

T.C.  
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
KALP VE DAMAR CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

**TAVŞAN KAROTİD ARTERLERİNDE YAPILAN  
ANASTOMOZLARDA RESVERATROL  
MADDESİNİN İNTİMAL HİPERPLAZİ VE  
ENDOTELYAL PROLİFERASYON  
ÜZERİNDEKİ İNHİBİTÖR ETKİSİNİN  
ARAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ

DR. KEMAL KARAARSLAN

DANIŞMAN ÖĞRETİM ÜYESİ: DOÇ.DR. E.ERDEM SİLİSTRELİ

## ÖNSÖZ

Asistanlık eğitimim boyunca bilgi ve deneyimleri ile eğitimime katkıda bulunan hocalarım Sayın Prof. Dr. Öztekin Oto, Sayın Prof. Dr. Eyüp Hazan, Sayın Prof. Dr. Baran Uğurlu, Sayın Prof. Dr. O. Nejat Sarıosmanoğlu, Sayın Prof. Dr. Hüdai Çatalyürek, Sayın Doç. Dr. Özalp Karabay, Sayın Doç. Dr.Cenk Erdal'a ve ayrıca tezimi yöneten, tezimin gerçekleşmesinde büyük emeği olan sayın hocam Doç. Dr. Erdem Silistreli ve Prof. Dr.Ünal Açıkl'e,

Tezimin gerçekleşmesinde büyük yardımlarını ve desteklerini gördüğüm fakültemiz Histoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerinden sayın Doç. Dr. Bekir Uğur Ergür'a,

Uzun, yorucu ve bir o kadar da zevkli geçen asistanlığım boyunca iyi ve kötü günlerimi paylaştığım asistan arkadaşlarıma, servis ve yoğun bakımımızın hemşire ve personellerine, ameliyathanemizin hemşire ve personellerine, poliklinik çalışanlarımıza;

Beni bugünüme getirene kadar her türlü zorluğa göğüs geren haklarını ödeyemeyeceğim anne ve babama;

Asistanlık hayatım boyunca ona ayırabildiğim kısıtlı zamana rağmen, desteğini benden hiç esirgemeyen, hayatı paylaştığım eşim Işıl'a

Hayatıma girmeleriyle bana mutluluk veren, yoğun tempoma rağmen kucağıma aldığım her şeyi unutturan, canımdan çok sevdiğim kızlarım Ece ve Gülce'ye

Son olarak 2004 Haziran ayında başladığım bu yolculukta, hayata karşı duruşumda ve bakışımda iyi yönde değişiklik olmasını sağlayan herkese;

Sonsuz saygı, sevgi ve teşekkürlerimi sunarım.

## İÇİNDEKİLER

	SAYFA
ÖNSÖZ .....	1
İÇİNDEKİLER .....	2
TABLO VE ŞEKİL DİZİNİ .....	3
RESİM VE GRAFİK DİZİNİ .....	4
KISALTMALAR .....	5
ÖZET .....	7
İNGİLİZCE ÖZET .....	9
1. GENEL BİLGİLER .....	11
1.1. GİRİŞ VE AMAÇ .....	11
1.2. ARTER TİPLERİ VE HİSTOLOJİSİ .....	12
1.3. VASKÜLER ENDOTEL .....	16
1.4. RESVERATROL .....	28
2. MATERYAL VE METOD .....	35
2.1. ÇALIŞMA PLANI .....	35
2.2. DENEY PROTOKOLÜ .....	36
2.3. HİSTOPATOLOJİK DEĞERLENDİRME .....	39
2.4. İSTATİSTİKSEL YÖNTEM .....	40
3. BULGULAR .....	40
3.1. HİSTOPATOLOJİK DEĞERLENDİRME .....	41
4. SONUÇLAR .....	49
4.1. LÜMEN ÇAPLARININ KARŞILAŞTIRILMASI .....	49
4.2. LÜMEN ALANLARININ KARŞILAŞTIRILMASI .....	51
4.3. İNTİMA KALINLIĞININ KARŞILAŞTIRILMASI .....	53
4.4. MEDİA KALINLIĞININ KARŞILAŞTIRILMASI .....	55
4.5. İNTİMA/MEDİA ALAN ORANININ KARŞILAŞTIRILMASI .....	57
5. TARTIŞMA .....	60
KAYNAKLAR .....	65

## TABLO VE ŞEKİL DİZİNİ

TABLO		SAYFA
3.1.	Resveratrolün temel biyolojik aktiviteleri	30
3.2.	Resveratrolle yapılan aktivite çalışmaları	30
5.1.	Ortalama Lümen Çapı Kontrol Grubu İle Karşılaştırılması	49
5.2.	Ortalama Lümen Alanı Kontrol Grubu İle Karşılaştırması	51
5.3.	Ortalama İntimal Kalınlığın Kontrol Grubu İle Karşılaştırması	53
5.4.	Ortalama Media Kalınlığın Kontrol Grubu İle Karşılaştırması	55
5.5.	İntima/ Media Alan Oranı Kalınlığının Kontrol Grubu İle Karşılaştırılması	57
6.1.	Histomorfometrik Değerlendirme	59
6.2.	Kontrol Grubunun Histomorfometrik Değerlendirmesi	59
<b>ŞEKİL</b>		
1.1.	Damarın genel histolojik yapısı	15
1.2.	Damar duvarının histolojik kesiti	16
1.3.	Damar endotelyum hücre iskeleti	18
2.1.	Endotel kaybında intimal kalınlaşma	20
2.2.	Neointimal hiperplaziyi önlemede farmakolojik yollar	28
2.3.	Resveratrolün kimyasal yapısı	29

