

Sitokin, Nitrik Oksit ve Süperoksit Dismutaz Düzeylerinin Miyokard Fonksiyonu Üzerine Etkileri

[The Effects of Cytokines, Nitric Oxide and Superoxide Dismutase on Myocardial Function]

Nurzen Sezgin⁽¹⁾
Alpay Turan Sezgin⁽²⁾
Hakan Güllü⁽²⁾
Aysun Karabulut⁽¹⁾
Fatma Özyalın⁽¹⁾
Ergün Topal⁽²⁾
Engin M. Gözükara⁽¹⁾

- (1) İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya ve Klinik Biyokimya Anabilim Dalı, Malatya
(2) İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Kardiyoloji Anabilim Dalı, Malatya

Yazışma Adresi
[Correspondence Address]

Dr. Nurzen Sezgin
Başkent Üniversitesi Adana Uygulama ve Araştırma Merkezi
Dadaloğlu Mah. 39. Sokak, No: 6
Yüreğir, Adana, 01250
Tel: + 90 322 3272727
Fax: + 90 322 3271274
E-mail: nurzensezgin@hotmail.com

Kayıt tarihi 1 Aralık 2003; kabul tarihi 21 Ocak 2004
[Received 1 Dec. 2003; accepted 21 Jan. 2004]

ÖZET

Bu çalışmada amaç, enfeksiyon ve anstabil anjinası olmayan kalp yetmezliği hastalarında sitokin (interlökin 1 β , 2R, 6 ve 8), nitrik oksit ve antioksidan enzimlerden süperoksit dismutaz düzeylerini karşılaştırmak ve miyokard disfonksiyonu derecesi ile ilişkilerini incelemektir. Bu amaçla kardiyomiyopati tanısı konulan 60 hastadan (ejeksiyon fraksiyonu \leq %35 olan 30 (grup 3) ve ejeksiyon fraksiyonu = %35-50 olan 30 hasta (grup2)) ve 20 sağlıklı bireyden (grup 1) alınan kan örneklerinden süperoksit dismutaz ve nitrik oksit ile birlikte sitokin düzeyleri çalışıldı. Nitrik oksit düzeyleri kontrol grubuna göre hasta gruplarında artmakla birlikte gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı. Eritrosit süperoksit dismutaz seviyelerinde grup 3 ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardı (p=0,01). Ancak grup 2'de eritrosit SOD düzeyleri kontrol grubuna göre düşmüş olmasına rağmen istatistiksel olarak bu fark anlamlı değildi. Tüm sitokin seviyelerinde grup 3 ile grup 1 ve grup 3 ile grup 2 arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı (p=0,01). Sonuç olarak; eğer sitokinler sürekli yüksek konsantrasyonda kalırsa, kısa yarılanma ömrü olan serbest radikaller sürekli üretilir ve kalpte hücre hasarının devam etmesine destek sağlar. Bu açıdan antioksidanlar ve antisitokin tedavisi bu hasara karşı etkili olabilir.

Anahtar Kelimeler: Kalp yetmezliği, sitokin, nitrik oksit, serbest radikaller

ABSTRACT

The purpose of this study was to examine cytokines (interleukin 1 β , 2R, 6 and 8), nitric oxide and an antioxidant enzyme, superoxide dismutase levels in patients with heart failure free of infection and unstable angina, and the relationship between the degree of myocardial disfunction and these markers. Therefore, we have measured these parameters in 60 patients with cardiomyopathy (30 patient have ejection fraction \leq %35 (group 3) and, 30 patient have ejection fraction = %35-50 (group 2) and 20 healthy volunteers as control (group 1). Nitric oxide levels were higher in patients than controls but the difference was not significant. Erythrocyte superoxide dismutase levels in group 3 were significantly lower than the control group (p=0,01). In group 2 erythrocyte superoxide dismutase levels were lower but the difference was not significant. There were significant differences between group 3 and group 1, and between group 3 and group 2 (p=0,01) in all the cytokines. In conclusion; in the circulation if cytokines remain at high concentrations, free radicals having short half lives are continuously produced. This results in the promotion of cell injury in myocard. Antioxidants and anticytokine treatment may be efficient in the prevention of myocardial injury.

