

Magdalena CHEŁCHOWSKA¹
 Tomasz MACIEJEWSKI²
 Jadwiga AMBROSZKIEWICZ¹
 Joanna GAJEWSKA¹
 Renata ŁĘCKA²
 Teresa LASKOWSKA-KLITA¹
 Mariusz OŁTARZEWSKI¹

Wpływ palenia tytoniu na stężenia tlenu azotu w surowicy krwi kobiet ciężarnych i krwi pępowinowej

The effect of tobacco smoking on nitric oxide serum concentration in pregnant women and umbilical cord blood

¹Zakład Badań Przesiewowych,
 Instytut Matki i Dziecka w Warszawie
 Kierownik: Dr nauk biol. *Mariusz Ołtarzewski*

²Klinika Położnictwa i Ginekologii,
 Instytut Matki i Dziecka w Warszawie
 Kierownik: Dr nauk med. *Tomasz Maciejewski*

Dodatkowe słowa kluczowe:

tlenu azotu
 palenie tytoniu
 ciąża
 krew pępowinowa
 mała masa urodzeniowa

Additional key words:

nitric oxide
 tobacco smoking
 pregnancy
 umbilical cord blood
 reduced birth weight

Celem pracy była ocena wpływu palenia tytoniu na stężenia tlenu azotu (nitric oxide NO) we krwi kobiet ciężarnych i krwi pępowinowej oraz na masę urodzeniową dziecka. Badano również powiązania pomiędzy poziomem NO a ilością papierosów wypalanych dziennie przez matkę. Badaniami objęto 40 zdrowych kobiet ciężarnych, będących pod opieką Poradni Ginekologiczno-Położniczej Instytutu Matki i Dziecka. Na podstawie badań ankietowych kobiety podzielono na dwie grupy: grupę kobiet palących tytoń w przebiegu ciąży i grupę abstynentek tytoniowych. W grupie kobiet palących znalazły się pacjentki deklarujące palenie papierosów w liczbie co najmniej 5 sztuk/dobę przez okres co najmniej 2 lat w okresie przedkoncepcyjnym, kontynuujące palenie w przebiegu ciąży. Stężenie tlenu azotu w surowicy krwi oznaczano metodą kolorymetryczną przy użyciu gotowych zestawów Nitric Oxide Non-Enzymatic Assay (Oxis International Inc, USA). Wykazano, że w grupie abstynentek tytoniowych stężenia tlenu azotu w surowicy nie różniły się w I trymestrze od tych obserwowanych w końcowym okresie ciąży. W grupie kobiet palących wartości te spadały wraz z wiekiem ciąży i były niższe o 10% w I i 20% w III trymestrze ($p < 0.01$) niż w grupie abstynentek tytoniowych. We krwi pępowinowej noworodków matek palących poziom tlenu azotu był nieznacznie niższy niż obserwowany w grupie dzieci abstynentek tytoniowych. W obu badanych grupach średnie stężenia tlenu azotu w surowicy krwi pępowinowej były wyższe niż obserwowane u matek w III trymestrze ciąży (u palących 46% i u niepalących o 17% odpowiednio; $p < 0.01$). W grupie abstynentek tytoniowych stwierdzono ścisłą zależność pomiędzy poziomem tlenu azotu we krwi matki i krwi pępowinowej dziecka ($r = 0.74$; $p < 0.01$). Analizując powiązania pomiędzy ilością wypalanych papierosów a stężeniem NO w surowicy krwi stwierdzono korelację ujemną, zarówno w gru-

The aim of the study was to estimate the effect of tobacco smoking on serum nitric oxide (NO) concentration in pregnant women and umbilical cord blood and birth weight. We also examined the relation between serum NO and number of cigarettes consumed by mother. Forty healthy pregnant women patients of Clinical Department of Obstetrics and Gynecology, Institute of Mother and Child were divided into two groups: smoking and tobacco abstinent according to questionnaire declaration. The current smokers were defined as those who had smoked 5 cigarettes per day for 2 years before conception and continued smoking during pregnancy. Serum concentrations of nitric oxide were determined by colorimetric method using a commercially available kit Nitric Oxide Non-Enzymatic Assay (Oxis International Inc, USA). We observed that the mean concentrations of nitric oxide in serum were similar on the beginning and the end of pregnancy. In group of smoking women these values decreased during pregnancy and were lower 10% in I and 20% in III trimester ($p < 0.01$) than in tobacco abstinent. In umbilical cord blood of infants born to smoking women level of nitric oxide was slightly lower than in non-smoking ones. In both studied groups the mean concentrations of nitric oxide in umbilical cord blood were higher than these observed in mothers in third trimester (in smoking 46% and in non-smoking 17% respectively; $p < 0.01$). In smoking group we observed positive correlation between concentrations of NO in serum of mothers and cord blood of their newborns ($r = 0.74$; $p < 0.01$). Our analysis revealed negative correlation between number of cigarettes consumed and serum nitric oxide in smoking women ($r = -0.52$ in I trimester and $r = -0.47$; $p < 0.05$ in III trimester) as well as in their children ($r = -0.35$; $p < 0.05$). Birth weight in infants born of smoking mothers was lower in average by 260 g as compared with

