

## Efek akut merokok kretek terhadap fungsi ventrikel kanan

Victor Joseph

Bagian Ilmu Penyakit Jantung dan Pembuluh Darah Fakultas Kedokteran  
Universitas Sam Ratulangi BLU RSUP Prof. Dr. R. D. Kandou Manado  
Email: Victor\_kardio@yahoo.com

**Abstract:** Worldwide heart failure is an endemic that causes a big expenditure. One of the risk factors of coronary heart disease is smoking. WHO reported that Indonesia was one of the highest smoker populations all over the world. Clover cigarette has more nicotine, carbon monoxide, tar, and other toxic substances than the white cigarette. Smoking induces ventricle relaxation dysfunction through the imbalance production and expression of nitric oxide in the myocardium. The occurrence of abundant superoxides and other reactive oxygen species causes accumulated endothelial oxidative damage. Changes of the right ventricle could be explained with the increase of tracheal, pulmonar artery, systemic, and left atrial pressures. Slight vasoconstriction occurs during smoking and then vasodilatation occurs alternately in a while. The dangerous effects of smoking caused by accumulated endothelial oxidative damage disturb the production of endogenous nitric oxide. There is no cardiac adaptation to smoking, neither the active smoker nor the passive one.

**Keywords:** smoking, acute effect, right ventricle, heart failure

**Abstrak:** Gagal jantung merupakan suatu endemik yang menyebabkan banyak pengeluaran besar di berbagai negara. Salah satu faktor risiko terhadap penyakit jantung koroner ialah merokok. Data WHO menunjukkan Indonesia sebagai salah satu populasi perokok terbanyak di dunia. Rokok kretek memiliki kadar nikotin, karbon monoksida, tar, dan komponen toksik lain yang lebih tinggi dibanding rokok konvensional. Merokok menginduksi gangguan relaksasi ventrikel melalui gangguan produksi dan ekspresi nitrik oksida di miokard. Selain itu banyaknya kandungan superoksida dan spesies oksigen reaktif lain menyebabkan akumulasi kerusakan oksidatif terhadap endotel. Perubahan pada ventrikel kanan dapat dijelaskan dengan meningkatnya tekanan trakeal, arteri pulmonal, sistemik, dan atrium kiri. Terjadi vasokonstriksi sesaat pada saat asap rokok memasuki alveoli paru dan kemudian berdilatasi kembali dalam waktu singkat. Efek buruk merokok disebabkan akumulasi kerusakan oksidatif pada sel endotel yang menyebabkan gangguan produksi nitrik oksigen endogen. Tidak ada adaptasi kardiak terhadap rokok bahkan pada perokok aktif.

**Kata kunci:** merokok, efek akut, ventrikel kanan, gagal jantung

Sejauh ini kejadian gagal jantung adalah suatu endemik. Beban yang berat, menyebabkan disabilitas, perawatannya memerlukan biaya yang besar, dan kerap berujung pada kematian. Di Amerika Serikat, sedikitnya 5.8 juta penduduknya menderita gagal jantung, di mana kejadian ini merupakan penyebab utama perawatan di rumah sakit. Sepertiga pasien dengan gagal jantung kongestif memiliki fraksi

ejeksi ventrikel kiri yang normal atau mendekati nilai normal. Di Indonesia belum ada angka yang pasti mengenai prevalensi penyakit jantung, namun di Rumah Sakit Jantung Harapan Kita setiap hari terdapat sekitar 400-500 pasien rawat jalan di mana 65%-nya adalah pasien gagal jantung.<sup>1-4</sup>

Merokok, sebagai salah satu faktor risiko terhadap kejadian gagal jantung,

merupakan hal yang paling dapat dimodifikasi. Satu studi berbasis populasi menyatakan bahwa merokok menyebabkan peningkatan risiko gagal jantung (OR 1,37, 95% CI 1,13-1,68), dan bila dikaitkan dengan populasi, memiliki nilai *Population Attributable Risk* (PAR) sebesar 22%. Hal ini berarti bila kebiasaan merokok dapat dihilangkan, diharapkan kejadian gagal jantung pada populasi tersebut akan berkurang sebanyak 22%.<sup>1,5-6</sup>

