

Никотин в различных системах его доставки и его влияние на вариабельность сердечного ритма

**© 2020 г. В.А. Меньшов, А.В. Трофимов, А.В. Загурская, Н.Г. Бердникова,
О.И. Яблонская**

Nicotine in various delivery systems of it and its effect on the heart-rate variability

**© 2020 V.A. Menshov, A.V. Trofimov, A.V. Zagurskaya, N.G. Berdnikova,
O.I. Yablonskaya**

В.А. Меньшов

*Кандидат химических наук, старший научный сотрудник Института
биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук
Россия, Москва, 119334, ул. Косыгина, д. 4*

V.A. Menshov

*Candidate of Chemistry, Senior Scientist of the Emanuel Institute of Biochemical
Physics, Russian Academy of Sciences,
ul. Kosygina, 4, Moscow 119334, Russia
E-mail: vinoman66@mail.ru*

А.В. Трофимов

*Доктор химических наук, заместитель директора Института
биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук
Россия, Москва, 119334, ул. Косыгина, д. 4*

A.V. Trofimov

*Doctor of Chemistry, Deputy Director of the Emanuel Institute of Biochemical
Physics, Russian Academy of Sciences,*

ul. Kosygina, 4, Moscow 119334, Russia

E-mail: avt_2003@mail.ru

А.В. Загурская

Управляющая медицинским центром АВЦ & лаборатории ДНКом

Россия, Москва, 119334 Проспект 60 летия Октября, д.3, к.2

A.V. Zagurskaya

Chief Manager of the Medical Center AVC & DNKom Laboratory

pr. 60 Letiya Oktyabrya, 3-2, 119334 Moscow, Russia

E-mail: alla.viktorova.2014v@mail.ru

Н.Г. Бердникова

*Кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник Института биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук
Россия, Москва, 119334, ул. Косыгина, д. 4*

и

*доцент Первого Московского государственного медицинского университета им. И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации
Россия, Москва, 119991, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2*

N.G. Berdnikova

Candidate of Medicine, Senior Scientist of the Emanuel Institute of Biochemical Physics, Russian Academy of Sciences,

ul. Kosygina, 4, Moscow 119334, Russia

and

Associate Professor of the I.M. Sechenov First Moscow State Medical University,

ul. Trubetskaya, 8, 2, Moscow, 119991, Russia

E-mail: berdnad@mail.ru

О.И. Яблонская

*Кандидат биологических наук, научный сотрудник Института биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук
Россия, Москва, 119334, ул. Косыгина, д. 4*

O.I. Yablonskaya

Candidate of Chemistry, Research Scientist of the Emanuel Institute of Biochemical Physics, Russian Academy of Sciences,

ul. Kosygina, 4, Moscow 119334, Russia

E-mail: olga.yablonsky@gmail.com

О соблюдении авторских прав

Все права на представленные здесь материалы принадлежат Авторам настоящей работы. Воспроизведение, распространение или иное использование указанных материалов в любой форме может производиться только с письменного разрешения правообладателей. При использовании ссылка на правообладателей и источник заимствования обязательна.

© 2020 г. Н.Г. Бердникова, А.В. Загурская, В.А. Меньшов, А.В. Трофимов, О.И. Яблонская, В.Д. Кънчева, Р.М. Балански

All Rights Reserved

All rights to the materials presented herein belong to the authors of this work. Reproduction, distribution or other use of these materials in any form may be made only with the written permission of the copyright holders. When using, a reference to the copyright holders and to the original source is required.

© 2020 N.G. Berdnikova, A.V. Zagurskaya, V.A. Menshov, A.V. Trofimov, O.I. Yablonskaya, V.D. Kancheva, R.M. Balansky

Реферат

В данном экспериментальном исследовании на небольшой группе добровольцев (10 человек) из числа никогда не куривших (4), экс-курильщиков (4) и активных курильщиков (2) методом электрокардиографии была изучена вариабельность ритма сердца (ВРС) при использовании разных систем доставки никотина и имитаторов курения, в том числе обычных, безникотиновых и электронных сигарет, систем нагревания табака, жевательных резинок и совершенно нового на отечественном рынке продукта - никотиновых пэков оральной фиксации (НПОФ). Дополненный гормональными исследованиями (гормоны стресса в слюне и катехоламины в крови), анализ ВРС показал относительно небольшие изменения показателей ВРС при системном использовании пэков с умеренным содержанием никотина (до 6 мг), что делает этот тип продукции лидером по биологической безопасности среди изученных альтернативных систем доставки никотина.

Ключевые слова: никотин, оральные пэки, вариабельность ритма сердца, нейрогормоны

Abstract

In this experimental study, heart rate variability (HRV) using electrocardiography was studied in a small group of volunteers (10 people) who have never smoked (4), ex-smokers (4) and active smokers (2). Different nicotine delivery systems and smoking simulators, including regular, nicotine-free and electronic cigarettes, tobacco heating systems, chewing gums and a completely new product on the domestic market - nicotine packs of oral fixation (NPOF) were used. Supplemented with hormonal studies (stress hormones in saliva and catecholamines in the blood), HRV analysis showed relatively small changes in HRV with systemic use of packs with moderate nicotine content (up to 6 mg), which makes this type of product a leader in biological safety among the studied alternative delivery systems nicotine.

Keywords: nicotine, oral packs, heart rate variability, neurohormones

Введение и актуальность темы

Как известно, за небольшим исключением практически все внутренние органы человека и многих животных находятся под контролем вегетативной нервной системы (ВНС), информация о состоянии и которой, в свою очередь, постоянно передается в центральную нервную систему (ЦНС) сенсорными афферентными волокнами. ЦНС объединяет сенсорные сигналы и посылает нейронные команды обратно в орган через автономные ганглии. Краниальный шейный ганглий является важнейшим интегративно-координационным центром автономной регуляции, через никотиновые холинорецепторы (nAChRs) которого осуществляется контроль общего сосудистого тонуса и гемодинамических показателей, обеспечивается деятельность эпифиза и регуляция многих других жизненно важных висцеральных функций [1].

С другой стороны, известно, что метастатический процесс в канцерогенезе является ключевой причиной смерти от рака. Опухолевые клетки экспрессируют разные рецепторы нейротрансмиттеров и реагируют с разными нейромодуляторами, выделяемыми ВНС из мозга, периферических сплетений, ганглиев и мозгового вещества надпочечников [2]. Становится все более очевидным, что рост злокачественной опухоли во многом связан с сигналами, поступающими от нервной системы. В процессе неонейрогенеза продуцируемые нейротрофины стимулируют соседние нервные клетки для развития нервных окончаний в опухоли. Эта иннервация может стимулировать развитие метастазов, поскольку опухолевые клетки отвечают на нейромедиаторы повышенной миграционной активностью. Так, например, гормон стресса норадреналин увеличивает миграцию клеток рака предстательной железы, молочной железы и других тканей *in vitro* и *in vivo* через активацию β 2-адренорецепторов, играя важную роль в формировании метастазов [3]. Данные результаты однозначно подтверждают концепцию, согласно которой развитие метастазов не только генетически обусловлено, но и находится под влиянием собственных сигнальных молекул организма, тесно связанных с функцией ВНС.

Наоборот, стимуляция блуждающего нерва, которая активирует парасимпатический отдел нервной системы и повышает ВРС, подавляет высвобождение симпатических нейротрансмиттеров [4]. Gidron с коллегами предположили и доказали, что стимуляция блуждающего нерва контролирует и снижает прогрессирование опухоли [5]. Опухоли средней стадии часто сопровождаются повреждением вегетативных нервов, и снижение ВРС является типичным симптомом у пациентов с опухолями поздней стадии [6]. Клинические исследования показали, что ВРС может быть использована для прогнозирования тяжести и исхода при многих типах рака, включая рак печени [6], молочной железы [7] и толстой кишки [8].

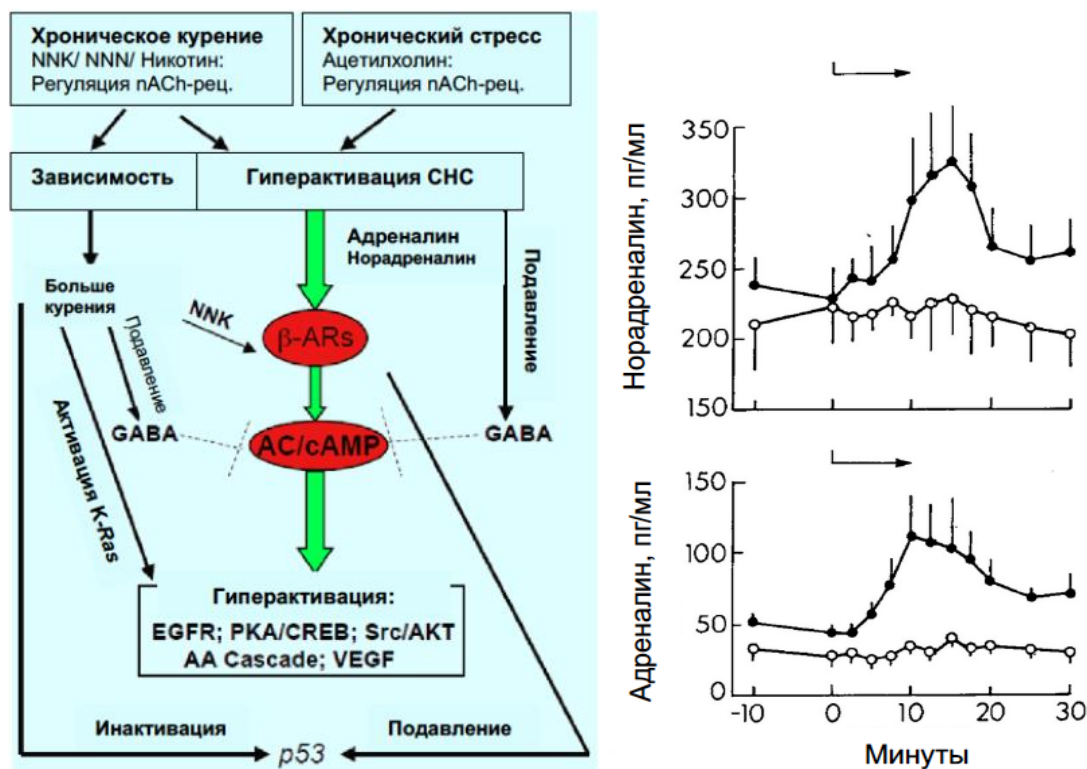


Рис. 1. (Слева). Рабочая модель, иллюстрирующая центральную роль симпатической гиперактивности, вызванной хроническим курением и хроническим психологическим стрессом, в регуляции аденокарциномы легких [9].

Рис. 2. (Справа). Концентрация катехоламинов в плазме курильщиков после выкуривания сигареты (иллюстрация из самой цитируемой работы по данной тематике [10]).

Не так давно был опубликован подробный отчет о многолетних исследованиях взаимосвязи ВРС с этиологией рака желудка [11]. В течение 5 лет у 383 пациентов с диагнозом рак желудка методом ЭКГ измеряли различные показатели ВРС, в том числе стандартное отклонение нормальных интервалов RR (SDNN) и среднеквадратичное значение разности между последовательными интервалами R-R (RMSSD). Результаты показали, что ВРС снижалась по мере прогрессирования заболевания ($p < 0,0001$). Кроме того, было установлено, что показатели ВРС коррелируют с размером опухоли, инфильтрацией опухоли, метастазированием в лимфатический узел и отдаленным метастазированием ($P < 0,001$); однако никакой корреляции с локализацией опухоли и тяжестью метастазирования обнаружено не было.

ВРС являлся предиктором смертности не только у онкологических пациентов, но и, например, при хроническом заболевании почек [12]. Используя те же маркеры ВРС (SDNN и RMSSD), Drawz с коллегами пришли к выводу, что наибольшую информативность и диагностическую ценность имеет показатель RMSSD. В некоторой степени неожиданным в данном исследовании было то, что между показателями вариабельности и смертностью от всех причин наблюдалась нелинейная параболическая связь с повышением риска как при низких, так и при высоких значениях RMSSD ($p = 0,04$). То есть, любое отклонение показателя ВРС от узкого коридора допустимых значений (в большую или меньшую стороны) негативно отражалось на рисках смертности.