Adres do korespondencji:
 Magdalena Chełchowska
 Zakład Badań Przesiewowych
 Pracownia Biochemii
 Instytut Matki i Dziecka
 01-211 Warszawa, ul. Kasprzaka 17A
 Tel. (+22) 327 72 60; Fax. (+22) 327 72 60
 e-mail: mchelchowska@yahoo.com

pie kobiet ciężarnych palących ($r=-0.52$ w I trymestrze i $r=-0.47$; $p<0.05$ w III trymestrze) jak i u ich dzieci ($r=-0.35$; $p<0.05$). Masa urodzeniowa w grupie ciężarnych palących była średnio o 260 gramów niższa niż obserwowana w grupie abstynentek tytoniowych ($p<0.05$). Uzyskane wyniki wskazują, że palenie tytoniu przez kobiety ciężarne redukuje stężenia tlenu azotu zarówno w surowicy krwi matki jak i we krwi pępowinowej, a jego poziom jest zależny od ilości wypalanych dziennie papierosów. U kobiet palących niższe stężenia NO współistnieją z mniejszą niż w grupie abstynentek tytoniowych masą urodzeniową noworodka, co może sugerować istnienie powiązań pomiędzy tymi parametrami. Przedstawiane wyniki mają charakter pilotażowy, natomiast potwierdzenie tej zależności będzie analizowane w większej grupie pacjentek i ich dzieci.

Wstęp

Powszechnie wiadomo, że obie fazy dymu tytoniowego są źródłem wolnych rodników. Mogą one wpływać na ciśnienie krwi, powodując zarówno rozszerzenie naczyń krwionośnych (efekt wazodylacyjny), jak i ich kurczenie (efekt wazokonstrykcyjny). Nadtlenek wodoru i rodnik hydroksylowy rozszerzają naczynia, działając bezpośrednio na mięśnie gładkie naczyń, jak też pośrednio stymulując syntezę bądź uwalnianie tlenu azotu (NO, *nitric oxide*), czyli śródbłonkowego czynnika relaksującego (*endothelial-derived relaxing factor* – EDRF). Anionorodnik ponadtlenkowy wykazuje efekt wazokonstrykcyjny, inaktywując tlenek azotu [12]. Istnieje hipoteza, zakładająca że szkodliwe działanie dymu tytoniowego może być rezultatem nagromadzenia oksydacyjnych uszkodzeń komórek śródbłonka. Komórki te w sposób ciągły syntezują tlenek azotu z L-argininy przy udziale syntazy tlenu azotu (NOS *nitric oxide synthase*) z uwolnieniem L-cytruliny. Dotychczas poznano co najmniej trzy izoformy tego enzymu: mózgową (bNOS), endotelialną (eNOS) i indukowalną (iNOS). Forma endotelialna (eNOS) jest wytwarzana w naczyniach konstytutywnie, stale obecna w komórkach, a aktywność jej uzależniona jest od stężenia jonów wapnia i kalmoduliny w komórce śródbłonka. Forma indukowalna (iNOS) normalnie nie występuje w komórkach, ale może być indukowana przez cytokiny i bakteryjne endotoksyny szczególnie w komórkach mięśni gładkich, makrofagach i niektórych innych tkankach.