Data WHO menunjukkan bahwa Indonesia menduduki peringkat ke-3 dari 10 negara dengan perokok terbanyak di dunia. Sedikitnya terdapat 57 juta perokok di Indonesia, di mana sebanyak 88% merokok kretek. Satu studi menyatakan bahwa produk tembakau alternatif ini menghasilkan lebih banyak nikotin, karbon monoksida, dan tar dibandingkan dengan rokok konvensional (rokok putih).<sup>7-9</sup>

Banyak efek serius dari merokok yang terjadi dini, terutama di bidang kardiovaskular. Walaupun efek segera ini tidak menimbulkan gejala, kerusakan sudah terjadi saat rokok pertama kali dikonsumsi.<sup>10</sup> Merokok memengaruhi sirkulasi koroner maupun perifer, menyebabkan gangguan trombogenesis, fibrinolisis, aktivitas trombosit, dan sistem inflamasi sehingga dapat terjadi disfungsi endotel, aterosklerosis koroner, ruptur plak, dan sindrom koroner akut.<sup>11</sup> Konsumsi akut rokok menyebabkan konstiksi arteri koroner dan penurunan *coronary flow reserve*.<sup>12</sup> Beberapa studi mengenai efek merokok terhadap fungsi ventrikel kiri<sup>6</sup> juga sudah dilakukan, namun sejauh ini belum banyak studi mengenai pengaruh akut merokok kretek terhadap fungsi ventrikel kanan.

Sebagian karena pajak yang dikenakan terhadap rokok kretek lebih rendah dibandingkan dengan rokok konvensional (rokok putih), rokok kretek menjadi rokok yang paling banyak dikonsumsi di Indonesia. Hampir 90% perokok mengonsumsi rokok kretek.<sup>8</sup> Rokok kretek memiliki kadar nikotin, karbon monoksida, tar, dan komponen toksik lain yang lebih tinggi dibandingkan rokok konvensional.<sup>9</sup>

Kadar tar yang dikandung bervariasi dari 34-65 mg, nikotin dari 1,9-2,6 mg, dan karbon monoksida dari 18-28 mg per batang rokok kretek. Terdapat sedikitnya lima senyawa tambahan dalam asap rokok kretek: eugenol, asetil eugenol,  $\beta$ -kariofillen,  $\alpha$ -humulen, dan kariofillen epoksida, yang kesemuanya memiliki efek psikotropika. Kadar nikotin yang lebih tinggi dalam rokok kretek juga bersifat psikotropika.<sup>13</sup> Selain itu, *mainstream smoke* mengandung kadar nirik oksida yang bermakna, antara 86,2-99,2%.<sup>14</sup>

### **Perbedaan rokok kretek dan rokok putih**

Rokok kretek merupakan gabungan tembakau (60-80%) dan kuncup bunga cengkeh yang dihaluskan (20-40%). Kretek memiliki aroma yang khas karena kandungan cengkehnya. Tembakau pada rokok kretek mengandung dua kali lipat tar, nikotin, dan karbon monoksida dibandingkan rokok putih. Satu studi menyatakan bahwa produk tembakau ini dengan sendirinya juga menghasilkan lebih banyak nikotin, karbon monoksida, dan tar dibandingkan dengan rokok putih. Eugenol, suatu zat neurotoksik, secara alamiah dikandung oleh cengkeh seberat beberapa mg.<sup>11,15</sup> Eugenol ini dikatakan dapat bersifat menetralkan aroma asap rokok kretek. Rata-rata seseorang yang merokok kretek akan menghirup 7 mg eugenol per batang rokok yang dikonsumsinya.<sup>15</sup>

