связи косвенно свидетельствуют о повышении проницаемости сосудов ротовой полости, а также способности NO стимулировать эмиграцию лейкоцитов в зону воспаления.

5.4. Обмен оксида азота и эмиграция лейкоцитов при опухолях тела и шейки матки.

В настоящее время получено много данных о том, что активированные нейтрофилы играют важную роль в элиминации инородных или поврежденных клеток, и, в частности, опухолевых. Их участие целиком возможно, поскольку они продуцируют свободные кислородные радикалы, лизосомальные ферменты и неспецифичные цитотоксические факторы, такие как, например, оксид азота (NO). В то же время, такой процесс, как эмиграция лейкоцитов на слизистую оболочку полости рта и их функциональная активность и возможная связь с NO практически не изучались *in vivo*, в частности, при опухолевом процессе у людей. Изучение этих факторов важно для понимания формирования механизмов повреждения и защиты, а также для патогенетического усовершенствования терапевтических подходов профилактики и лечения при опухолевом процессе.

В условиях стационара Одесского онкодиспансера были обследованы женщины с опухолями тела и шейки матки (ТИШМ) I и II стадии. Метастазы отсутствовали у пациентов данной группы. Исследования проводились в динамике:

непосредственно перед операцией, через неделю после операции и после трехнедельного курса лучевой γ -терапии (начало курса определялось врачом и зависело от общего состояния больного – данных анализов крови и заживления послеоперационной раны).

В результате проведенных исследований, в группе пациентов перед операцией, установлено, что показатели эмиграции ПЯЛ на слизистую оболочку ротовой полости снижались на 11 %, в сравнении с показателями контрольной группы при наличии разного количества зубов ($29,44 \pm 1,88$) (табл. 5.4.1).

Результаты исследования функциональной активности ПЯЛ по показателям НСТ-теста показали изменения их активности как в ротовой полости, так и крови (рис. 5.4.1).

Так, функциональная активность лейкоцитов ротовой полости по спонтанному НСТ-тесту увеличилась на 60% в сравнении с контролем ($6,75 \pm 1,69$ %) и составляла $10,81 \pm 1,41$ % ($p < 0,05$), в то время, как стимулированная активность по активированному НСТ-тесту увеличилась только на 37 % и достигала $12,88 \pm 1,42$ % ($p < 0,05$) против показателей контроля ($9,43 \pm 1,89$ %).

Аналогичные изменения происходили в крови. Показатели спонтанного НСТ-теста составляли $14,19 \pm 2,19$ % ($p < 0,05$) и выросли на 61 % в сравнении с группой здоровых лиц ($8,79 \pm 1,67$ %). Показатели стимулированного НСТ-теста достигали $30,69 \pm 2,31$ % ($p < 0,05$) и повышались на 27 % относительно контроля ($24,14 \pm 2,68$ %). Данные результаты свидетельствуют о том, что в смывах и в крови больных людей спонтанная активность лейкоцитов усиливалась в большей степени, чем стимулированная. Абсолютное количество спонтанных и стимулированных ПЯЛ ротовой полости не отличалось от показателей контроля (рис. 5.4.2).

Показательны изменения уровня NO_2^- в исследуемых жидкостях (рис. 5.4.3). Так, содержание NO_2^- в слюне у больных пациентов составляло $93,05 \pm 23,28$ мкмоль/л ($p < 0,05$) что в 2,5 раза выше, в сравнении с группой здоровых людей

(36,89±11,33 мкмоль/л). Необходимо отметить, что максимальное повышение уровня NO_2^- зафиксировали у двух пациенток (214,02 мкмоль/л и 560,28 мкмоль/л), а это в 2,3 и 6 раз больше соответственно, по сравнению со средними показателями по группе. Эти женщины были прооперированы по поводу правосторонней опухоли молочной железы (2 годами раньше) и после чего проходили курс лучевой терапии.

В смывах ротовой полости уровень NO_2^- увеличивался в 2 раза в сравнении с контролем (13,20±5,04 мкмоль/л) и достигал 27,76±7,81 мкмоль/л, ($p>0,05$), хотя и был статистически недостоверным в связи с большими индивидуальными колебаниями уровня NO_2^- .

В плазме крови отмечали повышение уровня NO_2^- до 43,41±10,15 мкмоль/л, ($p<0,05$), что в 2,3 раза больше, чем в контрольной группе (18,77±2,61 мкмоль/л). Кроме того, у тех же двух пациенток отмечали значительное увеличение содержимого NO_2^- до 265,64 мкмоль и 112,52 мкмоль, что в 6 и 3 раза выше соответственно, относительно среднего значения показателя по группе.

Проведенный корреляционный анализ определил наличие корреляционной зависимости между уровнем NO_2^- слюны и плазмы ($r=+0,64$; $p<0,05$) и отрицательную взаимосвязь между уровнем NO_2^- смывной жидкости и интенсивностью эмиграции лейкоцитов в ротовую полость ($r=-0,31$). Значительные корреляционные взаимосвязи ($r=+0,53$ и $r=+0,56$; $p<0,05$) соответственно, наблюдались между показателями спонтанного и стимулированного НСТ-тестов и содержанием NO_2^- в плазме крови. Установлена зависимость между показателями уровня NO_2^- смывной жидкости и показателями спонтанного и активированного НСТ-тестов ПЯЛ ротовой полости ($r=+0,48$ и $r=+0,44$; $p<0,05$ соответственно).

Таблица 5.4.1

Изменения показателей смыслов ротовой полости у лиц с опухолями тела и шейки матки до, после операции и после курса лучевой γ -терапии, ($M \pm m$)

Исследуемые показатели	Контроль, n = 28	Опухоли тела и шейки матки до операции, n = 16	Опухоли тела и шейки матки после операции, n = 15	После курса лучевой терапии, n = 14
Интенсивность эмиграции лейкоцитов, тыс/мин	226,53 \pm 30,92	204,03 \pm 19,77	238,58 \pm 26,92	151,35 \pm 24,14*
MCM ($\lambda=254$ нм), ед.опт.пл.	25,21 \pm 7,55	36,56 \pm 12,13	37,93 \pm 11,54	35,86 \pm 9,71
MCM ($\lambda=280$ нм), ед.опт.пл.	32,18 \pm 7,23	49,69 \pm 9,81	30,94 \pm 14,81	29,50 \pm 8,86
Концентрация Са, ммоль/л	0,27 \pm 0,08	0,31 \pm 0,09	0,15 \pm 0,06	0,14 \pm 0,05

Примечание. * - $P \leq 0,05$ - достоверность отличий показателей в сравнении с контрольной группой.

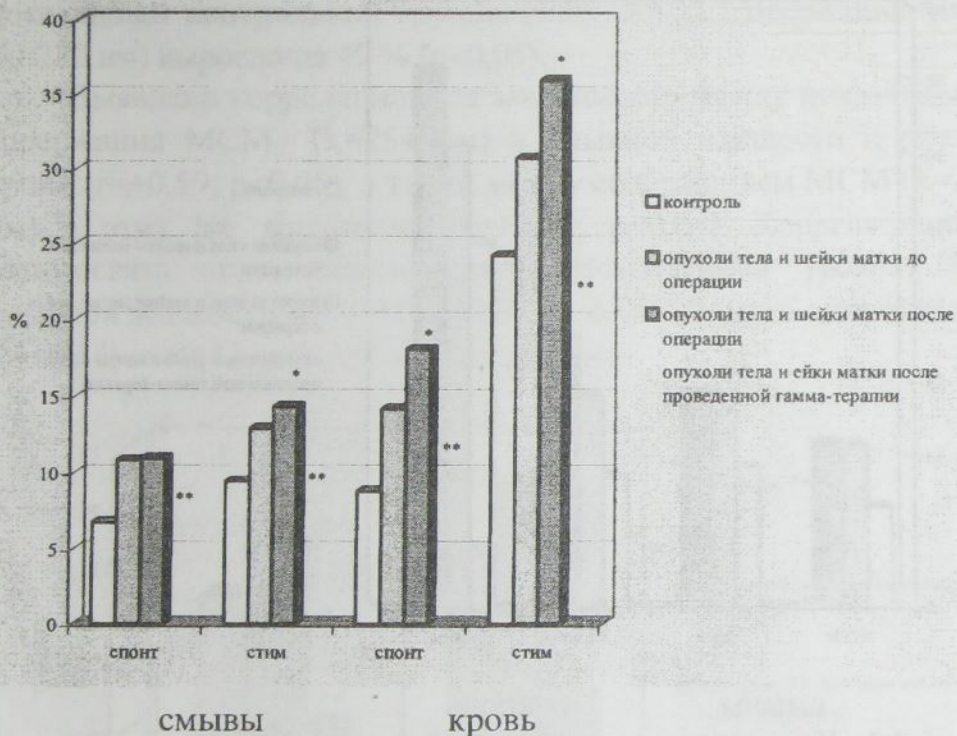
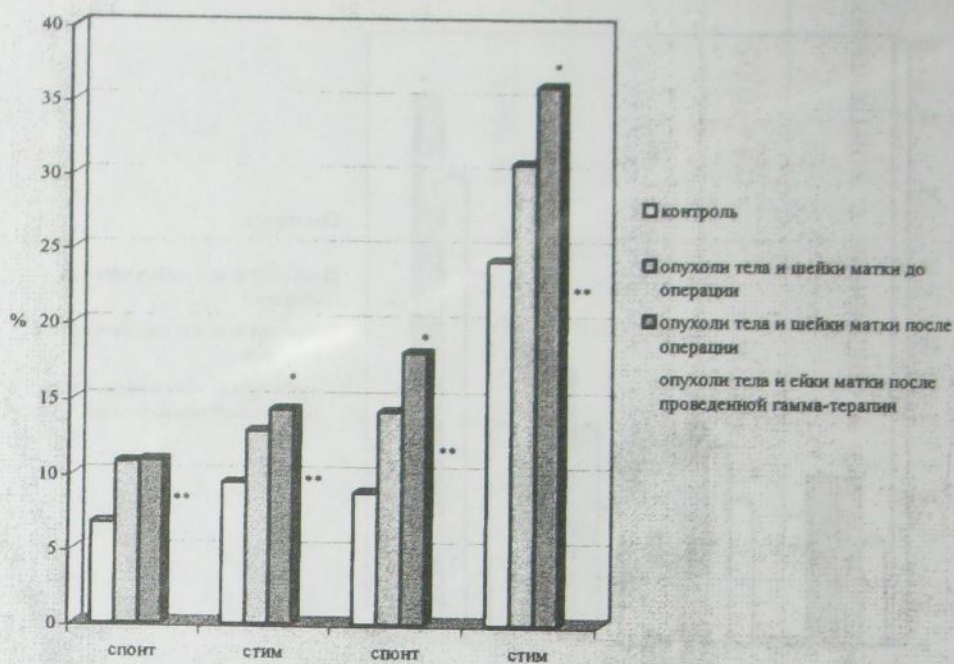


Рис. 5.4.1. Изменения показателей функциональной активности ПЯЛ по НСТ-тесту в исследуемых жидкостях у лиц с опухолями тела и шейки матки до, после операции и после курса лучевой γ -терапии.

Примечания: *- $P \leq 0,05$ – достоверность отличий исследуемых показателей в сравнении с контролем.

** - $P \leq 0,05$ – достоверность отличий исследуемых показателей в сравнении с группой после операции.

Отмечали изменение содержания МСМ в исследуемых жидкостях до операции. В смывах также отмечали увеличение уровня МСМ, однако изменения показателей носили недостоверный характер (табл. 5.4.1). Повышение содержания МСМ ($\lambda=254$ нм и $\lambda=280$ нм) в 2 раза ($p < 0,05$) обнаружили в плазме крови. Так, уровень МСМ ($\lambda=254$ нм) в слюне при опухолях увеличился в среднем в 2 раза ($p < 0,05$), относительно



СМЫВЫ КРОВЬ

Рис. 5.4.1. Изменения показателей функциональной активности ПЯЛ по НСТ-тесту в исследуемых жидкостях у лиц с опухолями тела и шейки матки до, после операции и после курса лучевой γ -терапии.

Примечания: *- $P \leq 0,05$ – достоверность отличий исследуемых показателей в сравнении с контролем.

** - $P \leq 0,05$ – достоверность отличий исследуемых показателей в сравнении с группой после операции.

Отмечали изменение содержания МСМ в исследуемых жидкостях до операции. В смывах также отмечали увеличение уровня МСМ, однако изменения показателей носили недостоверный характер (табл. 5.4.1). Повышение содержания МСМ ($\lambda=254$ нм и $\lambda=280$ нм) в 2 раза ($p<0,05$) обнаружили в плазме крови. Так, уровень МСМ ($\lambda=254$ нм) в слюне при

опухолях увеличился в среднем в 2 раза ($p < 0,05$), относительно показателей контрольной группы (табл. 5.4.2). Содержание МСМ ($\lambda = 280$ нм) выросло на 49 % ($p < 0,05$).

Выявлена корреляционная зависимость между показателями содержания МСМ ($\lambda = 254$ нм) в смывной жидкости и плазме крови ($r = +0,59$; $p < 0,05$), а также между содержанием МСМ ($\lambda = 280$ нм) в этих же жидкостях ($r = +0,47$; $p < 0,05$). Корреляционная взаимосвязь определялась между показателями уровня NO_2^- смывной жидкости и МСМ ($\lambda = 254$ нм и $\lambda = 280$ нм) в плазме крови ($r = +0,54$; $r = +0,43$; $p < 0,05$) соответственно.

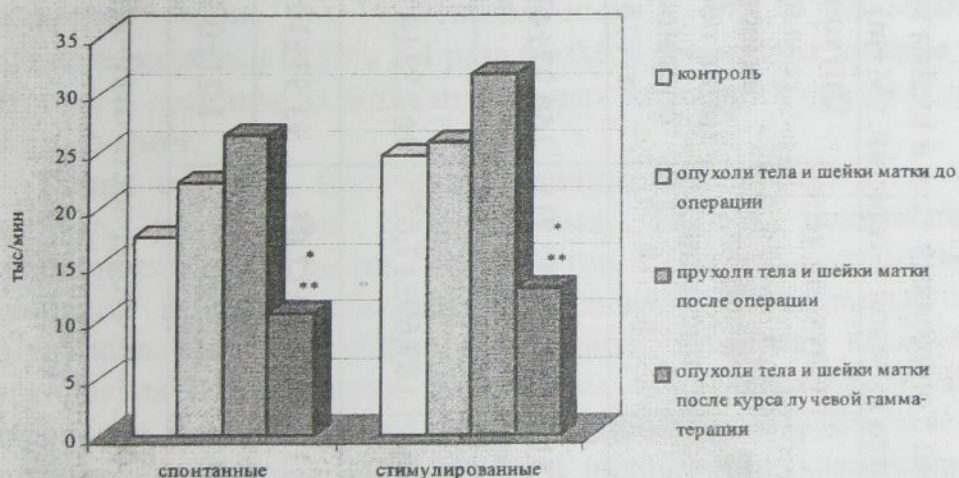


Рис. 5.4.2. Изменения показателей абсолютного количества спонтанных и стимулированных ПЯЛ в ротовой полости у лиц с опухолями тела и шейки матки до операции, после операции и после курса лучевой γ -терапии.

Примечания: * - $P \leq 0,05$ – достоверность отличий исследуемых показателей в сравнении с контролем.

** - $P \leq 0,05$ – достоверность отличий исследуемых показателей в сравнении с группой после операции.

Таблица 5.4.2

Изменения показателей слюны у лиц с опухолями тела и шейки матки до, после операции и после курса лучевой γ -терапии, (M \pm m)

Исследуемые показатели	Контроль, n = 28	Опухоли тела и шейки матки до операции, n = 16	Опухоли тела и шейки матки после операции, n = 15	После курса лучевой терапии, n = 14
MCM ($\lambda=254$ нм), ед.опт.пл.	100,46 \pm 9,51	207,19 \pm 37,71*	160,27 \pm 43,75	108,64 \pm 13,79
MCM ($\lambda=280$ нм), ед.опт.пл.	127,51 \pm 15,66	189,69 \pm 17,65*	162,33 \pm 49,64	137,93 \pm 17,50
Осмоляльность, мосм/кг	95,04 \pm 8,03	99,9 \pm 12,05	93,53 \pm 10,91	93,36 \pm 12,02
Концентрация Са, ммоль/л	1,13 \pm 0,22	1,27 \pm 0,19	1,21 \pm 0,18	0,88 \pm 0,23

Примечание. *P \leq 0,05 – достоверность отличий показателей в сравнении с контрольной группой.

Такая же направленность изменений была характерной для показателей содержания Са во всех исследуемых жидкостях (табл. 5.4.1; 5.4.2; 5.4.3). Таким образом, концентрация осмотически активных веществ в ротовой полости и плазме крови, а также содержание Са существенным образом не отличалось от показателей группы здоровых лиц.

Системный ответ у больных женщин оценивали по показателям крови – общему количеству лейкоцитов, СОЭ и наличию С-реактивного белка. Так, по данным таблицы 5.4.3 видно, что общее количество лейкоцитов в крови не отличалось от показателей в контрольной группе. Тем не менее, С-реактивный белок был положительным у 69 % больных. Средние показатели СОЭ в 2,4 раза ($p < 0,05$) превышали таковые в контроле, а границы их индивидуальных колебаний составляли от 7 до 25 мм/ч.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что у женщин с опухолями ТИШМ показатели интенсивности эмиграции лейкоцитов, общее количество лейкоцитов в крови, абсолютное количество спонтанных и стимулированных нейтрофилов ротовой полости, которые эмигрировали за 1 минуту, находились в пределах значений контрольной группы. Однако, отмечали повышение показателей спонтанной активности ПЯЛ крови и полости рта, увеличение уровня нитритов и содержания МСМ в плазме, слюне и смывах.

Через 7 дней после операции повторно регистрировали изменения исследуемых показателей в биологических жидкостях.

Таблица 5.4.3

Изменения показателей плазмы у лиц с опухолями тела и шейки матки до, после операции и после курса лучевой у-терапии (M±m)

Исследуемые показатели	Контроль, n = 28	Опухоли тела и шейки матки до операции, n = 16	Опухоли тела и шейки матки после операции, n = 15	После курса лучевой терапии, n = 14
C-реактивный белок	(-) – отрицательный	31% (-) – отрицательный 69% (+) – положительный	64% (-) – отрицательный 46% (+) – положительный	86% (-) – отрицательный. 14% (+) – положительный
Общее количество лейкоцитов, $\times 10^9$ / л	7,14±1,09	7,20±1,69	9,33±2,05	3,87±0,73* ***
СОЭ, мм/ч	6,50±1,93	15,81±3,88*	21,33±16,49***	28,14±7,29*
Осмоляльность, мосм/кг	295,46±5,14	299,31±7,52	293,13±8,66	294,07±11,48
MCM ($\lambda=254$ нм), ед.опт.пл.	91,96±8,65	187,31±31,48*	110,53±29,71	96,00±9,57**
MCM ($\lambda=280$ нм), ед.опт.пл	111,61±7,33	244,69±65,73*	142,07±39,02	117,71±13,71
Концентрация Са, ммоль/л	2,31±0,18	2,53±0,17	2,25±0,18	2,41±0,16

Примечания:

* - $P \leq 0,05$ – достоверность отличий показателей в сравнении с контрольной группой** - $P \leq 0,05$ – достоверность отличий показателей в сравнении с группой к операции*** - $P \leq 0,05$ – достоверность отличий показателей в сравнении с группой после операции.

Так, показатели интенсивности эмиграции лейкоцитов повысились на 17 % ($p > 0,05$) в сравнении с группой к операции, однако существенно не отличались от показателей контроля (табл. 5.4.1). Отмечали повышение стимулированной функциональной активности ПЯЛ ротовой полости до $14,33 \pm 1,24\%$ ($p < 0,05$), что на 52 % выше, чем в контроле ($9,43 \pm 1,89\%$), однако, незначительно отличалось от показателей группы до операции ($12,88 \pm 1,42$, $p > 0,05$) (рис. 5.4.1). Показатели спонтанной активности лейкоцитов составляли $10,93 \pm 1,15\%$, что на 61 % ($p > 0,05$) выше относительно показателей контроля ($6,75 \pm 1,69\%$) и практически не отличались от показателей в группе до операции ($10,81 \pm 1,41\%$).

Отмечали также повышение функциональной активности лейкоцитов крови (рис. 5.4.1). Так, показатели спонтанного НСТ-теста составляли $18,07 \pm 2,07\%$ ($p < 0,05$), что в 2 раза больше, чем в контроле ($8,79 \pm 1,67\%$) и практически не отличались от показателей в группе до операции ($14,19 \pm 2,19\%$). Показатели стимулированного НСТ-теста повысились на 50 % ($p < 0,05$) и достигали $35,93 \pm 1,81\%$, ($p < 0,05$) в группе здоровых лиц ($24,14 \pm 2,68\%$) и не отличались от показателей в группе до операции ($30,69 \pm 2,31\%$) ($p > 0,05$). Кроме того, проведенный корреляционный анализ показал зависимость между показателями спонтанного и стимулированного НСТ-теста лейкоцитов крови и ротовой полости ($r = +0,47$ и $r = +0,54$, $p < 0,05$ соответственно). Абсолютное количество спонтанных и стимулированных ПЯЛ в ротовой полости существенно не отличалось от показателей контроля и группы до операции (рис. 5.4.2).

Полученные результаты уровня NO_2^- указывают на некоторое изменение его концентрации в исследуемых жидкостях в послеоперационный период (рис. 5.4.3). Так, показатели уровня NO_2^- в слюне составляли $58,54 \pm 15,29$ мкмоль/л, что на 38 % ниже показателей в группе до операции ($93,05 \pm 23,28$ мкмоль/л), однако, на 59 % больше ($p > 0,05$), чем в

контрольной группе ($36,89 \pm 11,33$ мкмоль/л). Снижался уровень NO_2^- в смывах до $18,83 \pm 4,82$ мкмоль/л и был на 32 % меньше, чем в группе до операции ($27,76 \pm 7,81$ мкмоль/л), но на 43 % ($p > 0,05$) больше, чем в контроле ($13,20 \pm 5,04$ мкмоль/л). Однако, значения содержания NO_2^- в плазме крови практически не отличались от показателей в группе до операции ($43,41 \pm 10,15$ мкмоль/л), но были в 2,2 раза больше ($p > 0,05$), чем в контрольной группе ($18,77 \pm 2,61$ мкмоль/л). Корреляционный анализ обнаружил значительную степень взаимосвязи между показателями уровня NO_2^- в ротовой полости и плазме крови ($r = +0,41$; $p < 0,05$), а также между уровнем NO_2^- в ротовой полости и интенсивностью эмиграции лейкоцитов ($r = -0,22$; $p < 0,05$).

Показательными являются результаты исследования содержания МСМ в исследуемых жидкостях. Из представленных данных таблицы 5.4.2. видно, что уровень МСМ ($\lambda = 254$ нм и $\lambda = 280$ нм) в слюне имел тенденцию к снижению относительно показателей группы до операции, однако не достигал нормы. Такие же изменения зафиксированы в смывах (табл 5.4.1).

В плазме отмечено однонаправленное изменение концентрации МСМ ($\lambda = 254$ нм) и ($\lambda = 280$ нм) в среднем на 41 % ($p > 0,05$) с приближением к показателям контрольной группы (табл. 5.4.3). Корреляционный анализ обнаружил наличие высокой взаимосвязи МСМ ($\lambda = 254$ нм) и ($\lambda = 280$ нм) в плазме и слюне ($r = +0,78$; $r = +0,88$; $p < 0,05$) соответственно, а также показателями уровня NO_2^- смывной жидкости и МСМ ($\lambda = 254$ нм и $\lambda = 280$ нм) в плазме крови ($r = +0,27$; $r = +0,30$; $p < 0,05$) соответственно.

Определение осмоляльности крови и слюны в послеоперационный период обнаружили незначительные отклонения в сторону уменьшения индивидуальных колебаний, но в целом их значения не отличались от показателей контрольной группы (табл. 5.4.1; 5.4.3).

Подобные изменения были характерными для показателей содержания Са. Наиболее выраженное снижение индивидуального уровня Са отмечали в смывах, однако, их средние значения в исследуемых жидкостях существенно не отличались от таковых в контроле (табл. 5.4.1; 5.4.2; 5.4.3).

