

УДК 616.31. – 008.431.1– 018.74 – 053.6:613.84

Попова Т.М., Наконечна О.А., Тищенко О.В., Кривенко Л.С.**ПОКАЗНИКИ ФУНКЦІОНАЛЬНОГО СТАНУ ЕНДОТЕЛІЮ СУДИН У РОТОВІЙ РІДИНІ ПІДЛІТКІВ, ЩО ПАЛЯТЬ IQOS**

Харківський національний медичний університет, кафедра біологічної хімії, кафедра стоматології дитячого віку та імплантології, Харків, Україна

*Робота виконувалась у рамках планової науково-дослідної роботи Харківського національного медичного університету «Оптимізація ранньої діагностики, профілактики та лікування захворювань тканин порожнини рота у дітей з адикцією від паління», 0120U102057.***Вступ**

Електронні засоби нагрівання тютюну (ЕЗНТ) з'явилися на світовому ринку як альтернатива звичайним тютюновим сигаретам. Виробники ЕЗНТ пропонують їх як пристрої, що виділяють менше шкідливих речовин у порівнянні з традиційними тютюновими сигаретами [1;2]. Активна реклама, вільний доступ для придбання і сприйняття суспільства, що ЕЗНТ є безпечною альтернативою традиційним тютюновим сигаретам, призвели до зростання споживання цього продукту серед молоді в Україні [3]. Багато курців викурюють першу сигарету в ранньому віці через різні соціальні чинники. З літературних джерел відома пряма й опосередкована дія диму тютюнових сигарет на судинну стінку й метаболізм оксиду азоту (NO) [4; 5]. NO є важливою ланкою патогенезу формування ендотеліальної дисфункції. У здорових людей у відповідь на посилення кровообігу ендотелій судин виділяє NO, який сприяє вазодилатації та збільшує кровоток для задоволення підвищеної потреби тканин. Дефіцит ендотеліального NO прискорює агрегацію тромбоцитів, потовщення інтими, утворення атеросклеротичних бляшок і як наслідок – сприяє ішемії тканин [6].

За ствердженням виробників, концентрація побічних продуктів нагрівання тютюну значно нижча в ЕЗНТ, але систематична низка речовин (нітрозаміни, акролеїн, ацетальдегід, формальдегід) навіть у низьких концентраціях викликає патологічні зміни в серцево-судинній системі (ССС) курця [7]. Незважаючи на заяву корпорації «Philip Morris International» щодо зниження ризиків розвитку хвороб ССС у споживачів ЕЗНТ, серед результатів клінічних досліджень відсутні дані про вплив аерозолів електронних пристроїв на функцію ендотелію судин. При цьому робіт, в яких би системно узагальнювались наявні результати про вплив аерозолів ЕЗНТ на ендотелій судин, у науковій літературі недостатньо, що й визначило мету даного дослідження.

Безпека ЕЗНТ для ССС – важливе питання під час дискусії про альтернативний продукт паління, особливо якщо їх пропонують молодому поколінню.

Доведеним фактом є те, що серед метаболітів NO, які мають регуляторну активність, переважають нітрати, нітрити і S-нітрозотіоли [6]. Загальноприйнятим методом оцінки утворення NO в біологічних рідинах є сумарна оцінка вмісту нітратів, нітритів та і S-нітрозотіолів [8]. Також одним із важливих показників стану ендотелію судин є визначення ендотеліну-1. Відомо, що при високих концентраціях ендотеліну-1 у крові відбуваються вазоконстрикція, проліферація клітин і фіброз інтими, що підвищує жорсткість судинної стінки [5; 6].

З огляду на вищезазначене основним завданням нашого дослідження стало визначення концентрації нітратів, нітритів, S-нітрозотіолів і ендотеліну-1 у слині молодих курців, які палять сигарети з модифікованим нагріванням (IQOS) протягом 2 і 3 років.

