

T.C.
ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

İZOLE PULMONER ARTER VE VENLERDE
RESVERATROLÜN DAMAR DİRENCİ ÜZERİNE ETKİSİ

Ecz. Evren KUŞCUOĞLU

Abant İzzet Baysal Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Yönetmeliğinin Farmakoloji Programı İçin Öngördüğü
YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak Hazırlanmıştır.

TEZ DANIŞMANI
Yrd. Doç. Dr. Özge UZUN

DÜZCE
2007

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğüne,

Bu çalışma jürimiz tarafından Farmakoloji Programında Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Danışmanı **Yrd. Doç. Dr. Özge UZUN**
(Düzce Üniversitesi) (imza)

Üye **Yrd. Doç. Dr. Özge UZUN**
(Düzce Üniversitesi) (imza)

Üye **Yrd. Doç. Dr. Coşkun SILAN**
(Düzce Üniversitesi) (imza)

Üye **Doç. Dr. Fatma SILAN**
(Düzce Üniversitesi) (imza)

ONAY:

Bu tez, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu’nca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Yönetim Kurulu’nun kararıyla kabul edilmiştir.

(İmza)
Doç .Dr. Serap KÖYBAŞI
Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Tezimi hazırlama aşamasında beni yönlendiren yardım ve anlayışlarını esirgemeyen değerli hocam Yrd. Doç. Dr. Özge UZUN'a, her konuda deneyimlerinden yaralandığım değerli hocam Yrd. Doç. Dr. Coşkun SILAN'a, deney aşamasında laboratuvarlarının tüm kaynaklarını kullanmama izin veren değerli hocam Doç. Dr. Fatma SILAN'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Koyun akciğerlerinin temini esnasında yardımlarını esirgemeyen Düzce Belediyesi Mezbahası çalışanlarına, tez çalışmam sırasında ilgi ve desteklerini gördüğüm tüm arkadaşlarıma, bugüne kadar her konuda beni destekleyen eşime, anneme, babama, kardeşime ve tatlı kızım Ece Duruya teşekkür ederim.

Ecz. Evren KUŞCUOĞLU

ÖZET

Bu çalışmanın ilk amacı koyun izole pulmoner arter ve venlerinde resveratrolün etkisi ve neden olduğu vazodilatasyonda NOS ve COX inhibisyonunun rolünü araştırmaktır. İkinci amacımız ise hipoksiye bağlı vazokonstriksiyonda resveratrolün etkilerini belirlemektir. İzole edilen pulmoner damarlar, içinde Krebs-Henseleit çözeltisi bulunan organ banyosuna asılmıştır. İzometrik kasılmalar izometrik transdüsr ile bağlantılı bilgisayarlı poligraf sistemi ile kaydedilmiştir. L-NAME (10^{-4} M) ve indometazin (10^{-5} M) NO'nun ve COX ürünlerinin rolünü araştırmak için kullanılmıştır. L-NAME ve indometazin prekontakte izole pulmoner damarlarda resveratrolün neden olduğu konsantrasyon bağımlı vazodilatasyonu etkilememiştir. Pulmoner venlerde resveratrol (20μ M), U46619 (10^{-6} M) ile ortaya çıkan kasılma cevabını anlamlı bir şekilde azaltmıştır. Ama pulmoner arterlerde resveratrol varlığında, 5-HT(10^{-6} M)'nin neden olduğu kontraksiyon değişmemiştir. Bu sonuçlar resveratrolün neden olduğu vazodilatasyonun NO ve COX aracılıklı bir mekanizma ile gerçekleşmediğini düşündürmektedir. Bu verilere ek olarak resveratrol varlığında, U46619 ile prekontrakte edilen pulmoner venlerde hipoksiye bağlı pulmoner vazokonstriksiyonun (HPV) azaldığı da saptanmıştır. Ancak 5-HT ile prekontrakte edilen pulmoner arterlerde HPV cevabında bir değişim gözlenmemiştir.

Çalışmamız koyun izole pulmoner arter ve venlerinde resveratrolün neden olduğu vazodilatasyona (a) NO ve prostanoitlerin aracılık etmediğini (b) resveratrolün prekontrakte venlerde HPV'yi inhibe ettiğini göstermektedir.

Anahtar kelimeler: Resveratrol, Pulmoner ven, Pulmoner arter

ABSTRACT

The first aim of this study was to investigate the effect of resveratrol on and the role of NOS and cyclooxygenase inhibition on resveratrol-induced vasodilatation in sheep isolated pulmonary arteries and veins. The second aim is to determine the role of resveratrol on hypoxia induced vasoconstriction. Isolated pulmonary vessels were suspended in an organ bath filled with Krebs-Henseleit solution. Isometric contractions were recorded continuously via an isometric transducer connected to a computerized polygraph system. L-NAME (10^{-4} M) and indomethacin (10^{-5} M) were used to investigate the role of NO and cyclooxygenase product. Resveratrol induced concentration-dependently vasodilatation was unaffected by L-NAME or indomethacin in precontracted isolated pulmonary vessels. In our experiments we observed that resveratrol ($20\mu\text{M}$) significantly decreased the contractile responses of U46619 (10^{-6} M) in pulmonary veins. But 5-HT- induced contraction was not changed in the presence of resveratrol in pulmonary arteries. These results suggest that vasodilatation induced by resveratrol is not NO or COX mediated mechanisms. In addition to these data, in the presence of resveratrol, hypoxia induced pulmonary vasoconstriction was decreased in pulmonary veins precontracted with U46619 but not in pulmonary arteries precontracted with 5-HT.

Our study showed that: (a) resveratrol induced vasodilatation in sheep isolated pulmonary arteries and veins are not mediated via NO or prostanoids, (b) resveratrol reduced HPV in precontracted veins.

Keywords : Resveratrol, Pulmonary arteries, Pulmonary veins

İÇİNDEKİLER

<u>No</u>	<u>Sayfa</u>
ONAY SAYFASI.....	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
ÖZET.....	v
ABSTRACT.....	vi
İÇİNDEKİLER.....	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	x
ŞEKİLLER.....	xii
TABLolar.....	xiv
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Pulmoner Dolaşım.....	3
2.1.1. Pulmoner damar direncinin düzenlenmesi.....	4
2.1.2. Hipoksik pulmoner vazokonstriksiyon.....	10
2.2. İzole Pulmoner Arter ve Ven Preparatlarında Hipoksinin Etkisi.....	11
2.2.1. Hipoksik vazokonstriksiyonun mekanizması.....	11
2.2.2. Hipoksik pulmoner vazokonstriksiyonda nitrik oksitin rolü.....	13
2.2.3. Hipoksik pulmoner vazokonstriksiyonda siklooksijenaz (COX) ürünlerinin rolü.....	14
2.3. Resveratrol.....	15
2.3.1. Bulunuşu ve kimyasal yapısı.....	15
2.3.2. Resveratrolün kardiyovasküler etkileri	17
3. GEREÇ VE YÖNTEM	24
3.1 Deneysel Preparat.....	24

3.2. Deneylerde Kullanılan Malzemeler.....	24
3.3. Deneylerde Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	24
3.4. Optimum Dinlenme Geriminin Saptanması.....	24
3.5. Deney Protokolü.....	26
3.5.1. Kontraktil agonistin belirlenmesi.....	26
3.5.2. Prekontrakte izole pulmoner arter ve venlerde resveratrolün damar tonüsü üzerine etkisi.....	26
3.5.3. Prekontrakte izole pulmoner arter ve venlerde asetilkolin yanıtları üzerine resveratrolün etkisi.....	27
3.5.4. Resveratrolün hipoksik pulmoner vazokonstriksiyon üzerine etkisi.....	27
3.6 Bulguların Değerlendirilmesi.....	28
4. BULGULAR.....	30
4.1. Pulmoner Arterlerde Yapılan Çalışmalar.....	30
4.1.1 Prekontrakte izole pulmoner arterlerde resveratrolün damar tonüsü üzerine etkisi.....	30
4.1.2. Prekontrakte izole pulmoner arterlerde indometazin varlığında resveratrolün damar tonüsü üzerine etkisi.....	30
4.1.3. Prekontrakte izole pulmoner arterlerde L-NAME varlığında resveratrolün damar tonüsü üzerine etkisi.....	30
4.1.4. Prekontrakte izole pulmoner arterlerde resveratrolün asetilkolin yanıtları üzerine etkisi.....	31
4.1.5. Prekontrakte izole pulmoner arterlerde resveratrolün HPV üzerine etkisi.....	31
4.2. Pulmoner Venlerde Yapılan Çalışmalar.....	34
4.2.1. Prekontrakte izole pulmoner venlerde resveratrolün damar tonüsü üzerine etkisi.....	34
4.2.2. Prekontrakte izole pulmoner venlerde indometazin varlığında resveratrolün damar tonüsü üzerine etkisi.....	34
4.2.3. Prekontrakte izole pulmoner venlerde L-NAME varlığında	

resveratrolün damar tonüsü üzerine etkisi.....	34
4.2.4. Prekontrakte izole pulmoner venlerde resveratrolün asetilkolin yanıtları üzerine etkisi.....	35
4.2.5. Prekontrakte izole pulmoner venlerde resveratrolün HPV üzerine etkisi.....	35
5. TARTIŞMA.....	38
5.1. Prekontrakte İzole Pulmoner Arterlerde Resveratrolün Damar Tonüsü Üzerine Etkisi.....	38
5.2. Prekontrakte Pulmoner Arter ve Ven Preparatlarında Resveratrolün HPV Üzerine Etkisi.....	40
6. SONUÇ.....	42
7. KAYNAKLAR.....	43

SİMGELER ve KISALTMALAR

AA	Araşidonik asit
AC	Adenilat siklaz
Ach	Asetilkolin
ADP	Adenozin-5' difosfat
ATP	Adenozin trifosfat
ARDS	Akut solunum yetmezliği sendromu
AVP	Arginin vazopressin
AI	Anjiyotensin I
AII	Anjiyotensin II
cAMP	Siklik adenozin monofosfat
cGMP	Siklik guanozin monofosfat
CGRP	Kalsitonin geni ile ilişkili peptit
COX	Siklooksijenaz
ÇDYA	Çoklu doymamış yağ asitleri
EGF	Epidermal büyüme faktörü
EDCF	Endotel kaynaklı kontraktıl faktör
eNOS/NOS2	Endoteliyal Nitrik oksit sentaz
ET-1	Endotelin-1
HETE	Hidroksieikozatetraenoik asit
HPV	Hipoksik pulmoner vazokonstriksiyon
HA	Histamin
iNOS/NOS3	İndüklenebilir nitrik oksit sentaz
INFγ	İnterferon gamma
IMA	İnternal meme arteri
K_{ATP}	ATP bağımlı potasyum kanalları
LDL	Düşük dansiteli lipoprotein

L-NAME	N-nitro L-arginine metil esteri
L-NNA	L-N ^G -Nitroarginine
MPO	Miyeloperoksidaz
NADPH	Nikotin amid adenine dinükleotit fosfat
NANK	Nonadrenerjik nonkolinerjik
NE	Norepinefrin
nNOS/NOS1	Nöronal NOS
oxLDL	Okside LDL
PAF	Trombosit aktive edici faktör
PG	Prostaglandin
pGC	Partiküler guanilat siklaz
PGI₂	Prostasiklin
PKA	Protein kinaz A
PPARs	Peroksizom proliferatör aktive edici reseptörler
SOR	Serbest oksijen radikalleri
Thr	Trombin
TGF_β	Transforme edici büyüme faktörü
TNFα	Tümör nekroz faktör alfa
TXA₂	Tromboksan A ₂
15-LO	15- lipooksijenaz
5-HT	5-Hidroksitriptamin

ŞEKİLLER

2.1. Çeşitli uyarılara yanıt olarak endotelde üretilen ve pulmoner tonusun kontrolüne katılan vazokonstriktör maddeler.....	6
2.2. NO aracılıklı gevşemenin mekanizması	8
2.3. Prostatiklinin hücresel etki mekanizması.....	10
2.4. HPV’de rolleri olduğu düşünülen majör mediyatörler ve rolleri.....	12
2.5. Pulmoner tonusun düzenlenmesinde K_v kanallarının rolü.....	13
2.6. trans-resveratrol.....	15
2.7. cis-resveratrol.....	15
2.8. Ateroskleroz oluşumunun başlangıcında Resveratrolün etkileri.....	18
2.9. İlerlemiş aterosklerotik lezyon oluşumunda resveratrolün etkileri.....	19
4.1. Prekontrakte pulmoner venlerde resveratrole (20 μ M) bağlı gevşeme üzerinde indometazin (10 ⁻⁵ M) ve L-NAME (10 ⁻⁶ M)’nin etkisi	32
4.2. Prekontrakte pulmoner arterlerde asetilkoline bağlı yanıt üzerine Resveratrolün (20 μ M) etkisi.....	32
4.3 Prekontrakte pulmoner arterlerde hipoksi uygulamasına bağlı gerim değişikliği.....	33
4.4. Prekontrakte pulmoner arterlerde resveratrol varlığında hipoksi uygulamasına bağlı gerim değişikliği.....	33
4.5. Prekontrakte pulmoner venlerde resveratrole (20 μ M) bağlı doz bağımlı gevşeme üzerinde indometazin (10 ⁻⁵ M) ve L-NAME (10 ⁻⁶ M)’nin etkisi.....	36
4.6. Prekontrakte pulmoner venlerde asetilkoline bağlı yanıt üzerine resveratrolün (20 μ M) etkisi.....	36
4.7. Prekontrakte pulmoner venlerde hipoksi uygulamasına bağlı gerim değişikliği.....	37

4.8. Prekontrakte pulmoner venlerde resveratrol varlığında hipoksi uygulamasına bağlı gerim değişikliği.....	37
---	-----------

TABLÖLAR

2.1. Pulmoner damarlarda otonomik reseptörler.....	4
2.2. Pulmoner damarlardaki hüııoral reseptörler.....	5-6
3.1. Pulmoner arterlerde prekontraktil agonist olarak denenen agonistler ve EC ₅₀ değęerleri.....	26
3.2. Pulmoner venlerde prekontraktil agonist olarak denenen agonistler ve EC ₅₀ değęerleri.....	26
3.3. Hipoksi süresi boyunca pO ₂ değęerinin zamana karşı değışimi.....	28
3.4. Deney protokolü.....	29
4.1. Pulmoner arterlerde resveratrole bağlı yanıtın L-NAME ve indometazin varlığında değışen IC ₅₀ değęerleri.....	31
4.2. Pulmoner venlerde resveratrole bağlı yanıtın L-NAME ve indometazin varlığında değışen IC ₅₀ değęerleri.....	35

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Çeşitli bitkilerin mantarlara karşı yanıt olarak sentezlediği flavanoit yapılı fenolik bileşiklerden biri olan resveratrolün kalp damar hastalıkları açısından koruyucu bir etkinliğinin olduğu düşünülmektedir. Nitekim pek çok araştırmada (Frankel ve ark., 1993; Demrow ve ark., 1995; Perez ve ark., 2002) resveratrolün antioksidan, antitrombotik, antienflamatuar etkilerinin olduğu gösterilmiştir. Bununla birlikte resveratrolün izole damar preparatlarındaki vazodilatör etkinliğine ilişkin fazla çalışma yoktur. Bu konuda yapılan az sayıdaki araştırmaların bir kısmında (Flesch ve ark., 1998; Diebolt ve ark., 2001) resveratrolün nitrik oksit (NO) aracılıklı bir gevşeme yanıtına neden olduğu vurgulanmaktadır. Dilatasyonun voltaj bağımlı K^+ kanallarına bağlı olduğunu gösteren sonuçlar da (Orsini ve ark., 2004) vardır. Bugüne kadar resveratrolün pulmoner damar tonüsü üzerine etkinliğine ilişkin bir çalışma yapılmamıştır. Bu nedenle sunulan bu araştırmada izole pulmoner arter ve ven preparatlarında resveratrolün damar tonusu üzerine etkisini belirlemek amaçlanmıştır. Ayrıca bu etkide NO aracılıklı bir mekanizmanın olup olmadığının araştırılması da planlanmıştır. Çalışmamızda pulmoner dolaşım için önemli olan siklooksijenaz (COX) enzim ürünleri ile resveratrole bağlı yanıt arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi de düşünülmüştür.

Pek çok yönü ile sistemik dolaşımdan farklı özellikler gösteren pulmoner dolaşımın hipoksiye yanıtının vazokonstriksiyon olduğu bilinmektedir. Fizyolojik koşullarda bu yanıt akciğerlerde ventilasyon perfüzyon oranının en iyi şekilde sürdürülmesi ve düzenlenmesi için gereklidir. Ancak hipoksik pulmoner vazokonstriksiyon (HPV), astma, atelettazi, akut solunum yetmezliği sendromu (ARDS), pnömoni gibi pulmoner hipertansiyonun eşlik ettiği çeşitli hastalıklarda bir sorun olarak ortaya çıkmaktadır. İzole pulmoner arterlerde ve venlerde yapılan çalışmalar hipoksiye bağlı kasılmanın innervasyondan, parenkimal ve bağ dokusundan bağımsız olduğunu ortaya koymuştur. Prekapiller arteriollerin hipoksiye bağlı olarak oluşan

vazokonstriksiyonda başlıca etki bölgesi olduğu bilinmekle birlikte venlerde de hipoksiye bağlı vazokonstriksiyon geliştiğı gösterilmiştir. Bu nedenle çalışmamızda normoksik koşullarda pulmoner tonus üzerine etkinliğı değerlendirilen resveratrolün hipoksik koşullarda gelişen pulmoner kontraksiyonu nasıl etkilediğinin araştırılması da amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Pulmoner Dolaşım

Normal yetişkin pulmoner dolaşımı düşük basınçlı ve düşük dirençli bir dolaşımdır. Akciğer dolaşımında aktif faktörler olarak değerlendirilebilecek birbiriyle ilişkili 3 esas durum göze çarpmaktadır: Oksijen konsantrasyonu, endotel kaynaklı vazoaktif maddeler ve pulmoner damar düz kas hücreleri (Reeves ve Rubin, 1998). Bunun dışında akciğer dolaşımını bazı pasif faktörler de kontrol etmektedir. Bunlar kalp debisi, sol atrial basınç, interstisyel basınç ve damar tıkanıklığıdır. Pasif faktörler de bazı önemli olaylarda rol oynamakla birlikte pulmoner dolaşım temel olarak aktif faktörlerin kontrolü altındadır (Barnes ve Liu, 1995).

Akciğer dolaşımı üç damarsal bölümden oluşmaktadır. Yerleşimlerine göre sırasıyla bunlar arterler, mikrodamarlar ve venlerdir. Pulmoner arterlerin düz kas tabakası sistemik arterlere göre daha incedir. Pulmoner venler de yapısal olarak pulmoner arterlere benzemektedirler ancak düz kas tabakaları daha azdır. Pulmoner arterlerin kasılması pulmoner basıncın yükselmesine ve buna bağlı olarak sağ kalpte basıncın artmasına, pulmoner venlerin kasılması ise kapiler basıncın artmasına ve pulmoner ödem gelişmesine neden olmaktadır (Barnes ve Liu, 1995).

