

PERUBAHAN DISFUNGSI ENDOTEL AORTA PADA TIKUS GALUR PUTIH REMAJA YANG TERPAPAR ALCOHOL TERHADAP PEMBERIAN CURCUMIN.

Puguh Widiyanto¹, Budi Ekanto²

¹ Prodi Ilmu Keperawatan pada FIKES Universitas Muhammadiyah Magelang

² Prodi Keperawatan Magelang Poltekkes Kemenkes RI Semarang

ABSTRACT

The human body has the ability to prevent and correct endothelial dysfunction by producing antioxidants. This primary antioxidant will help prevent oxidation caused by free radicals, so the blood vessels endothelial dysfunction and will not experience does not occur in atherosclerotic arteries. Under these circumstances, where the number of free radicals in the blood is very excessive, an antioxidant that is produced by the body no longer effective, so that the necessary antioxidants from the outside (secondary).

This research experiments, using post test only control group design. Statistical analysis is used for the T test, to assess the effect of antioxidants (curcumin). From the results of this study proves that there is a positive influence, that curcumin can prevent endothelial cell dysfunction with no incidence of characteristics of foam cells in the aorta of male teenagers who typhoid chronic alcohol exposure. Suggestion is to increase the consumption antiokidan (curcumin) to improve vascular endothelial damage (sclerosis).

Keywords : Exposure to alcohol, the aortic endothelial dysfunction, provision of curcumin

PENDAHULUAN

Pengaruh mengkonsumsi alkohol dalam jangka panjang dapat menurunkan Nitric Oxide Synthase-dependent (NOS) terkait dengan respons arteriole yang belum jelas mekanisme terjadinya. Mengkonsumsi alkohol dalam waktu lama memberikan kontribusi pada patogenesis beberapa penyakit kardiovaskuler, termasuk cardiomiopati, hipertensi sistemik, aritmia, stroke hemoragik dan non hemoragik. (Hong Sun & William G.M., 2000).

Akibat : aterosklerotik arteri karotis dan lengkung aorta akan meningkatkan sensitivitas Baroreseptor, sehingga sedikit saja perubahan tekanan akan menimbulkan gangguan irama

jantung (Bradikarida) (Guyon,2006). Penurunan denyut jantung akan mengurangi jumlah darah yang dipompa oleh jantung (Kardiak Output), sehingga akan menimbulkan penurunan jumlah darah yang disuplai ke semua organ tubuh. Keadaan ini akan menjadikan fungsi tiap organ tidak efektif bahkan tidak berfungsi sama sekali dan berakhir dengan kematian.

Tubuh manusia memiliki kemampuan untuk mencegah dan memperbaiki disfungsi endotel dengan memproduksi antioksidan. Antioksidan primer ini akan mencegah timbulnya oksidasi akibat radikal bebas, sehingga endotel pembuluh darah tidak akan mengalami disfungsi dan tidak

terjadi aterosklerotik pada arteri. Dalam keadaan, dimana jumlah radikal bebas sangat berlebih di dalam darah, antioksidan yang diproduksi oleh tubuh tidak efektif lagi, sehingga diperlukan antioksidan dari luar (sekunder).

Salah satu antioksidan sekunder yang terdapat dalam tanaman berkasiat yang banyak tumbuh di Indonesia adalah *Curcumin*. Penanganan dengan *Curcumin* mencegah proses patologis akibat mengkonsumsi alkohol (Nanji, Amin A., 2002)

REVIEW LITERATUR

Pengaruh mengkonsumsi alkohol dalam jangka panjang dapat menurunkan Nitric Oxide Synthase-dependent (NOS) terkait dengan respons arteriole yang belum jelas mekanisme terjadinya. Mengkonsumsi alkohol dalam waktu lama memberikan kontribusi pada patogenesis beberapa penyakit kardiovaskuler, termasuk cardiomiopati, hipertensi sistemik, aritmia, stroke hemoragik dan non hemoragik. (Hong Sun & William G.M., 2000).

Aterosklerotik dapat disebabkan oleh stres oksidatif akibat radikal bebas yang beredar dalam tubuh seseorang. Stres oksidatif akibat mengkonsumsi alkohol secara kronik dapat dikurangi dengan adanya antioksidan. Antioksidan adalah senyawa yang mempunyai struktur molekul yang dapat memberikan elektronnya dengan cuma-cuma kepada molekul radikal bebas tanpa terganggu sama sekali dan dapat memutus reaksi berantai dari radikal bebas.