Таким образом, послеоперационный период характеризовался тенденцией к снижению уровня нитритов в ротовой полости, без существенных изменений в плазме, где оставался выше нормы. Интенсивность эмиграции не изменялась и оставалась в пределах контрольных значений. Однако достоверно возросла стимулированная активность ПЯЛ ротовой полости и крови.

Результаты исследований, представленные в таблице 5.4.1, показывают, что после курса лучевой гамма-терапии интенсивность эмиграции лейкоцитов на слизистую оболочку ротовой полости достоверно уменьшилась на 50 %, в сравнении с контролем и на 42 % с группой больных после операции. Снижение эмиграции отмечали на фоне лейкопении. Общее количество лейкоцитов крови уменьшилось в 2 раза ($p < 0,05$) в сравнении с контрольной группой и в 2,5 раза ($p < 0,05$) относительно группы после операции (табл. 5.4.3). У 85 % больных отмечали наличие в крови С-реактивного белка, что на 22 % превышал показатели в группе после операции и в 4 раза – в контроле. Показатели осмоляльности крови и слюны, а также содержание Са находились в пределах значений контроля (табл. 5.4.1 и 5.4.2).

Отмечали снижение функциональной активности лейкоцитов в исследуемых жидкостях. Так, спонтанная активность ПЯЛ ротовой полости снизилась на 49 % ($p < 0,05$), в сравнении с группой после операции ($10,93 \pm 1,15$ %) и составляла $7,21 \pm 1,39$ % (рис. 5.4.1). Стимулированная – снизилась до $8,64 \pm 1,41$ % ($p < 0,05$), что на 44 % меньше, чем в группе до операции ($14,33 \pm 1,24$ %) и практически не отличалась от показателей контроля ($9,43 \pm 1,89$ %).

Значительное изменение активности ПЯЛ отмечали в крови (рис. 5.4.1). Так, показатели спонтанного НСТ-теста уменьшились до $10,29 \pm 1,33$ %, что на 75% ($p < 0,05$) ниже, чем после операции ($18,07 \pm 2,07$ %) с приближением к значениям контроля. Показатели стимулированной активности ПЯЛ по активированному НСТ-тесту уменьшились на 71 % ($p < 0,05$), относительно группы после операции ($35,93 \pm 1,81$ %) и достигали $21,00 \pm 2,71$ %, тем не менее оставались на 12 % ниже, чем в контроле ($24,14 \pm 2,68$ %). Одновременно, отмечали снижение абсолютного количества спонтанных и стимулированных ПЯЛ, которые эмигрировали в ротовую полость до $10,69 \pm 1,92$ тыс/мин и $12,87 \pm 2,35$ тыс/мин ($p > 0,05$) соответственно, в сравнении с группой после операции (рис. 5.4.2.).

Как показали результаты исследования уровень NO_2^- изменялся незначительно в исследуемых жидкостях после курса лучевой терапии (рис. 5.4.3). Так, концентрация NO_2^- в слюне повысилась до $65,90 \pm 16,71$ мкмоль/л ($p > 0,05$), что на 11 % большее, чем в группе после операции ($58,54 \pm 15,29$ мкмоль/л), и оставалась выше на 78 % ($p > 0,05$) относительно контрольных величин ($36,89 \pm 11,33$ мкмоль/л). Уровень NO_2^- в смывах составлял $29,83 \pm 7,33$ мкмоль/л и был на 42 % выше, чем в группе после операции ($18,83 \pm 4,82$ мкмоль/л) и в 2,3 раза больше, чем в контроле ($13,20 \pm 5,04$ мкмоль/л). Однако, противоположные результаты были получены при исследовании плазмы крови, в которой отмечали снижение уровня NO_2^- на 30 % ($31,41 \pm 6,71$ мкмоль/л), относительно группы после операции ($40,77 \pm 11,04$ мкмоль/л), однако его концентрация оставалась выше контрольных величин ($18,77 \pm 2,61$ мкмоль/л), на 67% ($p > 0,05$).

Проведенный корреляционный анализ обнаружил наличие положительной корреляции между показателями NO_2^- в слюне спонтанным и стимулированным НСТ-тестами ($r = +0,52$ и $r = +0,56$; $p < 0,05$) соответственно. Установлена отрицательная

корреляционная зависимость между показателями уровня NO_2^- в ротовой полости и интенсивностью эмиграции лейкоцитов ($r=-0,41$; $p<0,05$), а также между NO_2^- смывной жидкости и плазмы, ($r=+0,47$; $p<0,05$).

Исследования показали изменение содержания МСМ в исследуемых жидкостях. Из представленных данных в таблице 5.4.2 видно, что уровень МСМ ($\lambda=254$ нм) в слюне понизился на 33 % в сравнении с группой до операции и практически не отличался от показателей контрольной группы. Одновременно снижался (на 15 %) уровень МСМ ($\lambda=280$ нм) и также достигал контрольных величин. Отмечали нормализацию концентрации фракций МСМ ($\lambda=254$ нм) и ($\lambda=280$ нм) в смывах, показатели которых приближались к значениям контроля (табл. 5.4.1).

В плазме крови также отмечали снижение уровня фракций МСМ (табл. 5.4.3). Данные показатели в среднем на 25 % превышали таковые в контрольной группе. Однако, эти изменения были недостоверными.

При этом корреляционный анализ обнаружил высокую степень положительной корреляции между фракциями МСМ ($\lambda=254$ нм и $\lambda=280$ нм) в плазме крови и слюне ($r=+0,78$ и $r=+0,88$; $p<0,05$) соответственно. Кроме того, было выявлено снижение корреляционной зависимости между показателями содержания МСМ ($\lambda=254$ нм) и NO_2^- смывов до $r=+0,13$, $p<0,05$ после облучения в сравнении с группой до операции ($r=+0,54$).

Определение осмоляльности слюны и крови не обнаружили значительных отклонений этого показателя в данных жидкостях (табл. 5.4.2; табл. 5.4.3).

Некоторые изменения уровня Са в сторону ее снижения отмечались в слюне (табл. 5.4.2). В сравнении с группой до операции концентрация Са в слюне снизилась на 45 %, а в смывах на 22 % (табл. 5.4.1). Однако данные изменения не носили достоверный характер. В плазме крови уровень Са приближался к значениям контрольной группы (табл. 5.4.3).

Таким образом, после курса γ -терапии на фоне лейкопении отмечали снижение интенсивности эмиграции лейкоцитов,

нормализацию их функциональной активности, снижение уровня NO_2 и содержания фракций МСМ. Выявлена отрицательная корреляционная зависимость между показателями уровня NO_2^- ротовой полости и эмиграцией лейкоцитов, а также содержанием NO_2 смывной жидкости и МСМ плазмы крови.

Полученные результаты исследований показали, что у женщин с опухолями ТИШМ до и после операции интенсивность эмиграции лейкоцитов практически не изменяется. Более существенные изменения отмечаются после курса γ -терапии на фоне лейкопении и снижения функциональной активности ПЯЛ. Следует отметить, что на протяжении всего периода исследований в данной группе в ротовой жидкости и крови содержание нитритов было повышенным.

5.5. Острые и хронические миелолейкозы.

В предшествующем разделе мы привели данные исследования интенсивности эмиграции лейкоцитов и их активности, а также связи с другими компонентами крови и слюны при опухолях локально расположенных в органах репродуктивной системы. Однако, опухоли другого происхождения, такие как лейкозы носят системный характер и характеризуются увеличением количества незрелых лейкоцитов в периферической крови.

В условиях стационара обследовано 14 пациентов с острыми и 17 пациентов с хроническими лейкозами в стадии прогрессирования. Исследования проводили в первый день поступления больных в отделении гематологии (то есть до начала лечения). Показателями нормы служили полученные значения контрольной группы здоровых лиц.

При осмотре состояния слизистой оболочки полости рта отмечали: изменение ее цвета, наличия отека, геморрагии,

состояния слюнных желез (гипер- и гипосаливацию) (табл. 5.5.1), а также общего количества зубов (табл. 5.1.1).

Данные таблицы 5.5.1 свидетельствуют о том, что к числу наиболее частых симптомов нарушений слизистой оболочки можно отнести изменение ее цвета (белесоватость), отек и нарушение слюноотделения, которое обнаруживается в виде гипосаливации, ощущение сухости, а также затруднения глотания и наличие болей при жевании. Геморрагический синдром обнаруживался в виде петехий, главным образом на мягком небе и кровоточивостью десен.

Таблица 5.5.1

Клинические проявления состояния слизистой оболочки полости рта у больных с острым и хроническим миелолейкозами

Симптомы	Частота проявлений	
	Абсолют. един.	%
Изменение цвета	31	100 %
Отек	24	76 %
Геморрагии	18	58 %
Нарушение слюноотделения	21	67 %
Боль при жевании	15	47 %

В результате исследования выявлены существенные нарушения эмиграции лейкоцитов на слизистую оболочку ротовой полости (табл. 5.5.2 и 5.5.3). Так, в группе с острыми миелолейкозами интенсивность эмиграции уменьшилась в среднем в 3,6 раза ($p < 0,05$), с хроническими – в 2,7 раза ($p < 0,05$),

относительно контрольной группы. При этом изменения общего количества лейкоцитов в крови носили разнонаправленный характер. При остром лейкозе индивидуальный диапазон общего количества лейкоцитов в крови находился в границах от 0,8 Г/л до 186 Г/л, при хроническом – от 7,6 Г/л до 220 Г/л. Несмотря на различное общее количество лейкоцитов в крови при данных видах лейкозов интенсивность эмиграции лейкоцитов практически не зависела от форм лейкозов и количества лейкоцитов в периферической крови. Изменения лейкоцитарной формулы были принципиально однотипными для всех больных и характеризовались нарушениями типа сдвига влево с увеличением количества палочкоядерных нейтрофилов, юных форм, а также бластов, которые появляются при хронических лейкозах в период бластного криза и имели следующий вид: при острых миелолейкозах – базофилы – 4; эозинофилы – 2; миелобласты – 55,9; миелоциты – 2,7; юные – 0; палочкоядерные – 5,9; сегментоядерные – 18,5; лимфоциты – 15,9; моноциты – 2,3 (%). При хронических – базофилы – 6,3; эозинофилы – 4,5; миелобласты – 21,6; миелоциты – 11; юные – 5,9; палочкоядерные – 13,2; сегментоядерные – 35,5; лимфоциты – 8,5; моноциты – 6,3 (%). Контроль – (б – 0; е – 0; мц – 0; ю – 0; п – 4,2; с – 59,9; л – 27,5; г – 7,9 (%)). Морфологические изменения лейкоцитов обнаруживались в виде гиперсегментации ядра, анизоцитоза (в основном макроцитоза) и пойкилоцитоза, токсической зернистости цитоплазмы. При хроническом лейкозе у пациентов наблюдали выраженную спленомегалию, иногда увеличение печени. Практически у всех больных отмечали повышение температуры до 39 °С, анемию, тахикардию, одышку, отеки нижних конечностей, наличие гематом на теле. Отмечали также повышение СОЕ в среднем в 6 раз ($p < 0,05$) относительно контроля, которое свидетельствует о наличии воспаления и нарастании интоксикации, а также наличие С-реактивного белка (табл. 5.5.4).

Исследования функциональной активности ПЯЛ смывов и крови обнаружили существенное их снижение. Как видно из

представленных данных (рис. 5.5.1), функциональная активность нейтрофилов ротовой полости по показателям спонтанного НСТ-теста при острых лейкозах уменьшилась в 2,5 раза и составляла $2,64 \pm 0,84$ % ($p < 0,05$), при хронических – в 2 раза относительно показателей контрольной группы ($6,75 \pm 1,69$ %) и составляла $3,35 \pm 1,08$ % ($p < 0,05$). Аналогичные изменения активности лейкоцитов наблюдали по показателями стимулированного НСТ-теста. Так, резервная активность ПЯЛ смывов при острых лейкозах понизилась до $4,50 \pm 1,00$ % ($p < 0,05$), что в 2 раза меньше, чем в контроле ($9,43 \pm 1,89$ %). При хроническом лейкозе – составляла $5,12 \pm 1,08$ %, а это в 1,8 раз ниже показателей в контрольной группе.

Исследование активности нейтрофилов крови показали что, функциональная активность ПЯЛ по показателям спонтанного НСТ-теста, как при остром так и хроническом лейкозах уменьшилась в 2 раза в сравнении с контролем ($8,79 \pm 1,67$ %) и составляла $4,29 \pm 0,98$ % ($p < 0,05$) и $5,00 \pm 0,94$ % ($p < 0,05$) соответственно (рис. 5.5.2). Аналогичное снижение резервной активности лейкоцитов (также в 2 раза) по показателям НСТ-теста отмечали при данных видах лейкоза. Так, при остром лейкозе значения резервной активности составляли $12,64 \pm 1,69$ % ($p < 0,05$), при хроническом – $13,00 \pm 1,88$ % ($p < 0,05$), в то время как в контроле эта величина достигала $24,14 \pm 2,68$ %.

Таким образом, данные исследования показали существенное снижение функциональной активности лейкоцитов крови и слюны как при острых, так и хронических лейкозах. При этом, абсолютное количество спонтанных и стимулированных лейкоцитов, которые эмигрировали в ротовую полость, значительно снизилось и составляло при острых миелолейкозах $1,61 \pm 0,64$ тыс/мин и $2,69 \pm 0,64$ тыс/мин ($p < 0,05$); при хронических – $2,76 \pm 1,06$ тыс/мин и $4,79 \pm 1,79$ тыс/мин ($p < 0,05$) соответственно. В контроле соответственно ($17,31 \pm 6,58$ тыс/мин и $24,53 \pm 7,97$ тыс/мин) (рис. 5.5.3).

Показатели форм лейкозов и интенсивности эмиграции лейкоцитов на слизистую оболочку ротовой полости у больных с острыми миелолейкозами (M±m)

Таблица 5.5.2

Исследуемые показатели	Контроль (здоровые люди), n=28	Острый миелолейкоз, n=14			
		Лейкопени- ческая форма	Алейкемичес- кая форма	Сублейкемичес- кая форма	Лейкемичес- кая форма
Общее кол- во лейкоцитов, $\times 10^9$ л	7,13±1,09	1,43±0,61*	5,17±0,96	46,43±13,42*	163,00±23,00*
Интенсив- ность эмиграции, тыс/мин	226,52±30,89	55,29±5,99*	62,93±4,40*	75,04±10,37*	63,53±22,87*

Примечание. * – $P \leq 0,05$ вероятность различий показателей с контрольной группой

Таблица 5.5.3

Показатели форм лейкозов и интенсивности эмиграции лейкоцитов на слизистую оболочку ротовой полости у больных с хроническими миелолейкозами ($M \pm m$)

Исследуемые показатели	Контроль (здоровые люди), n=28	Хронический миелолейкоз, n=17			
		Лейкопени- ческая форма	Алейкемичес- кая форма	Сублейкемичес- кая форма	Лейкемичес- кая форма
Общее количество лейкоцитов, $\times 10^9$ л	7,13 \pm 1,09	—	8,00 \pm 0,40	36,78 \pm 8,35*	173,33 \pm 31,11
Интенсивность эмиграции, тыс/мин	226,52 \pm 30,89	—	82,60 \pm 6,80*	79,14 \pm 21,37*	77,55 \pm 17,45*

Примечание. * – $P \leq 0,05$ – вероятность отличий показателей от контрольной группы.

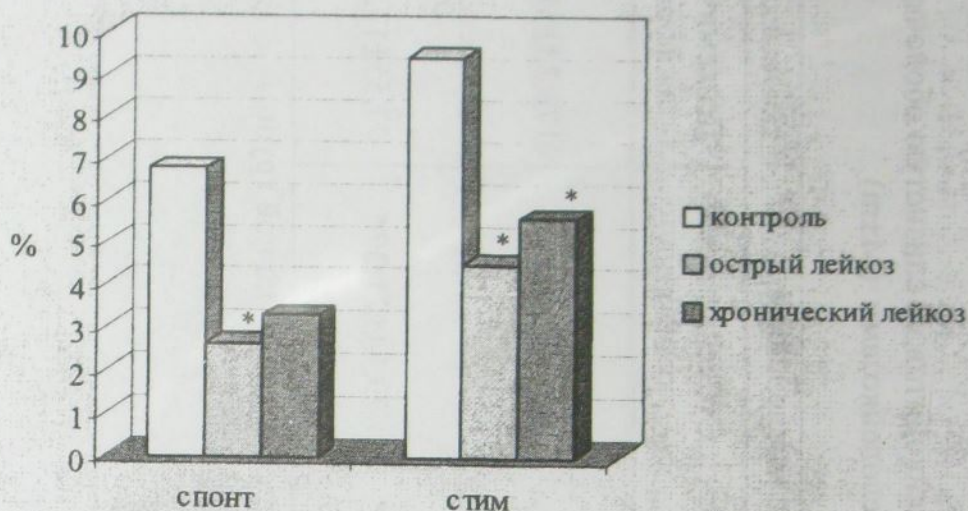


Рис. 5.5.1. Показатели НСТ-теста ПЯЛ смывной жидкости ротовой полости при острых и хронических миелолейкозах.

Примечание. *- $P \leq 0,05$ – достоверность отличий исследуемых показателей в сравнении с контролем.

Полученные результаты определения уровня NO_2^- в исследуемых жидкостях показали достоверное повышение его содержания в слюне, смывной жидкости и плазме крови как при острых, так и хронических лейкозах (рис. 5.5.4).

Так, в слюне уровень NO_2^- при хронических лейкозах повысился до $358,17 \pm 61,91$ мкмоль/л ($p < 0,05$), что в 10 раз больше, чем в контроле ($36,89 \pm 11,33$ мкмоль/л), при острых до $293,91 \pm 94,54$ мкмоль/л ($p < 0,05$), что в 8 раз выше контрольных величин.

Показатели плазмы крови у лиц с острыми и хроническими
миелолейкозами, (M±m)

Исследуемые показатели	Контроль, n = 28	Острый миелолейкоз, n = 14	Хронический миелолейкоз, n = 17
Общее количество лейкоцитов, $\times 10^9 / \text{л}$	7,14±1,09	(0,9 – 186,0) ± 42,74	(7,6 – 220,0) ± 40,95
C-реактивный белок	(-) – отрицательный	100% – (+) положительный	100% – (+) положительный
СОЕ, мм/час	6,50±1,93	38,29±19,80	36,86±13,59*
Осмоляльность, мосм/кг	295,46±5,14	280,07±10,06	273,35±11,58
MCM ($\lambda=254 \text{ нм}$) ед.опт.пл.	91,96±8,65	279,64±28,31*	286,41±27,09*
MCM ($\lambda=280 \text{ нм}$) ед.опт.пл.	111,61±7,33	194,57±32,29*	186,41±27,09*
Концентрация Са, ммоль/л	2,31±0,18	2,70±0,14	2,69±0,15

Примечание. * - $P \leq 0,05$ – вероятность отличий показателей в сравнении с контрольной группой.

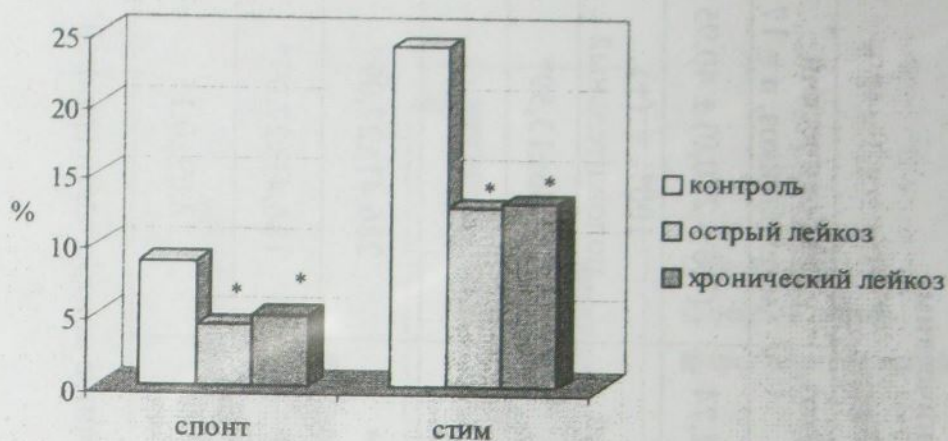


Рис.5.5.2. Показатели НСТ-теста ПЯЛ крови при острых и хронических миелолейкозах.

Примечание. *- $P \leq 0,05$ – достоверность отличий исследуемых показателей в сравнении с контролем.

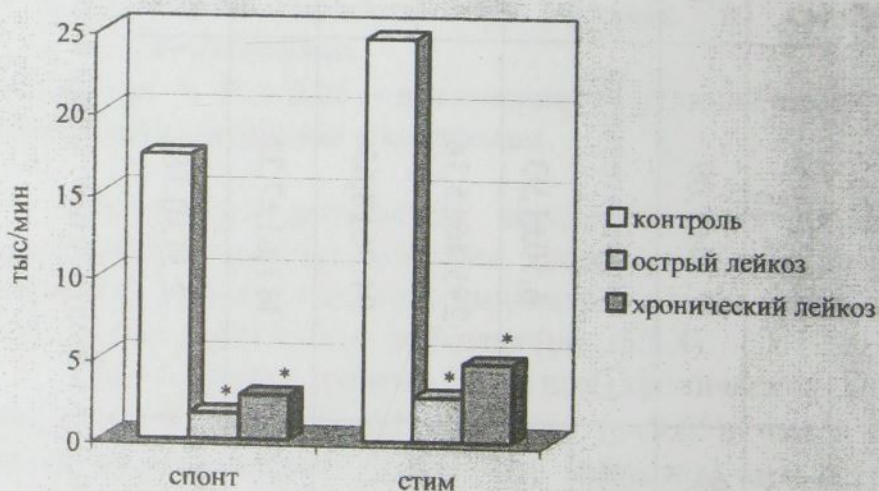


Рис. 5.5.3. Показатели абсолютного количества спонтанных и стимулированных ПЯЛ ротовой полости при острых и хронических миелолейкозах.

Примечание. * – $P \leq 0,05$ – достоверность отличий показателей в сравнении с контрольной группой.



Рис.5.5.4. Показатели содержания NO_2^- в исследуемых жидкостях при острых и хронических миелолейкозах.

Примечание. * - $P \leq 0,05$ – достоверность отличий исследуемых показателей в сравнении с контролем.

В смывах концентрация нитритов в обеих группах была выше в 2,4 и в 2,8 раза относительно группы здоровых лиц ($13,20 \pm 5,04$ мкмоль/л) и достигала при острых лейкозах $37,63 \pm 8,69$ мкмоль/л ($p < 0,05$) и $36,89 \pm 8,02$ мкмоль/л ($p < 0,05$) – при хронических.

В плазме крови при острых лейкозах уровень NO_2^- достигал $56,43 \pm 15,04$ мкмоль/л ($p < 0,05$), что в 3 раза больше, чем в группе здоровых лиц ($18,77 \pm 2,61$ мкмоль/л). При хронических – уровень NO_2^- составлял $42,17 \pm 9,01$ мкмоль/л ($p < 0,05$) и превышал в 2,2 раза его содержание в контроле.

Проведенный корреляционный анализ обнаружил отрицательную связь между показателями уровня NO_2^- смывной жидкости и эмиграцией лейкоцитов ($r = -0,33$;

$r=-0,45$, $p<0,05$) при остром и хроническом лейкозах соответственно, а также положительную связь между показателями уровня NO_2^- в смывах и плазме крови ($r=+0,53$ $r=+0,57$, $p<0,05$) при остром и хроническом лейкозах соответственно. Положительная взаимозависимость наблюдалась между показателями NO_2^- смывов и спонтанным и стимулированным НСТ-тестами ПЯЛ слюны при остром миелолейкозе ($r=+0,41$ и $r=+0,23$, $p<0,05$), при хроническом ($r=+0,48$ и $r=+0,29$, $p<0,05$) соответственно. Вместе с тем была выявленная положительная зависимость между значениями NO_2^- плазмы и спонтанным и активированным НСТ-тестами нейтрофилов крови при остром ($r=+0,39$ и $r=+0,24$) и ($r=+0,26$ и $r=+0,14$) – при хроническом лейкозах соответственно.