Матеріали й методи дослідження

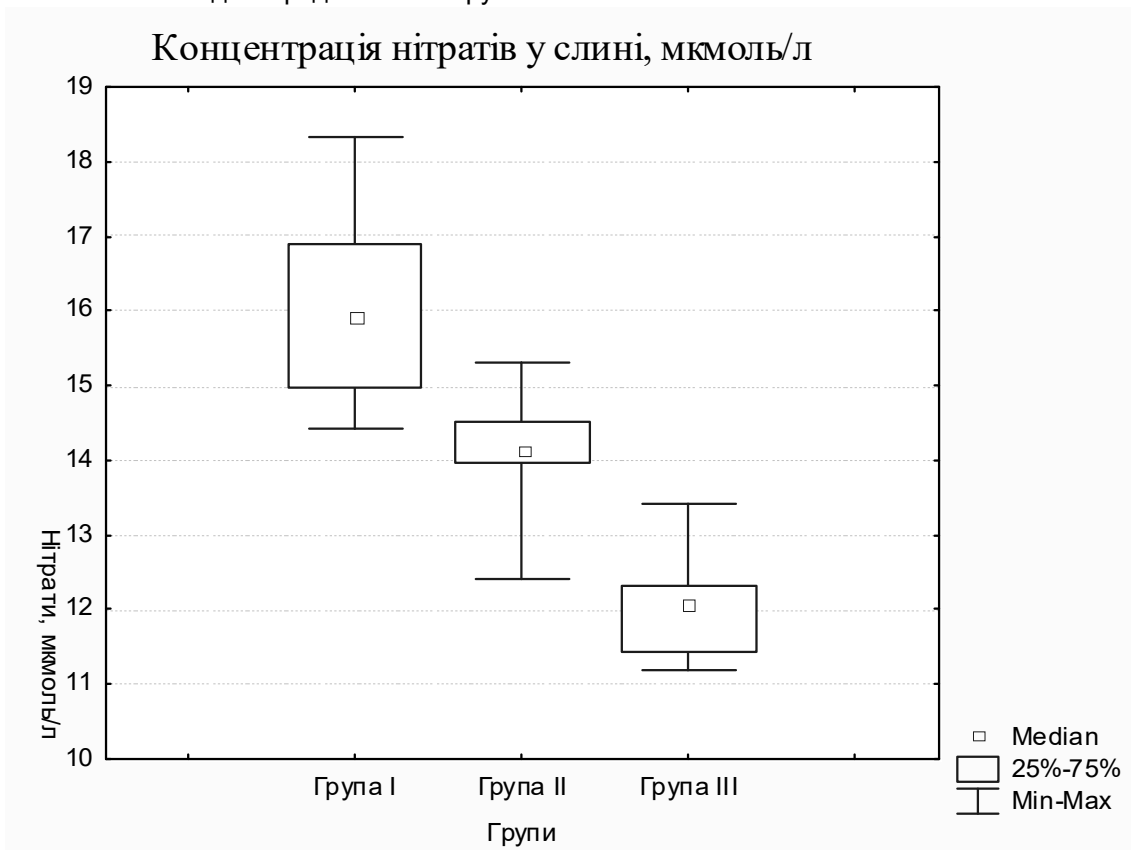
У дослідженні взяли участь 30 підлітків віком 14-17 років, чоловічої статі. Учасників розподілили на три групи. Група I була сформована 10 здоровими підлітками, група контролю – які не мали шкідливих звичок. До групи II увійшли 10 підлітків, які щоденно палили IQOS протягом 2 років, до групи III - 10 підлітків, які щоденно вживали IQOS протягом 3 років. Дослідження проводили відповідно до Гельсінської декларації, батьки всіх учасників дали письмову згоду на участь у дослідженні.

Уміст нітратів і нітритів у слині підлітків визначали за допомогою реакції Гріса [8]. S-нітрозотіоли слини вимірювали спектрофотометрично за допомогою спектрофотометра PV1251B. Концентрацію ендотеліну-1 у слині визначали імуноферментним методом за допомогою набору реактивів «Elabscience», USA. Статистичний аналіз отриманих даних було проведено з використанням програми STATISTICA 7.0. Результати представлено як медіани і проценти – Me (Q25%; Q75%). Тест Краскела-Уолліса використовували для порівняння 3 незалежних груп. Розбіжності між 2 незалежними групами перевіряли за допомогою Манна-Уїтні U тесту. Нульову гіпотезу відхиляли при рівні статистичної значущості $p < 0,05$.