Dengan melihat keterkaitan antara aritmia, aterosklerotik, stres oksidatif, alkohol dan antioksidan,

maka sangat mungkin digunakan antioksidan dari luar tubuh dan alami untuk mencegah timbulnya aritmia jantung. Antioksidan ini akan berkerja menghambat reaksi oksidasi yang pada gilirannya akan mengurangi timbulnya aterosklerotik dan berdampak tidak terjadinya aritmia jantung akibat radikal bebas.

Terdapat tiga macam antioksidan yaitu:

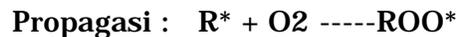
- 1). Antioksidan yang dibuat oleh tubuh kita sendiri yang berupa enzim antara lain superoksida dismutase, glutathione peroxidase, peroxidase dan katalase.
- 2). Antioksidan alami yang dapat diperoleh dari tanaman atau hewan yaitu tokoferol, vitamin C, betakaroten, flavonoid dan senyawa fenolik.
- 3). Antioksidan sintetik, yang dibuat dari bahan-bahan kimia yaitu Butylated Hroxyanisole (BHA), BHT, TBHQ, PG dan NDGA yang ditambahkan dalam makanan untuk mencegah kerusakan lemak.

Mekanisme Kerja Antioksidan

Antioksidan adalah bahan tambahan yang digunakan untuk melindungi komponen-komponen makanan yang bersifat tidak jenuh (mempunyai ikatan rangkap), terutama lemak dan minyak. Meskipun demikian antioksidan dapat pula digunakan untuk melindungi komponen lain seperti vitamin dan pigmen, yang juga banyak mengandung ikatan rangkap di dalam strukturnya.

Mekanisme kerja antioksidan secara umum adalah menghambat oksidasi radikal bebas (misalnya lemak, alkohol). Untuk mempermudah pemahaman tentang mekanisme kerja antioksidan perlu

dijelaskan lebih dahulu mekanisme oksidasi lemak. Oksidasi lemak terdiri dari tiga tahap utama yaitu inisiasi, propagasi, dan terminasi. Pada tahap inisiasi terjadi pembentukan radikal asam lemak, yaitu suatu senyawa turunan asam lemak yang bersifat tidak stabil dan sangat reaktif akibat dari hilangnya



Hidroperoksida yang terbentuk bersifat tidak stabil dan akan terdegradasi lebih lanjut menghasilkan senyawa-senyawa karbonil rantai pendek seperti aldehida dan keton yang bertanggungjawab atas flavor makanan berlemak. Antioksidan yang baik akan bereaksi dengan radikal asam lemak segera setelah senyawa tersebut terbentuk. Dari berbagai antioksidan yang ada, mekanisme kerja serta kemampuannya sebagai antioksidan sangat bervariasi. Seringkali, kombinasi beberapa jenis antioksidan memberikan perlindungan yang lebih baik (sinergisme) terhadap oksidasi dibanding dengan satu jenis antioksidan saja. Sebagai contoh asam askorbat seringkali dicampur dengan antioksidan yang merupakan senyawa fenolik untuk mencegah reaksi oksidasi lemak. Dalam proses melumpuhkan radikal bebas, vitamin E menjadi pelopor diikuti oleh vitamin C dan dengan bantuan senyawa glutathion, betakaroten, seng, mangan dan selenium akan memudahkan pelumpuhan radikal bebas. Selain itu Curcumin yang merupakan antioksidan fenolik mampu mencegah kerusakan sel hepar sebagai dampak mengkonsumsi alkohol (Nanji, Amin A., 2002)

satu atom hidrogen (reaksi 1). pada tahap selanjutnya, yaitu propagasi, radikal asam lemak akan bereaksi dengan oksigen membentuk radikal peroksi (reaksi 2). Radikal peroksi lebih lanjut akan menyerang asam lemak menghasilkan hidroperoksida dan radikal asam lemak baru (reaksi 3).



