

DOI 10.29254/2077-4214-2018-1-2-143-189-194

УДК 612.015-06:613.84:612.013:616-099:547.466.64]-092.9

Руцька А. В., Криницька І. Я.

## СТАН СИСТЕМИ НІТРОГЕН (II) ОКСИДУ У ЩУРІВ ЗА УМОВИ «ПАСИВНОГО ТЮТЮНОКУРІННЯ» НА ТЛІ ТРИВАЛОГО ВВЕДЕННЯ ГЛУТАМАТУ НАТРІЮ У СТАТЕВОМУ ТА ВІКОВОМУ АСПЕКТАХ

ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України» (м. Тернопіль)

nastyia@tdmu.edu.ua

**Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами.** Дана робота є фрагментом НДР «Біохімічні механізми порушень метаболізму за умов надходження до організму токсикантів різного генезу» (№ державної реєстрації 0115U003359).

**Вступ.** Тютюнокуріння залишається однією з актуальних проблем сучасної системи охорони здоров'я і суспільства в цілому, будучи однією з основних причин виникнення та прогресування більшості хронічних захворювань і пов'язаних з ними ускладнень, що призводять до втрати працездатності, ранньої інвалідизації та смерті [1,2]. За даними інформаційного центру з проблем алкоголю, куріння і наркотиків в Україні, курять цигарки 19 млн. осіб, що є найвищим показником серед країн Європи [3]. Як очікується, до 2025 року більше 500 млн. жінок будуть курцями, що складе близько 20% жіночого населення планети. При цьому в Україні поширеність куріння серед жінок за останні 30 років потроїлась [4]. Крім того, останнім часом спостерігається чітка тенденція до збільшення поширеності тютюнокуріння серед молоді та більш раннього початку регулярного куріння [5,6].

Водночас відмітною особливістю сучасних харчових технологій є використання харчових добавок, які виконують технологічні функції, поліпшують органолептичні властивості харчових продуктів і не завжди є безпечними для здоров'я людини [7]. Однією із найпоширеніших харчових добавок як в Україні, так і в Європі є глутамат натрію [8].

Реальна загроза одночасного надходження в організм тютюнового диму та глутамату натрію надає вивченню їхньої поєднаної дії особливої актуальності.

Універсальним механізмом, який відіграє ключову роль у реалізації дії більшості токсичних агентів є активація вільнорадикальних процесів [9]. Крім активних форм кисню в останні роки дослідниками все більше уваги приділяється і активним формам нітрогену. Наявність одного неспареного електрону на зовнішній  $p$ -орбіталі надає NO високу реакційну здатність. До АФА відносяться оксид азоту ( $NO^*$ ), нітроксильний аніон ( $NO^-$ ), катіон нітронію ( $NO^+$ ), пероксинітрит ( $ONOO^-$ ), диоксид азоту ( $NO_2^*$ ), нітрит-аніон ( $NO_2^-$ ), а також інші фізіологічно значущі похідні NO [10].

**Метою дослідження** було дослідити функціональний стан системи нітроген (II) оксиду у щурів за умови «пасивного тютюнокуріння» на тлі тривалого

введення глутамату натрію у статевому та віковому аспектах.

**Об'єкт і методи досліджень.** Досліди проведено на 32 безпородних статевозрілих білих щурах-самцях масою 180-200 г, 32 безпородних статевозрілих білих щурах-самках масою 180-200 г, 32 безпородних статево незрілих білих щурах-самцях масою 60-80 г, 32 безпородних статево незрілих білих щурах-самках масою 60-80 г, яких утримували на стандартному раціоні віварію.

Кожна група тварин ділилась на чотири підгрупи: I – контроль ( $n=8$ ); II – щури, яким моделювали «пасивне тютюнокуріння» ( $n=8$ ); III – щури, яким вводили глутамат натрію ( $n=8$ ); IV – щури, яким моделювали «пасивне тютюнокуріння» на тлі введення глутамату натрію ( $n=8$ ).

Моделювали «пасивне тютюнокуріння» шляхом поміщення щурів у спеціально сконструйовану камеру з оргскла, в якій розподіляли тютюновий дим. Розрахунок еквівалентної дози нікотину і часу експозиції тварин тютюновим димом проводили на підставі апробованої моделі А.С. Соломіної [11] і розрахунків Л.В. Лізурчик та О.В. Шейди [12]. Задимлення проводили шляхом спалювання двох цигарок «Прима срібна (червона)» (смоли – 10 мг/сиг., нікотин – 0,8 мг/сиг.).

Піддослідні щури проходили процедуру «пасивного куріння» 2 рази на добу по 30 хвилин. Тривалість експерименту становила 30 днів.

