

Nitrik Oksit ve Peroksinitritin Miyokard Üzerindeki Etkileri

Sedat ALTUĞ*^o, A. Tuncay DEMİRYÜREK*, İlker KANZİK*

Nitrik Oksit ve Peroksinitritin Miyokard Üzerindeki Etkileri

Özet : Nitrik oksit (NO), L-argininden NO sentaz (NOS) aracılığı ile sentezlenmektedir ve birçok fizyolojik ve patolojik olayda rol almaktadır. Gerek insanların gerekse deney hayvanlarının miyokardiyumlarında NOS aktiviteleri gösterilmiştir. NO kalpte koroner ve endokardiyal endotel hücreleri ve kardiyak miyositler tarafından sentezlenmektedir. NO, süperoksit radikali ile hızlı bir şekilde reaksiyona girerek potent bir oksidan olan peroksinitriti (ONOO⁻) oluşturmaktadır. Endojen ve ekzojen NO miyokardiyumda negatif inotropik ve pozitif lusitropik etki gösterir. ONOO⁻ ise negatif inotropik etkilidir ve miyokardiyal hasara yol açar. ONOO⁻ kardiyak kontraktiletiyi büyük bir olasılıkla sGMP ve poli (ADP-riboze) sentaz aktivasyonu ile etkilemektedir. İskemi-reperfüzyon, miyokard inflamasyonu gibi kardiyak patolojik durumlarda NO salınımının kontrolü (selektif iNOS inhibisyonu gibi) ve spesifik ONOO⁻ süpürücülerinin geliştirilmesi tedaviye yeni yaklaşımlar getirebilecektir.
Anahtar kelimeler: Nitrik oksit, Peroksinitrit, Kardiyak kontraktileti.

Geliş Tarihi : 2.2.1998

Düzeltili Tarihi : 3.4.1998

Kabul Tarihi : 3.4.1998

Myocardial Effects of Nitric Oxide and Peroxynitrite

Summary : Nitric oxide (NO) is synthesized from L-arginine by NO synthase (NOS) and plays a role in many physiological and pathological conditions. NOS activity has been shown in the myocardium of human and animals. In the heart, NO is synthesized in coronary, endocardial endothelium and cardiac myocytes. NO reacts rapidly with superoxide radical and forms potent oxidant peroxynitrite (ONOO⁻). Both an endogenous and an exogenous NO exert negative inotropic and positive lusitropic effects on myocardium. ONOO⁻ shows a negative inotropic effect on myocardium and causes myocardial injury. Although it is not fully characterized how ONOO⁻ depresses myocardial contractility, it is likely that ONOO⁻ may activate cGMP and/or poly (ADP-ribose) synthase pathway. The control of NO release (selective iNOS inhibition) and development of specific ONOO⁻ scavengers in cardiac pathological conditions, such as ischemia-reperfusion and myocardial inflammation, will bring new approaches to treatment.

Key words: Nitric oxide, Peroxynitrite, Cardiac contractility.

1980 yılında Furchgott ve Zawadzki'nin asetilkolinin endotel hücrelerinden bir faktör salınımına yol açtığını ve bu faktörün düz kasa difüze olarak vazodilatasyona yol açtığını kanıtlamaları ile yeni ve oldukça geniş bir araştırma sahası açılmış oldu¹. Bu faktöre endotel kaynaklı gevşetici faktör (EDRF) adı verildi ve yapısını aydınlatmaya yönelik çalışmalar 1980'li yıllarda hızlandı². Furchgott 1987 yılında EDRF'nin nitrik oksit (NO) olabileceğini önerdi ve aynı yıl hem Palmer ve ark. hem de Ignarro ve ark. farklı araştırmaları ile bu faktörün NO olduğu kanıtlandı²⁻⁴.

NO, L-argininden NO sentaz (NOS) aracılığı ile sentezlenmekte² ve L-arginin analogları ile amino asit olmayan glukokortikoidler⁵, guanidinler⁶, s-alkilizotiyoureler⁷ ve amidinler⁸ tarafından reversibl olarak inhibe edilmektedir. NOS'un indüklenebilir (iNOS, NOS-2), nöronal (nNOS, NOS-1) ve endotelial (eNOS, NOS-3) olmak üzere üç izoformu izole edilmiştir ve son ikisi yapısal NOS (yNOS) olarak da gruplandırılmaktadır⁹. Deney hayvanlarının miyokardiyumunda iNOS ve yNOS aktiviteleri ilk kez Schulz ve ark.^{10,11} tarafından gösterilirken,

* Gazi Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmakoloji Anabilim Dalı, Etiler 06330 Ankara.

^o Correspondence

insan kalbinde ise 1993 yılında De Belder ve ark.¹² tarafından gösterilmiştir. yNOS kısa sürede pikomol düzeyinde NO salınımından sorumludur ve salınan NO birçok fizyolojik olayın sinyal ileti mekanizmasında rol oynamaktadır^{2,9-11}. iNOS ise makrofajlar, endotel hücreleri, nötrofiller, Kupffer hücreleri, damar düz kası ve miyokardiyumun uyarılması sonucu aktive olur ve uzun süreli nanomol düzeyinde NO salınımından sorumludur^{2,9,15,16}. Enzim aktivasyonu ile oluşan sGMP, NO'nun biyolojik etkilerine aracılık etmektedir^{2,9}. NO kalpte koroner ve endokardiyal endotel hücreleri ve kardiyak miyositler tarafından sentezlenmektedir^{12,13}.