METODE PENELITIAN

Hewan coba yang dipergunakan adalah Tikus Putih Wistar Jantan berusia 1 bulan dengan berat badan antara 200 - 250 gram. Hewan coba dikelompokkan menjadi tiga kelompok, masing-masing kelompok terdiri atas 6 ekor. Kelompok pertama (A) merupakan kelompok kontrol akan diberikan konsumsi makanan standar dengan minum air kran. Kelompok B merupakan kelompok perlakuan, akan diberikan alkohol (ethanol) 15 % dengan dosis 1 cc/gram berat badan selama 30 hari, diberikan melalui suntikan intra peritoneal sekali dalam sehari. Kelompok C sama dengan kelompok B, ditambah dengan pemberian Curcumin dengan cara oral (disonde), sekali sehari dengan dosis 0,1 mg / gram berat badan.

Setelah hewan coba mengalami perlakuan selama 30 hari, akan dilakukan dekapitasi ("disembelih"), selanjutnya organ terkait (aorta) dari semua hewan coba diambil, difiksasi, dibuat preparat (histopatologi) untuk diambil gambarnya. Dari hasil pengambilan gambar akan dilihat kerusakan endotel arteri (aterosklerosis) pada ketiga kelompok hewan coba. Selanjutnya diperbandingkan antar

ketiga kelompok dan dilakukan analisis. Secara rinci, pengelompokan hewan coba, seperti tertera pada tabel di bawah ini.

Kelompok	Perlakuan(4 Minggu)	Dekapitasi
A (6 ekor)	Tanpa perlakuan	Histopatologi Aorta
B (6 ekor)	Alkohol 15 % 1 cc/gram BB	Histopatologi Aorta
C (6 ekor)	Alkohol 15 % 1 cc/ gram BB + Curcumin 0,1 mg/gam BB	Histopatologi Aorta

1. Variabel Bebas Curcumin
Variabel bebas dalam penelitian ini adalah Curcumin yang telah dipisahkan dari tanaman aslinya, bahan ini diperoleh dari bagian farmakologi Universitas Gadjah Mada.
2. Variabel Terikat :
Gambaran histipatologi Aterosklerotik Aorta pada ketiga kelompok hewan coba

merupakan variabel yang akan diuji dalam penelitian ini. Preparat ini diambil langsung dari aorta hewan coba setelah dilakukan dekapitasi.

Analisis
Penelitian ini merupakan penelitian Eksperimen, dengan metode post test only control group design. Analisis statistik yang dipergunakan adalah uji T.

HASIL DAN BAHASAN

Berikut ini ditampilkan hasil pemeriksaan terhadap sediaan aorta tikus jantan remaja yang dibuat dengan pengecatan HE (Hemoksisilin Eosin) dan

pengamatan dengan mikroskop cahaya. Pengamatan dilakukan terhadap ada dan tidaknya sel buas yang terbentuk di bawah lapisan endotel pembuluh darah.

Tabel 1. Hasil pemeriksaan mikroskopis pembuluh darah aorta dengan pengecatan HE (Hemoksisilin Eosin)

Kelompok	Sampel	Hasil
A	1	Negatif
	2	Negatif
	3	Negatif
	4	Negatif
	5	Negatif
	6	Negatif
Kelompok	Sampel	Hasil
B	1	Positif (1)
	2	Positif (1)
	3	Positif (1)
	4	Positif (1)
	5	Negatif
	6	Positif (1)
Kelompok	Sampel	Hasil
C	1	Negatif
	2	Negatif
	3	Negatif
	4	Negatif
	5	Negatif
	6	Negatif

Keterangan :

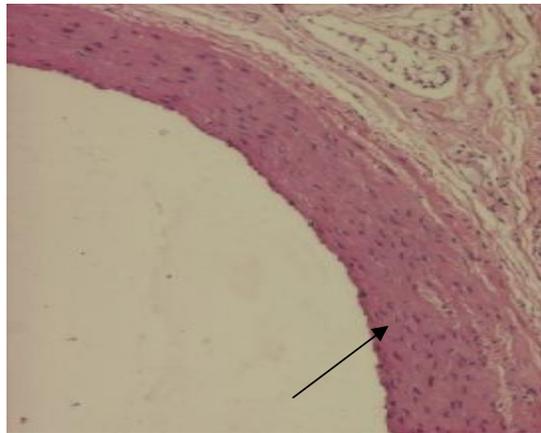
- Positif (1) = jumlah sel busa satu
- Positif (2) = jumlah sel busa lebih dari satu .
- Negatif (-) = Tidak ditemukan plak .