В результате проведенных исследований установлено повышение содержания фракций МСМ во всех исследуемых жидкостях, как при остром, так и хроническом миелолейкозах.

Так, концентрация МСМ ($\lambda=254$ нм) в плазме увеличилась почти в 3 раза в обоих исследуемых группах (табл. 5.5.4). Однако, содержание МСМ ($\lambda=280$ нм) при остром лейкозе повысилось в 2 раза, тогда как при хроническом (только на 67 %, то есть 0,6 раз), относительно показателей группы здоровых лиц.

В слюне отмечали равномерное увеличение фракций МСМ ($\lambda=254$ нм и $\lambda=280$ нм) в обеих группах больных. Их значения были в среднем в 3 и в 2 раза выше соответственно, чем в контроле (табл. 5.5.5).

Что касается МСМ ($\lambda=254$ нм), то их уровень в смывах, при острых миелолейкозах увеличился в 2 раза, при хронических лейкозах – в 2,5 раза, уровень МСМ ($\lambda=280$ нм) увеличился в среднем на 60 % (табл. 5.5.6).

Кроме того, обнаружили высокую степень положительной корреляции между фракциями МСМ ($\lambda=254$ нм и $\lambda=280$ нм) в плазме и слюне при остром лейкозе ($r=+0,67$;

$r=+0,82$, $p<0,05$) и при хроническом лейкозе ($r=+0,79$; $r=+0,94$, $p<0,05$) соответственно.

Таблица 5.5.5

Показатели слюны у лиц с острыми и хроническими
миелолейкозами, (M±m)

Исследуемые показатели	Контроль, n = 28	Острый миелолейкоз, n = 14	Хронический миелолейкоз, n = 17
МСМ ($\lambda=254$ нм), ед.опт.пл.	100,46±9,51	288,07±71,08*	290,59±76,91*
МСМ ($\lambda=280$ нм), ед.опт.пл.	127,51±15,66	254,29±58,78*	286,35±69,63*
Осмоляльность, мосм/кг	95,04±8,03	73,93±12,20	78,35±8,57
Концентрация Са, ммоль/л	1,13±0,22	0,65±0,15	0,64±0,11

Примечание. * – $P \leq 0,05$ – достоверность отличий показателей в сравнении с контрольной группой.

Выявлена высокая положительная корреляционная зависимость между показателями содержания МСМ ($\lambda=254$ нм) в плазме крови и смывах ($r=+0,62$, $p<0,05$), а также уровнями МСМ ($\lambda=280$ нм) в этих же жидкостях ($r=+0,56$, $p<0,05$) при острых лейкозах; тогда как при хронических – ($r=+0,73$, $p<0,05$) и ($r=+0,69$, $p<0,05$) соответственно.

Показатели смывов ротовой полости у лиц с острыми и хроническими

миелолейкозами, ($M \pm m$)

Исследуемые показатели	Контроль, n = 28	Острый миелолейкоз, n = 14	Хронический миелолейкоз, n = 17
MСМ ($\lambda=254$ нм), ед.опт.пл.	25,21 \pm 7,55	58,79 \pm 17,47	62,65 \pm 14,61*
MСМ ($\lambda=280$ нм), ед.опт.пл.	32,18 \pm 7,23	55,79 \pm 15,79	51,76 \pm 10,54
Концентрация Са, ммоль/л	0,27 \pm 0,08	0,15 \pm 0,05	0,19 \pm 0,06

Примечание. * – $P \leq 0,05$ – достоверность отличий показателей в сравнении с контрольной группой.

Были также выявлены некоторые изменения концентрации Са в исследуемых жидкостях. Так, в слюне уровень Са снижался в среднем в 2 раза ($p > 0,05$) в обеих группах лейкозов (табл. 5.5.5). В смывах снижение концентрации Са было более выраженным при острых лейкозах (табл. 5.5.6). Однако, в плазме крови отмечали незначительное увеличение на (17 %), ($p > 0,05$) концентрации Са (табл. 5.5.4), тем не менее они были недостоверными. Что касается осмоляльности крови и слюны (табл. 5.5.4 и 5.5.5), то ее изменения в этих жидкостях имели небольшую тенденцию к снижению при данных видах лейкозов.

Таким образом, при острых и хронических лейкозах в стадии акселерации и бластного криза отмечается снижение интенсивности эмиграции лейкоцитов на слизистую оболочку ротовой полости, а также уменьшение их функциональной активности, как на фоне выраженной лейкопении, так и на фоне лейкоцитоза. Характерным для данных лейкозов является повышение уровня NO_2^- и увеличение содержания фракций МСМ в исследуемых жидкостях.

Известно, что рост опухоли регулируется взаимодействием разных клеток: эндотелиальных клеток сосудистой сети опухоли, Т-лимфоцитов, макрофагов и нейтрофилов, которые инфильтрируют опухоль (Knowles R.S., Moncada S., 1994; Orucevic A. et al., 1999; Раков А.Л. и др., 1999). Все эти клетки способны *in vitro* генерировать NO. Однако, установлено, что процессы которые происходят *in vitro* с участием NO, не всегда отображают таковые *in vivo*.

Анализ данных литературы подтверждает гипотезу о двойственной роли эндогенно синтезируемого NO в канцерогенезе в зависимости от его концентрации (Jonhson J.P., 1992; Петрищев Н.Н., Дубина М.В., 1999; Sanduhu J.K. et al., 2000). Другими словами, NO вовлекается как в регрессию, так и прогрессию опухолей, благодаря его продукции и в опухолевых клетках и в инфильтрирующих опухоль лейкоцитах (Vogovots Y. et al., 1999). Неоднозначную роль в опухолевом росте выполняет нейтрофильное звено. Имеются данные о дефиците МКА для нейтрофилов, обеспечивающих их прикрепление к сосудистой стенке, эмиграцию и фагоцитоз (Блиндарь В.Н. и др., 1998).

Анализ результатов собственных исследований показал, что у женщин с опухолями ТИШМ до операции показатели интенсивности эмиграции лейкоцитов в ротовую полость практически не отличались от показателей эмиграции у здоровых людей. Эмиграция сопровождалась повышением концентрации NO_2^- в слюне и смывах при нормальном количестве зубов $29,4 \pm 1,9$. При этом отмечали отрицательную корреляционную зависимость между показателями уровня NO_2^-

в слюне и интенсивность эмиграции лейкоцитов ($r=-0,31$). Через 7 дней после операции интенсивность эмиграции лейкоцитов существенно не изменялась, однако это сопровождалось снижением содержания NO_2 в слюне и смывах в среднем на 30%, а также уменьшением корреляционной зависимости до $r=-0,22$. После курса γ -терапии интенсивность эмиграции лейкоцитов снижалась на 42% в сравнении с показателями после операции на фоне лейкопении и некоторого повышения концентраций NO_2^- в слюне и смывах. При этом корреляционная зависимость между показателями интенсивности эмиграции лейкоцитов и NO_2 в ротовой полости усиливалась ($r=-0,40$).

Как упоминалось ранее, во многих экспериментальных и клинических исследованиях показано, что в развитии опухолевого роста играют роль высокие концентрации цитокинов (ИЛ-1 и ФНО- α), а также повышенный синтез NO (Ковальчук П.В. и др., 1990; Li L. et al., 1991), в том числе и опухолях эндометрия (Menegazzi R. Et al, 1994; Jyothi M. Diviy, Ashak Khar, 1999). Цитокины и NO, как известно, повышают экспрессию МКА лейкоцитов и эндотелия, в результате чего увеличивается эмиграция лейкоцитов из крови в ткани (Steinback F. et al., 1996). Однако, в других исследованиях показано, что в достаточно высоких количествах NO оказывает противоположный эффект посредством ингибирования экспрессии клейких молекул, тем самым удерживая некоторое количество эмигрирующих лейкоцитов и препятствуя притоку новых (Starkey J.R. et al., 1984; Sadanaga N. et al., 1999).

Необходимо также вспомнить, что рост опухолевой ткани оказывает супрессивное действие на систему иммунитета, что обусловлено иммуногенностью опухолеассоциированных антигенов (Cilofe M.D. et al., 1999; Sadanaga N. et al., 1999). Опосредовано нарушается функция нейтрофильного звена, в частности, их способность к эмиграции. Кроме этого, исследования показали, что у женщин с опухолями репродуктивной системы (III – IV стадия) определяется значительная недостаточность молекул адгезии CD11a и CD18a,

которые обуславливают эмиграцию ПЯЛ (Блиндарь В.Н., Зубрихина Г.Н., 1998; Блиндарь В.Н. и др., 1998). В течение последних лет в литературе появились сведения о недостаточности молекул адгезии в иммунных реакциях при опухолевых процессах, что ослабляет интенсивность противоопухолевых реакций, которые осуществляются иммунокомпетентными клетками, в том числе и нейтрофилами. Поскольку, у женщин исследованной группы имели место опухоли I и II стадии без метастазов, то не исключено, что дефицит клейких молекул может быть менее выраженным, т.е. разница в эмиграции по группе здоровых и больных составляла 22 тыс/мин. Возможно, даже такое незначительное изменение эмиграции ПЯЛ можно охарактеризовать как тенденцию к нарушению их способности к движению.

Что касается уменьшения эмиграции лейкоцитов в ротовую полость после γ -облучения, то этот процесс можно рассматривать с двух позиций. Во-первых, патогенным действием γ -лучей на костный мозг и уменьшением общего количества лейкоцитов (Дешева Ю.Б., Мороз Б.Б., 1995), что собственно, мы отмечали после трехнедельного курса γ -облучения. Во-вторых, возможным нарушением двигательной активности самих лейкоцитов при действии γ -лучей (Францилиц Е.М. и др., 2002), хотя их метаболическая активность по показателям НСТ-теста находилась в пределах нормы. Необходимо отметить, что при чистке зубов больные жаловались на кровотечения из десен, которое отмечалось на фоне снижения количества тромбоцитов и расстройств сосудистой стенки в результате действия γ -облучения, что возможно обусловлено снижением трофической функции тромбоцитов на эндотелий (Дешева Ю.Б., Мороз Б.Б., 1995; Кузьмина Е.Г. и др., 1998).

Поскольку в наших исследованиях не выявлено корреляционной зависимости между показателями уровня NO_2^- в плазме крови и интенсивности эмиграции лейкоцитов, то, возможно, это свидетельствует о независимости процесса

эмиграции ПЯЛ от системного синтеза NO. Противоположный результат с отрицательной взаимосвязью между показателями уровня NO_2^- в ротовой полости и эмиграции лейкоцитов до операции и после удаления опухоли на фоне нормальных показателей интенсивности эмиграции может указывать на модулирующее влияние NO, синтезируемого в том числе и в ротовой полости на данный процесс. После γ -облучения на фоне уменьшения общего количества лейкоцитов в крови интенсивность эмиграции уменьшалась, однако отрицательная корреляционная зависимость между показателями уровня NO_2^- и эмиграцией лейкоцитов, которая повышалась с $r=-0,22$ (после операции) до $r=-0,40$ (после γ -терапии) может свидетельствовать об ингибирующем влиянии NO на процесс эмиграции.

Как упоминалось выше, гиперпродукция NO при опухолевом процессе на начальных этапах опухолевого роста выполняет цитотоксическую роль в результате активации клеток иммунной системы и нейтрофильного звена неспецифической защиты, а на более поздних – патогенную, индуцированную продуктами метаболизма (пероксинитрит), самим NO, а также неспособностью той же системы иммунитета и нейтрофильного звена (Menegazzi R. et al., 1994; Hamaoka R. et al., 1999; Suzuki K. et al., 1999; Lindemann S. et al., 2000; Sunduhu J.K. et al., 2000).

Так, у женщин до операции наибольшие показатели уровня NO_2^- определялись в слюне – в 2,5 раза выше нормы, в смывах – в 2 раза, в крови – 2,3 раза, что совпадает с данными других работ о повышении уровня NO_2^- в крови при разных видах опухолей. Так, авторы отмечают экспрессию iNOS и повышенный синтез NO при опухолях шейки матки, эндометрия и яичников у 90% больных женщин (Hamaoka R. et al., 1999). Кроме того, некоторые опухоли, в том числе репродуктивной системы экспрессируют эндотелиальную NOS, что приводит к повышению проницаемости сосудов, улучшает питание опухоли и сопровождается увеличением уровня нитритов в плазме (Thomsen L.L. et al., 1995; Hamaoka R. et al., 1999). Учитывая то, что состояние организма опухоленосителя характеризуется

развитием стресс-реакции, увеличение продукции NO может отвечать стадии мобилизации систем противоопухолевой защиты организма, структурными компонентами которой являются NK-клетки, макрофаги и нейтрофилы (Lurebuch R.B. et al., 1993; Menegazzi R. et al., 1994; Filler I.J., Ellis L.M., 1994), что также обуславливает повышение содержания нитритов у данной группе женщин.

Выявленное повышение уровня NO_2^- в слюне и смывах может свидетельствовать о том, что нитриты, которые циркулируют в крови, способны проникать в ротовую полость, на что указывает положительная корреляционная связь между показателями уровня NO_2^- в плазме крови и полости рта, а также между показателями уровня NO_2^- смывов и МСМ в плазме крови и что может указывать на проницаемость сосудов ротовой полости для МСМ. Кроме того, повышенное образование NO_2^- может происходить в полости рта и его источником могут быть нейтрофилы, на что указывают повышенные значения показателей НСТ-теста.

После оперативного удаления опухолей отмечалось уменьшение содержания NO_2^- в слюне и смывной жидкости, однако в плазме крови уровень NO_2^- снижался незначительно. Возможно, удаление опухоли сопровождается перестройкой механизмов неспецифической защиты, направленных на их активацию, поскольку, в процессе развития опухоли, последняя вызывает угнетение защитных механизмов или их переориентацию на развитие опухоли, что связано с существенным действием опухоли на синтез NO макрофагами и нейтрофилами (Маеда Х., Акаике Т., 1998; Wink D.A. et al., 1998; Раков А.Л. и др., 1999).

Возможно, что более выраженное понижение NO_2^- в полости рта в сравнении с плазмой, обусловлено снижением поступления нитритов в ротовую полость через сосудистую стенку, так и уменьшением образования в полости рта и сопровождается уменьшением корреляционной зависимости между содержанием NO_2^- в ротовой полости и плазме крови.

После трехнедельного курса лучевой γ -терапии выявлены разнонаправленные изменения уровня NO_2^- в исследуемых жидкостях. Так, в слюне и смывах уровень NO_2^- повышался на 11% и 60% соответственно, а в плазме снижался на 22%, однако эти изменения были недостоверны. Возможно, незначительное повышение NO_2^- в полости рта, может быть связано с деятельностью микрофлоры, способной восстанавливать соли азотной кислоты до нитритов с помощью ферментов нитритредуктазы и нитратредуктазы (Вавилова Т.П. и др., 1989; Храмов В.А. и др., 2000) на фоне снижения общего количества эмигрирующих лейкоцитов, а также снижения абсолютного количества спонтанных и стимулированных лейкоцитов, которые, в свою очередь, являются источниками синтеза NO .

По данным литературы, локальное облучение γ -лучами сопровождается уменьшением экспрессии ФНО- α , ингибированием НАДФН-оксидазы и активности макрофагов и нейтрофилов (Martim M. et al., 1993; Зубова С.Г. и др., 1998). В результате чего развивается локальная иммуносупрессия. В связи с этим, наблюдается снижение неспецифической резистентности, которая обусловлена угнетением гранулоцитарного, а также других ростков гемопоэза (Францилиц Е.М. и др., 2002) и согласуется с данными наших исследований, в которых отмечено уменьшение общего количества лейкоцитов в крови. Кроме того, авторы указывают на то, что доза γ -облучения в 20 Гр, которая используется при терапии рака эндометрия способна вызвать лейкопению и угнетать активность клеток крови.

Данные некоторых исследований указывают на изменения функциональной активности лейкоцитов, связанных с перестройкой метаболических процессов (по показателям НСТ-теста) у больных с опухолевыми процессами, причем, данные НСТ-теста весьма противоречивы (Венедиктова М.Г. и др., 2001). Так, в наших исследованиях выявлено повышение функциональной активности ПЯЛ крови на 70% и 30% и слюны на 60% и 30% по показателям спонтанного и активированного

НСТ-теста соответственно. Эти данные не имеют достоверной значимости по активированному НСТ-тесту, однако они свидетельствуют о напряжении метаболической активности нейтрофилов. Данные изменения возможно можно рассматривать как признак эндогенной активности нейтрофилов. На роль эндогенных активаторов могут претендовать антигены раковой опухоли (Новик А.А. и др., 2002), которые циркулируют в крови в виде иммунных комплексов, влияющих на антигенчувствительные популяции лимфоциты, которые, в свою очередь, секретируют цитокины. Причем, эти реакции опосредованы через синтез цитокинов ИЛ-1 и ФНО- α (Ковальчук П.В. и др., 1990), которые экспрессируют индуцибельную NO-синтазу в лейкоцитах и собственно синтез NO. Поскольку, в данной работе показано, что уровень NO_2^- повышен в исследуемых жидкостях, то это может указывать на то, что источником его могут быть нейтрофилы, что и подтверждаются показателями НСТ-теста.

После радикального удаления опухоли, показатели спонтанной активности ПЯЛ крови и ротовой полости не изменялись, однако достоверно повышалась стимулированная активность ПЯЛ. Этот факт можно объяснить глубокими перестройками, которые происходят в раннем периоде после операции и связаны с активацией воспалительных и репаративных процессов. Возможно, данное повышение активности нейтрофилов обусловлено выходом в кровь лейкоцитов, способных активироваться в ответ на раздражитель, т.е. на оперативное повреждение и продукты этого повреждения.

После проведенного курса γ -терапии выявлена тенденция к нормализации функциональной активности ПЯЛ слюны и крови на фоне лейкопении, что согласуется с данными других авторов (Martin M. et al., 1993; Кузьмина Е.Г. и др., 1998; Vodovots Y. et al., 1999; Францилиц Е.М. и др., 2002) о возможном депрессивном влиянии дозы облучения более 20 Гр на компенсаторные возможности крови и снижение количества лейкоцитов у больных раком тела матки. Нормализация

активности ПЯЛ сопровождается аналогичной динамикой концентрации NO_2^- в исследуемых жидкостях, несмотря на то, что его содержание не достигало контрольных значений.

Существенные изменения фракций МСМ выявлялись в плазме, слюне и смывной жидкости у женщин до операции. Содержание МСМ достоверно повышалось в среднем в 2 раза, и, по мнению некоторых авторов (Гаврилов В.Б. и др., 1999; Нагоев Б.С., Габрилович М.И., 2000), свидетельствует о выраженной эндогенной интоксикации при опухолевом процессе и также обусловлено повышенной активностью нейтрофилов и макрофагов в опухолевой ткани, активностью их протеаз, направленных на лизис опухолевых клеток и выход в кровь локального очага МСМ, а также возможного снижения альбуминов в плазме, которые элиминируют МСМ. Увеличение уровня МСМ в слюне и смывах вероятно связано с повышенной активностью лейкоцитарных протеаз ПЯЛ ротовой полости, что подтверждается повышенной функциональной активностью лейкоцитов, а также возможное поступление МСМ в ротовую полость через стенку сосудов, поскольку молекулярная масса позволяет им проникать между эндотелиальными клетками. Кроме того, отмечалась корреляционная зависимость между фракциями МСМ ($\lambda=254$ нм и $\lambda=280$ нм) в плазме и слюне ($r=+0,59$ и $r=+0,47$) соответственно, что свидетельствует об их обмене в системе плазма-слюна, а также повышении проницаемости сосудов ротовой полости, и что, также, возможно подтверждается корреляционной зависимостью между показателями уровня NO_2^- смывной жидкости и МСМ плазмы крови ($r=+0,73$).

После операции отмечалось снижение уровня фракций МСМ в плазме и ротовой жидкости, что свидетельствует о снижении активности протеолитических ферментов, деградации белка и связано с удалением опухоли. Снижение корреляционной зависимости между фракциями МСМ ($\lambda=254$ нм и $\lambda=280$ нм) в плазме крови и слюне ($r=+0,26$ и $r=+0,28$) соответственно и между показателями уровня МСМ ($\lambda=254$ нм)

в плазме и NO_2^- в ротовой полости ($r=\pm 0,30$), по нашему мнению, свидетельствует о снижении проницаемости сосудов слизистой в полости рта.

После курса γ -терапии показатели уровня МСМ практически не отличались от показателей нормы, что свидетельствует о снижении активности протеолитических ферментов на фоне выявленной нормализации функциональной активности ПЯЛ по показателям НСТ-теста. Необходимо отметить, что снижение корреляционной зависимости между показателями уровня фракций МСМ ($\lambda=254$ нм и $\lambda=280$ нм) в плазме и слюне ($r=+0,13$ и $r=+0,11$) свидетельствует о нормализации проницаемости сосудов ротовой полости и синтеза эндотелиального NO , что также подтверждается уменьшением зависимости ($r=+0,17$) между показателями уровня NO_2^- смывов и МСМ ($\lambda=254$ нм) в плазме крови.

Необходимо отметить, что на протяжении всего периода исследований у женщин не выявлено каких-либо существенных изменений содержания Ca в исследуемых жидкостях, как и показателей осмоляльности крови и слюны. Полученные показатели не отличались от таковых в контрольной группе и, поэтому, могут свидетельствовать о том, что при повышении проницаемости сосудов ротовой полости обмен осмотически активных веществ и кальция не изменяется как в полости рта, так и крови.

Таким образом, проведенные исследования у женщин с опухолями тела и шейки матки I и II степени без метастазов засвидетельствовали о значительном увеличении образования нитритов в плазме крови и ротовой полости, что указывает на усиленный синтез оксида азота при опухолевом процессе. Повышенная функциональная (метаболическая) активность лейкоцитов крови и лейкоцитов, эмигрировавших в ротовую полость может служить косвенным доказательством их способности синтезировать NO . Удаление опухоли и применение γ -терапии оказывают нормализующее действие на продукцию NO на фоне стабилизации спонтанной и

стимулированной активности нейтрофилов. Интенсивность эмиграции лейкоцитов в ротовую полость оставалась в пределах нормы на фоне повышенного уровня NO как до, так и после удаления опухоли, что с учетом отрицательной корреляционной зависимости может свидетельствовать о модулирующем влиянии NO на процесс эмиграции, который совершается на фоне повышенной проницаемости сосудистой стенки. Применение γ -облучения сопровождалось уменьшением интенсивности эмиграции лейкоцитов на фоне лейкопении с уменьшением NO_2^- в крови и полости рта, что может свидетельствовать об ингибирующем влиянии NO на процесс эмиграции в соответствующей концентрации и подтверждается отрицательной корреляционной зависимостью.

Особенностью острого миелолейкоза является наличие значительного количества бластных клеток в периферической крови больных и массовая инфильтрация костного мозга незрелыми клетками в результате метаплазии, что приводит к выраженному снижению абсолютного количества циркулирующих зрелых нейтрофилов. Периферическая кровь при хроническом лейкозе в фазе акселерации и бластного криза представлена лейкемичными нейтрофилами разной степени зрелости и появлением в крови значительного количества бластных клеток, что не свойственно для хронической фазы заболевания (Асодов Ч.Д., Нумерова Л.С., 1990; Ковалева Л.Г., 1990; Мацнер Я., 1993; Барышников А.Ю., 1996; Савченко В.Г. и др., 1997; Чухловин А.Б., 1999; Хорошко Н.Д. и др., 2001; Блиндарь В.Н. и др., 2002). При этом авторы отмечают, что морфологически зрелые нейтрофилы, которые выявляются в крови, могут быть функционально неполноценными. Подобные изменения нейтрофилов отмечались и в наших исследованиях, как при остром так и хроническом миелолейкозах.

Выявлено уменьшение интенсивности эмиграции лейкоцитов на слизистую оболочку ротовой полости у больных с острыми и хроническими миелолейкозами в 2,7 и 3,5 раза соответственно, что, по мнению исследователей, указывает на

уменьшение их эмиграционной способности и нарушение хемотактических особенностей (Ковалева А.Г., 1990; Мацнер Я., 1993; Хорошко Н.Д. и др., 2001), а также на снижение адгезивности (Блиндарь В.Н. и др., 2002), что определяется в ПЯЛ при опухолевых процессах, и, возможно, связано, как считают другие авторы, с дефектами плазматической мембраны клеток и связыванием мембранных белков с сиаловой кислотой, в результате этого происходит маскировка на мембране поверхностных клеточных рецепторов адгезии и хемотаксиса. Высказано предположение о том, что сиализация клеток может также вызывать преждевременный выход незрелых клеток из костного мозга. Однако, основная причина такого дефекта все еще остается невыясненной (Мацнер Я., 1993).