Щурам другої дослідної групи протягом 30-ти днів внутрішньошлунково вводили глутамат натрію в дозі 30 мг/кг, розчинений в 0,5 мл дистильованої води кімнатної температури.

Щурам третьої дослідної групи моделювали пасивне тютюнокуріння і вводили глутамат натрію.

Всі маніпуляції з експериментальними тваринами проводили із дотриманням правил відповідно до «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей» [13].

Для досліджень використовували сироватку крові та гомогенат тканини легень.

Сумарну активність NO-синтази (NOS) у тканині легень визначали колориметрично за кількістю утворених нітратів і нітритів в інкубаційному середовищі [14]. Кількість утворених нітратів і нітритів визначали за методом Гріса після відновлення нітратів до нітритів за допомогою кадмію [15].

**Таблиця 1. Активність NO-синтази (NOS) і вміст метаболітів нітроген (II) оксиду (NO<sub>x</sub>) у статевозрілих щурів за умови «пасивного тютюнокуріння» на тлі тривалого введення глутамату натрію (M± m, n=8)**

Показник	Група тварин			
	Контроль	Тютюнокуріння	Глутамат натрію	Тютюнокуріння + Глутамат натрію
Щури-самці				
Сироватка крові				
NO <sub>x</sub> , мкмоль/л	30,61±2,20	49,46±4,34 p <sub>1</sub> <0,01	71,06±2,29 p <sub>1</sub> <0,001	52,01±3,79 p <sub>1</sub> <0,002 p <sub>2</sub> >0,05
Гомогенат легень				
NO <sub>x</sub> , мкмоль/кг	43,73±3,27	95,21±3,86 p <sub>1</sub> <0,001	120,09±5,76 p <sub>1</sub> <0,001	94,40±3,64 p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> >0,05
NOS, нмоль/(хв·мг білка)	0,69±0,03	0,96±0,06 p <sub>1</sub> <0,01	1,14±0,07 p <sub>1</sub> <0,001	0,86±0,05 p <sub>1</sub> <0,02 p <sub>2</sub> >0,05
Щури-самки				
Сироватка крові				
NO <sub>x</sub> , мкмоль/л	39,50±2,04	77,94±2,93 p <sub>1</sub> <0,001	68,50±2,58 p <sub>1</sub> <0,001	92,94±4,52 p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> >0,05
Гомогенат легень				
NO <sub>x</sub> , мкмоль/кг	53,19±2,32	127,49±6,09 p <sub>1</sub> <0,001	100,83±3,33 p <sub>1</sub> <0,001	133,39±6,40 p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> >0,05
NOS, нмоль/(хв·мг білка)	0,81±0,04	1,22±0,07 p <sub>1</sub> <0,001	1,17±0,04 p <sub>1</sub> <0,01	1,37±0,08 p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> >0,05

**Примітки:**

1. p<sub>1</sub> – вірогідність відмінностей між контрольною групою і експериментальними групами;
2. p<sub>2</sub> – вірогідність відмінностей між групою з тютюнокурінням і групою з тютюнокурінням на тлі введення глутамату натрію.

Статистичну обробку цифрових даних здійснювали за допомогою програмного забезпечення Excel (Microsoft, США) та STATISTICA 6.0 (Statsoft, США) з використанням непараметричних методів оцінки одержаних даних. Для всіх показників розраховували значення середньої арифметичної вибірки (M), її дисперсії і помилки середньої (m). Достовірність різниці значень між незалежними кількісними величинами визначали за допомогою критерію Манна-Уїтні. Зміни вважали статистично достовірними при p<0,05.

**Результати досліджень та їх обговорення.** Результати наших досліджень показали, що інтенсивність нітродергічних процесів достовірно збільшувалася у статевозрілих тварин усіх експериментальних груп (табл. 1).

При порівнянні вмісту NO<sub>x</sub> у сироватці крові статевозрілих самок та самців контрольних груп встановлено більш високі значення у самок, що свідчить про те, що утворення NO в організмі самок проходить інтенсивніше порівняно із самцями. Так, даний показник у сироватці крові самок перевищував аналогічний показник у самців на 29,0 % (p<0,02), а у гомогенаті тканини легень – на 21,6 % (p<0,05).