Pek çok kalp ve akciğer hastalıklarının gelişiminde pulmoner dolaşımın önemi büyüktür. Buna pulmoner damarların yapısında ortaya çıkan değişiklikler eşlik etmektedir (Reeves ve Rubin, 1998). Pulmoner basıncın kronik olarak yükselmesi fibrozisle birlikte yeniden yapılanmayı başlatır. Bu da özellikle intimal tabakada olmaktadır. Sonuçta düz kas tabakası kalınlaşmakta ve kontrol mekanizmalarında değişiklikler meydana gelmektedir (Barnes ve Liu, 1995).

2.1.1. Pulmoner damar direncinin düzenlenmesi

Nöronal mekanizmalar

Otonom sinir sistemi hem fizyolojik hem de patofizyolojik koşullarda pulmoner kan akımını düzenleyebilir. Pulmoner dolaşımında, kolinerjik innervasyonun etkinliğinin adrenerjik innervasyona göre daha az olduğu gösterilmiştir (Barnes ve Liu, 1995). Kolinerjik sinir liflerinin dağılımında türe bağlı değişiklikler belirlenmiştir. Asetilkolin damarın önceki gerimine bağlı olarak hem vazodilatör hem de vazokonstriktör olabilmektedir (Catravas ve ark., 1984).

Pulmoner dolaşım adrenerjik ve kolinerjik innervasyon dışında nonadrenerjik nonkolinerjik (NANK) sinirlerle de innerve edilmiştir. Bu sistemin mediyatörlerinden adenosin trifosfat (ATP) eksitator; kalsitonin geni ile ilişkili peptit (CGRP), NO ve P maddesi ise inhibitör transmitterleridir (Barnes ve Liu, 1995). Tablo 2.1.'de pulmoner damarlarda belirlenen otonomik reseptörler ve aracılık ettiği olaylar özetlenmiştir.

Tablo 2.1. Pulmoner damarlarda otonomik reseptörler (Barnes ve Liu, 1995).

Reseptör	Alt tip	Yanıt	Endotele bağımlılık
Adrenerjik	α_1 α_2	Kasılma Gevşeme	Yok Var
Muskarinik	M_3	Gevşeme	Var
Purinerjik	P_{2x} P_{2y}	Kasılma Gevşeme	Var Var
Taşikinin	NK_1 NK_2	Gevşeme Kasılma	Var Yok
VIP	?	Gevşeme	Var / Yok
CGRP	?	Gevşeme	Yok

Refleks mekanizmalar

Pulmoner dolaşım santral ve lokal refleks mekanizmaların kontrolü altında çalışmaktadır. Hipotalamik intergratif alanın uyarılmasının pulmoner kompliansta azalmaya neden olduğu anlaşılmıştır (Uzun Ö, 1998). Medullanın C-1 alanının uyarılması da pek çok deneyde sempatik sistem aracılığı ile pulmoner vazokonstriksiyona neden olmaktadır (Uzun Ö, 1998). İntrakraniyal basıncın yükselmesi de Cushing refleksi yoluyla pulmoner vazokonstriksiyona neden olmaktadır. (Uzun Ö, 1998)

Pulmoner tonüs periferik kemoreseptörler ve baroreseptörler tarafından da modüle edilir. Deneysel koşullara bağlı olarak bir uyarı karotit ya da aortik kemoreseptörler aracılığı ile pulmoner damar direncinde artmaya ya da azalmaya neden olabilmektedir. Ancak pulmoner direnci etkilemediği de bulgular arasındadır. Karotit ya da aortik baroreseptörlerin uyarılması ise refleks olarak pulmoner vazodilatasyona neden olabilmektedir (Uzun Ö, 1998).

Hüморal mekanizmalar

Hüморal kontrol mekanizmaları fizyolojik koşullara uyumlu yanıt oluşumu açısından önemlidir. Çok sayıda mediyatörün ve hormonun pulmoner damar direncinin düzenlenmesine katkıda bulunduğu bilinmektedir. Bu maddelerden bazıları ve aracılık ettikleri yanıt Tablo 2.2’de verilmiştir. Yaş, tür, deneysel koşullara bağlı olarak alınan yanıtlarda farklılıklar izlenebilmektedir (Barnes ve Liu, 1995) .

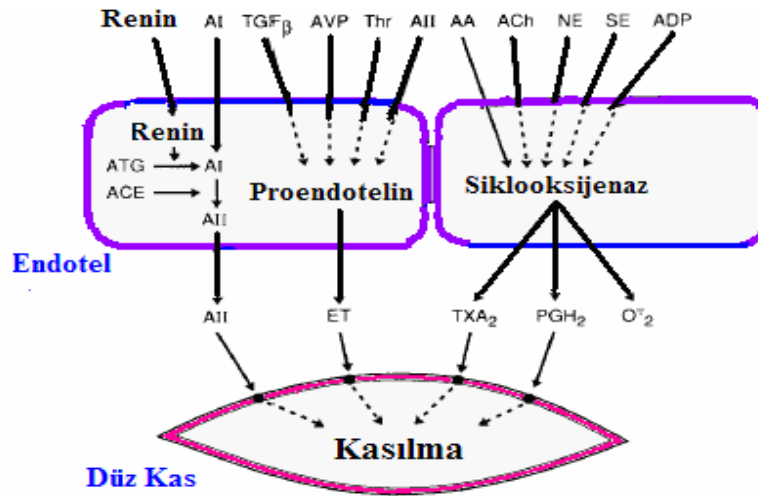
Tablo 2.2. Pulmoner damarlardaki hüморal reseptörler

Reseptör	Alt tip	Yanıt	Endotele bağımlılık
Adenozin	A ₁	Kasılma	Yok
	A ₂	Gevşeme	Yok
Angiotensin	AT	Kasılma	Yok
Atrial natriüretik peptit	ANP _A	Gevşeme	Yok
	ANP _B	Gevşeme	Yok
Bradikinin	B ₁ ?	Gevşeme	Var
	B ₂	Gevşeme	Var

Endotelin	ET _A ET _B	Kasılma Gevşeme	Yok Var
Histamin (HA)	H ₁ H ₂	Gevşeme Gevşeme	Var Yok
Serotonin (5-HT)	5-HT ₁ 5-HT _{1c}	Kasılma Gevşeme	Yok Var
Tromboksan	TP	Kasılma	Yok
Vazopressin	V ₁	Gevşeme	Var

Tablo 2.2. devamı

1970'lerin sonlarına doğru vazodilatör bir madde olan prostasiklin (PGI₂) ve vazokonstriktör bir madde olan tromboksanın (TXA₂) bulunup özelliklerinin tanımlanmasından sonra pulmoner dolaşımın kontrolünde endotel hücrelerinin anahtar bir role sahip olduğu anlaşılmıştır (Bakhle ve Ferreira, 1985). Şekil 2.1.' de çeşitli uyarılara yanıt olarak endotelde üretilen ve pulmoner tonusun kontrolüne katılan vazokonstriktör maddeler şematik olarak sunulmuştur.



Şekil 2.1. Çeşitli uyarılara yanıt olarak endotelde üretilen ve pulmoner tonusun kontrolüne katılan vazokonstriktör maddeler. Reeves ve Rubin (1998)'ndan alınmıştır.

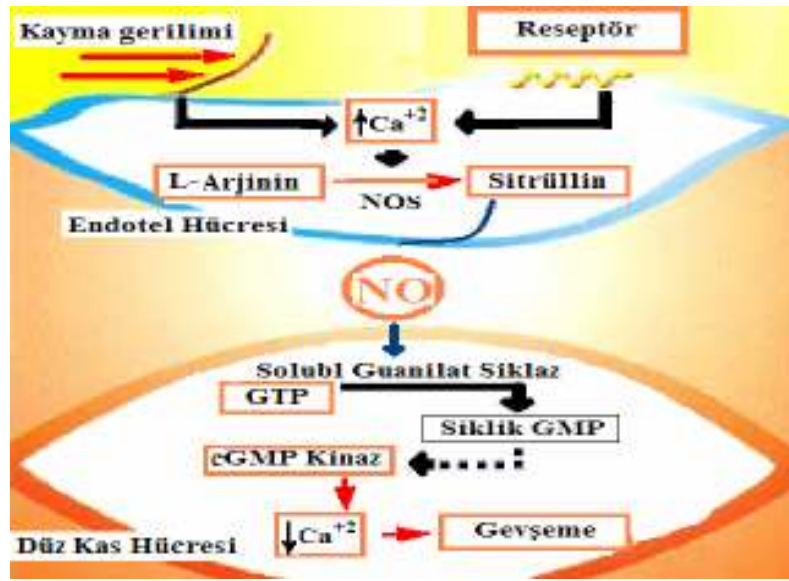
Pulmoner damar direncinin kontrolünde Nitrik oksitin rolü:

1980 yılında Furchgott'ın endotelden salıverilen gevşetici bir faktörü tanımlaması ve daha sonra bu faktörün NO olduğunun anlaşılması akciğer fizyolojisi ve patolojileri açısından önemli bir araştırma alanını da açmış oldu (Furchgott ve Zawadzki, 1980; Ignarro ve ark., 1987).

NO, nitrojen ve oksijen atomlarının karışımından oluşmuş gaz yapısında bir maddedir (Clini ve Ambrosino, 2002). Yağda çözünürlüğü yüksek olduğundan biyolojik membranlardan kolaylıkla geçebilir. Yarılanma ömrünün ise çok kısa olduğu anlaşılmıştır (Ignarro ve ark., 1987). Damarlarda NO sentezi başlıca kayma gerilimi (shear stres) ile tetiklenmektedir. Bu olay kanın endotel yüzeyinde oluşturduğu mekanik etki olarak ifade edilebilir. Endotel hücreleri bu mekanik etki ile şekil değişikliğine zorlanırken hücre iskeleti yolu ile hücre içine sinyaller göndermektedir. Bu olay protein kinaz B aktivasyonu ve endoteliyal nitrik oksit sentaz (eNOS) enziminin fosforilasyonu ile sonuçlanmaktadır. Böylece endotel hücresinden NO salıverilmesi gerçekleşmektedir. İlginç olarak bu şekilde NO üretimi için Ca^{+2} gerekmemektedir. eNOS'un fosforilasyonu yeterlidir. Diğer taraftan hücre içi Ca^{+2} düzeylerini arttıran bileşiklerin de damar endotelinde kalsiyuma bağımlı bir enzim olan eNOS enzimini aktive ettiği anlaşılmıştır (Büyükaşar ve ark., 1999). L-argininden başlayarak NO sentezini sağlayan NOS'un üç ayrı izoforma sahip olduğu bilinmektedir. Bunlar: endoteliyal NOS (eNOS/NOS3), indüklenebilir NOS (iNOS/NOS2) ve nöronal NOS (nNOS/NOS1)'dur (Le Cras ve McMurtr, 2001).

Pulmoner damarlarda endojen NO ve nitrik oksit donörleri ile oluşan vazodilatasyonun mekanizması esas olarak guanilat siklaz aktivasyonu sonucu Siklik guanozin monofosfat (cGMP) düzeylerinin yükselmesi ile açıklanmaktadır (Ignarro ve ark., 1986; Waldman ve Murad, 1987). (Şekil-2) NO'ya bağlı dilatasyonun pulmoner venlerde pulmoner arterlere göre daha fazla olduğunun gösterildiği araştırmalar vardır (Edwards ve ark., 1984; Zellers ve ark., 1994; Feletou ve ark., 1995; Arrigoni ve ark., 1999; Back ve ark., 2002). Pulmoner damar tonusunun kontrolünde NO'nun önemine dikkat çeken bir başka çalışmada ise eNOS geni çıkarılan farelerde normal atmosfer basıncı altında hafif pulmoner hipertansiyon geliştiği saptanmıştır (Fagan ve ark., 1999).

Pulmoner dolaşımında damar direncinin düzenlenmesinde NOS ve COX enzimleri arasında karşılıklı bir etkileşim olabileceği, birinin inhibisyonunun diğerinin aktivitesini değiştirebileceği varsayımı da değerlendirilmiştir (Liu ve ark., 1996). Bu değerlendirme sonucunda normoksik koşullarda NOS aktivitesinin COX blokajından sonra arttığı gösterilmiştir. İzole perfüze sıçan akciğerinde ise COX aktivitesi NOS blokajından sonra artmaktadır. Bu etkileşimlerin hipoksinin eşlik ettiği patolojik koşullarda pulmoner direnci nasıl etkileyeceği ilginç bir araştırma konusu olabilir.



Şekil 2.2. NO aracılıklı gevşemenin mekanizması. Gümüşel (2005)'den alınmıştır.

Pulmoner damar direncinin kontrolünde prostaglandinlerin rolü:

Çok sayıda prostanoidin pulmoner endotel hücreleri tarafından üretilebildiği ve metabolize edilebildiği bilinmektedir. İnsan pulmoner arterinde dört tip prostanoit reseptörü belirlenmiştir (Jones ve ark., 1997)

1. TXA₂ reseptörleri : Vazokonstriksiyona aracılık ederler. BAY U-3405, GR 32,191 ve EP 169 gibi maddelerle antagonize edilebilirler.
2. Prostaglandin EP3 reseptörleri: Kasılma yanıtına aracılık ederler.

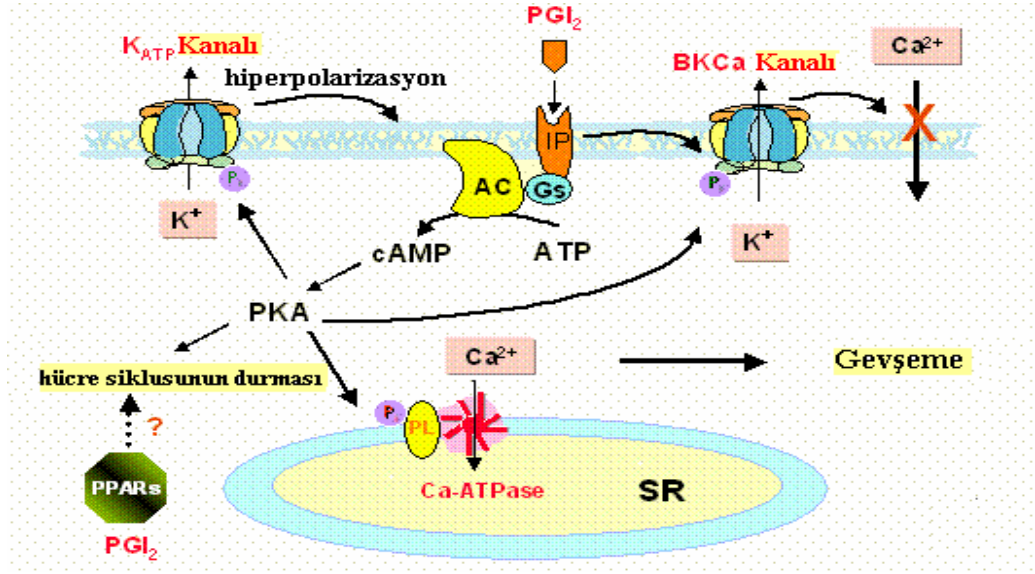
3. Prostaglandin EP2 reseptörleri: PGE₂'ye bağı vazodilatasyon yanıtına aracılık ederler.

3. IP reseptörleri(Prostasiklin reseptörleri) : Aracılık ettiğı vazodilatasyonun K⁺ kanal açıcı özelliğinden kaynaklandığı düşünölmektedir.

Pulmoner tonüsün kontrolü açısından siklooksijenaz enziminin iki majör ürünü olan PGE₂ ve PGI₂'nin potent vazodilatör etkinliğe sahip oldukları düşünölmektedir (Cassin, 1980). Bununla birlikte bir araştırmada bazal koşullar altında COX inhibitörü olan indometazinin pulmoner arterlerde herhangi bir gerim değışikliğine yol açmadığı da gösterilmiştir. Oysa aynı çalışmada indometazin uygulanması pulmoner venlerde vazokonstriksiyona yol açmıştır (Gao ve ark., 1996). Bu açıdan değeriendirildiğinde deneysel koşullar, tür, yaş gibi etkenler de göz önünde bulundurulmak kaydıyla pulmoner arterler ve venlerde prostaglandinlerin etkinliklerinde farklar olabileceğı düşünölebilir.

Araştırmalar PGE₂ ve PGI₂'nin oluşturduğu vazodilatasyona büyük olasılıkla adenilat siklazın aktivasyonunun ve buna bağı artan cAMP'nin eşlik ettiğine dikkat çekmektedir (Cassin, 1980; Coleman ve ark., 1984; Gao ve Vanhoutte, 1992; Shaul ve ark., 1992). Nitekim bir adenilat siklaz aktivatörü olan forskolinin pulmoner damarlarda vazodilatasyon oluşturmakta olduğu bilinmektedir (Gao ve ark., 1996)

Potent bir vazodilatör olan PGI₂'nin trombosit agregasyonunu ve düz kas hücrelerindeki proliferasyonu inhibe ettiğı gösterilmiştir (Moncada ve Vane, 1978; Todaka ve ark., 1999). Bu açıdan tam tersi etkinliğe sahip TXA₂ ile PGI₂'nin lokal üretim dengesinin bozulması pulmoner hipertansiyon patogenezi açısından önemlidir (Christman ve ark., 1992; Tudor ve ark., 1999). Nitekim PGI₂ ve onun analogları pulmoner hipertansiyon tedavisinde yararlanılabilecek ilaçlardır. Bu olumlu etkiye katılan diğeri faktörlerse prostasikline bağı olarak protrombotik durumun normalize olması ve endotelin-1'e (ET-1) bağı etkinliğin sınırlanmasıdır (Friedman ve ark., 1997; Langleben ve ark., 1999).



Şekil 2.3. Prostatiklinin hücresel etki mekanizması. Clapp, (2007)'den alınmıştır.

2.1.2 Hipoksik pulmoner vazokonstriksiyon (HPV)

Pulmoner dolaşımın pek çok yönü ile sistemik dolaşımdan farklı özellikler gösterdiği bilinmektedir. Bu farklardan en önemlisi pulmoner damarların hipoksiye yanıtının kasılma olmasıdır. HPV olarak adlandırılan bu olay akciğerlerde ventilasyon perfüzyon oranının en iyi şekilde sürdürülmesi ve düzenlenmesi için gerekli fizyolojik bir mekanizmadır. İlk kez Von Euler ve Liljestrand (1946) tarafından anesteziye edilmiş kedi pulmoner dolaşımında gösterilmiştir. Bununla birlikte HPV patofizyolojik olarak da gelişebilir. Astma, atelettazi, ARDS, pnömoni gibi pulmoner hipertansiyonun eşlik ettiği çeşitli hastalıklarda görülmektedir (Cutaia ve Rounds, 1990)

Deneylerde kullanılan hayvanın türü, cinsi, yaşı ve gebelik gibi pek çok etken pulmoner dolaşımın hipoksiye verdiği yanıtı etkileyebilir (Cutaia ve Rounds, 1990; Gao ve Raj, 2005). Akciğer damar yatağının hipoksi uygulamasına verdiği yanıtı etkileyen diğer faktörlerse deneysel koşullar açısından değerlendirilebilir. Bunlar; hipoksiye maruz kalınan süre, hipoksinin derecesi, çalışılan damar parçasının ölçütleri ve pulmoner damar yatağındaki yeridir.