Key words: Heart failure, cytokine, nitric oxide, free radicals

GİRİŞ

Sitokinler hücresele büyüme, inflamasyon, immünite, doku onarımı ve hematopoez gibi önemli biyolojik olaylarda rol oynayan, düşük molekül ağırlıklı glikoproteinlerdir (1,2). Kalp yetmezliği gelişiminde sitokinler tarafından oluşturulan immünolojik yanıtın, patogeneze de önemli bir rol oynadığına dair artan sayıda ipuçları bulunmaya başlanmıştır (3). Yaklaşık on yıl önce başlayan ilk çalışmalarda yüksek sitokin seviyelerinin ve kalp yetmezliğinin bir arada olduğu gösterilmiş fakat bu fenomenin sebebi veya etkilerinin olup olmadığı tespit edilememiştir. Son çalışmalarda kalp yetmezliğinin derecesi ile bazı sitokin seviyeleri arasında pozitif korelasyon gösterilmiştir (4).

İnflamatuvar sitokinler, inflamasyona erken cevabın düzenlenmesine katılırlar ve süperoksit üretimi ile indüklenbilir nitrik oksid sentazın (iNOS) iyi bilinen indüleyicileridir. Ancak süperoksit anyonunun, sitokinlerin oluşturduğu in vivo hücre hasarındaki rolünün de tam olarak anlaşılmasına ihtiyaç vardır (5).

Serbest oksijen radikalleri (SOR), bir çok kalp hastalığında oluşur (6). Koroner oklüzyon ve reperfüzyon sırasında bunların hücresele, iskemi reperfüzyonun oluşturduğu hasara destek verebilir. Ayrıca bir çok mekanizma ve mediyatör, değişik basamaklarda kalp hasarı ile ilgili olabilir. Kalp hasarının bu ürünleri arasında dolaşımdaki anjiyotensin II, süperoksit ve nitrik oksit (NO) arttığı tespit edilmiştir (6,7). Son zamanlarda endotelial disfonksiyondaki ilerlemenin nitrik oksit sentaz ve süperoksit aşırı üretimi ve bunun sonucu olarak da peroksinitrit oluşumunda bir artışla bağlantılı olduğu ileri sürülmüştür (6,7).

Kalp yetmezliğinin patogenezinde, miyokardiyal hasarın immün mekanizması için gözlenen ipuçları ışığında, immün düzenleyici veya antisitokin tedavi eklenmiş bir terapötik mücadele önerilebilir. Biz de bu çalışmamızda hastaları ekokardiyografik değerlendirme ile miyokard fonksiyonunun derecesine göre gruplara ayırarak, sitokinler, nitrik oksit ve serbest radikallerin, disfonksiyonun ilerlemesinde etkisi olup olmadığını ve birbiriyle ilişkilerini araştırdık.

METOD

Bu çalışma İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Kardiyoloji Kliniği'nde izlenen; klinik bulguları ve ekokardiyografi ile kardiyomiyopati tanısı konulan 60 hastada yapıldı. Çalışmaya alınma kriterleri; 1) koroner anjiyografide en az bir epikardiyal koroner arterde >%70 darlığı olan ve ekokardiyografi ve sol ventrikül sineanjiyografi ile ejeksiyon fraksiyonu < %50 olan iskemik kalp yetmezliği olan hastalar, 2) konvansiyonel tedaviye rağmen klinik olarak kalp yetmezliği olan hastalar. Çalışmaya alınmama kriterleri: 1) Son üç ay içerisinde akut koroner sendrom (ST elevasyonlu miyokard infarktüsü, non-ST elevasyonlu miyokard infarktüsü ve anstabil anjina pek-

toris) öyküsü olan olgular, 2) hipertansif, romatizmal, konjenital, infeksiyöz veya perikardiyal hastalıklara, valvuler kalp hastalığına, mitral kapak prolapsusuna veya hipertrofik KMP'ye bağlı kalp yetmezliği olan olgular çalışma dışı bırakıldı. Hastaların fonksiyonel kapasiteleri New York Kalp Cemiyeti Sınıflandırmasına göre Class III ve IV olarak değerlendirildi. Bu hastalar sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonlarına (EF) göre \leq %35 (30 hasta) ve EF= %35-50 (30 hasta) olmak üzere iki gruba ayrıldı (sırasıyla grup 3 ve grup 2). Hastaların tümü dijital, diüretik, anjiyotensin-dönüştürücü enzim inhibitörü ve nitrat kullanmaktaydı. Kontrol grubu olarak sigara içmeyen, hipertansiyon, kalp hastalığı, böbrek, karaciğer hastalığı, diyabet gibi hiçbir kronik hastalığı olmayan hastalarla aynı yaş grubunda 20 sağlıklı kişi seçildi (grup 1).