Tlenek azotu pełni zasadniczą rolę w utrzymaniu prawidłowego napięcia i reaktywności naczyń. Jest on wydzielany w sposób ciągły i powoduje osłabienie napięcia skurczowego naczyń tętniczych, przez co zapewnia odpowiedni do zapotrzebowania przepływ tkankowy krwi. Przeciwdziała czynnikiem silnie zwężającym naczyń, takim jak endotelina -1 oraz angiotensyna II, a ponadto hamuje adhezję, aktywację i agregację płytek poprzez zmniejszenie produkcji czynnika aktywującego płytki przez śródbłonek [16,23]. Wykazuje ochronny wpływ w odniesieniu do ściany naczyniowej poprzez zapobieganie utlenianiu lipidów i inaktywację wolnych rodników tlenowych. Tlenek azotu uczestniczy w regulacji naczyniowego oporu w krążeniu płodowo-łożysko-

non-smoking ones ($p<0.05$). Our results indicate that tobacco smoking during pregnancy reduced serum nitric oxide concentrations in mothers and their children and correlated with number of cigarettes daily consumed. In smoking women lower concentrations of NO co-exist with smaller birth weight than in tobacco abstinent which may suggest correlation between these parameters. Further studies will be continued in larger group of matched maternal-cord pairs to confirm of this association.

wym jak i maciczno-łożyskowym [15,27]. Przyпуска się, że niedobór tlenu azotu może być powiązany z opóźnieniem rozwoju wewnątrzmacicznego (*intrauterine growth retardation* – IUGR) płodu i niską masą urodzeniową [1,22]. Wykazano, że u kobiet z ciążą powikłaną IUGR ekspresja eNOS w naczyniach pępowinowych i kosmkach łożyskowych jest niższa w porównaniu z ciążą fizjologiczną. Jednocześnie stwierdzono u tych ciężarnych podwyższone osoczowe stężenia asymetrycznej dimetylargininy (ADMA), która jest inhibitorem syntazy tlenu azotu [22].

Powszechnie wiadomo, że palenie tytoniu upośledza zarówno krążenie matczyne jak i płodowe prowadząc między innymi do takich powikłań jak opóźnienie rozwoju wewnątrzmacicznego płodu i niska masa urodzeniowa dziecka (przeważnie określana jako masa ciała mniejsza niż 2500 g), które są ważnymi czynnikami ryzyka zachorowalności i umieralności okołoporodowej. Istnieje hipoteza zakładająca, że u kobiet palących tytoń opóźniony wzrost płodu może być wynikiem hamowania zdolności rozszerzania naczyń zarówno w krążeniu matczym jak i płodowym na skutek zmniejszonej syntezy tlenu azotu. W krwi pępowinowej dzieci kobiet palących tytoń w przebiegu ciąży stwierdzono zmniejszone ilości L-argininy i L-cytruliny w porównaniu z wynikami uzyskanymi w grupie dzieci abstynentek tytoniowych [25].

Dane literaturowe określające wpływ palenia tytoniu na stężenia tlenu azotu nie są jednoznaczne. Retterstol i wsp. [21] oraz Ozeroll i wsp. [19] stwierdzili niższe poziomy tego związku u palaczy w porównaniu z abstynentami tytoniowymi, podczas gdy Chambers i wsp. [5] oraz Pach i wsp. [20] wykazali jego podwyższone stężenie u osób palących. Stwierdzono również, że powiązania pomiędzy ekspozycją na dym tytoniowy a wydychanym tlenkiem azotu są zależne od dawki i czasu ekspozycji.

Celem pracy była ocena wpływu palenia tytoniu na stężenia tlenu azotu we krwi kobiet ciężarnych i krwi pępowinowej oraz masę urodzeniową dziecka. Badano również powiązania pomiędzy poziomem NO a ilością papierosów wypalanych dziennie przez matkę.

Material i metody

Badaniami objęto 40 kobiet ciężarnych, będących

pod opieką Poradni Ginekologiczno-Położniczej Instytutu Matki i Dziecka. Przed zakwalifikowaniem do udziału w badaniach określano wiek ciąży na podstawie reguły Naegele'go oraz badaniem ultrasonograficznym płodu. Badanie USG potwierdzało też brak u dziecka wad wrodzonych oraz innych nieprawidłowości rozwojowych. Do grup włączono jedynie kobiety z pojedynczą ciążą fizjologiczną, u których przed ciążą występowały prawidłowe cykle miesięczne, będących w dobrym stanie zdrowia w chwili badania i deklarujących dobre warunki bytowe. Kryteriami wykluczającymi z badania były: choroby matki (PIH, cukrzyca ciężarnych, inne choroby układu), ciąża wielopłodowa, zagrażające poronienie, wady rozwojowe płodu rozpoznane w czasie ciąży, picie alkoholu. Wszystkie pacjentki pozostawały na diecie mieszanej i były suplementowane standardowo preparatami multiwitaminowymi zawierającymi mikroelementy oraz w ramach prowadzenia programu prewencji wad cewy nerwowej kwasem foliowym.