## RESİM VE GRAFİK DİZİNİ

RESİM		SAYFA
3.1.a.	Tavşan kulak arkası marginal veninden branül takılması.	37
3.1.b.	Tavşan sağ karotis arterinin eksplorasyonu.	37
3.2.a.	Karotis arterinin anastomoz öncesi buldog klemple oklüde edilmesi.	38
3.2.b.	Karotis arterinin transekte edilmiş görünümü.	38
3.3.	Karotis arterin anastomoz edilmesi.	39
3.4.	Lümen çapı ve lümen alanının ölçülmesi.	40
3.5.	Resveratrol almayan Grup A grubuna ait histolojik kesitler. (H+E x2 x4)	42
3.6.	Resveratrol almayan kontrol grubuna ( Grup A ) ait histolojik kesitler (3D Reconstruct For Windows 1.0.9.9).	43
3.7.	Resveratrol almayan anastomoz yapılan Grup A grubuna ait histolojik kesitler (3D Reconstruct For Windows 1.0.9.9).	44
4.0.	14 gün Resveratrol alan ( Grup B ) gruba ait histolojik kesitler. (H+E x2 x4)	46
4.1.	14 gün Resveratrol alan Grup B'ye ait histolojik kesitler (3D Reconstruct For Windows 1.0.9.9).	47
4.2.	14 gün Resveratrol alan grubun karşı taraf damarına Grup B'ye ait histolojik kesitler (3D Reconstruct For Windows 1.0.9.9).	48
<b>GRAFİK</b>		
5.1.	Ortalama lümen çaplarının karşılaştırılması.	50
5.2.	Ortalama lümen alanlarının karşılaştırılması.	52
5.3.	Ortalama intimal kalınlığının karşılaştırılması.	54
5.4.	Ortalama media kalınlığının karşılaştırılması.	56
5.5.	İntima/media oranın gruplar arası karşılaştırılması.	58

## **KISALTMALAR:**

<b>ADP</b>	: Adenozin di fosfat
<b>ATP</b>	: Adenozin trifosfat
<b>AMP</b>	: Adenozin monofosfat
<b>c-AMP</b>	: siklik AMP
<b>b-FGF</b>	: Temel fibroblast büyüme faktörü
<b>PDGF</b>	: Trombosit kaynaklı büyüme faktörü
<b>TGF-beta</b>	: Dönüştürücü büyüme faktör beta
<b>PAS</b>	: Periyodik asit shift
<b>EDRF</b>	: Endotel kaynaklı gevşetici faktör
<b>PGI2</b>	: Prostosiklin
<b>PAF</b>	: Trombosit aktive edici faktör
<b>PAI</b>	: Plazminojen aktivatör inhibitörü
<b>TTPAI</b>	: Ekstrinsik sistem inhibitörü
<b>t-PA</b>	: Doku plazminojen aktivatörü
<b>H + E</b>	: Hemotoksilen Eozin
<b>TGF-P</b>	: Dönüştürücü büyüme faktör P
<b>IL</b>	: İnterlökin
<b>RVT</b>	: Resveratrol
<b>VSMC</b>	: Damar düz kas hücresi
<b>LDL</b>	: Düşük dansiteli lipoprotein
<b>NO</b>	: Nitrik oksit
<b>NOS</b>	: Nitrik oksit sentetaz
<b>L-NAME</b>	: L <sup>G</sup> -nitro-L-arjinin metil ester
<b>MMP</b>	: Matriks metalloproteinaz
<b>PTFE</b>	: Politetrafloretillen
<b>XDH</b>	: Ksantin dehidrogenaz
<b>XO</b>	: Ksantin oksidaz
<b>O<sub>2</sub><sup>-</sup></b>	: Süperoksit
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	: Hidrojen peroksit

<b>LTB<sub>4</sub></b>	: Lökotrien B <sub>4</sub>
<b>HOCl</b>	: Hipokloroz asit
<b>MPO</b>	: Miyeloperoksidaz
<b>PLA<sub>2</sub></b>	: Fosfolipaz A <sub>2</sub>
<b>AA</b>	: Araşidonik asit
<b>COX</b>	: Siklooksijenaz
<b>PG</b>	: Prostaglandin
<b>TX</b>	: Tromboksan
<b>VCAM-1</b>	: Vascular cell adhesion molecule
<b>PF<sub>4</sub></b>	: Trombosit-factor-4
<b>SOD</b>	: Süperoksit dismutaz
<b>ROS</b>	: Reaktif oksijen ürünleri
<b>ONOO<sup>-</sup></b>	: Peroksinitrit
<b>MIP-2</b>	: Makrofaj inflamatuvar protein 2
<b>MCP-1</b>	: Monosit kemoattractan protein 1
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	: Tumor Necrosis Factor- $\alpha$
<b>ET-1</b>	: Endotelin-1
<b>NMDA</b>	: N-methyl-D-aspartate
<b>cGMP</b>	: Siklik günaozin monofosfat
<b>AT1</b>	: Anjiotensin I reseptör alttipi
<b>RAS</b>	: Renin-Anjiotensin Sistemi
<b>L-NMMA</b>	: N <sup>G</sup> -monometil-L-arjinin
<b>NF<math>\kappa</math>B</b>	: Nuclear factor $\kappa$ B
<b>BK<sub>Ca</sub></b>	: K <sup>+</sup> -bağımlı büyük-konduktan Ca <sup>++</sup> kanalları
<b>NADH</b>	: Nikotinamid Adenin Dinükleotid
<b>NADPH</b>	: Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat
<b>ICAM-1</b>	: Intercellular adhesion molecule-1
<b>Tw</b>	: Shear stres
<b>Ahr</b>	: Aril hidrokarbon reseptörü
<b><math>\mu</math>m</b>	: Mikrometre
<b><math>\mu</math>m<sup>2</sup></b>	: Mikrometre kare