Результати

Нами встановлено, що в слині всіх підлітків груп II і III спостерігалось статистично значуще зниження концентрації нітратів і нітритів порівняно зі значеннями групи I (графік 1 і графік 2). Як свідчать дані графіка 1, медіани вмісту нітратів слини груп II і III становили 14.11 [13.98; 14.52] і 12.06 [11.44; 12.31] мкмоль/л відповідно, групи I – Me = 15.89 [14.98; 16.89] мкмоль/л (Краскела-Уолліса тест, $N = 23.59$, $p = 0.000$). Показники нітритів груп II і III склали Me = 2.32 [1.47; 2.48] і 1.37 [1.25; 1.44] мкмоль/л відповідно, що в 1.41 та 2.36 рази було нижче значень осіб групи I Me = 3.24 [3.05; 3.78] мкмоль/л (Краскела-Уолліса тест, $N = 22.92$, $p = 0.000$). Щодо вмісту S-нітрозотіолів, то результати нашого дослідження свідчать про аналогічні зміни цього показника відносно концентрації нітратів і нітритів у слині курців груп II і III (графік 3). Так, уміст S-нітрозотіолів слини для представників групи I

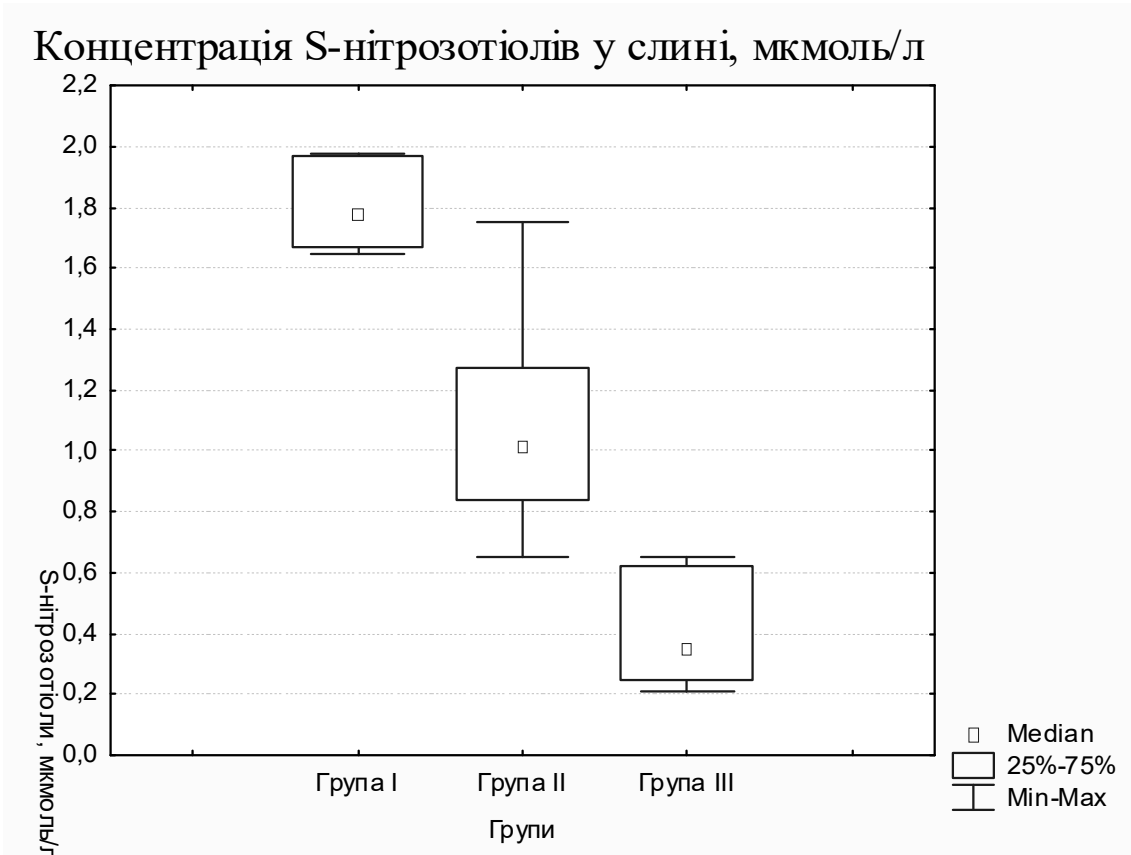
мав максимальні значення: Me = 1.79 [1.67; 1.97] мкмоль/л, що у 1.75 і 4.97 рази перевищувало показники групи II і групи III: Me = 1.02 [0.84; 1.27] мкмоль/л і Me = 0.36 [0.25; 0.62] мкмоль/л відповідно, Краскела-Уолліса тест, $N = 24.46$, $p = 0.000$ (графік 3). Опираючись на отримані результати, можна припустити, що зниження концентрації нітратів і нітритів у слині курців пов'язано з низьким рівнем S-нітрозотіолів, що депонуються й вивільняють оксид азоту (NO). Вірогідно, зменшення утворення нітратів і нітритів пов'язано з пригніченням ендотеліальної NO-синтази [9]. Концентрація ендотеліну-1 слини курців груп II і III сягала Me = 0.58 [0.53; 0.73] і Me = 0.82 [0.79; 0.93] пмоль/мл відповідно, що в 3, 41 і 4,82 рази перевищувало цей показник слини осіб групи I: Me = 0.17 [0.14; 0.26] пмоль/мл (Краскела-Уолліса тест, $N = 23.94$, $p = 0.000$) (графік 4).



