

- manual [ Stress i patologiya: metodicheskoe posobie].* Moscow: Rossiyskiy gosudarstvennyy meditsinskiy universitet; 2009. (in Russian)
- Udud V.V., Popova G.A., Borodulina E.V. Adaptive effects of dexamethasone under stresses. *Byulleten 'eksperimental'noy biologii i meditsiny.* 2006; 142(11): 528-31. (in Russian)
  - Ezhevskaya A.A. The problem of anesthesia in elderly and senile patients (review). *Tol'yattinskiy meditsinskiy konsilium.* 2013; 3-4: 120-7. (in Russian)
  - Antipov A.A. Daily urine cortisol as a criterion of adequacy of patient protection from operational stress and postoperative pain syndrome. *Sibirskoe meditsinskoe obozrenie.* 2007; 44(3): 20-3. (in Russian)
  - Kozlov A. I., Kozlova M. A. Cortisol as a marker of stress. *Fiziologiya cheloveka.* 2014; 40(2): 123-36. (in Russian)
  - Bol'shakov A.A., Glagolev N.S., Zaradey I.I. The study of cortisol levels during operational stress when performing operations on the abdominal organs in people of different ages. *Gerontologiya.* 2014; 2(3): 297-304. (in Russian)
  - Nicholson G., Hall G.M., Burrin J.M. Peri-operative steroid supplementation. *Anaesthesia.* 1998; 53 (11): 1091-4.

Поступила 24.01.18  
Принята к печати 07.02.18

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2018

УДК 612.313.4:546.173].083

Соколов А.В., Костина Д.А., Маринчев С.С., Чаплыгин С.С., Колсанов А.В.

## ЗНАЧИМОСТЬ ОПРЕДЕЛЕНИЯ НИТРИТОВ В РОТОВОЙ ЖИДКОСТИ У ЗДОРОВЫХ ЛЮДЕЙ

ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, 443079, Самара

*Оксид азота – сигнальная молекула в организме человека, характеризующаяся широким спектром биологических эффектов. Экзогенный NO образуется из пищевых нитратов, поступающих с зелёными листовыми овощами, такими как шпинат, петрушка, щавель, а также свёкла, огурцы и томаты. Бактерии в ротовой полости метаболизируют поступающие с пищей нитраты до нитритов. Нитриты, как промежуточные метаболиты NO, достаточно точно отражают концентрацию оксида азота. Цель данной работы – изучение аналитической значимости и эффективности экспресс-устройства для определения нитритов в слюне. В работе представлены результаты апробации экспресс тест-системы для полуколичественного определения содержания нитритов в слюне. Устройство представляет собой полую трубку, внутри которой расположен сенсорный элемент, работающий по принципу «сухой химии». Измеряли концентрацию нитритов в ротовой жидкости 100 здоровых людей обоего пола в возрасте от 16 до 45 лет. При употреблении овощей каждый день или 3–5 раз в неделю регистрируются более высокие уровни нитрит-анионов (14,9–15,7 мг/л), чем при употреблении овощей и соков 1–2 раза в неделю и реже (9,9 мг/л). Концентрации нитритов в слюне как регулярно тренирующихся, так и ведущих малоактивный образ жизни находятся в пределах нормы (11,9–14,9 мг/л). Средний уровень нитритов в слюне участников эксперимента с нормальным давлением составил 16,5 мг/л, что существенно выше, чем у лиц из групп с повышенным и пониженным давлением (10,2 и 10,4 мг/л соответственно).*

**Ключевые слова:** оксид азота; нитриты; экспресс-анализ; сухая химия; диета; сердечно-сосудистая система.

**Для цитирования:** Соколов А.В., Костина Д.А., Маринчев С.С., Чаплыгин С.С., Колсанов А.В. Значимость определения нитритов в ротовой жидкости у здоровых людей. *Клиническая лабораторная диагностика.* 2018; 63 (4); 215-219.

DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2018-63-4-215-219>

Sokolov A.V., Kostina D.A., Marinchev S.S., Chaplygin S.S., Kolsanov A.V.