Po uzyskaniu świadomej zgody na udział w badaniu pacjentki podzielono na podstawie ankiety sporządzonej według autorskiego kwestionariusza na grupę niepalących ($n=20$) i palących papierosy ($n=20$). Z grupy abstynentek tytoniowych wyłączono kobiety narażone na ekspozycję bierną na dym tytoniowy (palący współmałżonek lub inni członkowie rodziny, współpracownicy). W grupie kobiet palących znalazły się pacjentki deklarujące palenie papierosów w liczbie co najmniej 5 sztuk/dobę przez okres co najmniej 2 lat w okresie przed-koncepcyjnym, kontynuujące palenie w przebiegu ciąży.

U wszystkich badanych kobiet porody przebiegały drogami natury bez cech patologii. Zgromadzone dane z wywiadu lekarskiego dotyczące przebiegu ciąży po porodzie uzupełniono informacjami o masie urodzeniowej dziecka i jego stanie ocenionym według skali Apgar. Dane kliniczne dotyczące badanych kobiet ciężarnych przedstawiono w tabeli I.

Protokół badań został zatwierdzony przez Komisję Etyczną przy IMiD, a pacjentki zostały poinformowane o istocie i celowości ich wykonania.

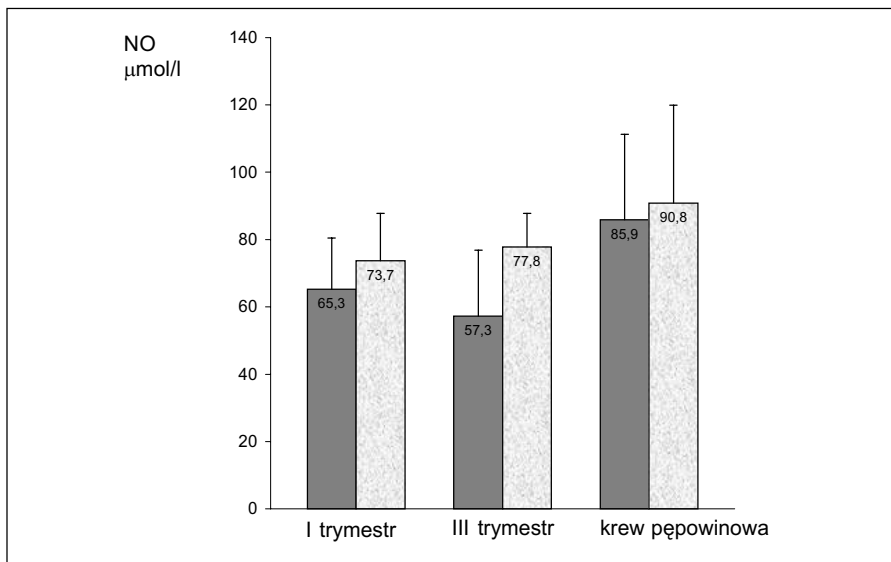
Materiałem do badań była krew żylna kobiet ciężarnych oraz krew pępowinowa noworodków. Próbkę krwi żylną pobierano z żyły łokciowej w I trymestrze ciąży i w dniu porodu przy okazji wykonywania badań podstawowych. Krew pępowinową mieszaną (tętniczą i żylną) pobierano bezpośrednio po urodzeniu dziecka i jego odpępnieniu, z zaklempowanego fragmentu pępowiny przed urodzeniem łożyska. Surowica bez śladów hemolizy była przygotowana jak najszybciej po pobraniu krwi, zamrażana i przechowywana w temperaturze -200 C do czasu wykonania analizy.

Stężenie tlenu azotu w surowicy krwi oznaczano metodą kolorymetryczną przy użyciu gotowych zestawów Nitric Oxide Non-Enzymatic Assay (Oxis International Inc, USA). W testach tlenek azotu oznaczano metodą pośrednią, poprzez oznaczanie azotynów tworzących reakcje barwną z sulfanilamidem i N-(1-naftył)-etylenodiaminą. Powstały barwny produkt mierzono spektrofotometrycznie w czytniku Stat Fax 3200 (Pointe Scientific, USA) przy długości fali 540 nm. W celu wykluczenia błędów pomiarowych wszystkie oznaczenia wykonano w

Tabela I
Charakterystyka kliniczna badanych kobiet ciężarnych palących tytoń podczas ciąży i abstynentek tytoniowych.

Clinical characteristics of the studied groups of women smoking tobacco during pregnancy and tobacco abstinent.