Satu studi *in vitro* yang dilanjutkan dengan uji klinis untuk membandingkan rokok kretek dengan rokok putih dilakukan di Amerika Serikat pada tahun 2002<sup>11</sup> menyatakan bahwa rokok kretek mengandung lebih banyak zat toksik dibandingkan dengan rokok putih. Efek yang dihasilkan rokok kretek juga lebih hebat dibandingkan dengan rokok putih, antara lain karena jenis tembakau yang digunakan, kandungan tembakau yang lebih banyak sehingga kemasannya lebih padat dan berat, jumlah hembusan yang terjadi saat mengonsumsinya, dan residu tar yang dihasilkan oleh kuncup bunga cengkeh dalam kretek.<sup>16</sup>

## NO dan fungsi diastolik miokard

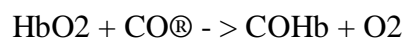
Salah satu teori penyebab gangguan relaksasi miokard adalah adanya gangguan sintesa nitrik oksida (*nitric oxide*-NO) pada miokard seorang perokok.<sup>17</sup> NO disintesis melalui *nitric oxide synthase* (NOS). Terdapat tiga isoform NOS pada miokard: *neuronal* (nNOS), *inducible* (iNOS), dan *endothelial* (eNOS). iNOS2 merupakan *inducible isoform* dan tidak diekspresikan dalam keadaan normal, sedangkan eNOS dan nNOS diekspresikan secara fisiologis pada miokard normal.<sup>17,18</sup> Telah dilaporkan bahwa NO memiliki pengaruh yang bermakna terhadap fase relaksasi miokard, bahkan pada keadaan di mana tidak terdapat perubahan fungsi sistolik. Pengamatan selanjutnya mengenai efek NO terhadap fungsi kontraktile basal pada preparat muskulus papilaris yang diisolasi menguatkan bukti adanya kerja NO secara unik untuk secara selektif menginduksi onset relaksasi isovolumetrik. Gangguan pada sistem NOS terbukti berkaitan dengan patogenesis fungsi diastolik ventrikel kiri.<sup>18,19</sup>

Merokok menginduksi gangguan relaksasi ventrikel melalui gangguan produksi dan ekspresi NO di miokard.<sup>15</sup> Karena asap rokok mengandung superoksida dan spesies oksigen reaktif lainnya (ROS; *Reactive Oxygen Species*), dipikirkan bahwa efek buruk dari merokok disebabkan oleh akumulasi kerusakan oksidatif terhadap sel endotel, yang mengakibatkan gangguan produksi NO.<sup>17</sup> Pada keadaan kronis, hal ini menyebabkan adanya fibrosis jantung, ekspresi sitokin inflamatorik, dan stres oksidatif yang menyebabkan disfungsi diastolik ventrikel kiri.<sup>18</sup> Perokok memiliki kadar plasma NO yang rendah, yang merupakan suatu tanda adanya disfungsi endotel.<sup>17</sup>

## Hipoksia yang diakibatkan oleh jaringan akibat karbon monoksida dalam asap rokok

Setelah inhalasi, asap rokok menuju ke alveoli. Dalam alveoli, CO terikat dengan hemoglobin membentuk senyawa karboksi

hemoglobin. Hemoglobin, yang merupakan suatu protein globular di dalam sel darah merah, terdiri dari empat kelompok hem yang secara fisiologik mengikat empat molekul oksigen, sesuai dengan jumlah molekul hem. Masuknya CO mengubah komposisi di atas mengikat afinitas CO mengikat oksigen 210 kali lebih kuat dibandingkan oksigen sehingga CO kemudian menggantikan tempat oksigen pada hemoglobin.<sup>16</sup>



Dalam dosis normal, konsentrasi CO akan mengakibatkan supresi aktivitas eNOS yang berakibat vasokonstriksi. Paparan CO yang tinggi akan merendahkan kemampuan endotel dalam melakukan vaso relaksasi dan menurunkan rasio cGMP/cAMP.<sup>20</sup>