### THE SIGNIFICANCE OF DETECTION OF NITRITES IN ORAL FLUID OF HEALTHY PEOPLE

The Federal State Budget Educational Institution of Higher Education "The Samara State Medical University" of Minzdrav of Russia, 443079, Samara, Russia

*The nitric oxide is a signal molecule in human organism characterized by a wide spectrum of biological effects. The exogenous nitric oxide is formed from food nitrates received with such green leafy vegetables as spinach, parsley, sorrel and also beet, cucumbers and tomatoes. The bacteria in oral cavity metabolize received with food nitrates up to nitrites. The nitrites as some intermediate metabolites of nitric oxide sufficiently exact reflect concentration of nitric oxide. The purpose of study is to examine analytical dependence and efficiency of express-device for detecting nitrites in saliva. The article presents the results of confirmation of test-system for half-quantitative detection of content of nitrites in saliva. The device represents a hollow tube with a sensorial element within functioning by the principle of "dry chemistry". The concentration of nitrites in oral cavity was measured in 100 healthy people of both genders aged from 16 to 45 years. In case of consuming vegetables every day or 3-5 times a week higher levels of nitrite-anions (14,9–15,7 mg/l) are registered than in case of consuming vegetables and juices 1-2 times a week and rarely (9,9 mg/l). The concentrations of nitrites in saliva both in cases of regular training and low-activity life-style are within the limits of standards (11,9-14,9 mg/l). The average level of nitrites in saliva of participants of experiment with normal pressure made up to 16.5 mg/l that is significantly higher than in individuals from groups with increased and decreased arterial pressure (10,2 and 10,4 mg/l correspondingly).*

**Key words:** nitric oxide; nitrites; express-analysis; dry chemistry; diet; cardio-vascular system.

**For citation:** Sokolov A.V., Kostina D.A., Marinchev S.S., Chaplygin S.S., Kolsanov A.V. The significance of detection of nitrites in oral fluid of healthy people *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)* 2018; 63(4): 215-219. (in Russ.). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2018-63-4-215-219>

**Для корреспонденции:** Костина Динара Александровна, науч. сотр. научно-образовательного центра «Медицинские диагностические микросистемы»; e-mail: [din.kostina@yandex.ru](mailto:din.kostina@yandex.ru)

**For correspondence:** Kostina D.A., researcher of the Scientific Educational Center "The Medical Diagnostic Micro-Systems" of the Federal State Budget Educational Institution of Higher Education "The Samara State Medical University", e-mail: [din.kostina@yandex.ru](mailto:dkostina@yandex.ru)

**Information about authors:**

Sokolov A.V., <http://orcid.org/0000-0003-4965-3136>  
Kostina D.A., <http://orcid.org/0000-0001-7894-1431>  
Marinchev S.S., <http://orcid.org/0000-0001-8088-419X>  
Kolsanov A.V., <http://orcid.org/0000-0002-4144-7090>  
Chaplygin S.S., <http://orcid.org/0000-0002-9027-6670>

**Conflict of interests.** The authors declare absence of conflict of interests.

**Acknowledgment.** The study had no sponsor support

Received 06.12.2017  
Accepted 11.12.2017

**Введение.** Оксид азота (NO) – сигнальная молекула в организме человека. NO характеризуется широким спектром биологических эффектов, таких как регуляция тонуса кровеносных сосудов, антикоагулянтные свойства, опосредует иммунный ответ и нейротрансмиссию [1]. NO обладает высокой диффузионной способностью, что обеспечивает возможность передачи сигнала на достаточно длинные дистанции от источника его синтеза. Эндогенный NO синтезируется из L-аргинина ферментом NO-синтазой (NOS) [2]. Экзогенный NO образуется из пищевых нитратов, поступающих с овощами. В большом количестве нитраты содержатся в зелёных листовых овощах, таких как шпинат, петрушка, щавель, а также в свёкле, огурцах и томатах [3, 4]. Большая часть поступивших нитратов всасывается в пищеварительном тракте в неизменённом виде, поступает в кровь, а затем почти полностью выводится из организма почками. Факультативные бактерии, живущие на дорсальной поверхности языка, с помощью фермента нитратредуктазы метаболизируют поступающие с пищей нитраты до нитритов, что составляет примерно 80% всех нитритов, присутствующих в содержимом желудка. В нормальной кислой среде желудка (pH 2,5) часть нитритов превращается в NO, а часть всасывается в кровь. В норме уровень нитритов в крови составляет 50–1000 нМ, концентрация в слюне в 20 раз выше, чем в крови [5–7]. Современные биомедицинские исследования показали, что диета, богатая нитратами, оказывает кардиопротекторное действие [8].

NO представляет собой короткоживущее и быстрометаболизирующееся соединение, поэтому его определение в биологических жидкостях практически невозможно. Рядом исследователей показано, что уровень нитритов достаточно точно отражает степень активности продуцирующего NO фермента NO-синтазы [9]. Для количественного определения нитритов в различных биологических жидкостях, в том числе в слюне, используют флуоресцентные [10], хемилюминесцентные методы [11], капиллярный электрофорез [12], газовую хроматографию и масс-спектрометрию [13], высокоэффективную жидкостную хроматографию [14]. Однако эти методы трудоёмки и требуют специального оборудования.