NO'nun üzerinde en çok çalışılan ve ilk ortaya konan biyolojik rolü vasküler homeostazdaki rolüdür. NO bazal vasküler tonusun kontrolünde oldukça önemli bir endojen moleküldür. L-NAME aracılığı ile NOS inhibisyonu vazokonstriksiyona yol açmaktadır. Hipertansiyon, aterosklerotik kalp hastalığı gibi durumlarda NO sentezi azalmaktadır¹⁰. NO vazodilatör özelliği dışında renin salınımı, sodyum ve su dengesinin kontrolünde de oldukça önemli role sahiptir. Kalpte NO'ya bağımlı vazodilatasyon tamamen lokal olarak düzenlenmektedir ve kardiyovasküler sistemdeki en basit ve en temel adaptasyon mekanizmalarından biridir². NO fizyolojik konsantrasyonlarda toksik değildir, fakat iskemi gibi patolojik durumda oldukça kısa sürede fizyolojik konsantrasyonunun yaklaşık yüz katına kadar çıkıp belirgin bir toksisite göstermesi ve iskemik hücre hasarının önemli bir bölümünden sorumlu olması bu maddenin patofizyolojik olaylarda önemli rol oynadığını göstermektedir. NO eşlenmemiş bir elektron içermesinden dolayı bir serbest radikaldir ve bütün serbest radikaller gibi reaktiftir^{15,16}. NO'nun, süperoksit radikali ile hızlı bir şekilde reaksiyona girerek potent bir oksidan olan peroksinitriti (ONOO⁻) oluşturduğu 1985 yılında Blough ve Zafiriou¹⁷, 1990 yılında ise Beckman ve ark¹⁸ yaptığı çalışmalar ile gösterilmiştir. ONOO⁻, NO toksitesinden sorumlu başlıca metabolit olduğundan NO'un çirkin yüzü olarak da nitelendirilmiştir¹⁶. ONOO⁻ eşlenmemiş elektron içermemesi nedeni ile

serbest radikal değildir, yarı ömrü bir saniyeden az olmasına karşın, bu süre difüzyon ile etkilerini gösterebilmesi için yeterlidir. Oldukça güçlü oksidan olan peroksinitrit bir çok biyolojik molekül ile reaksiyona girer, fakat bu etkileri buldukları biyolojik ortam tarafından da etkilenir. ONOO⁻, peroksinitröz asitle denge halindedir. Peroksinitröz asidin aktif izomerinin (HOONO*) oluştuğu ve hidroksil radikaline benzer etkiler gösterdiği kabul edilmektedir¹⁹. Ancak, ONOO⁻'deki O-O bağının kuvvetli olması nedeniyle parçalanamayacağından hidroksil radikali oluşturamayacağı belirtilmiştir¹⁹. ONOO⁻'in toksik etkileri direkt olarak kendisinden veya hidroksil radikali-benzeri ürün veya nitrojen dioksit radikali oluşturması ile de ortaya çıkar. ONOO⁻ lipid peroksidasyonunu başlatması, sülfidril gruplarını okside etmesi, transport proteinlerini, enzimlerini inaktive etmesi ve DNA hasarı oluşturmasından dolayı oldukça sitotoksiktir. ONOO⁻, sülfidler, tiyoller, lipidler, askorbat, proteinler, karbohidratlar ve nükleik asitler gibi birçok biyolojik molekülü okside edebilir ve antioksidan tüketimi ve DNA hasarı gibi birçok olaylara neden olur^{16,20}.

Dokuda ve plazmada ONOO⁻ oluşumunun göstergesi olarak kullanılan nitrotirozin, ONOO⁻'in tirozin türevlerini nitratlaması sonucu oluşan stabil bir üründür²¹ ve bu reaktif metabolitler katekolaminlerin in vivo hemodinamik etkilerini selektif olarak azaltabilirler²². 3-nitro-L-tirozin ve metabolitlerine (3-nitro-L-OH-fenilasetik asit, 3-nitro-4-OH-fenilpropiyonik asit) insan koroner arterlerindeki aterosklerotik lezyonlarda ve miyokardiyal inflamasyonda rastlanmıştır^{23,24}.

NO ve ONOO⁻'in Miyokard Kontraktilitesi Üzerindeki Etkileri

NO'un kardiyak kontraktilite üzerine olan etkileri konusunda önceleri farklı görüşler varken, son yıllarda yapılan çalışmalarda bu konuda fikir birliğine varılmıştır. Yapılan in vitro veya in vivo çalışmalarda gerek endokardiyal veya koroner endotelden, gerekse kardiyak miyositlerden salınan NO'un veya ekzojen olarak verilen NO'un (SNP,

SIN-1, SNAP) negatif inotrop etkili olduğu gösterilmiştir²⁵⁻³². Endojen NO, ekzojen NO donörleri veya intraselüler sGMP'nin artması pozitif lusitropik (miyokardiyumun gevşeme yeteneği) etki oluşturur³³.