## **ÖZET:**

**Tavşan karotid arterinde yapılan anastomozlarda Resveratrol maddesinin intimal hiperplazi ve düz kas hücre proliferasyonu üzerindeki inhibitör etkisinin araştırılması.**

**Kemal Karaarslan Dokuz Eylül Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Kalp ve Damar Cerrahisi Anabilim Dalı, İzmir.**

**Amaç:** Bypass greflerinin uzun dönem açıklığı damar hasarının olduğu bölgede intimal hiperplazinin gelişmesiyle azalmaktadır. Her arteriyel rekonstrüksiyon işlemi bir miktar endotel hasarına neden olmaktadır. Bu hasarın en yaygın nedeni greftin çıkarılma işlemi ve anastomoz sırasında çeşitli derecede travmatize olmasıdır [1,4]. Endotel hasarına intimanın yanıtı subendotelial fibroproliferasyon ve neointima oluşması şeklindedir. Vasküler rekonstruktif girişimlerden sonra geç dönemdeki daralma veya restenozda düz kas hücre migrasyonu, proliferasyonu ve ekstrasellüler matriks birikimi sonucu oluşan neointimal hiperplazi önemli rol oynamaktadır [1,5,8]. Hiperplazik intimal kalınlaşma, arterlerin hemodinamik strese karşı normal adaptif bir özelliği olduğu kadar, arteriyel injurilerin iyileşmesinin de karakteristik bir özelliğidir ve bazı durumlarda gereğinden şiddetli olabilmektedir[5]. Bu yüzden biz de, tavşanlarda karotis arterinde yapılan anastomozda resveratrolün intimal hiperplazi ve düz kas hücre proliferasyonu üzerine etkisini araştırdık.

**Materyal ve Metod:** Çalışmamızda randomize olarak seçilen ortalama 2-3 kg ağırlığında 14 adet Yeni Zelanda tipi erkek tavşan kullanıldı. Tavşanlar 2 gruba ayrıldı. Tüm gruplardaki tavşanlara uygun pozisyon verilerek, sağ vertikal boyun insizyonu yapıldı. Sağ karotis arterleri transekte edilerek 8/0 polipropilen suture kullanılarak tek tek suture tekniği ile anastomoz yapıldı. Grup A (7 tane) tavşanlara herhangi bir ilaç verilmedi. Grup B (7 tane) tavşanlara toplam 14 gün 1 mg/kg/gün dozunda resveratrol IV olarak verildi. Tüm gruplardaki tavşanlar 28. günün sonunda anastomoz yapılan karotid arter segmenti ve karşı taraf karotid arter çıkartılarak incelenmek üzere Histoloji laboratuvarına gönderildi. Hazırlanan preparatlar ışık mikroskopisinde incelendi. Ayrıca elde edilen görüntüler digital görüntü analiz programı ile incelenerek lümen çapı, lümen alanı, intima-media alanı oranı hesaplanarak sonuçlar değerlendirildi. Hazırlanan parafin dokulardan seri kesitler alındı.



Bu seri kesitler fotoğraflanarak bilgisayar ortamına aktarıldı. Reconstruct 1.0.9.9 (JC Fiala) programı ile intima ve media kalınlıkları ölçülerek kesitler üç boyutlu hale getirildi.

**Bulgular:** Yapılan seri kesitlerde lümen çapı açısından Grup B'in ortalama lümen çapı Grup A'in ortalama lümen çapından daha büyük bulunmuş ve bu fark istatistiksel olarak anlamlı bir fark yaratmıştır ( $p= 0.000$ ). Lümen alanı açısından değerlendirildiğinde Grup B'in ortalama lümen alanı Grup A'dan daha geniş bulunmuş olup bu fark istatistiksel olarak anlamlı bir fark yaratmıştır ( $p<0.05$ ). Seri kesitler intima kalınlığı açısından değerlendirildiğinde Grup B'in intimal kalınlığı Grup A'dan daha ince bulunmuş olup bu fark istatistiksel açıdan anlamlı bir fark yaratmıştır ( $p<0.05$ ). Media kalınlığı açısından değerlendirildiğinde Grup B'in media kalınlığı Grup A'dan daha ince bulunmuş olup bu fark istatistiksel açıdan anlamlı fark yaratmıştır ( $p= 0.04$ ). İntima / media oranı açısından seriler değerlendirildiğinde Grup A'in ortalama intima/media oranı Grup B'den daha büyük bulunmuş olup bu fark istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur ( $p=0.002$ ). Yapılan seri kesitlerde lümen çapı açısından Grup BK'nın ortalama lümen çapı Grup AK'nın ortalama lümen çapından daha büyük bulunmuş ve bu fark istatistiksel olarak anlamlı bir fark yaratmıştır ( $p=0.000$ ). Lümen alanı açısından değerlendirildiğinde Grup BK'nın ortalama lümen alanı Grup AK'dan daha geniş bulunmuş olup bu fark istatistiksel olarak anlamlı bir fark yaratmıştır ( $p=0.038$ ). İntima / media oranı açısından değerlendirildiğinde Grup BK'nın İntima / media oranı Grup AK'dan daha büyük bulunmuş olup bu fark istatistiksel açıdan anlamlı bulunmamıştır ( $p=0.180$ ).