Хотя механистические исследования показывают, что курение связано хронической стимуляцией симпатического отдела ВНС и, как следствие, со снижением ВСП (рис. 1), популяционные исследования часто дают противоречивые результаты. Известны также результаты масштабных исследований, которые указывают на тесную связь курения со стимуляцией парасимпатического отдела ВНС [13]. Причина разногласий кроется прежде всего в тонком противостоянии двух систем – симпатического и парасимпатического отделов ВНС. Курение (сигаретный дым и никотин), являясь агонистом одновременно и холино- и адренорецепторов, в

краткосрочной перспективе (минуты и десятки минут после курения) стимулирует преимущественно симпатическую активность (рис. 2), тогда как на длинном временном отрезке (часы, месяцы и годы) наблюдается возрастающий тренд активности парасимпатического отдела.

Появление на рынке множества новых продуктов, используемых для доставки никотина, альтернативных обычным сигаретам, еще больше усложнило ситуацию и создало глобальную проблему для оперативной и персонифицированной диагностики последствий их применения. В качестве базового скрининга на начальных этапах исследования анализ ВРС как раз и может стать таким инструментом, который совмещает в себе оперативность, мобильность, простоту, экономичность, чувствительность и селективность. Одновременно, анализ ВРС не заменяет и не отменяет проведение биохимического мониторинга, но лишь дополняет его, позволяя сконцентрировать ресурсы на наиболее проблемных областях.

Цель работы – на небольшой группе добровольцев исследовать активность ВНС методом анализа ВРС в условиях использования различных систем доставки никотина. Особый акцент в работе был сделан на совершенно новом продукте на российском и мировом рынках – никотиновых бестаbachных пэках, которые из-за маркетинговых ошибок получили неоднозначный резонанс в общественном мнении.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Материалы и методы исследования

В исследовании принимала участие небольшая группа добровольцев (10 человек) из числа никогда не курящих (4), экс-курильщиков (4) и активных курильщиков (2), от которых было получено информированное согласие на обработку персональных и биомедицинских данных. Все добровольцы были в возрасте от 33 до 54 лет, имели нормальный индекс массы тела, без серьезных хронических заболеваний, не злоупотребляющие алкоголем и не принимавшие никаких лекарственных препаратов как минимум за 2 недели до исследования.

Анализ ВРС. Наиболее часто используемыми показателями во временной области являются SDNN, RMSSD и процент RR интервалов длительностью более 50 миллисекунд (pNN50). SDNN является преимущественно (но не исключительно) показателем симпатической активности (при длительных интервалах записи ЭКГ), тогда как RMSSD и pNN50 связывают с парасимпатической активностью. Индекс дыхательной модуляции Каплана рассчитывали по формуле $ИДМ = (0,5 * RMSSD / RRNN) * 100\%$.

Наиболее распространенными измерениями в спектральном анализе являются высокочастотный (HF) диапазон мощности (0,15–0,4 Гц) и низкочастотный (LF) диапазон мощности (0,04–0,15 Гц). Показатель HF является показателем парасимпатической активности, а показатель LF - сочетанием симпатической и парасимпатической активности. Суммарная мощность (ТП) является широкой мерой общей вегетативной активности. Модуляция парасимпатической активности (определяемая как вагусный тонус сердца) также связана с регуляцией эмоциональной реактивности, психологической гибкости и социальной активности, а также снижением префронтальной корковой активности [14].

Для получения сигнала и анализа записей ЭКГ использовали программно-аппаратный комплекс VedaPulse [15]. Анализ гормонов слюны и крови проводили на базе медико-диагностического центра АВИЦ (Москва) методом ВЭЖХ-МС. Анализ котинина и никотина в слюне определяли методом ГХ-МС. Статистическую обработку и графическое представление данных проводили с помощью пакетов Statgraphics v.XVII и SigmaPlot v.12ю

В качестве Альтернативных систем Доставки Никотина (АСДН) использовались системы нагревания табака (IQOS), электронная сигарета (ЭС) JUUL, безникотиновая ЭС Vapresso (100% пропиленгликоль), жевательная резинка Никоретте (4 мг никотина) и бестабачные никотиновые пэки с содержанием никотина 4 мг и 5,6 мг.

Собственные результаты исследования

Роль компонентов дыма в модуляции активности ВНС

Говоря в целом о перспективах и биологических рисках новой линейки так называемых бездымных никотиновых продуктов, необходимо прежде всего определить потенциал вегетативной активности сигаретного дыма в отсутствии никотина и других табачных алкалоидов. Для этой цели нами были использованы бестабачные сигареты Нирдош с ацетат-целлюлозным фильтром, имитирующие курение обычных сигарет и используемые в медитационной восточной практике. Содержание смолы в дыме этих сигарет достигает 14 мг. С тем, чтобы исключить возможные психосоматические реакции, рефлексорно возникающие у любого курильщика в ответ на имитацию курения, мы рекрутировали в качестве испытуемых добровольцев без истории курения и потребления никотина.

Результаты, представленные на рис. 3, имеют фундаментальное значения для объяснения механизма влияния табачного дыма на активность и баланс ВНС. В отсутствии никотина дым линейно увеличивал ВРС у разных добровольцев в зависимости от исходного уровня вариабельности, достигая абсолютного максимума через 2-2,5 часа с приростом 20-40%. Статистически достоверные изменения величины RMSSD наблюдались уже через 20-30 мин после выкуривания сигареты (но, возможно, и ранее). Отсюда возникает вопрос, безникотиновый дым по своей природе является парасимпатическим агонистом или есть иное объяснение роста ВРС?

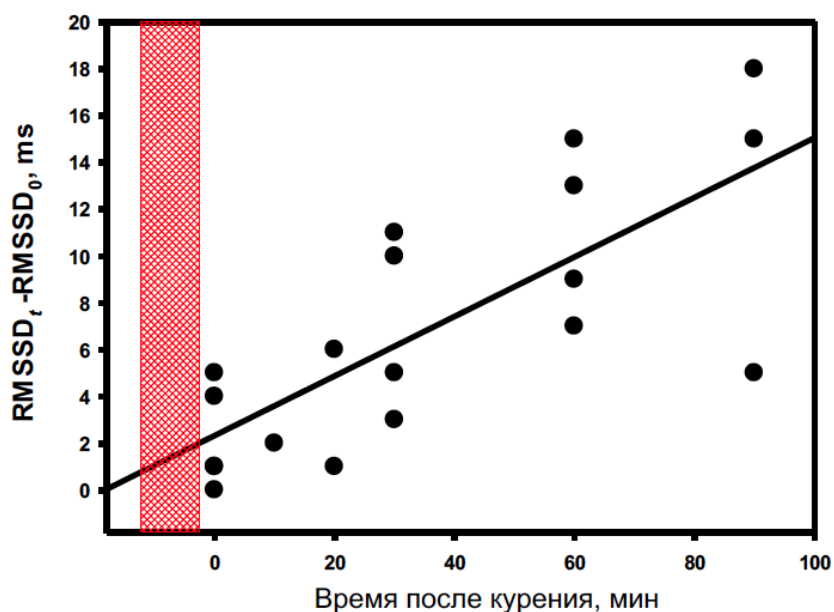


Рис. 3. Относительное изменение индекса ВРС после выкуривания безникотиновой сигареты Нирдош у четырех никогда не куривших добровольцев.

Время после курения, мин

В составе сигаретного дыма, как в газовой, так и в твердой фазах, содержатся многочисленные продукты, способные изменить сердечный ритм как в сторону его ускорения, так и в сторону замедления. Среди них наибольшую роль играют монооксид углерода (CO), твердые частицы с диаметром менее 2,5 мкм (PM2.5) и некоторые компоненты смолы. Так, например, CO может оказывать прямое и косвенное воздействие на ВРС, вызывая гипоксию в органах. Умеренная гипоксия стимулирует гемовую оксигеназу и производство билирубина, который повышает ВРС за счет механизма подавления симпатической ганглионарной передачи сигнала посредством ингибирования постганглионарных рецепторов nAChRs [16]. Помимо этого, многочисленные тематические исследования описывают нарушения в работе сердца в виде реполяризации, аритмии и удлинения интервала QT после легкого отравления угарным газом [17].

Показано, что проаритмические эффекты CO возникают в результате активации NO-синтазы, что приводит к NO-опосредованному нитрозированию натрий-канального белка NaV1,5 и индукции позднего

Na⁺ тока [18]. При хроническом воздействии СО способствует патологическому фенотипу кардиомиоцитов при отсутствии основной кардиомиопатии. Менее тяжелый фенотип *in vivo* предполагает участие компенсаторных механизмов, в соответствии с которыми склонность к аритмии может возникать из-за внутриклеточной перегрузки Ca²⁺ [19].

В совокупности на базе рассмотренных механизмов нельзя однозначно утверждать, что, повышая ВРС, СО оказывает на ВНС и организм в целом исключительно патологическое действие, хотя в сочетании с другими негативными факторами картина может быть именно такой. Многие авторитетные исследователи полагают, что СО является самой парадоксальной молекулой не только в составе сигаретного дыма, но и на эндогенном уровне. В то время как кратковременное воздействие СО в низких дозах может быть полезным и кардиопротективным, защищая кардиомициты от окислительного стресса и улучшая кровоснабжение сердца путем расширения коронарных сосудов, длительное воздействие в высоких дозах приводит к патологическим изменениям, главным образом из-за изменений в окислительно-восстановительном статусе, ионного гомеостаза, внутриклеточного пула Ca²⁺ и симпатовагального дисбаланса [20, 21]. Иными словами, в отношении СО работает известный принцип, когда слишком много хорошего рано или поздно превращается во что-то вредное.

Помимо СО в составе дыма есть и другие продукты, способные столь же значительно повлиять на ВРС даже при многократно меньших дозах. Прежде всего это твердые компоненты дыма, составляющие основу смолы. Среди них главную роль играют ингибиторы моноаминоксидаз, обнаруженные как в табаке, так и в продуктах его пиролиза [22]. Было установлено, что ингибирование моноаминоксидаз может способствовать росту вариабельности сердечного ритма [23].

Используя бестабачные аналоги сигарет, мы проверили гипотезу о влиянии твердофазных компонентов дыма (смолы) на ВРС. Для этого был приготовлен пропиленгликолевый экстракт смолы, полученной после прокуривания безникотиновых сигарет Нирдош через кембриджский фильтр

на курительной машине Borgwaldt A1 по стандартам ISO. Далее экстракт, содержащий 60 мг смолы в 10 мл растворителя, был использован в качестве наполнителя е-сигареты и испытан на добровольцах в дозах, сопоставимых с теми, которые они получали при выкуривании сигареты (рис. 4).

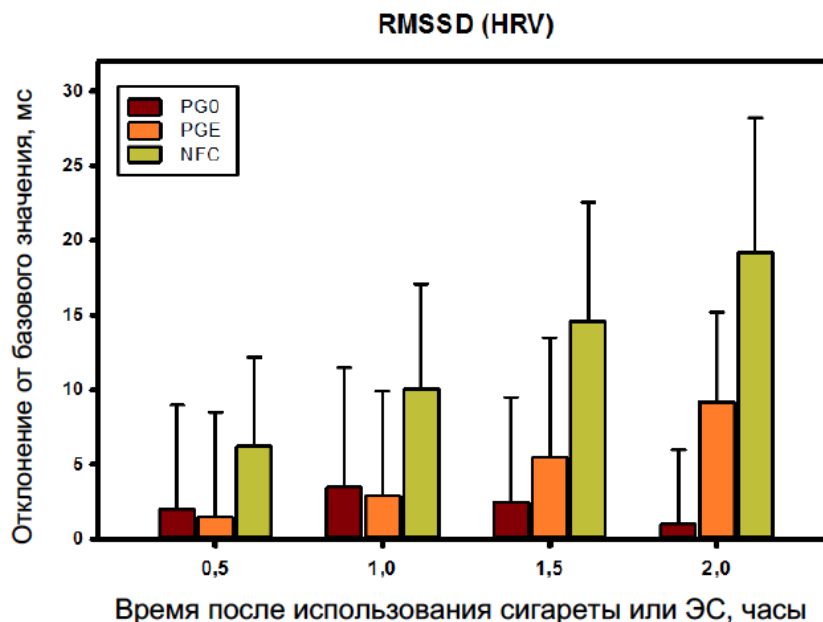


Рис. 4. Влияние экстракта сигаретной смолы на ВРС. Обозначения: PGE – 25 затяжек на ЭС с пропиленгликолем (контроль). PGE – 25 затяжек на ЭС с экстрактом дыма, NFC – 10 затяжек безникотиновой сигаретой Нирдош.

