

## **Pengaruh Pemberian *Dehydroepiandrosterone* (DHEA) terhadap Aktivitas Peroksidasi Lipid dan Kadar Nitrit Oksida pada Aorta Tikus Wistar Jantan yang Terpapar Asap Rokok**

**Nila Ridhayani<sup>1</sup>, Aryadi Arsyad<sup>2\*</sup>, Yulia Yusrini Djibir<sup>3</sup>**

*Program Studi Ilmu Biomedik, Sekolah Pascasarjana Universitas Hasanuddin, Makassar, Indonesia<sup>1</sup>*

*Jurusan Fisiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Hasanuddin, Makassar, Indonesia<sup>2\*</sup>*

*Jurusan Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Hasanuddin, Makassar, Indonesia<sup>3</sup>*

*e-mail: aryadi.arsyad@med.unhas.ac.id*

**(Naskah masuk: 8 April 2022, diterima untuk diterbitkan: 15 Agustus 2022)**

### **Abstract**

*The research aimed to investigate the effect of dehydroepiandrosterone (DHEA) on lipid peroxidation activity and nitric oxide concentration in the aorta of male Wistar rats due to exposure to cigarette smoke. This study was a laboratory experiment using 21 rats that were divided into 3 groups: KN-14 (negative control that is given smoke exposure within 14 days), DHEA-1 (15 mg/kgBW + smoke exposure for 14 days), and DHEA-2 (30 mg/kgBW + smoke exposure for 14 days). The exposure was carried out in 25-45 minutes with 4 cigarettes/day. Surgery was performed in the 15<sup>th</sup> days to remove the aorta to examine malondialdehyde (MDA) as a biomarker of lipid peroxidation and nitric oxide (NO) concentration using Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA). The results showed that a significant increase in MDA concentrations was found in the group administered with DHEA, particularly at a dose of 30 mg/kgBW ( $p < 0.05$ ). Meanwhile, the administration of DHEA at doses of 15 and 30 mg/kgBW did not have a significant effect ( $p > 0,05$ ) on aortic NO concentrations compared to the group KN-14. Therefore, it can be concluded that the administration of DHEA could increase lipid peroxidation activity, as indicated by a significant increase in aortic MDA concentrations, without affecting aortic NO concentrations in rats exposed to cigarette smoke for 14 days*

**Keywords:** *cigarette smoke, dehydroepiandrosterone, MDA, NO*

## 1. Pendahuluan

Merokok merupakan penyumbang radikal bebas terbesar juga penyebab penyakit kardiovaskular, morbiditas dan kematian dini terbesar di seluruh dunia (Ganesha, Linawati and Satriyasa, 2020; Oakes *et al.*, 2020). Nikotin, salah satu senyawa aktif utama asap rokok, juga telah terbukti memiliki efek buruk pada sistem kardiovaskular dan telah di dokumentasikan bahwa nikotin dengan konsentrasi yang sama dengan yang ditemukan dalam darah perokok dapat mengubah metabolisme lipid dan merusak fungsi endotel pada hewan (Liu *et al.*, 2017). Mekanisme nikotin memicu respon sel endotel sistemik dan melibatkan peningkatan molekul pensinyalan nitrit oksida (NO) dan spesies oksigen reaktif (ROS) serta pembentukan metabolit proapoptosis, (Schweitzer *et al.*, 2015).

Kerusakan oksidatif dipicu oleh terjadinya disfungsi dan kerusakan sel endotel yang pada akhirnya akan mengurangi bioavailabilitas nitrit oksida (NO) dan menipisnya antioksidan endogen, peradangan, aktivasi trombosit, dan kelainan lipid (Benowitz and Burbank, 2016).

*Dehydroepiandrosterone* (DHEA) beserta *sulfate esternya* (DHEAS) adalah hormon steroid sirkulasi yang paling melimpah dan sebagian besar disekresikan oleh zona reticularis korteks adrenal, gonad, serta otak. DHEA dan DHEA-S mampu melakukan banyak peran dalam tubuh manusia seperti pada tindakan biologis yaitu perlindungan saraf, pertumbuhan neurit, dan efek antagonis pada oksidan dan glukokortikoid, serta efek metabolik seperti modulasi imun dan antikanker (Tang, Chen and Chen, 2022).