Terikatnya karboksi di hemoglobin dalam jumlah tinggi berakibat menurunnya suplai oksigen dalam mitokondria sel otot. Mioglobin, suatu protein globular dalam otot yang bertindak sebagai pembawa oksigen (transporter) memiliki kemampuan mengikat CO yang jauh lebih besar daripada oksigen, sekitar 200 kali. Berbeda dengan hemoglobin, mioglobin hanya terdiri dari satu kelompok hem dan dengan demikian hanya mengikat satu molekul oksigen. Oleh karena itu, karena CO terikat pada mioglobin, terjadi penurunan secara signifikan pada transpor oksigen menuju mitokondria. Penurunan signifikan ini menurunkan produk adenosine trifosfat (ATP) mitokondria dan menyebabkan produksi energi non oksidatif.<sup>20</sup>

## Nitrik oksida dalam asap rokok

Dengan ukuran yang relatif kecil, NO berdifusi secara cepat melewati sel alveolar menuju sel otot polos, mengaktivasi guanilat siklase dan meningkatkan kadar cGMP. Proses ini kemudian diikuti oleh relaksasi pembuluh darah. Setelah masuk dalam kompartemen pembuluh darah, NO kemudian di non-aktifkan dan dengan cepat bergabung dengan unit hem dan grup tiol dari serum protein. Afinitas NO terhadap

hemoglobin 1500 kali lebih besar daripada karbon monoksida.<sup>21</sup>

Oksigenasi darah di paru kemudian menginduksi nitrosilasi Hb, membentuk SNO-Hb dan di pembuluh darah mikro, sel darah merah melepas O<sub>2</sub> dan selanjutnya desaturasi HbO<sub>2</sub> dan mencetuskan terbebasnya SNO.<sup>21,22</sup>

### **Peran nitrik oksida dalam regulasi performa miokardium melalui interaksi endotel-endokardium**

Sel endotel berperan dalam mengatur dan memelihara fungsi jantung khususnya endokardium dan miokardium yang berinteraksi dengan kardiomyosit. Peran sel endotel berbeda pada setiap lapisan. Pada jantung yang sehat, sel endotel kardiak memproduksi NO melalui NOS. NO disintesis dari L-Arginin oleh tiga isozim yang berbeda; dua diantaranya ialah endotel dan neuronal yang diekspresikan dalam keadaan fisiologik sedangkan NOS inducibel hanya disintesis oleh berbagai stresor dan sitokin.<sup>23</sup>

Keseimbangan NO merupakan hal penting yang harus dijaga dalam kaitannya dengan fungsi endotel. Konsentrasi NO yang sangat tinggi dalam asap rokok, sekitar 74,5-1.008 ppm menghambat produksi di miokardium sehingga mengakibatkan terjadinya gangguan relaksasi ventrikel. Konsentrasi tinggi ini kemudian menekan fungsi kardiak dengan perantaraan siklik GMP dan protein kinase G (PKG) yang diikuti dengan desensitisasi miofilamen kardiak.<sup>24-27</sup>

Studi lain menyebutkan adanya efek NO terhadap kontraksi basal pada preparat muskulus papilaris yang diisolasi yang mengantar pada induksi onset relaksasi isovolumetrik sehingga gangguan pada sistem NOS terbukti berkaitan dengan patogenesis fungsi diastolik ventrikel.<sup>28-29</sup>

Inhalasi CO menyebabkan hipoksia dan gangguan fungsi miokard karena gangguan endotel koroner. Akumulasi dari stres oksidatif terhadap sel endotel mengakibatkan gangguan produksi NO endogen.<sup>28-29</sup>