Endokardiyal endotelin kardiyak performans üzerine olan etkisi ilk kez Brutsaert³⁴ tarafından izole kedi papiller kasında çalışılmış ve endotel uzaklaştırılmasının izometrik kasılmaların süresini azalttığı gösterilmiştir. 1991 yılında ise Smith ve ark.³⁵ bu negatif inotrop etkiden NO'un sorumlu olabileceğini gelincik izole papiller kasında yaptıkları çalışmada göstermişlerdir. Yine aynı çalışmada gelincik izole papiller kasının P maddesi ile ve domuz endokardiyal hücre kültürünün ise bradikinin ile uyarılmasının sGMP'de artışa yol açtığı ve bu artışın da negatif inotrop etki ile orantılı olduğu gösterilmiştir. Ancak endotel uzaklaştırılması sGMP düzeylerinde bir değişiklik oluşturmamıştır.

Schultz ve ark.¹⁰ 1991 yılında domuz sağ ventrikül hücre kültüründe yaptıkları çalışmalarda, burada yNOS aktivitesini göstermişlerdir. Bir çok araştırmacı yine aynı tarihlerde sitokinlerle uyarılma sonucu kardiyak kontraktilitede ortaya çıkan azalmayı göstermişlerdir³⁶⁻³⁹. Gulick ve ark.⁴⁰ 1989 yılında IL-1 β ve TNF α 'ın kalp miyosit kültürlerinde beta reseptör aracılı kontraktilite artmasını azalttığını göstermişlerdir. 1992 yılında yine Schulz ve ark.¹¹ sıçan kalbinde iNOS aktivitesini göstermişlerdir. IL-1 β ve TNF α uyarımı ile izole kardiyak miyositlerde, diğer hücrelerde olduğu gibi, iNOS aktivitesindeki artmanın gösterilmesi, septik şokta kalpte gözlenen hipokontraktiliteden NO'un sorumlu olabileceğini düşündürmektedir. 1995 yılında McKenna ve ark.²⁸ sıçanlarda lipopolisakkarit (LPS) ile indüklenen kardiyak iNOS aktivitesi sonucu oluşan hipokontraktiliteye protein kinaz C'nin (PKC) aracılık ettiğini göstermişlerdir. LPS ve forbol ester uygulaması PKC'yi aktive ederek NOS ekspresyonunu ve aktivitesini artırırken, kontraktiliteyi azaltmıştır. LPS ve forbol ester etkileri PKC inhibitörleri varlığında kaybolmuştur.

1992 yılında Brady ve ark.⁴¹ izole kardiyak mi-

yositlerden NO salınımını ve NO'un negatif inotrop etkili olduğunu göstermişlerdir. Bu çalışmada endotoksin uygulanmış hayvanlarda azalmış olan kardiyak kontraktilite NOS veya guanilat siklaz inhibisyonu ile geri dönmüştür. NOS inhibisyonu endotoksin uygulanmayan kontrol grubunda kardiyak kontraktiliteyi etkilememiştir. 1993 yılında yine Brady ve ark.²⁵ sağlıklı hayvanlarda kardiyak miyosit+endotel kültüründe bradikinin ile endotel uyarılmasının etkilerini incelemişlerdir. L-NAME kontrol grubunda (bradikinin ile uyarılmayan dokularda) bir etki göstermemiştir. Bu çalışmalar ile, kardiyak miyositlerin normal koşullarda önemli miktarda NO sentezlemedikleri, ancak iNOS uyarımı ile veya NO donörleri verildiğinde oluşan NO'nun sGMP aracılığı ile negatif inotrop etki oluşturduğu gösterilmiştir.

Endotel tabakası korunmuş kedi izole papiller kasında NO donörlerinden SNAP, SNP ve SIN-1'in düşük konsantrasyonlarda pozitif inotropi, yüksek konsantrasyonlarda ise negatif inotropi şeklinde bifazik etki gösterdikleri bildirilmiştir³¹. Bu etkiler solumlu guanilat siklaz inhibitörü metilen mavisi (MM) varlığında kaybolmuştur. sGMP fosfodiesteraz inhibitörü zaprinast ise konsantrasyona bağımlı bir şekilde pozitif inotrop etki göstermiştir. Flesch ve ark.⁴² sağlıklı ve yetmezlikli kalplerde sağ atrial trabekül ve sol ventrikül papiller kasında yaptıkları çalışmada, SNP'nin konsantrasyona bağımlı olarak kasılma kuvvetinde azalma yaptığını ve MM varlığında bu etkinin kaybolduğunu göstermişlerdir. SNP aynı zamanda miyokard sGMP düzeylerinde artışa yol açmış ve bu artış MM ile inhibe edilmiştir. Bu çalışmada diğer çalışmadan farklı olarak NO konsantrasyona bağımlı bifazik etki göstermemiştir. Kardiyomiyositlerin kısa (2 saat) ve uzun süreli (24 saat) NO maruziyeti guanilat siklazın desensitizasyonuna neden olmaktadır⁴³. Endojen veya ekzojen NO sıçan kalbinde sempatik sinirlerden noradrenalin salınımını inhibe etmektedir⁴⁴ ve bu etki NO'nun negatif inotrop ve pozitif lusitrop etkisine katkıda bulunabilir.