Telah dilaporkan dalam banyak penelitian *in vitro* dan *in vivo* bahwa DHEA menimbulkan efek yang menguntungkan pada tingkat spesies oksigen reaktif (ROS), sistem pertahanan antioksidan dan kerusakan oksidatif dalam sel dimana sifat antioksidan DHEA ini dapat dihasilkan dari kemampuannya untuk mengkelat logam atau peningkatan aktivitas enzim antioksidan (Kiersztan *et al.*, 2021).

DHEA juga dapat digunakan untuk mengaktifkan saluran kalium melalui aktivasi *guanylate cyclase* yang larut dan meningkatkan fungsi endotel melalui peningkatan sintesis nitrit oksida (NO) untuk pelebaran arteri dan memblokir vasokonstriksi yang diinduksi hipoksia. Melalui mekanisme yang dipicu oleh membran plasma, DHEA secara akut meningkatkan pelepasan NO dari sel-sel endotel vaskular yang utuh (El-Sakka, 2018).

DHEA juga digunakan sebagai suplemen tetapi penelitian pemberian suplementasi DHEA secara eksogen berkaitan dengan kardiovaskular belum banyak dilakukan dan atas dasar inilah pada penelitian ini peneliti akan mengeksplorasi efek pemberian *dehydroepiandrosterone* (DHEA) pada aktivitas peroksidasi lipid dan kadar nitrit oksida pada aorta tikus wistar jantan yang terpapar asap rokok.

## 2. Metode

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratorik yang menggunakan desain penelitian *Post-Test Control Design Group*, dimana sampel sebanyak 21 ekor tikus Wistar jantan dikelompokkan kedalam 3 kelompok secara acak yang diadaptasi terlebih dahulu selama 1 minggu sebelum dilakukan penelitian.

### 2.1. Metode Pengumpulan Data

#### 2.1.1. Hewan

Penelitian ini dilakukan pada 21 ekor tikus wistar jantan yang di ambil dari *Gold Mice Farm* (Maros) dengan berat sekitar 180 – 300 g kemudian ditempatkan di kandang terpisah dan diberikan pakan standar serta air minum, serta lingkungan kandang yang diberikan cahaya 12 jam/hari. Semua prosedur yang diterapkan pada hewan telah disetujui oleh Komisi Etik Penelitian Kesehatan (KEPK) FKUH – RSPTN UH – RSUP Dr. Wahidin Sudirohusodo Makassar dan telah mendapatkan rekomendasi persetujuan etik dengan Nomor: 826/UN4.6.4.5.31/PP36/2021 untuk Etika Eksperimen pada Hewan

## 2.1.2. Alat dan bahan

*Dehydroepiandrosterone* bubuk (Avanti), rokok kretek dengan kandungan nikotin sebanyak 2.3 mg dan tar sebanyak 39 mg, CMC 0.5%, *smoke chamber*, *smoke pump*, *Rat MDA Assay kit* (BT-Lab, China), *Rat NO Assay kit* (BT-Lab, China).

## 2.1.3. Desain Penelitian

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratorium yang menggunakan desain penelitian *Post-Test Control Design Group*, dimana setelah adaptasi selama 7 hari sampel dikelompokkan kedalam 3 kelompok secara acak dengan jumlah yang sama ( $n = 7$ ) pada setiap kelompoknya, sebagai berikut :

- Kelompok pertama yaitu KN-14 (kontrol negatif yang diberi paparan asap rokok selama 14 hari)
- Kelompok DHEA-1 (diberikan DHEA dengan dosis 15 mg/KgBB + paparan asap rokok selama 14 hari)
- Kelompok DHEA-2 (diberikan DHEA dengan dosis 30 mg/KgBB + paparan asap rokok selama 14 hari).