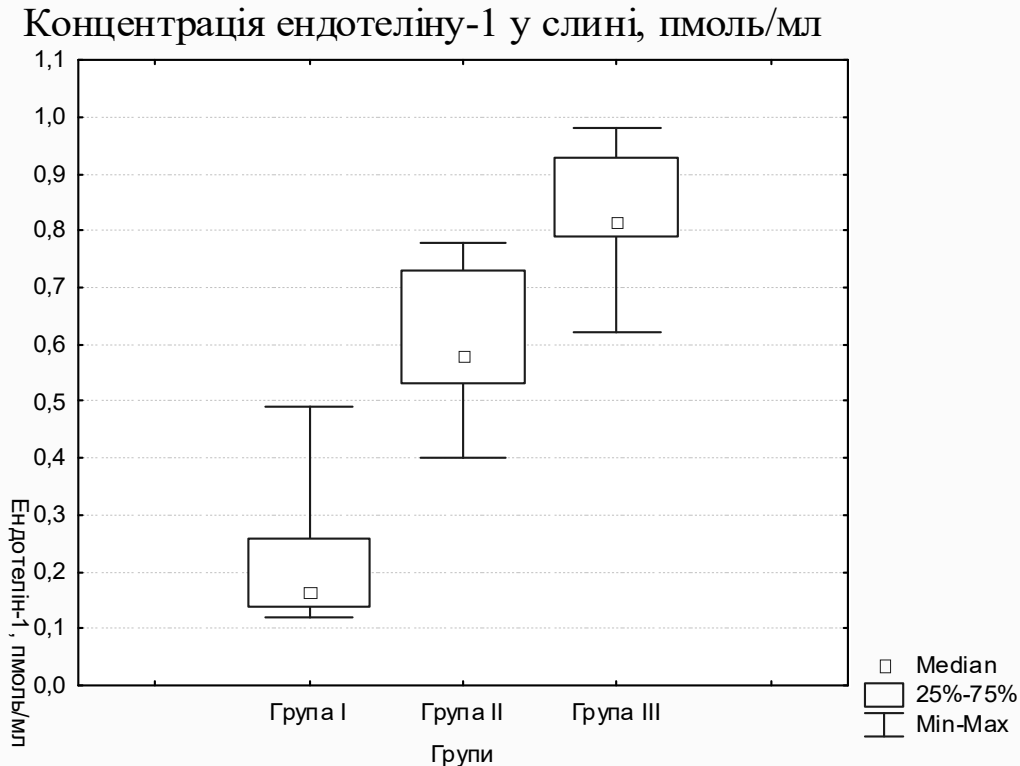
Графік 1. Концентрація нітратів у слині підлітків



Графік 2. Концентрація нітритів у слині підлітків



Графік 3. Концентрація S-нітрозотіолів у слині підлітків



Графік 4. Концентрація ендотеліну-1 у слині підлітків

При порівнянні концентрацій нітратів, нітритів, S-нітрозотіолів і ендотеліну-1 слини груп II і III була встановлена статистично значуща різниця (Манна-Уїтні U тест, нітрати – $Z=3,62$, $p=0.000$; нітрити – $Z=2,91$, $p=0,003$; S-нітрозотіоли – $Z=3,74$, $p=0,00$; ендотелін-1 – $Z=3,36$, $p=0.000$).