İnsanlarda bu konudaki ilk çalışmada, 1993 yılında De Belder ve ark.¹² tarafından dilate kar-

diyomiyopati 17 hastada miyokardiyal yNOS ve iNOS aktiviteleri gösterilmiştir. Aynı çalışmada iNOS aktivitesinin artmış olduğu hastalarda, sGMP düzeyleri de yüksek bulunmuştur. Thoenes ve ark.⁴⁵ septik şokta, insan kalbinde iNOS aktivitesinin ve sGMP düzeylerinin yükseldiğini, Haywood ve ark.⁴⁶ dilate kardiyomiyopatide, iskemik kalp hastalığında ve valvular kalp hastalığında iNOS mRNA'sının arttığını göstermişlerdir. mRNA ekspresyonu ile kardiyak kontraktilite disfonksiyonu arasındaki ilişki gösterilmiştir⁴⁷. Sağlıklı ve yetmezlikli kalplerde sağ atrial trabekül ve sol ventriküler papiller kasında yapılan çalışmalarda, SNP konsantrasyonuna bağımlı olarak kasılma kuvvetinde azalma yapmış ve miyokardiyal sGMP düzeylerinde artışa yol açmıştır⁴². Bu etki ve artış MM varlığında kaybolmuştur. Bu çalışmada aynı zamanda ortamdaki NO miktarı da sürekli olarak ölçülmüş ve ortamdaki NO miktarının artması ile negatif inotrop etki arasında ilişki bulunmuştur.

ONOO⁻'in izole kalbe infüzyonu konsantrasyon ve zaman bağımlı olarak kontraksiyonlarda azalmaya yol açmaktadır. Bu fonksiyon kaybı miyokardiyal oksijen tüketimi veya kalbin enerji metabolizmasındaki bir bozukluk ile ilgili değildir. Tam tersine ONOO⁻ kardiyak depresan etkisi ile beraber kardiyak glikolizi ve glukoz oksidasyonunu artırmaktadır. ONOO⁻'in parçalanma ürünlerinin de kalp kasılmasında önemli bir etkileri yoktur. ONOO⁻'in kardiyak depresan etkisi sisteme verilenden 30 dakika sonra ortaya çıkmaktadır. ONOO⁻ miyokard oksijen kullanımında ise bir etki oluşturmamıştır. ONOO⁻ maruziyeti, miyokardiyal ATP ve NAD düzeylerini de etkilememiştir. ONOO⁻'in kalbin kontraksiyonu sırasında ATP kullanımında belirgin azalmaya yol açarak kalbin kasılmasını azalttığı bilinmektedir⁴⁸. ONOO⁻ miyositlere kalsiyum girişini, plazma membranındaki kalsiyum transport sistemlerini bozarak artırır ve kontraktıl proteinler üzerine etkisi ile kasılmayı bozar⁴⁹. Bununla birlikte ONOO⁻'in sGMP ve poli (ADP-riboze) sentaz (PARS) aktivasyonu ile negatif inotropi oluşturması da muhtemeldir.

L-arjinin-NO yolağının, miyokardiyal iskemi-

reperfüzyonu takiben oluşan miyokard hasarındaki rolü konusunda çelişkili sonuçlar bulunmaktadır⁵⁰⁻⁵³. Johnson ve ark.⁵¹ L-arjinin, sodyum nitrit ve SIN-1'in iskemi reperfüzyona bağlı miyokard hasarını anesteziye kedilerde azalttığını göstermişlerdir. Yang ve ark.⁵³ sıçan kalbinde L-arjininin kardiyoprotektif etkili olduğunu bulmuşlardır. Fakat L-NAME'in reoksijenasyon hasarını inhibe ettiğini gösteren bulgular da vardır^{18,53-55}. Patel ve ark.⁵⁵ tavşanlarda oklüzyon-reperfüzyonla oluşan miyokardiyal infarkt alanının L-NAME ile azaldığını göstermişlerdir. L-NAME'in sıçan izole kalbinde iskemi-reperfüzyon ile oluşan kardiyak disfonksiyon ve hasarı etkilemediği fakat reperfüzyon sonrasında ortaya çıkan superoksid dismutaz (SOD) aktivitesindeki azalma ve lipid peroksidasyonundaki artışın L-NAME ile azalttıkları gösterilmiştir⁵⁶. Bunun yanında, NO donörlerinin iskemi reperfüzyon aritmilerinde antiaritmik ve antiiskemik etki gösterdikleri ve aynı zamanda miyokard hasarını azalttıkları bilinmektedir⁵⁷. SNP reperfüzyon sırasında koronerlerde NO düzeylerinin korunmasını ve L-NAME'in proaritmik etkisinin ortadan kalkmasını sağlamıştır⁵⁸.