Возможной причиной, на наш взгляд, уменьшения эмиграции лейкоцитов является уменьшение процесса адгезии клеток с сосудистой стенки, о чем свидетельствуют данные авторов (Блиндарь В.Н. и др., 2002), которые установили низкую экспрессию интегриновых молекул CD11b при прогрессировании лейкоза.

Необходимо отметить, что показатели интенсивности эмиграции лейкоцитов существенно не отличались между группами, и свидетельствует о глубоких нарушениях двигательной активности ПЯЛ, особенно при хроническом лейкозе после ремиссии и является показателем перехода моноклоновой в поликлоновую. Несмотря на то, что количество бластных клеток при хроническом миелолейкозе почти в 5 раз меньше (12,8%), чем при остром (55,8%), данные показатели являются основой клинической симптоматики (Ончул Л.К. и др., 1999; Любимова Л.С. и др., 2000), которая в наших исследованиях выражалась в виде существенных нарушений тканей ротовой полости – гиперплазии десен, гиперемии, кровоизлияний, отека, расшатыванием зубов и ощущением боли. Необходимо также отметить, что снижение интенсивности эмиграции лейкоцитов не зависело от общего количества лейкоцитов крови, поскольку, снижение эмиграции наблюдалось

не только на фоне лейкоцитоза, но и лейкопении, что также указывает на независимость данного процесса и еще раз подтверждается исследованиями (Мельниченко Э.М., Попруженко Т.В., 1991; Galbraith L.K. et al., 1991; Любимова Л.С. и др., 2000) о нарушении эмиграционной способности лейкоцитов. Кроме того, цитотоксические препараты как кортикостероиды, метотрексат, винбластин, цитозин-арабинозид, которые использовались для лечения больных хроническим миелолейкозом на протяжении всего периода лечения, способны угнетать хемотаксис, арагоцитоз, а также бактерицидную активность лейкоцитов (Любимова Л.С. и др., 2000), что безусловно могло отразиться на снижении эмиграции ПЯЛ и их метаболической активности.

Результаты наших исследований показали, что действительно у больных миелолейкозами отмечается угнетение спонтанной и стимулированной активности ПЯЛ (по НСТ-тесту) лейкоцитов крови и слюны. Отмеченные изменения, возможно, обусловлены тем, что в крови больных миелолейкозами циркулируют две популяции нейтрофилов (Блиндарь В.Н. и др., 2002). С одной стороны преобладают деффектные по ряду функций морфологически зрелые лейкоэмические ПЯЛ, с другой стороны – морфологически нормальные ПЯЛ, на мембране которых не выявляются рецепторы $CR^3+(CD11b)$, $Fc+(CD11b)$ не способны реагировать на сигналы и не могут крепиться к фагоцитирующему материалу (бактериям, опухолевым клеткам) и совершать фагоцитоз (Абдулсадыров К.М. и др., 1998). Авторы отмечают снижение стимулированного НСТ-теста у больных в стадии бластного криза при хроническом миелолейкозе, и это совпадает с полученными данными наших исследований и указывает на нарушение метаболической активности, обусловленной снижением активности НАДФН-оксидаз лейкоцитов (Асадов Ч.Д., Нумерова Л.С., 1990), а следовательно снижением синтеза NO нормальными ПЯЛ с одной стороны и повышением синтеза NO опухолевыми ПЯЛ с другой, действие которого направлено на угнетение

дифференцировки человеческих лейкемических клеток (Mori N. et al., 1999).

Результаты наших исследований показали существенное повышение нитритов во всех исследуемых жидкостях. Причем более высокие показатели NO_2^- определялись в плазме больных с острыми лейкозами, что может свидетельствовать о более глубоких нарушениях гемопоэза, а также преканцерогенной роли NO в развитии опухолей гемопоэтической ткани (Katagawa M. et al., 1999). Кроме того, результаты исследований указывают на увеличение экспрессии iNOS в костном мозге на 92% у больных с миелодиспластическим синдромом, а также экспрессию iNOS в клетках Т-лейкемии человека (Mori N. et al., 1999), что позволяет сделать вывод о вовлечении NO в патогенез лейкозов с одной стороны и его антилейкемическое действие с другой, но в более высоких концентрациях (Saaverda J.E. et al., 2000). Механизм синтеза NO при лейкозах опосредуется активирующим действием цитокинов ИЛ-1, ФНО- α (Ковалева Л.Г., 1990). Наличие цитокинового механизма выявляется в виде повышенного синтеза С-реактивного протеина, увеличения СОЭ , повышения температуры до $37^\circ\text{-}38,7^\circ\text{C}$. данные изменения отмечались как при остром так и хроническом миелолейкозах.

Повышенное содержание нитритов в ротовой полости свидетельствует о повышенном образовании NO в ротовой полости или же попадании метаболитов NO в ротовую полость из крови, что наиболее вероятно, поскольку функциональная активность лейкоцитов снижена (по показателям НСТ-теста), а следовательно способность ПЯЛ синтезировать NO незначительна. Возможным источником в таком случае могут быть опухолевые клетки, а также некоторые виды микроорганизмов в ротовой полости, количество которых может увеличиваться при снижении фагоцитарной активности ПЯЛ, что отмечалось в наших исследованиях по показателям НСТ-тестов. Кроме того, источником NO могут быть эндотелиальные клетки и, в частности, в ротовой полости. Подтверждением

этому является повышенное содержание фракций МСМ в слюне и смывной жидкости полости рта, что указывает на возможное поступление МСМ из крови вследствие повышенной проницаемости сосудов (Galbraith L.K. et al., 1991), и, на наш взгляд, обусловлена усиленным синтезом NO. Эти данные могут подтверждаться корреляционной зависимостью между показателями уровня NO_2^- и МСМ в плазме крови при острых и хронических лейкозах ($r=+0,45$ и $r=+0,52$) соответственно. Показательными являются значения содержания фракций МСМ в плазме крови, поскольку повышенный уровень МСМ свидетельствует о высокой активности протеолитических ферментов, обусловленной опухолевым процессом и распадом опухолевых клеток, а также нарушением детоксикационной функции печени, что наблюдается у больных лейкозами и сопровождается нарушением синтеза альбуминов, которые эмигрируют МСМ (Гаврилов В.Б. и др., 1999). Кроме того, отмеченная корреляционная зависимость между показателями уровня МСМ в плазме и слюне еще раз указывает на повышенную проницаемость сосудов ротовой полости. Данные корреляционного анализа также засвидетельствовали отрицательную зависимость между уровнем NO_2^- в ротовой полости и интенсивностью эмиграции лейкоцитов ($r=-0,43$ и $r=-0,35$) при острых и хронических лейкозах соответственно. Отрицательная связь, на наш взгляд, может указывать на ингибирующее влияние NO на процесс эмиграции лейкоцитов и опосредуется снижением адгезивных свойств лейкоцитов, которые в свою очередь разрушаются NO. Таким образом, мы можем засвидетельствовать, что оксид азота оказывает ингибирующее влияние на интенсивность эмиграции лейкоцитов.

Необходимо отметить некоторые изменения содержания Са в слюне. Его количество снижалось в среднем в 2 раза, что, возможно, обусловлено снижением его потребности, а также выраженной гипосаливацией (Dreizen S. et al., 1986; Иванов В.С., 1998; Долгих В.Т., 2000). При этом показатели осмоляльности существенно не отличались от их значений в группе здоровых

людей, что указывает на привлечение механизмов регулирования электролитного гомеостаза как в плазме крови, так и ротовой полости.

Таким образом, детальный анализ полученных результатов плазмы крови, слюны и смывной жидкости на модели острого и хронического миелолейкозов показал значительное уменьшение интенсивности эмиграции лейкоцитов и их метаболической активности, что является признаком дефектности ПЯЛ. Течение лейкозов сопровождается гиперпродукцией NO, который оказывает ингибирующее влияние на процесс эмиграции лейкоцитов.

Глава 6.

ВЛИЯНИЕ НИТРОГЛИЦЕРИНА – ДОНОРА ОКСИДА АЗОТА НА ПРОЦЕСС ЭМИГРАЦИИ ЛЕЙКОЦИТОВ

В связи с изучением роли NO в механизмах эмиграции лейкоцитов на слизистую оболочку полости рта дополнительно было проведено исследование с использованием донора оксида азота известного вазодилататора – нитроглицерина как составной части раствора для промывания ротовой полости.

Промывание проводили по методике М.О. Ясиновского в модификации Сукманского О.И. и соавт. (1980), подобно как и во всех предшествующих группах, только дополнительно в раствор для промывания (10 мл) добавляли ½ таблетки нитроглицерина. Таким образом, доза нитроглицерина составила 0,025 мг/мл. Ранее экспериментально была установлена способность доноров NO вызвать вазодилатацию путем активации растворимой гуанилатциклазы и увеличения синтеза цГМФ, клеточный механизм которого состоит в том, что цГМФ как вторичный мессенджер NO, вызывает активацию цГМФ – зависимой протеинкиназы и Ca^{2+} - АТФ-азы, функция которой заключается в удалении Ca^{2+} из мышечной клетки. Кроме того, цГМФ предотвращает активацию фосфолипазы и, тем самым, тормозит образование инозитолтрифосфата, который принимает участие в процессе выхода Ca^{2+} из саркоплазматического ретикулума (Сиверина И.С., 1995; Аймашева Н.П. и др., 1999; Сагач В.Ф., Андрухов О.Я., 2000). Таким образом, роль цГМФ заключается в релаксации гладких мышц и, соответственно, вазодилатации сосудов, связанная с уменьшением накопления Ca^{2+} путем выхода его из клетки и предотвращения его мобилизации из внутриклеточных резервуаров.

Целью данного исследования было изучение интенсивности эмиграции лейкоцитов, обусловленного возможным изменением состояния эндотелия при действии нитроглицерина как возможного экзогенного донора NO.

Так, из представленных данных таблицы 6 видно, что при действии нитроглицерина показатели интенсивности эмиграции лейкоцитов незначительно отличалась от показателей контрольной группы. При этом, индивидуальный диапазон колебаний количества лейкоцитов в контрольной группе составлял 153,06 – 294,80 тыс/мин, после промывания с нитроглицерином 123,66 – 270,00 тыс/мин. Однако, несмотря на отсутствие статистически значимых расхождений отмечалась явная тенденция к снижению эмиграции лейкоцитов, как в целом по группе, так и у каждого исследуемого. Одновременно обнаружили повышение индивидуального содержания NO_2^- в смывах. В целом, по группе значения уровня нитритов на 70 % превышали таковые до полоскания (табл. 6).

Кроме того, проведенный корреляционный анализ показал, что в контрольной группе до промывания корреляционная зависимость между показателями NO_2^- и эмиграцией лейкоцитов в смывной жидкости составляла $r=-0,05$, в то время как после промывания с нитроглицерином коэффициент взаимосвязи повысился до $r=-0,43$ ($p<0,05$).

Одновременно исследовали изменения содержания других компонентов смывов: МСМ($\lambda=254$ нм и $\lambda=280$ нм), кальция, а также функциональную активность лейкоцитов, тем не менее значимых изменений относительно их величин не обнаружили. Как мы упоминали раньше, NO обладает значительным цитопротекторным, антиишемическим и противовоспалительным эффектом, ингибирует активацию лейкоцитов и их адгезию к эндотелию (Moncada S., Higgs, 1995; Haring H.P. et al., 1996; Gregory del Zoppo et al., 2000) и, поэтому является важным объектом для фармакотерапевтических мероприятий. В то же время, усиленный синтез NO, на основе экспрессии iNOS, при разных патологических процессах способен оказывать влияние, прежде всего, на эндотелий сосудов, что может усиливать или ослаблять эмиграцию лейкоцитов в ткани (Hiskey M.J., Kubes P., 1995; Mehta J.L., 1995), причем, эти влияния NO являются дозозависимыми. Следовательно, применение доноров и

ингибиторов NO дает возможность управлять данными эффектами NO (Moncada S., Higgs, 1995; Lopes-Neblina et al., 1996; Tuvone T. et al., 1997; Kosonen O. et al., 1999; Півнев Б.А., 2002).

В результате наших исследований с применением донора NO-нитроглицерина выявлено повышенное содержание NO_2^- в слювах ротовой полости почти в 2 раза, что может свидетельствовать об увеличении образования NO и сопровождаться вазодилатацией сосудов, на что указывает изменение цвета слизистой оболочки полости рта. Вместе с тем, показатели интенсивности эмиграции лейкоцитов на слизистую оболочку уменьшились. Эти изменения, на наш взгляд, связаны с ингибированием синтеза молекул клеточной адгезии лейкоцитов и эндотелия под действием увеличенного содержания NO. Однако изменения эмиграции были выражены незначительно, поскольку, во-первых, доза нитроглицерина была невысокой, а, во-вторых, исследования проводились с интактным эндотелием. Кроме того, в работе (Kosonen O. et al., 1999) было показано, что NO доноры ингибировали образование свободных радикалов в лейкоцитах, а также их адгезию к эндотелию и таким образом осуществляли ткане-протекторное влияние. Применение NO доноров, в таком случае, связано с повреждением тканей и увеличением синтеза эндотелиального NO, а также его преобразованием в токсический пероксинитрит. Необходимо также отметить, что дозы доноров NO, которые применяли другие авторы были значительно выше (L-аргинин-3 ммоль, моксидамин – более 100 мкмоль - локально) (Канкянян А.П. и др., 1995), а при введении нитроглицерина в дозе 10 мг/кг подкожно отмечали повышение активности NOS, при этом уровень NO_2^- в плазме увеличивался почти в 3 раза (Сагач В.Ф. и др., 2000).

Таблица 6

Показатели интенсивности эмиграции лейкоцитов при действии нитроглицерина у здоровых лиц

№	Возраст	Пол	Смывы (контроль), n=15			Эмиграция лейкоцитов, тыс/мин	Смывы (нитроглицерин в дозе 0,025 мг/мл) NO ₂ , мкмоль/л	Эмиграция лейкоцитов, тыс/мин
			NO ₂ , мкмоль/л	Эмиграция лейкоцитов, тыс/мин	NO ₂ , мкмоль/л			
1	20	м	11.02	286.72	25.52	270.00		
2	21	м	12.76	190.12	21.46	129.74		
3	19	м	11.60	294.80	30.74	269.80		
4	20	м	16.24	227.80	22.04	197.86		
5	20	м	2.90	178.53	7.54	123.66		
6	22	м	10.44	214.20	23.78	206.67		
7	19	ж	13.34	195.80	22.68	158.00		
8	21	ж	38.86	239.93	46.40	220.06		
9	24	м	18.56	219.80	30.74	207.60		
10	20	м	19.14	167.26	26.68	158.40		
11	19	м	5.22	263.12	16.24	234.66		
12	19	м	12.18	236.12	19.14	220.46		
13	23	ж	6.96	153.06	10.44	132.34		
14	20	ж	8.70	262.06	15.66	236.46		
15	21	ж	15.08	204.60	24.94	175.46		
М	20.53		13.53	222.26	22.93	196.08		
т			5.36	33.96	6.44	39.85		
					P > 0,05	P > 0,05		

Подобный эффект, в отношении уменьшения эмиграции лейкоцитов, отмечали, используя ингибитор NO (L - NAME в дозе 50 мкмоль), а также дексаметазон (противовоспалительный препарат), действие которого основано на угнетении активности iNOS и уменьшении синтеза NO (Tuvone T. et al., 1997). Применение ингибиторов эффективно в случае усиленной эмиграции и повышенной активности лейкоцитов. Результатом их действия является уменьшение эмиграции лейкоцитов в зону повреждения.

Таким образом, полученные нами данные, а также результаты других авторов свидетельствуют о том, что процесс эмиграции лейкоцитов связан с синтезом оксида азота и зависит от его концентрации.

Заключение.

Результаты собственных исследований и данные современной литературы предоставляют возможность сделать вывод о том, что воспаление и опухолевый рост сопровождаются изменениями продукции эндогенного оксида азота и процесса эмиграции лейкоцитов на слизистую оболочку полости рта.

Одновременное определение стабильного метаболита оксида азота – нитрита в трех биологических средах: плазме крови, слюне и смывной жидкости ротовой полости дают основание поддержать точку зрения Реутова В.П. о том, что в организме человека функционирует цикл оксида азота (Реутов В.П. и др., 1994). Исследования Гоженко А.И. (2002) и данные других исследований нашей лаборатории об относительно стабильном и регулируемом уровне неорганических оксидов в плазме крови позволяют развить это положение и утверждать о том, что уровень NO_2 в плазме крови, как улоечевого звена цикла оксида азота является регулируемой гомеостатической величиной.

Наши исследования показали, что при воспалительных (острое воспаление легких и протезный стоматит) и опухолевых процессах (злокачественные опухоли тела и шейки матки, острые и хронические миелолейкозы) происходит усиленная продукция нитритов, что позволяет допустить усиление синтеза оксида азота при данных заболеваниях.

Данные исследований свидетельствуют о том, что системное образование оксида азота мало влияет на процесс эмиграции лейкоцитов на слизистую полости рта, а определяется его образованием в ротовой полости. Однако, если в плазме крови уровень нитритов, во многом, зависит от функциональной активности лейкоцитов, а также биологических особенностей опухолевого роста и воспалительного процесса (Dong Z. et al., 1994; Kishimoto T. et al., 1995; Jyothi M. Diviy et al., 1999), то в

ротовой полости содержание нитритов, на наш взгляд, зависит от количества лейкоцитов, которые эмигрировали на слизистую и, особенно, их метаболической активности, а также от состояния эндотелия стенки, синтезирующего NO (Невзорова В.А. и др., 1997, 1998). Действительно, процесс усиления интенсивности эмиграции лейкоцитов (при протезных стоматитах) сопровождается повышенным синтезом оксида азота и окислением его до нитрита и тесно коррелирует с ним.

Очевидно, что синтезируемый NO значительно влияет на состояние микроциркуляции в ротовой полости, что подтверждается увеличением содержания нитритов сопровождается повышением уровня фракций МСМ в слюне и смывной жидкости, что указывает на повышенную межклеточную проницаемость и эти процессы корреляционно взаимосвязаны.

Снижение интенсивности эмиграции лейкоцитов при миелолейкозах сопровождается повышенным уровнем NO_2^- в крови и полости рта, и характеризуется слабой корреляционной зависимостью между показателями концентрации нитритов, интенсивностью эмиграции лейкоцитов и их функциональной активностью. На наш взгляд, высокие концентрации оксида азота способны оказывать влияние на процесс эмиграции посредством угнетания молекулярных механизмов эмиграции лейкоцитов.

Что касается состояния эмиграции лейкоцитов при остром воспалении легких и опухолях репродуктивной системы у женщин, то следует отметить, что отрицательная корреляционная зависимость между показателями уровня нитритов ротовой полости и интенсивностью эмиграции лейкоцитов, а также их функциональной активностью может свидетельствовать о модулирующем влиянии оксида азота на данный процесс.

Следует заметить, что повышение сосудистой проницаемости мало влияет на концентрацию кальция и осмоляльность жидкости ротовой полости во всех исследуемых группах, поскольку, полученные результаты свидетельствуют о

том, что уровень кальция в крови и слюне находится в пределах нормальных значений, а корреляционные связи с показателями содержания молекул средней массы, интенсивностью эмиграции лейкоцитов отсутствуют. Таким образом, мы можем сделать вывод о том, что уровень кальция в ротовой полости и крови не играет значительной роли в проницаемости сосудов для МСМ в эмиграции лейкоцитов. Эти данные, возможно, указывают на то, что формирование водноэлектролитного гомеостаза в ротовой полости мало зависит от состояния сосудистой проницаемости и является достаточно стабильной, то есть возможно даже гомеостатической величиной.

Таким образом, система оксида азота в полости рта функционирует с некоторой зависимостью от его обмена в плазме крови и связана, но, в основном, в связи с активностью и количеством лейкоцитов, которые эмигрируют в ротовую полость, и состоянием эндотелия сосудистой стенки. Учет и регуляция обмена оксида азота может быть одним из способов регуляции эмиграции лейкоцитов на слизистую полости рта.

Литература

1. Абдулсадыров К.М., Бессмельцев С.С., Рукавицин О.А. Хронический миелолейкоз.-Спб.:Специальная литература,1998.-424с.
2. Адаменко Г.П. Роль адгезии клеток в рецепторных механизмах взаимодействия поли- и мононуклеарных фагоцитов крови человека//Иммунология.-1995.-№4.-С.29-30
3. Адо А.Д. Патофизиология фагоцитов.-М.,1961.-249с.
4. Ажицкий Д.Г., Сысоев Н.П., Ажицкий Г.Ю. Биохимическая оценка слюны у ортопедических больных//Вісник стоматології.-1997.-№3.-С.401-402
5. Аймашева И.П., Маленюк Е.Б., Манухина Г.Б. и др. Увеличение экспрессии Ca²⁺-АТФазы саркоплазматического ретикулума играет роль в защитных эффектах оксида азота//Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.-1999.-Т.128,№10.-С.375-376
6. Александров А.В., Джексон А.М., Румянцев А.Г. Анализ модуляции межклеточных молекул адгезии ICAM//Иммунология.-1997.-№1.-С.4-13
7. Алмазов В.А., Афанасьев Б.В., Зарицкий А.Ю. и др. Физиология лейкоцитов человека.-Л.,1979.-258с
8. Алмазов В.А., Павлов Б.А. К изучению двигательной активности нейтрофилов//Лабораторное дело.-1961.-№7.-С.23-26
9. Антоняк Г.Л. Роль протеолитических ферментов в функциональной активности нейтрофилов//Успехи современной биологии и медицины.-1999.-Т.119,№5.-С.476-486

10. Асадов Ч.Д., Нумерова Л.С. Функциональная активность нейтрофилов крови при хроническом миелолейкозе//Лабораторное дело.-1990.-№10.-С.59-60
11. Бабій В.П., Гоженко Н.Ф., Смоляний О.П., Долломатов С.І. Стан еміграції лейкоцитів на слизову оболонку ротової порожнини і зв'язок з оксидом азоту (NO) при гострому запаленні легень//Одеський медичний журнал.-2003.-№2.-С.71-73
12. Бабина А.О., Бондаренко В.В., Гранько М.А. и др. Источники активных форм кислорода в тканях ротовой полости в норме и при патологии//Стоматология.-1999.-№5.-С.9-11
13. Бажора Ю.И., Тимошевский В.Н., Протченко П.З., Головченко А.И. Упрощенный метод НСТ-теста//Лабораторное дело.-1981.-№4.-С.198-199
14. Банченко Г.В., Быкова И.А. Оценка уровня дифференцированных клеток эпителия в отпечатках с разных участков слизистой оболочки полости рта здоровых людей//Стоматология.-1987.-№1.-С.56
15. Барабаш Р.Д., Березовская З.В., Вовчук С.В. Соотношение между активностью ферментов смешанной слюны и интенсивностью эмиграции лейкоцитов в ротовую полость человека//Стоматология.-1981.-№1.-С.9-12
16. Барер Г.М., Халитова Э.С., Кочержинский В.В., Лукиных Л.М. Количественная характеристика десневой жидкости у лиц с интактным пародонтом//Стоматология.-1986.-№5.-С.24-26
17. Барсуков А.А., Годков М.А., Земсков В.М. и др. Роль праймированных нейтрофилов в повреждении паренхиматозных органов и развитии воспалительной патологии//Успехи современной биологии.-2004.-Т.124,№6.-С.542-554