Токсичні ефекти тютюнокуріння вивчаються давно, при цьому особливої уваги заслуговує окси-

дативний вплив [16]. Тютюновий дим сам по собі є джерелом вільних радикалів. При його вдиханні приблизно 10<sup>17</sup> молекул оксидантів надходить в організм [17]. Крім активних форм оксигену, тютюновий дим – це також багате джерело NO та інших активних форм нітрогену, які сприяють реакціям окиснення та модифікують макромолекули. Токсичний ефект NO, пов'язаний як з прямою дією на залізо-вмісні ферменти клітини, так і з утворенням сильного окислювача, дуже реакційного і токсичного вільнорадикального з'єднання пероксинітриа (ONOO<sup>-</sup>), який утворюється при взаємодії NO з супероксидним аніон-радикалом. Токсичний ефект ONOO<sup>-</sup> проявляється, перш за все, в інгібуванні мітохондріальних ферментів, що призводить до дисфункції мітохондрій, зниження продукції АТФ [18,19]. Крім того, він індукує пошкодження ДНК і мутації, пригнічує активність ферментів, які беруть участь в реплікації ДНК, і може безпосередньо ушкоджувати ДНК, що є однією із причин апоптозу.

За умови «пасивного тютюнокуріння» нами встановлено виражене зростання вмісту метаболітів нітроген (II) оксиду як у сироватці крові, так і у гомогенаті тканини легень тварин. У щурів-самців даний показник достовірно збільшився у 1,6 та 2,2 раза відповідно, а у щурів-самок – у 2,0 та 2,4 раза відповідно. Загальна активність NO-синтази у гомогенаті тканини легень при цьому збільшилася на 39,1 % (p<0,01) у самців та на 50,6 % (p<0,001) у самок.

Отримані результати співзвучні із даними інших дослідників [20,21], які встановили вищий рівень NO у самок. Ймовірно естрогени не лише стимулюють продукцію нітроген (II) оксиду, але й також знижують його інактивацію активними формами оксигену.

А. Ghasemi та співавтори досліджували вміст NO<sub>x</sub> за методом Гріса у сироватці крові 333-х дорослих чоловіків, що не хворіли на цукровий діабет, артеріальну гіпертензію та серцево-судинні захворювання [22]. Дослідники встановили достовірне підвищення вмісту NO<sub>x</sub> у активних курців. При цьому виявлений

Таблиця 2.

**Активність NO-синтази (NOS) і вміст метаболітів нітроген (II) оксиду (NO<sub>x</sub>) у статевонезрілих щурів за умови «пасивного тютюнокуріння» на тлі тривалого введення глутамату натрію (M± m, n=8)**

Показник	Група тварин			
	Контроль	Тютюнокуріння	Глутамат натрію	Тютюнокуріння + Глутамат натрію
Щури-самці				
Сироватка крові				
NO <sub>x</sub> , мкмоль/л	22,53±1,58	18,08±0,85 p <sub>1</sub> <0,05	48,54±3,18 p <sub>1</sub> <0,001	23,98±1,34 p <sub>1</sub> >0,05 p <sub>2</sub> <0,001
Гомогенат легень				
NO <sub>x</sub> , мкмоль/кг	29,79±2,23	21,18±1,36 p <sub>1</sub> <0,02	71,93±2,91 p <sub>1</sub> <0,001	33,54±2,62 p <sub>1</sub> >0,05 p <sub>2</sub> <0,01
NOS, нмоль/(хв·мг білка)	0,61±0,03	0,47±0,05 p <sub>1</sub> <0,05	0,89±0,05 p <sub>1</sub> <0,002	0,63±0,04 p <sub>1</sub> >0,05 p <sub>2</sub> <0,05
Щури-самки				
Сироватка крові				
NO <sub>x</sub> , мкмоль/л	23,65±1,35	16,41±0,64 p <sub>1</sub> <0,002	47,11±2,81 p <sub>1</sub> <0,001	28,54±1,44 p <sub>1</sub> <0,05 p <sub>2</sub> <0,001
Гомогенат легень				
NO <sub>x</sub> , мкмоль/кг	34,88±2,49	20,35±1,31 p <sub>1</sub> <0,001	91,24±4,34 p <sub>1</sub> <0,001	42,01±3,79 p <sub>1</sub> >0,05 p <sub>2</sub> <0,001
NOS, нмоль/(хв·мг білка)	0,69±0,05	0,46±0,03 p <sub>1</sub> <0,01	0,96±0,06 p <sub>1</sub> <0,01	0,82±0,05 p <sub>1</sub> >0,05 p <sub>2</sub> <0,001

**Примітки:**

1. p<sub>1</sub> – вірогідність відмінностей між контрольною групою і експериментальними групами;
2. p<sub>2</sub> – вірогідність відмінностей між групою з тютюнокурінням і групою з тютюнокурінням на тлі введення глутамату натрію.

позитивний кореляційний зв'язок між вмістом нітроген (II) оксиду у сироватці крові і кількістю цигарок, що викурюються за день (r=0.222, p<0.05).