Grupa	Palące	Niepalące
Wiek pacjentki (lata)	29 (20-41)	32 (24-39)
Wiek ciążowy w I trymestrze (tygodnie)	12 (11-16)	12 (11-12)
Wiek ciążowy w III trymestrze (tygodnie)	39 (32-40)	40 (37-41)
Liczba wypalanych papierosów/dzień	10 (5-20)	0
Poród siłami natury/cesarskie cięcie	20/0	20/0
Skala Apgar	8-10	10
Masa urodzeniowa (g)	3270 ± 410	3530 ± 440



Rycina 1
Stężenia tlenu azotu (NO) w surowicy krwi kobiet palących tytoń (P) i niepalących (NP) w ciąży oraz w krwi pępowinowej.

Concentration of nitric oxide (NO) in serum of women smoking (S) and non-smoking (NS) during pregnancy and in umbilical cord blood.

dwóch powtórzeniach i wyniki podano jako wartości średnie z tych pomiarów. Aby zapewnić kontrolę jakości wykonywano oznaczenia prób kontrolnych dołączonych do zestawów.

Analizę statystyczną przeprowadzono z wykorzystaniem pakietu Statistica 8.0 (StatSoft, Polska). Za poziom istotny statystycznie przyjęto wartość $p < 0.05$.

Wyniki

W grupie abstynentek tytoniowych stężenia tlenu azotu w surowicy nie różniły się w I trymestrze od tych obserwowanych w końcowym okresie ciąży. W grupie kobiet palących wartości te spadały wraz z wiekiem ciąży i były niższe o 10% w I i 20% w III trymestrze niż w grupie abstynentek tytoniowych. Różnice te były statystycznie znamienne w III trymestrze ciąży ($p < 0.01$), pomimo iż zakres stężeń u poszczególnych pacjentek z obu badanych grup był podobny (od 39,1 µmol/l do 104,7 µmol/l) (rycina 1).

We krwi pępowinowej noworodków matek palących poziom tlenu azotu był nieznacznie niższy niż obserwowany w grupie dzieci abstynentek tytoniowych. W obu badanych grupach średnie stężenia tlenu azotu w surowicy krwi pępowinowej były wyższe niż obserwowane u matek (odpowiednio u palących o 46%, $p < 0.01$ i u niepalących o 17%) (Rycina 1). W grupie abstynentek tytoniowych stwierdzono ścisłą za-

leżność pomiędzy poziomem tlenu azotu we krwi matki i krwi pępowinowej dziecka ($r = 0.74$; $p < 0.01$).

Analizując powiązania pomiędzy ilością wypalanych papierosów a stężeniem NO w surowicy krwi stwierdzono korelację ujemną, zarówno w grupie kobiet ciężarnych palących ($r = -0.52$ w I trymestrze i $r = -0.47$; $p < 0.05$ w III trymestrze) jak i ich dzieci ($r = -0.35$; $p < 0.05$).

Średnia masa urodzeniowa w grupie ciężarnych palących była o 260 gramów niższa niż obserwowana w grupie abstynentek tytoniowych a różnica ta była statystycznie istotna ($p < 0.05$) (tabela I).

Dyskusja

Tlenek azotu ze względu na swoje właściwości chemiczne może pełnić w organizmie zarówno rolę fizjologiczną jak i patologiczną. Jest on nie tylko czynnikiem rozszerzającym naczynia krwionośne, ale również neurotransmiterem oraz regulatorem odpowiedzi immunologicznej. Z badań Ghasemi i wsp. [9] przeprowadzonych w grupie 1983 zdrowych osób w różnych grupach wiekowych z uwzględnieniem płci wynika, że stężenia tlenu azotu są podobne u kobiet i mężczyzn (24,4 µmol/l vs 24,8 µmol/l) i rosną wraz z wiekiem pacjentów. Zależność stężenia NO od wieku w grupie kobiet stwier-

dzili również Higashino i wsp. [10] oraz Watanabe i wsp. [26].

Doniesienia dotyczące wpływu palenia na stężenia tlenu azotu nie są jednoznaczne. Z badań Node i wsp. [18] wynika, że stężenia NO są niższe w grupie młodych, zdrowych ludzi palących tytoń niż w grupie abstynentów tytoniowych ($p < 0.001$). Podobne wyniki uzyskali również Retterstol i wsp. [21] oraz Tsuchiya i wsp. [24]. Autorzy Ci stwierdzili, że niskie stężenia tlenu azotu będące objawem dysfunkcji śródbłonka u osób palących tytoń współistnieją z niską aktywnością przeciwutleniającą. Z badań przeprowadzonych na zwierzętach wynika, że inhalacja dymem tytoniowym powoduje wzrost stężeń NO w osoczu, co prawdopodobnie jest wynikiem przedostawania się egzogenego NO z dymu tytoniowego. W modelu zwierzęcym ekspozycja na dym tytoniowy była znacznie wyższa niż ta na jaką narażony jest przeciętny palacz tytoniu co może tłumaczyć wysokie poziomy tlenu azotu stwierdzone u badanych zwierząt [17]. Również u ludzi Chambers i wsp. [5] wykazali tymczasowy wzrost stężenia NO w dolnych drogach oddechowych palaczy, dlatego też wydaje się że choć egzogeny NO może być inhaledy z dymem tytoniowym również u ludzi to wzrost odnosi się jedynie do układu oddechowego.