2.2. İzole Pulmoner Arter ve Ven Preparatlarında Hipoksinin Etkisi

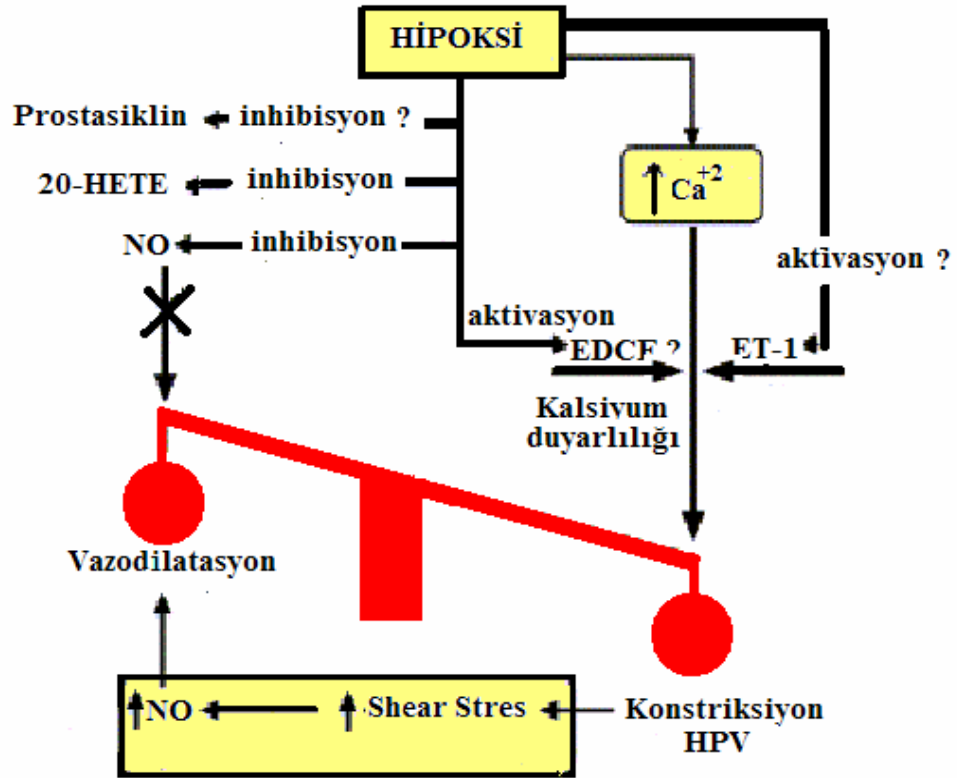
HPV açısından akciğer dolaşımı temel olarak üç damarsal bölümde değerlendirilebilir. Yerleşimlerine göre sırasıyla bunlar; arterler, mikrodamarlar (arteriol ve venüller), ve venlerden oluşur. Araştırmalar HPV’de pulmoner direnç artışında arteriollerin asıl önemli bölge olduğuna dikkat çekmektedir (Burton, 1972). Bu damarlar alveolar oksijen derişimindeki değişikliklerden en kolay etkilenecek bölgededir. Bununla birlikte hipoksiye verilen yanıtta venlerin de katkısının olduğunu gösteren kaynaklar bulunmaktadır (Zhao ve ark., 1993; Uzun ve Demiryürek 2006). Bu açıdan pulmoner arterlerin ve venlerin hipoksiye yanıtının karşılaştırıldığı bir araştırmada hipoksiye bağlı direnç artışının pulmoner arterlerde venlere göre üç kat fazla olduğu gösterilmiştir (Nagasaka ve ark., 1984). Kuzularda yapılmış bir çalışmada ise pulmoner arter ve vende hipoksiye bağlı direnç artışının eşit olduğunu belirlenmiştir (Raj ve Cheen, 1986). Literatürde hipoksiye yanıtta pulmoner damar direncinin oluşumunda venlerdeki kontraksiyonun payının önemine dair daha az çalışma bulunmaktadır.

2.2.1. Hipoksik vazokonstriksiyonun mekanizması

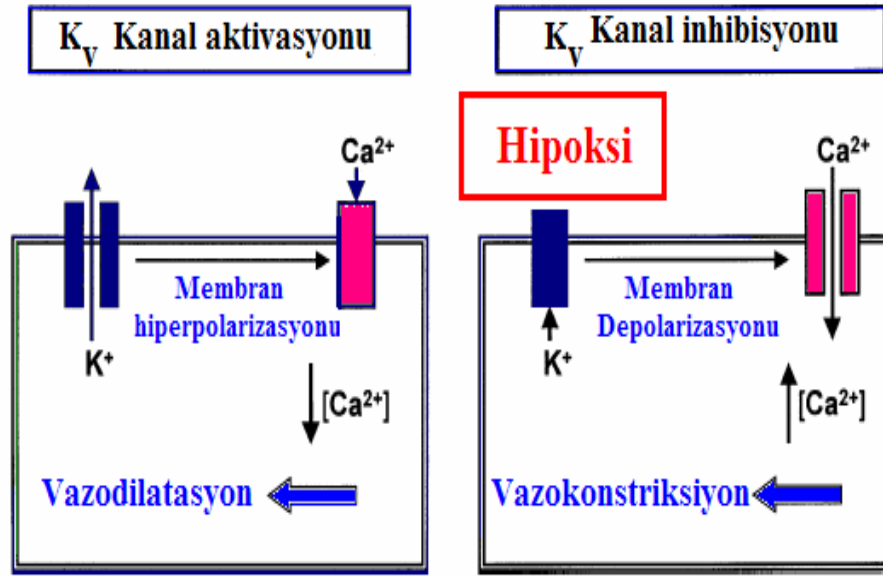
HPV'nin mekanizması henüz kesin olarak aydınlatılamamıştır. Bununla birlikte pulmoner damarların oksijene duyarlılığını ayarlamada görevi olan ve çok sayıda vazoaaktif mediyatörün sentezlendiği, metabolize edildiği endotel hücrelerinin HPV’de önemli bir rolleri olduğu düşünülmektedir. Bu nedenle çok sayıda vazoaaktif maddenin (NO, katekolaminler, HA, AII, PG’ler, PAF, 5-HT....) HPV’deki rolleri araştırılmıştır. Araştırmaların sonuçları HPV’de etkinlikleri incelenen mediyatörlerin bu olaya ancak modülatör olarak katılabileceklerini ortaya koymaktadır (Dumas ve ark., 1999). Şekil 2.4.’de hipoksiye yanıtta rolleri olduğu düşünülen majör vazokonstriktör ve vazodilatör maddelere ilişkin bir diyagram verilmiştir (Aaronson ve ark., 2002).

HPV’nin mekanizması üzerinde yapılan araştırmalar iki açıdan değerlendirilebilir. Bunlardan biri HPV’nin endotel bağımlı bir olay olduğundan hareket eder (Cornfield, 1994). Diğerisi ise hipoksiye bağlı kontraktilitede pulmoner damar düz kas hücrelerinin etkinliği üzerinedir (Demiryurek, 1993).

Bugüne kadar yapılan çalışmaların bir kısmında öne sürülen ve deneysel bulgularla da desteklenen bir görüş oksijen düzeylerinin pulmoner damar düz kas hücrelerinde iyon kanallarının aktivitesini düzenlediği şeklindedir. Özellikle HPV’de potasyum ve kalsiyum kanallarının rolüne ilişkin pek çok çalışma vardır. Bu araştırmalara göre hipoksiye bağlı voltaj bağımlı potasyum kanal inhibisyonu sonucu damar düz kası hücresinde kalsiyum düzeyleri artmaktadır (Şekil 2.5.) (Strange ve ark., 2002; Aaronson ve ark., 2006). Hipoksinin iyon kanallarının aktivitesini değiştirmesini hücrel redoks modülasyonuna bağlayan araştırmalar da vardır (Morrell ve ark., 2006). Bunun dışında alveolar hipoksiye bağlı kasılmada sitokrom P-450’ nin rolü de çalışılmıştır. Sitokrom P-450 inhibitörü metirapon ile HPV’nin baskılanabildiği gösterilmiştir (Sylvester ve McGowan, 1978)



Şekil 2.4. HPV’de rolleri olduğu düşünülen majör mediyatörler ve rolleri. Aaronson ve ark. (2002)’dan alınmıştır.



Şekil 2.5. Pulmoner tonusun düzenlenmesinde K_v kanallarının rolü. Strange ve ark. (2002)'dan alınmıştır.

2.2.2. Hipoksik pulmoner vazokonstriksiyonda nitrik oksitin rolü

Endotel hücrelerinin pulmoner damarların oksijene duyarlılığını ayarlama görevleri olduğu bilinmektedir. Bu açıdan NO'nun HPV'deki rolü araştırıldığında, yapılan çalışmalarda, çoğunlukla NO sentaz inhibitörlerinin akut uygulaması ile hipoksiye bağlı kasılmanın arttığı gösterilmiştir (Demiryürek ve ark., 1991; Ogata ve ark., 1992). Bu gözlemler NO'nun hipoksi bağımlı kasılmaya karşı koruyucu bir mekanizma olduğunu düşündürmektedir. Öte yandan hipoksik koşullarda bazal NO salıverilmesinde inhibisyon olduğu ve bunun da HPV'nin ortaya çıkmasına neden olduğu yorumu da yapılabilir (Kowitz ve ark., 1993). Çünkü NO sentezlenebilmesi için yeterli miktarda oksijen gereklidir ve düşük oksijen konsantrasyonunda NO sentezinin azalması beklenir. Diğer taraftan bu koşullarda NO degradasyonu da azalır ve yavaşlar. Dolayısıyla yarı ömrü uzar ve vazodilatör etkisi potansiyalize de olabilir (Gaston ve ark., 1994). Aslında HPV-NO ilişkisi konusunda yapılan araştırmalar topluca değerlendirildiğinde bulgularının birbiriyle çelişmekte olduğu görülmektedir. Le Cras ve

McMurty (2001) hazırladıkları bir derlemede orta dereceli bir hipoksik ortamın NO sentezini sınırlamadığı hatta bazen artırdığı sonucuna varmışlardır.

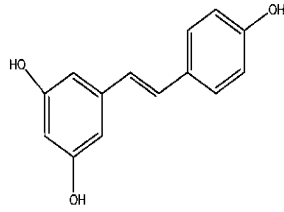
2.2.3. Hipoksik pulmoner vazokonstriksiyonda siklooksijenaz ürünlerinin rolü

Bölgesel kan akımını yeniden düzenleyen hipoksik koşullar eikozanoit üretimindeki değişikliklerle pulmoner damar tonüsünü etkileyebilirler. Çünkü araşidonat kaskadında oksijen esansiyel bir moleküldür. COX ürünlerinin HPV'deki rolü genellikle pulmoner arterlerde çalışılmıştır. Bu konuda pulmoner venlerde yapılan araştırmalar yeterli değildir. Bununla birlikte pulmoner venlerde indometazin varlığında hipoksiye bağlı kontraktıl yanıtın inhibe olduğunu gösteren araştırmalar vardır (Miller ve ark., 1989; Uzun ve Demiryürek, 2006). Benzer sonuçlar pulmoner arterlerde yapılan bazı çalışmalarda da elde edilmiştir (Demiryurek ve ark., 1991; Demiryurek ve ark., 1993). Bu verilere dayanarak hipoksinin endotelden vazokonstriktör prostaglandinlerin salıverilmesine neden olduğu sonucuna varılabilir.

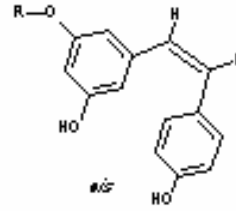
Aslında HPV'de vazokonstriktör prostaglandinlerin rolüne ilişkin çalışma sayısı azdır. Araştırmaların önemli bir kısmı prostaglandinlere bağlı vazodilatör etkinlik üzerinedir (Gaston ve ark., 1994). Pulmoner damarlar için önemli bir vazodilatör prostaglandin olan PGI_2 sentezi de parsiyel oksijen basıncındaki değişikliklerden doğrudan etkilenebilir. Nitekim bazı araştırmacılar hipoksinin PGI_2 salıverilmesini artırdığını belirlemiştir (Michiels ve ark., 1993; North ve ark., 1994). Bu bulgu PGI_2 'nin aşırı kasılmaya karşı koruyucu bir rol üstlendiğini düşündürmektedir. Ama hipoksiye bağlı olarak PGI_2 salıverilmesinin azaldığını gösteren çalışmalar da vardır (Madden ve ark., 1986). Bu konuda literatürde birbiriyle çelişen bulgular yer almakla birlikte, genel olarak COX ürünlerinin hipoksiye bağlı kontraktıl yanıtta kritik bir rol oynamasalar bile modüle edici özellikleri olduğu söylenebilir.

2.3. Resveratrol

2.3.1 Bulunuşu ve Kimyasal Yapısı



Şekil 2.6. trans-resveratrol



Şekil 2.7. cis-resveratrol

Çeşitli bitkiler mantarlara karşı yanıt olarak flavanoit yapılı fenolik bileşikler sentezleyebilirler. Bunlardan biri olan resveratrol, stilben fitoaleksinin asıl aktif bileşiği olarak tanımlanmıştır ve ilk defa 1940 yılında ak çöplemeden (*Veratrum album*) izole edilmiştir. Dut, yerfıstığı, üzüm, çam ve bakla gibi çeşitli bitkilerde bulunduğu bilinmektedir (editorial, 2007). Bu bileşiği içeren bitkiler uzak doğuya özgü geleneksel ilaçlardan biri olarak da kullanılmaktadır (Fremont, 2000). *Vitis vinifera* (asma)'dan ise ilk kez 1976 yılında Trans-resveratrol izole edilmiştir (Şekil-7). Langcake ve Pryce bu bileşiğin yaprak dokusunun mantar enfeksiyonuna ya da ultraviyole ışınlarına maruz kalması sonucunda sentezlendiğini göstermişlerdir (Langcake ve Pryce, 1976).

Yapılan epidemiyolojik çalışmalar, gelişmiş ülkelerde doymuş yağlardan zengin, yüksek kalorili diyetle beslenme şeklinin, kalp-damar hastalıklarına ve bunlara bağlı ölümlere neden olduğunu işaret etmektedir (Leasa ve ark., 1998). Oysa Fransa'nın bazı bölgelerinde bu tarz beslenme ile kalp-damar hastalıkları arasındaki ilişki Amerika Birleşik Devletleri ve İngiltere gibi ülkelere göre anlamlı bir şekilde az bulunmuştur. 1992 yılında yapılan bir araştırmada, bunun nedeni Fransa'da şarap tüketiminin diğer batı ülkelerinden daha fazla olmasıyla açıklanmıştır (Renaud ve DeLorgeril, 1992). Gerçekten de Fransa'da yüksek kan basıncı ve yüksek kolesterol seviyesi gibi nedenlerle

koroner kalp hastalıklarından ölüm oranı diğer batı ülkelerine oranla düşük bulunmuştur(De Lorgeril ve ark., 1996). Daha sonra bu durum Fransız paradoksu (French paradox) olarak adlandırılmıştır. Bu olay şarabın ve diğer alkollü içeceklerin kalp damar hastalıkları üzerindeki yararlı etkilerini araştırmaya yönelik yapılan pek çok çalışmanın da önünü açmıştır.

Araştırmalar kalp damar hastalıkları açısından koruyucu etkinin şaraptaki alkolden değil içindeki fenolik bileşiklerden kaynaklandığını göstermektedir. Bunların büyük kısmı da flavanoit yapısındadır (Soleas ve ark., 1997). Bu flavanoit yapılı maddelerden resveratrolün, şarabın içinde bulunduğu ilk kez Siemann ve Creasy tarafından (1992) ortaya çıkartılmıştır. Cis ve trans olmak üzere iki izomerik forma sahip olduğu anlaşılan resveratrolün üzüm ekstrelerinde sadece trans şeklinin bulunduğu anlaşılmıştır. Resveratrol, viniferinler olarak adlandırılan polimer ailesinin ana molekülüdür. Bitkiler bu maddeyi glikozit yapısında da sentezleyebilir (piceid=resveratrol 30 beta glikozit). Yüksek pH tamponları hariç, ışıktan korunduğunda trans-resveratrol etkinliğini aylarca korur. Şarap içinde bulunan resveratrolün miktarı üzümün nasıl yetiştirildiği, bölgenin sıcaklığı, yetiştirilen coğrafya, şarabın tipi ve Botrytis (gri küf) enfeksiyonuna ne oranda maruz kaldığı ile ilişkilidir. Şaraptaki resveratrol miktarını belirleyen en önemli faktörlerden biri de üzümün kabuğu ile birlikte fermentasyon zamanıdır. Buna da resveratrolün üzümün etli kısmında değil kabuğunda bulunmasının neden olduğu bildirilmiştir. Bulgulara göre beyaz şarap içinde daha düşük resveratrol bulunmasının nedeni kısa maserasyon süresi ile açıklanmaktadır (Fremont, 2000). Pembe şaraplarda bulunan resveratrol miktarının ise kırmızı şarap ile beyaz şarap arasında bir değerde olduğu gözlenmiştir (Fremont, 2000). Kullanılan üzümün cinsinin de maserasyon zamanı kadar şarap içindeki resveratrol miktarını belirleyici özelliğe sahip olduğu anlaşılmıştır. Örneğin Jeandet ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada Pinot Noir üzümlerinden yapılmış şarabın resveratrol içeriğinin Chardonnay'e göre daha fazla olduğu belirlenmiştir (Fremont, 2000). Yine aynı araştırma % 10 oranında Botrytis ile enfekte olan üzümlerden üretilen şarapta yüksek düzeyde resveratrol bulunmasına karşılık % 40 - % 80 oranında Botrytis ile enfekte olan

üzümlerden üretilen şaraplarda daha düşük düzeyde resveratrol bulunduğunu gösterilmiştir (Fremont, 2000).

Ülkemizdeki üzümler ve bunlardan üretilen şarapların resveratrol içeriği konusunda sınırlı sayıda çalışma vardır. Bunlardan birinde en çok trans-resveratrol miktarını içeren şarap örneğinin Cabernet Sauvignon cinsi üzümlerinden olduğu bunu sırasıyla Şiraz, Merlot ve Kalecik Karası'nın izlediği belirlenmiştir (Çabuk, 2004).

2.3.2. Resveratrolün Kardiyovasküler Etkileri

Resveratrol ve Ateroskleroz:

Koroner damar hasarının ve özellikle iskemik vasküler hastalıkların başlıca sebebi olan ateroskleroz, kısaca kan (plazma proteinleri, lipoproteinler, büyüme faktörleri, trombositler, lenfositler) ile arteriel duvarın hücresel elementleri arasındaki reaksiyon sonucu ortaya çıkan bozulma olarak açıklanabilir.