18. Барышников А.Ю. Экспрессия антигенов примитивной стволовой клетки на бластных клетках больных хроническим миелоидным лейкозом//Вестник Российской академии медицинских наук.-1996.-№3.-С.9-12
19. Безрукова И.В., Грудянов А.Н. Использование медицинского озона в стоматологии//Стоматология.-2001.-Т.80,№2.-С.61-63
20. Бережная Н.М. Нейтрофилы и иммунологический гомеостаз. Киев:Наукова думка, 1988.-192с.
21. Бережная Н.М. Сложности интерпретации цитокиновой регуляции при патологии (астма, рак, дерматиты)//Аллергия и иммунология.-2004.-Т.5,№3.-С.368-369
22. Бешевли Ю.П., Орда А.Н., Клемин В.А., Корнаута С.В. Причины осложнений при применении полимерных зубных коронок//Вісник стоматології.-2000.-№1.-С.39-40
23. Блиндарь В.Н., Зубрихина Г.Н. Адгезивная способность нейтрофилов периферической крови в норме и у онкологических больных//Клиническая и лабораторная диагностика.-1998.-№5.-С.21-24
24. Блиндарь В.Н., Зубрихина Г.Н., Зарядьева Е.А. И др. Адгезивная способность нейтрофилов периферической крови и экспрессия дифференцировочных антигенов у доноров и больных раком яичника//Клиническая и лабораторная диагностика.-1990.-№3.-С.11-13
25. Блиндарь В.Н., Зубрихина Г.Н., Михайлова И.Н. И др. Функциональная характеристика зрелых нейтрофилов периферической крови больных хроническим миелолейкозом//Гематология и трансфузиология.-2002.-Т.49,№2.-С.13-16
26. Бобырев В.Н., Розколупа Н.В., Скрипникова Т.В. Экспериментальные и клинические основы применения антиоксидантов как средства лечения и профилактики пародонтита//Стоматология.-1994.-№3.-С.11-18

27. Богомазова С.Ю., Гладских О.П., Иванов А.А. и др. Цитокины и внеклеточный матрикс при экспериментальных гломерулопатиях//Архив патологии.-1997.-Т.59,№6.-С.45-50
28. Боровский Е.В., Леонтьев В.К. Биология полости рта.- М.:Медицина,1991.-304с.
29. Буйко В.П., Бажора Ю.И. Состояние клеточных факторов защиты слизистых оболочек верхних дыхательных путей у детей раннего возраста при острой респираторной инфекции//Детские инфекции.:Респуб Межвед. Сб.-К.,1992.- вып.22.-С.99-103
30. Бумагина Т.К., Шмелев Е.И. Использование активированного НСТ-теста для выявления расстройств фагоцитоза при воспалительных заболеваниях легких//Лабораторное дело.-1981.-№4.-С.200-201
31. Быков В.Л. Гистология и эмбриология органов полости рта человека.-С.-Петербург:Спец. Лит.,1996.-247с.
32. Вавилова Т.П., Петрович Ю.А., Барер Г.М., Толмачева И.И. Нитратредуктазная активность жидкостей полости рта при пародонтите//Стоматология.-1989.-№1.-С.24-26
33. Васильева Г.И., Козловский В.Н., Кисилева А.К. и др. Роль нейтрофилов в формировании гуморального противочумного иммунитета//Имунология.-2003.-Т.24,№4.-С.219-221
34. Венедиктова М.Г., Румянцева И.К., Федотова Г.В. и др. Использование ликонида иммуномодулятора комплексного лечения больных аденокарциномой эндометрия//Вопросы онкологии.-2001.-Т.47,№4.-С.481-484
35. Власова Л.Ф., Резникова Е.О. Зависимость реакции слизистой оболочки полости рта от физико-химической характеристики поверхности пластиночных протезов от акриловых пластмасс//Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.-2000.-Т.129,№1.-С.110-113

36. Волков В.И., Серик С.А. Провоспалительные цитокины и растворимая молекула межклеточной адгезии при ишемической болезни сердца//Кардиология.-2002.-№9.-С.12-16
37. Воложин А.И., Шехтер А.Б., Караков К.Г. и др. Тканевая реакция на акриловые пластмассы, модифицированные сверхкритической экстракцией двуокисью углерода//Стоматология.-1997.-№4.-С.4-8
38. Воронин В.В. Воспаление.-Тбилиси,1959.-158с.
39. Воскресенский О.Н., Ткаченко В.В. Роль перекисного окисления липидов в патогенезе пародонтита//Стоматология.-1991.-№5.-С.5-10
40. Воспаление/Под ред. В.В. Серова, В.П. Паукова: Руководство для врачей.-М.:Медицина,1995.-С.43-95
41. Гаврилов В.Б., Бидула М.М., Фурманчук Д.А. и др. Оценка интоксикации организма по нарушению баланса между накоплением и связыванием токсинов в плазме крови//Клиническая лабораторная диагностика.-1999.-№2.-С.13-17
42. Гаврилов О.К., Козинец Г.И., Черняк Н.Б. Клетки костного мозга и периферической крови.-М.,1985
43. Галкин А.А., Туманов Е.А., Тимин Е.Н., Корелин А.А. Действие активаторов на подвижность нейтрофилов//Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.-1997.-Т.124,№1.-С.409-412
44. Галкин А.А., Туманов Е.А., Филиппов М.М. и др. Подвижность нейтрофилов у больных с раневой инфекцией (экспресс-анализ на основе системы обработки изображений Magiskan)//Архив патологии.-1991.-№3.-С.491-495
45. Герелюк В.І. Вміст ейкозаноїдів у ротовій і ясенній рідинах при хронічному генералізованому пародонтиті в період його загострення//Вісник стоматології.-1999.-№2.-С.14-15

46. Гершкович А.Е. Эмиграция лейкоцитов в ротовой полости при гингиво-стоматитах//Сборник работ Украинского Государственного Института Стоматологии,Одесса,1938.- С.41-58
47. Глоба А.Г., Демидов В.С., Земляной А.Б. и др. Респираторный ответ нейтрофилов при хирургической инфекции и связь с плазмомембранным синтезом АТР//Вестник РАМН.-2002.-№8.-С.13-19
48. Глуховская Г.Ф. Эмиграция лейкоцитов как один из показателей воспалительного компонента при заболеваниях бронхо-легочного аппарата//Вопросы легочной патологии и легочного сердца.-1962.-№1.-С.58-65
49. Гожая Л.Д., Исаева Н.П., Гожий А.Г. Состояние неспецифической резистентности организма у больных пожилого и старческого возраста с протезными стоматитами//Стоматология.-1995.-№6.-С.52-54
50. Гоженко А.И., Николаевская И.В., Федорук А.С. и др. Образование нитритов и нитратов нейтрофилами человека в процессе фагоцитоза//Вісник морської медицини.-1998.-№4.- С.91-93
51. Гоженко А.И., Шибко Т.Н., Николаевская И.В. и др. Влияние КВЧ-терапии на фагоцитарную активность и продукцию эндогенной окиси азота нейтрофилами//Материалы III международной научно-практической конференции.-Донецк.-1998.-С.6
52. Гоженко А.І. Роль оксиду азота в молекулярно-клітинних механізмах функції нирок//Український біохімічний журнал.-2002.-Т.74,№4а.-С.96
53. Голиков П.П., Николаева Н.Ю., Картавенко В.И. и др. Генерация оксида азота лейкоцитами периферической крови в норме и при патологии//Патологическая физиология и экспериментальная терапия.-2003.-№4.-С.11-13

54. Головской Б.В., Баев М.В., Юдина О.Н. Синдром повышенной вязкости крови у больных хроническим миело- и лимфолейкозами//Гематология и трансфузиология.-1997.-Т.42,№6.-С.10-12
55. Григорьев И.В., Чиркин А.А. Роль биохимического исследования слюны в диагностике заболеваний//Клиническая лабораторная диагностика.-1998.-№6.-С.18-20
56. Григорьян А.С. Роль и место феномена повреждения в патогенезе заболеваний пародонта//Стоматология.-1999.-№1.-С.16-20
57. Григорьян А.С., Фролова О.А., Иванова Е.В. Морфогенез ранних стадий воспалительных заболеваний пародонта//Стоматология.-2002.-№1.-С.19-25
58. Гринаш Ю.И., Коробов В.Н., Вальчук И.В. и др. Содержание молекул средней массы в сыворотке крови и их электрофоретическая характеристика у больных дифтерией и эпидемическим паротитом//Лабораторная диагностика.-1999.-№4.-С.7-10
59. Гриоровьев И.В., Чиркин А.А. Роль биохимического исследования слюны в диагностике заболеваний//Клиническая и лабораторная диагностика.-1998.-№6.-С.18-20
60. Дешева Ю.Б., Мороз Б.Б. Влияние предварительного хронического γ -облучения в малой дозе на состояние и компенсаторные возможности системы крови//Гематология и трансфузиология.-1995.-№5.-С.3-6
61. Дозорец Ю.Л. Исследование влияния лекарственных веществ, обладающих противовоспалительным и вяжущим действием, на эмиграцию лейкоцитов.-Канд. диссертация,Одесса,1945

62. Долгих В.Т. Клиническая патофизиология для стоматолога.- М.:Медицинская книга, Н.Новгород:Изд-во НГМА,2000.- 200с.
63. Драгомирецкий В.Д. Экспериментальные исследования нейтрофических расстройств в тканях носа.:Автореф. дис. ... канд. мед. наук,Одесса,1955 -13с.
64. Драгомирецкий В.Д., Бажора И.Ю., Гончар Л.Н. Эмиграция клеток на поверхность слизистой оболочки ротоглотки и их ферментативная активность после воздействия физических факторов у больных хроническим тонзиллитом//Журнал ушных, носовых и глазных болезней.-1984.-№3.-С.32-37
65. Драгомирецкий В.Д., Бажора Ю.И., Яковенко Т.А. и др. Динамика функционального состояния слизистой оболочки полости носа и глотки под влиянием сочетанного лечения глубоким холодом и ультразвуком у детей больных хроническим тонзиллитом//Журнал ушных, носовых и глазных болезней.-1993.-№1.-С.40
66. Ерюхин И.А., Белый В.Я., Вагнер В.К. Воспаление как общебиологическая реакция.-Л.:Наука,1989.-262с.
67. Зайчик В.Е., Багиров Ш.Т. Содержание химических элементов в смешанной нестимулированной слюне здорового человека//Стоматология.-1991.-№1.-С.14-17
68. Запорожан В.Н., Гоженко А.И., Корнеев Т.В. Роль эндогенного оксида азота в индукции опухолевого процесса//Український журнал експериментальної медицини ім. Г.О.Можаєва.-2002.-Т.3,№2.-С.77-83
69. Зиновьев А.С., Кононов А.В. Хроническое воспаление слизистых оболочек: интеграция иммунитета и регенерации//Архив патологии.-1997.-№3.-С.18-23
70. Золотарев А.Е. Интенсивность эмиграции лейкоцитов у больных с заболеваниями кроветворного аппарата и ее изменения при гемотранфузиях//Материалы конференции

Одесского медицинского института, Киев, «Здоров'я», 1967.-
С.69-70

71. Золотарев А.Е. Эмиграция лейкоцитов у больных с заболеваниями кроветворного аппарата и ее изменения при переливании крови и ее компонентов.: Автореф. дис. ... канд. мед. Наук, Одесса, 1967.-12с.
72. Зубова С.Г., Крешет Ф., Го Н.И. И др. Влияние ионизирующей радиации на экспрессию трансформирующего фактора роста beta//Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.-1998.-Т.126.-С.529-533
73. Иванов В.С. Заболевания пародонта.-М.: Медицинское информационное агенство, 1998.-296с.
74. Иванюшко Т.П., Ганковская Л.В., Ковальчук Л.В. и др. Комплексное изучение механизмов развития хронического воспаления при пародонтите//Стоматология.-2000.-Т.79, №4.-С.13-13
75. Канканян А.П., Акопян С.Э., Серкаиб Р. Исследование цитотоксических свойств десневой жидкости при пародонтите и их коррекция модуляцией уровня NO//Вісник стоматології.-1995.-№5-6.-С.328-332
76. Каратаев Д.Е. Ангиогенез при ревматоидном артрите//Вестник РАМН.-2003.-№5.-С.47-51
77. Каррыева Б.Ч. Значение хемотактической функции лейкоцитов в патогенезе некоторых заболеваний//Терапевтический архив.-1988.-№6.-С.140-144
78. Катанаев В.Л. Внутиклеточная передача сигнала при хемотаксисе нейтрофилов (обзор)//Биохимия.-Т.66, вып.4.-С.437-456
79. Клименко М.О., Шевченко О.М. Вплив дексаметазону на реакції системи крові при запаленні//Фізіологічний журнал.-1998.-Т.44, №5-6.-С.73-79

80. Клименко Н.А., Павлова Е.А. О значении лейкоцитов в повышенной сосудистой проницаемости при воспалении//Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.-1999.-Т.128,№8.-С.165-167
81. Ковалева Л.Г. Острые лейкозы.-М:Медицина,1990.-С.204-206
82. Коваленко А.Ф., Моисеев И.Н., Иванников В.И., Шахновский И.В. Оценка состояния эпителия слизистой оболочки альвеолярных отростков у лиц, пользующихся полными съемными протезами, изготовленными различными методами//Вісник стоматології:-1994.-№1.-С.50-51
83. Ковальчук Л.В., Ганковая Л.В., Рогова М.А. и др. Роль цитокинов в механизмах хронического воспаления в ткани полости рта//Иммунология.-2000.-№6.-С.24-26
84. Ковальчук Л.В., Ганковская Л.В. Иммуноцитокнины и локальная иммунокоррекция//Иммунология.-1995.-№1.-С.4-7
85. Ковальчук Л.В., Сайгитов Р.Т. Хемокиновое семейство цитокинов, регулирующих миграцию лейкоцитов//Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии.-2000.-№1.-С.90-94
86. Ковальчук Л.В., Хараева З.Ф. Роль оксида азота в иммунопатогенезе стафилококковых инфекций//Иммунология.-2003.-Т.24,№3.-С.186-188
87. Ковальчук П.В., Павлюк А.С., Аксенова И.Я. и др. Оценка активности фактора некроза опухоли в норме и при опухолях яичников//Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.-1990.-№6.-С.571-572
88. Козлов И.Г., Сайгитов Р.Т., Митясева С.А. и др. Миграционная активность *in vitro* нейтрофилов периферической крови человека в норме и при иммунопатологии//Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.-2002.-№4.-С.43-47

89. Комлев А.Д., Калинина Н.М., Сысоев К.А. и др. Цитокиновый профиль у больных хронической обструктивной болезнью легких//Медицинская иммунология.-2002.-Т.4,№1.-С.87-92
90. Копьева Т.Н., Амосова О.М. Полиморфно-ядерный лейкоцит: роль в развитии острого и неспецифического воспаления легких//Гематология и трансфузиология.-1990.-№3.-С.11-13
91. Коровицкий Л.К., Ясиновский М.А. Влияние диатермии на эмиграцию лейкоцитов в ротовой полости//Современная медицина.-1924.-№2-3.-С.15-21
92. Красникова Т.Л., Арефьева Т.И., Кухтина Н.Б. Хемокины, рецепторы хемокинов и атерогенез//Успехи современной биологии.-2003.-Т.123,№5.-С.506-514
93. Кузнецов В.В. Залежність стану мікрофлори порожнини рота при користуванні знімними пластинковими протезами від технології їх виготовлення//Вісник проблем біології і медицини.-2002.-Вип.3.-С.98-102
94. Кузник Б.И., Васильев Н.В., Цыбинов И.Н. Иммуногенез, гемостаз и неспецифическая резистентность организма.- М.:Медицина,1989.-320с.
95. Кузьмина Е.Г., Гусева Л.И., Дорошенко Л.И. И др. Иммунный статус больных раком тела матки после комбинированного спонтанного лучевого лечения//Российский онкологический журнал.-1998.-№4.-С.19-22
96. Кунин А.А., Ипполитов Ю.А., Лепехина Л.И., Быков Э.Г. Клиническая гистохимия барьерной функции слизистой оболочки десны при пародонтите//Стоматология.-2001.-Т.80,№1.-С.13-16
97. Кунин А.А., Ипполитов Ю.А., Лепехина Л.И., Быков Э.Г. Клиническая гистохимия барьерной функции слизистой

- оболочки десны при пародонтите//Стоматология.-2001.-
Т.80,№2.-С.61-62
98. Лабораторные методы исследования в
клинике:Справочник/Под ред. В.В. Меньшикова.-
М.:Медицина,1987.-С.264-266
99. Лакин Г.Ф. Биометрия: Учебное пособие для биологических
специальных ВУЗов.-М.:Высшая школа,1990.-352с.
100. Левицкий Д.Н. Актомизиновые системы биологической
подвижности (обзор)//Биохимия.-2004.-Т.69,вып.11.-С.1447-
1463
101. Лещинский А.Ф. Интенсивность эмиграции лейкоцитов как
показатель организма при ревматизме, поражениях суставов и
других воспалительных процессах//В кн.:Ревматизм.-
Киев:Здоров'я,1974.-С.3-5
102. Лещинский А.Ф., Павлова Е.С., Зуза З.И. О роли изменений
иммунологических свойств и состояния соединительной
ткани в патогенезе ревматизма//Вопросы ревматизма.-1962.-
№1.-С.29-32
103. Липасова Т.Б., Большаков Г.В., Подколзин А.А. Изменения
показателей смешанной слюны при ортопедическом
лечении//Стоматология.-1999.-№2.-С.42-43
104. Лобанов В.В. Роль липополисахарида при воздействии
комплемента на грамотрицательные бактерии//Журнал
микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.-2004.-
№5.-С.114-118
105. Лобенко А.А., Асмолов А.К. Компенсаторно-
приспособительные механизмы у моряков.-К.:Здоров'я,1991.-
182с.
106. Ломакина Н.А. Использование лекарственных форм
пролонгированного действия на биополимерной пленке в
комплексном лечении воспалительных заболеваний
пародонтоза:Автореф. дис. ... канд. мед. наук.М.,2001;24с.

107. Любимова Л.С., Акопян О.Т., Банченко Г.В., Савченко В.Г. Влияние полихимиотерапии на слизистую оболочку полости рта больных острыми миелобластными лейкозами//Стоматология.-2000.-№3.-С.18-22
108. Маеда Х., Акаите Т. Оксид азота и кислородные радикалы при инфекции, воспалении и раке (обзор)//Биохимия.-1998.-Т.63,вып.7.-С.1007-1019
109. Малышев И.Ю. Введение в биохимию оксида азота в регуляции основных систем организма//Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии и колопроктологии.-1997.-Т.7.№1.-С.49-55
110. Марков Х.М. О биорегуляторной системе L-аргинин – окись азота//Патологическая физиология и экспериментальная терапия.-1996.-№1.-С.34-39
111. Мацнер Я. Дисфункция гранулоцитов при гематологических заболеваниях (обзор)//Гематология и трансфузиология.-1993.-Т.38,№5.-С.41-44
112. Машенко И.С., Самойленко А.В. Некоторые аспекты дистрофических и воспалительных заболеваний//Вести стоматологии.-1997.-№2.-С.188-194
113. Маянский А.Н., Галиуллин А.Н. Реактивность нейтрофила.- Казань,1984.-158с.
114. Маянский А.Н., Маянский Д.Н. Очерки о нейтрофиле и макрофаге.-Новосибирск:Наука,1983.-256с.
115. Маянский А.Н., Пикуза О.И. Клинические аспекты фагоцитоза.-Казань:Магариф,1993.-192с.
116. Мельниченко Э.М., Попруженко Т.В. Современные методы лечения поражений слизистой оболочки полости рта при гемобластозах//Стоматология.-1991.-№4.-С.87-89

117. Меньщикова Е.Б., Зенков Н.К. Окислительный стресс при воспалении//Успехи современной биологии.-1997.- Т.117,вып.2.-С.155-171
118. Мечников И.И. Вопросы иммунитета. Избранные труды. Издательство Академии Наук СССР.-1951.-734с.
119. Мечников И.И. Лекции по сравнительной патологии воспаления. Государственное издательство медицинской литературы Медгиз,Москва.-1947.-199с.
120. Миронов П.И., Альес В.Ф. Молекулярные механизмы системного воспалительного ответа при сепсисе//Реанимация и интенсивная терапия, анестезиология.-2000.-№4.-С.1-9
121. Моисеев И.Н., Левицкий А.П., Ткаченко Е.К. и др. Роль лейкоцитарных протеаз в патогенезе пародонта//Вісник стоматології.-1996.-№5.-С.346-352
122. Нагоев Б.С., Габрилович М.И. Значение определения средних молекул в плазме крови при инфекционных заболеваниях вирусной и бактериальной этиологии//Клиническая лабораторная диагностика.-2000.-№1.-С.9-11
123. Нагорнев В.А., Васканьянц А.Н. Атерогенез как иммуновоспалительный процесс//Вестник РАМН.-2004.-№7.-С.3-10
124. Назаретян Э.Е., Наримаян М.З., Мартирасян Т.В., Гатарян А.Ю. Содержание окиси азота в слюне и легочная гипертензия у больных различной степени тяжести бронхиальной астмы//Пульмонология.-2000.-№2.-С.23-27
125. Невзорова В.А., Елисеева Е.В., Зуга М.В., Протапопова М.Ю. и др. Нейтрооксидазные механизмы регуляции бронхов и их значение в патогенезе бронхиальной астмы//Терапевтический архив.-1998.-№3.-С.13-18
126. Недоспасов С.А., Туманов А.В., Гривенников С.И., Купраш Д.В. Физиологические функции фактора некроза опухолей и

- лимфотоксина, продуцируемые отдельными типами клеток иммунной системы – макрофагами, гранулоцитами и лимфоцитами//Аллергология и иммунология.-2004.-Т.5,№1.-С.8
127. Нестерова И.В., Колесникова Г.Н. Цитокиновая регуляция и функционирующая система нейтрофильных гранулоцитов//Гематология и трансфузиология.-1999.-Т.44,№2.-С.43-47
128. Никонова Е.В., Черняев А.Л., Чучалин А.Г. Клинико-диагностические аспекты пневмоний//Пульмонология.-1997.-С.60-64
129. Нідзельський М.Я. Вільнорадикальне окислення – ведучий фактор в стоматологічній патології та обґрунтування методів його корекції//Вісник проблем біології і медицини.-1998.-№1.-С.17-24
130. Новик А.А., Камилова Т.А., Цыган В.Н. Генетические транслокации в онкологии//Вопросы онкологии.-2002.-Т.48,№6.-С.629-638
131. Новоженев В.Г., Коломоец Н.М., Белоногов М.А. и др. Характер и взаимосвязь изменений перекисного окисления липидов и иммунитета у больных острой пневмонией//Иммунология.-1994.-№2.-С.21-26
132. Нуяззина В.А., Набокина С.М. Идентификация белков-медиаторов экзцитоза в нейтрофилах периферической крови у больных хроническим миелолейкозом//Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.-2001.-Т.137,№5.-С.409-411
133. Ончул Л.К., Ватутин Н.Т., Матрос-Таранец И.Н., Орлов В.Н. Поражение десен при остром лейкозе//Вісник стоматології.-1999.-№4.-69с.