**Sonuç:** Resveratrolün, vasküler girişimlerden sonra meydana gelen intimal hiperplazi ve düz kas hücre proliferasyonunun engellenmesinde yararlı bir ajan olarak kullanılabilineceğidir.

**Anahtar Kelimeler:** Resveratrol, İntimal hiperplazi, Düz kas hücre proliferasyonu, Anastamoz, Tavşan.

## **SUMMARY:**

**The aim of this study is to assess inhibiting effect of resveratrol on intimal hyperplasia and smooth muscle cell proliferation at the anastomosis site performed in rabbit carotid artery.**

**Kemal Karaarslan, Department of Cardiovascular Surgery, School of Medicine, Dokuz Eylul University, Izmir, Turkey**

**Objective:** The patency of bypass grafts in long term decreases with intimal hyperplasia in the site of damage. Each arterial reconstruction leads to some degree of endothelial damage. The most common reason for the damage is being traumatized during the procedure of procurement of the graft and anastomosis [1,4]. The reaction in the intima to endothelial damage is subendothelial fibroproliferation and formation of neointima. Neointimal hyperplasia caused by smooth muscle cell migration, proliferation and extracellular matrix deposition plays an important role in the late stage narrowing or restenosis following vascular reconstructive interventions. Hyperplastic intimal thickening is not only an adaptive process against the hemodynamic stress but also a characteristic of arterial injury healing. We assess the effect of resveratrol on intimal hyperplasia and smooth muscle cell proliferation at anastomosis performed in rabbit carotid artery.

**Materials and Method:** In this study we planned to use 14 randomized New Zealand male rabbit weights 2 to 3 kilograms. Rabbits were separated to 2 groups. A vertical neck incision was made in an appropriate position to all group rabbits and carotid artery was dissected. The same artery transected and using 8/0 polypropylene an anastomosis was performed with by one by technique. Group A rabbits (7) assigned as control group. No medication was given to this group. Resveratrol was administered to group B 1 mgr/kg/day per IV during 14 days. At the end of the day 28 the anastomosis performed carotid artery segments and the contralateral carotid artery of all rabbits were sent to histology laboratory to analyze. The preparations were examined under light microscope. Images were analyzed via digital image analyze program and lumen diameter, lumen area, intima-media area ratio were estimated and results were evaluated. Serial cross-sections taken from paraffin tissues were photographed and transferred to computer environment. Intima and media thicknesses were measured and the sections were three dimensioned via Reconstruct 1.0.9.9 (JC Fiala) program.

**Findings:** In the serial sections the average lumen diameter of group B was found higher than the group A and this difference was statically significant between group B and group A. The lumen area of group B was found higher than the group A and this difference was significant between group B and group A. When the section series were evaluated for intimal thickness, thickness of group B was lesser than group A and the difference was statically significant between group B and group A. The evaluation of media thickness, thickness of group B was lesser than group A and the difference was statically significant between group B and group A. The evaluation of intima /media ratio showed that it was higher in group A compared with group B and the difference was significant. In the serial sections the average lumen diameter of group BK was found higher than the group AK and this difference was statically significant between group BK and group AK. The lumen area of group BK was found higher than the group AK and this difference was significant between group BK and group AK. The evaluation of intima /media ratio showed that it was higher in group BK compared with group AK and the difference was not statistical significant.

**Conclusion:** Resveratrol may be a beneficial agent for preventing intimal hyperplasia and smooth muscle cell proliferation after the vascular surgery.

**Key words:** Resveratrol, intimal hyperplasia, smooth muscle cell proliferation, anastomosis, rabbit.

## **1. GENEL BİLGİLER**

### **1.1. GİRİŞ ve AMAÇ**

Restenoz oluşumunda intimal hiperplazi ve düz kas hücre proliferasyonunun büyük etkisi vardır. Bypass greftleme, tıkaçıcı arter hastalıklarının tedavisinde sık kullanılan girişimlerdir. Bu tarz girişimlerin başarısı, spontan tromboz gelişimi veya stenoz oluşumu nedeni ile beklenenden daha azdır [1]. Damar yaralanması patolojik tamir ve remodelinge neden olur, bu da düz kas hücre migrasyonu ve proliferasyonu sonucu olarak neointimal hiperplazi olarak sonuçlanır [2]. Yaralanan kan damarında patolojik tamirde endotel hücre kaybı majör katkısı olan faktördür [3]. Sonuç olan neointimal hiperplazi anjioplasti, stent ve bypass greftleme gibi revaskülarizasyon işlemleri sonrası restenozun patolojik temelidir [2,3]. Hayvan ve insanlarda yapılan arteriyel hasar modellerinde lümen daralmasının temel nedeninin intimadaki düz kas hücre proliferasyonu ve konnektif doku birikiminin olduğu gösterilmiştir [4]. Arteriyel hasar oluştuktan sonra, bu bölge trombositlerle kaplanır. Adhezyon sonrası trombositler granüllerindeki vazoaktif ve trombotik faktörleri (Serotonin, ADP, Fibrinojen, von Willebrand Faktör) ve ayrıca büyüme faktörlerini (Trombosit kaynaklı büyüme faktörü, Dönüştürücü büyüme faktörü, Epidermal büyüme faktör) salgılar [5]. Mitojenik özellikteki büyüme faktörleri düz kas hücre proliferasyonunu başlatırlar. Hasara cevap olarak media tabakasında çoğalmaya başlayan düz kas hücreleri, intimaya göç ederek intimal hiperplaziye neden olurlar. Russel Ross tarafından öne sürülen ve halen yaygın kabul gören yaralanmaya cevap (response-to-injury) hipotezine göre de intimal kalınlaşmayı başlatan mekanizma, hasar gören damar duvarına yapışan aktive trombositlerden ve endotel hücrelerinden salınan, düz kas hücreleri proliferasyonunu uyarıcı büyüme faktörleridir [5].