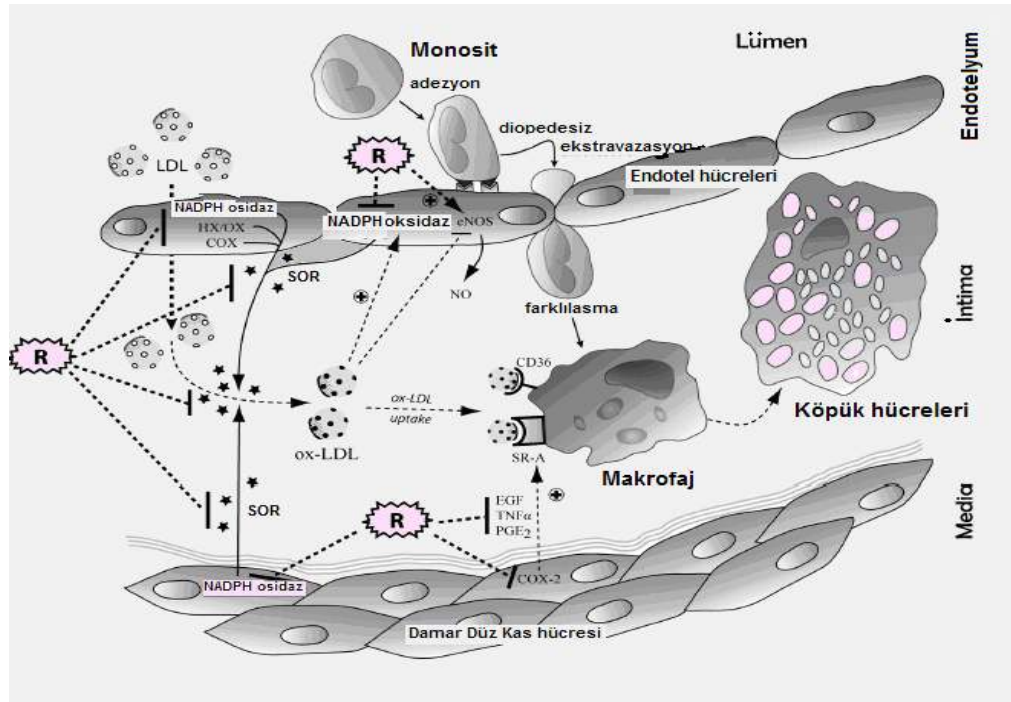
Çeşitli bileşikler farklı hücresel düzeylerde aterosklerotik lezyon oluşumunu engelleme yetisine sahiptirler. E vitamini, flavonoidler ve polifenoller gibi çeşitli antioksidan bileşikler ateroskleroz oluşumunu önlemeye aday maddelerdir. Polifenolik yapıya sahip bir bileşik olan resveratrol de ateroskleroz oluşumunun farklı basamaklarını etkileyebilecek bir maddedir.

Bu basamaklar (Delmas ve ark., 2005):

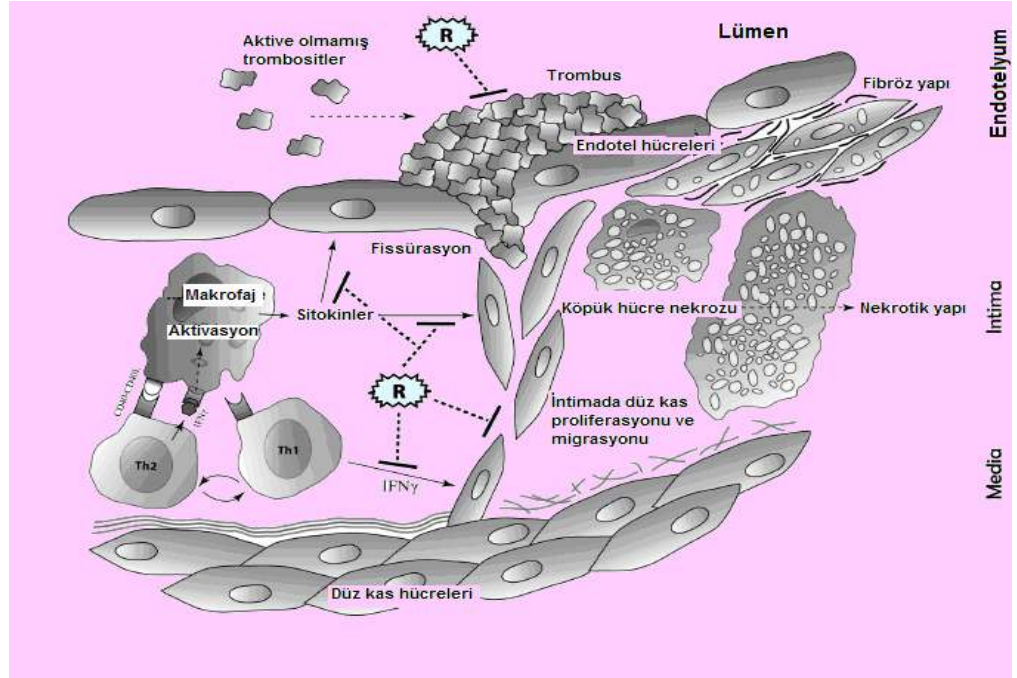
1. Lipit birikimi,
2. Düşük dansiteli lipoproteinlerin oksidasyonu,
3. Monosit ve lenfosit infiltrasyonu,
4. Düz kas hücresi proliferasyonu ve migrasyonu,
5. Trombosit agregasyonudur.

Resveratrol'ün damarlarda ateroskleroz oluşumunun başlangıcında ve ilerlemiş aşamalarındaki etkinliği şekil-8 ve şekil-9' da şematize edilerek açıklanmıştır (Delmas ve ark., 2005). Bununla birlikte literatürde resveratrolün bu etkinliğini doğrulamayan karşıt çalışmalar da vardır. Bunlardan birinde hiperkolestrolemi oluşturulan tavşanlara

besin yoluyla trans-resveratrol (0,6 mg/kg 5 gün daha sonra 6. günden 60. güne kadar 1 mg/ kg) verilmiş fakat plazmadaki yüksek kolestrol konsantrasyonunda herhangi bir azalma gözlenmemiştir. Ayrıca resveratrol uygulanan tavşanların aortalarında beklenmedik aterosklerotik lezyonlar bulunmuştur (Fremont, 2000).



Şekil 2.8. Ateroskleroz oluşumunun başlangıcında Resveratrolün (R) etkileri. Delmas ve arkadaşları (2005)'dan alınmıştır.



Şekil 2.9. İlerlemiş atreosklerotik lezyon oluşumunda resveratrolün etkileri. Delmas ve arkadaşları (2005)'dan alınmıştır.

Resveratrol ve Oksidatif stres

Organizmada oksidatif mekanizmalar sonucu oluşan serbest oksijen radikallerinin (SOR) aşırı üretimi ve sonuçta oksidan/antioksidan dengenin bozulması, protein, lipid, karbonhidrat ve nükleotit gibi biyomoleküllerin oksitlenip hücre hasarına yol açmasına neden olur. Özellikle çoklu doymamış yağ asitleri (ÇDYA), SOR'un zararlı etkisinden daha kolay etkilenir. Bu yüzden ÇDYA'den zengin olan membranlar SOR'un etkisine açıktırlar ve membranlarda yapı ve fonksiyon bozuklukları oluşabilir (Halliwell ve Chirio, 1993; Kurtuluş ve ark., 2003).

Araştırmalar okside olmuş LDL'nin doku tromboplastin aktivitesini uyarak, monosit/makrofajların yüzeyinde prokoagulan aktiviteyi arttırdığını ve trombosit agregasyonunu stimüle ettiğini göstermiştir (Aviram, 1989; Schuff-Werner ve ark., 1989). Resveratrolün antioksidan etkinliği üzerine yapılan çalışmalar bu molekülün SOR oluşumunu engellediğini göstermiştir. Bunun bir kanıtı domuzlarda yapılan bir

çalışmada ortaya konmuştur. Bu araştırmada LDL oksidasyonu sırasında doymamış yağ asitlerinin yıkım ürünleri ölçülmüş, trans-resveratrolün çoğunlukla diğer flavanoitlerde de olduğu gibi serbest radikallerle şelat oluşturduğu gözlenmiştir (Fremont ve ark., 1999). Cis izomerinin ise şelasyon kapasitesinin trans izomerine göre yarım kat daha az olduğu saptanmıştır. Araştırmacılara göre bunun nedeni cis ve trans izomerlerinde hidroksil grubunun yerinin şelasyon yeteneğine etkisidir (Cao ve Li, 2004).

Resveratrolün antioksidan etkinliğinde çeşitli enzimatik sistemler veya makrofajların rol oynadığı anlaşılmıştır (Delmas ve ark., 2005). Örneğin resveratrol metal iyonu ile uyarılmış LDL oksidasyonunda endotel hücrelerinde NADPH bağımlı oksidaz, hipoksantin, ksantin oksidaz (HX/PO), 15-lipooksijenaz (15-LO), miyeloperoksidaz (MPO) ve nitrik oksit sentaz (NOS) enzimleri üzerinden etki göstermektedir (Fremont ve ark., 1999). Bu enzimler hücre içi SOR'un endoteldeki oluşumunu azaltmalarının yanı sıra lökosit adezyonunu da inhibe etmektedir (Orallo ve ark., 2002; Shigematsu ve ark., 2003). Resveratrolün H₂O₂ üretimini azalttığı, MPO aktivitesini ve oksidize glutatyon reduktazın düzeyini normalleştirdiğini gösteren başka araştırmalarda vardır (Jang ve Pezzuto 1999; Cavallaro ve ark., 2003).

Resveratrol ve Tromboz

Koroner kalp hastalıklarının oluşum mekanizmalarında ve ateroskleroz gelişiminde trombositlerin önemli bir rolü vardır. Resveratrolün trombin ve ADP ile uyarılmış trombositten zengin insan plazmasında, trombosit agregasyonunu azalttığı belirlenmiştir (Berteli ve ark., 1995; Pace-Asciak ve ark., 1996). İn-vitro olarak yapılan bu çalışmaları in vivo olarak yapılan araştırmalar da desteklemektedir (Wang ve ark., 2002). Resveratrol trombinin neden olduğu trombositlerden ATP ve ADP salıverilmesini de inhibe etmekte ve nötrofil fonksiyonlarını ise azaltmaktadır (Kaneider ve ark., 2004).

Trombosit aktive edici faktör (PAF) ile uyarılan trombosit agregasyonu TXA₂ oluşumuna neden olmaktadır. TXA₂ ise proagregan ve vazokonstriktör bir maddedir. Ayrıca PAF, polimorfonükleer lökositlerin agregasyonunu da uyarıp lökotrienlerin salıverilmesini ve süperoksitlerin oluşumunu arttırmaktadır. Resveratrol PAF ile uyarılmış trombosit agregasyonunu inhibe etmektedir (Fragopoulou ve ark., 2000).

Benzer şekilde PAF monositlerin agregasyonunu da uyarır. Resveratrolün PAF'ın etkilerini inhibe ederek eikosanoitler ve lökotrienler gibi proagregant/proinflamatuvar maddelerin etkilerini azaltabileceği düşünülmektedir (Delmas ve ark., 2005).

Araşidonik asitten sentezlenen eikazanoitlerin ve lökotrienlerin trombosit agregasyonunda rolleri bulunmaktadır. İnsan trombositlerinde araşidonik asit ürünleri lipooksijenaz yolağı, COX ve prostaglandin H sentaz yolağında sentezlenmektedir. Resveratrol hem 5-lipoksijenaz hem de 15-lipoksijenazı inhibe edebilmektedir (Pinto ve ark., 1999; MacCarrone ve ark., 1999). Böylece lipoksijenaz inhibisyonu ile birtakım enflamatuvar maddelerin salıverilmesi engellenmektedir (Kimura ve ark., 1985; Rotondo ve ark., 1998; Kimura ve ark., 1995).

Kimera ve arkadaşları ise yaptıkları bir çalışmada, resveratrolün yalnızca lipoksijenaz ürünlerini değil aynı zamanda TXB₂ (TXA₂'nin metaboliti) oluşumunu da inhibe ettiğini saptamışlardır (Kimura ve ark., 1995). Resveratrolün COX enzimini de inhibe edip prostaglandinler ve TXA₂ oluşumunu engelleyebildiğini gösteren pek çok araştırma vardır (Kimura ve ark., 1985; Rotondo ve ark., 1998; Kimura ve ark., 1995; Pace-Asciak ve ark., 1998; Knight ve ark., 1999; Martinez ve Moreno, 2000; Moreno, 2000).

Hücre içi Ca⁺² artışının trombosit agregasyonu sürecinde çok önemli bir unsur olduğu bilinmektedir. Araştırmalar resveratrolün trombositlere Ca⁺² girişini azaltabildiğini ortaya çıkarmıştır. Antiagregan etkinliğe bu mekanizmanın katkısı olduğu açıktır (Dobrydneva ve ark., 1999; Dobrydneva ve ark., 2003).

Resveratrol ve Vazodilatasyon

Hemodinamik değişikliklere yanıt olarak damar direncinin normal sınırlarda sürdürülmesinde endotelden salıverilen vazodilatör, antitrombotik ve antimitotik faktörlerin önemli bir rolü vardır (Luscher ve Noll 1995; Napoli ve Ignarro, 2001). Daha önce antioksidan, antitrombotik, antienflamatuvar etkileri gösterilmiş olan resveratrolün damarlarda da vazodilatör olduğunu ortaya koyan araştırmalar vardır (Chan ve Pace-Asciak, 1996; Naderali ve ark., 2000; El-Mowafy 2002; Li ve ark., 2006). Bu

araştırmaların bir kısmında resveratrolün vazodilatör etkisine NO'nun aracılık ettiği düşünölmektedir. Örneğin prekontrakte izole domuz koroner arterlerinde resveratrolün doz bağımlı bir vazodilatasyona neden olduğu görölmüştür (Li ve ark., 2006). Bu vazodilatasyon NOS inhibitörü olan L-NNA ile anlamlı bir şekilde azalmıştır. Nitekim resveratrolün NO düzeylerini hem eNOS hem de iNOS üzerinden modöle ettiğini gösteren çok sayıda çalışma vardır (Delmas ve ark., 2005). Bu araştırmaları destekleyen benzer bir sonuç insan IMA ve safen veninde yapılan bir çalışmada da elde edilmiştir (Rakıcı ve ark., 2005). Bu araştırmada IMA'da resveratrol etkinliği endotel aracılıklı bulunurken safen vende vazodilatasyon kısmen endotel bağımlı bulunmuştur. Resveratrol aracılıklı gevşemeye iki ayrı mekanizmanın yol açtığı düşünölmektedir. Bunlardan biri endotelden NO salıverilmesi iken diğeri resveratrol'ün kalsiyum antagonisti özellikleri ve Ca^{+2} influksunun inhibisyonuna aracılık etmesi olabilir (Li ve ark., 2006). Sıçan torasik aortasında yapılan bir çalışmada ise resveratrolün endotel ve damar düz kası hücrelerini farklı mekanizmalarla etkilediği vurgulanmaktadır. Bu araştırmaya göre resveratrolün neden olduğu endotel aracılıklı gevşeme endotel hücrelerindeki Ca^{+2} artışına bağlıyken düz kas hücrelerinde Ca^{+2} duyarlılığının azalması ile ilişkilendirilmektedir (Buluç ve Demirel-Yılmaz, 2006). Diğer taraftan resveratrolün endotelial etkilerine Ca^{+2} bağımlı K^{+} ve voltaj bağımlı K^{+} kanalları aracılık ediyor olabilir (Granados-Soto ve ark., 2002; Novakovic ve ark., 2006; Wu, 2003).

Resveratrolün COX enzimini inhibe ettiğini gösteren pek çok araştırma bulunmaktadır (Kimura ve ark., 1985; Rotondo ve ark., 1998; Kimura ve ark., 1995; Pace-Asciak ve ark., 1998; Knight ve ark., 1999; Martinez ve Moreno, 2000; Moreno, 2000). Buna karşın vazodilatör etkisinin mekanizması üzerine yapılan araştırmalarda COX enzim inhibitörü indometazinin resveratrol aracılıklı gevşemeyi etkilemediği bulunmuştur (Chaikhouini ve ark., 1986).

İlginç olarak endoteli kazınmış damarlarda yapılan bazı araştırmalarda da resveratrolün vazodilatasyon oluşturduğu gösterilmiştir (Naderali ve ark., 2001). Bu etki resveratrolün düz kas üzerine olan etkisi ile açıklanmaktadır. Örneğin koyun koroner arteri düz kasında resveratrolün özellikle partiköler guanilat siklaz (pGC) enzimi aracılığıyla cGMP düzeylerini arttırdığı ve bunun sonucunda damar gevşemesi oluştuğu

gösterilmiştir (El-Mowafy, 2002). Bir başka araştırmada ise resveratrole bağlı düz kas gevşemesinde 4-aminopiridin ve margatoksine duyarlı K^+ kanallarının rolü olduğu saptanmıştır. Bu kanallar voltaja duyarlı K^+ kanallarıdır (Novakovic ve ark., 2006).

Resveratrolün güçlü bir vazokonstriktör madde olan ET-1 salıverilmesini azalttığı belirlenmiştir (Liu ve ark., 2003). Bunu ET-1 gen ekspresyonunu baskılayarak gerçekleştirmektedir. Resveratrol ayrıca AII aracılıklı hipertrofiyi de ERK1/2 ve ERK kinaz aktivasyonunu inhibe ederek engellemektedir (Olson ve ark., 2004).

Araştırmalar resveratrolle sentetik bir fitoöstrojen olan dietilstilbesterolün yapısal olarak benzerliğini göstermiştir. Bu araştırmalara göre resveratrol bir fitoöstrojen olarak değerlendirilebilir. Östrojen reseptör agonisti özellikleri taşıyabilir (Gehm ve ark., 2004; Abou-Zeid ve El-Mowafy, 2004). Bu yüzden östrojenlere benzer şekilde eNOS aktivitesini arttırarak vazodilatasyona aracılık edebilir (Wallerath ve ark., 2002).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Deneysel Preparat

Deneyler mezbahada yeni kesilen koyunların akciğerlerinden izole edilen arter ve venlerinde gerçekleştirilmiştir. Akciğerler çıkarıldıktan sonra Krebs-Heinseleit solüsyonu içeren kaba konularak laboratuara getirilmiştir. Arter ve venlerin izolasyonu laboratuarda yapılmıştır.

3.2. Deneylerde Kullanılan Malzemeler

- İzole organ banyosu
- Sirkülatör (MAY, WBC 3044 V3, Ankara)
- Transdüsr (MAY, FDT-10A Force displacement transducer, Ankara)
- Biopac bilgisayar sistemi (MP30B-CE, Ankara)
- Oksijenmetre (WTW oXi 330i-fet, Germany)

3.3. Deneylerde Kullanılan Kimyasal Maddeler

Deneylerde kullanılan Krebs-Heinseleit çözeltisinin bileşimi (mM):

NaCl 119, NaHCO₃ 25, KCl 4.6, MgCl₂ 1.2, KH₂PO₄ 1.2, CaCl₂ 2.5, Glukoz 11

Çalışmalarda kullanılan kimyasal maddeler resveratrol, 5-HT, indometazin, L-NAME, U46619, histamin, fenilefrin ve noradrenalinidir. Hepsi Sigma Chemical Co (St. Louis, USA)'dan sağlanmıştır. Kullanılan kimyasal maddelerden resveratrol ve U46619 etil alkolde, indometazin sodyum bikarbonat çözeltisinde diğerleri ise distile suda çözölmüştür.