Kan örnekleri heparinize tüplere alındı ve bekletilmeden 3500 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Soğuk izotonik ile üç kez yıkanan eritrositlerden hemolizat hazırlanarak süperoksit dismutaz (SOD), plazmadan ise plazma SOD ve nitrik oksit ile birlikte proinflamatuvar sitokinlerden tümör nekrozis faktör α (TNF α), interlökin 1 β (IL-1 β), IL6, IL8 ve IL2R düzeyleri çalışıldı. Eritrosit hemoglobin tayini Drabkin reaktifi (8) ile, plazmada total protein tayini ise Lowry (9) metodu kullanılarak belirlendi.

Sitokin konsantrasyonları IMMULITE hormon cihazında BIODPC firmasının ticari kitleri (Diagnostic Product Corporation, Los Angeles, CA, USA) kullanılarak kemiluminesans enzim immunometrik metod ile ölçüldü. IL-1 β için referans aralığı <5.0 pg/ml olduğu için sağlıklı kontrollerde bu metodla IL-1 β tespit edilemedi.

SOD enzim aktivitesi Sun ve ark'nın (10) tarif ettiği metoda göre belirlendi. Nitrik oksit ise Griess reaksiyonu kullanılarak ölçüldü (11).

İstatistik analizler SPSS programı ile yapıldı. Sonuçların değerlendirilmesinde One Way ANOVA testi uygulandı. Veriler ortalama \pm standard hata olarak verildi. Grup içi karşılaştırmalarda ise LSD testi kullanıldı. Ayrıca Microsoft Excel programında, % EF düzeylerine göre çalışılan parametrelerin korelasyon grafikleri çizildi.

BULGULAR

Tablo 1'de grup verilerinin karşılaştırılması ve anlamlılık değerleri verilmiştir. Çalışmaya alınan hastalar, ekokardiyografi ile tespit edilen EF düzeylerine göre gruplara ayrıldı ve ortalama EF düzeyleri; kontrol grubunda (1. grup) %63,95 \pm 0,92; hafif kalp yetmezliği olan (EF=%35-50) 2. grupta %38,87 \pm 0,73 ve ağır kalp yetmezliği olan (EF \leq %35) 3. grupta %25,97 \pm 0,7 olarak hesaplandı.

NO düzeyleri kontrol grubuna göre hasta gruplarında, özellikle de EF \leq %35 olan grup 3'te daha fazla artmakla birlikte gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı (p=0,09). Buna rağmen EF düzeylerine karşı NO düzeylerinin korelasyon analizinde lineer ve

Tablo 1 İncelenen verilerin gruplar arası farklılığının istatistiksel değerlendirilmesi.

		Grup 1 (kontrol) EF ≥ %50 (n=20)	Grup 2(n=30) EF=%35-50	Grup 3(n=30) EF ≤ %35	P
1	Yaş (yıl)	49,10±10,48	56,00±8,98	60,53±1,69	p=0,00 ^{a,b}
2	EF (%)	63,95±0,92	38,87±0,73	25,97±0,70	p=0,00 ^{a,b,c}
3	TNA (pg/ml)	4,90±0,36	6,55±0,55	7,81±0,83	p= 0,01 ^a
4	IL1β (pg/ml)	5,00±0,00	5,02±0,02	5,03±0,03	p= 0,6
5	IL6 (pg/ml)	6,99±0,65	9,14±1,37	20,25±5,05	p=0,01 ^{a,c}
6	IL8 (pg/ml)	5,26±0,13	7,85±0,96	13,09±2,60	p=0,01 ^{a,c}
7	IL2R (Ü/ml)	551,50±35,07	725,63±42,65	1233,56±246,84	p=0,01 ^{a,c}
8	NO _x (µmol/L)	20,08±2,36	28,53±3,64	34,02±5,13	p=0,09
9	Hb (g/dl)	14,95±0,23	14,56±0,26	14,06±0,38	p=0,17
10	Erit.SOD (Ü/g Hb)	339,29±7,97	311,72±8,18	288,96±14,56	p=0,01 ^a
11	pl. prot (g/dl)	7,99±0,09	7,72±0,16	7,67±0,16	p=0,11
12	pl. SOD (Ü/g prot)	95,17±5,50	94,30±4,04	89,96±5,51	p=0,7