Как оказалось, в течение первого часа после сеанса вэйпинга с экстрактом смолы ВРС практически не менялась. Однако через 1,5 часа эффект достигал 20% от величины, полученной после выкуривания сигареты ((PGE-PG0)/NFC), а еще через полчаса он составил уже 50%. То есть, компоненты смолы сигаретного дыма повышают ВРС на поздних стадиях после курения, тогда как дым в целом за счет газовой фазы и СО повышает ее практически сразу после выкуривания сигареты. По всей видимости, разность во времени действия разных фракций дыма объясняется разной скоростью усвоения (метаболизма) твердых и газовых компонентов дыма. Продукты в составе газовой фазы практически мгновенно попадают в кровь и распределяются по органам и тканям, включая мозг и ЦНС, тогда как твердофазные компоненты смолы, такие как полифенолы и проч., попадают в кровь в основном через ЖКТ и слизистую ротовой полости, часто

подвергаясь по пути биотрансформации. Основные полифенолы табака – это рутин и хлорогеновая кислота, которые в сумме составляют до 3% от веса табака, тогда как в дыме наибольшее содержание фенольных веществ не превышает 300 мкг/сигарету (что на два порядка ниже, чем в сигарете), а основными полифенолами являются гидрохинон и пирокатехин [24].

Благодаря тесной связи между ЦНС и микробиотой, присутствующей в желудочно-кишечном тракте, ось кишечник – головной мозг играет важную роль в реакции на стресс и по общему признанию является частью нейроэндокринной системы [25]. Метаболиты диетических полифенолов, продуцируемые кишечной микробиотой, хорошо всасываются в кишечнике и способны циркулировать в составе плазмы в течение более длительного времени. Напротив, низкомолекулярные полифенолы могут быть непосредственно адсорбированы в тонком кишечнике [26] и намного быстрее достигать головного мозга в неизменном виде (рис. 5). Стимуляция парасимпатического отдела ВНС может происходить также и в самом кишечнике, минуя ЦНС [27].

Как показали эксперименты Duarte et al, уже через час после потребления 10 г темного шоколада, содержащего 5,2 мг полифенолов, средняя величина RMSSD в группе, состоящей из 21 добровольца, возрастала с 34 мс до 55 мс, в то время как в группе, поедавшей белый шоколад, не содержащий полифенолов, этот показатель снижался на 8 мс [28]. Данный опыт наглядно показывает, как полифенолы могут влиять на ВНС через ЖКТ, но точный механизм влияния пока не установлен.

Наши испытания показали, что в отсутствии никотина сигаретный дым также является мощным модулятором активности ВНС, реализуя свой проаритмический (парасимпатический) потенциал через газообразные и твердофазные составляющие с первых минут после выкуривания сигареты и сохраняя эффект в течение нескольких часов. Важность данного вывода носит принципиальный характер прежде всего для тех курильщиков, которые комбинируют курение обычных сигарет с бездымными никотиновыми продуктами, а также для некурящих потребителей АСДН. Разность между

двумя типами потребителей никотина (курящими и некурящими) состоит в том, что у курящего (особенно часто курящего) парасимпатический эффект дыма от каждой предыдущей выкуренной сигареты, сохраняясь длительное время (более 3-х часов), ослабляет острый просимпатический ответ никотина от каждой следующей выкуренной сигареты. В то время как у некурящих пользователей АСДН в отсутствие модулирующего влияния дыма никотин в тех же дозах может влиять на ВНС совсем иначе. Как именно он влияет, мы и рассмотрим на следующих примерах.

Сравнительное испытание никотинсодержащей продукции с анализом изменений ВРС.

Учитывая скорость реакции и общую продолжительность действия безникотинового дыма на активность ВНС, интересно сравнить эффекты, которые возникают в организме курильщика при использовании разных никотиновых носителей. Один из курящих добровольцев со стажем 14 пачка*лет согласился пройти испытание, суть которого состояла в поочередном использовании разных систем доставки никотина. За три недели до начала испытания у добровольца была возможность протестировать в ознакомительном режиме все продукты для отработки правильной техники их применения. Все испытания проводились в разные дни в утренние часы с 3-х часовым периодом воздержания от курения и потребления пищи. Цель эксперимента – выяснить, какое действие на ВРС оказывают АСДН в сравнении с обычной сигаретой.

Из данных рис. 5 и 6 следует, что каждый никотиновый продукт специфически воздействовал на ВНС, что особенно заметно на начальном этапе использования продукта. Так, например, сразу после выкуривания обычной сигареты (марка Винстон) ЧСС возрастала наиболее резко в сравнении с другими вариантами, и повышенный сердечный тонус сохранялся на протяжении 45 мин. Интересно, что не содержащий никотин и ароматизаторов аэрозоль е-сигареты также повышал ЧСС и активность симпатического отдела ВНС, однако его действие было непродолжительным

и уже через 20 мин ритм работы сердца и баланс ВНС полностью восстанавливался. Наиболее продолжительно стимулирующее действие никотина на сердечно-сосудистую и ВНС сохранялось при использовании оральных пэков, что вполне объяснимо, учитывая длительный период фиксации пэка в ротовой полости (40 мин). Однако даже после удаления пэка повышенная ЧСС сохранялась как минимум еще 30 мин, что было совершенно не типично для ингаляционных форм потребления никотина.

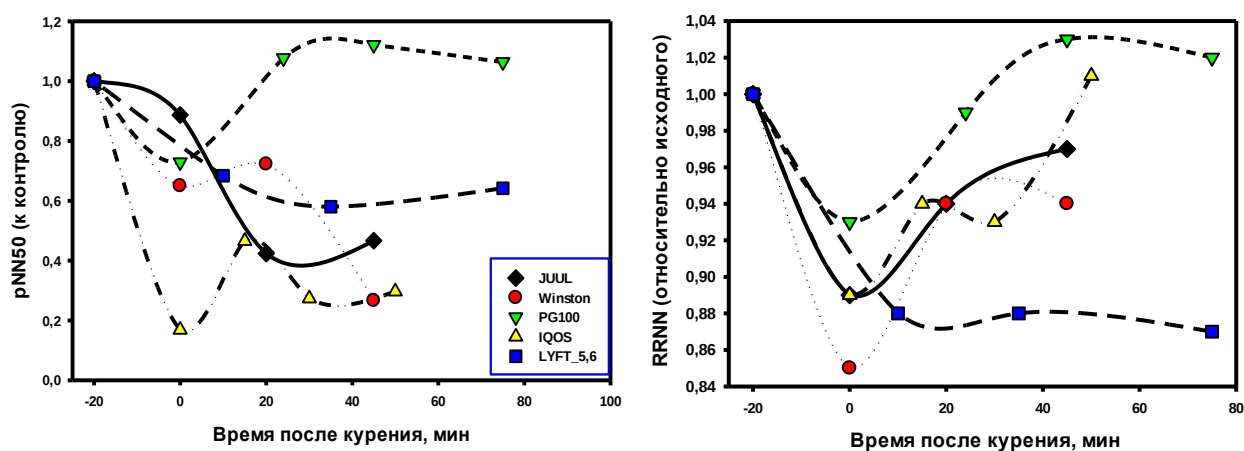


Рис. 5. (Слева). Динамика ВРС (процент соседних RR интервалов, отличающихся более чем на 50 мс) после использования разных никотинсодержащих продуктов курящим добровольцем. В качестве контроля использовалась ЭС с безникотиновым наполнителем (100% пропиленгликоль). Испытуемый совершал по 8 затяжек для всех имитаторов курения, включая сигареты, а также использовал в течение 40 мин никотиновый пэк.

Рис. 6. (Справа). Динамика RR интервалов после использования разных никотинсодержащих продуктов курящим добровольцем. Обозначения те же.

Если проанализировать влияние испытанных продуктов на ВНС, то прежде всего бросаются в глаза два момента. Сразу после использования системы нагревания табака (СНТ) ВРС резко снижалась (-80%), в то время как сразу после использования ЭС с высокой концентрацией солевого никотина (JUUL) показатель мало изменялся, хотя динамика ЧСС сразу

после использования этих продуктов была практически одинаковой. Если не принимать во внимание безникотиновую ЭС, то среди всех никотинсодержащих продуктов наименьший стресс (наименьшее снижение ВРС) вызывало использование никотинового пэка. Видимо, плавное возрастание концентрации никотина в крови играет решающую роль в адаптации организма. Поскольку все ингаляционные способы доставки никотина приводили к резким колебаниям показателей ВРС уже в первые минуты после окончания их использования, было бы интересно выяснить, что происходило с ВНС испытуемого с первых секунд их использования.

Как следует из данных табл.1, полная имитация курения путем совершения характерных для тугой сигаретной затяжки дыхательных движений с незажженной сигаретой (затяжка – наполнение ротовой полости дымом – глубокий вдох – медленный длительный выдох с общей длительностью цикла 11-13 сек) очень точно воспроизводит функциональные изменения в работе ВНС и центральном аппарате, свойственные реальной сигаретной затяжке. Главные различия между имитацией курения и выкуриванием обычной сигареты с никотином заключались в меньшей мощности всего диапазона спектра (ТР) и абсолютной мощности низкочастотной (LF) составляющей за счет мгновенного эффекта никотина. Как оказалось, сама процедура, имитирующая курение с длительными и глубокими фазами вдоха и выдоха, вносит гораздо больше изменений в спектральные характеристики и работу ВНС, чем никотин (рис. 7). Об этом говорит и индекс дыхательной модуляции Каплана. По сравнению с имитацией курения в условиях вдыхания реального дыма уже с первых затяжек сигаретой наблюдалось значительное снижение ИДМ (с 38% до 28,2%), что говорит о высокой реактивности дыма в органах дыхания у данного испытуемого.

Таблица 1. Спектральный анализ ВРС для разных никотиновых продуктов в первые минуты от начала использования экс-курильщиком.

Компонент спектра	Контроль N=6	Имитация курения 10 затяжек	Курение 10 затяжек	Орбит 10 мин (контроль)	Никоретте 4 мг 0-10м	Пэк 4 мг 27-35м	0-10 мин	37-45 мин
TP, мс ²	931+64	8408	6319	1290	963	703,5	739,4	739
HF, мс ²	134+11	972	732	53,6	36,7	47,6	104,5	107,8
LF, мс ²	387+27	7148	5309	408	521	368	495,4	474,5
VLF, мс ²	410+32	289	278	829	406	287,9	139,6	156,8
HF, %	14,4+1,1	11,6	11,6	4,2	3,8	6,8	14,1	14,6
LF, %	41,6+3,4	85	84	31,6	54,1	52,3	67	64,2
VLF, %	44+4,0	3,4	4,4	64,2	42,1	40,9	18,9	21,2
LFnu, %	74,3+3,1	88	87,9	88,4	93,4	88,5	82,6	81,5
HFnu, %	25,7+1,6	12	12,1	11,6	6,6	11,5	17,4	18,5
LF/HF	2,9+0,4	7,4	7,2	7,6	14,2	7,7	4,7	4,4
HF max, мс ²	16,6+3,7	401	343	4,6	4	6	14,6	13,6
LF max, мс ²	59,6+6,8	4341	3186	66,2	93	78,7	130,6	87,4
VLF max, мс ²	98,5+11,5	224	228	189	76,8	67,8	50,5	36,5
ИДМ, %	11,9+1,4	38	28,2	7,8	7,5	8,2	11,3	11,2

Необходимо сразу обратить внимание на глубокую связь респираторной составляющей с «симпатической» низкочастотной компонентой спектра (LF). При этом «парасимпатическая» HF компонента модулировалась дыханием в значительно меньшей степени, тогда как VLF практически не зависела от него.

При тестировании никотиновых оральных продуктов (жевательные резинки и пэки) также были обнаружены важные изменения. Имитация жевания никотиновой жвачки «Никоретте» производилась путем ее замены

на безникотиновую жевательную резинку Орбит со схожими вкусовыми характеристиками и параметрами жевания. Частота жевания контролировалась хронометром на уровне 35 жевательных движений в минуту.