3.4. Optimum Dinlenme Geriminin Saptanması

Deneylerde günlük olarak kesilen koyunların akciğerleri kullanılmıştır. İzole edilen arter ve venler sol akciğerin alt lobuna giden ilk daldandır ve dış çapları yaklaşık

2-4 mm'dir. İzolasyondan sonra damarlar Krebs-Henseleit çözeltisi içeren bir petri içinde 3-5 mm kalınlığında halka şeklinde kesilmiş, yağ ve bağ dokudan temizlenmiştir. Daha sonra izole edilen damarlar izole organ banyosuna çengeller yardımıyla asılmıştır. İzole organ banyoları 10 ml Krebs-Henseleit çözeltisi içermektedir ve havalandırma için % 95 O₂ -% 5 CO₂ içeren gaz karışımı kullanılmıştır. İzometrik kasılmalar sürekli olarak izlenmiş ve bilgisayarlı poligraf sistemiyle kaydedilmiştir. İzole edilen dokular bir saat dengelenmeye bırakılmış bu süre içinde 15 dakikada bir yıkanmıştır. Optimum dinlenme geriminin saptanabilmesi için dengelenme süresi sonunda dokulara 1-5 g arasında gerim uygulanmış ve 20 mM KCl' ile alınan yanıtlar değerlendirilmiştir. Bu işlem sonucunda dokuların en iyi kasılma yanıtını verdikleri gerim optimum dinlenme gerimi olarak saptanmıştır. Sonuçta optimum dinlenme gerimi arterler için 3g, venler için 2g olarak belirlenmiştir. İzometrik kasılmalar mN/mm² olarak değerlendirilmiştir (Sylvester ve McGowan, 1978). Bunun için aşağıdaki formüle göre hesaplanan A değeri kullanılmıştır.

$$A = W / h \times \beta$$

A= Damarın enine kesit alanı

β = Dokunun yoğunluğu (1.05 mg/mm³)

W= Filtre kağıdında kurutulmuş venlerin ağırlığı (mg)

h= Optimum dinlenme geriminde damarın iki çengel arasındaki uzunluğu (mm)

Buna göre;

$$\text{izometrik kasılma (mN/mm}^2\text{)} = \frac{\text{kasılma (mN)}}{A}$$

formülüne uygun şekilde hesaplanmıştır.

3.5.Deney Protokolü

3.5.1. Kontraktil agonistin belirlenmesi

Deneylerimizde prekontraktil agonist olarak kullanılmak üzere pulmoner arterlerde venlerde 5-HT, noradrenalin, fenilefrin, KCl; pulmoner venlerde ise U46619, noradrenalin, histamin ve KCl ile ön çalışmalar yapılmış, doz-yanıt eğrileri çıkartılmıştır. Tablo 3.1. ve Tablo 3.2.'de bu agonistlere ilişkin EC₅₀ değerleri verilmiştir. Sonuçta pulmoner arterlerde serotonin, venlerde ise U46619 ile deneylere devam edilmesine karar verilmiştir.

Tablo 3.1. Pulmoner arterlerde prekontraktil agonist olarak denenen agonistler ve EC₅₀ değerleri

Kontraktil Agonist	Noradrenalin	Fenilefrin	5-HT	KCL
EC ₅₀	320 ± 32 nM	5.2 ± 3 µM	1.7 ± 3 µM	21.2 ± 5 mM

Tablo 3.2. Pulmoner venlerde prekontraktil agonist olarak denenen agonistler ve EC₅₀ değerleri

Kontraktil Agonist	U46619	Noradrenalin	Histamin	KCl
EC ₅₀	32 ± 5 nM	300 ± 23 µM	21 ± 7 µM	32.3 ± 6 mM

3.5.2. Prekontrakte izole pulmoner arter ve venlerde resveratrolün damar tonüsü üzerine etkisi

İzole edilen damarlar optimum dinlenme geriminde 1 saat dengelenmeye bırakıldıktan sonra KCl uygulaması yapılmış ve ardarda benzer kasılma yanıtı alındıktan sonra deneylere geçilmiştir. Pulmoner arterlerde endotel dokusunun fonksiyonel

olduğunun gösterilebilmesi için 5-HT ile prekontrakte dokularda 10^{-6} M Ach'e verilen gevşeme yanıtı değerlendirilmiştir.

Resveratrolün prekontrakte dokulardaki etkinliği; arterlerde 5-HT ile (10^{-6} M), venlerde ise U46619 (10^{-6} M) ile yapılan kontraksiyondan sonra incelenmiştir. Prekontraksiyonda platoya ulaşıldıktan sonra 10-100 μ M konsantrasyonlarda resveratrolün kümülatif uygulaması yapılmıştır. Araştırmamızın bu bölümünde resveratrolün etkinliğinde NO'nun rolünü değerlendirebilmek için L-NAME (10^{-4} M) ve prostaglandinlerin rolünü belirleyebilmek için de indometazin (10^{-5} M) kullanılmıştır (Naderali ve ark., 2000; Rakıcı, 2005). L-NAME ve indometazinle inkübasyondan sonra resveratrole bağlı kümülatif doz-yanıt ilişkisi yeniden değerlendirilmiştir. L-NAME için ve indometazin için 30 dakikalık inkübasyon süresi uygulanmıştır.

3.5.3. Prekontrakte izole pulmoner arter ve venlerde asetilkolin yanıtları üzerine resveratrolün etkisi

Prekontrakte dokularda resveratrolün asetilkolin yanıtları üzerine etkisi arterlerde 5-HT (10^{-6} M) ile, venlerde ise U46619 (10^{-6} M) ile yapılan kontraksiyondan sonra incelenmiştir. Bu dokularda Ach'nin 10^{-9} M- 10^{-3} M doz aralığında kümülatif uygulaması yapılmıştır. Daha sonra dokular 20 μ M resveratrol ile inkübe edilmiş ve Ach (10^{-9} M- 10^{-3} M) kümülatif uygulaması yinelenmiştir.

3.5.4. Resveratrolün Hipoksik Pulmoner Vazokonstriksiyon Üzerine Etkisi

Resveratrolün hipoksik pulmoner vazokonstriksiyon üzerine etkisi izole edilen pulmoner arter ve venlerde çalışılmıştır. İzolasyondan sonra damarlar optimum dinlenme geriminde 1 saat dengelenmeye bırakılmıştır. Daha sonra KCl uygulaması yapılmış ve ardarda benzer kasılma yanıtı alındıktan sonra deneylere geçilmiştir. Deneylerde izole organ banyolarında Krebs-Henseleit çözeltisinin havalandırması, % 95 O₂ -% 5 CO₂ içeren gaz karışımı ile yapılmıştır. Hipoksik koşullar ise % 5 CO₂- % 95 N₂ karışımı ile sağlanmıştır. Deneyler süresince izole organ banyolarında oksijen

konsantrasyonu ölçülmüştür. Hipoksi uygulaması sonucu ortamın pO₂ değerinin zamana karşı değişimi Tablo 3.3' de verilmiştir.

Tablo 3.3. Hipoksi süresi boyunca pO₂ değerinin zamana karşı değişimi (n=18)

Zaman (Dak)	0	1	2	3	4	5	10	20	30
pO ₂	97±3	46±7	22±3	11±1	8±0.6	6±0.6	5±0.5	3±0.5	3±0.5

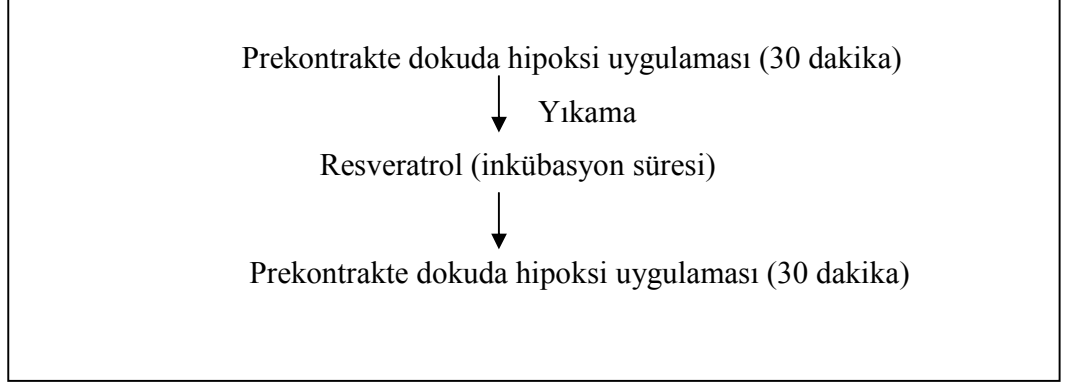
Dokular dengelendikten sonra izlenen deney protokolü Tablo-6'da verilmiştir. Bu protokole göre prekontraktil agonist olarak seçtiğimiz 5-HT ve U46619 ile ardarda benzer kasılma yanıtları alınmış ve daha sonra protokolün uygulamasına geçilmiştir. Hipoksi uygulama süresi 30 dakikadır. Deney protokolümüze göre izole pulmoner arterler 10⁻⁶M 5-HT ile venler ise 10⁻⁶M U46619 ile prekontrakte edilmiştir. Daha sonra prekontrakte dokularda hipoksinin etkisini incelemek amacıyla 30 dakikalık hipoksi uygulaması yapılmıştır. Bu işlemlerden sonra normoksik koşullara geri dönmüş ve yıkama işlemi yapılmıştır. 20 µM resveratrolle yapılan 30 dakikalık inkübasyondan sonra dokular yeniden serotoninle prekontrakte edilmiş ve sonrasında 30 dakika hipoksi uygulaması yinelenmiştir.

3.6. Bulguların Değerlendirilmesi

Deneylerimizde gevşeme yanıtları, prekontraktil madde olarak kullanılan 5-HT ya da U46619 ile alınan kasılma yanıtındaki azalmanın yüzdesi olarak ifade edilmiştir. Kümülatif doz yanıt eğrilerinin her biri için IC₅₀ değerleri hesaplanmıştır.

Sonuçlar, ortalama ± standart hata olarak hesaplanmıştır. Gruplar arası anlamlılığın değerlendirilmesi için tek yönlü varyans analizi (ANOVA) yapılmıştır. Daha sonra post-test olarak Tukey testi kullanılmıştır. P<0.05 anlamlı kabul edilmiştir.

Tablo 3.4. Deney protokolü



4.BULGULAR

4.1. Pulmoner Arterlerde Yapılan Çalışmalar

4.1.1. Prekontrakte izole pulmoner arterlerde resveratrolün damar tonüsü üzerine etkisi.

5-HT (10^{-6} M) ile prekontrakte edilen izole pulmoner arterlerde resveratrol doz bağımlı bir gevşeme yanıtına neden olmuştur (% 92.3 ± 5.37 , $IC_{50} = 33.6 \pm 3.7 \mu M$, $n=6$). Sonuçlar tablo 4.1. ve şekil 4.1.'de verilmiştir.

4.1.2. Prekontrakte izole pulmoner arterlerde indometazin varlığında resveratrolün damar tonüsü üzerine etkisi.

5-HT (10^{-6} M) ile prekontrakte edilen izole pulmoner arterlerde resveratrolün oluşturduğu doz bağımlı gevşeme yanıtı 10^{-5} M indometazinle önceden inkübe edilmiş dokularda anlamlı bir değişikliğe neden olmamıştır. İndometazin varlığında resveratrolün oluşturduğu maksimum gevşeme yanıtı % 87.2 ± 4.21 olarak belirlenmiş, IC_{50} değeri ise $29.74 \pm 3.1 \mu M$, olarak hesaplanmıştır ($n=6$). (Şekil 4.1., Tablo 4.1.).

4.1.3. Prekontrakte izole pulmoner arterlerde l-name varlığında resveratrolün damar tonüsü üzerine etkisi.

L-NAME (10^{-4} M) varlığında 5-HT (10^{-6} M) ile prekontrakte edilen izole pulmoner arterlerde resveratrolün oluşturduğu doz bağımlı gevşeme yanıtında anlamlı bir değişiklik belirlenememiştir. L-NAME varlığında resveratrolün oluşturduğu maksimum gevşeme yanıtı % 97.55 ± 4.5 olarak belirlenmiş, IC_{50} değeri ise $26.43 \pm 2.6 \mu M$ olarak hesaplanmıştır ($n=6$). (Şekil 4.1., Tablo 4.1.).

4.1.4 Prekontrakte izole pulmoner arterlerde resveratrolün asetilkolin yanıtları üzerine etkisi.

5-HT (10^{-6} M) ile prekontrakte edilmiş pulmoner arterlerde asetilkolin (10^{-9} M- 10^{-3} M) uygulaması doz bağımlı bir gevşeme yanıtı oluşmasına neden olmuştur ($\%30.8 \pm 4.6$, $n=6$). 20 μ M resveratrol ile inkübe edilen dokularda ise bu yanıtta istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik izlenmemiştir ($\%19.9 \pm 9.5$, $n=6$) (Şekil 4.2.).

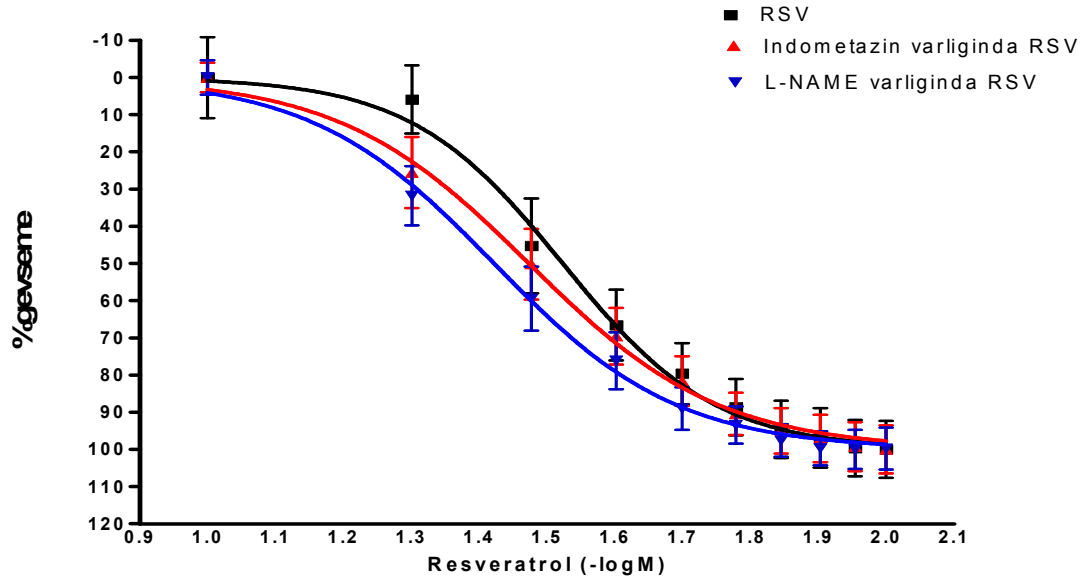
4.1.5 Prekontrakte izole pulmoner arterlerde resveratrolün HPV üzerine etkisi.

10^{-6} M 5-HT ile prekontrakte edilmiş izole pulmoner arterlerde oluşan kontraksiyon (2.17 ± 0.5 mN/mm², $n=6$) 20 μ M resveratrol ile inkübasyon sonrası azalmıştır. Ancak bu azalma (1.70 ± 0.5 mN/mm², $n=6$) istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (Şekil 4.4.).

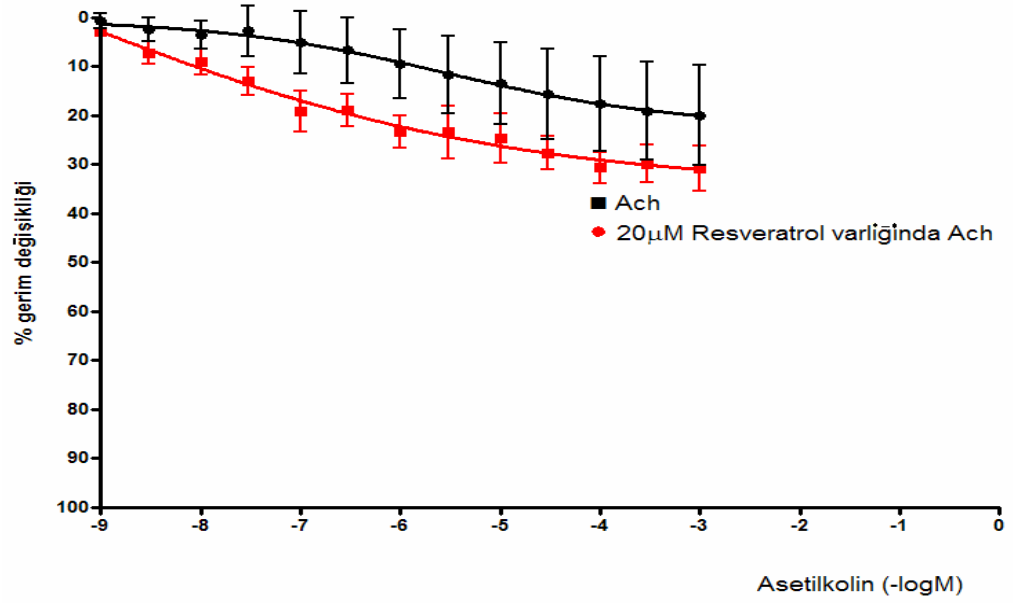
10^{-6} M 5-HT ile prekontrakte edilen geniş çaplı izole kuzu pulmoner arterlerinde 30 dakika süre ile hipoksi uygulaması anlamlı bir kontraksiyona neden olmuştur (0.52 ± 0.12 mN/mm², $n=6$) (Şekil-12). Prekontrakte izole kuzu pulmoner arterlerinde oluşan bu kontraksiyonun 20 μ M resveratrol varlığında sürdüğü belirlenmiştir (0.6 ± 0.17 mN/mm², (Şekil 4.4.).

Tablo 4.1. Pulmoner arterlerde resveratrole bağlı yanıtın L-NAME ve indometazin varlığında değişen IC₅₀ değerleri

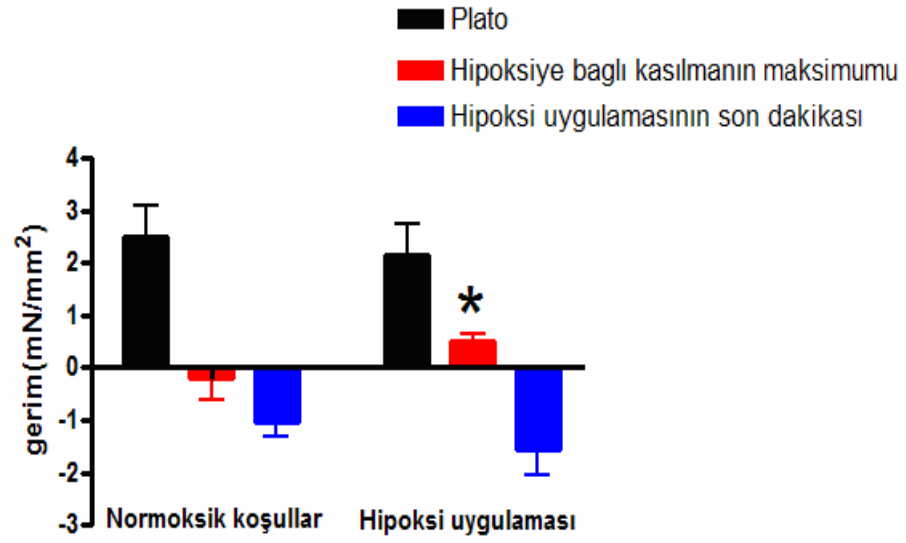
	IC ₅₀ (μ M)
Resveratrol	33.6 ± 3.7
L-NAME (10^{-4} M) + Resveratrol	29.74 ± 3.1
İndometazin (10^{-5} M) + Resveratrol	26.43 ± 2.6



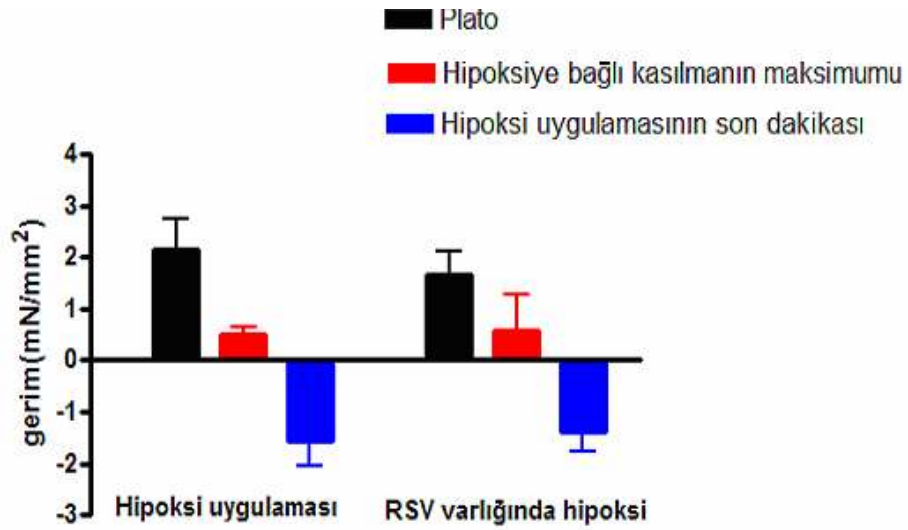
Şekil 4.1. Prekontrakte pulmoner arterlerde resveratrole ($20\mu\text{M}$) bağlı gevşeme üzerinde indometazin (10^{-5}M) ve L-NAME (10^{-6}M)'nin etkisi ($n=6$).