ONOO⁻'in iskemi reperfüzyon hasarındaki rolüne ilişkin yayınlar son zamanlarda artış göstermiştir^{54,59,60}. Endotel hücrelerinden iskemi ve reperfüzyon sırasında hem ekstraselüler membran bağımlı NADPH-oksidaz hem de intraselüler ksantin oksidaz aktivasyonu ile serbest oksijen radikalleri meydana gelir⁶¹. Reperfüzyonun erken döneminde süperoksit radikali ve NO'nun yüksek konsantrasyonda oluşmaları ile ONOO⁻ oluşmaktadır⁶². ONOO⁻'in kalbin kontraksiyonunu bozduğu ve direkt miyokard hasarı oluşturduğu bilinmektedir^{48,49,63}. L-NMMA veya SOD ile reperfüzyon sırasında, akut ONOO⁻ oluşumunun önlenmesinin, sıçan izole kalbini iskemi-reperfüzyon hasarına karşı koruduğu bildirilmiştir⁶⁴. ONOO⁻'in etkisine aracılık eden PARS enziminin inhibisyonu iskemi ve reperfüzyonla oluşan infarkt büyüklüğünü azaltmakta⁶⁵ ve kardiyak miyositleri oksidatif hasara karşı korumaktadır⁶⁶. Bu sonuçlar, ONOO⁻'in iskemi reperfüzyon hasarındaki potansiyel rolünü kanıtlamaktadır. Mi-

yokardiyal iskemi ve reperfüzyon sırasında, dolaşımdaki nötrofil ve plazma NO düzeylerinin artması sistemik inflamatuvar bir yanıt oluşturmakta, bu da dokuda ONOO⁻'in oluşumuyla sonuçlanmaktadır⁶⁴. ONOO⁻'in nanomolar konsantrasyonlarda, iskemi-reperfüzyon hasarında koruyucu etki oluşturduğu ve bu etkisinin postiskemik bölgede nötrofillerin birikimini önemli ölçüde azaltmasına bağlı olduğu da gösterilmiştir⁶⁷. Ayrıca, mikromolar konsantrasyonda peroksinitrit infüzyonunun, kedilerde miyokardial infarkt alanını azalttığı ve koroner arter endotel fonksiyonunu koruduğu bulunmuştur⁶⁸.

Sonuç

NO fizyolojik olarak endokardiyal endotel hücrelerinde, kardiyak miyositlerde ve koroner endotelde Ca²⁺ bağımlı enzimler aracılığı ile sentezlenmektedir. Endokardiyal endotelden salınan NO'un miyokarddaki etkisini gösterebilmesi için gerekli konsantrasyona ulaşabilmesi, kısa yarılanma ömrü göz önüne alındığında pek mümkün görünmemekle birlikte, atriumlar ve sağ ventrikülün bazı bölümleri gibi miyokard kalınlığının az olduğu bölgelerde bu etkinin görülme olasılığı yüksektir⁶⁹. Endokardiyumdan lokal olarak salınan NO asıl etkisini, trombositler üzerinde göstermekte, trombosit adezyonunu ve trombus oluşumunu önlemektedir⁶⁹. Koroner dolaşımdan salınan NO ise tüm kalpte etkili olabilmekte ve endokardiyumdan salınan NO gibi sGMP yolu ile miyokardda negatif inotrop etki göstermektedir^{14,25-27}. Bu mekanizma, endotel tabakasının kalp fonksiyonlarını düzenlemedeki önemli rolünü ortaya koymaktadır. Endotel hücreleri ve lökositler, sitokinler tarafından, uyarıldıklarında yüksek konsantrasyonlarda NO ve süperoksit oluşturabilmektedir. Oluşan NO, süperoksit ile reaksiyona girerek, potent toksik metabolit ONOO⁻'i oluşturmaktadır. Bu, özellikle akut inflamasyon ve reperfüzyonun erken döneminde belirgindir. NO'un sGMP aracılıklı negatif inotrop etkisi özellikle sepsis, kalp yetmezliği gibi patolojik durumlarda önem kazanmaktadır. Yine patolojik durumlarda eğer ortamda süperoksit varsa, yüksek konsantrasyonda oluşacak olan ONOO⁻'de kardiyak

kontraktilitenin azalmasına katkıda bulunacak ve miyokardial hasara yol açacaktır. ONOO⁻'in kardiyak kontraktiliteyi hangi mekanizma ile azalttığı bugün için yeterince açık değildir. Özellikle, iskemi-reperfüzyon hasarında PARS'ın rolünün tam olarak açıklığa kavuşturulması, bu konudaki belirsizliklerin bir bölümünü ortadan kaldıracaktır. Bunun yanında, ONOO⁻ ve prostaglandin sentezi arasındaki ilişkinin açıklık kazanması, ONOO⁻'in vazodilatör mekanizmasını ve kardiyak kontraktiliteyi hangi mekanizma ile azaltığını daha iyi anlamamızı sağlayacaktır. Kalpteki patolojik durumlardaki NO salınımının kontrolü (selektif iNOS inhibisyonu gibi) ve spesifik ONOO⁻ süpürücülerinin geliştirilmesi ise tedaviye yeni yaklaşımlar getirebilecektir.