Pembuatan suspensi DHEA dibuat dalam dua dosis yang berbeda sesuai dengan perhitungan konversi, yaitu dosis pertama 0,030 g dan dosis kedua yaitu 0,060 g yang keduanya didispersikan dengan larutan koloidal CMC 0.5% sebanyak 20 mL. Pemberian DHEA dilakukan secara oral menggunakan kanula dengan volume 1 mL/100 g tubuh tikus setiap satu kali sehari selama 14 hari.

Adapun pemaparan asap rokok dilakukan 30 menit setelah pemberian suplementasi DHEA didalam *smoke chamber* dengan menggunakan *smoke pump* dan rokok yang digunakan yaitu rokok kretek dengan kandungan nikotin sebanyak 2,3 mg dan tar sebanyak 39 mg. Paparan asap rokok dilakukan setiap hari selama 25-40 menitsebanyak 4 batang/hari.

Untuk pengambilan aorta dilakukan dengan pembedahan, kemudian aorta dibekukan menggunakan nitrogen cair dan dilakukan pemeriksaan kadar MDA dan NO menggunakan metode ELISA secara duplo.

## 2.2. Metode Analisis Data

Data dinyatakan sebagai mean  $\pm$  SD. Uji yang dilakukan berupa uji *One-Way ANOVA (Analysis of Variance)* dan dilanjutkan uji *Post Hoc Tukey* menggunakan bantuan aplikasi komputer. Nilai  $p < 0,05$  dianggap signifikan secara statistik.

## 3. Hasil dan Pembahasan

### 3.1 Berat Badan Tikus Sebelum dan Sesudah Perlakuan

Bobot badan tikus sebelum dan sesudah perlakuan termuat dalam Tabel 1.

Tabel 1. Bobot Badan Tikus

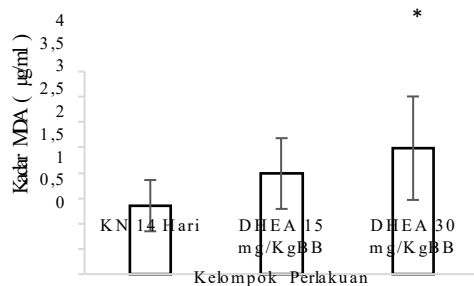
Kelompok	N	Mean $\pm$ SD Bobot		Mean $\pm$ SD Selisih Bobot	P
		Awal	Akhir		
KN-14	7	190,57 $\pm$ 9,24	235,14 $\pm$ 22,84	44,57 $\pm$ 19,42	0,014
DHEA-15	6	206,5 $\pm$ 36,99	242,66 $\pm$ 37,20	36,16 $\pm$ 28,97	
DHEA-30	7	223,85 $\pm$ 34,002	231,57 $\pm$ 24,74	7,71 $\pm$ 15,89	

Berdasarkan Tabel 1, pengukuran berat badan tikus sebelum dan sesudah pemberian DHEA dan paparan asap rokok dilakukan untuk memantau apakah ada pengaruh perlakuan yang diberikan terhadap bobot badan tikus selama 14 hari dan berdasarkan hasil analisis statistik menunjukkan bahwa terdapat perbedaan signifikan berat badan tikus awal dibandingkan dengan berat badan tikus diakhir penelitian ( $p < 0,05$ ) dimana terdapat pengaruh pemberian perlakuan terhadap kenaikan berat badan tikus.

### 3.2 Pengaruh Paparan Asap Rokok dan Pemberian DHEA Terhadap Kadar MDA dan NO

Untuk melihat pengaruh pemberian asap rokok dan DHEA terhadap kadar MDA (Gambar 1), data dianalisis *Analysis of Varians (ANOVA)* karena data berdistribusi normal dan homogen. Berdasarkan Gambar 1, rata-rata nilai kadar MDA aorta tertinggi ditunjukkan pada kelompok DHEA dosis 30 mg/KgBB sebesar  $2,48 \pm 1,02 \mu\text{g/ml}$ . Selanjutnya untuk DHEA dosis 15 mg/kgBB memiliki rata-rata nilai kada MDA aorta yang