В настоящее время существуют многочисленные коммерческие экспресс-тесты, доступные для большинства потребителей, позволяющие контролировать своё здоровье, не выходя из дома [15]. К таким устройствам относится Berkeley Test [16], с помощью которого можно определять концентрацию нитритов в слюне на основе реакции Грисса. Это устройство ориентировано на спортсменов, людей, регулярно занимающихся различными видами спортивных тренировок, а также тех, кто уделяет внимание своему здоровью и физическому состоянию. Производитель сообщает, что с помощью этого теста можно контролировать уровень нитритов (NO) в слюне для обеспечения оптимального уровня тренировок. Тест рекомендуется проводить 3–4 раза в день и в соответствии с результатами анализа корректировать диету с высоким содержанием нитратов (употребление зелёных листовых овощей,

свекольного сока). Производитель утверждает, что уровень нитритов в слюне коррелирует с концентрациями в плазме крови, однако известно, что при определении метаболитов NO необходимо исключить дополнительное поступление нитратов с пищей [9]. Поэтому применение теста представляется сомнительным.

Для выяснения и подтверждения значимости данного теста нами были разработаны и апробированы портативные аналитические экспресс-устройства для определения концентрации нитрит-ионов в слюне на основе технологии «сухой химии».

Цель данной работы – изучение аналитической значимости и эффективности экспресс-устройства для определения нитритов в слюне.

**Материалы и методы. Аппаратура.** Аналитические весы GH 202 A&D, Япония; фотометр КФК-3-01-«ЗОМЗ», Россия; лиофильная сушилка «Иней-4», ИБП РАН, Россия; цветной принтер Epson Discproducer PP 100; многофункциональное устройство (МФУ) Canon i-sensys MF 211; автоматический тонометр Omron M2 Classic, Китай.

**Реагенты.** Реактив Грисса ч.д.а. («Вектон», Россия), полиэтиленгликоль-2000, (Sigma Aldrich). Реагенты растворяли в бидистиллированной воде по ГОСТ 6709–72.

**Материалы для изготовления тест-устройств.** Хроматографическая бумага Whatman №1 (Sigma Aldrich), прозрачные трубки из полимерного материала (Негее-Пак, Китай, ПВХ, толщина 0,2 мм, длина 7 см, диаметр 5 мм), абсорбирующий волокнистый материал (Fleissner, Германия, диаметр 5 мм, длина 2 см).

**Калибровка экспресс-устройств.** Стандартный раствор нитрита натрия (50 мг/л) готовили в мерной колбе вместимостью 100 мл, растворяя 5 мг NaNO<sub>2</sub> в воде. Рабочие растворы (1, 6, 10, 20 мг/л) готовили путём разбавления стандартного раствора бидистиллированной водой. Оптическую плотность калибровочных растворов измеряли при 540 нм в кюветах с длиной оптического пути 0,5 см относительно холостой пробы, в которой раствор нитрита натрия заменён на дистиллированную воду.

В тест-устройства также вносили калибровочные растворы нитрита натрия. Через 30 с регистрировали окраску сенсорного элемента. Образцы, содержащие калибровочные растворы, оцифровывали с помощью МФУ в режиме цветного сканирования в формате TIFF при dpi 600. С помощью приложения Adobe Photoshop строили нативную цветовую шкалу, для того чтобы определять визуально наблюдаемую концентрацию нитрит-анионов в слюне по методу, описанному в [17].

На основе цветовой шкалы изготовили шкалу сравнения при помощи цветного принтера (разрешение изображения 5760×1440 dpi, цветокоррекция в режиме ICM).