О. Е. Викоуе та співавтори спостерігали підвищення вмісту метаболітів нітроген (II) оксиду у крові щурів, що піддавалися «пасивному тютюнокурінню» [23].

Інтенсифікацію нітродергічних процесів було виявлено у паренхімі легень щурів, що піддавалися «пасивному тютюнокурінню» [24].

В той же час інші науковці стверджують про зниження продукції NO та експресії NOS за умови тютюнокуріння [25]. Н. Vieira van Keulen та співавтори виявили зменшення вмісту метаболітів нітроген (II) оксиду у крові жінок-курців із підвищеним індексом маси тіла [26].

Крім того, є дані, що пасивне тютюнокуріння не впливає на продукцію NO та експресію NOS [27].

За умови тривалого введення глутамату натрію нами встановлено більш виражене зростання вмісту NO<sub>x</sub> як у сироватці крові, так і у гомогенаті тканини легень у щурів-самців (у 2,3 та 2,7 раза відповідно). У щурів-самок також спостерігалась активація NOS та підвищення вмісту NO<sub>x</sub> відносно контрольної групи, проте зміни були дещо менш вираженими, ніж за умови «пасивного тютюнокуріння».

NO синтезується в організмі, головним чином, з участю ферменту синтази оксиду азоту (NOS) за наявності NADPH, FAD, FMN, тетрагідробіоптерину, кальмодуліну, кисню та іонів Ca<sup>2+</sup>. Розрізняють три типи (ізоформи) ферменту, які зазвичай позначають як тип 1 – нейрональна (nNOS), тип 2 – макрофагальна (iNOS, або mNOS) і тип 3 – ендотеліальна (eNOS). Нейрональна та ендотеліальна ізоформи належать до конститутивних, оскільки вони експресуються в клітині постійно, тоді як макрофагальна є індукційною [28]. Збільшення продукції NO відбувається пропорційно надходженню в цитоплазму іонів Ca<sup>2+</sup>. Факторами стимулюючими входження кальцію в клітину і тим самим підвищують кальцій-залежну активність фермента NOS серед інших біологічно активних речовин є і глутамат, що ймовірно пояснює підвищення активності NO-синтази і вмісту NO<sub>x</sub> у щурів за умови тривалого введення глутамату натрію.

У тварин, яким моделювали «пасивне тютюнокуріння» і вводили глутамат натрію встановлено достовірне зростання вмісту метаболітів нітроген (II) оксиду як у сироватці крові, так і у гомогенаті тканини легень. У щурів-самців даний показник достовірно збільшився у 1,7 та 2,1 раза відповідно, а у щурів-самок – у 2,3 та 2,5 раза відповідно. Загальна активність NO-синтази у гомогенаті тканин легень при цьому збільшилася на 24,6 % (p<0,02) у самців та на 69,1 % (p<0,001) у самок.

При порівнянні вмісту NO<sub>x</sub> та активності NOS у тварин за умови «пасивного тютюнокуріння» та у щурів, яким моделювали «пасивне тютюнокуріння» і вводили глутамат натрію встановлено достовірні відмінності лише у сироватці крові щурів-самок.

При порівнянні вмісту NO<sub>x</sub> у сироватці крові та гомогенаті легень статевонезрілих самок та самців контрольних груп достовірних відмінностей не встановлено (табл. 2). За умови «пасивного тютюнокуріння» у статевонезрілих тварин встановлено достовірне зменшення вмісту метаболітів нітроген (II) оксиду як у сироватці крові, так і у гомогенаті тканини легень відносно показників контрольної групи. У щурів-самців даний показник зменшився на 19,7 та 28,9 % відповідно, а у щурів-самок – на 30,6 та 41,6 % відповідно. Загальна активність NO-синтази у гомо-

генаті тканин легень при цьому зменшилася на 22,9 % ( $p < 0,05$ ) у самців та на 33,3 % ( $p < 0,01$ ) у самок.

Зниження вмісту  $NO_x$  у статевонезрілих тварин за умови «пасивного тютюнокуріння» ймовірно свідчить про виснаження адаптаційних механізмів регуляції утворення нітроген (II) оксиду та ендотеліальну дисфункцію. R. Carnevale та співавтори [29] дослідили активність НАДФН-оксидази (NOX) у 20 курців та 20 осіб, що не курять. Дослідники виявили підвищену активність NOX2 у курців, активація якої пов'язана з розвитком ендотеліальної дисфункції. Ці дані дозволяють припустити, що тютюнокуріння може впливати на функцію ендотелію через активацію NOX2, що, у свою чергу, викликає оксидативний стрес, запалення та зниження вмісту NO. Kopiog A. та співавтори також виявили негайне зниження біодоступності нітроген (II) оксиду після вихарювання однієї цигарки [30].