Berdasar tabel 1 di atas, dibuatlah prosentase nedotel yang mengalami diafunksi / ditemukan adanya sel buas, seperti terlihat pada tabel 2 di bawah ini.

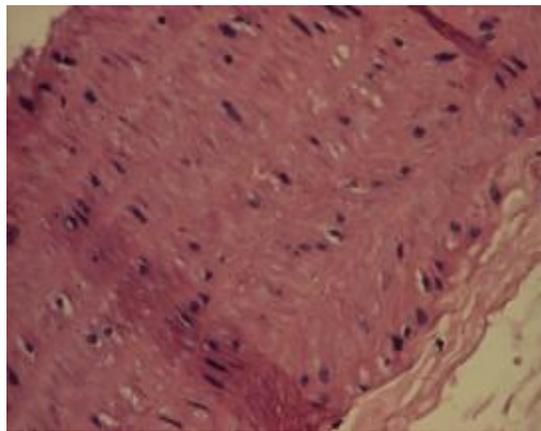
Tabel 2. Prosentase Sel Busa pada pemeriksaan mikroskopis pembuluh darah aorta dengan pengecatan HE (Hemoksisilin Eosin)

Kelompok	Prosentase (%)	Ket.
A	0	
B	83	
C	0	

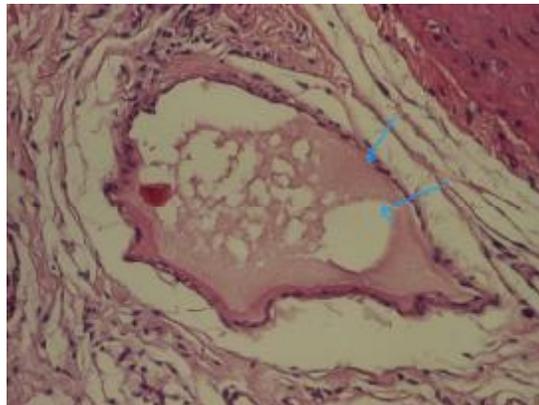
Gambaran mikroskopis hasil pengecatan dan pengamatan dengan mikroskop cahaya dengan pembesaran tertentu terlihat di bawah ini.



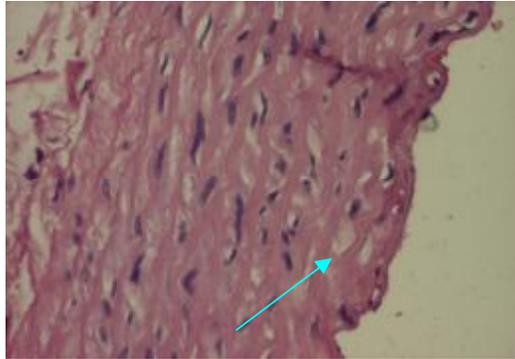
Gambar 1
Pengecatan HE pada aorta dengan pembesaran 10 x pada kelompok A tidak ditemukan sel busa (foam cell).



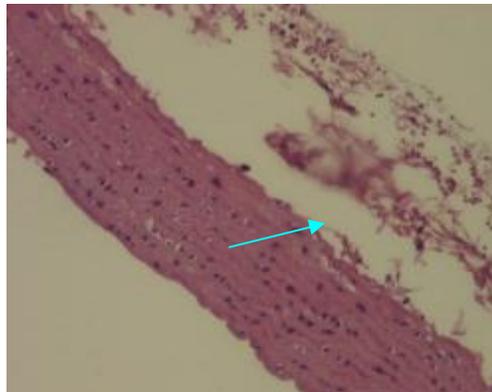
Gambar 2
Pengecatan HE pada aorta dengan pembesaran 40 x pada kelompok A tidak ditemukan sel busa (foam cell).



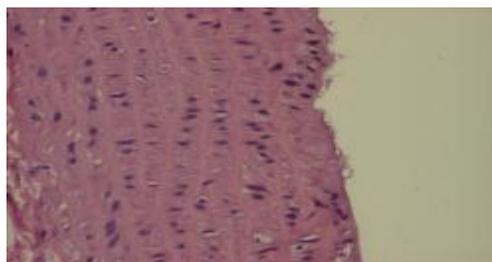
Gambar 3
Pengecatan HE pada aorta dengan pembesaran 10 x pada kelompok B
ditemukan sel busa (foam cell) .