За результатами проведеного дослідження встановлено, що в підлітків, які вживають електронні засоби нагрівання тютюну (у даному випадку – IQOS), порушується функція ендотелію судин – порушується статистично значуще зниження вмісту нітратів, нітритів і S-нітрозотіолів із мінімальними значеннями в підлітків групи III. Зменшення визначених продуктів метаболізму NO може служити чинником розвитку вазоконстрикторних реакцій у курців IQOS [10]. Суттєві зміни показників функціонального стану ендотелію судин ми спостерігали за підвищеним умістом ендотеліну-1, який був максимальним у курців, які палили 3 роки. У зв'язку з виявленими розбіжностями рівнів досліджуваних показників між групами II і III можна зробити висновок, що тривалість паління IQOS сприяє розвитку ендотеліальної дисфункції.

Патофізіологічний механізм дії електронних засобів нагрівання тютюну на ендотелій судин невідомий. Він може бути пов'язаний із розвитком оксидативного стресу, впливом альдегідів (наприклад, акролеїну, формальдегіду, ацетальдегіду) і наночасток важких металів [13;14]. У деяких експериментальних дослідженнях встановлено шкідливі ефекти акролеїну компоненту аерозолі: посилення ушкодження судин за рахунок порушення здатності відновлення судин;

підвищення ризику тромбозу й атеросклерозу через ендотеліальну дисфункцію [15]. Отримані результати дослідження можна пояснити шкідливою дією нікотину на ендотеліоцити через α -7 Н-холінорецептори, бо саме нікотин стимулює проліферацію ендотеліоцитів [16].

Виявлена дисфункція ендотелію судин у молодих курців у цьому дослідженні ставить під сумнів твердження про безпеку паління IQOS.

Висновки

1. У нашому експериментальному дослідженні ми виявили вплив ЕЗНТ на показники функціонального стану судин підлітків.
2. У курців ЕЗНТ відбувається статистично значуще зниження концентрацій нітратів, нітритів і S-нітрозотіолів.
3. Статистично достовірне підвищення вмісту ендотеліну-1 виявлено в слині підлітків, які палють ЕЗНТ. Виявлені зміни свідчать про наявність ендотеліальної дисфункції в молодих курців.
4. Розвиток патологічних процесів у ендотелії судин залежить від тривалості паління.

Перспективи подальших досліджень

Планується дослідження показників ліпідного метаболізму в споживачів електронних засобів нагрівання тютюну.

Список літератури

1. Soneji SS, Sung HY, Primack BA, Pierce JP, Sargent JD. Quantifying population-level health benefits and harms of e-cigarette use in the United States. *PLoS One*. 2018; 13(3):e0193328.
2. Soneji S, Barrington-Trimis JL, Wills TA, Leventhal AM, Unger JB, Gibson LA et al. Association between initial use of e-cigarettes and subsequent