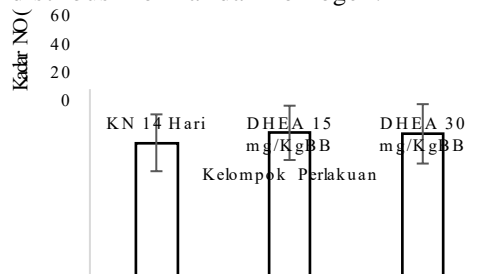
tidak jauh berbeda dengan DHEA dosis 30 mg/kgBB yaitu  $1.98 \pm 0,69 \mu\text{g/ml}$ . Adapun rata-rata nilai kadar MDA aorta terendah ditunjukkan pada kelompok kontrol negatif 14 hari sebesar  $1.35 \pm 0,50 \mu\text{g/ml}$ .



Gambar 1. Diagram rata-rata kadar MDA aorta setelah pemberian DHEA dosis 15 mg/KgBB dan 30 mg/KgBB selama 14 hari. (\*) menunjukkan perberbedaan signifikan dengan kelompok KN-14.

Berdasarkan hasil analisis statistik dengan menggunakan uji *Analysis of Varians* (ANOVA) dengan *Post Hoc Tukey* menunjukkan perbedaan yang signifikan dengan kelompok DHEA dosis 30 mg/KgBB dengan nilai  $p=0,013$  ( $p<0,05$ ), adapun kelompok DHEA dengan dosis 15 mg/KgBB tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan terhadap kadar MDA aorta pada kelompok kontrol negatif 14 hari ( $p>0,05$ ).

Untuk melihat pengaruh pemberian asap rokok dan DHEA terhadap kadar NO (Gambar 2), data dianalisis menggunakan *Analysis of Varians* (ANOVA) karena data berdistribusi normal dan homogen.



Gambar 2. Diagram rata-rata kadar NO aorta setelah pemberian DHEA dosis 15 mg/KgBB dan 30 mg/KgBB selama 14 hari

Berdasarkan Gambar 2, rata-rata nilai kadar NO aorta tertinggi ditunjukkan pada kelompok DHEA dosis 30 mg/KgBB sebesar  $91,44 \pm 18,96 \mu\text{mol/L}$ . Selanjutnya untuk DHEA dosis 15 mg/kgBB memiliki rata-rata nilai kadar NO aorta yang tidak jauh berbeda dengan DHEA dosis 30 mg/kgBB yaitu  $92,08 \pm 17,33 \mu\text{mol/L}$ . Adapun rata-rata nilai kadar NO aorta terendah ditunjukkan pada kelompok kontrol negatif 14 hari sebesar  $85,73 \pm 18,14 \mu\text{mol/L}$ . Berdasarkan hasil analisis statistik dengan menggunakan uji *Analysis of Varians* (ANOVA) dengan uji *Post-Hoc Tukey*, tidak di temukan perbedaan kadar NO yang signifikan pada tiap kelompok ( $p>0.05$ ).

Asap rokok mengandung sejumlah besar oksidan yang memiliki efek buruk pada jaringan melalui kerusakan oksidatif (de Carlos *et al.*, 2014). Berdasarkan penelitian Joshi *et al.* (2020), menyatakan bahwa durasi merokok secara signifikan mempengaruhi oksidan-oksidan pada subjek merokok dimana asap rokok kaya akan ROS dan RNS dapat menyebabkan produksi radikal bebas dan meningkatkan stres oksidatif melalui pembentukan ROS yang pada akhirnya dapat menyebabkan peroksidasi lipid dan disfungsi sel endotel, sehingga antioksidan dalam tubuh menurun sementara MDA sebagai salah satu biomarker dari peroksidasi lipid meningkat.

Asap rokok juga kaya akan molekul karsinogenik, mutagenik, radikal bebas, dan logam berat, yang menghasilkan ROS dan spesies nitrogen reaktif (RNS) yang mudah bereaksi dengan biomolekul, menyebabkan cedera DNA dan peroksidasi lipid dalam jaringan serta merokok dapat mengkonversi asam lemak tak jenuh ganda menjadi hidroperoksida, endoperoksida, aldehida (misalnya, MDA) dan alkana (misalnya, etana dan pentana) (Boehm *et al.*, 2020).