134. Павленко В.В., Ягода А.В. Липоксигеназные метаболиты арахидоновой кислоты при язвенном колите//Иммунология.-2002.-Т.23,№4.-С.220-224
135. Павленко О.В., Рожко М.М., Куцин Р.В., Лизанець Л.В. Стан місцевого імунитету ротової порожнини у хворих при лікуванні змінними конструкціями зубних протезів//Стоматологія.-1994.-№1.-С.51-53
136. Палеев Ф.Н., Сучков С.В., Котова А.А. и др. Фактор некроза опухоли а и интерферон-γ у больных миокардитом//Кардиология.-2004.-Т.44,№11.-С.34-39
137. Пальцын А.А. Некоторые вопросы современного учения о полиморфно-ядерных лейкоцитах//Архив патологии.-1988.-Т.50,вып.8.-С.85-90
138. Пасечник А.В., Вартамян И.Р., Гвоздь Н.И. и др. Функциональные характеристики нейтрофилов (апоптоз, кислородные радикалы) при развитии разных форм патологии//Вестник РУДН, серия Медицина.-2003.-№3.-С.121-123
139. Пашенко О.Е., Мушан И.З., Кондратенко О.В. и др. Иммунный статус больного с синдромом Чедиака-Хигаси//Иммунология.-2002.-Т.23,№5.-С.307-310
140. Перова А.И. Состояние местного иммунитета полости рта у больных генерализованным пародонтитом и его коррекция лецитиновыми препаратами с биоантиоксидантами//Вісник стоматології.-2001.-№4.-С.28-32
141. Петрищев Н.Н., Дубина М.В. Дисфункция эндотелия микрососудов как фактор метастазирования//Вопросы онкологии.-1999.-Т.45,№3.-С.484-492
142. Петрович Ю.А., Подорожная Р.П., Генесина Т.И., Белоклицкая Г.Ф. Аденилатциклаза и гуанилатциклаза в слюне здоровых людей и при пародонтите//Стоматология.-1991.-№4.-С.30-33

143. Півнев Б.А. Застосування цитрату аргініну для корекції дисфункції ендотелію у хворих на артеріальну гіпертензію із безбольовою ішемією міокарда//Вісник проблем біології і медицини.-2002.-Вип.3.-С.50-52
144. Полевщиков А.В., Киселева Е.П., Берестовая Л.К., Назаров П.Г. Регуляция кислородного метаболизма лейкоцитов крови человека С-реактивным белком//Физиология человека.-1995.-Т.21,№2.-С.122-128
145. Потапнев М.П. Цитокиновая сеть нейтрофилов при воспалении//Иммунология.-1995.-№4.-С.34-39
146. Проскуряков С.Я., Бикетов С.И., Иванникова А.И., Скворцов В.Г. Оксид азота в механизмах патогенеза внутриклеточных инфекций//Иммунология.-2000.-№4.-С.9-18
147. Раков А.Л., Бокарев И.Н., Резван В.В. Теломераза: перспективы диагностики и лечения в онкологии//Российские медицинские вести.-1999.-№1.-С.34-41
148. Реутов В.П., Орлов С.Н. Физиологическое значение гуанилатциклазы и роль окиси азота и нитросоединений в регуляции активности этого фермента//Физиология человека.-1993.-Т.19,№1.-С.124-135
149. Реутов В.П., Сорокина Е.Г., Каюшин Л.М. Физиологическая роль цикла оксида азота в организме человека и животных//Физиология человека.-1994.-Т.20,№3.-С.165-174
150. Робустова Т.Г., Лебедев К.А., Понякина И.Д. и др. Комплекс экспресс микрометодов оценки общего и местного иммунитета для практической стоматологии//Стоматология.-1990.-№2.-С.22-27
151. Рябиченко Е.В., Бондаренко В.М., Рябиченко В.В. Роль активных форм кислорода, генерируемых фагоцитами, в патогенезе заболеваний//Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.-2000.-№4.-С.65-71

152. Рябиченко Е.В., Веткова Л.Г., Бондаренко В.М. Молекулярные аспекты повреждающего действия бактериальных полисахаридов//Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.-2004.-№3.-С.98-105
153. Савченко В.Г., Паровичникова Е.Н., Исаев В.Г. и др. Лечение острых лимфобластных лейкозов взрослых//Терапевтический архив.-1997.-№7.-С.5-11
154. Сагач В.Ф., Олешко М.М., Коцюруба О.В. та ін. Дія нітрогліцерину на систему оксиду азоту за умов хронічного дефіциту мезостріатного дофаміну//Фізіологічний журнал.-2000.-Т.26,№2(додаток).-С.4
155. Саидов М.З., Насонова В.А., Османов А.О. и др. Иммуногистохимическое изучение клеток воспалительного инфильтрата при дерматите//Иммунология.-2002.-Т.23,№3.-С.147-152
156. Сахно Л.В., Лепнина О.Ю., Норкин М.Н. и др. Роль оксида азота в процессе активации Т-лимфоцитов человека, индуцированной бактериальным суперантигеном //Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.-2000.-Т.130,№10.-с.402-406
157. Саяпина Л.М., Цебржинский О.И. «Дыхательный взрыв» нейтрофилов полости рта и протоковой слюны при воспалении тканей челюстно-лицевой области//Вісник стоматології.-1997.-№3.-С.385-387
158. Саяпина Л.Н., Рыбалов О.В. Сравнительный аспект влияния отдельных новых антиоксидантов и противовоспалительных препаратов на процессы пероксидации при воспалении в мягких тканях, прилежащих к слюнным железам//Вісник стоматології.-1997.-№1.-С.53-58
159. Северина И.С. Растворимая гуанилатциклаза в молекулярном механизме физиологических эффектов оксида азота//Биохимия.-1998.-Т.69,вып.7.-С.939-947

160. Сенаторова Г.Ф. О состоянии ротовой полости у больных истинной полицитемией при лечении радиоактивным фосфором//Клиническая медицина.-1960.-№5.-С.41-48
161. Стокле Ж.К., Мюлле Б., Андрианцитохайна Р., Клещев А. Гиперпродукция оксида азота в патофизиологии кровеносных сосудов (обзор)//Биохимия.-1998.-Т.63,вып.7.-С.976-983
162. Строков И.А., Манухина Е.Б., Бахтина Л.Ю. и др. Состояние эндогенных протекторных систем у больных инсулинзависимым сахарным диабетом с полинейропатией: эффект антиоксидантной системы//Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.-2000.-Т.130,№10.-С.437-441
163. Струков А.И., Пауков В.С., Кауфман О.Я. Клеточный скелет лейкоцитов в норме и патологии//Архив патологии.-1983.-№6.-С.81-87
164. Сукманский О.И., Барабаш Р.Д., Клебанская С.Я. Метод дифференциальной оценки эмиграции лейкоцитов в полость рта//Патологическая физиология и экспериментальная терапия.-1980.-№5.-С.76-77
165. Сукманский О.И. Биологически активные вещества слюнных желез.-К.:Здоров'я,1991.-221с.
166. Тайченаев А.Я. Состояние реактивности при одонтогенных воспалительных заболеваниях//Вісник стоматології.-1998.-№2.-С.50-52
167. Тейлор Б.С., Аларсон Л.Х., Биллиар Т.Р. Индуцибельная синтаза оксида азота в печени: регуляции и функции//Биохимия.-1998.-Т.63,вып.7.-С.905-923
168. Темирбаев М.А., Хасенова Б.Д. Методика восстановления нитросинего тетразолия в нейтрофилах слюны//Лабораторное дело.-1989.-№7.-С.41-42
169. Тугуз А.Р., Данилина Д.В., Громова Е.Г. и др. Спонтанная и стимулированная интерлейкином и гранулоцитарно-

- макрофагальным колониестимулирующим фактором продукция цитокинов нейтрофильными гранулоцитами здоровых людей//Иммунология.-2002.-Т.23,№3.-С.156-158
170. Тутельян А.В., Клебанов Г.И. Прайминг фагоцитов и его применение в системе оценки специфической активности иммунорегуляторных соединений//Иммунология.-2004.-Т.25,№1.-С.14-16
171. Усатова Г.Н. Адгезия и колонизация микроорганизмами полости рта: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. М., 1989; 19с.
172. Фархутдинов У.Р., Фархутдинов Р.Р. Процессы свободнорадикального окисления при экспериментальной пневмонии//Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.-2000.-Т.129,№3.-С.260-264
173. Федоров Н.А. Биологическое и клиническое значение циклических нуклеотидов.-М.:Наука,1979.-78 с.
174. Физиология челюстно-лицевой области: Учебник//Под ред. С.М. Будылиной, В.П. Дегтярева.-М.: Медицина, 2000.-352с.
175. Францилц Е.М., Розенко Л.Я., Златник Е.Ю., Загора Г.И. Влияние малых доз ионизирующего излучения на отдельные показатели антиокислительной системы защиты организма и иммунный статус больных раком шейки матки//Вопросы онкологии.-2002.-Т.48,№6.-С.731-734
176. Фрейдлин И.С., Назаров П.Г. Регуляторные функции провоспалительных цитокинов и острофазных белков//Вестник российской академии медицинских наук.-1999.-№5.-С.28-32
177. Хапчаев А.Ю., Крымский М.А., Сидорова М.В. и др. Новые фосфоспецифические антитела для анализа фосфорилирования белковых продуктов генетического локуса киназы легких цепей миозина (обзор)//Биохимия.-2001.-Т.69,№7.-С.968-981

178. Хараева З.Ф., Ковальчук Л.В., Ганковская Л.В. Изучение механизма активирующего действия препарата «Суперлимф» на нейтрофилы больных инфекционными заболеваниями, вызванными *Staphylococcus aureus*//Иммунология.-2003.-Т.24.,№2.-С.86-89
179. Хомяк Е.Н. Эмиграция лейкоцитов в полости рта у хирургических больных до и после операции/Основные стоматологические заболевания, их лечение и профилактика на европейском севере.:Сб. научных трудов под ред. Федотова, Ленинград, 1984.-С.80-83
180. Хорошко Н.Д., Туркина А.Г., Кузнецов С.В. и др. Хронический миелолейкоз: успехи современного лечения и перспективы//Гематология и трансфузиология.-2001.-Т.46,№4.-С.3-9
181. Храмов В.А., Комарова В.И., Темкин Э.А. Антибиотики как ингибиторы нитратредуктазы ротовой жидкости человека//Стоматология.-2000.-Т.79,№2.-С.4-6
182. Циклические превращения оксида азота в организме млекопитающих/Реутов В.П., Сорокина Е.Г., Охотин В.Е., Косицин Н.С.-М.:Наука,1998.-159с.
183. Цыганов А.И. Исследования с помощью последовательных промываний слизистой оболочки носа и верхнечелюстной пазухи при гайморитах.:Автореф. дис. ... канд. мед. наук,Одесса,1955.-12с.
184. Черешнев В.А., Гусев Е.Ю. Иммунология воспаления: роль цитокинов//Медицинская иммунология.-2001.-Т.3,№3.-С.361-368
185. Чернов Ю.Н., Батищева Г.А., Васин М.В. Физиологическая роль и фармакологическая коррекция эффектов простаноидов и лейкотриенов//Фармакология и токсикология.-1990.-№6.-С.64-71

186. Чернух А.М. Воспаление (очерки патологии и экспериментальной терапии).-М.,1979.-448с.
187. Чеснокова А.Л. Состояние антиокислительной системы у больных с генерализованным пародонтитом//Вісник стоматології.-1998.-№1.-С.33-35
188. Чулак Л.Д. Определение стойкости капилляров слизистой оболочки полости рта у больных, страдающих непереносимостью к акриловым зубным протезам//Вісник стоматології.-№3.-1997.-С.444-445
189. Чулак Л.Д. Результаты исследования эмиграции лейкоцитов у больных, страдающих непереносимостью к акриловым зубным протезам//Вісник стоматології.-1997.-№4.-С.633
190. Чулак Л.Д. Функціональний стан слинних залоз у хворих, які страждають на невиносність акрилових зубних протезів//Вісник стоматології.-1997.-№4.-С.634-635
191. Чухловин А.Б. Усиление апоптоза лейкоцитов после интенсивной химиотерапии//Вопросы онкологии.-1999.-Т.45,№4.-С.384-386
192. Шабанов В.В. Роль цитокинов и других сигнальных молекул в патогенезе острого панкреатита//Вестник РАМН.-2003.-№9.-С.44-47
193. Шарданов В.И., Федоровская Н.А., Копанева Т.Г., Куликова М.М. Клинико-иммунологические аспекты идиопатических нейтропений//Клиническая медицина.-1990.-Т.68,№11.-С.87-90
194. Шиффман Ф.Д. Патофизиология крови: Пер. с англ.-Под ред. Ю.В. Наточина, М.-СПб., "Издательство БИНОМ"- "Невский диалект", 2000.-448с.
195. Шматко В.І., Голубєва І.М., Біденко Н.В. та ін. Захисні механізми порожнини рота//Вісник стоматології.-1998.-№4.-С.79-84

196. Шубич М.Г., Авдеева М.Г. Медиаторные аспекты воспалительного процесса//Архив патологии.-1997.-Т.59,№2.-С.3-8
197. Шубич М.Г., Авдеева М.Г., Вакуленко А.Д. Адгезивные межклеточные взаимодействия//Архив патологии.-1997.-Т.59,№69.-С.3-9
198. Ярилин А.А. Система цитокинов и принципы ее функционирования в норме и при патологии//Иммунология.-1997.-№3.-С.7-12
199. Ясиновский М.А. К физиологии, патологии и клинике слизистых оболочек.-Харьков,1931.-171с.
200. Ясиновский М.А. О происхождении слюнных телец//Вестник Наркомздрава Грузии.-1924.-Июнь.-С.57-83
201. Ясиновский М.А. Об эмиграции на слизистых оболочках пищеварительного тракта//Журнал научно-исследовательских кафедр в Одессе.-1924.-Т.1,№6.-С.44-51
202. Ясиновский М.А., Дозорец Ю.Л. Пирамидон, как противовоспалительное средство//Клиническая медицина.-1947.-№9.-С.65-70
203. Ясиновский М.А., Лещинский А.Ф. Сравнительное клинико-экспериментальное изучение фармакодинамики противоревматических средств//Вопросы ревматизма.-1964.-№3.-С.34-40
204. Ясиновский М.А., Руденко Н.Б., Сенаторова Г.Ф. Об ограничивающем эмиграцию лейкоцитов действию бутадиона, АКГГ и кортизона//Украинская конференция «Ревматизм и борьба с ним».-Киев,1960.-С.301-309
205. Ясиновский М.А., Руденко Н.Б., Сенаторова Г.Ф., Трегубенко Р.А. Значение сравнительной оценки реоперина и преднизолона на эмиграцию лейкоцитов у больных ревматизмом и инфектарtritом//Труды межобластной

- научно-практической конференции «Ревматизм».-Одесса.-1961.-С.252-260
206. Ясиновский М.А., Фингер О.А. и др. К вопросу о противовоспалительном действии атофана//Сборник научных работ факультетской и госпитальной терапевтических клиник «Вопросы клиники и терапии ревматизма».-1959.-С.149-153
207. Ясиновский М.А., Фингер О.А. О противовоспалительном (ограничивающем эмиграцию лейкоцитов) действии анальгина//Фармакология и токсикология.-1950.-№5.-С34-36
208. Adamek-Guzik T., Czerniawska-Mysik G., Guzik T. Bronchial asthma – a chronic inflammatory disorder//Przegl. Lek.-1996.-V.53,№1.-P.12-19
209. Adcock J.E. Changing concepts in periodontics//Dent.-1998.-№6.-P.64-71
210. Ajuebon M.N., Virag L., Flover R.J. et al. Role of inducible nitric oxide synthase in the regulation of neutrophil migration in zymosan-induced inflammation//Immunol.-1998.-V.95,№4.-P.625-630
211. Albert V.J., Quardi F., Bhuiyan N.A. et al. Phagocytosis of *Saccharomyces cerevisiae* by human polymorphonuclear leukocytes and macrophages//Clin. Diagn. Lab. Immunol.- 1999.-V.6.-P.276-278
212. Albrecht-Bueler G. Is cytoplasm intelligent too?//Cell. Muscle Motility.-1985.-V.6.-P.1-21
213. Ambs S., Bennett W.P., Werriam W.G., Ogunfusika M.O. Relationship between p53 mutation and inducible nitric oxide synthase expression in human colorectal cancer//J. Nat. Cancer Inst.-1999.-V.91.-P.86-88
214. Arnold R., Humbert B., Werchau H. et al. Interleukin-8, interleukin-6 and soluble tumor necrosis factor receptor type 1 release from a human pulmonary epithelial line (A549) exposed to respiratory syncytial virus//Immunology.-1994.-V.82.-P.126-133

215. Arnould T., Michiels C., Remacle J. Increased PMN adherence on endothelial cells after hypoxia: involvement of PAF, CD18/CD11b and ICAM-1//*Amer. J. Physiol.*-1993.-V.246.-P.1102-1110
216. Aubert L., Haunant P., Ohshima H. Nitric oxide nitrates tyrosine residues of tumour-suppressor p53 protein in MCF-7//*Biochem. Biophys. Res. Commun.*-2000.-V.267,№2.-P.609-613
217. Bacon K.B., Premack B.A., Gardner P., Schall T.J. Activation of dual T cell signalling pathways by the chemokine RANTES//*Science.*-1995.-V.269.-P.1727-1730
218. Baggiolini M. Chemokines and leukocyte traffic//*Nature.*-1998.-V.392.-P.565-568
219. Baggiolini M., Watz A., Kunkel S. Neutrophil-activating peptide-1/interleukin-8, a novel cytokine that activates neutrophils//*J. Clin. Invest.*-1989.-V.84.-P.1045-1049
220. Barnes P.J., Liew F.Y. Nitric oxide and asthmatic inflammation//*Immunol. Today.*-1995.-V.16,№3.-P.128-130
221. Bartsch H., Ohshima H., Pignatelli B., Calmels S. Endogenously formed N-nitrosocompounds and nitrosating agents in human cancer etiology//*Pharmacogenet.*-1992.-V.2.-P.272-277
222. Baue A.E. Multiple organ failure, multiple organ dysfunction syndrome and systemic inflammatory response syndrome. Why no magic bullets//*Arch. Surg.*-1997.-V.132.-P.703-707
223. Becker S., Quay J., Soukup J. Cytokine (tumor necrosis factor, IL-6 and IL-8) production by respiratory syncytial virus infected human alveolar macrophages//*Immunol.*-1991.-V.147.-P.4307-4312
224. Beckman J.S., Beckman T.W., Chen J. et al. Apparent hydroxyl radical production of peroxynitrite: implication for endothelial injury from nitric oxide and superoxide//*Proc. Natl. Akad. Sci. U.S.A.*-1990.-V.87.-P.1620-1625

225. Ben-Baruch A., Michiel D., Oppenheim J. Signals and receptors involved in recruitment of inflammatory cells//*Biol. Chem.*-1995.-V.270.-P.11703-11706
226. Benitz B.G., Barnes M.N., Haines G.K. et al. Cytoplasmic localization endothelial constitutive nitric oxide synthase in endometrial carcinomas//*Tumor Biol.*-1997.-V.18.-P.290-300
227. Ber H.D., Fassler R., Werner S. Glucocorticoidregulated gene expression during cutaneous wound repair//*Vitam. Horm.*-2000.-V.59.-P.217-239
228. Berg E.L., Fromm C., Melrose J. et al. Antibodies cross-reactive with E and P-selectin block both E and P-selectin function//*Bblood.*-1995.-V.85,№1.-P.31-37
229. Bernabei P., Borticardo M. Nitric oxide suppresses human T lymphocyte proliferation through INF-gamma independent induction of apoptosis//*J. Immunol.*-1999.-V.163,№8.-P.4182-4191
230. Betticher D.C., Keller H., Maly F.E., Reinhart W.H. The effect of endotoxin and tumor necrosis factor on erythrocyte and leukocyte deformability in vitro//*Brit. J. Haematol.*-1993.-V.83.-P.130-137
231. Bittleman D.B., Erger R.A., Casale T.B. Cytokines induce selective granulocyte chemotactic responses//*Inflamm. Res.*-1996.-V.45.-P.89-95
232. Bloomfield G.L., Holloway S., Ridings P. et al. Pretreatment with inhaled nitric oxide inhibits neutrophil migration and oxidative activity resulting in attenuated sepsis-induced acute lung injury//*Crit. Care. Med.*-1997.-V.25,№4.-P.584-593
233. Bloomfield G.L., Sweney L.B., Fisher B.J. et al. Delayed administration of inhaled nitric oxide preserves alveolar-capillary integrity in porcine gram-negative sepsis//*Arch. Surg.*-1998.-V.132,№1.-P.65-75

234. Blume A., Miller H. Role of cytokines in heart failure//*Am. Heart J.*-1998.-V.135.-P.181-186
235. Bohrer H., Qin F., Zimmerman T. et al. Role of NFkB in the mortality of sepsis//*J. Clin. Invest.*-1997.-V.100.-P.972-985
236. Borregart N., Lollike K., Kiildsen L., Sendelov H. et al. Human neutrophil granules and secretory vesicle//*Eur. J. Heamatol.*-1993.-V.53.-P.187-198
237. Boxer L.A., Stossel T.P. Qualitative abnormalities of neutrophils//*Hematology*.3rd ed.New York.-N.Y.:McGraw-Hill Book Co.-1983.-P.802-814
238. Bozza M., Satoshar A.R., Lin G. et al. Targeted disruption of migration inhibitory factor gene reveals its critical role in sepsis//*Exp. Med.*-1999.-V.189,№2.-P.341-346
239. Brandtzaeg P., Mollnes T.E., Kierulf P. Complement activation and endotoxin levels in systemic meningococcal diseases//*J. Infect. Dis.*-1989.-V.160,№1.-P.58-65
240. Bugno M., Witek B., Bereta J. et al. Reprogramming of TIMP-1 and TIMP-3 expression profiles in brain microvascular endothelial cells and astrocytes in response to proinflammatory cytokines//*FEBS. Lett.*-1999.-V.448,№1.-P.9-14
241. Burney S., Tamir S., Gal A., Tannenbaum S. A mechanism analysis of nitric oxide-induced cellular toxicity//*Biol. And Chem.*-1997.-V.1,№2.-P.130-144
242. Busse R. Mechanism of nitric oxide release from the vascular endothelium//*Circulation.*-1993.-V.87,№5.-P.18-25
243. Butcher E. Leukocyte-endothelial cell recognition: three (or more) steps to specificity and diversity//*Cell.*-1991.-V.67.-P.1033-1036
244. Chakravorty D., Kumar K.S. Interaction of LPS with human small intestinal lamina propria fibroblasts favors neutrophil migration and peripheral blood mononuclear cell abhesion by the

- production of proinflammatory mediators and adhesion molecules//*Biochim. Biophys. Acta.*-1999.-V.1453,№2.-P.261-272
245. Chao C.C., Park S.H., Aust A.E. Participation of nitric oxide in iron in the oxidation of DNA in asbestos-treatment human lung epithelial cells//*Arch. Biochem. Biophys.*-1996.-V.326.-P.152-157
246. Chester A.H., Borland J.A., Buttery L.D. et al. Induction of nitric oxide synthase in human vascular smooth muscle: interaction between proinflammatory cytokines//*Cardiovasc. Research.*-1998.-V.38.-P.814-821
247. Chung S.J., Fung H.L. Identification of the subcellular site for nitroglycerin metabolism to nitric oxide in coronary smooth muscle cells//*J. Pharmacol. Exp. Ther.*-1990.-V.253,№2.-P.614-619
248. Cilofe M.G., D'Alo S., Parroni R. et al. Interleukin-2-activated rat natural killer cells express cytotoxic function and interferon-gamma production//*Blood.*-1999.-V.93,№11.-P.3876-3884
249. Cirino G. Multiple controls in inflammation. Extracellular and intracellular phospholipase, inducible and constitutive cyclooxygenase and inducible nitric oxide synthase//*Biochem. Pharmacol.*-1998.-V.55,№2.-P.105-111
250. Clancy R.M., Leszczynska-Piziak J., Amin A. et al. Nitric oxide ADP-ribosylates actin in association with the inhibition of cytoskeletal assembly neutrophils//*J. Leukoc. Biol.*-1995.-V.58.-P.196-202
251. Clot J., Andry J.M. Immunostimulation induire par in lysat bacterien lyophilise. Etude in vitro des reponses specifiques et non specifiques//*Med. Hyd.*-1980.-V.38.-P.2776-2782
252. Crawford M.N., Grover F.L., Rolb W.P. et al. Complement and neutrophil activation in pathogenesis of ischemic miocardial injury//*Circulation.*-1998.-V.78.-P.1449-1458
253. Cuzzocrea S., Sautebin L., De Sarro G. et al. Role of IL-6 in the pleurisy and lung injury caused by carrageenan//*J. Immunol.*-1999.-V.163,№9.-P.5094-5104