- cigarette smoking among adolescents and young adults: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA Pediatr.* 2017; 171(8):788-97.
3. Гутор ТГ, Козій-Бределева СП. Поширеність вживання тютюнових виробів серед молодого населення Львівської області. Вісник соціальної гігієни та організації охорони здоров'я України. 2020;4 (86):13-8.
 4. Zhang WZ, Venardos K, Chin-Dusting J, Kaye DM. Adverse effects of cigarette smoke on NO bioavailability: Role of arginine metabolism and oxidative stress. *Hypertension.* 2006; 48: 278-85.
 5. Popova TM, Gorbach TV, Tsygankova TI, Shushliapina, N.O. Influence of cigarette smoking duration on endothelial cell function. *Med čas (krag) / Med J (krag).* 2018; 52(3): 98-104.
 6. Manukhina E., Downey F., Mallet R. Role of nitric oxide in cardiovascular adaptation to intermittent hypoxia. - *Experimental Biology and Medicine*, May 2006, 231(4): 343-65.
 7. Leigh NJ, Palumbo MN, Marino AM, O'Connor RJ, Goniewicz ML. Tobacco-specific nitrosamines (TSNA) in heated tobacco product IQOS Tob Control 2018; 27: 37-8.
 8. Miranda KM, Espey MG, Wink DA. A rapid, simple spectrophotometric method for simultaneous detection of nitrate and nitrite. *Nitric Oxide Biol. Chem.* 2001; 5: 62-71.
 9. Qasim H, Karim Z, Rivera J et al. Impact of electronic cigarettes on the cardiovascular system. *Journal of the American Heart Association.* 2017; 6(9):1-14.
 10. Krivenko S, Lukin V, Krylova O, Kryvenko L, Egiazarian K. A Fast method of visually lossless compression of dental images. *MDPI.* 2021;11(1): 135.
 11. Kamceva G, Arsova-Sarafinovska Z, Ruskovska T et al. Cigarette smoking and oxidative stress in patients with coronary artery disease. *Maced J Med Sci* 2016;4:636-40.
 12. Ikonomidis I, Vlastos D, Kourea K et al. Electronic cigarette smoking increases arterial stiffness and oxidative stress to a lesser extent than a single conventional cigarette: an acute and chronic study. *Circulation.* 2018. 16;137(3):303-6.
 13. Wheat LA, Haberzettl P, Hellmann J et al. Acrolein inhalation prevents vascular endothelial growth factor - induced mobilization of Flk - 1+/Sca - 1+ cells in mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2011; 31: 1598-606.
 14. Zoli1 M, Pucci S, Vilella1 A, Gotti C. Neuronal and extraneuronal nicotinic acetylcholine receptors. *curr neuropharmacol.* 2018; 16(4): 338-49.
 15. Wheat LA, Haberzettl P, Hellmann J et al. Acrolein inhalation prevents vascular endothelial growth factor - induced mobilization of Flk - 1+/Sca - 1+ cells in mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2011; 31: 1598-606.
 16. Ikonomidis I, Vlastos D, Kourea K et al. Electronic cigarette smoking increases arterial stiffness and oxidative stress to a lesser extent than a single conventional cigarette: An Acute and Chronic Study. *Circulation.* 2018; 137(3): 303-6.
 2. Soneji S, Barrington-Trimis JL, Wills TA, Leventhal AM, Unger JB, Gibson LA et al. Association between initial use of e-cigarettes and subsequent cigarette smoking among adolescents and young adults: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA Pediatr.* 2017; 171(8):788-97.
 3. Gutor TH, Kozij-Bredelyeva SP. Prevalence of tobacco product use among the young population in Lviv region. *Bulletin of Social Hygiene and Health Protection Organization of Ukraine.* 2020; 4 (86):13-8. (Ukrainian).
 4. Zhang WZ, Venardos K, Chin-Dusting J, Kaye DM. Adverse effects of cigarette smoke on NO bioavailability: Role of arginine metabolism and oxidative stress. *Hypertension.* 2006; 48: 278-85.
 5. Popova TM, Gorbach TV, Tsygankova TI, Shushliapina, N.O. Influence of cigarette smoking duration on endothelial cell function. *Med čas (krag) / Med J (krag).* 2018; 52(3): 98-104.
 6. Manukhina E., Downey F., Mallet R. Role of nitric oxide in cardiovascular adaptation to intermittent hypoxia. - *Experimental Biology and Medicine*, May 2006, 231(4): 343-65.
 7. Leigh NJ, Palumbo MN, Marino AM, O'Connor RJ, Goniewicz ML. Tobacco-specific nitrosamines (TSNA) in heated tobacco product IQOS Tob Control 2018; 27: 37-8.
 8. Miranda KM, Espey MG, Wink DA. A rapid, simple spectrophotometric method for simultaneous detection of nitrate and nitrite. *Nitric Oxide Biol. Chem.* 2001; 5: 62-71.
 9. Qasim H, Karim Z, Rivera J et al. Impact of electronic cigarettes on the cardiovascular system. *Journal of the American Heart Association.* 2017; 6(9):1-14.
 10. Krivenko S, Lukin V, Krylova O, Kryvenko L, Egiazarian K. A Fast method of visually lossless compression of dental images. *MDPI.* 2021;11(1): 135.
 11. Kamceva G, Arsova-Sarafinovska Z, Ruskovska T et al. Cigarette smoking and oxidative stress in patients with coronary artery disease. *Maced J Med Sci* 2016;4:636-40.
 12. Ikonomidis I, Vlastos D, Kourea K et al. Electronic cigarette smoking increases arterial stiffness and oxidative stress to a lesser extent than a single conventional cigarette: an acute and chronic study. *Circulation.* 2018. 16;137(3):303-6.
 13. Wheat LA, Haberzettl P, Hellmann J et al. Acrolein inhalation prevents vascular endothelial growth factor - induced mobilization of Flk - 1+/Sca - 1+ cells in mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2011; 31: 1598-606.
 14. Zoli1 M, Pucci S, Vilella1 A, Gotti C. Neuronal and extraneuronal nicotinic acetylcholine receptors. *curr neuropharmacol.* 2018; 16(4): 338-49.
 15. Wheat LA, Haberzettl P, Hellmann J et al. Acrolein inhalation prevents vascular endothelial growth factor - induced mobilization of Flk - 1+/Sca - 1+ cells in mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2011; 31: 1598-606.
 16. Ikonomidis I, Vlastos D, Kourea K et al. Electronic cigarette smoking increases arterial stiffness and oxidative stress to a lesser extent than a single conventional cigarette: An Acute and Chronic Study. *Circulation.* 2018; 137(3): 303-6.