Veriler ortalama ± standard hata olarak verildi. p<0,05 anlamlı olarak kabul edildi. a, b ve c gruplar arası anlamlılıkları gösterir. a= grup 1 ve 3 arası anlamlı, b= grup 1 ve 2 arası anlamlı, c= grup 2 ve 3 arası anlamlı.

negatif bir korelasyon gözlemlendi ve p=0,03 olarak hesaplandı (şekil 1).

Eritrosit SOD seviyelerinde kontrol grubuna göre sırasıyla grup 2 ve 3 de %8 ve %15'lik bir düşüş vardı. EF düzeyi ileri derecede düşmüş olan (EF≤ %35) grup 3 ile kontrol grubu arasında ki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu (p=0,01). Ancak EF düzeyi hafif derecede düşmüş olan (EF= %35-50) grup 2'de eritrosit SOD düzeyleri kontrol grubuna göre düşmüş olmasına rağmen istatistiksel olarak bu fark anlamlı değildi. Ayrıca EF düzeyleri ve eritrosit SOD düzeylerinin korelasyon grafiğinde de pozitif ve lineer bir korelasyon saptandı (şekil 2). Plazma SOD düzeyleri ise kontrol grubuna göre hasta gruplarında özellikle de grup 3'te daha fazla azalmakla birlikte gruplar arası fark anlamlı değildi.

TNFα, IL6, IL8 ve IL2R düzeyleri kontrol grubuna göre hasta gruplarında hastalığın şiddetine bağlı olarak artmaktaydı. Tüm sitokin seviyelerinde grup 3 ile kontrol grubu ve yine grup 3 ile grup 2 arasında istatistiksel

olarak anlamlı fark vardı (p=0,01), ancak grup 2'de sitokin seviyeleri kontrol grubuna göre artmakla birlikte fark anlamlı değildi. Ayrıca EF düzeylerine karşı çizilen korelasyon grafiklerinde sitokin seviyeleri ile EF düzeyleri arasında lineer ve negatif bir korelasyon olduğu gözlemlendi (TNFα, IL6, IL8 ve IL2R için sırasıyla şekil 3, 4, 5 ve 6). IL-1β düzeylerinde ise gruplar arasında anlamlı bir fark tespit edilememesine rağmen, ölçülebilir seviyedeki tüm sonuçlar hasta gruplarından (3 sonuç grup 3'te, 1 sonuç da grup 2'de olmak üzere) elde edildi.

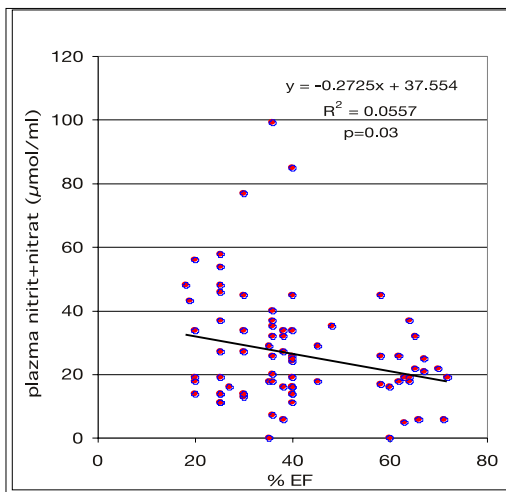
TARTIŞMA

Ayrıntılı mekanizması tam olarak aydınlatılamamasına ve esas klinik önemi kesin olmamasına rağmen inflamatuvar sitokinlerin, kardiyovasküler fonksiyonları çeşitli mekanizmalarla düzenleme kapasitesinde olduğu fikri öne sürülmüştür (12).