Потужними факторами, що інактивують NO, є вільні радикали, серед яких – супероксидний радикал, який взаємодіючи з NO призводить до утворення пероксинітриду. Підвищення продукції активних форм кисню сприяє окисненню тетрагідробіоптерину, що також зумовлює зниження утворення NO. Крім того, пригнічується фермент диметиларгіниндиметиламіногідролаза, в результаті чого підвищується рівень асиметричного диметиларгінину. Асиметричні метиларгініни є ендогенними аналогами аргініну, і включають NG-монометил-L-аргінін (L-NMMA) і NG-диметил-L-аргінін (ADMA). Було встановлено, що ці аналоги гальмують активність NOS, ймовірно, за механізмом конкурентного антагонізму в ділянці зв'язування для L-аргінину [31].

За умови тривалого введення глутамату натрію статевонезрілим тваринам встановлено виражене зростання вмісту  $NO_x$  як у сироватці крові, так і у гомогенаті тканини легень у щурів-самців (у 2,1 та 2,4

раза відповідно) та щурів-самок (у 2,0 та 2,6 раза відповідно) відносно контрольної групи. Загальна активність NO-синтази у гомогенаті тканин легень при цьому збільшилася на 45,9 % ( $p < 0,002$ ) у самців та на 39,1 % ( $p < 0,01$ ) у самок.

У статевонезрілих щурів, яким моделювали «пасивне тютюнокуріння» і вводили глутамат натрію не встановлено достовірних змін показників системи нітроген (II) оксиду як у сироватці крові, так і у гомогенаті тканини легень відносно контрольної групи.

### Висновки

1. У статевозрілих щурів за умови «пасивного тютюнокуріння» спостерігається інтенсифікація нітродергічних процесів як у гомогенаті тканин легень, так і у сироватці крові, що може свідчити про компенсаторне посилення синтезу нітроген (II) оксиду. При статевому співставленні змін показників виявлено їх достовірне переважання у щурів-самок. За умови «пасивного тютюнокуріння» на тлі введення глутамату натрію спостерігається інтенсифікація нітродергічних процесів, проте зміни не були більш вираженими, ніж за «пасивного тютюнокуріння».

2. У статевонезрілих щурів обох статей за умови «пасивного тютюнокуріння» встановлено зниження нітродергічних процесів як у гомогенаті тканин легень, так і у сироватці крові, що може свідчити про виснаження адаптаційних механізмів регуляції утворення нітроген (II) оксиду та ендотеліальну дисфункцію. За умови «пасивного тютюнокуріння» на тлі введення глутамату натрію встановлено інтенсифікацію нітродергічних процесів.

**Перспективи подальших досліджень.** Результати досліджень можуть бути використані для подальшого вивчення стану системи нітроген (II) оксиду у щурів за умови «пасивного тютюнокуріння» на тлі тривалого введення глутамату натрію у статевому та віковому аспектах.

### Література

1. Xu X. Annual Healthcare Spending Attributable to Cigarette Smoking. *American Journal of Preventive Medicine*. 2015;48(3):326-33.
2. Martell BN. Disparities in Adult Cigarette Smoking – United States, 2002-2005 and 2010-2013. *Morbidity and Mortality Weekly Report*. 2016;65:753-58.
3. Kontrol nad tiutunom v Ukraini. Druhyy Natsionalnyy zvit. K.: MOZ Ukrainy, DU «Ukrainskyi instytut stratehichnykh doslidzhen MOZ Ukrainy»; 2014. 128 s. [in Ukrainian].
4. Solomenchuk TM. Metabolichni porushennia u zhinok, khvorykh na nestabilnu stenokardiiu, zalezno vid zvychy kurinnia. *Bukovynskyy medychnyy visnyk*. 2017;21;2(1):85-8. [in Ukrainian].
5. Peirson L. Interventions for prevention and treatment of tobacco smoking in school-aged children and adolescents: A systematic review and meta-analysis. *Preventive Medicine*. 2016;85:20-31.
6. Preeti S. A Study on Prevalence of Tobacco Use among Children: A Literature Review. *Journal of Alcoholism and Drug Dependence*. 2015;3-1.
7. Beltiukova SV. Opredelenie glutamata natriia metodom tonkosloinoi khromatografii s liuminestcentnym detektirovaniem. *Visnik ONU. Khimii*. 2016;21;1(57):50-8. [in Russian].
8. Goncharenko MV. Vliianie glutamata natriia na razvitie mikroflory i biokhimeskie svoistva solenoj seldi. *Vestnik AGTU. Ser.: Rybnoe khoziaistvo*. 2011;2:143-7. [in Russian].
9. Netiukhailo LH, Kharchenko SV. Aktyvni formy kysniu (ohliad literatury). *Molodyi vchenyi*. 2014;9:131-5. [in Ukrainian].
10. Soloveva AG, Kuznetcova VL, Peretiagin SP, Didenko NV, Dudar AI. Rol oksida azota v protsessakh svobodnoradikalnogo okisleniia. *Vestnik Rossiiskoi voenno-meditsinskoi akademii*. 2016;1(53):228-33. [in Russian].
11. Solomina AS. Vliianie afobazola na geneticheskuiu i reproduktivnuiu toksichnost tabachnogo dyma u kryss [avtoreferat]. M.; 2011. 278 s. [in Russian].
12. Lizurchik LV, Sheida EV. Vliianie tabachnogo dyma na sodержanie toksichnykh elementov v organizme kryss. *Vestn. OGU*. 2014;6(167):71-4. [in Russian].
13. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes: Council of Europe. Strasbourg. 1986;123:52.
14. Stuehr D, Kwon NS, Nathan C, Griffiths O.  $N^{\omega}$ -Hydroxy-L-arginine is an intermediate in the biosynthesis of nitric oxide from L-arginine. *Journal of Biological Chemistry*. 1991;266:6259-63.