**Сборка устройства.** Устройство сконструировано в соответствии с технологией «сухой химии» и представляет собой полую трубку из прозрачного полимерного материала,

Таблица 1

**Концентрация нитрит-ионов в слюне в зависимости от частоты употребления овощей, содержащих высокие концентрации нитратов (салат, свёкла, редис, морковь, капуста, брокколи, томаты, огурцы)**

Частота употребления овощей	Количество опрошенных	Концентрация (NO <sub>2</sub> ) <sup>-</sup> $\bar{X} \pm m_x$ , мг/л	<i>p</i>
Каждый день	34	14,9±1,87	≤ 0,05
3–5 раз в неделю	32	15,7±2,57	≤ 0,05
1–2 раза в неделю и реже	34	9,9±1,01	≤ 0,05

Таблица 2

**Концентрация нитрит-ионов в зависимости от интенсивности занятий спортом (дней в месяц)**

Частота занятий спортом (фитнес)	Количество опрошенных	Концентрация (NO <sub>2</sub> ) <sup>-</sup> $\bar{X} \pm m_x$ , мг/л	<i>p</i>
Каждый день / не-сколько раз в неделю	59	14,9±1,7	≤ 0,05
Несколько раз в месяц / редко / не занимаюсь	41	11,9±1,63	≤ 0,05

внутри которой расположены сенсорный элемент (аналитическая бумага) и абсорбирующий слой.

На хроматографическую бумагу, предварительно обработанную 6% водным раствором ПЭГ, наносили реагенты для обнаружения нитрит-ионов – водный раствор реактива Грисса. Бумагу с реагентами высушивали в лиофильной сушилке в течение 30 мин в вертикальном положении. Готовую аналитическую бумагу разрезали на образцы размером 2,5×2,5 см и помещали в трубку.

**Проведение анализа.** Тест-устройство помещают в ротовую полость, в отверстие пробоотборника вносят достаточное для анализа количество слюны. Анализируемый компонент (нитрит-ион) взаимодействует с реагентами сенсорного элемента с образованием окрашенного комплекса, по интенсивности цвета которого можно судить о содержании нитритов в слюне. Для получения полуколичественного результата необходимо сравнить получившийся цвет ячейки с эталонной шкалой. Исследование проводили в течение дня, для анализа использовали неразбавленную слюну. Время принятия пищи при проведении анализа не учитывали.

**Выборка.** В нашем исследовании мы использовали ротовую жидкость здоровых людей – 100 человек обоего пола в возрасте от 16 до 40 лет. Исследование было добровольным и анонимным.

Перед проведением анализа участникам необходимо было ответить на вопросы в анкете: частота употребления овощей с высоким содержанием нитратов, а также частота занятий спортом (табл. 1, 2).

Всем участникам эксперимента перед началом анализа измеряли артериальное давление с помощью автоматического тонометра (табл. 3).

Статистическая обработка материала проведена с помощью офисного пакета STATISTICA© 10.0. Достоверность различий рассчитывали с применением *t*-критерия Стьюдента. За достоверный принимался уровень статистической значимости *p* < 0,05 [18].

**Результаты.** Для определения соответствия результатов анализа на содержание нитрит-ионов в слюне по показаниям прибора и полученных с помощью разрабатываемого изделия было отобрано 10 образцов слюны лиц мужского и женского пола в возрасте 30–35 лет. Разработанные тест-устройства позволяют получить полуколичественный результат и коррелируют с результатами инструментального метода [19].

Содержание нитритов в ротовой жидкости оценивали с учётом режима употребления овощей, богатых нитратами, частоты занятий спортом и уровня артериального давления, поскольку вышеуказанный Berkeley Test ориентирован на контроль содержания нитритов во время тренировок путём коррекции овощной диеты.

В нашем исследовании установлено, что концентрации нитритов в слюне зависят от частоты употребления овощей, содержащих большое количество нитратов. При употреблении овощей каждый день или 3–5 раз в неделю регистрируется более высокий уровень нитрит-анионов (14,9–15,7 мг/л), чем при употреблении овощей 1–2 раза в неделю и реже (9,9 мг/л). Однако концентрация нитрит-ионов в слюне во всех изученных группах находится в пределах нормы (рис. 1).

Изучая зависимость частоты физических тренировок и количества нитрит-ионов в слюне, не выявили статистически значимых различий. Концентрация нитритов в слюне как регулярно тренирующихся, так и ведущих малоактивный образ жизни находится в пределах нормы (11,9–14,9 мг/л). В каждой группе регистрировались как высокая концентрация нитрит-ионов (20–50 мг/л), так и низкое содержание нитритов (1 мг/л) (рис. 2).

Средний уровень нитритов в слюне участников эксперимента с нормальным давлением составил 16,5 мг/л, что существенно выше, чем у лиц из групп с повышенным и понижен-

ным давлением (10,2 и 10,4 мг/л соответственно). При этом высокий уровень нитрит-ионов (50 мг/л) регистрировался только в группе с нормальным давлением и всего у 10% испытуемых. Концентрация 1 мг/л чаще регистрировалась у лиц с пониженным и повышенным давлением (рис. 3).