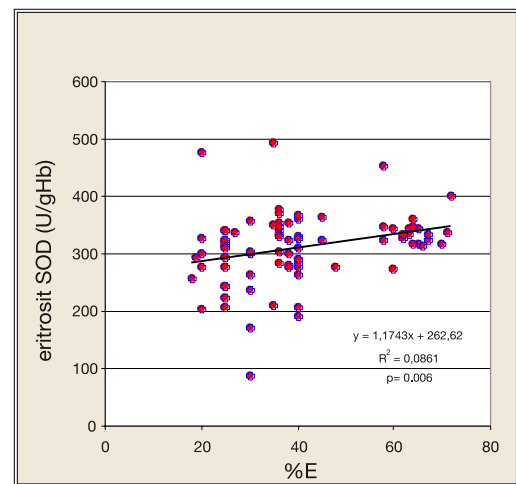
Retikuloendotelial hücreler veya polimorfonükleer lökositler, sitokinler tarafından aktive edildiğinde yüksek konsantrasyonda nitrik oksit ve süperoksit üretebilirler. NO, yüksek ve sabit bir hızda radikal sonlandırma reaksiyonu ile daha toksik bir oksidan olan peroksinitrit (ONOO⁻) oluşturmak üzere süperoksit ile reaksiyon verir (13,14).

Artmış NO üretiminin koruyucu olarak etki göstermesinin beklenmesine rağmen Bouloumie ve ark. (15) ratlarda yaptıkları bir çalışmada, indüklenebilen nitrik oksit sentaz (iNOS)'daki artışın aort endotel fonksiyonlarında gelişmeden ziyade gerileme ile korele olduğunu gözlemişlerdir. Bu, NOS'ın L-arginin ve/veya tetrahydrobiyopterin azlığında süperoksit üretebilmesi ile açıklanabilir. Son zamanlarda yapılan çalışmalar, NO sinyal yolunun, in vivo ve in vitro kalp kasının kasılma özelliklerini düzenlemede doğrudan bir role sahip olduğuna dair ipuçları vermektedir (16).

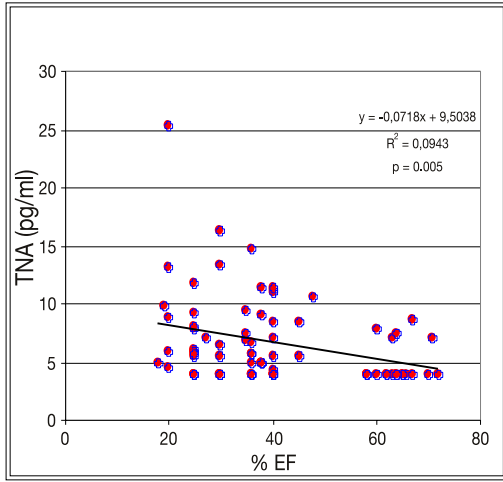
iNOS tarafından oluşturulan NO ve daha sonra oluşan peroksinitrit in vivo sitokinlerin oluşturduğu miyokard



Şekil 1: Sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonları ile nitrik oksit metabolitleri (nitrit+nitrat) düzeyi arasındaki ilişki.



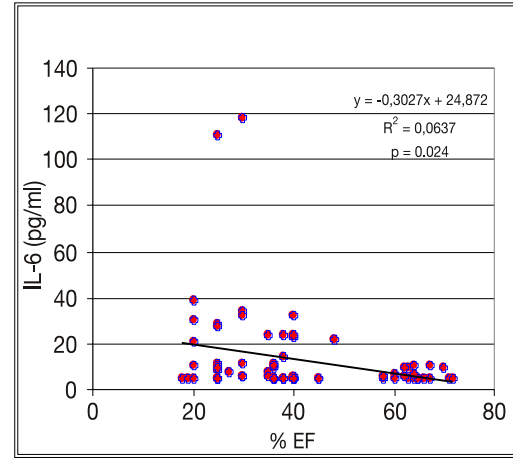
Şekil 2: Sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonu ile eritrosit SOD düzeyleri arasındaki ilişki.



Şekil 3: Sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonları ile tümör nekrozis faktör alfa (TNA) arasındaki ilişki

disfonksiyonunun patogenezinde önemli bir rol oynar (17,18). Peroksinitrit, Ca^{++} transport sistemini bozarak ve miyokard kontraktıl proteinlerinin fonksiyonunu zayıflatarak Ca^{++} akışını artırabilir ve mitokondrial ATP sentaz ve akonitaz gibi hücreselel enzimlerin aktivitesini inhibe edebilir (17). Radikal rolünü araştırmak için spesifik bir peroksinitrit toplayıcısı kullanılabilir. Ancak böyle bir toplayıcı henüz mümkün değildir. Çünkü düşünölen peroksinitrit toplayıcıları (ürük asit ve desferoksamin gibi) hidroksil radikali ile de reaksiyon verebilir (17).