KAYNAKLAR

1. Furchgott RF, Zawadzki JV. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature*, 288, 373-376, 1980.
2. Moncada S, Palmer RMJ, Higgs EA. Nitric oxide: Physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacol. Rev.*, 43, 109-142, 1991.
3. Palmer RMJ, Ferrige AG, Moncada S. Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature*, 327, 524-526, 1987.
4. Ignarro LJ, Buga GM, Wood KS, Byrns RE, Chaudhuri G. Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 84, 9265-9269, 1987.
5. Radomski MW, Palmer RMJ, Moncada S. Glucocorticoids inhibit the expression of an inducible, but not the constitutive, nitric oxide synthase in vascular endothelial cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 87, 10043-10047, 1990.
6. Sorrentino R, Sautebin L, Pinto A. Effect of methylguanidine, guanidine and structurally related compounds on constitutive and inducible nitric oxide synthase activity. *Life Sci.*, 61, 1283-1291, 1997.
7. Szabo C, Southan GJ, Thiemermann C. Beneficial effects and improved survival in rodent models of septic shock with S-methyl-isothiourea sulfate, a novel, potent and selective inhibitor of inducible nitric oxide synthases. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 91, 12472-12476, 1994.
8. Southan GJ, Szabo C, O'Connor M P, Salzman AL, Thiemermann C. Amidines are potent inhibitors of constitutive and inducible nitric oxide synthases: Preferential inhibition of the inducible isoform. *Eur. J. Pharmacol.*, 291, 311-318, 1995.
9. Knowles RG. Keeping the cell reduced: Enzymes influencing redox reactions. *Biochem. Soc. Trans.*, 24, 875-880, 1996.