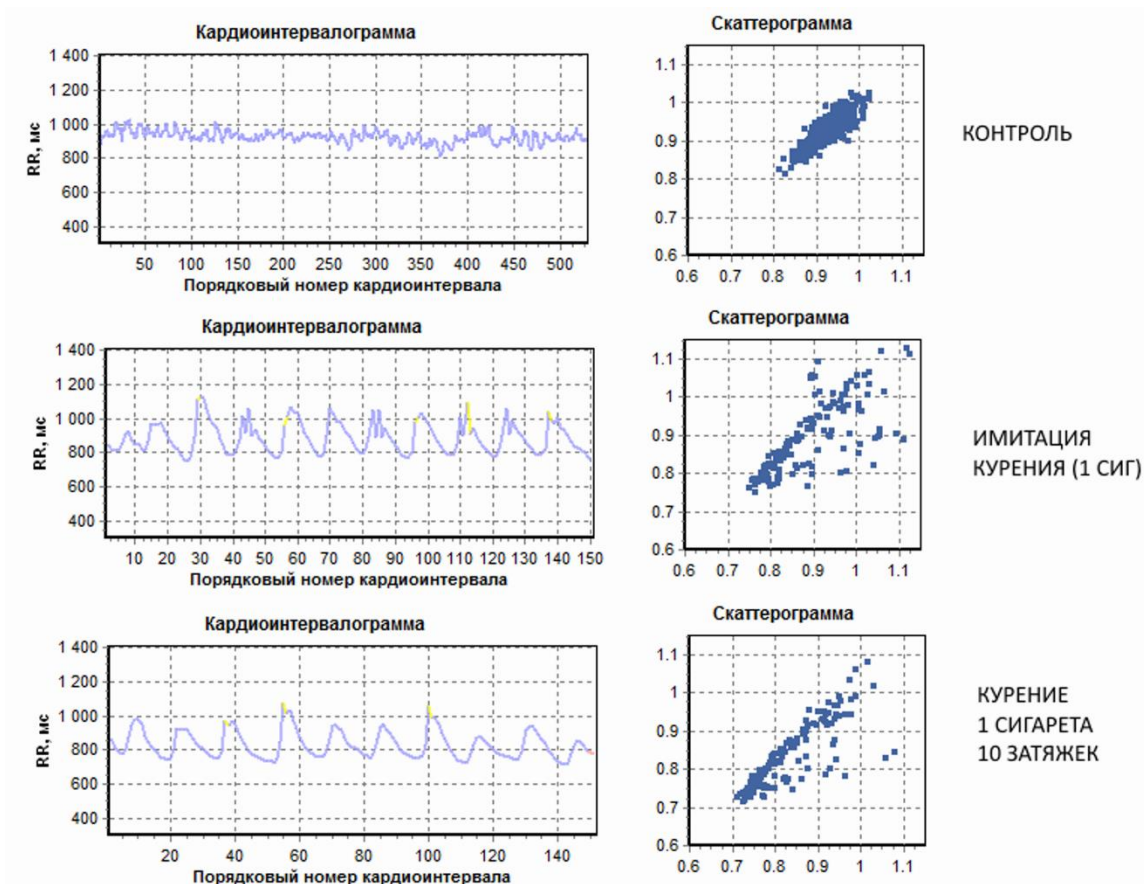


Рис. 7. Фрагменты кардиоинтервалограмм и соответствующих им скаттерограмм для курительной сессии и имитации курения (незажженная сигарета) длительностью 10 затяжек в интенсивном режиме (на каждый глубокий вдох – одна затяжка).

Характерным свойством жевания контрольной резинки было возрастание доли VLF, которая предположительно коррелирует с активностью медленных и длительных по времени эндокринно-гормональных процессов, и за счет которой возросла общая мощность спектра. Известно, что движения челюстью, характерные для пережевывания пищи, активируют систему пищеварения, увеличивая синтез гормонов и ферментов во всем пищеварительном тракте, включая слюну. На этом фоне

сочетание процесса жевания с поступлением в организм никотина можно рассматривать как замедление пищеварительных процессов (снижение доли VLF с 64 до 42%), что, видимо, как-то связано с известным фактом подавления аппетита у курильщиков [29]. Как было установлено в специальном исследовании [30] ни пероральное введение, ни внутривенное вливание 4 мг никотиновой основы в час, ни курение 3–5 сигарет в час существенно не изменяют барьер слизистой оболочки желудка, измеряемый ионными потоками в желудке и разностью потенциалов. Однако быстрое курение сигарет и внутривенное введение никотина подавляют выработку желудочной кислоты, замедляя процесс пищеварения.

В сравнении с Никоретте никотиновый пэк лишь фиксируется на десне без малейшей необходимости совершения жевательно-сосательных движений для экстракции никотина. Как результат, соотношение LF/HF в первые минуты контакта пэка со слизистой было существенно ниже (5.6), чем с Никоретте (14.2), и одновременно ближе к контрольным значениям. То есть, никотиновый пэк активирует симпатический отдел ВНС значительно слабее, чем жевательная резинка Никоретте, и главным образом за счет сохранения модуляции высокочастотной (парасимпатической) составляющей.

В опыте с никотиновым пэком снижение %VLF происходило наиболее радикально и главным образом за счет перераспределения спектральной мощности в область низкочастотных (дыхательных и симпатических) волн (%LF), то есть путем активации дыхательного центра, что не удивительно, так как никотиновые nAChR рецепторы обильно представлены в бронхолегочной системе [31]. Иными словами, поступая в кровь через слизистую ротовой полости (и частично органы пищеварения), никотин все равно оказывает заметное влияние на бронхолегочную систему. На это указывает и индекс дыхательной модуляции Каплана (ИДМ) в табл.1, который в опыте с никпэком оказался выше аналогичного показателя в обоих опытах с жевательными резинками.

Испытание никотиновых пэков при системном использовании.

Для исследования были выбраны никпэки с содержанием никотина 4 мг (аналог жевательной резинки Никоретте 4 мг). Доброволец из числа бывших курильщиков согласился принять участие в эксперименте, суть которого состояла в том, чтобы использовать за 6 часов 4 пэка по схеме 45 мин фиксация пэка в ротовой полости между верхней десной и губой плюс 45 мин восстановление (без пэка). Перед началом эксперимента, во время него и по его окончании производился забор венозной крови и слюны для контроля уровня котинина и никотина, а также различных биомаркеров. Во время эксперимента велся непрерывный контроль артериального давления, уровня сахара в крови и производился съем электрокардиограммы 8-и минутными интервалами для последующего анализа ВРС. Во время эксперимента испытуемому запрещалось принимать пищу за исключением чистой воды не более 2 раз по 150 мл.

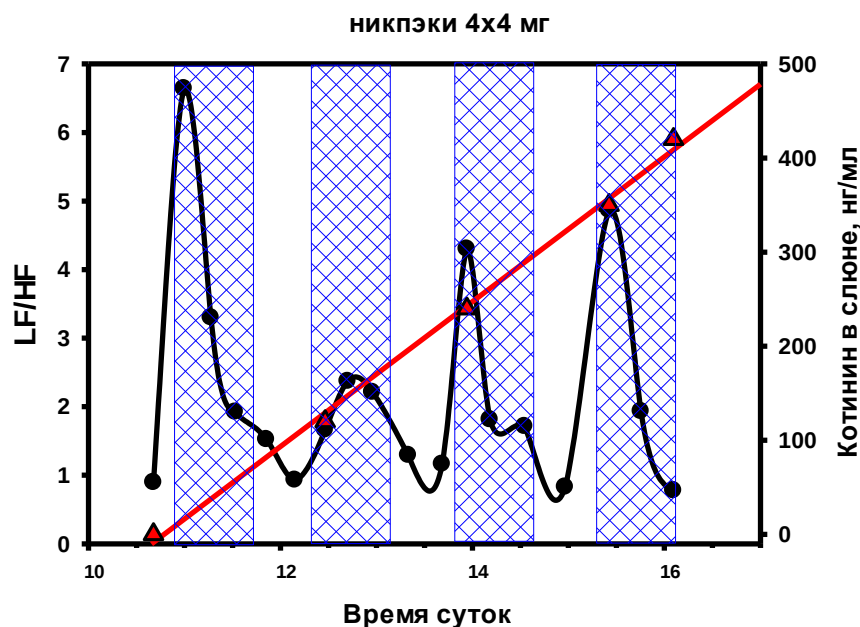


Рис. 8. Динамика котинина в слюне (красная прямая линия с треугольниками) и соотношения LF/HF (черная линия с кругами) в период испытания никпэков. Периоды фиксации пэков в ротовой полости отмечены синими заштрихованными областями.

Самый простой и часто используемый в практике показатель баланса ВНС в спектральном анализе представляет собой соотношение LF/HF. Из данных рис. 8 четко видно, что динамика баланса никак не связана с динамикой котинина в слюне. Однако есть один важный нюанс. Симпатическая активность у испытуемого резко возрастала сразу после начала использования никотинового пэка, и столь же быстро снижалась до нормальных (базовых) значений вне зависимости от содержания никотина в организме. Предварительные исследования показали, что в период фиксации пэка на верхней десне концентрация никотина в плазме достигает максимума лишь к 30-40-й минутам, то есть фактически к моменту удаления пэка из ротовой полости. Однако именно в эти периоды баланс ВНС полностью восстанавливался до исходного уровня, что принципиально отличает данный продукт от ингаляционных способов доставки никотина. Похоже, что ВНС добровольца реагировала совсем не на рост концентрации никотина в крови, а на какие-то иные факторы, имеющие психосоматическую природу. Изученный феномен не являлся уникальным только для этого добровольца, так как он встречался с некоторыми вариациями и у некоторых других испытуемых, главным образом из числа курящих.

Продолжая изучать результаты спектрального анализа ВРС, мы обратили внимание еще на ряд интересных моментов (рис. 9).

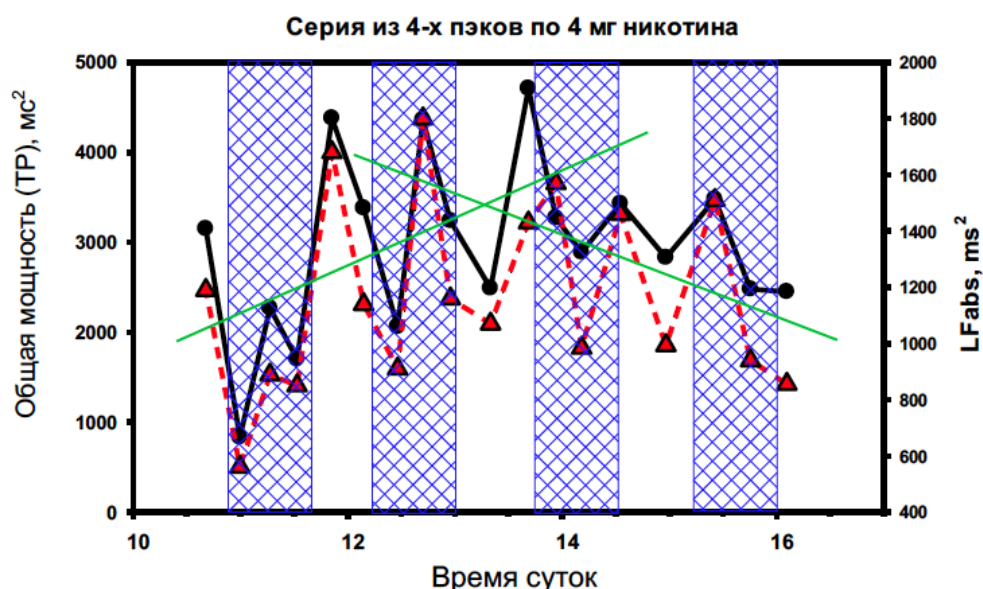


Рис. 9. Динамика показателей ВРС во время испытания серии из 4-х никотиновых пэков. Сплошная черная линия — динамика общей мощности спектра (TR); красная пунктирная линия — динамика низкочастотного компонента спектра (LF_{abs}). Зеленые линии — усредненные линии трендов обоих показателей на двух временных интервалах (в первой и второй половинах периода испытания).