**Обсуждение.** Вопросу о роли оксида азота в организме посвящено множество работ. До недавнего времени нитраты (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) и нитриты (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>) считались инертными конечными продуктами метаболизма окиси азота (NO) и неблагоприятными диетическими компонентами. Однако показано, что нитраты и нитриты метаболизируются до оксида азота и других биоактивных соединений, оказывающих влияние на различные системы в организме. Нарушение физиологических процессов, регулируемых окисью азота, является причиной гипертонии, ишемии миокарда, тромбозов, рака. Именно по этой причине оксид азота представляет огромный интерес для биологов и медицинских работников [3].

Употребление фруктов и овощей, богатых нитратами, таких как свёкла, шпинат, салат, щавель, редька и сельдерей, является простым, естественным и недорогим способом улучшения показателей сердечно-сосудистой системы людей. Показано, что приём нитратов приводит к снижению потребления кислорода во время интенсивных тренировок без сопутствующего увеличения концентрации лактата, что свидетельствует о более эффективной выработке энергии. Кроме того, в некоторых исследованиях отмечается повыше-

Таблица 3

**Концентрация нитрит-ионов в зависимости от артериального давления**

Артериальное давление	Количество опрошенных	Концентрация (NO <sub>2</sub> ) <sup>-</sup> $\bar{X} \pm m_x$ , мг/л	<i>p</i>
Нормальное (110/70–130/85)	59	16,5±1,9	≤ 0,05
Повышенное (>140/90)	15	10,2±1,4	≤ 0,05
Пониженное (<100/60)	26	10,4±1,7	≤ 0,05

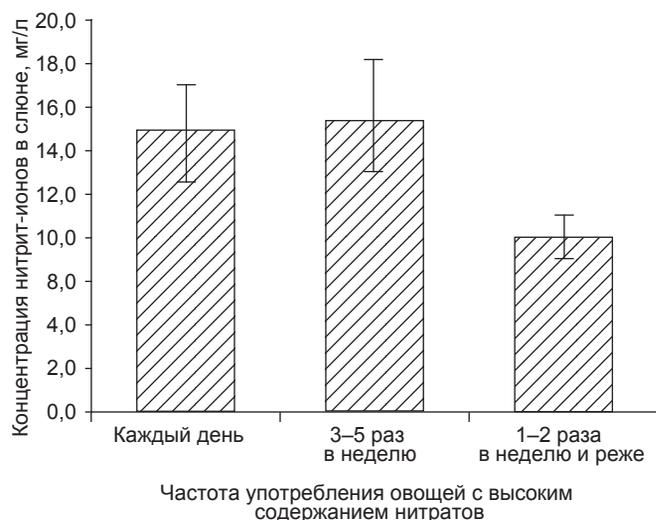


Рис. 1. Концентрация нитрит-ионов в слюне в зависимости от употребления овощей, содержащих высокие концентрации нитратов (салат, свёкла, редис, морковь, капуста, брокколи, томаты, огурцы).

ние выносливости на 1–2% при высокоинтенсивных тренировках на выносливость [24].

Полученные в нашем исследовании данные о содержании нитрит-ионов в слюне коррелируют с таковыми многих учёных. В работах S. Tannenbaum и соавт. [25] показано, что концентрация нитрит-аниона в слюне составляет в норме 6–10 мг/л. Н. Kühn и соавт. [26] проводили исследования у 117 здоровых и страдающих гингивитом жителей Германии. Показатели нитрит-анионов в слюне ранжировали от 0,01 до 30 мг/л, среднее значение у здоровых людей составило 7 мг/л. R. Stephany и соавт. [27] продемонстрировали, что при употреблении 300–350 г овощей, содержащих большое количество нитритов или 400 мл овощного сока, через 2,5 ч концентрация нитритов в слюне составляла 175–200 мг/л. Похожий эксперимент проводили Н. Nagada и соавт. [28] при употреблении типичных нитрат-богатых овощей, таких как китайская капуста, салат, шпинат, редис в количестве 100–