Powszechnie wiadomo, że palenie tytoniu powoduje nasilenie procesu generowania wolnych rodników często współistniejące z niewydolnością systemów przeciwutleniających, manifestujące się spadkami koncentracji poszczególnych antyoksydantów, uszkodzeniem komórek śródbłonka i zmniejszoną produkcją tlenu azotu [14]. Badania Barua i wsp. [2] wykazały u osób palących obniżoną dostępność tlenu azotu powiązaną z podwyższoną ilością eNOS. Autorzy Ci postulują istnienie nieprawidłowości w biosyntezie NO. Stwierdzili oni, że efekt zwiększonej ekspresji eNOS u palaczy może być niwelowany przez takie antyoksydanty jak katalaza i dysmutaza nadadtlenkowa. Khorram i wsp. [11] potwierdzili tę hipotezę wykazując, że wzrost eNOS/iNOS w komórkach śródbłonka palaczy może być wtórnym procesem do generacji wolnych rodników. Efekt ten zanika po podaniu kwas askorbinowego, który jest silnym przeciwutleniaczem.

Tlenek azotu jest ważnym mediatorem homeostazy naczyniowej podczas ciąży fizjologicznej, modulując zarówno krążenie maciczno-łożyskowe jak i płodowo-łożyskowe. Wiadomo, że ekspresja endotelialnej syntazy tlenu azotu zachodzi w syncytiotrofoblaście a powstający w naczyniach kosmków łożyskowych tlenek azotu utrzymuje przepływ krwi na prawidłowym poziomie osłabiając działanie czynników naczyniowziewających, takich jak endotelina I i tromboksan A [15,16]. Przyпуска się, że wydzielany przez trofoblast tlenek azotu może hamować adhezję płytek i leukocytów do powierzchni syncytiotrofoblastu i ich agregację w przestrzeniach międzykosmkowych. Z danych literaturowych wynika, że poziom całkowity azotynów, czyli końcowych produktów metabolizmu NO, znacząco wzrasta w krążeniu krwi podczas ciąży fizjologicznej w porównaniu ze zdrowymi kobieta-

mi nie ciężarnymi powracając do wartości sprzed ciąży po 12 tygodniach od rozwiązania [3,8,23]. Wartości uzyskane przez tych autorów są zbliżone do prezentowanych w naszej pracy.

Palenie tytoniu przez kobiety ciężarne prowadzi do upóźnienia rozwoju łożyska. W początkowej fazie ciąży palenie zmniejsza przepływ krwi, obniża proliferację cytotrofoblastu oraz zwiększa produkcję czynników angiogenetycznych co w konsekwencji prowadzi do zahamowania wzrostu płodu. Wystąpienie wewnątrzmacicznego zahamowania wzrostu może być powiązane również z podwyższeniem poziomu wolnych rodników co skutkuje zaburzoną produkcją i spadkiem dostępności NO. Wzrost produkcji wolnych rodników oraz obniżone możliwości ich dezaktywacji do związków nieaktywnych poprzez mechanizmy antyoksydacyjne u kobiet palących w przebiegu ciąży były przez nas przedstawiane we wcześniejszych badaniach [6,7]. Jak już wspomniano zaburzenia równowagi oksydacyjno-antyoksydacyjnej mogą wpływać na obniżenie syntezy i spadek dostępności NO. Z badań Ulm i wsp. [25] wynika, że poziomy osoczowej L-argininy będącej naturalnym prekursorem tlenu azotu są u palących kobiet ciężarnych niższe niż u abstynentek tytoniowych. Istnieją również doniesienia potwierdzające, że użycie w terapii hipotrofii wewnątrzmacicznej wlewów z L-argininy, mające na celu poprawę przepływu macicznie-łożyskowego może skutkować cofaniem się zmian biochemicznych i poprawą trofii płodu.