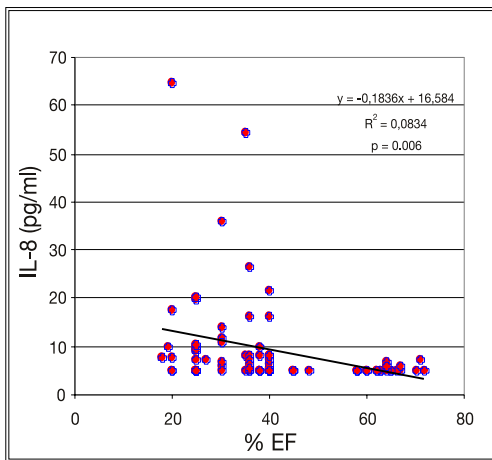
Çalışmamızda kontrol grubuna göre hasta gruplarında, özellikle ağır miyokard disfonksiyonu olan grupta anlamlı olmak üzere azalmış eritrosit SOD aktivitesi tespit ettik. Plazma SOD aktivitesinde de anlamlı olmasa da düşüş vardı. Bunlar da artmış serbest radikal üretiminin bir işareti olarak kabul edilebilir. Artmış serbest radikal düzeyleri SOD enziminin inhibisyonunda rol oynamakla birlikte, peroksinitrit oluşumu yoluyla hem daha toksik bir radikal oluşturmakta hem de NO'in yararlanımını



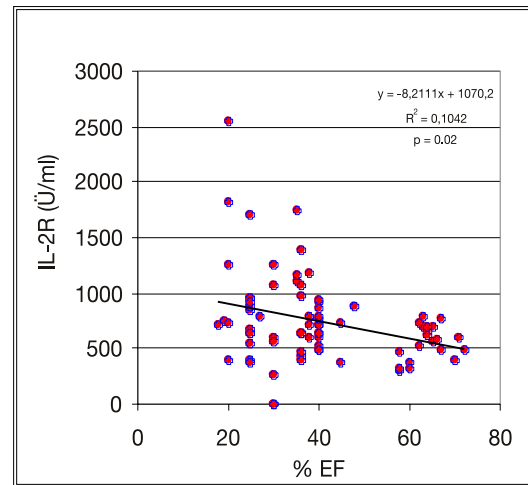
Şekil 4: Sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonları ile IL-6 düzeyleri arasındaki ilişki

azaltmaktadır (14,15,19).

Satoh ve ark. (20) yaptıkları çalışmalarda dilate kardiyomiyopati hastalarında $TNF\alpha$ ve nitrik oksit düzeylerini yüksek bulmuşlardır. Ayrıca farelerde artmış $TNF\alpha$ seviyelerinin, azalmış ventrikül fonksiyonu ve kalp yetmezliği gelişimine bağlı yüksek mortalite hızı ile ilişkili olduğu rapor edilmiştir (21). Yokoyama ve ark. (22) ise erişkin memeli miyokardında doğrudan $TNF\alpha$ tarafından oluşturulan bir negatif inotropik etkiyi ileri sürmüşlerdir. Bunun gibi pek çok çalışmada sitokin düzeylerinin çeşitli kalp hastalıklarında arttığı gösterilmiştir (20-24). Ancak biz çalışmamızda ekokardiyografi ile ölçölen ejeksiyon fraksiyonları ile, hastaları miyokard disfonksiyonunun derecesine göre gruplara ayırdık ve fonksiyon bozukluğunun ilerlemesi ile çalıştığımız parametreler arasında fark olup olmadığını araştırdık. Böylece sitokinler ve serbest radikallerin kalbin kasılma gücü ve kalp yetmezliğinin prognozuna etkilerini anlamaya çalıştık. İleri derecede kalp yetmezliği ($EF \leq \%35$) olan grupta özellikle sitokin seviyelerinde ($TNF\alpha$, IL6,



Şekil 5: Sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonları ile IL-8 düzeyleri arasındaki ilişki



Şekil 6: Sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonları ile IL2R düzeyleri arasındaki ilişki