10. Schulz R, Smith JA, Lewis MJ, Moncada S. Nitric oxide synthase in cultured endocardial cells of the pig, *Br. J. Pharmacol.*, 104, 21-24, 1991.
11. Schulz R, Nava E, Moncada S. Induction and potential biological relevance of a Ca²⁺ independent NO synthase in the myocardium, *Br. J. Pharmacol.*, 105, 575-580, 1992.
12. De Belder AJ, Radomski WM, Why HJF, Richardson PJ, Bucknall CA, Salas E, Martin JF, Moncada S. Nitric oxide synthase activities in human myocardium, *Lancet*, 341, 84-85, 1993.
13. Schroeder RA, Kuo PC. Nitric oxide: Physiology and pharmacology, *Anesth. Analg.*, 81, 1052-1059, 1995.
14. Schulz R, Triggle CR. Role of NO in vascular smooth muscle function, *TIPS*, 15, 255-259, 1994.
15. Butler AR, Frederick W, Flitney FW, Williams DLH. NO, nitrosonium ions, nitroxide ions, nitrosothiols and iron-nitrosyls in biology: A chemist's perspective. *TIPS*, 16, 18-22, 1995.
16. Beckman JS, Koppenol WH. Nitric oxide, superoxide and peroxynitrite: The good, the bad and the ugly, *Am. J. Physiol.*, 271, C1424-C1437, 1996.
17. Blough NV, Zafiriou OC. Reaction of superoxide with nitric oxide to form peroxynitrite in alkaline aqueous solution, *Inorg. Chem.*, 24, 3502-3504, 1985.
18. Beckman JS, Beckman TW, Chen J, Marshall BA, Freeman BA. Apparent OH radical production from peroxynitrite: Implications for endothelial injury by nitric oxide and superoxide, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 87, 1620-24, 1990.
19. Pryor WA, Squadrito GL. The chemistry of peroxynitrite: A product from the reaction of nitric oxide with superoxide, *Am. J. Physiol.*, 268, L699-L722, 1995.
20. Demiryürek AT, Çakıcı İ, Kanzak İ. Peroxynitrite: A putative cytotoxin, *Pharmacol. Toxicol.*, 82, 113-117, 1998.
21. Beckman JS, Ischiropoulos H, Zhu L, van der Woerd M, Smith C, Chen J, Harrison J, Martin JC, Tsai M. Kinetics of superoxide dismutase and iron catalyzed nitration of phenolics by peroxynitrite, *Arch. Biochem. Biophys.*, 298, 438-445, 1992.
22. Kooy NW, Lewis SJ. Nitrotyrosine attenuates the hemodynamic effects of adrenoceptor agonists in vivo: Relevance to the pathophysiology of peroxynitrite, *Eur. J. Pharmacol.*, 310, 155-161, 1996.
23. Beckman JS, Ye YZ, Anderson P, Chen J, Accavitti MA, Tarpey MM, White CR. Extensive nitration of protein tyrosines in human atherosclerosis detected by immunohistochemistry, *Biol. Chem. Hoppe-Seyler*, 375, 81-88, 1994.
24. Kooy NW, Lewis SJ, Royall JA, Ye YZ. Extensive tyrosine nitration in human myocardial inflammation: Evidence for the presence of peroxynitrite, *Crit. Care Med.*, 25(5), 812-819, 1997.
25. Brady AJB, Warren JB, Poole-Wilson PA, Williams TJ, Harding SE. Nitric oxide attenuates cardiac myocyte contraction, *Am. J. Physiol.*, 265, H182-H186, 1993.
26. Finkel MS, Oddis CV, Mayer OH, Hattler BG, Simmons RL. Nitric oxide synthase inhibitor alters papillary muscle force-frequency relationship, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 272, 945-952, 1995.
27. Gross LW, Bak MI, Ingwall JS, Arstall MA, Smith TW, Balligand JL, Kelly RA. NO inhibits creatine kinase and regulates heart contractile reserve, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 93, 5604-5609, 1996.
28. McKenna TM, Li S, Tao S. PKC Mediates LPS- and phorbol-induced cardiac cell nitric oxide synthase activity and hypocontractility, *Am. J. Physiol.*, 269, H1891-H1898, 1995.
29. Kinugawa KI, Kohmoto O, Yoa A, Serizawa T, Takahashi T. Cardiac inducible NO synthase negatively modulates myocardial function in rat myocytes, *Am. J. Physiol.*, 272, H35-H47, 1997.
30. Manning RD Jr., Hu L, Mizelle HL, Montani JP, Norton MW. Cardiovascular responses to long-term blockade of nitric oxide synthesis, *Hypertension*, 22, 40-48, 1993.
31. Mohan P, Brutsaert DL, Paulus WJ, Sys SU. Myocardial contractile response to NO and cGMP, *Circulation*, 93, 1223-1229, 1996.
32. Smith AJ, Shah AM, Fort S, Lewis MJ. The influence of endocardial endothelium on myocardial contraction, *TIPS*, 13, 113-116, 1992.
33. Grocott-Mason R, Anning P, Ewans H, Lewis MJ, Shah AM. Modulation of left ventricular relaxation in isolated ejecting heart by endogenous nitric oxide, *Am. J. Physiol.*, 267, H1804-H1813, 1994.
34. Brutsaert DL, Meulemans AL, Sipida KR, Sys SU. Effects of damaging the endocardial surface on the mechanical performance of isolated cardiac muscle, *Circ. Res.*, 62, 358-366, 1988.
35. Smith AJ, Shah AM, Lewis MJ. Factors released from endocardium of the ferret and pig modulate myocardial contraction, *J. Physiol.*, 439, 1-14, 1991.
36. Deyton LR, Walker RE, Kovacs JA, Herpin B, Parker M, Masur H, Fauci AS, Lane HC. Reversible cardiac dysfunction associated with interferon alfa therapy in AIDS patients with Kaposi's sarcoma, *N. Engl. J. Med.*, 321, 1246-1249, 1989.
37. Nora R, Abrams JS, Tait NS, Hiponia DJ, Silverman HJ. Myocardial toxic effects during recombinant interleukin-2 therapy, *J. Natl. Cancer Int.*, 81, 59-63, 1989.
38. Hosenpud JD, Campell SM, Mendelson DJ. Interleukin-1 induced myocardial depression in an isolated beating heart preparation, *J. Heart Transplant.*, 8, 460-464, 1989.
39. Sobotko PA, Mc Manis J, Fisher RI, Stein DG, Thomas JX Jr. Effects of interleukin-2 on cardiac function in the isolated rat heart, *J. Clin. Invest.*, 86, 845-850, 1990.
40. Gulick T, Chung MK, Pieper SJ, Lange LG, Schreiner GF. Interleukin-1 and TNF inhibit cardiac myocyte beta-adrenergic responsiveness, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 86, 6753-6757, 1989.
41. Brady AJB, Poole-Wilson PA, Harding SE, Warren JB. NO production within cardiac myocytes reduces their contractility in endotoxemia, *Am. J. Physiol.*, 263, H1963-H1966, 1992.
42. Flesch M, Kilter H, Cremers B, Lenz O, Südkamp M, Kuhn-Regnier F, Böhm M. Acute effects of NO and cGMP on human myocardial contractility, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 281, 1340-1349, 1997.