Wpływ palenia tytoniu bezpośrednio na stężenia NO w surowicy kobiet ciężarnych badali jedynie Ozerol i wsp. [19] oraz Andersen i wsp. [1]. Autorzy Ci stwierdzili, że palenie tytoniu w sposób istotny redukuje poziom tego związku w surowicy krwi. Otrzymane przez nas wyniki są zgodne z tymi obserwacjami. Andersen i wsp. [1] stosując analizę regresji stwierdzili wzajemne powiązanie poziomu i aktywności eNOS oraz małej masy urodzeniowej dziecka, postulując udział estrogenów w tym procesie. Zmniejszony poziom estrogenów i L-argininy u palaczek prowadzi do wzrostu poziomu ADMA, który obniża aktywność eNOS i przyczynia się do zmniejszenia produkcji tlenu azotu. Również nikotyna alternatywnie (lub dodatkowo) przechodząca od palących matek do krążenia płodu działa nie tylko na śródbłonek prowadząc do jego trwałych uszkodzeń, ale również może zmniejszać syntezę tlenu azotu. Chalon i wsp. [4] wykazali, że lokalna ostra ekspozycja na nikotynę in vivo jest powiązana z osłabieniem odpowiedzi wynikającej z działania śródbłonkowego tlenu azotu w naczyniach u ludzi. Doniesienia literaturowe na temat wpływu czasu ekspozycji na ilość wydychanego tlenu są spójne. Przewlekłe długotrwałe palenie powoduje zmniejszenie NO

w powietrzu wydychanym, podczas gdy u osób stosunkowo krótko palących notowano wzrost ilości wydychanego NO [13,24]. Brak jest jednak jednoznacznej odpowiedzi czy ilość wypalanych papierosów może mieć znaczący wpływ na stężenie powstającego tlenu azotu. Ozerol i wsp. [19] nie stwierdzili istotnych różnic pomiędzy palącymi 2-7 a 8-20 papierosów dziennie, podczas gdy w naszych badaniach podobnie jak w badaniach Node i wsp. [18] poziom NO był zależny od ilości wypalanych papierosów. Różnica ta może wynikać z faktu, iż nasze pacjentki paliły średnio od 5 do 20 papierosów dziennie przez okres co najmniej 2 lat, co można uznać za ekspozycję długotrwałą i przewlekłą.

Uzyskane wyniki wskazują, że palenie tytoniu przez kobiety ciężarne redukuje stężenia tlenu azotu zarówno w surowicy krwi matki jak i w krwi pępowinowej, a jego poziom jest zależny od ilości wypalanych dziennie papierosów. U kobiet palących niższe stężenia NO współistnieją z mniejszą niż w grupie abstynentek tytoniowych masą urodzeniową noworodka, co może sugerować istnienie powiązań pomiędzy tymi parametrami. Przedstawiane wyniki mają charakter pilotażowy natomiast potwierdzenie tej zależności będzie analizowane w większej grupie pacjentek i ich dzieci.

Piśmiennictwo

1. Andersen M.R., Walker L.R., Stender S.: Reduced endothelial nitric oxide synthase activity and concentration in fetal umbilical veins from maternal cigarette smokers. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2004, 191, 346.
2. Barua R.S., Ambrose J.A., Srivastava S. et al.: Reactive oxygen species are involved in smoking-induced dysfunction of nitric oxide biosynthesis and upregulation of endothelial nitric oxide synthase: an in vitro demonstration in human coronary artery endothelial cells. *Circulation.* 2003, 107, 2342.
3. Boccardo P., Soregaroli M., Aiello S. et al.: Systemic and fetal-maternal nitric oxide synthesis in normal pregnancy and pre-eclampsia. *Br. J. Obstet. Gynaecol.* 1996, 103, 879.
4. Chalon S., Moreno H., Benowitz N.L. et al.: Nicotine impairs endothelium-dependent dilatation in human veins in vivo. *Clin. Pharmacol. Ther.* 2000, 67, 391.
5. Chambers D.C., Tunnicliffe W.S., Ayres J.G.: Acute inhalation of cigarette smoke increases lower respiratory tract nitric oxide concentrations. *Thorax.* 1998, 53, 677.
6. Chelchowska M., Laskowska-Kłita T., Lebschang J.: Calkowita aktywność przeciwutleniająca osocza w krwi kobiet palących w przebiegu ciąży i w krwi pępowinowej ich potomstwa. *Przegl. Lek.* 2004, 61, 1101.
7. Chelchowska M., Laskowska-Kłita T., Lebschang J.: Wpływ palenia tytoniu na stężenia dialdehydu malonowego w krwi matki i w krwi pępowinowej noworodka. *Gin. Pol.* 2005, 12, 960.
8. Choi J.W., Im M.W., Pai S.H.: Nitric oxide production increases during normal pregnancy and decreases in preeclampsia. *Ann. Clin. Lab. Sci.* 2002, 30, 257.
9. Ghasemi A., Asl S.Z., Mehrabi Y. et al.: Serum nitric oxide metabolite levels in a general health population: Relation to sex and age. *Life Sci.* 2008, 83,