Hasil penelitian tentang pengaruh DHEA terhadap kadar MDA pada aorta tikus jantan yang terpapar asap rokok menunjukkan bahwa pemberian DHEA terutama dengan dosis 30 mg/KgBB meningkatkan kadar MDA aorta secara signifikan pada tikus wistar jantan yang terpapar asap rokok ( $p<0,05$ ). Jacob *et al.* (2010) memaparkan bahwa efek pemberian DHEA secara eksogen dapat bersifat ganda,

anti-oksidan atau pro-oksidan, tergantung pada dosis yang digunakan serta spesifisitas jaringan. Berdasarkan penelitian yang dilakukan Prakash *et al.* (2019) menunjukkan bahwa DHEA dosis 30 mg/KgBB yang diberikan selama 14 dan 21 hari pada tikus epilepsi yang di induksi zat besi melalui jalur sinyal yang dimediasi Nrf2 mampu menurunkan MDA yang merupakan penanda stress oksidatif sementara pada penelitian in vitro pemberian DHEA pada sel liver oleh Gallo *et al.* (1999) menunjukkan dua efek berlawanan DHEA terhadap peroksidasi lipid tergantung pada konsentrasinya, yaitu pada konsentrasi 0,01  $\mu\text{mol/L}$  (di atas yang ditemukan dalam jaringan manusia) DHEA melindungi sel dari lipid peroksidasi yang diinduksi oleh stres oksidatif berupa kumena (stimulus pro-oksidan) sedangkan pada konsentrasi farmakologis (10-50  $\mu\text{mol/L}$ ) DHEA menunjukkan aktivitas pro-oksidan, dan efek DHEA secara intraperitoneal ketika diberikan dalam jangka pendek (6 atau 24 jam) menunjukkan pengaruh pro-oksidan dalam model in vivo pada jantung tikus wistar yang sehat dengan dosis yang berbeda (1, 10 dan 50 mg/kg), namun setelah 24 jam 50 mg/kg dosis tunggal DHEA menghasilkan peningkatan kadar protein rasio p-Akt/Akt yang dievaluasi oleh *Western Blot*.

Hasil penelitian tentang pengaruh DHEA terhadap kadar NO pada aorta tikus jantan yang terpapar asap rokok menunjukkan tidak adanya pengaruh yang signifikan ( $p > 0,05$ ), namun asap rokok sendiri diketahui mengandung bahan kimia berbahaya terutama nikotin yang secara substansial mengganggu relaksasi jantung yang bergantung pada NO endotel dan juga berperan terhadap penurunan bioavailabilitas NO pada sistem vaskular (Tawa *et al.*, 2020).

NO adalah radikal bebas gas yang sangat reaktif dan mudah terdifusi dengan sifat oksidan intrinsik yang kuat dan disintesis oleh 3 sub tipe yang berbeda dari enzim NO sintase (NOS), masing-masing dengan pola ekspresi unik dan sifat fungsional: NOS neuronal (nNOS, NOS1), NOS yang dapat diinduksi (iNOS, NOS2), dan NOS endotel (eNOS, NOS3) (Cyr *et al.*, 2020).

Secara fisiologis, NO bertindak sebagai vasodilator endogen dan pembawa pesan antar

sel yang penting dalam aliran darah otak dan perifer (Zhu, Hong and Yang, 2021), anti-inflamasi, dan antioksidan yang kuat yang memainkan peran sentral dalam pemeliharaan homeostasis vascular (Cyr *et al.*, 2020). Namun karena NO adalah gas radikal bebas aktif dengan kemampuan pengoksidasi yang kuat secara patologis NO dapat bereaksi dengan anion superoksida ( $\text{O}_2^{\cdot-}$ ) membentuk oksidan kuat peroksinitrit ( $\text{ONOO}^-$ ) yang dapat memicu stres oksidatif dan kemudian menyebabkan kerusakan sel, seperti degenerasi dan inaktivasi protein, peroksidasi lipid, dan kerusakan DNA yang semakin memperparah kerusakan patologis tubuh. Ketidakseimbangan oksidan dan antioksidan di dalam tubuh menyebabkan stress oksidatif yang dapat menyebabkan perubahan dan kerusakan jalur NOS/NO yang akan memperburuk stress oksidatif itu sendiri sehingga berbagai keadaan patologis akut dan kronis dapat mempotensiasi kelebihan produksi ROS dan pembentukan ONOO berikutnya (Zhu, Hong and Yang, 2021).