Şekil 4.2. Prekontrakte pulmoner arterlerde asetilkoline bağlı yanıt üzerine resveratrolün ($20\mu\text{M}$) etkisi ($n=6$).



Şekil 4.3. Prekontrakte pulmoner arterlerde hipoksi uygulamasına bağlı gerim değişikliği (n=6) * $P < 0.05$ normoksi uygulamasına göre anlamlılığı ifade etmektedir.



Şekil 4.4. Prekontrakte pulmoner arterlerde resveratrol varlığında hipoksi uygulamasına bağlı gerim değişikliği (n=6)

4.2. Pulmoner Venlerde Yapılan Çalışmalar

4.2.1. Prekontrakte izole pulmoner venlerde resveratrolün damar tonüsü üzerine etkisi.

U46619 (10^{-6} M) ile prekontrakte edilen izole pulmoner venlerde resveratrol doz bağımlı bir gevşeme yanıtına neden olmuştur (%92.3±5.3, IC_{50} =33.0±1.6 μ M, n=6). Sonuçlar Tablo 4.2. ve şekil 4.5.'de verilmiştir.

4.2.2. Prekontrakte izole pulmoner venlerde indometazin varlığında resveratrolün damar tonüsü üzerine etkisi.

U46619 (10^{-6} M) ile prekontrakte edilen izole pulmoner venlerde resveratrolün oluşturduğu doz bağımlı gevşeme yanıtı 10^{-5} M indometazinle önceden inkübe edilmiş dokularda anlamlı bir değişikliğe neden olmamıştır. İndometazin varlığında resveratrolün oluşturduğu maksimum gevşeme yanıtı %87.2±4.2 olarak belirlenmiş, IC_{50} değeri ise 30.1±2.8 μ M, olarak hesaplanmıştır (n=6). (Şekil 4.5., Tablo 4.2.).

4.2.3. Prekontrakte izole pulmoner venlerde L-NAME varlığında resveratrolün damar tonüsü üzerine etkisi.

L-NAME (10^{-4} M) varlığında U46619 (10^{-6} M) ile prekontrakte edilen izole pulmoner venlerde resveratrolün oluşturduğu doz bağımlı gevşeme yanıtında bir artma görülmekle birlikte, anlamlı bir değişiklik belirlenememiştir. L-NAME varlığında resveratrolün oluşturduğu maksimum gevşeme yanıtı %97.6±4.6 olarak belirlenmiş, IC_{50} değeri ise 27.3±1.9 μ M olarak hesaplanmıştır (n=6). (Şekil 4.5, Tablo 4.2.).

4.2.4. Prekontrakte izole pulmoner venlerde resveratrolün asetilkolin yanıtları üzerine etkisi.

U46619 (10^{-6} M) ile prekontrakte edilmiş pulmoner venlerde asetilkolin (10^{-9} M- 10^{-3} M) uygulaması doz bağımlı zayıf bir kasılma yanıtı oluşmasına neden olmuştur. Kasılmanın maksimumu $\%13.2 \pm 5.5$ (n=6) olarak belirlenmiştir. 20 μ M resveratrol ile inkübe edilen dokularda ise bu kasılma yanıtı tamamen gevşeme biçimine dönüşmüştür. Gevşeme yanıtı $\%81.9 \pm 10.5$ (n=6) olarak gerçekleşmiştir (Şekil 4.6.).

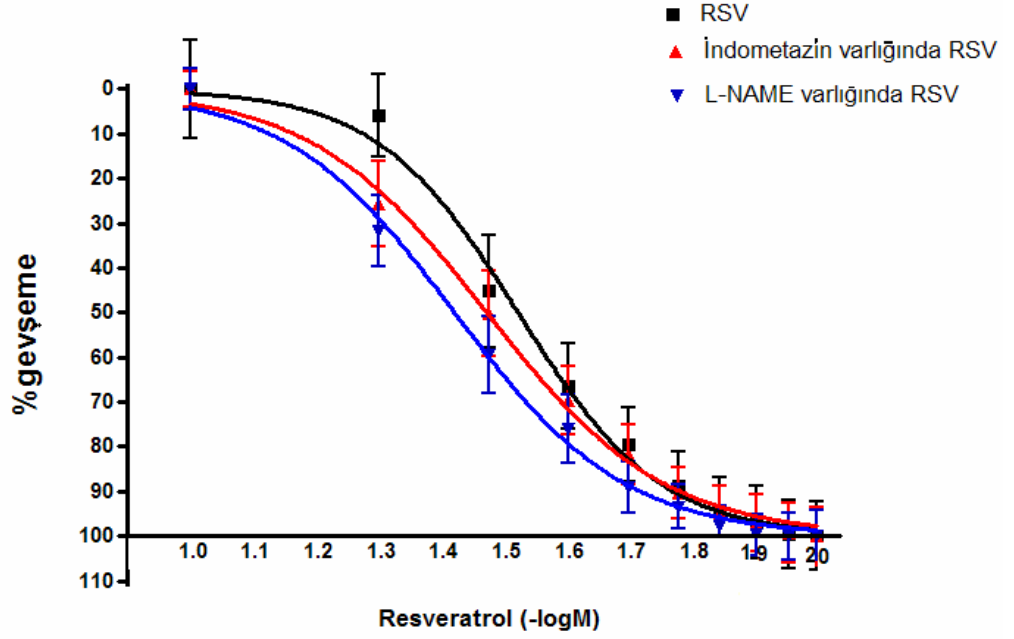
4.2.5. Prekontrakte izole pulmoner venlerde resveratrolün HPV üzerine etkisi.

10^{-6} M U46619 ile prekontrakte edilmiş izole pulmoner venlerde oluşan kontraksiyon 4.45 ± 0.9 mN/mm², (n=6) 20 μ M resveratrol ile inkübasyon sonrası istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde (0.87 ± 0.7 mN/mm², n=6) azalmıştır (Şekil 4.8.).

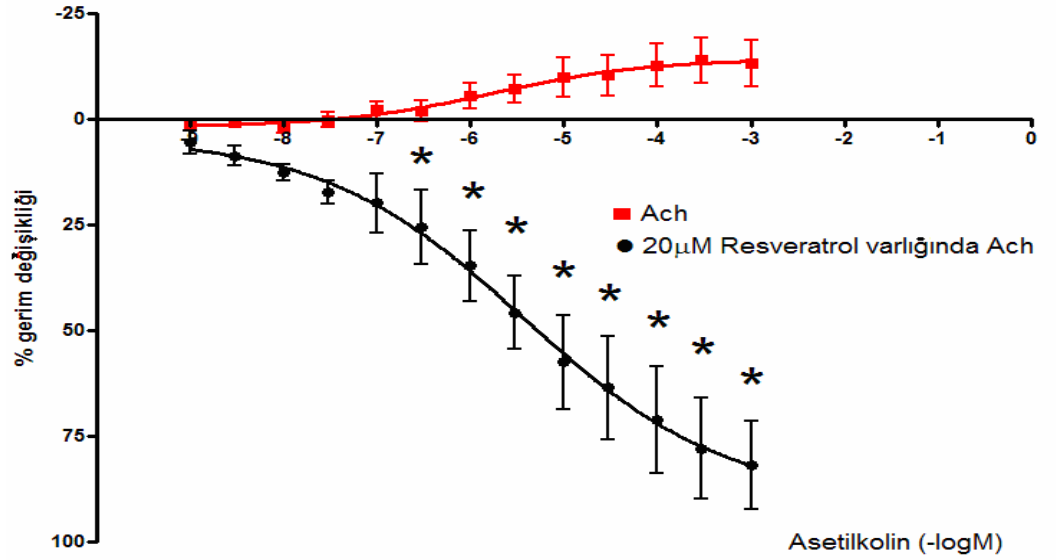
10^{-6} M U46619 ile prekontrakte edilen geniş çaplı izole pulmoner venlerinde 30 dakika süre ile hipoksi uygulaması anlamlı bir kontraksiyona neden olmuştur. (3.4 ± 1.3 mN/mm², n=6) (Şekil 4.7.). Prekontrakte izole pulmoner venlerinde oluşan bu kontraksiyon 20 μ M resveratrol varlığında anlamlı bir şekilde azalmıştır (0.6 ± 0.1 mN/mm², n=6) (Şekil 4.8.).

Tablo 4.2. Pulmoner venlerde resveratrole bağlı yanıtın L-NAME ve indometazin varlığında değişen IC₅₀ değerleri.

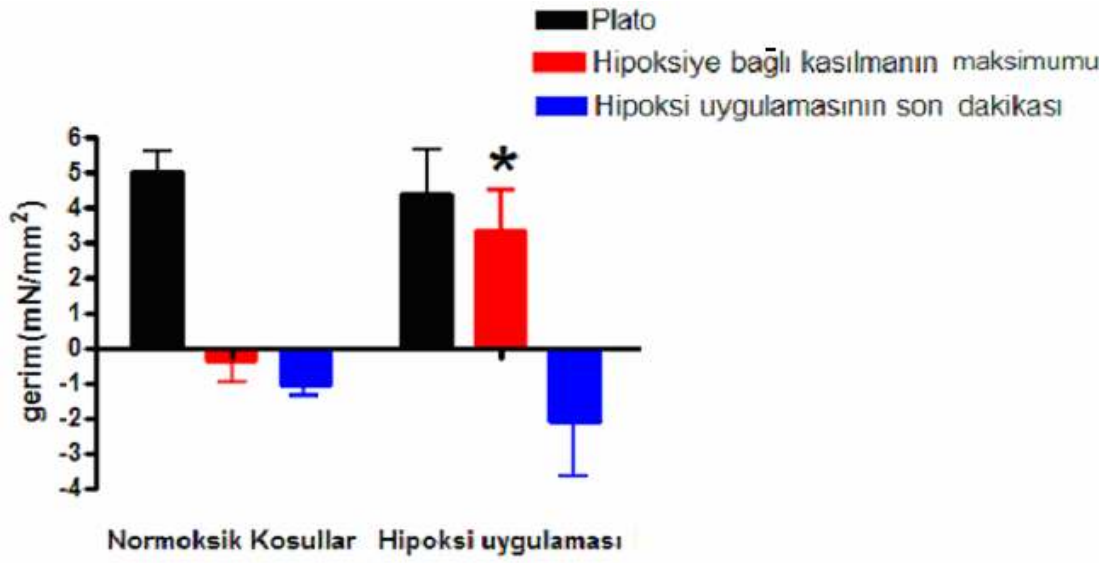
	IC ₅₀ (μ M)
Resveratrol	33.0 ± 1.6
L-NAME (10^{-4} M)+ Resveratrol	30.1 ± 2.8
İndometazin (10^{-5} M)+ Resveratrol	27.3 ± 1.9



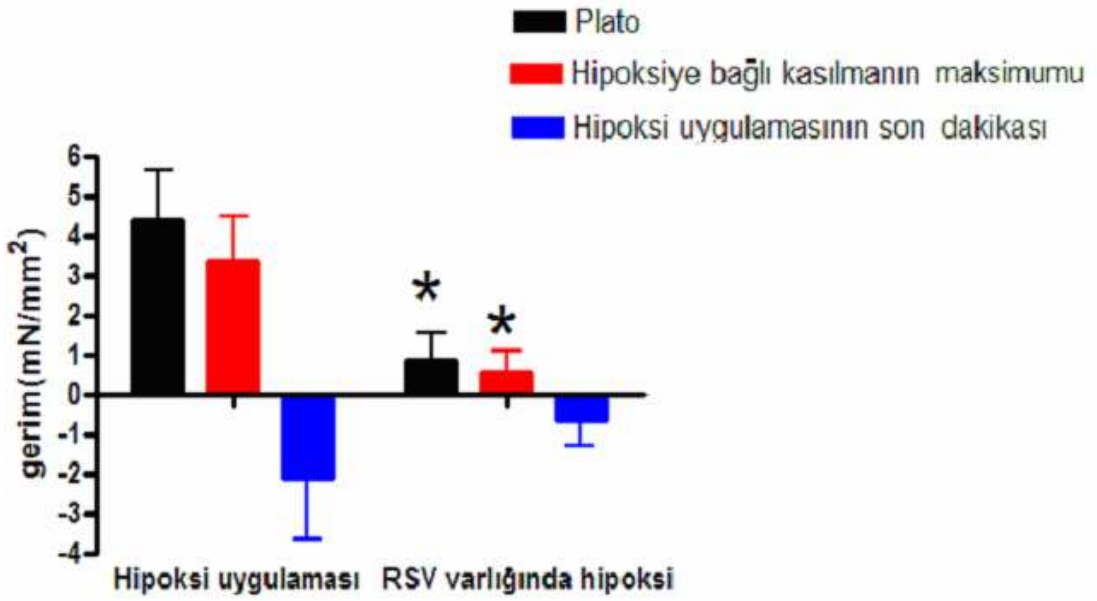
Şekil 4.5. Prekontrakte pulmoner venlerde resveratrolün (20 μ M) oluşturduğu doz bağımlı gevşeme üzerinde indometazin (10⁻⁵M) ve L-NAME (10⁻⁶M)’nin etkisi (n=6).



Şekil 4.6. Prekontrakte pulmoner venlerde asetilkoline bağılı yanıt üzerine resveratrolün (20 μ M) etkisi (n=6).



Şekil 4.7. Prekontrakte pulmoner venlerde hipoksi uygulamasına bağlı gerim değişikliği (n=6)



Şekil 4.8. Prekontrakte pulmoner venlerde resveratrol varlığında hipoksi uygulamasına bağlı gerim değişikliği (n=6)

5. TARTIŞMA

5.1. Prekontrakte İzole Pulmoner Arterlerde Resveratrolün Damar Tonüsü Üzerine Etkisi

Son yıllarda yapılan epidemiyolojik araştırmalar, fitoöstrojen içeriği yüksek diyetlerin kalp-damar hastalıklarının insidansında azalma sağladığını ortaya çıkarmıştır (Figtree ve ark., 2000, Clarkson ve Anthony, 1998). Bu açıdan doğal bir fenolik madde olan resveratrol de üzerinde pek çok çalışmanın yapıldığı bir fitoöstrojen olarak dikkat çekmektedir. Araştırmalar resveratrolün antioksidan, antitrombotik, antienflamatuar ve vazodilatör özelliklerinin olduğunu göstermektedir.(El-Mowafy, 2002; Naderali ve ark., 2000; Chan ve Pace-Asciak, 1996; Li ve ark., 2006). Literatürde resveratrolün vazodilatör etkinliğinin mekanizması üzerine izole damarlarda yapılan araştırmalar sınırlı sayıdadır (Chaikhouini ve ark., 1986; Jager ve Nguyen-Duong, 1999; Naderali ve ark., 2000; Novakovic ve ark., 2006; Novakovic ve ark., 2006a; Novakovic ve ark., 2006b; Li ve ark., 2006). Pulmoner arter ve venlerde ise resveratrolün vazodilatör etkinliğinin değerlendirildiği bir araştırma yapılmamıştır.

Deneylerimizin sonuçları diğer izole damar preparatlarında yapılan çalışmaların bulgularıyla uyumlu olarak resveratrolün koyun izole pulmoner arter ve venlerinde de güçlü bir vazodilatör etkinliğe sahip olduğunu göstermektedir (Chan ve Pace-Asciak, 1996; Naderali ve ark., 2000; El-Mowafy, 2002; Li ve ark., 2006). Resveratrolün vazodilatör etkinliğinde NO'nun rolüne dikkat çeken araştırmaların tersine, deneylerimizde koyun pulmoner arterler ve venlerinde NOS inhibitörü L-NAME ile gevşeme yanıtında anlamlı bir değişiklik saptanamamıştır (Şekil 4.1., Şekil 4.5.)(Delmas ve ark., 2005; Rakıcı ve ark., 2005; Li ve ark., 2006). Çalışmamızda, endotelden salıverilen ve pulmoner dolaşım açısından önemli vazoaktif maddeler olan prostaglandinlerin resveratrole bağlı gevşeme yanıtı üzerine etkinliğini değerlendirmek amacıyla indometazin kullanılmıştır. Bu grup deneylerimizin bulguları izole pulmoner

arter ve ven preparatlarında resveratrole bağılı gevşeme yanıtının COX enziminden bağımsız olduğunu göstermektedir (Şekil 4.1., Şekil 4.5.). Bu sonuç insan internal meme arteri, kobay mezenterik ve uterin arterinde yapılan araştırmaların bulgularına benzemektedir (Naderali ve ark., 2000; Rakıcı ve ark., 2005).

Araştırmamızda izole pulmoner arter ve ven preparatlarında resveratrole bağılı olarak oluşan vazodilatasyonda, endotelden salıverilen NO ve COX ürünlerinin rolü üzerinde durulmuştur. Oysa endotelyumu kazınmış damarlarda da resveratrolün vazodilatasyon oluşturduğu gösterilmiştir (Naderali ve ark., 2001). Bu resveratrolün doğrudan düz kas üzerine olan etkisini göstermektedir. Bu bulguya paralel olarak koyun izole pulmoner damarlarında da resveratrolün etkinliğinde endotelden bağımsız mekanizmaların rol oynayabileceği düşünülebilir. Bu açıdan resveratrole bağılı etkinlikte düz kasta pGC etkinliği, K^+ ve Ca^{+2} kanallarının rollerinin değerlendirilmesi yararlı olacaktır. Diğer taraftan resveratrolün bir fitoöstrojen olduğu düşünülerek vazodilatör etkisinde östrojen reseptörlerinin etkisi de araştırılmalıdır.