Gambar 4
Pengecatan HE pada aorta dengan pembesaran 40 x pada kelompok B
ditemukan sel busa (foam cell) .



Gambar 5.
Pengecatan HE pada aorta dengan pembesaran 10 x pada kelompok C
tidak ditemukan sel busa (foam cell) .



Gambar 6.
Pengecatan HE pada aorta dengan pembesaran 40 x pada kelompok C
tidak ditemukan sel busa (foam cell) .

Pembahasan

Pemberian alkohol akan meningkatkan radikal bebas dan nilai Low Density Lipoprotein (LDL) yang mempunyai peranan penting dalam patogenesis terjadinya arteriosklerosis.

Hipotesis terjadinya aterosklerosis yaitu : respon terhadap injuri oleh radikal bebas. Injury pada endotel menyebabkan perubahan struktur dan atau fungsi sel endotel. Alkohol menyebabkan disfungsi pada lapisan endotel, salah satunya Tetrahydrobiopterin (BH₄) yang merupakan co-faktor pembentukan Nitric Oxide (NO). Penurunan aktivitas (BH₄) akan menurunkan pembentukan NO.

Jumlah dan aktivitas NO yang berkurang menjadikan fungsinya sebagai anti agregasi platelet dan anti inflamasi tidak dapat dilakukan. Kondisi menyebabkan permeabilitas endotel mengalami perubahan dan memungkinkan LDL dan komponen lain dalam darah melewati endotel dan berada di sub endotel.

Alkohol, disamping menurunkan produksi dan kerja NO, juga meningkatkan nilai LDL dan mengurangi aktivitas antioksidan tubuh akibat adanya radikal bebas yang ditimbulkan oleh alkohol. Meningkatkan LDL dalam darah dan menurunnya antioksidan tubuh (Superoksida dismutase) akan memungkinkan terjadinya oksidasi LDL. Proses ini mengawali terbentuknya aterosklerosis dalam pembuluh darah.

Proses aterosklerosis adalah proses yang kompleks yang disebabkan oleh interaksi dan migrasi sel-sel radang, proliferasi sel-sel otot polos dengan

menghasilkan matriks ekstraseluler. Modifikasi oksidatif lipoprotein dalam intima oleh radikal bebas menghasilkan teroksidasi (OxLDL). Pembentukan sel busa (foam cell) akibat ambulan LDL - teroksidasi yang berlebihan oleh receptor Scavenger yang non down regulating. Nekrosis dari sel busa akibat efek sitotoksik Ox-LDL membentuk inti lipid ekstraseluler merupakan transisi dari garis lemak yang reversible menjadi lesi aterosklerotik lanjut. Endotelium mempunyai peran penting pada fase awal aterosklerosis. Pada stadium awal aterosklerosis, dislipidemia dapat mengakibatkan pembuluh darah kehilangan kemampuan vasorelaksasi yang diatur oleh endotel (endothelium regulated); pada sel sel -sel endotel yang meliputi fatty streak memperlihatkan peningkatan ekspresi athero ELAM (Atherosclerosis-associated Endothelial Leucocyte Adhesif Molecule), suatu faktor yang mengikat monosit, Sebagai respon terhadap LDL. Endotel menghasilkan monosit chemotactic peptide type 1 (MCP-1), bahan yang mampu merangsang monosit yang terikat pada endotel untuk migrasi ke dalam ruang subendotel.

Struktur maupun fungsi LDL dapat mengalami bermacam - macam modifikasi. Modifikasi oksidatif sangat penting dalam proses aterosklerosis, Modifikasi LDL akan berdampak receptor Scavenger mengakibatkan receptor LDL tidak dikenali. Namun dikenali oleh macrophage Scavenger receptor sehingga terjadi status ambulan LDL modifikasi (Ox-LDL)

yang terus menerus selanjutnya membentuk sel busa.

Kerusakan sel endothel akibat peningkatan pembentukan radikal bebas superoksida, yang kemudian dapat menyebabkan oksidasi LDL sehingga terbentuk gugus hidroksil pada sel endothel dan otot polos pembuluh darah dengan manifestasi tingginya kadar malondialdehid dalam darah. Hidroksil radikal ini bereaksi dengan asam lemak tidak jenuh jamak (*Polyunsaturated Fatty Acid*) yang banyak terdapat membran sel sehingga dapat menimbulkan reaksi peroksidasi yang akan menghasilkan lipid peroksid (Bertil, 1990). Oksidasi lipid dan lipid peroksida yang terbentuk akan merusak sel endothel dan sel endothel menjadi disfungsi.