Как видно из рис. 9, колебания двух показателей спектра, характеризующих общую активность ВНС, также происходили в очень широком диапазоне значений без какой-либо привязки к концентрации никотина в организме. Это особенно было заметно на начальном этапе тестирования (пэк №1), когда никотин, по сути, еще даже не поступил в кровь, а ВРС, тесно связанная с общей мощностью спектра и активностью ВНС, снижалась до аномально низких значений за счет активации центральных механизмов регуляции. В дальнейшем наблюдалась еще более интересная картина. Тренды обоих показателей синхронно росли всю первую половину испытания, после чего они резко изменили направление на противоположное. Очевидно, испытываемый стартовый стресс от раздражения десны в месте фиксации пэка, организм постепенно адаптировался к новой и непривычной форме потребления никотина.

Анализ корреляционных матриц между различными показателями ВРС на обоих участках показал интересную картину (рис. 10 и 11).

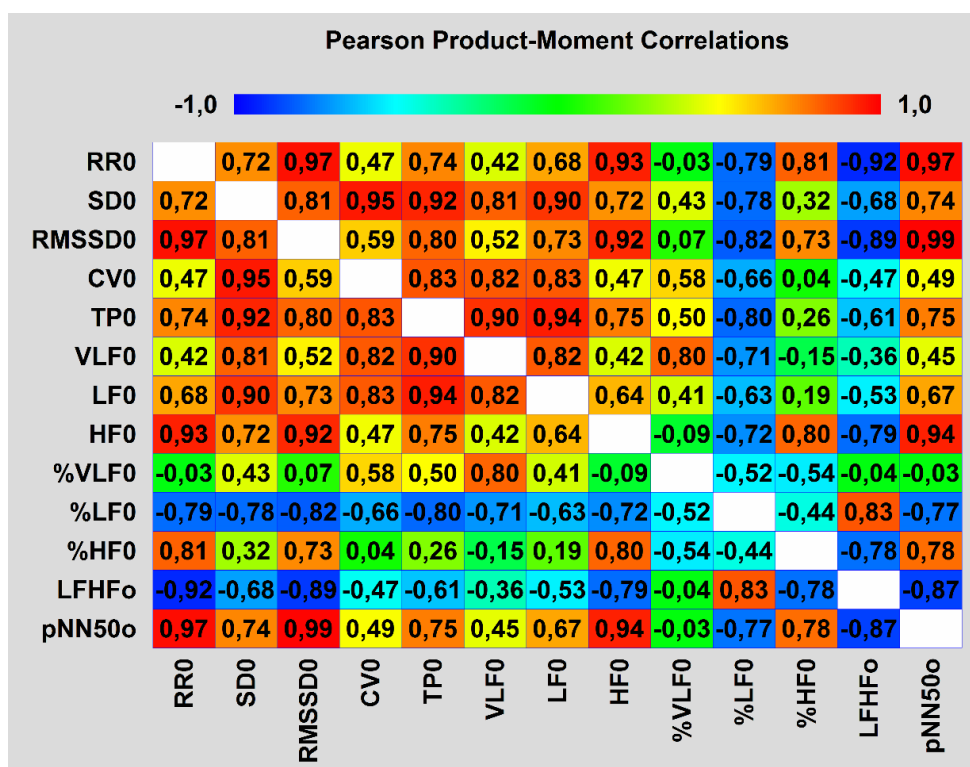


Рис. 10. Корреляционная матрица между показателями ВРС на начальном этапе (с индексом «0» на конце) испытания пэков в интервале 0-3 часа (до точки пересечения двух зеленых прямых линий трендов, соответствующей отметке 13 ч 30 мин, см. рис. 9).

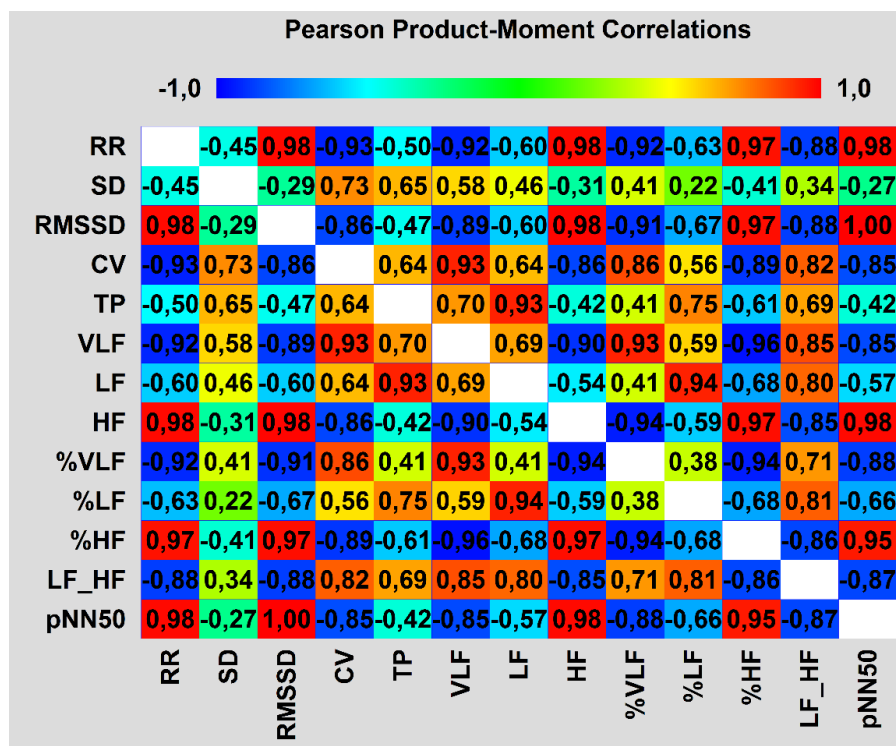


Рис. 11. Корреляционная матрица показателей ВРС на конечном этапе испытания от точки пересечения двух зеленых прямых линий трендов до завершения использования последнего пэка (см. рис. 9).

Главный, и в какой-то степени неожиданный, результат корреляционного анализа состоял в том, что и на восходящем, и на нисходящем тренде в период тестирования пэков длительность RR интервалов (и обратная ей величина ЧСС) контролировалась главным образом парасимпатической системой (коэффициенты корреляции с HF_{abs} , RMSSD и pNN50 близки к 1,0), и в значительно меньшей степени симпатической, что доказывает тесную связь вагусной стимуляции с фармакокинетикой (ФК) никотина. Если при курении никотин достигает своих пиковых концентраций в крови уже через 5-10 мин с момента первой затяжки сигаретой, то при использовании пэков оральной фиксации с умеренным содержанием никотина требуется гораздо больше времени, порядка 30-40 мин. Плавный рост уровня никотина в организме позволяет избежать резкого скачка симпатической активности (стресса надпочечников)

и, как результат, предупредить аномальный выброс гормонов стресса в крови и слюне (рис. 12). Из рис. 12 однозначно следует, что пэк с никотином 4 мг вызывал минимальные колебания эстрадиола и в особенности кортизола в слюне в течение полутора часов от начала использования пэка. Замер уровня гормонов производился в послеобеденное время с 14.30 до 16.00 часов, когда естественные колебания уровня этих гормонов минимальны. Установленные колебания гормонов были в границах физиологической нормы, что говорит о минимальном физиологическом стрессе у испытуемого в период тестирования никпэка.

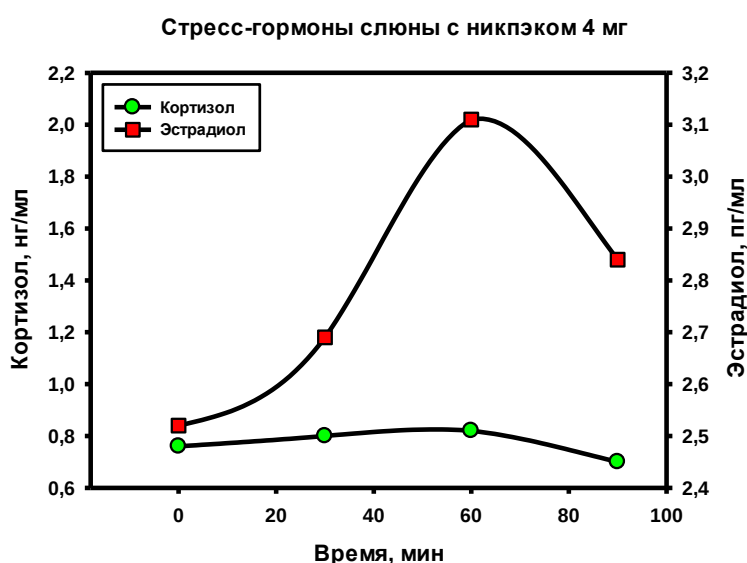


Рис. 12. Колебания уровня гормонов стресса кортизола и эстрадиола в слюне у добровольца в период тестирования пэка с никотином 4 мг. Верхние границы физиологических норм обоих гормонов с учетом времени суток, пола и возраста испытуемого составляют 2,2 нг/мл и 4,6 пг/мл соответственно для кортизола и эстрадиола.

Подводя промежуточный итог данного эксперимента, следует особо подчеркнуть, что вегетативный баланс, нарушенный системным использованием оральных пэков с умеренным содержанием никотина, имеет свойство быстро и полностью восстанавливаться без какой-либо связи с концентрацией никотина. Это указывает на отсутствие негативных системных сдвигов в функционировании ВНС при том, что общее

количество никотина, поступившего в организм испытуемого за 6 часов эксперимента, теоретически могло достигать 16 мг, что эквивалентно выкуриванию пачки выше среднего по крепости сигарет. Однако следует убедиться, что и другие показатели не выходили за рамки физиологической нормы.

Известно, что никотин и курение могут влиять на сердечно-сосудистую систему повышением артериального давления опосредованно через активацию симпатического отдела ВНС. Механизмы, лежащие в основе острых симпатомиметических эффектов никотина, сложны. Никотин оказывает прямое фармакологическое воздействие на периферические постганглионарные симпатические нервные окончания, что приводит к увеличению выброса норадреналина. Высвободившийся норадреналин в сердечной ткани взаимодействует с β -адренергическими рецепторами, вызывая повышение ЧСС и контрактильность; аналогично в сосудистой ткани норадреналин связывается с α -адренергическими рецепторами, вызывая сужение сосудов. Наоборот, в головном мозге, действуя на симпатические нервные окончания, также опосредованно через выброс норадреналина, никотин расширяет сосуды NO-зависимым механизмом [32].

Установлено, что постганглионарное возбуждение периферических симпатических нервов может быть подавлено у молодых людей, у которых прессорный эффект, опосредованный высвобождением экзоцитотического норэпинефрина, активирует регулирующие барорефлексы в петле отрицательной обратной связи [33]. Барорефлексы оказывают острый симпатоингибирующий эффект, тем самым восстанавливая артериальное давление до его нормального уровня [34]. Исследования курильщиков подтвердили, что активация барорефлекса за счет реакции прессора маскирует увеличение движения постганглионарных симпатических нервов после курения сигареты [35]. Однако у возрастных курильщиков с ослабленными барорефлексами курение сопровождается увеличением симпатического трафика [36]. Таким образом, хотя симпато-возбуждающие эффекты курения могут быть рефлексивно подавлены у здоровых молодых

людей с неповрежденными барорефлексами, симпато-возбуждение может быть избыточным (и, следовательно, потенциально более летальным) у пожилых курильщиков с ослабленной функцией барорефлекса.

Опираясь только на тесную взаимосвязь между интенсивностью симпатического возбуждения и барорефлексами, нам сложно было объяснить наблюдаемую картину изменений артериального давления (АД) у испытуемого на фоне использования никотиновых пэков (рис. 13 и 14). Учитывая, что баланс LF/HF быстро восстанавливался до базового уровня после начальных резких скачков при системном использовании пэков, следовало бы говорить о нормальной функции барорефлексов. Более того, как видно из данных рис. 13, САД после мгновенного стартового скачка так же быстро снизилось, хотя полного возврата к исходному уровню в дальнейшем так и не последовало при полном отсутствии корреляций динамики САД с динамикой показателей ВРС. Что интересно, диастолическое давление (ДАД) при этом практически не менялось (рис. 14).