Çalışmamızda prekontrakte edilen izole koyun pulmoner arterlerde endotel bağımlı dilatatör etki oluşturduğu bilinen Ach'ne bağılı yanıtlar üzerine resveratrolün etkinliği de değerlendirilmiştir. Sonuçlarımız resveratrol varlığına bağılı olarak Ach ile elde edilen gevşeme yanıtında anlamlı bir değişikliğin gerçekleşmediği şeklindedir. Bu grup deneylerimizde prekontraksiyon amacıyla kullandığımız 5-HT'ye bağılı yanıtlarda da anlamlı bir değişiklik belirlenememiştir. Oysa 30 μ M resveratrolle inkübe edilen domuz koroner arterlerinde KCl ve 5-HT aracılıklı vazokonstriksiyonun anlamlı biçimde inhibe edilebildiği gösterilmiştir (Li ve ark., 2006). Elde ettiğimiz bu sonucun nedeni deneyde kullanılan preparatların farklı türlere ait olması ve kullanılan dozda (20 μ M) resveratrole duyarlılığın değişkenliği olabilir.

İzole koyun pulmoner venlerinde prekontraksiyon amacıyla bir TXA_2 analogu olan U46619 kullanılmıştır. TXA_2 , pulmoner dolaşım için hem fizyolojik hem de patolojik koşullarda önemli olan vazokonstriktör etkili bir araşidonik asit ürünüdür (Cogolludo ve ark., 2003). U46619'a bağılı olarak pulmoner venlerde Ca^{+2} influsu ve Ca^{+2} salıverilmesinde artış gerçekleştiği bilinmektedir. Bunun sonucu myofilamentlerin

duyarlılığında oluşan artış vazokonstriksiyonla sonuçlanmaktadır. U46619 ile oluşan kontraksiyonda protein kinaz C, tirozin kinaz ve Rho kinaz sinyal yollarının da önemi olduğu gösterilmiştir (Janssen ve ark., 2001; Ding ve Murray, 2005). Deneylerimizde U46619 ile oluşan prekontraksiyonun resveratrol varlığında azaldığı saptanmıştır. U46619'a bağlı kontraksiyonda tirozin kinaz enziminin de rolü olduğu düşünüldüğünde böyle bir sonuç şaşırtıcı olmayacaktır. Nitekim resveratrol gibi bir fitoöstrojen olan genisteinin de U46619 aracılıklı vazokonstriksiyonu inhibe edebildiği daha önce gösterilmiştir (Uzun ve Demiryürek, 2003).

U46619 ile prekontrakte koyun pulmoner venlerinde Ach zayıf bir kasılmaya neden olmuştur. Bu yanıt resveratrol varlığında tamamen ortadan kalkmış ve gevşeme yanıtına dönüşmüştür. Ach genellikle bilinenin aksine koyun pulmoner venlerinde NO aracılıklı gevşeme oluşturmamaktadır. Ach ile pulmoner venlerde endotel aracılıklı vazodilatör etkinin gösterilememiş olması ilginç bir bulgu değildir. Çünkü venöz pulmoner damar yatağının NO sentez ve salıverme kapasitesinin düşük olduğu bilinmektedir (Seidel ve Larochelle, 1987). Benzer bir sonuç başka bir araştırmada da alınmıştır (Kemp ve ark., 1997). Bu durum aynı zamanda pulmoner damar yatağının vazoaktif maddelere verdiği yanıtın bölgesel özellikler gösterdiğini de ortaya koymaktadır.

5.2. Prekontrakte Pulmoner Arter ve Ven Preparatlarında Resveratrolün HPV Üzerine Etkisi

Çalışmamızda izole pulmoner arter ve ven preparatlarında hipoksiye bağlı kontraksiyon ve bu yanıt üzerine resveratrolün etkinliği değerlendirilmiştir. HPV'nin mekanizması üzerine yapılan araştırmalar genellikle pulmoner arterlerde yapılmıştır. Bu araştırmalar HPV'nin asıl bölgesinin dar çaplı pulmoner arterler olduğunu belirtmektedir. Bununla birlikte geniş çaplı pulmoner arterlerin ve pulmoner venlerin de hipoksiye yanıtının kasılma olduğunu gösteren araştırmalar vardır (Uzun, 1998; Uzun ve Demiryürek 2003). Pulmoner venlerde akut hipoksiye bağlı olarak oluşan kontraksiyonda bu bölgede varlığı gösterilen kardiyomiyositlerin de rolü olabilir

(Michelakis ve ark, 2001). Daha önceki bulgulara benzer şekilde bu çalışmada da prekontraksiyon sonrası hem pulmoner arter hem de pulmoner venlerde vazokonstriksiyon olduğu belirlenmiştir.

Deneylerimizde koyun izole pulmoner arterlerinde hipoksiye bağlı oluşan kontraksiyonda resveratrol varlığında anlamlı bir değişiklik belirlenememiştir. Koyun pulmoner arterlerinde HPV'da endotel aracılıklı mekanizmaların özellikle de NO'nun önemli olduğu bilinmektedir (Cornfield ve ark., 1994). Oysa normoksik koşullarda yaptığımız deneylerin sonucun pulmoner arterlerde resveratrolün vazodilatör etkinliğinde NO'nun rolünün olmadığını göstermektedir. Bununla birlikte pulmoner arterlerde HPV yanıtında tirozin kinaz aracılıklı mekanizmaların rolü olduğu düşünüldüğünde bir fitoöstrojen olan resveratrolün HPV'yi kısmen de olsa inhibe etmesi beklenebilirdi. Bu açıdan bakıldığında resveratrolün kullandığımız dozunda hipoksiye bağlı kontraktilite artışı etkilemediği de söylenebilir.

Araştırmamızın pulmoner venlerde yapılan deneylerinde ise resveratrolün HPV'nu anlamlı bir şekilde inhibe ettiği anlaşılmıştır. Bu sonucu iki açıdan değerlendirmek olasıdır. Birincisi vazodilatör ve vazokonstriktör maddelere yanıt verirlilik açısından pulmoner damar yatağının bölgesel farklılıklar taşıdığı bilgisinden hareketle yapılacak yorumdur (Kemp ve ark., 1997). Bu durumda resveratrolün vazodilatör etkisine pulmoner venlerin arterlerden daha duyarlı olduğu sonucuna varılabilir. Diğer bir açıdan bakıldığında ise sentetik bir fitoöstrojen olan ve dietilstilbesterole yapısal olarak benzerliğini gösterilmiş (Gehm ve ark., 2004; Abou-Zeid ve El-Mowafy, 2004) olan resveratrolün tıpkı genistein gibi tirozin kinaz inhibisyonu yoluyla HPV inhibe ettiği görüşüdür (Uzun ve Demiryürek, 2003). Ancak bu varsayımın doğrulanabilmesi için en azından protein tirozin fosfataz aktivitesinin inhibisyonuna neden olan ve tirozin kinaz etkinliğini artıran bir madde ile (ortovanadat) kullanılarak yapılacak deneylerle gereksinim vardır. Çünkü düz kasın geriminde tirozin kinaz/tirozin fosfataz dengesi önemli bir rol oynadığı bilinmektedir (Somlyo ve Somlyo, 1994).

6.SONUÇ

Bu araştırma kapsamında flavanoit yapılı bir fitoöstrojen olan resveratrolün koyun izole pulmoner arter ve ven preparatlarındaki etkinliği değerlendirilmiş ve aşağıdaki sonuçlara ulaşılmıştır:

1. Resveratrol koyun izole pulmoner arter ve venlerinde vazodilatör etki göstermektedir.
2. Resveratrolün vazodilatör etkinliğinde NO'nin rolü olmadığı anlaşılmıştır.
3. Resveratrole bağlı gevşeme yanıtı siklooksijenaz enziminin inhibisyonundan etkilenmemektedir.
4. Pulmoner arterlerde 5-HT'ye bağlı kasılma yanıtı resveratrolde etkilenmemektedir.
5. Pulmoner venlerde tromboksan analogu olan U46619 ile oluşan kasılma yanıtı resveratrol tarafından inhibe edilmektedir.
6. Pulmoner arterlerde hipoksiye bağlı vazokonstriksiyon resveratrol varlığından etkilenmemektedir.
7. Pulmoner venlerde hipoksiye bağlı gelişen kontraksiyon resveratrol tarafından inhibe edilmektedir.

Elde edilen bu sonuçlar resveratrolün pulmoner damarlardaki etkinliğinin NO ve prostaglandinlerden bağımsız olduğunu göstermektedir. Bu açıdan, daha sonra yapılacak araştırmalarda pulmoner damarlarda resveratrolün etki mekanizmasının aydınlatılabilmesi için özellikle K^+ ve Ca^{+2} kanallarının etkinliğinin araştırılması önemli görülmektedir. Ayrıca resveratrole bağlı etkinlikte östrojen reseptörlerinin, tirozin kinaz/tirozin fosfataz dengesi ve Rho kinazın rolünün değerlendirilmesi yararlı olacaktır.

7. KAYNAKLAR

1. **Frankel EN, Kanner J, German JB, Parks E, Kinsella JE.** Inhibition of oxidation of human low-density lipoprotein by phenolic substances in red wine. *Lancet* , **1993**;341:454-457.
2. **Demrow HS, Slane PR, Folts JD.** Administration of wine and grape juice inhibits in vivo platelet activity and thrombosis in stenosed canine coronary arteries. *Circulation*, **1995**;91:1182-1188.
3. **Perez DD, Strobel P, Foncea R, Diez MS, Vasquez L, Urquiaga I, Castillo O, Cuevas A., San Martin A, Leighton F.** Wine, diet, antioxidant defenses, and oxidative damage. *Ann N Y Acad Sci*, **2002**;957:136-145.
4. **Flesch M, Schwarz A, Bohm M.** Effects of red and white wine on endothelium-dependent vasorelaxation of rat aorta and human coronary arteries. *Am. J. Physiol*, **1998**; 275:1183-1190.
5. **Diebolt M, Bucher B, Andriantsitohaina R.** Wine polyphenols decrease blood pressure, improve NO vasodilatation, and induce gene expression. *Hypertension*, **2001**;38:159-165.
6. **Orsini F, Verotta L, Lecchi M, Restano R, Curia G, Redaelli E, Wanke E.** Resveratrol derivatives and their role as potassium channels modulators. *J Nat Prod*, **2004**;67:421-426.
7. **Reeves JT, Rubin LJ.** The pulmonary circulation: snapshots of progress. *Am J Respir Crit Care Med*, **1998**;157:101-108.
8. **Barnes PJ, Liu F.** Regulations of pulmonary vascular tone. *Pharm. Rev*, **1995**;47:87-131.
9. **Catravas JD, Buccafusco JJ, Kashef H.** Effects of acetylcholine in the pulmonary circulation. *J. Pharmacol. Exp. Ther*, **1984**;231:236-241.
10. **Uzun Ö.** İzole pulmoner arter ve ven preparatlarında hipoksik pulmoner vazokonstriksiyonun mekanizmasının araştırılması. **Doktora tezi** Ankara : Gazi Üniversitesi , **1998**.
11. **Bakhle YS, Ferreira SH.** Lung metabolism of eicosanoids: prostaglandins, prostacyclin, thromboxane, and leukotrienes. *Am. Physiol. Soc*, **1985**;1:365-386.

12. [Reeves JT, Rubin LJ](#). The pulmonary circulation: snapshots of progress. *Am. J. Respir Crit. Care Med*, **1998**;157:101-108.
13. **Furchgott RF, Zawadzki JV**. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature.*,**1980**;288:373-376.
14. **Ignarro LJ, Byrns RE, Buga GM, Wood KS**. Endothelium-derived relaxing factor from pulmonary artery and vein possesses pharmacologic and chemical properties identical to those of nitric oxide radical. *Circ Res*, **1987** Dec;61(6):866-879.
15. **Clini E, Ambrosino N**. Nitric oxide and pulmonary circulation. *Med Sci Monit*, **2002** Aug;8(8):178-182.
16. **Büyükaşar K, Demirel-Yılmaz E, Göçmen C, Dikmen A**. Depletion and restoration of the putative photosensitive materials store yielding nitric oxide in the isolated mouse gastric fundus. [J Pharmacol Exp Ther](#). **1999** Aug;290(2):768-773.
17. **Le Cras TD, McMurtr IF**. Nitric oxide production in the hypoxic lung. *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol*, **2001**;280:575-582.
18. **Ignarro LJ, Wood KS, Harbison RG, Kadowitz PJ**. Atriopeptin II relaxes and elevates cGMP in bovine pulmonary artery but not vein. *J Appl Physiol*, **1986**;60:1128-1133.
19. **Waldman SA, Murad F**. Cyclic GMP synthesis and function. *Pharmacol Rev*, **1987**;39: 163-196.
20. **Arrigoni FI, Hislop AA, Haworth SG, Mitchell JA**. Newborn intrapulmonary veins are more reactive than arteries in normal and hypertensive piglets. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, **1999**;277:887-892.
21. **Back M, Walch L, Norel X, Gascard JP, Mazmanian G, Brink C**. Modulation of vascular tone and reactivity by nitric oxide in porcine pulmonary arteries and veins. *Acta Physiol Scand*, **2002**;174:9-15.
22. **Feletou M, Girard V, and Canet E**. Different involvement of nitric oxide in endothelium-dependent relaxation of porcine pulmonary artery and vein: influence of hypoxia. *J Cardiovasc Pharmacol*, **1995**;25:665-673.
23. **Edwards JC, Ignarro LJ, Hyman AL, Kadowitz PJ**. Relaxation of intrapulmonary artery and vein by nitrogen oxide-containing vasodilators and cyclic GMP. *J Pharmacol Exp Ther*, **1984**;228:33-42.

24. **Zellers TM, McCormick J, and Wu Y.** Interaction among ET-1, endothelium-derived nitric oxide, prostacyclin in pulmonary arteries and veins. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, **1994**;267:139-147.
25. **Fagan KA, Fouty BW, Tyler RC, Morris KG Jr, Hepler LK, Sato K, LeCras TD, Abman SH, Weinberger HD, Huang PL, McMurtry IF, Rodman DM.** The pulmonary circulation of homozygous or heterozygous eNOS-null mice is hyperresponsive to mild hypoxia. *J. Clin. Invest*, **1999**;103:291-299.
26. **Liu X, Bee D, Emery CJ, Barer GR.** Possible interaction between NO synthase and cyclooxygenase in sustaining pulmonary vasodilation: isolated perfused rat and ferret lungs. *J.Physiol*, **1996**;4:92-94.
27. **Gümüşel B.** Nitrik oksit ve solunum sistemi.Türk Farmakoloji derneği Farmakoloji eğitim sempozyumları programı.Mersin 27 mayıs **2005**. Erişim:www.tfd.org.tr/mersin_bulent.pdf.
28. **Jones RL, Qian Y, Wong HN, Chan H, Yim AP.** Prostanoid action on the human pulmonary vascular system. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, **1997**;24:969-972.
29. **Cassin S.** Role of prostaglandins and thromboxanes in the control of the pulmonary circulation in the fetus and the newborn. *Semin. Perinatol. NY*, **1980**;4:101-107.
30. **Gao Y, Zhou H, Ibe BO, Raj JU.** Prostaglandins E₂ and I₂ cause greater relaxations in pulmonary veins than in arteries of newborn lambs. [*J Appl Physiol*](#), **1996** Dec;81(6):2534-2539
31. **Coleman RA, Smith WL, Narumiya S.** VIII. International Union of Pharmacology classification of prostanoid receptor: properties, distribution, and structure of the receptors and their subtypes. *Pharmacol. Rev*, **1994**;46:205-229.
32. **Gao Y, Vanhoutte PM.** Effects of hydrogen peroxide on the responsiveness of isolated canine bronchi: role of prostaglandin E₂ and I₂. *Am. J. Physiol*, **1992**;263:402-408.
33. **Shaul PW, Campbell WB, Farrar MA, Magness RR.** Oxygen modulates prostacyclin synthesis in ovine fetal pulmonary arteries by an effect on cyclooxygenase. *J. Clin. Invest*, **1992**;90:2147-2155.
34. **Moncada S, Vane JR.** Pharmacology and endogenous roles of prostaglandin endoperoxides, thromboxane A₂, and prostacyclin. *Pharmacol. Rev*, **1978**;30:293-331.
35. **Todaka T, Yokoyama C, Yanamoto H, Hashimoto N, Nagata I, Tsukahara T, Hara S, Hatae T, Morishita R, Aoki M, Ogihara T, Kaneda Y, Tanabe T.** Gene transfer of human prostacyclin synthase prevents neointimal formation after carotid balloon injury in rats. *Stroke*, **1999**;30: 419-426.

36. **Christman BW, McPherson CD, Newman JH, [Newman JH](#), [King GA](#), [Bernard GR](#), [Groves BM](#), Loyd JE.** An imbalance between the excretion of thromboxane and prostacyclin metabolites in pulmonary hypertension. *N. Engl. J. Med*, **1992**;327:70-75.
37. **Tuder RM, Cool CD, Geraci MW, [Wang J](#), [Abman SH](#), [Wright L](#), Badesch D, Voekel NF.** Prostacyclin synthase expression is decreased in lungs from patients with severe pulmonary hypertension. *Am. J. Respir. Crit. Care Med*, **1999**;159:1925-1932.
38. **Friedman R, Mears JG, Barst RJ.** Continuous infusion of prostacyclin normalizes plasma markers of endothelial cell injury and platelet aggregation in primary pulmonary hypertension. *Circulation*, **1997**;96:2782-2784.
39. **Langleben D, Barst RJ, Badesch D, Groves BM, Tapson VF, Murali S, Bourge RC, Ettinger N, Shalit E, Clayton LM, Jobsis MM, Blackburn SD, Crow JW, Stewart DJ, Long W.** Continuous infusion of epoprostenol improves the net balance between pulmonary endothelin-1 clearance and release in primary pulmonary hypertension. *Circulation*, **1999**;99:3266-3271.
40. **Clapp L.**(l.clapp@ucl.ac.uk) Prostacyclin receptor signalling and vascular remodelling. **Erişim:**(<http://www.ucl.ac.uk/medicine/clinical-pharmacology/research/clapp/research.html>) **2007.** Erişim tarih: 10.04.2007
41. **Von Euler US, Liljestrand G.** Observation on the pulmonary arterial blood pressure in the cat. *Acta. Physiol. Scan.*, **1946**;12:301-320.
42. **Cutaia MS, Rounds S.** Hypoxic pulmonary vasoconstriction: Physiological significance, mechanism and clinical relevance. *Chest*. **1990**;97:707-717.
43. **Gao Y, Raj JU.** Role of veins in regulation of pulmonary circulation. *[Am J Physiol Lung Cell Mol Physio](#)*. **2005**;288:213-226.
44. **Burton AC.** Physiology and Biophysics of the Circulation. Chicago, IL: *Year Book Medical Publishers*, **1972**; p: 86-94.
45. **Zhao Y, Packer S, Rhoades RA,** Pulmonary vein contracts in response to hypoxia, *Am.J.Physiol*, **1993**;265:87-92.
46. **Uzun Ö, Demiryörek AT.** The role of NO and prostaglandins in acute hypoxic pulmonary vasoconstriction in sheep pulmonary veins. *Pharmacology*, **2006**;77:122-129

47. **Nagasaka Y, Bhattacharya J, Nanjo S, Gropher MA, Staub NC.** Micropuncture measurements of lung microvascular pressure profile during hypoxia in cats. *Circ. Res.* **1984**;54: 90-95.
48. **Raj UJ, Cheen P.** Micropuncture measurements of microvascular pressures isolated lamb lung during hypoxia, *Circ. Res.* **1986**;59:398-404.
49. **Dumas JP, Bardou M, Goirand F, Dumas M.** Hypoxic pulmonary vasoconstriction. *Gen Pharmacol*, **1999**;3:289-297.
50. [Aaronson PI, Robertson TP, Ward JP.](#) Endothelium-derived mediators and hypoxic pulmonary vasoconstriction. *Respir Physiol Neurobiol*, **2002** ;132:107-120.
51. **Cornfield DN, Stevens T, McMurty IF, Abman SH, Rodman DM.** Acute hypoxia causes membrane depolarization and calcium influx in fetal pulmonary artery smooth muscle cells. *Am. J. Physiol*, **1994**;266:1416-1421.
52. **Demiryurek AT, Wadsworth RM, Kane KA, Peacock AJ.** The role of endothelium in hypoxic constriction of human pulmonary artery rings. *Am Rev Respir Dis*, **1993**; 147:283-290.
53. [Aaronson PI, Robertson TP, Knock GA, Becker S, Lewis TH, Snetkov V, Ward JP.](#) Hypoxic pulmonary vasoconstriction: mechanisms and controversies. *J Physiol*, **2006**;570:53-58.
54. **Strange JW, Wharton J, Phillips PG, Wilkins MR.** Recent insights into the pathogenesis and therapeutics of pulmonary hypertension. *Clinical Science*, **2002**;102:253-268.
55. **Morrell ED, Tsai BM, Crisostomo PR, Wang M, Markel TA, Lillemoe KD, Meldrum DR.** Therapeutic concepts for hypoxic pulmonary vasoconstriction involving ion regulation and the smooth muscle contractile apparatus. [J Mol Cell Cardiol](#). **2006** Jun;40(6):751-760.
56. **Sylvester JT, McGowan C.** The effect of agents that bind to cytochrome P-450 on hypoxic pulmonary vasoconstriction, *Circ Res*, **1978**; 43: 429-437.
57. **Demiryurek AT, Wadsworth RM, Kane KA.** Pharmacological evidence for the role of mediators in hypoxia induced vasoconstriction in sheep intrapulmonary artery rings. *Eur. J. Pharmacol*, **1991**; 203: 1-8.
58. **Ogata M, Ohe M, Katayose D, Takishima T.** Modulatory role of EDRF in hypoxic vasoconstriction of isolated porcine pulmonary arteries, *Am J Physiol*. **1992**;262:691-697.
59. **Kowitz LK, Aleskowitch TD, Sylvester JT, Flavahan NA.** Endothelium derived contracting factor and relaxing factors contribute to hypoxia response of pulmonary arteries. *Am J Physiol*, **1993**;265:1139-1148.