References

1. Soneji SS, Sung HY, Primack BA, Pierce JP, Sargent JD. Quantifying population-level health benefits and harms of e-cigarette use in the United States. *PLoS One.* 2018; 13(3):e0193328.

**Стаття надійшла:
23.04.2021 р.**

Резюме

За останні п'ять років в Україні зростає споживання електронних засобів нагрівання тютюну молодим поколінням. Така широка популярність викликає занепокоєння, оскільки наслідки дії аерозолу електронних засобів нагрівання тютюну на серцево-судинну систему не були чітко визначені, особливо в довгостроковій перспективі. Тому метою дослідження стало визначення вмісту нітратів, нітритів, S-нітросотіолів і ендотеліну-1 у слині молодих курців, які палять сигарети з модифікованим нагріванням (IQOS) протягом 2 і 3 років. У дослідженні взяли участь 30 підлітків. Група I була сформована 10 здоровими підлітками, які не мали шкідливого звичок. До групи II увійшли 10 підлітків, які щоденно палили IQOS протягом 2 років, до групи III – 10 підлітків, які щоденно вживали IQOS протягом 3 років. За результатами проведеного дослідження встановлено, що в підлітків, які вживають електронні засоби нагрівання тютюну (у даному випадку – IQOS) порушується функція ендотелію судин, про що свідчить статистично значуще зниження рівнів нітратів, нітритів і S-нітросотіолів із мінімальними значеннями в підлітків групи III. Суттєве підвищення вмісту ендотеліну-1 спостерігали в курців груп III, що палили 3 роки. У зв'язку з виявленими розбіжностями рівнів досліджуваних показників між групами II і III можна зробити висновок, що тривалість паління IQOS сприяє розвитку ендотеліальної дисфункції.

Ключові слова: електронні засоби нагрівання тютюну, ендотелій судин, нітрати, нітриси, S-нітросотіоли, ендотелін-1.

UDC 616.31. – 008.431.1– 018.74 – 053.6:613.84

THE VASCULAR ENDOTHELIUM FUNCTION INDICATORS IN ORAL LIQUID OF IQOS SMOKING ADOLESCENTS

Popova T.M., Nakonechna O.A., Tishchenko O.V., Kryvenko L.S.

Kharkiv National Medical University, Kharkiv, Ukraine.