IL8, IL2R) hem kontrole hem de hafif kalp yetmezliği olan gruba göre anlamlı farklılıklar tespit ettik. Hafif derecede kalp yetmezliği (EF= %35-50) olan grupta ise anlamlı kabul edilmese de kontrole göre artış vardı. IL1B değerlerinde anlamlı farklılık gözleyemedik çünkü numunelerin çoğunda tespit edilebilir sınırın altında değerler elde ettik. Sadece hasta grubunda ölçülebilir değerler saptadık. Bunlara rağmen, sitokinler nötrofillerin yanı sıra doğrudan kalp hücreleri tarafından da salındığından, bu çalışmayı doku örneklerinde yapsaydık muhtemelen hasta grupları arasında daha anlamlı sonuçlar elde edebilirdik.

Sonuç olarak; yarım yüzyıl önce kalp yetmezliği, ödematöz bir durum olarak değerlendirilir ve diüretikler verilirdi. 30 yıl kadar önce kalp yetmezliği bir pompa olarak hemodinamik bozukluk olarak kabul edildi ve vazodilatörler ile inotropik ajanlar tedavinin temelini oluşturdu. Son zamanlarda kalp yetmezliğinin sadece kalp disfonksiyonu ile değil nörohormonal bozuklukla

da ilgili olduğu görünür hale geldi, anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörleri artan oranda kullanılmaya başlandı. Ancak bu tedaviden fayda gören bir çok insan hala ölmektedir. Kalp yetmezliğinin fizyolojik kompleks bir sendrom olduğu ve her üç yaklaşımın da tek başına ele alındığında yeterli olmadığı görülmektedir (3).

Süperoksit anyonunun sitokinlerin oluşturduğu hücre hasarındaki rolü tam olarak anlaşılamamasına rağmen, sitokinlerin süperoksit anyonu ve iNOS üretimini arttırdıkları bilinir (5). Eğer TNF α gibi sitokinler sürekli yüksek konsantrasyonda kalırsa, kısa yarılanma ömrü olan SOR sürekli üretilir ve kalpte hücre hasarının devam etmesine destek sağlar. Bu açıdan antioksidanlar SOR'nin oluşturduğu hasara karşı etkili olabilir (25). Bu tür çalışmalar ilerde sitokin inhibitörleri veya süperoksit anyon üretiminin inhibitörleri ve nitrik oksit inhibitörlerinin, kardiyovasküler hastalıklarda ilerlemeyi durdurucu ajanlar olarak kullanılmalarına öncülük edebilir.