Gangguan pada produksi dan aktivitas NO merupakan beberapa penyebab terjadinya penyakit vaskular. Penelitian mengenai efek NO pada pembuluh darah harus terus dilakukan mengingat hasil-hasil penelitian yang telah dilakukan menunjukkan adanya peran NO sebagai faktor risiko terjadinya aterosklerosis.

Aterosklerosis merupakan sebuah penyakit inflamasi. Secara luas diketahui Low-density Lipoprotein (LDL) menjadi penyebab timbulnya aterosklerotik. Namun demikian Patogenesis aterosklerotik sebenarnya melibatkan tidak hanya LDL tetapi adanya unsur inflamasi pembuluh darah (Ross R., 1999:115).

Lesi aterosklerotik melibatkan inflamasi, disfungsi endothelium, dan lipid (Mark AC, 2005:436). Menurut Ross R., 1999:115 lesi eterosklerotik terbentuk melalui tiga (3) proses utama :

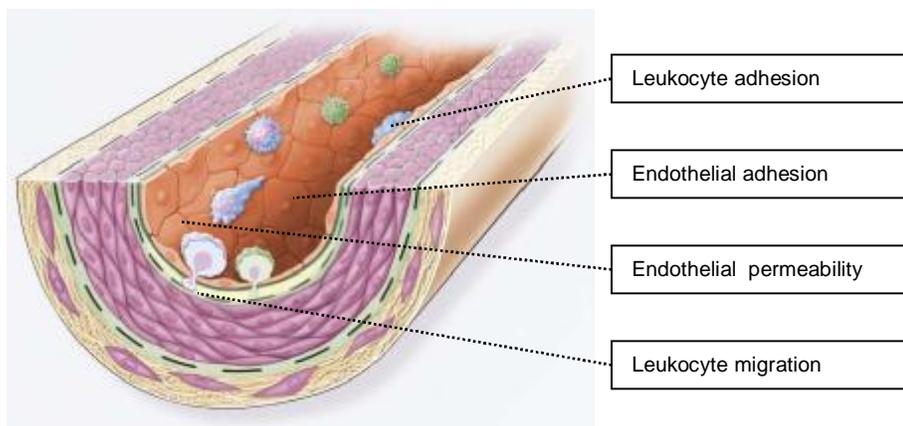
1. Disfungsi Endothelium pada Aterosklerosis. Perubahan awal terbentuknya lesi aterosklerotik dimulai di endothelium. Perubahan ini termasuk peningkatan permeabilitas endothelium terhadap lipoprotein dan zat terlarut lain dalam plasma, hal ini melibatkan *NO*, *prostacyclin*, *platelet-derived growth factor*, *angiotensin II*, and *endothelin*. Selanjutnya adesi leukocyte, termasuk *L-selectin*, *integrins*, dan sel platelet-endothelial, migrasi leukosit ke dalam dinding arteri, oksidasi *LDL*, *monocyte chemotactic protein 1*, *interleukin-8*, *platelet-derived growth factor*, *macrophage colony-stimulating factor*, and *osteopontin* (gambar 7).
2. Terbentuknya Fatty-Streak pada Aterosklerosis. Fatty streaks awalnya terbentuk dari lipid, monocytes dan macrophages (foam cells) bersama dengan T lymphocytes. Lebih lanjut bergabung dengan sel otot polos. Tahap ini termasuk migrasi sel otot polos, yang distimulasi oleh platelet-derived growth factor, fibroblast growth factor 2, and transforming growth factor *b*; T-cell activation, diperantarai oleh tumor necrosis factor *a*, interleukin-2, and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor; terbentuk foamcell (sel busa), yang distimulasi oleh oksidasi LDL, macrophage colony-stimulating factor, tumor necrosis factor *a*, and interleukin-1; dan adesi serta agregasi platelet, distimulasi

oleh integrins, P-selectin, fibrin, thromboxane A₂, faktor jaringan, seperti terlihat pada gambar 8.