### **Mekanisme khusus gangguan ventrikel kanan**

Perubahan akut pada ventrikel kanan dapat terjadi oleh berbagai intervensi dan manuver, seperti mengangkat kaki, duduk, berlari, dan sebagainya. Fungsi ventrikel kanan secara berkelanjutan dimodulasi oleh nadi, *pre and afterload*, kontraktilitas, dan perubahan tekanan intrapleural. Variasi-variasi normal ini menentukan fungsi diastolik ventrikel kanan. Merokok menyebabkan efek fisiologik akut yang menyebabkan meningkatnya tekanan trakeal, arteri pulmonal, tekanan darah sistemik, dan tekanan atrium kiri. Aktivitas *angiotensin converting enzim* (ACE) juga meningkat dan kembali ke kontrol dalam dua puluh menit.<sup>30-33</sup>

Patogenesis rokok dalam hubungannya dengan peninggian tekanan arteri pulmonal diinvestigasi oleh Wright et al. pada hewan coba. Struktur vaskular paru berespon sangat cepat terhadap asap rokok. Respon diawali dengan pelepasan ekspresi gen *vasoactive mediator endothelin*, *vascular endothelial growth factor* (VEGF), dan *VEGF flk-1*. Hal ini terjadi di arteri pulmonal dan pembuluh darah intra parenkimal. Meningkatnya tekanan arteri pulmonal ini berhubungan dengan efek langsung asap rokok pada bantalan pembuluh darah paru. Terjadi vaso-konstriksi sesaat yang menyebabkan gangguan kontraktilitas ventrikel kanan, dan saat kembali berdilatasi maka fungsi ventrikel kanan kembali normal.<sup>19</sup>

### **Disfungsi diastolik pada perokok**

Dewasa ini terdapat beberapa studi mengenai efek merokok terhadap fungsi ventrikel kanan, baik pada pasien dengan penyakit arteri koroner maupun partisipan sehat. Barbara et al. meneliti efek akut dari merokok terhadap fungsi ventrikel kanan pada 33 perokok sehat dan melaporkan penurunan rasio E/A dibandingkan grup kontrolnya. Fikret et al. juga melaporkan hal ini pada 22 orang perokok sehat dimana dilakukan pemeriksaan aliran trikuspid dan didapatkan adanya gangguan serta

peningkatan tekanan arteri pulmonalis yang kembali normal 30 menit sesudah merokok.<sup>18,19</sup>

Barutcu et al.<sup>15</sup> juga melaporkan dari 20 perokok yang dievaluasi dengan *Doppler* serta *tricuspid inflow and early and late velocity* didapatkan penurunan indeks performa ventrikel kanan sebelum dan 30 menit sesudah merokok.

### Penilaian disfungsi ventrikel kanan menggunakan ekokardiografi

Metode ekokardiografi untuk memeriksa disfungsi ventrikel kanan dapat dilakukan dengan cara sederhana maupun dengan cara yang lebih canggih menggunakan *speckle tracking*. Keduanya memiliki reproduksibilitas yang tinggi.<sup>34</sup>

1. *Tricuspid angular plain systolic excursion* (TAPSE) adalah metode yang digunakan untuk menilai jarak ekskursi sistolik dalam segmen longitudinal dari standar apikal 4 ruang. Nilai normal diambil berdasarkan *guidelines American Heart Association* yaitu lebih dari 1,6
2. *Tricuspid inflow*: dilakukan dengan menggunakan *pulse wave Doppler* dan *continuous wave Doppler* untuk mengukur kecepatan longitudinal ekskursi. Diambil posisi 4 bilik apeks dan kursor diletakan di atas *inflow* katup trikuspid sehingga terbentuk gambaran gelombang *Doppler tricuspid*. Dengan teknik yang menggunakan doppler seperti ini, kehati-hatian diperlukan untuk memastikan gambaran optimal dalam menghindari *under estimation of velocities*. Pengambilan bagian tengah dan apikal kecepatan dinding bebas ventrikel tidak dianjurkan oleh karena rendahnya kemampuan menghasilkan sinyal yang adekuat dengan variabilitas antar pengamat yang besar.