60. **Gaston B, Drazen JM, Loscalzo J, Stamler JS.** The biology of nitrogen oxides in the airways. *Am. J. Respir. Crit. Care. Med*, **1994**; 149: 538-551.
61. **Le Cras TD, McMurtry IF.** Nitric oxide production in the hypoxic lung. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, **2001** Apr;280(4):575-8
62. **Miller DS, Yaghi A, Hamilton JT.** Role of aracidonic acid metabolites in hypoxic contractions of isolated porcine pulmonary artery and vein, *Exp. Lung. Res*, **1989**;15:213-222.
63. **Demiryurek AT, Wadsworth RM, Kane KA.** Effects of hypoxia on isolated intrapulmonary arteries from the sheep. *Pulm Pharmacol*, **1991**;4:158-164
64. **Michiels C, Arnauld T, Knott I, Dieu M, Remacle J.** Stimulation of prostaglandin synthesis by human endothelium cells exposed to hypoxia. *Am. J. Physiol*, **1993**;264: 866-874.
65. **North AJ, Braaon TS, Wells LB, Campbell WB, Shaul WP.** Hypoxia stimulates prostacyclin in newborn lamb pulmonary artery endothelium by increasing cyclooxygenase-1 protein. *Circ. Res*, **1994**;75:33-40.
66. **Madden MC, Vender RL, Friedman M.** Effect of hypoxia on prostacyclin production in cultured pulmonary artery endothelium. *Prostaglandins*, **1986**;3:1049-1062.
67. Resveratrol: Ready for prime time? *Journal of Molecular and Cellular Cardiology* [editorial]. **2007**;42:484-486
68. **Fremont L.** Biological effects of resveratrol . *Life Sciences*, **2000**;66:663-673.
69. **Langcake P, Pryce RJ .** The production of resveratrol by vitis vinifera and other members of the vitaceae as a response to infection or injury. *Physiol. Plant Pathol*, **1976**;9:77-86.
70. **Stanley LL, Mazier MJP.** Potential explanations for the French Paradox. *Nutrition Research* **1998**;19:3-15.
71. **Renaud S, DeLorgeril M.** Wine, alcohol platelets, and the French paradox for coronary heart disease. *Lancet*, **1992**; 339:1523-1526.
72. **Lorgeril de M, Salen P, Martin JL, Mamelle N, Monjaud I, Touboul P, Delaye J.** Effect of a Mediterranean type of diet on the rate of cardiovascular complications in patients with coronary artery disease. *J. Am. Coll. Cardiol*, **1996**;28,1103–1108

73. **GJ Soleas, EP Diamandis, DM Goldberg.** Wine as a biological fluid: history, production, and role in disease prevention *J. Clin. Lab. Anal.*, **1997**;11:287-313.
74. **Siemann EH, Creasy LL.** Concentration of the phytoalexin resveratrol in wine. *Am J Enol Vitic*, **1992**;43:49-52.
75. **Çabuk B.** Kırmızı şaraplarda farklı proses uygulamalarının resveratrol düzeyi üzerine etkisi. *Yüksek lisans tezi*, Ankara Üniversitesi, Ankara, Kasım **2004**
76. **Delmas D, Jannin B, Latruffe N.** Resveratrol: Preventing properties against vascular alterations and ageing. *Mol. Nutr. Food Res*, **2005**;49:377-395
77. **Kurtuluş H, Eskiocak S, Tütüncüler F, Başaran ÜN, Gülen Ş.** Deneysel sistemik hipoksi geliştirilmiş yenidoğan ratlarda N-Asetilsistein uygulamasının etkileri. *Türk Biyokimya Dergisi*, **2003**;28:40-44
78. **Halliwell B, Chirio S.** Lipid peroxidation: its mechanism measurement and significance *Am J. Clin Nutr*, **1993**;57(5Suppl):715-724
79. **Aviram M.** Modified forms of low density lipoprotein affect platelet aggregation in vitro. *Thromb. Res*, **1989**;53:561-567.
80. **Schuff-Werner, P, Claus G, Armstrong VW, Kostering H, Seidel D.** Enhanced procoagulatory activity (PCA) of human monocytes/macrophages after in vitro stimulation with chemically modified LDL. *Atherosclerosis*, **1989**;78:109-112.
81. **Fremont L, Belguendouz L, Delpal S.** Antioxidant activity of resveratrol and alcohol-free wine polyphenols related to LDL oxidation and polyunsaturated fatty acids. *Life Sci*, **1999**;64:2511-2521
82. **Cao Z, Li Y.** Potent induction of cellular antioxidants and phase 2 enzymes by resveratrol in cardiomyocytes: protection against oxidative and electrophilic injury. *Eur. J. Pharmacol*, **2004**;489:39-48.
83. **Orallo F, Alvarez E, Camina M, Leiro JM, Gomez E, Fernandez P.** The possible implication of trans-resveratrol in the cardioprotective effects of long-term moderate wine consumption. *Mol. Pharmacol*, **2002**;61:294-302.
84. **Shigematsu S, Ishida S, Hara M, Takahashi N, [Yoshimatsu H](#), [Sakata T](#), [Korthuis RJ](#).** Resveratrol, a red wine constituent polyphenol, prevents superoxide-dependent inflammatory responses induced by ischemia/reperfusion, platelet-activating factor, or oxidants. *Free Radic. Biol. Me.*, **2003**;34:810-817.

85. **Jang M, Pezzuto JM.** Cancer chemopreventive activity of resveratrol. *Drugs Exp. Clin. Res*, **1999**;25:65-77.
86. **Cavallaro A, Ainis T, Bottari C, Fimiani V.** Effect of resveratrol on some activities of isolated and in whole blood human neutrophils. *Physiol. Res*, **2003**;52:555-562.
87. **Pace-Asciak CR, Rounova O, Hahn SE, Diamandis EP, Goldberg DM.** Wines and grape juices as modulators of platelet aggregation in healthy human subjects. *Clin. Chim. Acta*, **1996**;246:163-182.
88. **Bertelli AA, Giovannini L, Giannessi D, Migliori M, Bernini W, Fregoni M, Berteli A.** Antiplatelet activity of synthetic and natural resveratrol in red wine. *Int. J. Tissue React*, **1995**;17:1-3.
89. **Wang Z, Huang Y, Zou J, Cao K, [Xu Y](#), [Wu JM](#).** Effects of red wine and wine polyphenol resveratrol on platelet aggregation in vivo and in vitro. *Int. J. Mol. Med*, **2002**; 9:77-79.
90. **Kaneider NC, Mosheimer B, Reinisch N, Patsch JR, Wiedermann CJ.** Inhibition of thrombin-induced signaling by resveratrol and quercetin: effects on adenosine nucleotide metabolism in endothelial cells and platelet-neutrophil interactions. *Thromb. Res*, **2004**; 114:185-194.
91. **Fragopoulou E, Nomikos T, Antonopoulou S, Mitsopoulou CA, Demopoulos CA.** Separation of biologically active lipids from red wine. *J. Agric. Food Chem*, **2000**;48: 1234-1238.
92. **Pinto MC, Garcia-Barrado JA, Macias P.** Resveratrol is a potent inhibitor of the dioxygenase activity of lipoxygenase. *J. Agric. Food Chem*, **1999**;47:4842-4846.
93. **MacCarrone M, Lorenzon T, Guerrieri P, Agro AF.** Resveratrol prevents apoptosis in K562 cells by inhibiting lipoxygenase and cyclooxygenase activity. *Eur. J. Biochem*, **1999**;265,27-34.
94. **Kimura Y, Okuda H, Arichi S.** Effects of stilbenes on arachidonate metabolism in leukocytes. *Biochim. Biophys. Acta*, **1985**;834:275-278.
95. **Rotondo S, Rajtar G, Manarini S, Celardo A, Rotillo D, De Gaetano G, Evangelista V, Cerletti C.** Effect of trans-resveratrol, a natural polyphenolic compound, on human polymorphonuclear leukocyte function. *Br. J. Pharmacol*, **1998**;123:1691-1699.
96. **Kimura Y, Okuda H, Kubo M.** Effects of stilbenes isolated from medicinal plants on arachidonate metabolism and degranulation in human polymorphonuclear leukocytes. *J. Ethnopharmacol*, **1995**;45:131-139.

97. **Pace-Asciak CR, Hahn S, Diamandis EP, Soleas G, Goldberg DM.** The red wine phenolics trans-resveratrol and quercetin block human platelet aggregation and eicosanoid synthesis: implications for protection against coronary heart disease. *Clin. Chim. Acta*, **1995**;235:207-219.
98. **Knight J, Taylor GW, Wright P, Clare AS, Rowley AF.** Eicosanoid biosynthesis in an advanced deuterostomate invertebrate, the sea squirt (*Ciona intestinalis*). *Biochim. Biophys. Acta*, **1999**;1436:467-478.
99. **Martinez J, Moreno JJ.** Effect of resveratrol, a natural polyphenolic compound, on reactive oxygen species and prostaglandin production. *Biochem. Pharmacol*, **2000**;59: 865-870.
100. **Moreno JJ.** Resveratrol modulates arachidonic acid release, prostaglandin synthesis, and 3T6 fibroblast growth. *J. Pharmacol. Exp. Ther*, **2000**;294:333-338.
101. **Dobrydneva Y, Williams RL, Blackmore PF.** trans-Resveratrol inhibits calcium influx in thrombin-stimulated human platelets. *Br. J. Pharmacol*, **1999**;128:149-157.
102. **Dobrydneva Y, Williams RL, Katzenellenbogen JA, Ratz PH, Blackmore PF.** Diethylstilbestrol and tetrahydrochrysenes are calcium channel blockers in human platelets: relationship to the stilbene pharmacophore. *Thromb. Res*, **2003**;110:23-31.
103. **Napoli C, Ignarro IJ.** Nitric oxide and atherosclerosis. *Nitric Oxide*, **2001**;5:88-97.
104. **Luscher TF, Noll G.** The pathogenesis of cardiovascular disease: role of the endothelium as target and mediator. *Atherosclerosis*, **1995**;188:81-90.
105. **El-Mowafy AM.** Resveratrol Activates Membrane-Bound Guanylyl Cyclase in Coronary Arterial Smooth Muscle: A Novel Signaling Mechanism in Support of Coronary Protection. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **2002**;291:1218-1224.
106. **Naderali EK, Doyle PJ, Williams G.** Resveratrol induces vasorelaxation of mesenteric and uterine arteries from female guinea-pigs. *Clinical Science*, **2000**;98:537-543.
107. **Chan CK, Pace-Asciak CR.** Vasorelaxing activity of resveratrol and quercetin in isolated rat aorta. *Gen. Pharmac*, **1996**;27:363-336.
108. **Li HF, Tian ZF, Qiu XQ, Wu JX, Zhang P, Jia ZJ.** A study of mechanisms involved in vasodilatation induced by resveratrol in isolated porcine coronary artery. *Physiol. Res*, **2006**;55:365-372.

109. **Buluç M, Demirel-Yılmaz E.** Resveratrol decreases calcium sensitivity of vascular smooth muscle and cytosolic calcium increase in endothelium. *Vascular pharmacology*, **2006**;44:231-237.
110. **Novakovic A, Gojkovic-Bukarica L, Peric M, Nežić D, Djukanovic B, Markovic-Lipkovski J, Heinle H.** The mechanism of endothelium-independent relaxation induced by the wine polyphenol resveratrol in human internal mammary artery. *J Pharmacol Sci*, **2006**;101:85-90
111. **Wu SN.** Large-conductance Ca²⁺-activated K⁺ channels: physiological role and pharmacology. *Curr Med Chem*, **2003**;10:649-661.
112. **Granados-Soto V, Argüelles CF, Ortiz MI.** The peripheral antinociceptive effect of resveratrol is associated with activation of potassium channels. *Neuropharmacology*, **2002**;43:917-923.
113. **Chaikhouini A, Crawford FA, Kochel PJ, Olanoff LS, Halushka PV.** Human internal mammary artery produces more prostacyclin than saphenous vein. *J Thorac Cardiovasc Surg*, **1986**;92:88-91.
114. **Naderali EK, Smith SL, Doyle PJ, Williams G.** The mechanism of resveratrol-induced vasorelaxation differs in the mesenteric resistance arteries of lean and obese rats. *Clin. Sci*, **2001**; 100:55-60.
115. **Liu JC, Chen JJ, Chan P, Cheng CF, Cheng TH.** Inhibition of cyclic strain-induced endothelin-1 gene expression by resveratrol. *Hypertension*, **2003**;42:1198-1205.
116. **Olson ER, Naugle JE, Zhang X, Bomser JA, Meszaros, JG.** Inhibition of cardiac fibroblast proliferation and myofibroblast differentiation by resveratrol. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol*, **2004**;288:1131-1138.
117. **Gehm BD, Levenson AS, Liu H, Lee EJ, Amundsen BM, Cushman M, Jordan VC, Jameson JL.** Estrogenic effects of resveratrol in breast cancer cells expressing mutant and wild-type estrogen receptors: role of AF-1 and AF-2. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol*, **2004**; 88:223-234.
118. **Abou-Zeid LA, El-Mowafy AM.** Differential recognition of resveratrol isomers by the human estrogen receptor α : molecular dynamics evidence for stereoselective ligand binding. *Chirality*, **2004**;16:190-195.
119. **Wallerath T, Deckert G, Ternes T, Anderson H, Li H, Witte K, Forstermann U.** Resveratrol, a polyphenolic phytoalexin present in red wine, enhances expression and activity of endothelial nitric oxide synthase. *Circulation*, **2002**;106:1652–1658.
120. **Rakıcı O, Kiziltepe U, Coskun B, Aslamacı S, Akar F.** Effects of resveratrol on vascular tone and endothelial function of human saphenous vein and internal mammary artery. [*Int. J. Cardiol*](#), **2005**;105:209-215.

121. **Figtree GA, Griffiths H, Lu YQ, Webb CM, MacLeod K, Collins P.** Plant-derived estrogens relax coronary arteries in vitro by a calcium antagonistic mechanism. *J. Am. Coll. Cardiol.* **2000**;35:1977-1985.
122. **Clarkson TB, Anthony MS.** Phytoestrogens and coronary heart disease. *Baillieres Clin Endocrinol Metab*, **1998**;12:589-604.
123. **Novakovic A, Bukarica LG, Kanjuh V, Heinle H.** Potassium channels-mediated vasorelaxation of rat aorta induced by resveratrol. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, **2006** Nov;99(5):360-4.
124. **Novakovic A, Gojkovic-Bukarica L, Peric M, Nezic D, Djukanovic B, Markovic-Lipkovski J, Heinle H.** The mechanism of endothelium-independent relaxation induced by the winepolyphenol resveratrol in human internal mammary artery. *J Pharmacol Sci*, **2006** May;101(1):85-90.
125. **Li HF, Tian ZF, Qiu XQ, Wu JX, Zhang P, Jia ZJ.** A study of mechanisms involved in vasodilatation induced by resveratrol in isolated porcine coronary artery. *Physiol Res.*, **2006**;55(4):365-72.
126. **Jager U, Nguyen-Duong H.** Relaxant effect of trans-resveratrol on isolated porcine coronary arteries. *Arzneimittelforschung*, **1999** Mar;49(3):207-11.
127. **Cogolludo A, Moreno L, Bosca L, Tamargo J, Perez-Vizcaino F.** Thromboxane A₂-induced inhibition of voltage-gated K⁺ channels and pulmonary vasoconstriction: role of protein kinase C ζ . *Circ Res*, **2003**;93:656-663.
128. **Ding X, Murray PA.** Cellular mechanisms of thromboxane A₂-mediated contraction in pulmonary veins. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, **2005**;289:825-833.
129. **Janssen LJ, Lu-Chao H, Netherton S.** Excitation-contraction coupling in pulmonary vascular smooth muscle involves tyrosine kinase and Rho kinase. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, **2001**;280:666-674.
130. **Uzun Ö, AT Demiryörek.** Involvement of tyrosine kinase pathway in acute hypoxic vasoconstriction in sheep isolated pulmonary vein. *Vascular Pharmacology*, **2003**;40: 175-181.
131. **Seidel CL, Larochelle J.** Venous and arterial endothelia: different dilator abilities in dog vessels. *Circ. Res*, **1987**;60:626- 630.
132. **Kemp BK, Smolich JJ, Cocks TM.** Evidence for specific regional patterns of responses to different vasoconstrictors and vasodilators in sheep isolated pulmonary arteries and veins. *Br J Pharmacol*, **1997** Jun;121(3):441-50.

133. **Michelakis ED, Weir K, Wu X, Nsair A, Waite R, Hasimoto K, Puttagunta L, Knaus HG, Archer SL.** Potassium channels regulate tone in rat pulmonary vein. *Am. J. Physiol*, **2001**;280:1138–1147.
134. **Somlyo AP, Somlyo AV.** Signal transduction and regulation in smooth muscle. *Nature*, **1994**;372: 231-236.