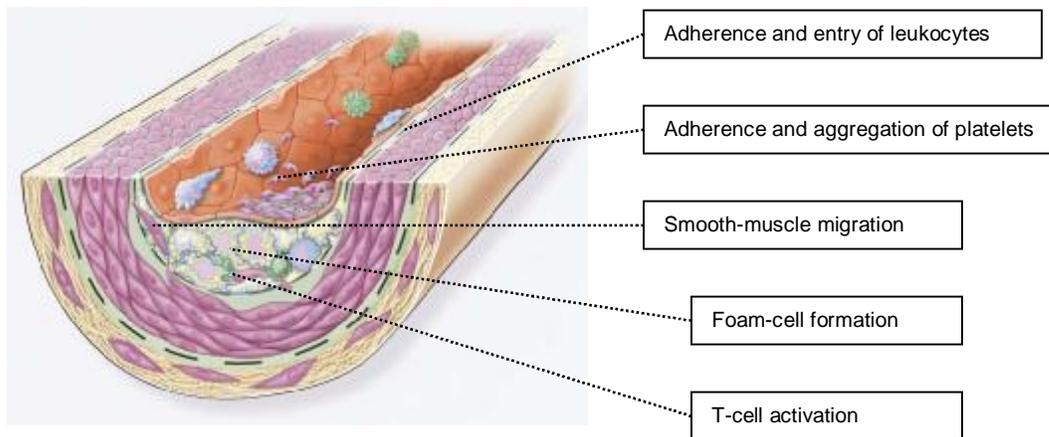
Pada hasil penelitian diperlihatkan pada gambar 3 dan 4, dimana ditemukan adanya sel busa pada aorta tikus yang diberikan alkohol secara intraperitoneal dengan dosis 1,5 g/kg BB perhari. Satu tikus tidak ditemukan adanya sel busa pada aortanya, dimungkinkan adanya terkait dengan sifat sel endotel tiap tikus yang mungkin berbeda dalam berespons terhadap radikal bebas yang ditimbulkan oleh pengaruh alkohol.

3. Perkembangan lesi dan komplikasi aterosklerotik. Fatty streaks berkembang menjadi lesi, terbentuk fibrous cap pada dinding kearah lumen. Hal ini seperti proses pada penyembuhan luka atau respons terhadap trauma. Fibrous cap

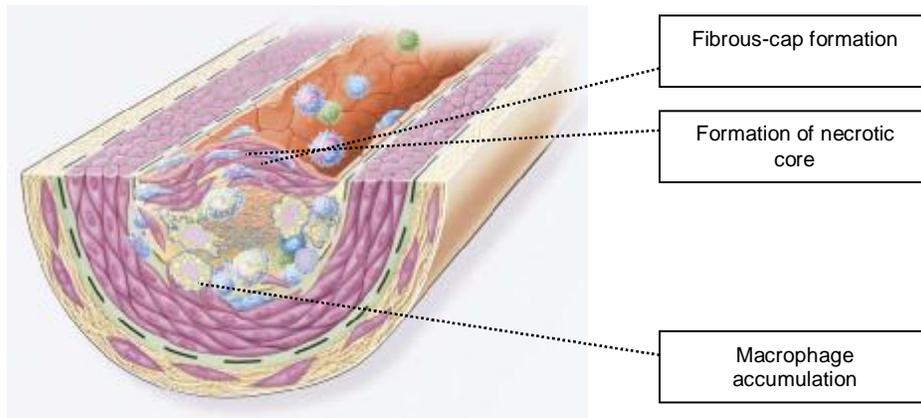
mengandung leukosit, lipid, and debris, yang mungkin membentuk awal nekrosis. Lesi ini berkembang lebih lanjut karena adesi leukosit dan factor yang lain seperti pada tahap 1 dan 2. pada prinsipnya terkait dengan akumulasi makrofag termasuk macrophage colony-stimulating factor, monocyte chemotactic protein 1, dan oksidasi LDL. Inti nekrosis bekembang dan menghasilkan apoptosis and necrosis, peningkatan aktivitas proteolytic, dan akumulasi lipid. Fibrous cap terbentuk sebagai hasil peningkatan aktivitas platelet-derived growth factor, transforming growth factor *b*, interleukin-1, tumor necrosis factor *a*, dan osteopontin serta penurunan degradasi jaringan penghubungn (connective-tissue). Terlihat pada gambar 9