43. Davis PJ, Xuan TVO, Sulakhe PV. Altered responsiveness of guanylyl cyclase to nitric oxide following treatment of cardiomyocytes with S-nitroso-D,L-acetylpenicillamine and sodium nitroprusside, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 238, 351-356, 1997.
44. Schwarz P, Diem R, Dun NJ, Förstermann U. Endogenous and exogenous NO inhibits noradrenalin release from rat heart sympathetic nerves, *Circ. Res.*, 77, 841-848, 1995.
45. Thoenes M, Förstermann U, Tracey WR, Bleese NM, Nüssler AK, Scholz H, Stein B. Expression of inducible nitric oxide synthase in failing and non-failing human heart, *J. Mol. Cell. Cardiol.*, 28, 165-169, 1996.
46. Haywood GA, Tsao PS, Von der Leyen HE, Mann MJ, Keeling PJ, Trindade PT, Lewis NP, Byrne CD, Rickenbacher PR, Bishopric NH, Cooke JP, McKenna WJ, Fowler MB. Expression of inducible nitric oxide synthase in human heart failure, *Circulation*, 93, 1087-1094, 1996.
47. Lewis NP, Tsao PS, Rickenbacher PR, Xue C, Johns RA, Haywood GA, Von der Leyen H, Trindade PT, Cooke JP, Hunt SA, Billingham ME, Valantine HA, Fowler MB. Induction of nitric oxide synthase in human cardiac allograft is associated with contractile dysfunction of the left ventricle, *Circulation*, 93, 720-729, 1996.
48. Schulz R, Dodge KL, Lopaschuk GD, Clanachan AS. Peroxynitrite impairs cardiac contractile function by decreasing cardiac efficiency, *Am. J. Physiol.*, 272, H1212-H1219, 1997.
49. Ishida H, Ichimori K, Hirota Y, Fukahori M, Nakazawa H. Peroxynitrite-induced cardiac myocyte injury. *Free Rad. Biol. Med.*, 20(3), 343-350, 1996.
50. Weyrich AS, Ma XL, Lefer AM. The role of L-arginine in ameliorating reperfusion injury after myocardial ischemia in cat, *Circulation*, 86, 279-288, 1992.
51. Johnson G, Tsao PS, Mulloy D, Lefer AM. Cardioprotective effects of acidified sodium nitrite in myocardial ischemia with reperfusion, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 252, 35-41, 1990.
52. Siegfried MR, Erhardt J, Rider XL, Lefer AM. Cardioprotection of organic NO donors on myocardial ischemia-reperfusion, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 260, 668-675, 1992.
53. Yang BC, Virmani R, Nichols WW, Mehta JL. Platelets protect against myocardial dysfunction and injury induced by ischemia and reperfusion in isolated rat hearts, *Circ. Res.*, 72, 1181-1190, 1993.
54. Matheis G, Sherman MP, Buckberg GD, Haybron DM, Young HH, Ignarro LJ. Role of L-arginine-nitric oxide pathway in myocardial reoxygenation injury, *Am. J. Physiol.*, 262, H616-620, 1992.
55. Patel VC, Yellon DM, Singh KJ, Neild GH, Woolfson RG. Inhibition of nitric oxide limits infarct size in the in situ rabbit heart, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 194, 234-238, 1993.
56. Yang BC, Mehta JL. Inhibition of nitric oxide does not affect reperfusion-induced myocardial injury, but it prevents lipid peroxidation in the isolated rat heart, *Life Sci.*, 61, 229-236, 1997.
57. Wainwright CL, Martorana PA. Pirsidomine, a novel nitric oxide donor suppresses ischemic arrhythmias in anesthetized pigs, *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, 22 (Suppl.7), 44-50, 1993.
58. Pabla R, Curtis MJ. Effects of NO modulation on cardiac arrhythmias in the rat isolated heart, *Circ. Res.*, 77, 984-992, 1995.
59. Zulueta JJ, Sawhney R, Yu FS, Cote CC, Hassoun PM. Intracellular generation of reactive oxygen species in endothelial cells exposed to anoxia-reoxygenation, *Am. J. Physiol.*, 272, L897-L902, 1997.
60. Ischiropoulos H, Al-Mehdi AB, Fischer AA. Reactive species in ischemic rat lung injury: Contribution of peroxynitrite, *Am. J. Physiol.*, 269, L158-L164, 1995.
61. Wang P, Zweier JL. Measurement of nitric oxide and peroxynitrite generation in the postischemic heart, *J. Biol. Chem.*, 271(46), 29223-29230, 1996.
62. Liu P, Hock CE, Nagele R, Wong PY. Formation of nitric oxide, superoxide and peroxynitrite in myocardial ischemia-reperfusion injury in rats, *Am. J. Physiol.*, 272, H2327-H2336, 1997.
63. Lopez BL, Liu G-L, Theodore A, Christopher TA, Ma X-I. Peroxynitrite, product of superoxide and nitric oxide, causes myocardial injury in the isolated perfused rat heart, *Coronary Artery Disease*, 8, 149-153, 1997.
64. Yasmin W, Strynadka KD, Schulz R. Generation of peroxynitrite contributes to ischemia-reperfusion injury in isolated rat hearts, *Cardiovasc. Res.*, 33, 422-432, 1997.
65. Thiernemann C, Bowes J, Myint FP, Vane JR. Inhibition of the activity of poly (ADP-ribose) synthetase reduces ischemia-reperfusion injury in the rat heart and skeletal muscle, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 94, 679-683, 1997.
66. Gilad E, Zingarelli B, Salzman AL, Szabo C. Protection by poly (ADP-ribose) synthetase oxidant injury in cardiac myoblasts in vitro, *J. Mol. Cell. Cardiol.*, 29, 2585-2597, 1997.
67. Lefer DJ, Scalia R, Campbell B, Nossuli T, Hayward R, Salamon M, Grayson J, Lefer AM. Peroxynitrite inhibits leukocyte endothelial cell interactions and protects against ischemia-reperfusion injury in rats, *J. Clin. Invest.*, 99(4), 684-691, 1997.
68. Nossuli TO, Hayward R, Scalia R, Lefer AM. Peroxynitrite reduces myocardial infarct size and preserves coronary endothelium after ischemia and reperfusion in cats, *Circulation*, 96, 2317-2324, 1997.
69. Henderson AH, Lewis MJ, Shah AM, Smith JA. Endothelium endocardium and cardiac contraction, *Cardiovasc. Res.*, 26, 305-308, 1992.