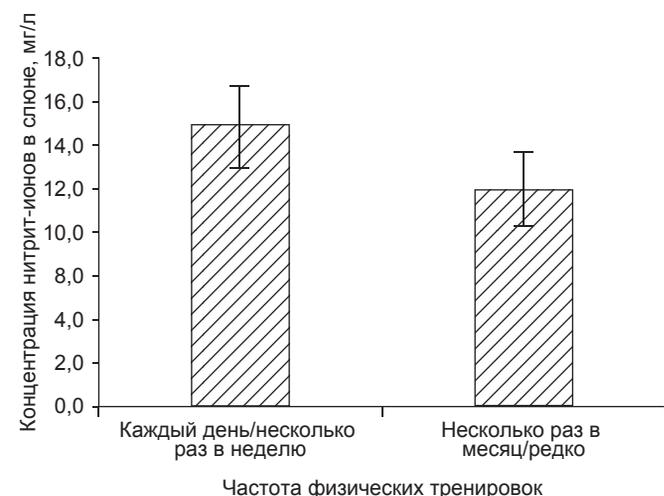


Рис. 2. Концентрация нитрит-ионов в зависимости от интенсивности занятий спортом (дней в месяц).

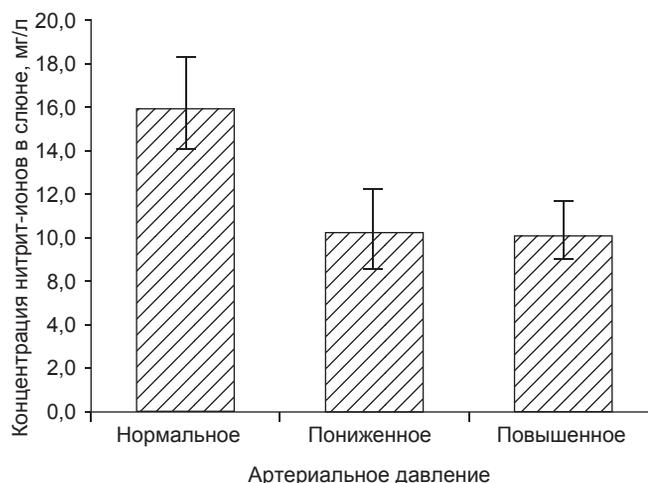


Рис. 3. Концентрация нитрит-ионов в зависимости от артериального давления.

200 г 2–3 раза в день в течение нескольких дней, концентрация нитрит-ионов в слюне составляла 14–72 мг/л (измерение проводили натошак).

Диета, богатая фруктами и овощами, способствует снижению артериального давления и защищает от сердечно-сосудистых заболеваний. A. Webb и соавт. [29] использовали свекольный сок в качестве источника нитратов у здоровых добровольцев и обнаружили снижение артериального давления в среднем на 10 мм рт.ст., что совпадает с пиковым уровнем нитрита в плазме крови. Кроме того, наблюдалось ингибирующее действие на агрегацию тромбоцитов *ex vivo*. Аналогичные данные были представлены J. Petersson [30], который наблюдал устойчивое влияние на артериальное давление при постоянном введении нитратных добавок у крыс. Это, с одной стороны, свидетельствует о важности энтеросаливариантной циркуляции нитратов и нитритов и ведущей роли нитратообразующих бактерий в его биоактивации, но тем не менее наблюдается незначительное изменение физиологических параметров, что, скорее, свидетельствует об эффективности механизма защиты от высоких концентраций экзогенного NO.

Считается, что активность перорально принимаемого неорганического нитрата заключается в его превращении в нитрит факультативными бактериями, обнаруженными на дорсальной поверхности языка. Проглатывание этой богатой нитритом слюны позволяет вводить нитрит в кровотока через желудок, где он превращается в мощный вазодилатор NO [31, 32]. В отличие от пути L-аргинин–NO образование NO из поступающих с пищей нитратов не требует активности NO-синтазы. В нормальных условиях примерно 25% системного нитрата активно поглощается слюнными железами. Нитраты и нитриты служат биологическими резервуарами для NO при гипоксии и обладают потенциальными терапевтическими свойствами при инфаркте миокарда, гипертонии, а также при физических нагрузках [33]. Концентрация оксида азота в крови является главным фактором, обуславливающим его биологический эффект. Для поддержания гомеостаза сердечно-сосудистой и нервной системы требуются концентрации NO  $\leq 1$  мкМ. Более высокие концентрации опосредуют образование высокореакционноспособного соединения – пероксинитрита. Избыточная продукция пероксинитрита носит патологический характер и приводит к модификации различных белков, липидов и нуклеиновых кислот. Инактивируются железосодержащие ферменты митохондрий, а также наблюдается торможение роста и размножения клеток. Избыток

оксида азота увеличивает проницаемость сосудов, вызывая отёки тканей [34]. Концентрация, образующихся нитритов в слюне гораздо выше концентрации нитритов в плазме крови, следовательно, делать вывод о каком-либо значительном влиянии экзогенного NO на физиологические параметры организма некорректно.