Ada tiga jalur sinyal penting dalam proses pembentukan, degradasi, dan aktivitas produksi NO di pembuluh darah: (1) jalur eNOS/NO di mana eNOS adalah enzim kunci untuk membentuk NO; (2) jalur radikal oksida/NO di mana radikal oksida yang terbentuk dari pendekatan yang berbeda mampu menetralkan, mendegradasi dan melemahkan NO, dan (3) jalur NO/cGMP di mana hanya dengan NO mengaktifkan GMPase yang tidak larut dalam sel otot polos pembuluh darah sehingga cGMP dapat dibentuk yang kemudian mengendurkan otot polos dan merelaksasikan pembuluh darah.

Efek DHEA telah diselidiki pada jalur pensinyalan NO Karena NO yang diturunkan dari endotel adalah mediator kunci dalam fungsi vaskular. DHEA secara langsung merangsang fosforilasi eNOS di sel endothelium dan selama proses penuaan pada tikus ekspresi eNOS dan produksi NO dan cGMP di aorta lebih rendah dan suplementasi DHEA (1 mg/kg) memperbaiki jalur sinyal terkait NO di dinding pembuluh darah (Savineau, Marthan and Dumas d. l. R., 2013).

## 4. Simpulan dan Saran

### 4.1 Simpulan

Pemberian suplementasi *dehydroepiandrosterone* (DHEA) pada tikus yang terpapar asap rokok dapat meningkatkan aktivitas peroksidasi lipid pada aorta tikus wistar jantan, dimana peningkatan kadar MDA menjadi signifikan dengan pemberian DHEA dosis 30 mg/kgBB.

Pemberian suplementasi *dehydroepiandrosterone* (DHEA) dosis 15 mg/kgBB dan 30 mg/kgBB pada tikus yang terpapar asap rokok tidak mempengaruhi kadar nitrit oksida pada aorta tikus wistar jantan.

### 4.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan menggunakan dosis yang lebih rendah untuk mendapatkan efek protektif *dehydroepiandrosterone* (DHEA), serta dapat menggunakan tikus betina sebagai pembandingan, juga penambahan parameter penilaian atau pengukuran untuk melihat hal-hal berpengaruh lainnya seperti pemeriksaan hormon, pemeriksaan antioksidan dan sebagainya.

### Daftar Pustaka

- Benowitz, N.L. and Burbank, A.D. (2016) "Cardiovascular toxicity of nicotine: Implications for electronic cigarette use," *Trends in Cardiovascular Medicine*. Elsevier Inc., pp. 515–523. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.tcm.2016.03.001>.
- Boehm, R.E. *et al.* (2020) "Cigarette smoking and antioxidant defences in packed red blood cells prior to storage," *Blood transfusion = Trasfusione del sangue*. 2019/11/20, 18(1), pp. 40–48. Available at: <https://doi.org/10.2450/2019.0166-19>.
- de Carlos, S.P. *et al.* (2014) "Oxidative damage induced by cigarette smoke exposure in mice: impact on lung tissue and diaphragm muscle," *Jornal Brasileiro de Pneumologia*, 40(4), pp. 411–420. Available at:

<https://doi.org/10.1590/S1806-37132014000400009>.

Cyr, A.R. *et al.* (2020) "Nitric Oxide and Endothelial Dysfunction," *Critical Care Clinics*, 36(2), pp. 307–321. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.ccc.2019.12.009>.

El-Sakka, A.I. (2018) "Dehydroepiandrosterone and Erectile Function: A Review," *World J Mens Health*, 36(3), pp. 183–191. Available at: <https://doi.org/10.5534/wjmh.180005>.