15. Ridnour L, Sim JE, Hayward M, Wink DA, Martin SM, Buettner GR, et al. A spectrophotometric method for the direct detection and quantitation of nitric oxide, nitrite, and nitrate in cell culture media. *Analytical Biochemistry*. 2000;281(2):223-9.
16. Pishak VP, Krivchanskaia MI, Gromik OA. Nikotinizavisimiy oksidativniy stress i rol melatonina. *Ukraynskii zhurnal klinichnoy ta laboratornoy meditsini*. 2013;8;4:17-9. [in Russian].
17. Yanbaeva DG, Dentener MA, Creutzberg EC, Wesseling G, Wouters EF. Systemic effects of smoking. *Chest*. 2007;131(5):1557-66.
18. Pozhilova EV, Novikov VE. Sintaza oksida azota i endogeni oksid azota v fiziologii i patologii kletki. *Vestnik Smolenskoï gosudarstvennoï meditsinskoï akademii*. 2015;14;4:35-41. [in Russian].
19. Omar SA, Webb AG. Nitrite reduction and cardiovascular protection. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*. 2014;73:57-69.
20. Karimov Khla, Inoiatova Fkh, Shukurov RA. Polovye razlichia v razvitii tkanevogo vospaleniia i ikh sviaz s urovnem oksida azota pri dlitelnom vozdeistvii tabachnogo dyma. *Uspekhi sovremennoï estestvoznaniia*. 2006;1:22-5. [in Russian].
21. Wang X, Desai K, Juurlink BhJ, Champlain J, Wu L. Gender-related differences in advanced glycation endproducts, oxidative stress markers and nitric oxide synthases in rats. *Kidney International*. 2006;69:281-7.
22. Ghasemi A, Syedmoradi L, Momenan A, Zahediasl S, Azizi F. The influence of cigarette and qalyan (hookah) smoking on serum nitric oxide metabolite concentration. *Scand. J. of Clin. and Labor. Investig.* 2010;70:116-21.
23. Oyewo EB, Afolabi OK, Akanji MA. Sub-chronic passive cigarette smoke exposures suppressed phagocytic functions and precipitated inflammatory responses in male Wistar rats. *Acad. J. Biotechnol.* 2017;5(4):057-72.
24. Wright JL, Dai J, Zay K, Price K, Gilks CB, Churg A. Effects of cigarette smoke on nitric oxide synthase expression in the rat lung. *Lab Invest*. 1999;79:975-83.
25. Hoyt JC, Robbins RA, Habib M, Springall DR, Buttery LD, Polak JM, et al. Cigarette smoke decreases inducible nitric oxide synthase in lung epithelial cells. *Expl. Lung Res*. 2003;29(1):17-28.
26. Vieira van Keulen H, Silva Gomes A, Mayla Cardoso Fernandes Toffolo, Erick Esteves Oliveira, Luan Cristian da Silva, Sheila Cristina Potente Dutra Luquetti, et al. Serum concentration of nitric oxide in women smokers and nonsmokers with overweight. *Nutr Hosp*. 2015;32(4):1493-9.
27. Dinakar C, Lapuente M, Barnes C, Garg U. Real-life environmental tobacco exposure does not affect exhaled nitric oxide levels in asthmatic children. *J Asthma*. 2005;42:113-8.
28. Oleshchuk OM, Chornomydz AV. Znachennia systemy oksydu azotu u funktsionuvanni shlunka v normi ta pry patolohii. *Medychna ta klinichna khimiia*. 2016;18;2:84-95. [in Ukrainian].
29. Carnevale R, Sciarretta S, Violi F, Nocella C, Loffredo L, Perri L, et al. Acute Impact of Tobacco vs Electronic Cigarette Smoking on Oxidative Stress and Vascular Function. *CHEST*. 2016;150(3):606-12.
30. Konior A, Schramm A, Czesnikiewicz Guzik M, Guzik TJ. NADPH oxidases in vascular pathology. *Antioxid. Redox. Signal*. 2014;20(17):2794-814.
31. Liu J, Wang J, Sim A, Mohan N, Chow S, Yates D, et al. Regulation of Nitric Oxide by Cigarette Smoke in Airway Cells. *Open Journal of Respiratory Diseases*. 2012;2;1:9-16.