254. Cuzzocrea S., Tan D., Costantino G. et al. The protective role of endogenous melatonin in carrageenan-induced pleurisy in the rat//*Faseb. J.*-1999.-V.13,№14.-P.1930-1938
255. Cuzzocrea S., Zingarelli B., Costantino G., Caputi A. Beneficial effects of Mn(III)tetrakis(4-benzoic acid)prophyrin(Mn TBAP), a superoxide dismutase mimetic, in carrageenan-induced pleurisy//*Free Radic. Biol. Med.*-1999.-V.26,№1-2.-P.25-33
256. Dabrowski A., Konturek S., Konturek J., Gabryelewicz A. Role of oxidative stress in the pathogenesis of caerulein-induced acute pancreatitis//*Pharmacol.*-1999.-V.377.-P.1-11
257. Dantzer R. Cytokine-induced sickness behavior: mechanisms and implication//*Ann. N. J. Acad. Sci.*-2001.-V.933.-P.222-234
258. De Boer O.J., Van Der Wal A.C., Teeling P., Becker A.E. Leucocyte recruitment in rupture region of lipid-rich plaques a prominent role for neovascularisation//*Cardiovasc. Res.*-1999.-V.41.-P.443-449
259. Degra T.J. The role of acute inflammation after acute stroke: Utility of pursuing anti-adhesion molecule therapy//*Neurology.*-1998.-V.51.-P.S62-S68
260. Di Mauro C., Cavalli G., Gursio M. et al. Evidence of 4-hydroxynonenal involvement in modulation of phagocyte activities//*Int. J. Tissue React.*-1995.-V.17,№2.-P.61-72
261. Dong Z., Staroselsky A.H., Qix et al. Inverse correlation between expression of inducible nitric oxide synthase activity and production of metastasis in K-1735 Murine melanoma cells//*Cancer Res.*-1994.-V.54.-P.789-793
262. Dreizen S., Mc Credie K.B., Bodey G.P., Keating M.G. Quantitative analysis of the oral complication of antileukemia chemotherapy//*Oral. Surg. Oral. Med. Oral. Pathol.*-1986.-V.62.-P.650-653
263. Dustin P. In: Cell regulate by intracell. signals. N.Y.-London,1982.-P.239-248

264. Dusting G., Fennessy P., Zin Z., Gurevich V. Nitric oxide in atherosclerosis: vascular protector or villain?//Clin. Exp. Pharmacol. Physiol. Suppl.-1998.-V.25.-P.S34-41
265. Eduards P., Cendan J.C., Topping D.B. et al. Tumor cell nitric oxide inhibits cell growth in vitro, but stimulates tumorigenesis and experimental lung metastasis in vivo//J. Surg. Res.-1996.-V.63.- P.49-52
266. Feiken E., Romer J., Eriksen J., Lund L. Neutrophils express tumor necrosis factor-alpha during mouse skin wound healing//J. Invest. Dermatol.-1995.-V.105.-P.120-123
267. Fidier I.J., Ellis L.M. The implications of angiogenesis for the biology and therapy of cancer metastasis//Cell.-1994.-V.79.-P.185-188
268. Filler I.J., Ellis L.M. The implication of angiogenesis for the biology and therapy of cancer metastasis//Cell.-1994.-V.79.-P.185-188
269. Flak T.A., Goldman W.E. Autotoxicity of nitric oxide in airway diseases//Am. J. Respir. Crit. Care Med.-1996.-V.154.-P.S202-S206
270. Frade-Salch T.S., Calixto J.B., Medeiros Y.S. Analysis of the inflammatory response induced by substance P in the mouse pleura cavity//Peptides.-1999.-V.20,№2.-P.259-265
271. Freeman B.A., Crapo J.D. Biology of disease: free radicals and tissue injury//Lab. Invest.-1982.-V.47.-P.412-426
272. Frade-Salch T.S., Calixto J.B., Medeiros Y.S. Analysis of the inflammatory response induced by substance P in the mouse pleural cavity//Peptides.-1999.-V.20,№2.-P.259-265
273. Fulor M., Webber T., Manchee R. Activation of the complement system by Francisella tularensis lipopolysaccharide//Microbiol.-1993.-V.16.-P.141-148

274. Gaboury J., Woodman R.C., Granger D.N. et al. Nitric oxide leukocyte adherence: role of superoxide//*Am. J. Physiol.*-1993.-V.265.-P.H862-H867
275. Galbraith L.K., Bailey D., Kelly L. et al. Treatment for alteration in oral mucosa related to chemotherapy//*Pediat. Nurs.*-1991.-V.17,№3.-P.233-236
276. Gallo O., Masini E., Morbidelli L. et al. Role of nitric oxide in angiogenesis and tumor progression in head and neck cancer//*J. Nat. Cancer Inst.*-1998.-V.90.-P.587-596
277. Gallo O., Sardi I., Masini M., Franchi A. Relationship between p53 mutation and inducible nitric oxide synthase expression in human colorectal cancer//*Ibid.*-1999.-V.91.-P.1509-1510
278. Gearing A.J.H., Newman W. Circulating adhesion molecules in disease//*Immunol. Today.*-1993.-V.14,№11.-P.506-512
279. Gerard C., Gerard N.P. C5a anaphylotoxin and its seven transmembrane – segment receptor//*Annu. Rev. Immunol.*-1994.-V.12.-P.775-708
280. Gern J.E., Busse W.W. Association of rhinovirus infection with asthma//*Clin. Microbiol. Rev.*-1999.-V.9.-P.9-18
281. Gibbons G.H. Endothelial function as a determinant of vascular function and structure: a new therapeutic target//*Am. J. Cardiol.*-1997.-V.79.-P.3-8
282. Gloskzin S., Von Knethen A., Scheffner M. et al. Activation of the cell death program by nitric oxide involves inhibition of the proteasome//*J. Biol. Chem.*-1999.-V.274,№28.-P.19581-19586
283. Gordon M.I. Origin and development of neutrophils//In: *Immunopharmacology of neutrophils* Hellwell P.G., Williams T.J. (ed).-London, United Kingdom: Academic Press., Ltd.-1994.-P.5-26
284. Goris R.J. Mediators of multiple organ failure//*Intensive Care Med.*-1990.-V.16,№3.-P.192-196

285. Grasmann H., Ratjen F. Cystic fibrosis lung disease: the role of nitric oxide//*Pediatr. Pulmonol.*-1999.-V.28,№6.-P.442-448
286. Green L.C., Wagner D.A., Glogowski T.J. et al. Analysis of nitrate and ¹⁵N nitrate in biological fluids//*Ann. Biochem.*-1982.-V.126,№1.-P.131-138
287. Gregory del Zoppo, Irene Ginis, John M. et al. Inflammation and stroke: putative role for cytokines, adhesion molecules and iNOS in brain response to ischemia//*Brain. Pathol.*-2000.-V.10.-P.95-102
288. Grimm M.C., Ben-Baruch A., Taub D.D. et al. Opiates transdeactivate chemokine receptors: delta and mu opiate receptors – mediated heterologous desensitization//*J. Exp. Med.*-1998.-V.188,№2.-P.317-325
289. Grisham M.B., Granger D.N., Lefer D.J. Modulation of leukocyte-endothelial interactions by reactive metabolites of oxygen and nitrogen: relevance to ischemic heart disease//*Free Radic. Biol. Med.*-1998.-V.25,№4-5.-P.404-433
290. Gross V., Andreesen R., Leser H. et al. Interleukin-8 and neutrophil activation in acute pancreatitis//*Clin. Invest.*-1992.-V.101.-P.787-795
291. Gryglewski R.E., Palmer R.M., Moncada S. Superoxide anion is involved in the breakdown of endothelium derived vascular relaxing factor//*Nature.*-1986.-V.320.-P.454-457
292. Guastafsson L.E., Leone A.M., Perrson M. et al. Endogenous nitric oxide is present in the exhaled air of rabbits, guinea-pigs and humans//*Biochem. Biophys. Res. Commun.*-1991.-V.181.-P.852-857
293. Guidot D.M., Hybetson, Kitlowski P.P., Repine J.E. Inhaled NO prevents IL-1-induced neutrophil accumulation and associated acute edema in isolated rat lungs//*Am. J. Physiol.*-1996.-V.271,№2.-P.L225-L229

294. Gute D.C., Ishida, Garimizu K., Korthuis R.J. Inflammatory responses to ischemia and reperfusion in skeletal muscle//*Moll.Cell.Biochem.*-1998.-V.179,№1-2.-P.169-187
295. Hamaoka R., Yaginuma Y., Takahashi et al. Different expression pattern of nitric oxide synthase isozyme in various gynecological cancer//*J. Cancer Res. Clin. Oncol.*-1999.-V.125,№6.-P.321-326
296. Haring H.P., Berg E.L., Tsurushita N. et al. E-selectin appears in nonischemic tissue during experimental focal cerebral ischemia//*Stroke.*-1996.-V.27.-P.1386-1392
297. Hasleton E.B., Roberts T.E. Adult respiratory distress syndrome – an update//*Histopathology.*-1999.-V.34,№4.-P.285-294
298. Haynes B., Hale L.P., Patton K.L. et al. Measurement of an adhesion molecule as an indicator of inflammatory disease activity//*Arthritis and Rheum.*-1991.-V.34,№11.-P.9-19
299. Heath D., Cruickshank A., Gudgeon M. et al. Role of interleukin-6 in mediating the acute phase protein response and potential as an early means of severity assessment in acute pancreatitis//*Gut.*-1993.-V.34.-P.41-45
300. Henderson B., Poole S., Wilson M. Bacterial modulins: a novel class of virulence factors which cause host tissue pathology by inducing cytokine synthesis//*Microbiol. Rev.*-1996.-V.60.-P.316-341
301. Hermenegildo C., Medina P., Peiro M. et al. Plasma concentration of asymmetric dimethylarginine, an endogenous inhibitor of nitric oxide synthase, is elevated in hyperthyroid patients//*J. Clin. Endocrinol. Metab.*-2002.-V.87,№12.-P.5636-5640
302. Hirsch E., Katanaev V.L., Garlanda C. et al. Central role G-protein coupled phosphoinositide 3-kinase in inflammation//*Science.*-2000.-V.287.-P.1049-1053

303. Hiskey M.J., Kubes P. Role of nitric oxide in regulation of leukocytes-endothelial cell interaction//Exp. Physiol.-1995.-V.282.-P.339-348
304. Hubner G. Differential regulation of pro-inflammatory cytokines during wound healing in normal and glucorticoid-treated mice//Cytokine.-1996.-V.8.-P.548-556
305. Inoue M., Nishikawa M., Kasahara E., Sato E. Role of superoxide, NO and oxygen in the regulation of energy metabolism and suppression of senile diseases//Biochem.-1999.-V.111.-P.89-95
306. Ishida T., Yarimizu K., Gute D.C., Korthuis R.J. Mechanisms of ischemic preconditioning//Shock.-1999.-V.8,№2.-P.86-94
307. Iuvone T., Van Osselaer N., D'Acquisto F. et al. Differential effect of L-NAME and S-methyl-isothiourrea on leukocyte emigration in carrageenin, soaked sponge implants in rat//Br. J. Pharmacol.-1997.-V.127,№8.-P.1637-1644
308. Jadeski L.C., Iala P.K. Nitric oxide synthase inhibition by N-G-nitro-L-arginine methyl ester inhibits tumor – induces angiogenesis in mammary tumor//Amer. J. Pathol.-1999.-V.160.-P.556-560
309. Jaiswal M., La Russo N.F., Burgart L.J., Gores G.J. Inflammatory cytokines induce DNA damage and inhibit DNA repair in cholangiocarcinoma cells by a nitric oxide-dependent mechanism//Cancer Res.-2000.-V.50,№1.-P.184-190
310. Jang Y., Lincoff A.M., Plow E.F., Topol E.J. Cell adhesion molecules in coronary artery disease//J. Am. Coll. Cardiol.-1994.-V.24,№7.-P.1591-1601
311. Jenkins D.C., Charles I.G., Thomsen L.L. et al. Roles of nitric oxide in tumor growth//Proc. Natl. Acad. Sci. USA.-1995.-V.92.-P.4392-4396
312. Jensen U.B., Lowell S., Watt F.M. The spatial relationship between stem cells and their progeny in the basal layer of human

- epidermis: a new view based on wholemount labeling and lineage analysis//Development.-1999.-V.126.-P.2409-2418
313. Jianrong L., Billiar T. Determinants of nitric oxide protection and toxicity in liver//Am. J. Gastrointest. Liver Physiol.-1999.-V.39.-P.1069-1073
314. Johnson B.A., Pitt B.R., Davies P. Pulmonary arterial smooth muscle cells modulate cytokine and LPS-induced cytotoxicity in endothelial cells//Am. J. Physiol. Lung Cells. Mol. Physiol.-2000.-V.278,№3.-P.460-468
315. Johnston S.L. Viruses and asthma//Allergy.-1998.-V.53.-P.922-932
316. Johnston S.L., Pattemore P.K., Sanderson G. et al. The relationship between upper respiratory infections and hospital admission for asthma: a time trend analysis//Am. J. Respir. Crit. Care Med.-1996.-V.154.-P.654-666
317. Joiner K.A. Complement evasion by bacteria and parasites//Ann. Rev. Microbiol.-1988.-V.42.-P.201-230
318. Jonhson J.P. Cell adhesion molecules in neoplastic disease//Int. J. Clin. Lab. Res.-1992.-V.22.-P.69-72
319. Jythy M Diviy, Asaok Khar. Induction of nitric oxide production by Natural Killer Cells: its role in tumor cell death//Nitric oxide.-1999.-V.3,№5.-P.409-418
320. Kachroo V.K., Martin C.A., Greer J.M. et al. Cytokines and adhesion molecules contribute to the ability of myelin proteolipid protein-specific T cell clones to mediate experimental allergic encephalomyelitis//J. Immunol.-1993.-V.151.-P.4371-4382
321. Kane J.M., Shears L.L., Hierhoiser C. et al. Chronic hepatitis C virus infection in humans: induction of hepatic nitric oxide synthase and proposed mechanisms for carcinogenesis//Surg. Res.-1997.-V.69.-P.321-324

322. Kent J.D., Sergeant S., Burns D.J. et al. Identification and regulation of protein kinase C-delta in human neutrophils//*J. Immunol.*-1996.-V.157.-P.4641-4647
323. Khalifa A., Elissa S., Aziz A. Determination of cytosolic citrulline and nitrate as indicators of nitric oxide in bladder cancer possible association with basic fibroblast growth factor//*Clin. Biochem.*-1999.-V.32,№8.-P.635-638
324. Kharitonov S.A., Wells A.U., O'Connor B.J. Elevated levels of exhaled nitric oxide in bronchiectasis//*Am. J. Respir. Crit. Care Med.*-1995.-V.151.-P.1889-1893
325. Kharitonov S.A., Yates D., Robbins R.A. et al. Increased nitric oxide in inhaled air of asthmatic patients//*Lancet.*-1994.-V.343.-P.133-135
326. Kim J.I., Ju W.K., Choi J.H. et al. Expression of cytokine genes and increased nuclear factor - kappa B activity in the brain of scrapie-infected mice//*Brain Res. Mol. Brain Res.*-1999.-V.73,№1-2.-P.17-27
327. Kimura A., Roseto J., Suh K., Bing R. Dexamethasone on inducible nitric oxide synthase and nitrite/nitrate production in myocardial infarction//*Proc. Exp. Bio. Med.*-1998.-V.219.-P.138-143
328. Kinlay S., Ganz P. Role of endothelial dysfunction in coronary artery disease and implication for therapy//*Am. J. Cardiol.*-1997.-V.90,№9A.-P.11-161
329. Kirklin J.K., McGiffin D.C. Control of the inflammatory response in extended myocardial preservation of the donor heart//*Ann. Thorac. Surg.*-1999.-V.68,№5.-P.1958-1972
330. Kishimoto T., Saito K., Ishikura H. Mechanism of blood-bone metastasis in relation to the interaction between pancreatic carcinoma and endothelial cells//*Nippo. Rinsho.*-1995.-V.53.-P.1765-1769

331. Kitagawa M., Takahashi M., Yamaguchi S. et al. Expression of inducible nitric oxide synthase (NOS) in bone marrow cells of myelodysplastic syndromes//Leukemia.-1999.-V.13,№5.-P.699-703
332. Knight C.J., Panesar M., Wilson D.J. et al. Different effects of calcium antagonist, nitrates and beta-blockers on platelet function. Possible importance for the treatment of unstable angina//Circulation.-1997.-V.95,№1.-P.125-132
333. Knowles R.S., Moncada S. Nitric oxide in mammals//Biochem.-1994.-V.289.-P.249-258
334. Koken T., Inal M. The effect of nitric oxide in ischemia – reperfusion injury in rat liver//Clin. Chim. Acta.-1999.-V.288.-P.55-62
335. Kong Q., Thu Z., Jia X. The injury of rat lung vascular endothelial cells in added to LPS//Chung. Hua. Wai. Ko. Tsai. Chin.-1997.-V.35,№6.-P.336-339
336. Kosaka H. Nitric oxide and hemoglobin interaction in the vasculature//Biochim. et Biophys. Acta.-1999.-V.141,№2-3.-P.370-377
337. Kosonen O., Kankaanranta H., Malo-Ranta U., Moilanen E. Nitric oxide – releasing compounds inhibit neutrophil adhesion to endothelial cells//Eur. J. Pharmacol.-1999.-V.382,№2.-P.111-117
338. Kovalchuk L.V., Kozlov I.G., Saygitov R.T. Functional activity and apoptosis of peripheral blood neutrophils in acute severe asthma//Rus. J. Immunol.-2000.-V.55.-P.471-477
339. Kurose G., Wolf R., Crisham M.B., Granger D.N. Effects of an endogenous inhibitor of nitric oxide synthesis on postcapillary venules//Am. J. Physiol.-1995.-V.268,№4.-P.H2222-H2230
340. Kurose I., Wolf R., Cerwinka W., Granger D.N. Microvascular response to ischemia/reperfusion in normotensive and hypertensive rats//Hypertension.-1999.-V.34.-P.212-216

341. Lagadec P., Raynal S., Lieubeau B. et al. Evidence for control of nitric oxide synthesis by intracellular transforming factor beta-1 in tumor cells – implication for tumor development//*Amer. J. Pathol.*-1999.-V.154.-P.1867-1876
342. Leeuwenberg J.E.M., Smeets E.F., Neefjes J.J. et al. P-selectin and intercellular adhesion molecule-1 are released by activated human endothelial cells in vitro//*Immunology.*-1992.-V.77,№4.-P.543-549
343. Lerch M.M., Adler G. Experimental animal models of acute pancreatitis//*Pancreatol.*-1994.-V.15.-P.159-170
344. Levy P., Letteron P., Paye F. et al. In vivo assessment of lipid peroxidation in experimental edematous and necrotizing rat pancreatitis//*Pancreas.*-1997.-V.14.-P.350-354
345. Li H., Forstermann U. Structure activity relationship of staurosporine analogs in regulating expression of endothelial nitric-oxide synthase gene//*Mol. Pharmacol.*-2000.-V.57,№3.-P.427-435
346. Li L., Kilbourn R.S., Adams J., Fidler J. Role of nitric oxide in lysis of tumor cells by cytokine-activated endothelial cells//*Cancer Res.*-1991.-V.51.-P.3531-3536
347. Li Z., Jiang H., Xie W. et al. Role of PLC-beta-2 and beta-3 and PI3k-gamma in chemoattractant-mediated signal transduction//*Science.*-2000.-V.287.-P.1046-1049
348. Libby P. Inflammation in atherosclerosis//*Nature.*-2002.-V.420.-P.868-874
349. Libby P., Mitchell R.N. Cytokines score a knockout//*Circulation.*-1997.-V.95.-P.551-552
350. Lindemann S., Sharafi M., Spiesker M. et al. NO reduced PMN adhesion to human vascular endothelial cells due to down regulation of ICAM-1mRMA and surface expression//*Thromb. Res.*-2000.-V.97,№3.-P.113-123

351. Lopes-Neblina F., Toledo-Pereyza L.H., Mirmiron R. et al. Time dependence of Na-nitroprusside administration in the prevention of neutrophil infiltration in the rat ischemic kidney//*Transplant.*-1996.-V.61,№2.-P.179-183
352. Lorebuch R.B., Murphy W.J., Lowenstein C.I. et al. Expression of the nitric oxide synthase gene in mouse macrophages activities for tumor cell killing. Molecular basis for the synergy between interferon-gamma and lipopolysaccharide//*J. Biol. Chem.*-1993.-V.268.-P.1908-1913
353. Luscher T.J., Tanner F.C. Endothelial regulation of vascular tone and growth//*Amer. J. Hypertens.*-1993.-V.6,№7.-P.283S-293S
354. Mach F. Differential expression of three T lymphocyte – activating CXC chemokines by human atheroma – associated cells//*J. Clin. Invest.*-1999.-V.104.-P.1041-1050
355. MacMicking J., Xie Q.M., Nathan C. Nitric oxide and macrophage function//*Annu. Rev. Immunol.*-1997.-V.15.-P.323-335
356. Maeda H., Wu J., Okamoto T. et al. Kallikrein-kinin in infection and cancer//*Immunopharm.*-1999.-V.43,№2-3.-P.115-128
357. Malik I.S., Hascard D.O. Soluble adhesion molecules in ischaemic heart disease//*Eur. Heart J.*-1999.-V.20,№14.-P.990-991
358. Mannori G., Grottett P., Cecconi O. et al. Differential colon cancer adhesion to E1-, P1- and E-selectin: role of mucin-type glycoproteins//*Cancer Res.*-1995.-V.55.-P.4425-4431
359. Mantovani A., Muzio M., Garlanda et al. Macrophage control of inflammation: negative pathways of regulation of inflammatory cytokines//*Novartis Found Symp.*-2001.-V.234.-P.120-131
360. Marie C., Fitting C., Muret J. et al. Interleukin-8 production in whole blood assays: Is interleukin-10 responsible for the downregulation observed in sepsis?//*Cytokine.*-2000.-V.12,№1.-P.55-61

361. Martin M., Pinton P., Crechet F. et al. Preferential induction of c-fos versus c-jun protooncogen during the immediate early response of pig skin to gamma-rays//Cancer Res.-1993.-V.53.-P.3246-3249
362. Martin W., Villani G.M., Yothianandan D., Furchgott R.F. Selective blockade of endothelium-dependent relaxation by hemoglobin and by methylene blue in the rabbit aorta//J. Pharmacol. Exp. Ther.-1985.-V.232,№4.-P.708-716
363. Masullo P., Venditti, Agnisola C. et al. Role of nitric oxide in the reperfusion induced injury in hyperthyroid rat hearts//Free Radic. Res.-2002.-V.17.-P.218-221
364. Matsunaga T., Usui S., Ukai S. et al. Activation of macrophages and neutrophils by an endothelium growth suppressing factor//Biosci. Biotechnol. Biochem.-1999.-V.63,№7.-P.1228-1237
365. McBride A., Borutaite V., Brown G. Superoxide dismutase and hydrogen peroxide cause rapid nitric oxide breakdown, peroxynitrite production and subsequent cell death//Biochim. et Biophys. Acta.-1999.-V.1454.-P.275-288
366. McEver R. Selectins P novel receptors that mediate leukocyte adhesion during inflammation//Thromb. and Haemost.-1991.-V.65,№3.-P.223-228
367. Medeiros M.V., Binhara I.M., Moreno Junior H., De Nucci G., Antunes E. Effect of chronic nitric oxide synthesis inhibition on the inflammatory responses induced by carrageenin in rats//Eur. J. Pharmacol.-1995.-V.285,№2.-P.109-114
368. Medott-Pirenne M., Heilman M.J., Saxena M. et al. Augmentation of an antitumor CTL response in vivo by inhibition of supressor macrophage nitric oxide//J. Immunol.-1999.-V.163,№11.-P.5877-5882
369. Mehta J.L. Endothelium, coronary vasodilatation and organic nitrates//Amer. Heart. J.-1995.-V.129,№3.-P.167-177