Gambar 7
Kerusakan Endotel Tahap pertama



Gambar 8
Kerusakan Endotel Tahap 2



Gambar 9

Kerusakan Endotel Tahap 3

Proses aterosklerotik yang diawali dengan disfungsi endotel, dapat dicegah dengan adanya antioksidan yang memadai. Antioksidan ini akan berfungsi dalam mencegah terbentuknya radikal bebas yang dapat bereaksi dengan NO membentuk peroksinitrit yang sangat toksik bagi tubuh dan mencegah oksidasi LDL. Dengan tidak teroksidasinya LDL akan memungkinkan fungsi NO berjalan optimal. Selain itu antioksidan juga akan mencegah reaksi antara NO

dengan superoksida, sebagai hasil radikal bebas.

Curcumin mempunyai fungsi sebagai antioksidan dari luar tubuh yang diperlukan ketika antioksidan dalam tubuh (SOD) tidak dapat berfungsi optimal, karena pembentukan radikal bebas yang berlebihan yang ditimbulkan oleh alcohol. Hal ini dapat dilihat pada kelompok C, dimana tidak ditemukan adanya sela busa pada aorta tikus yang telah diberikan alcohol 1,5 kg/kg BB perhari dengan cara injeksi peritoneal.

Seperti terlihat pada gambar 5 dan 6.

Secara ringkas peran alcohol dan curcumin dalam fungsi sel endotel dan NO seperti terlihat pada gambar 10 di bawah ini.

SIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan pada bab sebelumnya, maka terbukti bahwa Curcumin dapat mencegah disfungsi sel endotel dengan karakteristik tidak timbulnya sel busa pada aorta tikus jantan remaja yang terpapar alcohol kronik, sesuai dengan hipotesis pada telah dikemukakan.

Dengan demikian dari penelitian ini, dianjurkan untuk mengkonsumsi antioksidan (curcumin) karena sangat baik bagi proses perbaikan jaringan pembuluh darah yang telah rusak (sklerosis)

DAFTAR PUSTAKA

- Duarte, Juan et al. (2001) Antihypertensive effects of the flavonoid quercetin in spontaneously hypertensive rats, British Journal of Pharmacology 133, 117-124
- Ganong WF (2003). Review of Medical Physiology, 22nd ed. Chapter 7, Pages: 138-147.
- Guyton, Arthur C.(2006), Textbook of medical physiology, 11th ed.
- Kumalaningsih, Sri (2007), Antioksidan, Sumber & Manfaatnya, Desember 2007
- Nanji, Amin A., Kalle Jokelainen, et al, 2002. Curcumin prevents alcohol-induced liver disease in rats by inhibiting the expression of NF- κ B-dependent genes, Am J Physiol Gastrointest Liver

- Physiol 284:321-327, 2003. First published Aug 28, 2002;
- Rosdiana, Nenden dan Soewoto, Hafiz, (2008). Peranan Nitrogen Oksida Dalam Patofisiologi Penyakit Vaskular, Bagian Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia
- Sherwood, L. (2005). Human Physiology, 6th Ed.
- Squire LR et al (2003). Fundamental Neuroscience for Basic and Clinical Applications, 2nd ed
- Sun, Hong and Mayhan, G.W, (2001) Temporal effect of alcohol consumption on reactivity of pial arterioles: role of oxygen radicals, Am J Physiol Heart Circ Physiol 280: H992-H1001, 2001.
- Sun, Hong and Mayhan, G.W, (2008) Tetrahydrobiopterin, a cofactor for NOS, improves endothelial dysfunction during chronic alcohol consumption, Am J Physiol Heart Circ Physiol 281:1863-1869, 2001.
- Shiina Y, Funabashi N, Lee K, et al 2008. RE: Effect of Flavonoid-rich Dark Chocolate on Coronary Circulation in Healthy Adults, www.herbalgram.org.
- Tortora GJ & Derrickson B (2006). Principles of Anatomy and Physiology, 11th ed.
- Zitron, Edgar, et al. (2005) QTc Prolongation by Grapefruit Juice and Its Potential Pharmacological Basis HERG Channel Blockade by Flavonoids, Circulation is published by the American Heart Association. 7272 Greenville Avenue, Dallas, TX