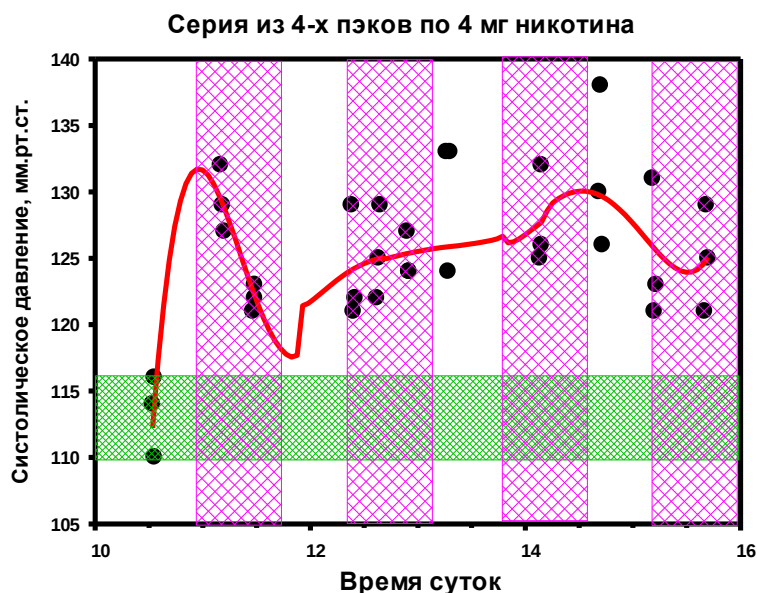


Рис. 13. Изменение систолического АД (САД) в период испытания НИКПЭКОВ.

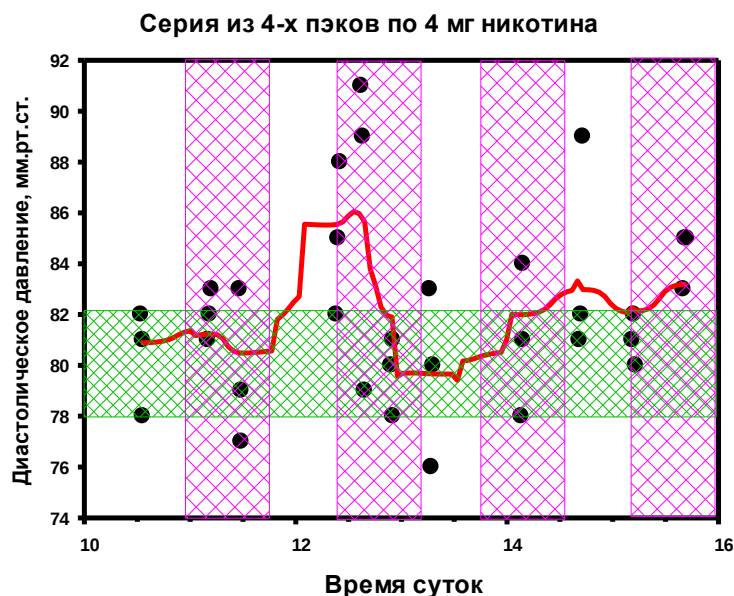


Рис. 14. Изменение диастолического АД (ДАД) в период испытания никпэков.

Возможно, что ответ на вопрос о росте исключительно систолического АД следовало искать в гормонах и, прежде всего, в нейrogормонах. Мы изучили динамику некоторых гормонов в крови у данного добровольца в ответ на использование пэка с несколько большим содержанием никотина (5,6 мг), чем использовался в предыдущем эксперименте (табл.2). Характерно, что кроме резкого роста уровня дофамина и умеренного роста серотонина каких-либо других аномальных или значительных изменений не происходило. Колебания норадреналина были не столь высоки, как того ожидалось, а уровень адреналина был вообще стабильным.

Таблица 2. Динамика гормонов в крови в период испытания пэка

Гормон	0 час (Контр)	1 час	2 часа	Границы нормы	
				минимум	максимум
Адреналин, пг/мл	42	47	46	0	110
Норадреналин, пг/мл	308	344	395	70	750
Дофамин, пг/мл	5	334	530	0	87
Серотонин, нг/мл	136	184	194	50	220
АКТГ, пг/мл	8,5	8,95	8	5	46
СТГ, нг/мл	1,44	0,07	0,64	0	8,00

Характерно, что и уровень АКТГ в течение первого часа использования пэка также не менялся. Похоже, что ось гипоталамус-гипофиз-надпочечники была минимально активирована в ответ на воздействие никотина в данной форме потребления. Другое дело - резкий скачок дофамина. Дофамин наряду с серотонином мог играть важную физиологическую роль, обладая некоторым адренергическим действием. Выброс дофамин, как известно, тесно связан с активацией никотин-холинергической системы [37]. Нейрогормон вызывает повышение сопротивления периферических сосудов (менее сильное, чем под влиянием норадреналина) и **исключительно систолического артериального давления** в результате стимуляции α -адренорецепторов, не влияя на диастолическое давление. Также он умеренно увеличивает силу сердечных сокращений через механизм стимуляции β -адренорецепторов, обладая при этом гипотензивным действием [38].

Дофамин является одним из химических факторов внутреннего подкрепления (ФВП) и служит важной частью «системы вознаграждения» мозга, поскольку вызывает чувство «ожидания удовольствия» (или удовлетворения), параллельно влияя на процессы мотивации и обучения [39]. Дофамин естественным образом вырабатывается в больших количествах во время положительного, по субъективному представлению человека, опыта, например, от приёма вкусной пищи, приятных телесных ощущений и т. д. [40]. Его высвобождение сигнализирует мозгу о приятном опыте и имеет

решающее значение для формирования никотиновой зависимости или появления характерного для бросающих курить синдрома отмены. Учитывая, что в нашем эксперименте с никотиновыми пэками уровень гормонов стресса в слюне и крови испытуемого мало менялся, можно сделать вывод, что наблюдаемые физиологические эффекты (небольшой рост систолического давления на фоне резкого подъема дофамина и изменение ВРС) были связаны преимущественно с позитивным психоэмоциональным возбуждением. Можно также сказать, что психоэмоциональная реакция испытуемого на никотиновые пэки несколько опережала во времени физиологические эффекты никотина. Очевидно, у курильщика со стажем за многие годы курения сигарет вырабатывается психический рефлекс на быстрое (ударное) поступление никотина в мозг, ассоциированное с курением сигареты, и данные рефлексy отчасти воспроизводятся даже при медленном нарастании концентрации никотина при совершенно иных формах его доставки.

Значение дофамина и дофаминовых рецепторов в модуляции ВНС было детально изучено на крысах [41]. Стимуляция серотонинергической системы вызывала значительное увеличение ЧСС и снижение амплитуды всех волн частотного спектра ВРС. Стимуляция дофаминергической системы приводила к умеренному увеличению ЧСС и амплитуд низкочастотных (LF) и очень низкочастотных (VLF) волн ВРС. Авторы предположили, что серотониновая и дофаминергическая системы влияют на сердечный ритм через рецепторы кардиомиоцитов и через модуляцию активности адренергической и холинергической систем. Эффекты серотониновой и дофаминергической систем можно рассматривать как синергические в ЦНС и антагонистические на периферии. Блокируя никотиновые рецепторы, авторы установили, что дофаминовая стимуляция модулирует ВРС исключительно через периферические механизмы, тогда как серотонин действует на гуморальном и нейрональном уровнях, вовлекая системные и локальные механизмы.

Выводы из работы

Как известно, фармакодинамика никотина, как и многих других биологически активных веществ, во многом определяется его фармакокинетикой. Никотин в пероральной форме позволяет избежать мгновенного скачка уровня никотина в крови и мозге, как это обычно наблюдается после курения сигарет, в том числе электронных, и систем нагревания табака. Как показало недавнее исследование, проведенное с участием здоровых курильщиков, артериальное давление, но не ЧСС, может увеличиваться даже после использования безникотиновых ЭС [42], что весьма сложно объяснить чисто с физиологической точки зрения. Не исключено, что определенную роль в эффектах, связанных с употреблением никотиновых продуктов и безникотиновых имитаторов курения играет психосоматика, инструментом изучения которой как раз и является анализ ВРС.

Хотя никотин влияет на активность симпатического отдела ВНС, стимулируя высвобождение катехоламинов, не стоит забывать, что никотин по своей природе является прежде всего холиномиметиком, а никотиновые nAChR рецепторы широко и плотно распределены по всему организму. Другой аспект влияния никотина на организм связан с тем, что он оказывает бимодальное дозозависимое воздействие почти на все органы на ганглионарном уровне. В низких дозах он стимулирует вегетативные ганглии и облегчает передачу импульсов, тогда как при более высоких дозах за начальной стимуляцией следует ганглионарная блокада.

В настоящее время ведутся неутихающие споры о том, какую роль играет никотин в патофизиологии атеросклероза и может ли он ускорять сосудистые заболевания. Существует несколько механизмов негативного влияния никотина на сердечно-сосудистую систему. Никотин может вызвать сильные симпатомиметические эффекты, уменьшить коронарный кровоток, нарушить функцию эндотелия, усилить воспаление и ангиогенез, а также вызвать резистентность к инсулину [43]. Эпидемиологические данные, которые соответствуют этим результатам, немногочисленны, поскольку

большинство людей склонны использовать табачные изделия, а не продукты, содержащие только никотин. По этой причине нет оснований искать причинно-следственные связи и ставить знак равенства между эффектами, вызванными курением или другими табачными изделиями, и теми, которые возникают исключительно по «вине» никотина.

Исследованные в нашей работе никотиновые пэки показали, что данный тип продукции можно смело отнести к одной из наиболее безопасных и удобных форм потребления никотина, с единственной поправкой, что содержание никотина в них не превышает разумных пределов. Другой важный вывод состоит в том, что никотин, пусть даже в самой удобной форме и полном отсутствии вредных примесей, все равно остается фармакологически активным соединением, которое активирует огромное количество рецепторов по всему организму, влияя на самые разные функции. Изучая работу ВНС, как это было сделано в нашем исследовании, и совмещая ее с обычной клинической практикой обследований, можно быстрее и эффективнее оценить последствия использования нового типа продукта на персональном уровне.

Относительно длинная история изучения снюса дает ценный опыт для прогнозирования рисков, связанных с другими оральными никотиновыми продуктами, такими как бестабачные никотиновые пэки, которые только недавно появились на мировом и отечественном рынках. Хотя у потребителей снюса ниже риск заболеваний раком легкого, чем у курящих, оральная форма потребления табака связана с повышенной смертностью после инфаркта миокарда и инсульта, а также с повышенным риском диабета II типа [44]. Вместе с тем, было показано, что трансдермальная заместительная никотиновая терапия, по-видимому, безопасна даже для пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями [45]. Последний факт внушает некоторый оптимизм и в отношении бестабачных никотиновых пэков оральной фиксации. Растянутая во времени экстракция никотина при использовании пэков хоть и не такая плавная, как в случае с трансдермальными пластырями, тем не менее она позитивно отличается от

скорости абсорбции никотина, присущей ингаляционным формам его потребления, будь то обычные сигареты, электронные или системы нагревания табака. С другой стороны, в отличие от снюса никпэки не содержат табак, что должно дополнительно снизить биологические риски, связанные с их использованием.

Другой важный практический вывод, который можно сделать по результатам нашего исследования состоит в том, что анализ активности ВНС в рамках программы отказа от курения дает возможность оперативно и объективно оценить стрессовое состояние курильщика и подобрать оптимальную альтернативу обычным сигаретам, что в конечном итоге увеличит шансы окончательно победить курение и снизить риски онкологических заболеваний, вызванных воздействием сигаретного дыма.

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 19-53-18019).

Список литературы

1. *De Biasi M.* Nicotinic mechanisms in the autonomic control of organ systems // *J neurobiol.* - 2002. – Vol.53, No. 4. – P. 568–579.
2. *Lang K., Bastian P.* Neurotransmitter effects on tumor cells and leukocytes // *Prog Exp Tumor Res.* – 2007. – Vol.39, No. 99. – P.121.
3. *Barbieri A., Bimonte S., Palma G., Luciano A., Rea D., Giudice A., Scognamiglio G., La Mantia E., Franco R., Perdonà S., De Cobelli O., Ferro M., Zappavigna S., Stiuso P., Caraglia M., Arra C.* The stress hormone norepinephrine increases migration of prostate cancer cells in vitro and in vivo // *Int J Oncol.* – 2015. – Vol.47, No.2. – P. 527-534.
4. *Borovikova L., Ivanova S., Zhang M., Yang H., Botchkina G., Watkins L., Wang H., Abumrad N., Eaton J., Tracey K.* Vagus nerve stimulation attenuates the systemic inflammatory response to endotoxin // *Nature.* – 2000. – Vol.405. – P.458–462.