Kaynaklar

- 1) Rosa, M.S., Bienvenu, J., Whichen, J. (1999) Cytokines, Ch 21. In: Burtis CA, Ashwood ED (eds). Tietz Textbook of Clinical Chemistry (3th ed), s. 541-564, WB Saunders Co, Philadelphia
- 2) Kılıçturgay, K. (1997) Immunoloji. s. 147-176, Nobel Tıp Kitapevleri, Bursa.
- 3) Sasayama, S., Matsumori, A., Kihara, Y. (1999) New insights into pathophysiological role for cytokines in heart failure. Cardiovascular Research. 42: 557-564
- 4) Gökçe, M., Karahan, B., Çelik, Ş. (1998) Sitokinlerin kalp yetmezliğindeki rolü ve tedavideki yeri. Turk J Cardiol. 1: 275-280
- 5) Cheng, X.S., Shimokawa, H., Momii, H., Oyama, J. (1999) Role of superoxide anion in the pathogenesis of cytokine-induced myocardial dysfunction in dogs in vivo. Cardiovascular. Res. 42: 651-659.
- 6) Bkaily, G., D'orleans-Juste, P. (1999) Cytokine - induced free radicals and their roles in myocardial disfunctions. Cardiovascular Research. 42: 576-577
- 7) Gaballa, MA. (1999) Effects of endothelial and inducible nitric oxide synthases inhibition on circulatory function in rats after myocardial infarction. Cardiovascular Research. 42: 627-635
- 8) Henry, J.B. (ed) (1996) Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods 19th edition s. 550-551, W.B. Saunders CO, Philadelphia
- 9) Lowry, O., Rosenbraugh, N., Ferr, L., Randall, R. (1951) Protein measurement with theophyllinphenol reagent. J Biol Chem. 183 : 265-275.
- 10) Sun, Y., Oberley, L.W., Li, Y. (1988) A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. Clin Chem. 34(3): 497-500
- 11) Cortas, N.K., Wakid, N.W. (1990) Determination of inorganic nitrate in serum and urine by a kinetic cadmium reduction method. Clin. Chem. 36(8): 1440-1448
- 12) Mann, D.L., Young, J.B. (1994) Basic mechanism in congestive heart failure : recognizing the role of proinflammatory cytokines. Chest 105: 897-904
- 13) Matsubara, T., Ziff, M. (1986) Increased superoxide anion release from human endothelial cells in response to cytokines. J. Immunol. 137: 3295-3298.
- 14) Liu, P., Hock, C.E., Nagele, R., Wong, P.Y.K. (1997) Formation of nitric oxide, superoxide, and peroxynitrite in myocardial ischemia - reperfusion injury in rats. Am. J. Physiol. 272: 2327-2336.
- 15) Bouloumie, A., Bauersachs, J., Linz, W., Schölkens, B.A., Wiemer, G., Fleming, I., Busse, R. (1997) Endothelial dysfunction coincides with an enhanced nitric oxide synthase expression and superoxide anion production. Hypertension 30: 934-941.
- 16) Balligand, J.L., Ungureanu-Longrois, D., Simmons, W., Pimental, D., Malinski, T.A., Kapturczak, M., Taha, Z., Lowenstein, C.J., Daviddoff, A.J., Kelly, R.A., Smith, T.W., Michel, T. (1994) Cytokine-induced nitric oxide synthase (iNOS) expression in cardiac myocytes. J. Biol. Chem. 269: 27580-27588.
- 17) Oyama, J., Shimokawa, H., Momii, H., Cheng, X., Fukuyama, N., Aral, Y., Egashira, K., Nakazawa, H., Takeshita, A. (1998) Role of nitric oxide and peroxynitrite in the cytokine induced sustained myocardial dysfunction in dogs in vivo. J. Clin. Invest. 101: 2207-2214
- 18) Kojda, G., Harrison, D. (1999) Interactions between NO and reactive oxygen species: pathophysiological importance in atherosclerosis, hypertension, diabetes and heart failure. Cardiovascular Res. 43: 562-571
- 19) Pigeolet, E., Corbisier, P., Houbion, D.L., et al. 1990 Glutathione peroxidase, superoxide dismutase, and catalase inactivation by peroxides and oxygen derived free radicals. mechanism of ageing and development. 51: 283-297
- 20) Satoh, M., Nakamura, M., Saitoh, H., Satoh, H., Maesawa, C., Segava, I., Tashiro, A., Hiramori, K. (1999) Tumor necrosis factor α converting enzyme and tumor necrosis factor α in human dilated cardiomyopathy. Circulation 99: 3260-3265
- 21) Kubota, T., McTiernan, C.F., Frye, C.S., Slawson, S.E., Lemster, B.H., Koretsky, A.P., Demetris, A.J., Feldman, A.M. (1997) Dilated cardiomyopathy in transgenic mice with cardiac specific overexpression of tumor necrosis factor α . Circ. Res. 81: 627-635.
- 22) Yokoyama, T., Vaca, L., Rossen, R.D., Durante, W. (1993) Cellular basis for the negative inotropic effects of tumor necrosis factor α in the adult mammalian heart. J. Clin Invest 92: 2303-2312.
- 23) Vaddi, K., Nicolini, F.A., Mehta, P., Mehta, J.L. (1994) Increased secretion of tumor necrosis factor α and interferon γ by mononuclear leukocytes in patients with ischemic heart disease. Circulation 90: 694-699.
- 24) Katz, S.D., Rao, R., Berman, J.W., Schwarz, M., Demopoulos, L., Bijou, R., Lejemtel, T.H. (1994) Pathophysiological correlates of increased serum tumor necrosis factor in patients with congestive heart failure. Circulation 90: 12-16.
- 25) Nakamura, K., Fushimi, K., Kouchi, H., Mihara, K., Miyazaki, M., Ohe, T., Namba, M. (1998) Inhibitory effects of antioksidants on neonatal rat cardiac myocyte hypertrophy induced by tumor necrosis factor α and angiotensin II. Circulation 98: 794-799.