İntima hasarlı ratlarda resveratrolün endotelial progenitor hücre aktiviteleri, bu hücrelerin dolaşımdan mobilizasyonu ve intimanın reendotelizasyonu için yapılan çalışmada; düşük doz resveratrol belirgin bir şekilde endotelial progenitor hücrelerin proliferatif, migratif ve adezive aktivitelerini artırmakta, eNOS ekspresyonunu endotelial progenitor hücrelerin mobilizasyonu gibi artırmakta olduğu gösterilmiştir [6].

Tavşan normal iliak arterin deneysel endotel hasarında, resveratrol damar intima hiperplazisini azalttığı, lümen alanını artırdığı, kalınlaşmış intimada düz kas hücre sayısını

istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde azalttığı ve tavşan düz kas hücre kültürüne ilave edilen resveratrolün doz bağımlı olarak DNA sentezini inhibe ettiği görülmüş [7].

Resveratrol kanser ve inflamasyon patogeneğinde rolü olan proinflamatuvar mediatörlerin kaynağı olan araşidonik asit ürünlerini; cyclo-lipooxygenases üzerinden inhibe eder [8].

Tyrosine kinase, serine/threonin kinase inhibisyonu ile ATP fosforilasyonunu engeller. Bu etki ile çeşitli kanser hücrelerinde apoptosisi uyarıyor ve büyümeyi durduruyor. Ayrıca tümör supresör genlerin ekspresyonunu artırarak antitümöral etkinlik gösteriyor [9].

TCA siklusu, glikolisis, kompleman aktivasyonu, sterol biyosentezi, insülin ve IGF-1 üzerine etkileri, oksidatif fosforilasyon ve elektron transportu gibi pek çok yoldaki etkinliği gösterilmiştir [10].

Vasodilatasyon ve vasokonstrüksiyon regülasyonu [11-12], ROS ürün inhibisyonu[13], LDL peroksidasyonunun engellenmesi[14], trombosit agregasyonunu inhibe etmesi [15] yanında normal arter intima ve mediasında çok az bulunan veya hiç bulunmayan TF (doku faktörü) aktivitesini baskılıyor[16-17], olması ile atherosklerotik plakta trombojeniteyi azaltmaktadır. İntimadaki düz kas hücre proliferasyonunu hücre siklusunda G1' den S fazına geçişi bloke ederek antimitotik aktivite ile azaltması [18-20],ve insan aorta damar düz kas hücrelerinin gelişimini DNA sentezini azaltmak yoluyla inhibe etmesi özelliklerinden[21],yola çıkarak tavşan karotid arterinde yapılan anastamozlarda intimal hiperplazi ve düz kas hücre proliferasyonu üzerindeki etkisini araştırmayı amaçladık.

## **1.2. ARTER TİPLERİ ve HİSTOLOJİSİ:**

Vücudumuzun damar yapısını; arterler, arterioller, kapillerler ve venler olarak inceleyebiliriz. Arterler, organlarımızı kanlandıran yüksek basınçlı damarlardır. Arterioller, kapiller ağı direkt olarak besleyen ve kan akımının kontrolünü elinde tutan küçük çaplı damarlardır. Kapillerler, ince duvarlı damarlar olup; kan ve dokular arasındaki besin maddelerinin değişimi görevini üstlenirler.

***Elastik (Büyük Boy-İletici) Arterler:*** Çapları en büyük olan bu arterlerde elastik doku çoğunlukta olup aorta, pulmoner arter gibi 7mm üzerinde olan arterleri ve büyük dallarını kapsar. Elastinden dolayı taze yapılarda sarı renkte izlenirler. Çaplarına göre duvarları incedir. Arterlerde en gelişmiş tabaka tunika mediadır. Kanın kalpten uzaklaştırılmasını ve kalp atımı sonucu basınç dalgalanmalarını yumuşatır. Sistolde elastik lamina gerilir ve basınç değişimini azaltır. Diyastolde, elastik sıkışma arteriyel basıncı düzenler. Kalpten uzaklaştıkça arter basıncı akım hızı, basınç değişkenlikleri azalır.