Summary

Heated tobacco products (HTP) were introduced to the world market as an alternative to conventional tobacco cigarettes. Active advertising, readily available to purchase and the public's perception that HTP are a safer alternative to conventional tobacco cigarettes lead to increasing their consumption by young age group in Ukraine. Despite the claims by the tobacco corporations about reduction of adverse effects the HTP on the activity of cardiovascular system, the published studies of potential vascular endothelial consequences were not found. Therefore, **the aim** of our study is to assess the HTP effect on vascular endothelial cells by determination of the nitrate, nitrite, S-nitrosothiols, and endothelin-1 levels in saliva of smoking adolescents. **The object and research methods.** Thirty adolescents aged 14-17 years old were divided to three groups. Group I was introduced by ten healthy non-smoking adolescents (control group). Group II consists of ten smoking adolescents have smoked the IQOS for two years. Group III is formed by ten smoking adolescents who have smoked the IQOS for three years. The salivary nitrate and nitrite levels were measured using the Griess assay such as an indicator of NO production. The salivary S-nitrosothiols were measured spectrophotometrically. The salivary endothelin-1 level was measured with ELISA kit. Statistical analysis of the data was carried out using the STATISTICA 7.0 program. The data were presented as Median values (Me), lower and upper quartile, i.e. Me [Lq; Uq]. Statistical significance was accepted if $p < 0.05$. **Results.** The salivary nitrate concentrations in groups II (Me = 14.11 [13.98; 14.52] $\mu\text{mol/l}$) and III (Me = 12.06 [11.44; 12.31] $\mu\text{mol/l}$) were significantly decreased compared to group I (Me = 15.89 [14.98; 16.89] $\mu\text{mol/l}$, KW test: $H = 23.59$, $p = 0.000$). The values of nitrite in groups II and III were the following: Me = 2.32 [1.47; 2.48] $\mu\text{mol/l}$ and 1.37 [1.25; 1.44] $\mu\text{mol/l}$, respectively. The indices were lower in 1.41 and 2.36 times than in group I: Me = 3.24 [3.05; 3.78] $\mu\text{mol/l}$, KW test: $H = 22.92$, $p = 0.000$. The levels of salivary S-nitrosothiols in group II are: Me = 1.02 [0.84; 1.27] $\mu\text{mol/l}$ and group III Me = 0.36 [0.25; 0.62] $\mu\text{mol/l}$ were reduced in 1.75 and 4.97 times compared to group I: Me = 1.79 [1.67; 1.97] $\mu\text{mol/l}$, KW test: $H = 24.46$, $p = 0.000$. We assume that the reduction of salivary nitrate and nitrite concentrations is associated with a low level of S-nitrosothiols which serve as deposited and released nitric oxide (NO). Probably, the decrease of nitrates and nitrites is associated with the inhibition of endothelial NO synthase. The salivary endothelin-1 level was significantly higher in group II: Me=0.58 [0.53; 0.73] pmol/ml and in group III: Me = 0.82 [0.79; 0.93] pmol/ml than in group I: Me = 0.17 [0.14; 0.26] pmol/ml , KW test: $H = 23.94$, $p = 0.000$. It should be noted, the significant differences between data of nitrate, nitrite, S-nitrosothiol and endothelin-1 content in groups II and III were found (Mann-Whitney U test, nitrates - $Z = 3.62$, $p = 0.000$; nitrites - $Z = 2.91$, $p = 0.003$; S-nitrosothiols - $Z = 3.74$, $p = 0.00$; endothelin-1 - $Z = 3.36$, $p = 0.000$). These results showed interrelation between adverse IQOS effect on vascular endothelium of adolescents duration of IQOS smoke. **Conclusions.** The adverse effect of heated tobacco product (IQOS) on the biochemical indicators of the vascular endothelium function of adolescents was found in our experimental study. The salivary nitrate, nitrite and S-nitrosothiols levels were significantly decreased in IQOS smoking adolescents. The salivary endothelin-1 content was significantly elevated in IQOS smoking adolescents. The revealed changes indicate the endothelial dysfunction in young smokers. The development of pathological processes in the vascular endothelium depends on the smoking duration.

Key words: heated tobacco products, vascular endothelium, nitrates, nitrites, S-nitrosothiols, endothelin-1.