### Simpulan

Merokok adalah menginhulasi nikotin, CO, NO, radikal bebas, dan berbagai zat kimia lainnya. Efek akut merokok terhadap

sistem kardiovaskular sangat kompleks. Perubahan hemodinamik akut antara lain ialah kenaikan denyut nadi dan tahanan perifer karena efek kronotropik langsung dan sekresi katekolamin kelenjar adrenal.

Merokok satu batang rokok dapat menghasilkan perubahan akut terhadap fungsi ventrikel kanan. Disfungsi diastolik secara langsung berkaitan dengan penurunan relaksasi dini dari ventrikel kanan sehingga terjadi gangguan transfer darah dari atrium ke rongga ventrikel kanan. Penurunan relaksasi ventrikel kanan dapat dievaluasi melalui gerakan trikuspid.

### Saran

Selain gangguan jantung pada fase kronik, merokok juga menyebabkan perubahan pada fase akut. Dengan demikian, pola hidup sehat tanpa rokok sangat disarankan, teristimewa pada usia muda.

### DAFTAR PUSTAKA

1. Dunlay SM, Weston SA, Jacobsen SJ, Roger VL. Risk factors for heart failure: A population-based case-control study. *Am J Med*. 2009;122(11):1023-8.
2. Avery CL, Loehr LR, Baggett C, Chang PP, Kucharska-Newton AM, Matsushita K, et al. The population burden of heart failure attributable to modifiable risk factors The ARIC (Atherosclerosis risk in communities) Study. *J Am Coll Cardiol*. 2012;60(17):1640-6.
3. Siswanto B, Radi B, Kalim H et al. Acute decompensated heart failure in 5 hospitals. *CVD Prevention and control*. 2010;535-38.
4. Pusat Jantung Nasional Harapan Kita. Available from: <http://www.pjnhk.go.id/index.php?>, Jan 2011.
5. Lakier J. Smoking and cardiovascular disease. *Am J Med*. 1992;93:8S-12S.
6. Karakaya O, Barutcu I, Esen A, Kaya D, Turkmen M, Melek M, et al. Acute smoking-induced alterations in doppler echocardiographic measurements in chronic smokers. *Tex Heart Inst J*. 2006;33:134-8.