5. *De Couck M., Gidron Y.* Norms of vagal nerve activity, indexed by heart rate variability, in cancer patients // *Cancer Epidemiol.* – 2013. – Vol.37, No.5. – P.737–741.
6. *Walsh D., Nelson K.* Autonomic nervous system dysfunction in advanced cancer // *Support Care Cancer.* – 2002. – Vol.10, No.7. – P.523–528.
7. *Hansen M., Rosenberg J., Gogenur I.* Lack of circadian variation and reduction of heart rate variability in women with breast cancer undergoing lumpectomy: a descriptive study // *Breast Cancer Res Treat.* – 2013. – Vol.140, No.2. – P.317–322.
8. *Mouton C., Ronson A., Razavi D., Delhay F., Kupper N., Paesmans M., Moreau M., Nogaret J-M., Hendlitz A, Gidron Y.* The relationship between heart rate variability and time-course of carcinoembryonic antigen in colorectal cancer // *Auton Neurosci.* – 2012. – Vol.166, No.1-2. – P.96–99.
9. *Schuller H.* Impact of Neuro-Psychological Factors on Smoking-Associated Lung Cancer // *Cancers.* – 2014. – Vol. 6, No.1. – P. 580-594.
10. *Cryer P., Haymond M., Santiago J., Shah S.* Norepinephrine and epinephrine release and adrenergic mediation of smoking-associated hemodynamic and metabolic events // *N Engl J Med.* – 1976. -Vol.295, No.11. – P.573-577.
11. *Hu S., Lou J., Zhang Y., Chen P.* Low heart rate variability relates to the progression of gastric cancer // *World J Surg Oncol.* – 2018. – Vol.16, No.1. – P.49.
12. *Drawz P., Babineau D., Brecklin C, He J., Kallem R., Soliman E., Xie D., Appleby D., Anderson A., Rahman M., CRIC Study Investigators.* Heart rate variability is a predictor of mortality in chronic kidney disease: a report from the CRIC Study // *Am J Nephrol.* – 2013. – Vol.38, No.6. – P.517-528.
13. *Murgia F., Melotti R., Foco L., Gögele M., Meraviglia V., Motta B., Steger A., Toifl M., Sinnecker D., Müller A., Merati G., Schmidt G., Rossini A., Pramstaller, P., Pattaro C.* Effects of smoking status, history and intensity on heart rate variability in the general population: The CHRIS study // *PLoS One.* – 2019. – Vol.14, No.4. – P.e0215053

14. *Geisler F., Kubiak T., Siewert K.* Cardiac vagal tone is associated with social engagement and self-regulation // *Biol Psychol.* – 2013. – Vol.93, No.2. – P. 279–286.
15. *Ram Manohar P., Sorokin O., Chacko J., Nampoothiri V.* An exploratory clinical study to determine the utility of heart rate variability analysis in the assessment of dosha imbalance // *J Ayurv integr med.* – 2018. – Vol.9, No.2. – P. 126–130.
16. *Zhang C., Wang Z., Dong J., Pan R., Qiu H., Zhang J., Zhang P., Zheng J., Yu W.* Bilirubin modulates acetylcholine receptors in rat superior cervical ganglionic neurons in a bidirectional manner // *Scientific reports.* – 2014. – Vol.4. – P. 7475.
17. *Macmillan C., Wildsmith J., Hamilton W.* Reversible increase in QT dispersion during carbon monoxide poisoning // *Acta Anaesthesiol Scand.* – 2001. – Vol.45. – P.396–397.
18. *Dallas M., Yang Z., Boyle J., Boycott H., Scragg J., Milligan C., Elies J., Duke A., Thireau J., Reboul C., Richard S., Bernus O., Steele D., Peers C.* Carbon monoxide induces cardiac arrhythmia via induction of the late Na⁺ current // *Am J Respir Crit Care Med.* – 2012. – Vol.186, No.7. – P.648–656.
19. *Andre L., Boissière J., Reboul C., Perrier R., Zalvidea S., Meyer G., Thireau J., Tanguy S., Bideaux P., Hayot M., Boucher F., Obert P., Cazorla O., Richard S.* Carbon monoxide pollution promotes cardiac remodeling and ventricular arrhythmia in healthy rats // *Am J Respir Crit Care Med.* – 2010. – Vol.181, No.6. – P. 587–595.
20. *Reboul C., Thireau J., Meyer G., André L., Obert P., Cazorla O., Richard S.* Carbon monoxide exposure in the urban environment: an insidious foe for the heart? // *Respir Physiol Neurobiol.* – 2012. – Vol.184, No.2. – P.204-212.
21. *Schultz H.* The paradox of carbon monoxide and the heart // *Am J Respir Crit Care Med.* – 2012. – Vol.186, No.7. – P.582-583.
22. *Fowler J., Logan J., Wang G., Volkow N.* Monoamine oxidase and cigarette smoking // *Neurotoxicology.* – 2003. – Vol.24, No.1. – P.75-82.

23. *Holschneider D., Scremin O., Chialvo D., Chen K., Shih J.* Heart rate dynamics in monoamine oxidase-A- and -B-deficient mice. *Am J Physiol. Heart Circul Physiol.* - 2002. – Vol.282, No.5. - H1751–H1759.
24. *Dagnon S., Stoilova A., Ivanov I., Nikolova S.* The Effect of Cigarette Design on the Content of Phenols in Mainstream Tobacco Smoke // *Beitrage zur Tabakforschung International/ Contributions to Tobacco Research.* – 2010. – No.24. – P.187-193.
25. *Youdim K., Shukitt-Hale B., Joseph J.* Flavonoids and the brain: Interactions at the blood-brain barrier and their physiological effects on the central nervous system // *Free Radical Bio Med.* – 2004. – Vol.37. – P.1683-1693.
26. *Aura A.* Microbial metabolism of dietary phenolic compounds in the colon // *Phytochem Rev.* – 2008. – Vol.7. – P.407-429.
27. *Filosa S., Di Meo F., Crispi S.* Polyphenols-gut microbiota interplay and brain neuromodulation // *Neural Regen Res.* – 2018. – Vol.13. – P.2055-2059.
28. *Duarte A., Mostarda C., Irigoyen M., Rigatto K.* A single dose of dark chocolate increases parasympathetic modulation and heart rate variability in healthy subjects // *Revista de Nutrição.* – 2016. – Vol.29, No.6. - 765-773.
29. *Jessen A., Buemann B., Toubro S., Skovgaard I., Astrup A.* The appetite-suppressant effect of nicotine is enhanced by caffeine // *Diabetes, obesity & metabolism.* – 2005. – Vol.7, No.4. – P. 327–333.
30. *Ivey K., Triggs E.* Absorption of nicotine by the human stomach and its effect on gastric ion fluxes and potential difference // *Digest Dis Sci.* – 1978. – Vol.23. – P. 809–814.
31. *Kummer W., Lips K., Pfeil U.* The epithelial cholinergic system of the airways // *Histochem Cell Biol.* – 2008. – Vol.130. – P.219-234.
32. *Lee T., Zhang W., Sarwinski S.* Presynaptic beta(2)-adrenoceptors mediate nicotine-induced NOergic neurogenic dilation in porcine basilar arteries // *Am J Physiol. Heart Circul Physiol.* – 2000. – Vol. 279, No.2. - H808–H816.
33. *Narkiewicz K., van de Borne P., Hausberg M., Cooley R., Winniford M., Davison D., Somers V.* Cigarette smoking increases sympathetic outflow in humans // *Circulation.* – 1998. – Vol. 98. – P.528–534.

34. *Middlekauff H., Park J., Moheimani R.* Adverse effects of cigarette and noncigarette smoke exposure on the autonomic nervous system: mechanisms and implications for cardiovascular risk // *J Am Coll Cardiol.* – 2014. – Vol. 64. – P.1740–1750.
35. *Grassi G., Seravalle G., Calhoun D., Bolla G., Giannattasio C., Marabini M., Del Bo A., Mancina G.* Mechanisms responsible for sympathetic activation by cigarette smoking in humans // *Circulation.* – 1994. – Vol. 90. – P.248–253.
36. *Hering D., Somers V., Kara T., Kucharska W., Jurak P., Bieniaszewski L., Narkiewicz K.* Sympathetic neural responses to smoking are age dependent // *J Hypertens.* – 2006. – Vol.24. – P.691–695.
37. *Cachope R., Mateo Y., Mathur B., Irving J., Irving, J., Wang, H., Morales M., Lovinger D., Cheer J.* Selective activation of cholinergic interneurons enhances accumbal phasic dopamine release: setting the tone for reward processing // *Cell Rep.* – 2012. – No. 2. – P. 33–41.
38. *Prieto J., Quevedo M., Kutz M., Pérez Olea J.* Influencia vagal en las arritmias experimentales por dopamina [Vagal influence in experimental arrhythmias caused by dopamine] // *Archivos del Instituto de Cardiología de Mexico.* – 1985. – Vol.55, No.5. – P. 395–398.
39. *Mohebi A., Pettibone J., Hamid A., Wong J., Vinson L., Patriarchi T., Tian L., Kennedy R., Berke J.* Dissociable dopamine dynamics for learning and motivation // *Nature.* – 2019. – Vol.570, No.7759. – P.65–70.
40. *Bressan R., Crippa J.* The role of dopamine in reward and pleasure behaviour--review of data from preclinical research // *Acta Psychiatr Scand Suppl.* – 2005. - Vol.427. – P.14-21.
41. *Kur'yanova E., Stupin V., Tryasuchev A., Teplyi D.* Effects of Blockage of Peripheral Choline, Serotonin, and Dopamine Receptors on Heart Rhythm Variability in Rats under Conditions of Stimulation of Neurotransmitter Systems // *Bulletin of experimental biology and medicine.* – 2019. – Vol.168, No.2. – P. 193–198.

42. *Antoniewicz L., Brynedal A., Hedman L., Lundback M., Bosson J.* Acute effects of electronic cigarette inhalation on the vasculature and the conducting airways // *Cardiovasc Toxicol.* – 2019. – Vol.19. – P.441–450.
43. *Lee J., Cooke J.* The role of nicotine in the patho-genesis of atherosclerosis // *Atherosclerosis.* – 2011. – Vol.215, No.2. – P.281–283.
44. *Hansson J., Galanti M., Hergens M., Fredlund P., Ahlbom A., Alfredsson L., Bellocco R., Eriksson M., Hallqvist J., Hedblad B., Jansson J., Nilsson P., Pedersen N., Trolle Lagerros Y., Ostergren P., Magnusson C.* Use of snus and acute myocardial infarction: Pooled analysis of eight prospective observational studies // *European Journal of Epidemiology.* – 2012. – Vol.27, No.10. – P. 771–779.
45. *Joseph A., Norman S., Ferry L., Prochazka A., Westman E., Steele B., Sherman S., Cleveland M., Antonuccio D., Hartman N., McGovern P.* The safety of trans-dermal nicotine as an aid to smoking cessation in patients with cardiac disease // *The New England Journal of Medicine.* – 1996. – Vol. 335, No.24. – P.1792–1798.

References

1. *De Biasi M.* Nicotinic mechanisms in the autonomic control of organ systems. *Journal of neurobiology.* 2002 Dec;53(4):568-79. doi: 10.1002/neu.10145.
2. *Lang K., Bastian P.* Neurotransmitter effects on tumor cells and leukocytes. In *Neuronal Activity in Tumor Tissue 2007* (Vol. 39, pp. 99-121). Karger Publishers. doi: 10.1159/000100070.
3. *Barbieri A., Bimonte S., Palma G., Luciano A., Rea D., Giudice A., Scognamiglio G., La Mantia E., Franco R., Perdonà S., De Cobelli O.* The stress hormone norepinephrine increases migration of prostate cancer cells in vitro and in vivo. *International journal of oncology.* 2015 Aug 1;47(2):527-34. doi: 10.3892/ijo.2015.3038.
4. *Borovikova L.V., Ivanova S., Zhang M., Yang H., Botchkina G.I., Watkins L.R., Wang H., Abumrad N., Eaton J.W., Tracey K.J.* Vagus nerve stimulation

attenuates the systemic inflammatory response to endotoxin. *Nature*. 2000 May;405(6785):458-62. doi: 10.1038/35013070.