### СТАН СИСТЕМИ НІТРОГЕН (II) ОКСИДУ У ЩУРІВ ЗА УМОВИ «ПАСИВНОГО ТЮТЮНОКУРІННЯ» НА ТЛІ ТРИВАЛОГО ВВЕДЕННЯ ГЛУТАМАТУ НАТРІЮ У СТАТЕВОМУ ТА ВІКОВОМУ АСПЕКТАХ

Руцька А. В., Криницька І. Я.

**Резюме.** Метою нашого дослідження було дослідити функціональний стан системи нітроген (II) оксиду у щурів за умови «пасивного тютюнокуріння» на тлі тривалого введення глютаму натрію у статевому та віковому аспектах. Дослідження проведено на 128 безпородних білих щурах, яких було поділено на такі групи: I – контроль; II – щури, яким моделювали «пасивне тютюнокуріння»; III – щури, яким вводили глютаму натрію; IV – щури, яким моделювали «пасивне тютюнокуріння» на тлі введення глютаму натрію. Результати наших досліджень показали, що у статевозрілих щурів за умови «пасивного тютюнокуріння» спостерігається інтенсифікація нітросидергічних процесів як у гомогенаті тканин легень, так і у сироватці крові, що може свідчити про компенсаторне посилення синтезу нітроген (II) оксиду. При статевому співставленні змін показників виявлено їх достовірне переважання у щурів-самок. За умови «пасивного тютюнокуріння» на тлі введення глютаму натрію спостерігалася інтенсифікація нітросидергічних процесів, проте зміни не були більш вираженими, ніж за «пасивного тютюнокуріння». У статевозрілих щурів обох статей за умови «пасивного тютюнокуріння» встановлено зниження нітросидергічних процесів як у гомогенаті тканин легень, так і у сироватці крові, що може свідчити про виснаження адаптаційних механізмів регуляції утворення нітроген (II) оксиду та ендотеліальну дисфункцію. За умови «пасивного тютюнокуріння» на тлі введення глютаму натрію встановлено інтенсифікацію нітросидергічних процесів.

**Ключові слова:** «пасивне тютюнокуріння», глютаму натрію, нітроген (II) оксид.

### СОСТОЯНИЕ СИСТЕМЫ НИТРОГЕНА (II) ОКСИДА У КРЫС ПРИ «ПАССИВНОМ ТАБАКОКУРЕНИИ» НА ФОНЕ ДЛИТЕЛЬНОГО ВВЕДЕНИЯ ГЛУТАМАТА НАТРИЯ В ПОЛОВОМ И ВОЗРАСТНОМ АСПЕКТАХ

Руцкая А. В., Криницкая И. Я.

**Резюме.** Целью нашего исследования было исследовать функциональное состояние системы нитрогена (II) оксида у крыс при «пассивном курении» на фоне длительного введения глютамата натрия в половом и возрастном аспектах. Исследование проведено на 128 беспородных белых крысах, которые были разделены на следующие группы: I – контроль; II – крысы, которым моделировали «пассивное курение»; III – крысы, которым вводили глютаму натрия, IV – крысы, которым моделировали «пассивное курение» на фоне введения глютамата натрия. Результаты наших исследований показали, что у половозрелых крыс при «пассивном курении» наблюдается интенсификация нитросидергических процессов как в гомогенате тканей легких, так и в сыворотке крови, что может свидетельствовать о компенсаторном усилении синтеза нитроген (II) оксида. При половом сопоставлении изменений показателей установлено их достоверное преобладание у крыс-самок. При «пассивном курении» на фоне введения глютамата натрия наблюдалась

интенсификация нитроксидаэргических процессов, однако изменения не были более выраженными, чем в условиях «пассивного курения». У неполовозрелых крыс в условиях «пассивного курения» установлено снижение нитроксидаэргических процессов как в гомогенате тканей легких, так и в сыворотке крови, что может свидетельствовать о истощении адаптационных механизмов регуляции образования азота (II) оксида и эндотелиальной дисфункции. При «пассивном курении» на фоне введения глутамата натрия установлено интенсификацию нитроксидаэргических процессов.