7. **Aditama TY**. Smoking and lung cancer. [cited Jan 1, 2011]. Available from: [www.kalbe.co.id](http://www.kalbe.co.id).
8. **Barber S, Ahsan A, Adioetomo SM, Setyonaluri D**. Tobacco economics in Indonesia. Paris: International Union Against Tuberculosis and Lung Disease (The UNION), 2008.
9. **Malsona J, Murtyb R, Moolchana E, Pickwortha W**. Clove cigarette smoking: biochemical, physiological, and subjective effects. *Pharmacol, Biochem Behav.* 2003;74:739-45.
10. **Doe J, DeSanto C**. Tobacco's immediate effects to the body. Campaign for Tobacco-Free Kids, 2009; p. 1-9.
11. **Gulel O, Soylu K, Yazici M, Demircan S, Durna K, Sahin M**. Longitudinal diastolic myocardial functions are affected by chronic smoking in young healthy people: a study of color tissue Doppler imaging. *Echocardiography.* 2007;24(5):494-9.
12. **Kasikcioglu E, Elitok A, Imran O, Arif C, Adem U, Huseyin O**. Acute effects of smoking on coronary flow velocity reserve and ventricular diastolic functions. *Int J Cardiol.* 2008;129:e18-e20.
13. **Guidotti T, Laing L, Prakash U**. Clove cigarettes-The basis for concern regarding health effects. *West J Med.* 1989;151:220-8.
14. **Coggins RC, Sena E, Langston T, Oldham M**. A comprehensive evaluation of the toxicology of cigarette ingredients: aromatic carbonyl compounds. *Inhal Toxicol.* 2011;23(S1):90-101.
15. **Barutcu I, AM Esan, D Kaya**. Effect of acute cigarette smoking on left and right ventricle filling parameter: studies by conventional Doppler echocardiography and Doppler tissue imaging in healthy participants. *Angiology.* 2008;59(3):312-6.
16. **Kyriakides Z, Kremastinos D, Rentoukas E, Mavrogheni S, Toutouzas P**. *Eur Heart J.* 1992;13:743-8.
17. **Tsuchiya M, Asada A, Kasahara E, Sato E, Shindo M, Inoue M**. Smoking a single cigarette rapidly reduces combine concentrations of nitrate and nitrite and concentration antioxidants in plasma. *Circulation.* 2002(105):1155-7.
18. **Lichodziejcsa B, Kurnicka K, Crudzka K, Malysz J, Ciurzynski M, Liszewska-Pfejfer D**. Chronic and acute effects of smoking on left and right ventricular relaxation in young healthy smoker. *Chest.* 2007;131(4):1142-8.
19. **Ilgeli T, Akpmar O**. Acute effect of smoking on right ventricular. *Swiss Med weekly.* 2007;137:91-6.
20. **Favory R, Lancel S, Tissier S, Mathieu D, Decoster B, Nevriere R, et al**. Myocardial dysfunction and potential cardiac hypoxia in rats induced by carbon monoxide inhalation. *Am J Resp Crit Care Med.* 2006;174:320-5.
21. **Hayward CS, Kelly RP, Macdonald PS**. Inhaled nitric oxide in cardiology practice. *Cardiovasc Res* 1999;43:628-38.
22. **McMahon TJ, Doctor A**. Extrapulmonary effects of inhaled nitric oxide. *Proceedings of the American Thoracic Society.* 2006;3:153-60.
23. **Govers R, Rabelink TJ**. Cellular regulation of endothelial nitric oxide synthase. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2001;280:F193-206.
24. **Massion PB, Balligand JL**. Modulation of cardiac contraction, relaxation and rate by the endothelial nitric oxide synthase (eNOS): lessons from genetically modified mice. *J Physiol.* 2003;546:63-75.
25. **Scherrer-Crosbie M, Ullrich R, Bloch K**. Endothelial nitric oxide synthase limits left ventricular remodeling after myocardial infarction in mice. *Circulation.* 2001;104:1286-91.
26. **Tsuchiya M, Asada A, Kasahara E, Sato E, Shindo M, Inoue M, et al**. Smoking a single cigarette rapidly reduces combined concentrations of nitrate and nitrite and concentration of antioxidants in plasma. *Circulation.* 2002;105(10):1155-7.
27. **Kopincova J, Puzserova A, Bernatova I**. Biochemical aspects of nitric oxide synthase feedback regulation by nitric oxide. *Interdiscip Toxicol.* 2011;4:63-8.
28. **Takeishi Y**. The nitric oxide synthase family and left ventricular diastolic function. *Circulation.* 2010;74:2556-7.
29. **Paulus W, Shah A**. NO and cardiac

- diastolic function. *Cardiovasc Res.* 1999;43:595-606.
- 30. Gautier M, Antier D, Bonnet P, Le Net JL, Hanton G, Eder V, et al.** Continuous inhalation of carbon monoxide induces right ventricle ischemia and dysfunction in rats with hypoxic pulmonary hypertension. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2007;293:H1046-52.
- 31. Kitamura S.** Effects of cigarette smoking on metabolic events in the lung. *Environ Health Perspect.* 1987;72: 283-96.
- 32. Wright JL, Tai H, Churg A.** Cigarette smoke induces rapid changes in gene expression in pulmonary arteries. *Lab Invest.* 2002;83:1391-8
- 33. Wright JL, Tai H, Churg A.** Cigarette smoke induces persisting increases of vasoactive mediators in pulmonary arteries. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2004;31:501-9
- 34. Guidelines for the Echocardiographic assesment.** *J Am Soc Echocardiogr* 2010;23:685-713.