5. *De Couck M., Gidron Y.* Norms of vagal nerve activity, indexed by Heart Rate Variability, in cancer patients. *Cancer Epidemiology*. 2013 Oct 1;37(5):737-41. doi: 10.1016/j.canep.2013.04.016.
6. *Walsh D., Nelson K.A.* Autonomic nervous system dysfunction in advanced cancer. *Supportive care in cancer*. 2002 Oct 1;10(7):523-8. doi: 10.1007/s00520-002-0376-x.
7. *Hansen M.V., Rosenberg J., Gögenur I.* Lack of circadian variation and reduction of heart rate variability in women with breast cancer undergoing lumpectomy: a descriptive study. *Breast cancer research and treatment*. 2013 Jul 1;140(2):317-22. doi: 10.1007/s10549-013-2631-x.
8. *Mouton C., Ronson A., Razavi D., Delhaye F., Kupper N., Paesmans M., Moreau M., Nogaret J.M., Hendlisch A., Gidron Y.* The relationship between heart rate variability and time-course of carcinoembryonic antigen in colorectal cancer. *Autonomic neuroscience*. 2012 Jan 26;166(1-2):96-9. doi: 10.1016/j.autneu.2011.10.002.
9. *Schuller H.M.* Impact of neuro-psychological factors on smoking-associated lung cancer. *Cancers*. 2014 Mar;6(1):580-94. doi: 10.3390/cancers6010580.
10. *Cryer P.E., Haymond M.W., Santiago J.V., Shah S.D.* Norepinephrine and epinephrine release and adrenergic mediation of smoking-associated hemodynamic and metabolic events. *New England journal of medicine*. 1976 Sep 9;295(11):573-7. doi: 10.1056/NEJM197609092951101.
11. *Hu S., Lou J., Zhang Y., Chen P.* Low heart rate variability relates to the progression of gastric cancer. *World journal of surgical oncology*. 2018 Dec;16(1):49. doi: 10.1186/s12957-018-1348-z.
12. *Drawz P.E., Babineau D.C., Brecklin C., He J., Kallem R.R., Soliman E.Z., Xie D., Appleby D., Anderson A.H., Rahman M.* CRIC Study Investigators. Heart rate variability is a predictor of mortality in chronic kidney disease: a report from the CRIC Study. *American journal of nephrology*. 2013;38(6):517-28. doi: 10.1159/000357200.

13. *Murgia F., Melotti R., Foco L., Gögele M., Meraviglia V., Motta B., Steger A., Toifl M., Sinnecker D., Müller A., Merati G.* Effects of smoking status, history and intensity on heart rate variability in the general population: The CHRIS study. *PloS one*. 2019;14(4). doi: 10.1371/journal.pone.0215053.
14. *Geisler F.C., Kubiak T., Siewert K., Weber H.* Cardiac vagal tone is associated with social engagement and self-regulation. *Biological psychology*. 2013 May 1;93(2):279-86. doi: 10.1016/j.biopsycho.2013.02.013.
15. *Manohar P.R., Sorokin O., Chacko J., Nampoothiri V.* An exploratory clinical study to determine the utility of heart rate variability analysis in the assessment of dosha imbalance. *Journal of Ayurveda and integrative medicine*. 2018 Apr 1;9(2):126-30. doi: 10.1016/j.jaim.2017.06.008.
16. *Zhang C., Wang Z., Dong J., Pan R., Qiu H., Zhang J., Zhang P., Zheng J., Yu W.* Bilirubin modulates acetylcholine receptors in rat superior cervical ganglionic neurons in a bidirectional manner. *Scientific reports*. 2014 Dec 15;4(1):1-8. doi: 10.1038/srep07475.
17. *Macmillan C., Wildsmith J., Hamilton W.* Reversible increase in QT dispersion during carbon monoxide poisoning // *Acta Anaesthesiol Scand*. - 2001. - Vol.45. - P.396-397. doi: 10.1034/j.1399-6576.2001.045003396.x.
18. *Dallas M.L., Yang Z., Boyle J.P., Boycott H.E., Scragg J.L., Milligan C.J., Elies J., Duke A., Thireau J., Reboul C., Richard S.* Carbon monoxide induces cardiac arrhythmia via induction of the late Na⁺ current. *American journal of respiratory and critical care medicine*. 2012 Oct 1;186(7):648-56. doi: 10.1164/rccm.201204-0688OC.
19. *Andre L., Boissière J., Reboul C., Perrier R., Zalvidea S., Meyer G., Thireau J., Tanguy S., Bideaux P., Hayot M., Boucher F.* Carbon monoxide pollution promotes cardiac remodeling and ventricular arrhythmia in healthy rats. *American journal of respiratory and critical care medicine*. 2010 Mar 15;181(6):587-95. doi: 10.1164/rccm.200905-0794OC.
20. *Reboul C., Thireau J., Meyer G., André L., Obert P., Cazorla O., Richard S.* Carbon monoxide exposure in the urban environment: an insidious foe for the

heart? Respiratory physiology & neurobiology. 2012 Nov 15;184(2):204-12. doi: 10.1016/j.resp.2012.06.010.

21. *Schultz H.D.* The paradox of carbon monoxide and the heart. American journal of respiratory and critical care medicine. 2012;186 (7):582-583. doi: 10.1164/rccm.201207-1341ED.
22. *Fowler J.S., Logan J., Wang G.J., Volkow N.D.* Monoamine oxidase and cigarette smoking. Neurotoxicology. 2003 Jan 1;24(1):75-82. doi: 10.1016/S0161-813X(02)00109-2.
23. *Holschneider D.P., Scremin O.U., Chialvo D.R., Chen K., Shih J.C.* Heart rate dynamics in monoamine oxidase-A-and-B-deficient mice. American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology. 2002 May 1;282(5):H1751-9. doi: 10.1152/ajpheart.00600.2001.
24. *Dagnon S., Stoilova A., Ivanov I., Nikolova S.* The Effect of Cigarette Design on the Content of Phenols in Mainstream Tobacco Smoke. Beiträge zur Tabakforschung International/Contributions to Tobacco Research. 2011 Jan 1;24(4):187-93. doi: 10.2478/cttr-2013-0896.
25. *Youdim K.A., Shukitt-Hale B., Joseph J.A.* Flavonoids and the brain: interactions at the blood–brain barrier and their physiological effects on the central nervous system. Free Radical Biology and Medicine. 2004 Dec 1;37(11):1683-93. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2004.08.002
26. *Aura A.M.* Microbial metabolism of dietary phenolic compounds in the colon. Phytochemistry Reviews. 2008 Oct 1;7(3):407-29. doi: 10.1007/s11101-008-9095-3.
27. *Filosa S., Di Meo F., Crispi S.* Polyphenols-gut microbiota interplay and brain neuromodulation. Neural regeneration research. 2018 Dec;13(12):2055. doi: 10.4103/1673-5374.241429.
28. *Duarte A.A., Mostarda C., Irigoyen M.C., Rigatto K.* A single dose of dark chocolate increases parasympathetic modulation and heart rate variability in healthy subjects. Revista de Nutrição. 2016 Dec;29(6):765-73. doi: 10.1590/1678-98652016000600002.

29. *Jessen A., Buemann B., Toubro S., Skovgaard I.M., Astrup A.* The appetite-suppressant effect of nicotine is enhanced by caffeine. *Diabetes, Obesity and Metabolism*. 2005 Jul;7(4):327-33. doi: 10.1111/j.1463-1326.2004.00389.x.
30. *Ivey K.J., Triggs E.J.* Absorption of nicotine by the human stomach and its effect on gastric ion fluxes and potential difference. *The American journal of digestive diseases*. 1978 Sep 1;23(9):809-14. doi: 10.1007/BF01079790.
31. *Kummer W., Lips K.S., Pfeil U.* The epithelial cholinergic system of the airways. *Histochemistry and cell biology*. 2008 Aug 1;130(2):219. doi: 10.1007/s00418-008-0455-2.
32. *Lee T.J., Zhang W., Sarwinski S.* Presynaptic β 2-adrenoceptors mediate nicotine-induced NOergic neurogenic dilation in porcine basilar arteries. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*. 2000 Aug 1;279(2):H808-16. doi: 10.1152/ajpheart.2000.279.2.H808.
33. *Narkiewicz K., Van De Borne P.J., Hausberg M., Cooley R.L., Winniford M.D., Davison D.E., Somers V.K.* Cigarette smoking increases sympathetic outflow in humans. *Circulation*. 1998 Aug 11;98(6):528-34. doi: 10.1161/01.CIR.98.6.528.
34. *Middlekauff H.R., Park J., Moheimani R.S.* Adverse effects of cigarette and noncigarette smoke exposure on the autonomic nervous system: mechanisms and implications for cardiovascular risk. *Journal of the American College of Cardiology*. 2014 Oct 21;64(16):1740-50. doi: 10.1016/j.jacc.2014.06.1201.
35. *Grassi G., Seravalle G., Calhoun D.A., Bolla G.B., Giannattasio C., Marabini M., Del Bo A., Mancia G.* Mechanisms responsible for sympathetic activation by cigarette smoking in humans. *Circulation*. 1994 Jul;90(1):248-53. doi: 10.1161/01.CIR.90.1.248.
36. *Hering D., Somers V.K., Kara T., Kucharska W., Jurak P., Bieniaszewski L., Narkiewicz K.* Sympathetic neural responses to smoking are age dependent. *Journal of hypertension*. 2006 Apr 1;24(4):691-5. doi: 10.1097/01.hjh.0000217851.95583.57.

37. *Cachope R., Mateo Y., Mathur B.N., Irving J., Wang H.L., Morales M., Lovinger D.M., Cheer J.F.* Selective activation of cholinergic interneurons enhances accumbal phasic dopamine release: setting the tone for reward processing. *Cell reports*. 2012 Jul 26;2(1):33-41. doi: 10.1016/j.celrep.2012.05.011.
38. *Prieto J.C., Quevedo M., Kutz M., Pérez Olea J.* Influencia vagal en las arritmias experimentales por dopamina. *Arch. Inst. Cardiol. Méx.* 1985; 55(5):395-8.
39. *Mohebi A., Pettibone J., Hamid A., Wong J., Vinson L., Patriarchi T., Tian L., Kennedy R., Berke J.* Dissociable dopamine dynamics for learning and motivation. *Nature*. 2019 Jun; 570(7759):65–70. doi: 10.1038/s41586-019-1235-y.
40. *Bressan R.A., Crippa J.A.* The role of dopamine in reward and pleasure behaviour—review of data from preclinical research. *Acta Psychiatrica Scandinavica*. 2005 Jun;111:14-21. doi: 10.1111/j.1600-0447.2005.00540.x.
41. *Kur'yanova E.V., Stupin V.O., Tryasuchev A.V., Teplyi D.L.* Effects of Blockage of Peripheral Choline, Serotonin, and Dopamine Receptors on Heart Rhythm Variability in Rats under Conditions of Stimulation of Neurotransmitter Systems. *Bulletin of experimental biology and medicine*. 2019 Dec 1;168(2):193-8. doi: 10.1007/s10517-019-04673-z.
42. *Antoniewicz L., Brynedal A., Hedman L., Lundbäck M., Bosson J.A.* Acute effects of electronic cigarette inhalation on the vasculature and the conducting airways. *Cardiovascular toxicology*. 2019 Oct 1;19(5):441-50. doi: 10.1007/s12012-019-09516-x.
43. *Lee J., Cooke J.P.* The role of nicotine in the pathogenesis of atherosclerosis. *Atherosclerosis*. 2011 Apr 1;215(2):281-3. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2011.01.003.
44. *Hansson J., Galanti M.R., Hergens M.P., Fredlund P., Ahlbom A., Alfredsson L., Bellocco R., Eriksson M., Hallqvist J., Hedblad B., Jansson J.H.* Use of snus and acute myocardial infarction: pooled analysis of eight prospective

observational studies. *European journal of epidemiology*. 2012 Oct 1;27(10):771-9. doi: 10.1007/s10654-012-9704-8.

45. *Joseph A.M., Norman S.M., Ferry L.H., Prochazka A.V., Westman E.C., Steele B.G., Sherman S.E., Cleveland M., Antonuccio D.O., Hartman N., McGovern P.G.* The safety of transdermal nicotine as an aid to smoking cessation in patients with cardiac disease. *New England Journal of Medicine*. 1996 Dec 12;335(24):1792-8. doi: 10.1056/NEJM199612123352402.