- 326.
10. Higashino H., Miya H., Mukai H., Miya Y.: serum nitric oxide (NO) levels in hypertensive patients at rest: a comparison of age, gender, blood pressure and complications using normotensive controls. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 2007, 34, 725.
11. Khorram O., Han G., Magee T.: Cigarette smoke inhibits endothelial epithelial cell proliferation through a nitric oxide-mediated pathway. *Fertil. Steril.* 2008 (in press)
12. Kowalczyk E., Kopff A., Kopff M. i wsp.: Tlenek azotu - oksydant czy antyoksydant? *Wiad. Lek.* 2005, 58, 540.
13. Latzin P., Kuehni C.E., Baldwin D.N. et al.: Elevated exhaled nitric oxide in newborns of atopic mothers precedes respiratory symptoms. *Am. J. Respir. Crit. Care. Med.* 2006, 174, 1292.
14. Lyamina N.P., Dolotovskaya P.V., Lyamina S.V. et al.: Nitric oxide production and intensity of free radical processes in young men with high normal and hypertensive blood pressure. *Med. Sci. Monit.* 2003, 9, 304.
15. Myatt L., Brewer A., Brockman D.E.: The action of nitric oxide in the perfused human fetal-placental circulation. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 1991, 164, 687.
16. Myatt L., Breuser A.S., Langdon G., Brockman D.E.: Attenuation of the vasoconstrictor effects of thromboxane and endothelin by nitric oxide in human fetal-placental circulation. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 1992, 166, 224.
17. Nene S., Gelabert H., Moore W. et al.: Cigarette smoking increases endothelial-derived vaso-relaxation in the rat carotid artery in dose-dependent manner. *J. Surg. Res.* 1997, 71, 101.
18. Node K., Kitakaze M., Yashikawa H. et al.: Reversible reduction in plasma concentration of nitric oxide induced by cigarette smoking in young adults. *Am. J. Cardiol.* 1997, 79, 1538.
19. Ozerol E., Ozerol I., Gokdeniz R. et al.: Effect of smoking on serum concentration of total homocysteine, folate, vitamin B12, and nitric oxide in pregnancy: A preliminary study. *Fetal Diagn. Ther.* 2004, 19, 145.
20. Pach D., Wilimowska J., Gomółka E., Targosz D.: The effect of smoking on serum nitric oxide (NO) in acutely carbon monoxide poisoned patients. *Przeg. Lek.* 2004, 61, 1073.
21. Retterstol L., lyberg T., Aspelin T., Berg K.: A twin study of nitric oxide levels measured by serum nitrite/nitrate. *Twin Res. Hum. Genet.* 2006, 9, 210.
22. Savvidou M.D., Hingorani A.D., Tsikas D. et al.: Endothelial dysfunction and raised plasma concentrations of asymmetric dimethylarginine in pregnant women who subsequently develop pre-eclampsia. *Lancet.* 2003, 361, 1511.
23. Shaamash A.H., Elsnosy E.D., Makhoulouf A.M. et al.: Maternal and fetal serum nitric oxide (NO) concentrations in normal pregnancy, pre-eclampsia and eclampsia. *Int. J. Gynecol. Obstet.* 2000, 68, 207.
24. Tsuchiya M., Asada A., Kasahara E. et al.: Smoking a single cigarette rapidly reduces combined concentrations of nitrate and nitrite and concentrations of antioxidants in plasma. *Circulation.* 2002, 105, 1155.
25. Ulm M.R., Plockinger B., Pirich C. et al.: Umbilical arteries of babies born to cigarette smokers generate less prostacyclin and contain less arginine and citrulline compared with those of babies born to control subjects. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 1995, 172, 1485.
26. Watanabe T., Akishita M., Toba K. et al.: Influence of sex and age on serum nitrite/nitrate concentration in healthy subjects. *Clin. Chim. Acta.* 2000, 301, 169.
27. Zdravkovic T., Genbacev O., McMaster M.T., Fisher S.J.: The adverse effects of maternal smoking on the human placenta: A review. *Placenta.* 2005, 26, Suppl. A, 81.