**Заключение.** Таким образом, при оценке результатов анализа следует учитывать диету, курение, стресс, физическую нагрузку, а также время забора биоматериала. Поэтому способ контроля уровня оксида азота по слюне, предлагаемый Berkeley Test не корректен, поскольку пищевые нитраты, поступающие в течение дня в организм человека, оказывают существенное влияние на конечное содержание нитритов в слюне и тем самым искажают результаты. Кроме того, из-за неправильной интерпретации результатов теста пользователь Berkeley Test может употреблять слишком высокие концентрации нитратов с пищей, что может привести к образованию пероксинитрита, обладающего неблагоприятными для организма свойствами.

**Финансирование.** Исследование не имело спонсорской поддержки.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА (пп. 1—6, 8—17, 20—31  
см. REFERENCES)

7. Садыков М.И., Трунин Д.А., Нестеров А.М., Чистякова М.С. Иммунологический и микробиологический статус полости рта у пациентов пожилого возраста при использовании съёмных пластичных протезов. *Наука и инновации в медицине*. 2016; 2:50-4.
18. Юнкеров В.И., Григорьев С.Г., Резванцев М.В. *Математико-статистическая обработка данных медицинских исследований*. 3-е изд. доп. Ленинград: Издательство Военно-медицинской академии Ленина академии им. С. М. Кирова; 2002.
19. Соловьев О.Н. Применение сухой химии в лабораторной диагностике. *Ремедиум Приволжье. Консилиум. Лабораторная диагностика*. 2015; 8: 138-7.

## REFERENCES

1. Moncada S., Palmer R.M.J., Higgs E.A. Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacol. Rev.* 1991; 43: 109-42.
2. Forstermann U., Schmidt H. H. W., Pollock J. S. et al. Isoforms of nitric oxide synthase: characterization and purification from different cell types *Biochem. Pharmacol.* 1991; 42: 1849-57.
3. Griesenbeck J.S., Steck M.D., Huber J.C., Sharkey J.R., Rene A.A., Brender J.D. Development of estimates of dietary nitrates, nitrites, and nitrosamines for use with the short willet food frequency questionnaire. *Nutrition Journal*. 2009; 16 (8).
4. Hord N.G., Tang Y., Bryan N.S. Food sources of nitrates and nitrites: the physiologic context for potential health benefits. *Am. J. Clin. Nutr.* 2009; 90: 1-10.
5. Hezel M.P., Weitzberg E. The oral microbiome and nitric oxide homeostasis. *Oral Dis.* 2015; 21 (1): 7-16.
6. Benjamin N., Driscoll F., Dougall H. et al. Stomach NO synthesis. *Nature*. 1994; 368: 502.
7. Sadykov M.I., Trunin D.A., Nesterov A.M., Chistyakova M.S. Immunological and microbiological status of the oral cavity in elderly patients using removable laminar dentures. *Nauka i innovatsii v meditsine*. 2016; 2: 50-4. (in Russian)
8. Ghosh S.M., Kapil V., Fuentes-Calvo I. Enhanced Vasodilator Activity of Nitrite in Hypertension. Critical Role for Erythrocytic Xanthine Oxidoreductase and Translational Potential. *Hypertension*. 2013; 61: 1091-1102.
9. Granger D.L., Anstey N.M., Miller W.C., Weinberg J.B. Measuring nitric oxide production in human clinical studies. *Methods enzymol.* 1999; 301: 49-61.
10. Kojima H., Nakatsubo N., Kikuchi K., et al. Detection and imaging of nitric oxide with novel fluorescent indicators, diamino fluoresceins. *Anal Chem.* 1998; 70: 2446-53.
11. Braman R.S., Hendrix S.A. Nanogram nitrite and nitrate determi-