***Tunika intima:*** Tek katlı yassı hücrelerden oluşan endothelium ile bunun altında açık renkli ince bir subendotelial tabakadan oluşmuştur. Söz konusu tabaka, longitudinal yönde ince elastik ağlardan zengindir. Bunların arasında az miktarda kollajen lifler, fibrositler ve düz kas hücreleri yer alırlar. Endotel hücreleri 10-15 µm genişliğinde 25-50 µm uzunluğundadır. Hücreler birbirlerine sıkı bağlantılarla ve gap-junctionlarla bağlanır ve bariyer oluşturur. Bol pinositotik vezikülleri vardır. Endotel hücrelerinde 0,1 µm çapında ve 3 µm uzunluğunda Weibel-Palade Cisimcikleri (von Willebrand Faktörü) olarak bilinen membranla çevrili elektron-dens cisimcikler vardır. Bunlar çoğu endotel hücrelerince sentezlenirler ancak sadece arterlerde depolanırlar. Kana verilen faktör VIII içeren yapılarıdır. Subendotelial tabaka kalındır. Ritmik kasılma ve gevşemelere yardımcı olan lifler uzunlamasına dizilirler. Düz kas hücreleri de bu tabakada yer alır. Hem kasılır hem de ekstraselüler ara madde ve fibrilleri sentezler. T.Media'ya yaklaştıkça elastik lif miktarı artar. Media sınırında yoğunlaşan elastik lifler membrana elastica interna'yı oluşturur. Ancak mediaya benzediğinden ayırt etmek zordur.

***Tunika media:*** En geniş tabakayı oluşturur. Esas yapı, yaşla birlikte sayısı artan konsantrik yerleşimli 40-70 elastik lamellerden oluşmuştur. Bu nedenle bu tip arterlere Elastik tip arter adı verilir. Bağ dokusunun elastik liflerini gösterebilmek için elastik lif boyası ile boyanmış preparatlardan faydalanılır. Bu tip özel boya ile boyanmış preparatlarda elastik lifler gerginliklerini kaybettiklerinden ondüle tarzında bir görünüş verirler. Bu elastik liflerin sayıları kalbe yaklaştıkça artar. Tunika media'nın dış sınırında membrana elastica eksterna görülmez. Elastik liflerin aralarını kollajen lifler, bağ dokusu elemanları doldurur. Elastik membranlar arasında düz kas, retiküler lifler, vaso vasorumlar ve kondroitin sülfat (metakromazi +) bulunur. Laminalar arasında pencere adı verilen açıklıklar bulunur. Elastik tip özel boyamada elastik lifler ve bağ dokusu hücrelerinin çekirdekleri açık veya koyu siyah renkte boyanırlar. Az sayıdaki kollajen lifler ise pembe-kırmızı renkte, diğer doku elemanları sarı renkte bir görünüm verirler.

***Tunika adventisya:*** Oldukça incedir ve media kalınlığının yaklaşık yarısı kadardır. Kesin bir sınır yapmaksızın çevre bağ dokusu ile karışır. Elastik, kollajen lifler, vaso vasorumlar ve sinirleri içeren fibroelastik bağ dokusudur.

***Muskuler (Orta Boy-Dağıtıcı) Tip Arterler:*** Çapları 2,5-7mm arasında olan, kanı organlara dağıtan ve en çok görülen arter tipidir. Tunika mediadaki düz kaslara bağlı olarak kan akışı lokal hormon ve nörojenik uyarılarla ayarlanabilir.

Elastik arterlerden muskuler arterlere geçerken, elastik materyel azalır, düz kas artar. Çok belirgin membrana elastica interna ve eksternaları vardır.

Damarların genel histolojik yapısına uygun olarak, duvarları 3 tabakadan yapılmıştır. Lümenin dışı doğru tabakalar aşağıdaki tarzda sıralanır (Şekil 1.1, 1.2):

***Tunika intima:*** Elastik arterlere göre daha incedir fakat subendotelial tabaka az sayıda düz kas hücresi bulunurken membrana elastica interna çok belirgindir. Pencereci elastik membran özelliğindedir. Bu ve mediadaki düz kasların ölüm sonrası kasılması nedeni ile endotel yüzeyi kıvrımlı izlenir. Nadiren 2 membrana elastica interna bulunur (bifid internal elastik lamina). Elastik arterlerde olduğu gibi endotel, internal elastik membranları geçen uzantılara sahiptir. Bu uzantılar intimaya yakın yerleşik mediadaki düz kaslarla gap-junctionlarla bağlanır. Bu gap-junctionların endotel ve düz kas hücreleri ile metabolik olarak çift olduklarına inanılır [22].