370. Menegazzi R., Cramer R., Patriarca P. et al. Evidence that TNF-induced activation of neutrophil respiratory burst on biologic surfaces is mediated by the p55 TNF-receptor//*Blood*.-1994.-V.84.-P.187-193
371. Menegazzi R., Cramer R., Patriarca P. et al. Evidence that tumor necrosis factor alpha (TNF)-induced activation of neutrophil respiratory burst on biologic surface is mediated by the p55 TNF receptor//*Blood*.-1994.-V.84.-P.187-193
372. Mhomsen L.L., Millies D.W., Happerfield L. et al. Nitric oxide synthase activity in human breast cancer//*Br. J. Cancer*.-1995.-V.72.-P.41-44
373. Middelveld R.J., Wanecek M., Bergman D. et al. Effect of cortisol-synthesis inhibition on endotoxin-induced porcine acute lung injury, shock and nitric oxide production//*Shock*.-1999.-V.12,№5.-P.382-390
374. Mirabelli F., Salis A., Vairetty M. et al. Cytoskeletal alteration in human platelets exposed to oxidative stress are mediated by oxidative Ca-dependent mechanisms//*Arch. Biochem. Biophys*.-1989.-V.270.-P.478-488
375. Mogi M., Kinpara K., Mogari A. Involvement of nitric oxide and biopterin proinflammatory cytokine-induced apoptic cell death in mouse osteoblastic cell line MC3T3-E1//*Biochem. Pharmacol*.-1999.-V.58,№4.-P.649-654
376. Mohazzab-H. K.M., Kaminski P.M., Agarwal R. et al. Potential Role of a membrane-bound NADH oxidoreductase in nitric oxide release and arterial relaxation to nitroprusside//*Circ. Res*.-1999.-V.84.-P.220-228
377. Mohsen A.A., Hassan A.A., Elsewedy S.M. et al. Biomonitoring of nitroso compounds, nitrite and nitrate in the urine of Edyptian bladder cancer patient with or without *Schistosoma haematobium* infection//*Int. J. Cancer*.-1999.-Vol.82.-P.789-794

378. Moilanen E., Vapaataho H. Nitric oxide in inflammation and immune response//Ann. Med.-1995.-V.27.-P.359-367
379. Molle I., Jeannesson P. Inhibitory effect of nitric oxide in chemically induced differentiation of human leukemic cells//Cancer Lett.-1999.-V.122,№1.-P.13-26
380. Moncada S. Nitric oxide//J. Hypertension.-1994.-V.12.-P.35-39
381. Moncada S., Higgs E. Molecular mechanism and therapeutic strategies related to nitric oxide//FASEB. J.-1995.-V.9,№13.-P.1319-1330
382. Mori N., Nunokawa Y., Yamada Y. et al. Expression of human nitric oxide synthase gene in T-cell lines infected with T-cell leukemia virus type-1 and primary adult T-cell leukemia cells//Blood.-1999.-V.94,№8.-P.2862-2870
383. Murphy K., Haudek S.B., Thompson M., Giroir B.P. Molecular biology of septic shock//New Horiz: Sci. and Pract. Acute Med.-1998.-V.6.-P.181-193
384. Murray H.W., Teitelbaum R.F. L-arginine-dependent reactive nitrogen intermediates and antimicrobial effect of activated human mononuclear phagocytes//J. Infect. Dis.-1992.-V.165.-P.513-517
385. Nadel S., Newport M.J., Thompson M., Giroir B.P. Molecular biology of septic shock//New Horiz: Sci. and Pract. Acute Med.-1998.-V.6.-P.181-193
386. Nathan C., Xie Q.W. Nitric oxide synthase: role and controls//Cell.-1994.-V.78,№6.-P.915-918
387. Nguyen T., Brunson D., Crespi C.L. et al. DNA damage and mutation in human cells exposed to nitric oxide in vitro//Proc. Nat. Acad. Sci. USA.-1992.-V.89.-P.3030-3034
388. Nicholson S., Bonecini-Almeida M., Lapa e Silva J.R., Nathan C. Inducible nitric oxide synthase in pulmonary alveolar macrophages from patients with tuberculosis//J. Exp. Med.-1996.-V.183,№5.-P.2293-2300

389. Niebawer J., Dular J., Chan J.R. et al. Gene transfer of nitric oxide synthase: effects on endothelial biology//Am. Coll. Cardiol.-1999.-V.34,№5.-P.1201-1208
390. Nowak D., Prozynski M., Pietras T. et al. Действие местного иммунокорректора со свойствами вакцины ИРС-19 на концентрацию перекиси водорода и миелопероксидазы в смывах из полости носа у больных с хроническим бронхитом//Пульмонология.-2001.-№1.-С.60-65
391. Okada Y., Copeland B.R., Hamann G.F. et al.//Integrin ab is expressed in selected microvessels following focal brain ischemia//Am. J. Pathol.-1996.-V.149.-P.202-211
392. Oppenheim J., Zacharial C., Mukaida N., Matsushima K. Properties of the novel proinflammatory supergene cytokine family//Annu. Rev. Immunol.-1991.-V.9.-P.617-648
393. Ordonez C.L., Shaughnessy T.E., Matthay M.A. et al. Increased neutrophil numbers and IL-8 levels in airway secretions in acute severe asthma: clinical and biologic significance//Am. J. Respir. Crit. Care Med.-2000.-V.161.-P.1185-1190
394. Orucevic A., Bechberger J., Green A.M. et al. Nitric oxide production by murine mammary adenocarcinoma cell promotes tumor cell invasiveness//Int. J. Cancer.-1999.-V.81.-P.889-896
395. Page R.S. The role of inflammatory mediators in the pathogenesis of periodontal disease//Periodontol. Res.-1991.-V.26,№3.-P.230-242
396. Palmer R.J., Jeats D.A. Leukotriene B4: a potent chemotactic agent and stimulus for lysosomal enzyme secretion for human neutrophils//Pharmacol.-1989.-№1.-P.260-261
397. Panaro M.A., Mitolo V. Cellular response to FMLP challenging a mini-review//Immunopharmacol. Immunotoxicol.-1999.-V.21.-P.397-419
398. Paya M., Garcia Pastor P., Coloma J., Alcaraz M.J. Nitric oxide synthase and cyclo-oxygenase pathways in the inflammatory

- response induced by zymosan in the rat air pouch//Br. J. Pharmacol.-1997.-V.120,№8.-P.1445-1452
- 399.Price D.T., Loscaizo J. Cellular adhesion molecules and atherogenesis//Am. J. Med.-1999.-V.107.-P.85-97
- 400.Ransohoff R., Tani M. Do chemokines mediate leukocyte recruitment in post-traumatic CNS inflammation?//TINS.-1998.-V.21.-P.154-159
- 401.Ransohoff R.M. Mechanisms of inflammation in MS tissue in adhesion molecules and chemokines//Neuroimmunology.-1999.-V.98.-P.57-68
- 402.Raz M., Robbins R.A., Kelling C.L. et al. Viral infection of bovine bronchial epithelial cells induces increased neutrophil chemotactic activity and neutrophil adhesion//Exp. Lung. Res.-1993.-V.85.-P.753-760
- 403.Reif K., Cantrell D.A. Networking Rho family GTPases in neutrophils//Immunity.-1998.-V.8.- P.395-401
- 404.Riordan S.V., McEver C.J., Wakefield D. et al. Local and systemic complement activity in small intestinal bacterial overgrowth//Dig. Dis. Sci.-1997.-V.42.-P/1128-1136
- 405.Rockett K.A., Awburn M.M., Aggorwal B.B. et al. In vivo induction of nitrit and nitrate by tumor necrosis factor, limphotoxin and interleukin-1: Possible roles in malaria//Inf. Immunol.-1992.-V.60.-P.3725-3730
- 406.Rosales A.A., Roque R.S. Microglia-derived cytotoxic factors. Inhibition of tumor cell growth in vitro//Brain Res.-1997.-V.748.-P.195-204
- 407.Rosolowsky M., Campbell W.B. Role PGI₂ and epoxyeicosatrienoic acid in relaxation of bovine coronary arteries to arachidonic acid//Am. J. Physiol.-1993.-V.264.-P.H327-H335
- 408.Rossi D., Zlotnik A. The biology of chemokines and their receptors//Annu. Rev. Immunol.-2000.-V.18.-P.217-242

409. Saaverda J.E., Shami P.J., Wang L.Y. et al. Esterase-sensitive nitric oxide donors of the diazeniumdiolate family: in vitro activity//*J. Med. Chem.*-2000.-V.43,№2.-P.261-269
410. Sadanaga N., Nagoshi M., Lederer J.A. et al. Local secretion of TNF-gamma induced an antitumor response: comparison between T-cells plus IL-2 and IFN-gamma transfected tumor cells//*Immunother.*-1999.-V.22,№4.-P.315-329
411. Saitoh D., Takasu A., Fukuzuha K. et al. Analysis of plasma nitrite/nitrate in human thermal injury//*J. Exp. Med.*-2001.-V.194,№2.-P.129-136
412. Salas A., Panes J., Rosenbloom C. et al. Differential effects of a nitric oxide donor on reperfusion-induced microvascular dysfunction in diabetic and non-diabetic rats//*Diabetol.*-1999.-V.42,№11.-P.1350-1358
413. Sandoval D., Gukovskaya A., Reavey P. et al. The role of neutrophils and platelet-activating factor in mediating experimental pancreatitis//*Gastroenter.*-1997.-V.111.-P.1081-1091
414. Sanduhu J.K., Privora H.E., Wenhebach G. et al. Neutrophils, nitric oxide synthase, and mutations in the mutatest murine tumor model//*Am. J. Pathol.*-2000.-V.156,№2.-P.509-518
415. Sasaki T., Trie-Sasaki J., Jones R.G. et al. Function of PI3k-gamma in thymocyte development, T-cell activation and neutrophil migration//*Science.*-2000.-V.287.-P.1040-1046
416. Scalia R., Lefer A. In vivo regulation of ICAM-1,2 activity during acute endothelial dysfunction in the rat mesenteric microvasculature//*Leukoc. Biol.*-1998.-V.64,№2.-P.163-169
417. Shacter E., Weitzman S.A. Chronic inflammation and cancer//*Oncology.*-2002.-V.16.-P.217-226
418. Shanahan J.C., Crain E.W. Tumour necrosis factor-alpha blockade: a novel therapy for rheumatic disease//*Clin. Immunol.*-2002.-V.103.-P.231-242

419. Springer T.A. Traffic signal for lymphocytes recirculation and leukocytes emigration: the multistep paradigm//Cell.-1994.-V.76.-P.301-314
420. Starkey J.R., Liggitt H.D., Jones W., Hosick H.L. Influence of migration blood cells on the attachment of tumor cell to vascular endothelium//Int. J. Cancer.-1984.-V.34.-P.535-543
421. Stefano G.B., Sarzet M., Rialas C.M. et al. Macrophage behavior associated with acute and chronic exposure to HIVGP-120, morphine and anandamide: endothelial implications//Int. J. Cardiol.-1998.-V.30,№64.-P.3-13
422. Steinbach F., Tanabe K., Alexander J. et al. The influence of cytokine on the adhesion of renal cancer cells to endothelium//J. Urol.-1996.-V.155.-P.743-748
423. Stoiser B., Looaresuman S., Thalhammer E. et al. Serum concentration of granulocyte-colony stimulating factor in complicated Plasmodium falciparum malaria//European Cytokine Network.-2000.-V.11,№1.-P.75-80
424. Stoyanov B., Malek D., Stoyanova S. et al. Cloning and characterization of a G-protein-actevated human phosphoinositide 3 kinase//Science.-1995.-V.269.-P.690-693
425. Stuehr D.J., Marletta M.A. Synthesis of nitrite and murine macrophage cell lines//Cancer Res.-1987.-V.47.-P.5590-4
426. Suda T., Callahan R.J., Wilkenson R.A. et al. Interferon-gamma reduces Ia+dendritic cell traffic to the lung//Leukos. Biol.-1996.-V.60,№4.-P.519-527
427. Suzuki K., Islam K.N., Kaneto H. et al. Involvement of NO, H₂O₂ and lipid peroxides in the reduced antitumor activity of macrophages//Microbiol. Infect.-1999.-V.1,№6.-P.419-427
428. Suzuki K., Islam K.N., Kaneto H. et al. The contribution of fructose and nitric oxide to oxidative stress in hamster islet tumor (HIT) cells through the inactivation of glutatione peroxidase//Electrophoresis.-2000.-V.21,№2.-P.285-288

429. Takenaga M., Igarashi R., Ochiai A., Mizushima Y. Effect of lecithinized superoxide dismutase (PC-SOD) on experimental pulmonary metastasis in mice//*Fri. Rad. Biol. Med.*-1999.-V.26.-P.1117-1125
430. Tayeh M.A., Scicli A.G. Angiotensin II and bradykinin regulate the expression of P-selectin on the surface of endothelial cells in culture//*Proc. Assoc. Am. Physicians.*-1998.-V.110,№5.-P.412-421
431. Thomsen L.L., Lawton F.G., Knowles R.G. et al. Nitric oxide synthase activity in human gynecological cancer//*Cancer Res.*-1994.-V.54.-P.1352-1354
432. Thomsen L.L., Sargent J.M., Williamson C.J., Elgie A.W. Nitric oxide synthase activity in fresh cells from ovarian tumor tissue: relationship of enzyme activity with clinical parameters//*Biochem. Pharmacol.*-1998.-V.56.-P.1365-1370
433. Toda N. Merits and demerits of nitric oxide//*Nippon. Yakurigaku Zasshi.*-1999.-V.114,№4.-P.239
434. Tokoro G., Matsuki G., Gamamoto T. et al. Cytokines and tissue injury by inflammatory responses//*Clin. Exp. Immun.*-1997.-V.107.-P.166-174
435. Tomita Y., Nishiyama T., Sato S., Fujiwara M. Expression of major histocompatibility complex antigens and intercellular adhesion molecular (ICAM-1) on renal cell cancer//*Nippon. Hihyokika. Gakhai. Zasshi.*-1991.-V.82.-P.232-238
436. Traub O., Berk B.C. Lamina shear stress: mechanism by which endothelial cells transduce an atheroprotective force//*Artheroscler. Thromb. Vasc. Biol.*-1998.-V.18,№5.-P.677-685
437. Tsujimoto M., Yokota S., Vilcek J., Weissmann G. Tumor necrosis factor provokes superoxide anion generation from neutrophils//*Biochem. Biophys. Res. Commun.*-1998.-V.137.-P.1094-1100

438. Umansky V., Ushmorow A., Ratter F. et al. Nitric oxide mediated apoptosis in human breast cancer cells requires changes in mitochondrial functions and is independent of CD95 (APO-1/Fas)//*Int. J. Oncol.*-2000.-V.16,№1.-P.109-117
439. Uysal G., Yuksel G., Sinav B. Et al. Cerebrospinal fluid nitric oxide level in childhood bacterial meningitis//*Scand. Infect. Dis.*-1999.-V.31,№5.-P.518-520
440. Van der Welden G.A., Timmerman M.F., Danser M.M. et al. Effects of preexperimental maintenance care duration on development of gingivitis in partial mouth experimental gingivitis model//*Periodont. Res.*-1994.-V.29.-P.168-173
441. Van Uffelen B.E., De Koster B.M., Van der Broek et al. Modulation of neutrophil migration by exogenous gaseous nitric oxide//*Leucos. Biol.*-1996.-V.60,№1.-P.94-100
442. Van Uffelen B.E., de Koster B.M., Van Steveninck J., Elferink J.G. Carbon monoxide enhances human neutrophil migration in a cyclic GMP-dependent way//*Biochem. Biophys. Res. Commun.*-1996.-V.226,№1.-P.21-26
443. Van Uffelen B.E., Van Der Zee J., De Koster B.M. et al. Intracellular but not extracellular conversion of nitroxyl anion into nitric oxide leads to stimulation of human neutrophil migration//*Biochem.*-1998.-V.330.-P.719-722
444. Van Uffelen B.E., Van der Zee J., de Koster B.M. et al. Sodium azide enhances neutrophil migration and exocytosis: involvement of nitric oxide, cyclic GMP and calcium//*Life Sci.*-1998.-V.63,№8.-P.645-657
445. Vodovots Y., Coffin D., De Luca A.M. et al. Induction of nitric oxide production in infiltrating leukocytes following in vivo irradiation//*Radiat. Oncol. Investing.*-1999.-V.7,№12.-P.86-97
446. Von Knethen A., Brockhaus F., Kleiter I., Brune O. NO-evoked macrophage apoptosis is attenuated by cAMP-induced gene expression//*Mol. Med.*-1999.-V.5,№10.-P.672-684

447. Wan S.J., Huang W.I., Lai G.S., Lin M.T. Staphylococcal Enterotoxin A act through nitric oxide synthase mechanism in human peripheral blood mononuclear cells to stimulate synthesis of proinflammatory cytokines//*Infect. And Immun.*-2000.-V.68,№4.-P.2003-2008
448. Wang J.E., Jorgenson P.F., Almlöf M. et al. Peptidoglycan and lipoteichoic acid from *Staphylococcus aureus* induce tumor necrosis factor α , interleukin-6 and interleukin-10 in both T-cells and monocytes in a human whole blood model//*Infect. And Immun.*-2000.-V.275,№27.-P.20260-20267
449. Wang X., Lewis D.A., Kim N.K. et al. Alteration in mRNA for inducible endothelial nitric oxide synthase and plasma nitric oxide / with rejection and/or infection of allotransplanted lungs//*Transplant.*-1998.-V.66,№5.-P.567-572
450. Weiser M.R., Gibbs A., Moore F.D., Hechtman H.B. Complement inhibition by soluble complement receptor type 1 fails to moderate cerulein-induced pancreatitis in the rat//*Int. J. Pancreatol.*-1996.-V.19.-P.129-134
451. Wheeler M.A., Smith S.D., Garcia-Gardena G. et al. Bacterial infection induced nitric oxide synthase in human neutrophils//*J Clin. Invest.*-1997.-V.99,№1.-P.110-116
452. Wilson K.T., Fu S.D., Ramanujam K.S., Meitzer S.J. Increased expression of inducible nitric oxide synthase and cyclooxygenase-2 in Barrett's esophagus and associated adenocarcinomas//*Cancer Res.*-1998.-V.58.-P.2929-2934
453. Wink D.A., Vodovotz Y., Laval J. et al. The multifaceted roles of nitric oxide in cancer//*Carcinogen.*-1998.-V.19.-P.711-721
454. Wiseman H., Halliwell B. Damage to DNA by reactive oxygen and nitrogen species: role of inflammatory disease and progression to cancer//*Biochem. J.*-1996.-V.313.-P.17-29

455. Wong H.R. Nuclear factor – kappa B and nitric oxide regulation life and death: Nonsense or harsh reality?//*Crit. Care Med.*-1998.-V.26.-P.1470-1471
456. Xie K.P., Fidler I.J. Therapy of cancer metastasis by activation of the inducible nitric oxide synthase//*Cancer Metastas. Rev.*-1999.-V.17.-P.55-75
457. Xu D., McSorly S.J., Tetley L. Protective effect on Leishmania major infection of migration inhibitory factor, TNF-a and TNF-b administered orally via attenuated Salmonella typhimurium//*Immun.*-1998.-V.160,№3.-P.1285-1289
458. Xu W., Charles I.G., Liu L. Et al. Molecular cloning and structure organization of the human inducible nitric oxide synthase gen (NOS2)//*Biochem. Biophys. Res. Commun.*-1996.-V.219,№3.-P.784-788
459. Yabuki N., Sasano H., Tobita M. et al. Analysis of cell damage and proliferation in Helicobacter pylori – infected human gastric mucosa from patients with gastric adenocarcinoma//*Amer. J. Pathol.*-1997.-V.151.-P.821-829
460. Young A., Touzani O., Derlon J., Sette G. et al. Early reperfusion in the anesthetized baboon reduces tissue damage following middle artery occlusion: a quantitative analysis of infarction volume//*Stroke.*-1997.-V.28.-P.632-681
461. Zanardo R.C., Costa E., Ferreifa H.H. et al. Pharmacological and immunohistochemical evidence for a functional nitric oxide synthase system in rat peritoneal eosinophils//*Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*-1997.-V.94,№25.-P.14111-14114
462. Zhang L., Redington A.E., Holgate S.T. RANTES: a novel mediators of allergic inflammation//*Clin. Exp. Allergy.*-1994.-V.24.-P.899-904
463. Zhang R., Chopp M., Jaing N., Tang W.X. et al. Anti-intercellular adhesion molecule-antibody reduces ischemic cell

- damage after transient but not permanent middle artery occlusion in the rat//Stroke.-1995.-V.26.-P.1438-1443
464. Zhang R., Zhang Z., Chopp M. Increased therapeutic efficacy with anti-CD18 antibody treatment inflammatory processes in the rat//Neurology.-1999.-V.52.-P.273-279
465. Zhou W., Levine B.A., Olson M.S. Platelet activating factor: a mediator of pancreatic inflammation during cerulein hyperstimulation//Am. J. Pathol.-V.142.-P.1504-1512
466. Zhucng J.C., Lin C., Lin D., Wogan I.H. Mutagenesis associated with nitric oxide production in macrophages//Proc. Nat. Acad. Sci. USA.-1998.-V.95.-P.82-86
467. Ziche M., Demirci S., Ayyildiz A. et al. Serum concentration of vascular endothelial growth factor and nitrite as an estimator of nitric oxide in patients with gastric cancer//Br. J. Cancer.-1999.-V.80,№10.-P.1630-1634
468. Ziche M., Morbidelli L., Choudhuri R. et al. Nitric oxide synthase lies downstream from vascular endothelial growth factor induced but not basic fibroblast growth factor-induced angiogenesis//J. Clin. Invest.-1997.-V.99.-P.2625-2634
469. Zumstog U., Frigerio S., Hollander G. Nitric oxide production and Fas surface expression mediate two independent pathways of cytokine-induced murine beta-cell damage//Diabetes.-2000.-V.49,№1.-P.33-47

Содержание

Предисловие	3
Глава 1. МОЛЕКУЛЯРНЫЕ АСПЕКТЫ ЭМИГРАЦИИ ЛЕЙКОЦИТОВ В НОРМЕ И ПАТОЛОГИИ	5
1.1. Некоторые истоки изучения процесса эмиграции лейкоцитов.	5
1.2. Роль молекул клеточной адгезии в процессе эмиграции лейкоцитов.	9
1.3. Роль цитокинов в механизмах эмиграции лейкоцитов.	15
1.4. Механизмы хемотаксиса лейкоцитов.	22
Глава 2. ОСОБЕННОСТИ ЭМИГРАЦИИ ЛЕЙКОЦИТОВ НА СЛИЗИСТУЮ ОБОЛОЧКУ РОТОВОЙ ПОЛОСТИ В ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ УСЛОВИЯХ И ПРИ ПАТОЛОГИИ	34
2.1. Метод последовательных промываний и его диагностическое значение.	34
2.2. Механизмы эмиграции лейкоцитов на слизистую оболочку ротовой полости.	42
2.3. Эмиграция лейкоцитов на слизистую ротовой полости при протезных стоматитах.	51
Глава 3. РОЛЬ ЭНДОГЕННОГО ОКСИДА АЗОТА В МЕХАНИЗМАХ РАЗВИТИЯ ВОСПАЛЕНИЯ	57
Глава 4. РОЛЬ ОКСИДА АЗОТА В ПАТОГЕНЕЗЕ ОПУХОЛЕВОГО РОСТА	71
Глава 5. ЭМИГРАЦИЯ ЛЕЙКОЦИТОВ НА СЛИЗИСТУЮ РОТОВОЙ ПОЛОСТИ И ОБМЕН ОКСИДА АЗОТА ПРИ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ И ОПУХОЛЕВЫХ ПРОЦЕССАХ	79
5.1. Материалы и методы исследования.	79

5.2 Эмиграция лейкоцитов и оксид азота при протезных стоматитах.	88
5.3. Эмиграция лейкоцитов и обмен оксида азота при остром воспалении легких.	100
5.4. Обмен оксида азота и эмиграция лейкоцитов при опухолях тела и шейки матки.	119
5.5. Острые и хронические миелолейкозы.	134
Глава 6. ВЛИЯНИЕ НИТРОГЛИЦЕРИНА – ДОНОРА ОКСИДА АЗОТА НА ПРОЦЕСС ЭМИГРАЦИИ ЛЕЙКОЦИТОВ	162
Заключение.	167
Литература	170
Содержание	221

Научное издание

ГОЖЕНКО Анатолий Иванович
БАБИЙ Валентина Павловна
Бабиенко Владимир Владимирович

**ЭМИГРАЦИЯ ЛЕЙКОЦИТОВ И
ОБМЕН ОКСИДА АЗОТА ПРИ
ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ И
ОПУХОЛЕВЫХ ПРОЦЕССАХ**

Підп. до друку 15.07.2005. Формат 60x84/16
Папір офсетний. Друк різнографічний. Ум. друк. арк. 6,07
Тираж 300. Зам. 544.

Видано і надруковано Роздільнянським видавничо-типографським
комплексом м.Роздільна, вул. Леніна, 44

Свідоцтво ДК № 12387 від 12.03.03