Gallo, M. *et al.* (1999) "Protective effect of dehydroepiandrosterone against lipid peroxidation in a human liver cell line," *European Journal of Endocrinology*, 141, pp. 35–39. Available at: <http://www.eje.org>.

Ganesha, I.G.H., Linawati, N.M. and Satriyasa, B.K. (2020) "Pemberian Ekstrak Etanol Kubis Ungu (*Brassica oleracea* L.) Menurunkan Kadar Malondialdehid dan Jumlah Makrofag Jaringan Paru Tikus yang Terpapar Asap Rokok," *Jurnal Ilmiah Medicamento*, 6(1). Available at: <https://doi.org/10.36733/medicamento.v6i1.714>.

Jacob, M.H.V.M. *et al.* (2010) "Age-related effects of DHEA on peripheral markers of oxidative stress," *Cell Biochemistry and Function*, 28(1), pp. 52–57. Available at: <https://doi.org/10.1002/cbf.1619>.

Joshi, B. *et al.* (2020) "Effect of Cigarette Smoking on Selected Antioxidant Enzymes and Oxidative Stress Biomarkers," *JOURNAL OF CLINICAL AND DIAGNOSTIC RESEARCH* [Preprint]. Available at: <https://doi.org/10.7860/jcdr/2020/45948.14138>.

Kiersztan, A. *et al.* (2021) "DHEA-pretreatment attenuates oxidative stress in kidney-cortex and liver of diabetic rabbits and delays development of the

- disease,” *Biochimie*, 185, pp. 135–145. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2021.03.010>.
- Liu, C. *et al.* (2017) “Oral nicotine aggravates endothelial dysfunction and vascular inflammation in diet-induced obese rats: Role of macrophage TNF $\alpha$ ,” *PLOS ONE*, 12(12), pp. e0188439-. Available at: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0188439>.
- Oakes, J.M. *et al.* (2020) “Effects of Chronic Nicotine Inhalation on Systemic and Pulmonary Blood Pressure and Right Ventricular Remodeling in Mice,” *Hypertension (Dallas, Tex. : 1979)*, 75(5), p. 1305—1314. Available at: <https://doi.org/10.1161/hypertensionaha.119.14608>.
- Prakash, C. *et al.* (2019) “Dehydroepiandrosterone alleviates oxidative stress and apoptosis in iron-induced epilepsy via activation of Nrf2/ARE signal pathway,” *Brain Research Bulletin*, 153, pp. 181–190. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2019.08.019>.
- Savineau, J.-P., Marthan, R. and Dumas d. I. R., E. (2013) “Role of DHEA in cardiovascular diseases,” *Biochemical Pharmacology*, 85(6), pp. 718–726. Available at: <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.bcp.2012.12.004>.
- Schweitzer, K.S. *et al.* (2015) “Endothelial disruptive proinflammatory effects of nicotine and e-cigarette vapor exposures,” *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 309, pp. 175–187. Available at: <https://doi.org/10.1152/ajplung.00411.2014>.-The.
- Tang, J., Chen, L.R. and Chen, K.H. (2022) “The Utilization of Dehydroepiandrosterone as a Sexual Hormone Precursor in Premenopausal and Postmenopausal Women: An Overview,” *Pharmaceuticals*, 15(1). Available at: <https://doi.org/10.3390/ph15010046>.
- Tawa, M. *et al.* (2020) “Impact of cigarette smoking on nitric oxide-sensitive and nitric oxide-insensitive soluble guanylate cyclase-mediated vascular tone regulation,” *Hypertension Research*, 43(3), pp. 178–185. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41440-019-0363-y>.
- Zhu, H.-Y., Hong, F.-F. and Yang, S.-L. (2021) “The Roles of Nitric Oxide Synthase/Nitric Oxide Pathway in the Pathology of Vascular Dementia and Related Therapeutic Approaches,” *International journal of molecular sciences*, 22(9), p. 4540. Available at: <https://doi.org/10.3390/ijms22094540>.