**Ключевые слова:** «пассивное курение», глутамат натрия, азот (II) оксид.

### THE STATE OF NITROGEN (II) OXIDE SYSTEM IN RATS WITH MODELED «PASSIVE TOBACCO SMOKING» COMBINED WITH PROLONGED ADMINISTRATION OF MONOSODIUM GLUTAMATE IN THE SEX AND AGE ASPECTS

Rutska A. V., Krynytska I. Y.

**Abstract.** *Research purpose.* To investigate the functional state of the nitrogen (II) oxide system in rats in case of «passive tobacco smoking» combined with prolonged administration of monosodium glutamate in the sex and age aspects.

*Object and research methods.* Experiments were performed on 128 white mature and immature rats of both sexes, which were kept on a standard vivarium diet.

Each group of animals was divided into four subgroups: I – control (n = 8); II – rats with modeled «passive tobacco smoking» (n = 8); III – rats, which were injected with monosodium glutamate (n = 8); IV – rats with modeled «passive tobacco smoking» combined with the monosodium glutamate injection (n = 8).

The total activity of NO-synthase (NOS) in lung tissue was determined colorimetrically by the number of formed nitrates and nitrites in the incubation medium. The number of formed nitrates and nitrites (NO<sub>x</sub>) in blood serum and lung tissue was determined by the Griess method.

*Research results and their discussion.* In case of «passive tobacco smoking», we have established a marked increase in the content of NO<sub>x</sub> in both serum and in the lung tissue homogenate of mature animals of both sexes. The total activity of NOS has increased by 39.1% (p<0.01) in males and by 50.6% (p<0.001) in females.

After prolonged administration of monosodium glutamate, we have established a more pronounced increase in the NO<sub>x</sub> content of both serum and lung tissue in male rats (2.3 and 2.7 times respectively). Female rats also showed NOS activation and increased of NO<sub>x</sub> content vs control group, but the changes were less pronounced compared with indices of “passive tobacco smoking” animals.

In animals with modeled «passive tobacco smoking» combined with the monosodium glutamate injection, a significant increase in the content of NO<sub>x</sub> in both serum and in the lung tissue homogenate was established. The total activity of NOS synthase has increased by 24.6% (p <0.02) in males and by 69.1% (p<0.001) in females.

In case of «passive tobacco smoking», we have established a significant decrease in the content of NO<sub>x</sub> in both serum and in the lung tissue homogenate of immature animals of both sexes vs control group. The total activity of NOS has decreased by 22.9% (p<0.05) in males and by 33.3% (p<0.01) in females.

After prolonged administration of monosodium glutamate to immature rats, we have established a pronounced increase in NO<sub>x</sub> content in both serum and in the homogenate of lung tissues in males (2.1 and 2.4 times respectively) and females (2.0 and 2.6 times, respectively) compared to the control group. The total activity of NO synthase in the lung tissue homogenate increased by 45.9% (p <0.002) in males and by 39.1% (p <0.01) in females.

In immature rats with modeled «passive tobacco smoking» combined with the monosodium glutamate injection, no significant changes in the nitrogen (II) oxide system in both serum and in the lung tissue homogenate vs the control group were established.

*Conclusions.* An intensification of nitroxydergic processes in both the lung tissue homogenate and blood serum of the both sexes mature rats with modeled «passive tobacco smoking» has been established, which may indicate a compensatory enhancement of nitrogen (II) oxide synthesis. In the sexual comparison of changes in NO-system, their reliable prevalence in female-rats was revealed. In case of «passive tobacco smoking» combined with the introduction of monosodium glutamate, an intensification of nitroxydergic processes was also observed, but the changes were not more pronounced than in case of «passive tobacco smoking».

In immature rats of both sexes, in case of «passive tobacco smoking», reduction of nitroxydergic processes was observed both in the lung tissue homogenate and serum, which may indicate the depletion of adaptive mechanisms of regulation of the nitrogen (II) oxide formation and endothelial dysfunction. In case of «passive tobacco smoking» combined with the monosodium glutamate injection an intensification of nitroxydergic processes has been established.

**Key words:** tobacco smoke, sodium glutamate, nitrogen (II) oxide.

Рецензент – проф. Міщенко І. В.

Стаття надійшла 28.03.2018 року