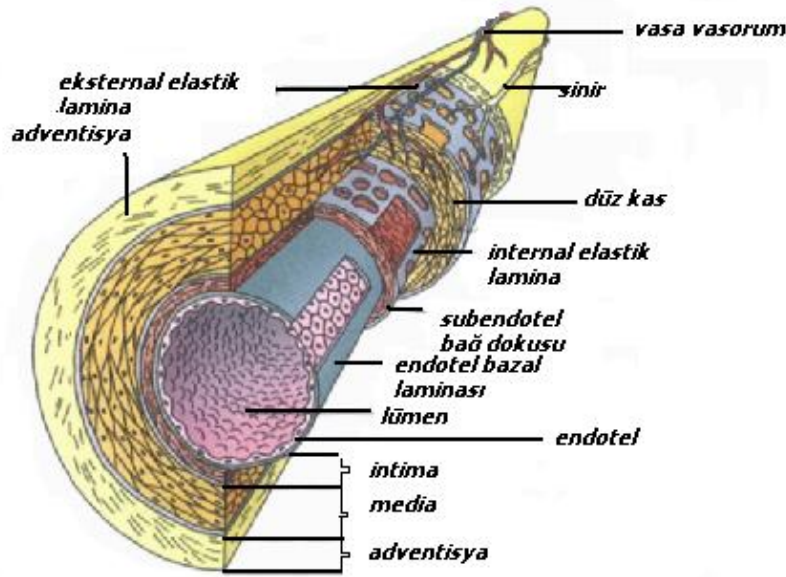
***Tunika media:*** Başlıca düz kas hücrelerinden oluşur. Düz kas hücreleri iç organ duvarındaki düz kaslardan daha küçüktür. İntimaya bakan yüzdeki birkaç düz kas bantı longitudinal seyirlidir. Küçük muskuler arterlerde 3-4 tabaka düz kas varken büyük muskuler arterlerde 40 tabaka konsantrik yerleşimli düz kas tabakası bulunur. Damar dallandıkça tabaka sayısı azalır. Her düz kas hücresi bazal laminaya benzer bir eksternal lamina ile çevrilidir. Matriks, PAS+ reaksiyon gösterir. Proteoglikan tabiatındaki matrikste düz kaslar arasında elastik, retiküler lifler ve az miktarda kollajen, fibriller ve kondroitin sülfat yer alır. Düz kaslar, matriks ve liflerin üretilmesinde de fonksiyon görürler. Kas hücreleri arasında vaso vasorumlar yer alır. Birkaç ince elastik tabakadan oluşan belirgin bir membrana elastica internaları vardır ancak iç elastik membrandan daha incedir. Tabakalar arasında pencereler de yer alır [23].

***Tunika adventisya:*** Bağ dokusu fibrilleri, fibroblastlar, yağ hücreleri, vaso vasorumlar, lenfatik damarlar, miyelinsiz sinir sonlanmaları yer alır. Sinir sonlanmalarından salınan nörotransmitterler dış elastik membranın pencerelerinden geçerek mediaya gelerek üstteki bazı düz kas hücrelerini depolarize ederler. Uyarı diğer düz kas hücrelerine gap-junctionlarla aktarılır. Vasomotor sinirler yer alır. Ara madde çoğunlukla dermatan sülfat ve heparan sülfattan oluşur. Kollajen ve elastik lifler, kesilen arterin büzülmesini kolaylaştıracak şekilde longitudinal seyirlidir [23].

***Küçük Çaplı Arterler ve Arterioller:*** Çapları 100 mikrometreden az olan arterlerin tunika intiması endotel ve membrana elastica internadan oluşur. Bu membran endotel altında ince parlak bir çizgi olarak gözlenir. Tunika media küçük çaplı arterlerde en çok sekiz sıralı,

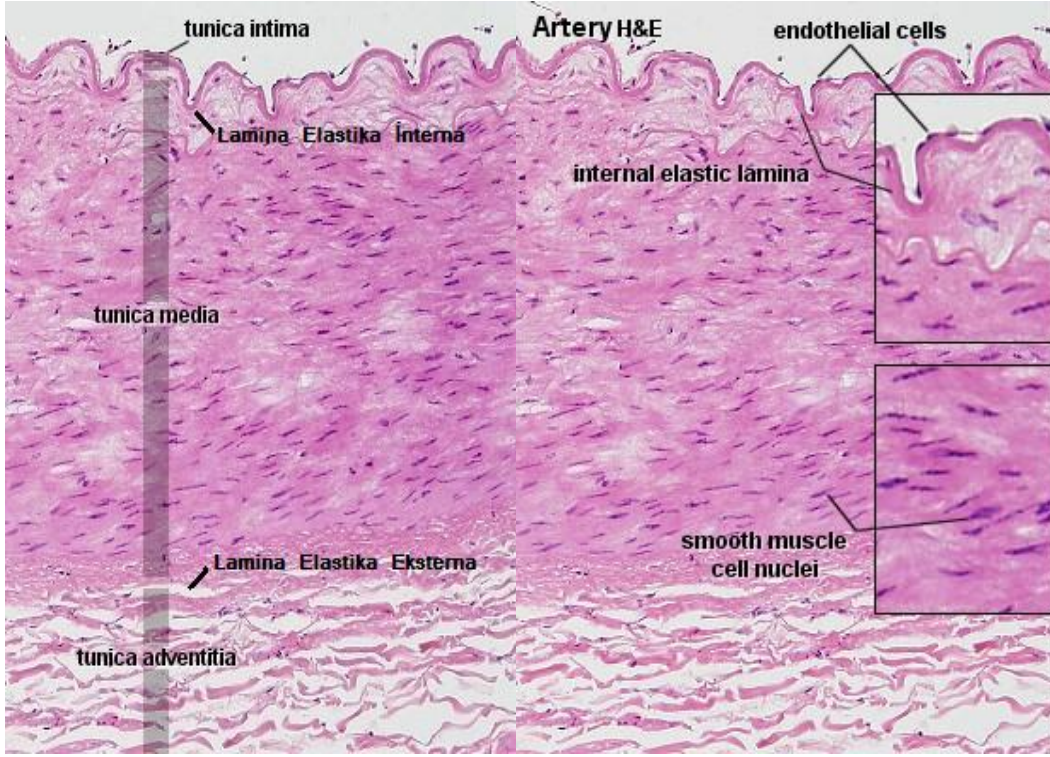
arteriyollerde ise bir-iki sıralı düz kas tabakasıdır. Membrana elastika interna görülmeyebilir. Tunika adventisya longitudinal seyirli kollojen ve elastik lifler içeren gevşek bir bağ dokusu tabakasıdır. Membrana elastika eksterna bulunmaz. Çapı genellikle 0,5mm'den dar, lümenlerinin çapı kadar duvar genişliği olan arteriyoller, kapiller ağdaki kan akımını kontrol eden önemli damarlardır. Düz kasları kesintilidir. Arteriyolden kapillerin ayrıldığı yerde arteriyol duvarındaki düz kaslarda hafif bir kalınlaşma, prekapiller sfinkteri oluşturur. Bu sfinkterin kasılması kapillere kan geçişini engeller.