- nation in environmental and biological materials by vanadium (III) reduction with chemiluminescence detection. *Anal Chem.* 1989; 61: 2715-8.
12. Morcos E., Wiklund N.P. Nitrite and nitrate measurement in human urine by capillary electrophoresis. *Electrophoresis*. 2001; 22: 2763-8.
13. Tsikas D. Simultaneous derivatization and quantification of the nitric oxide metabolites nitrite and nitrate in biological fluids by gas chromatography/mass spectrometry. *Anal. Chem.* 2000; 72: 4064-72.
14. Li H., Meininger C.J., Wu G. Rapid determination of nitrite by reversed-phase high performance liquid chromatography with fluorescence detection. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*. 2000; 746: 199-207.
15. Gubala V., Harris L.F., Ricco A.J., et al. Point of Care Diagnostics: Status and Future. *Analytical Chemistry*. 2012; 82 (2): 487-515.
16. Green N., Green J. Compositions, apparatus and methods for monitoring biomarkers. Pat. WO2014039794 A2 USA. 13.03. 2014.
17. Kaewarsa P., Laiwattanapaisal W., Palasuwan A., Palasuwan D. A new paper-based analytical device for detection of Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. *Talanta*. 2017; 164 (1): 534-9.
18. Junkerov V.I., Grigor'ev S.G., Rezvancev M.V. Mathematical and statistical processing of medical research data. *Matematiko-statisticheskaja obrabotka dannyh medicinskih issledovanij*. 3rd ed. Leningrad: Izdatel'stvo Voenno-meditsinskoj ordena Lenina akademii im. S. M. Kirova; 2002. (in Russian)
19. Solov'ev O.N. Application of dry chemistry in laboratory diagnostics. Laboratory diagnosis. *Remedium. Privolzh'e. Laboratornaya diagnostika*. 2015; 8: 138-7. (in Russian).
20. Preethi S., Jose J.I., Sivapathasundharam B., Sabarinath B. Evaluation of Salivary Nitric Oxide Levels in Smokers, Tobacco Chewers and Patients with Oral Lichenoid Reactions. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*. 2016. 1 (10): 63-6.
21. Bodis S., Haregewoin A. Significantly reduced salivary nitric oxide levels in smokers. *Annals of Oncology*. 1994; 5: 371-2.
22. Wadhwa D., Bey A., Hasija M. et al. Determination of levels of nitric oxide in smoker and nonsmoker patients with chronic periodontitis. *J. Periodontal Implant Sci.* 2013. 43: 215-20.
23. Epperlein M.M., Nourooz-Zadeh J., Noronha-Dutra A.A. et al. Nitric oxide in cigarette smoke as a mediator of oxidative damage. *International Journal of Experimental Pathology*. 1996; 77: 197-200.
24. Liu A.H., Bondonno C.P., Croft K.D. et al. Effects of a nitrate-rich meal on arterial stiffness and blood pressure in healthy volunteers. *Nitric Oxide*. 2013; 35: 123-30.
25. Tannenbaum S.R., Sinskey A.J., Weisman M. Nitrite in Human Saliva. Its Possible Relationship to Nitrosamine Formation. *Journal of the National Cancer Institute*. 1974. 1(53): 79-84.
26. Kühn H.J. Untersuchung über den Investigation of the nitrate content in the saliva, depending on dental condition and dental care. Thesis: Heidelberg; 1974.
27. Stephany R.W., Schuller P.I. Messages from the national Institute for the health. *Liber Amicorum*. 1975; 33(34): 184-90.
28. Harada M., Ishiwata H., Nakamura Y., Tanimura A., Ishidate M. Studies on *in vivo* formation of nitroso compounds. I. Changes of nitrite and nitrate concentrations in human saliva after ingestion of salted Chinese cabbage. *J. Fd. Hyg. Soc.* 1975; 16: 11-8.
29. Webb A.J., Milsom A.B., Rathod K.S., Chu W.L. et al. Mechanisms underlying erythrocyte and endothelial nitrite reduction to NO in hypoxia: role for Xanthine Oxidoreductase and eNOS. *Circ Res*. 2008; 103(9): 957-64.
30. Petersson J., Carlström M., Schreiber O., et al. Gastroprotective and blood pressure lowering effects of dietary nitrate are abolished by an antiseptic mouthwash. *Free Radic. Biol. Med.* 2009; 46(8): 1068-75.
31. Griesenbeck J.S., Steck M.D., Huber J.C. Development of estimates of dietary nitrates, nitrites, and nitrosamines for use with the short willet food frequency questionnaire. *Nutrition Journal*. 2009. 16 (8):1-9.
32. Sobko T., Marcus C., Govoni M., et al. Dietary nitrate in Japanese traditional foods lowers diastolic blood pressure in healthy volunteers. *Nitric Oxide*. 2010; 22: 136-40.
33. Eisenbrand G., Spiegelhalter B., Preussmann R. Nitrate and Nitrite in Saliva // *Oncology*. 1980; 37: 227-231.
34. Lundberg J.O., Gladwin M.T., Ahluwalia A., et al. Nitrate and nitrite in biology, nutrition and therapeutics // *Nature Chemical Biology*. 2009; 5 (12): 865-9.

Поступила 06.12.17  
Принята к печати 11.12.17