Arterioller kapillerlere kan akışını düzenleyen terminal arteriyal damarlardır. Endotel, tip III kollajen ve birkaç elastik lif içeren subendotelyal bağ dokusu ile desteklenir. Büyük arteriyollerde ince ve pencereli internal elastik membran yer alırken daha küçük ve terminal arteriyollerde bulunmaz. Küçük arteriyollerde tek düz kas tabakası varken büyük arteriyollerde 2-3 kat düz kas tabakası bulunur. Adventisya tabakası az sayıda fibroblast içeren ince fibroelastik bağ dokusudur [23, 24].



Şekil 1.1. Damarın genel histolojik yapısı.





**Şekil 1.2.** Damar duvarının histolojik kesitinin mikroskopik görünümü (H+E x 20).

### 1.3. VASKÜLER ENDOTEL:

Normal endotel bütün damar düz kaslarında bulunan, damar duvarını kaplayan ince bir skuamoz epitel tabakasıdır. Kan ve interstisyel dokular arasındaki stratejik yerleşiminden dolayı endotelin intravasküler ve ekstravasküler olayları düzenleyici bir rolü vardır. Vasküler endotel hücre zarı geçirgenliğini, lipid transportunu, vazomotor tonusu, koagülasyonu, fibrinolizi ve inflamasyonu etkileyerek normal kardiyovasküler hemostazın korunmasında aktif olarak rol alır. Normal endotel kan akımına karşı hem tromborezistan bir yüzey görevi görürken hem de kan ve damar duvarı arasında makromoleküler bir bariyer görevi görür. Tüm bu nedenlerden dolayı endotel salgıladığı mediatörlerle vasküler tonusu, kan pıhtılaşmasını, hücre proliferasyonu, inflamasyonu, damar geçirgenliğini düzenleyen ve vücudun her tarafına yayılmış bir organ olarak kabul edilir.

Endotel hücreleri 10-15  $\mu\text{m}^2$  genişliğinde, 20-25  $\mu\text{m}$  uzunluğunda olup, uzamış nükleuslara sahip hücrelerdir. Endotel, damar uzun eksenini boyunca bir bazal lamina üzerinde yan yana dizilerek tekli bir tabaka oluşturan, poligonal hücrelerden oluşmuştur. Yüzeylerindeki mikrovillus ve kıvrımlar sayesinde fonksiyonel yüzey alanları artmaktadır.

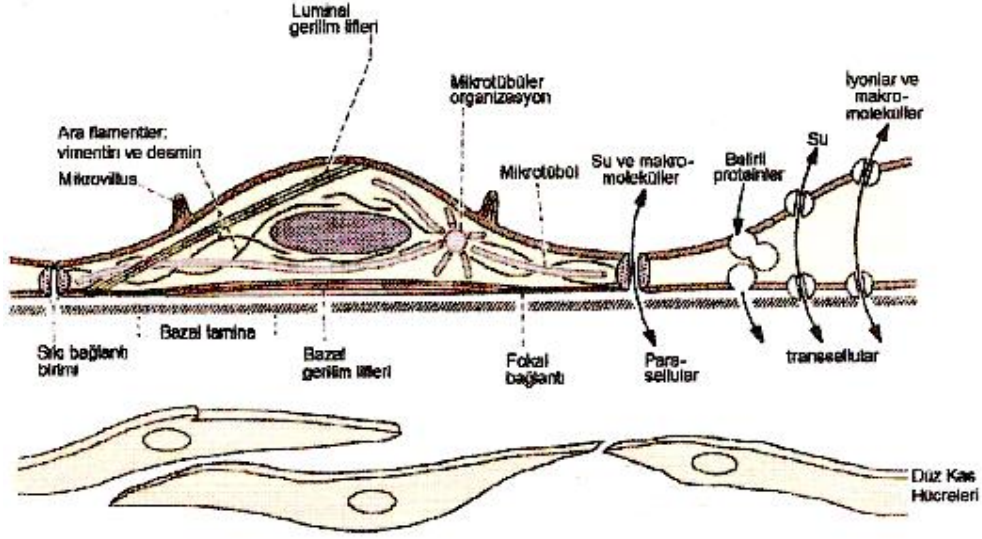
Endotel hücreleri birbirlerine sıkı bağlantı birimleri (tight junction) ve aralıklı bağlantı birimleri (gap junction) olmak üzere iki tipte bağlantı yaparlar [25, 26].

Sıkı bağlantı birimleri intrasellüler aralık boyunca permabilite kontrolünü sağlarken, aralıklı bağlantı birimleri ise hücreler arası etkileşmeyi gerçekleştirir. Bu bağlantılar her damarın işlevine göre farklı oranda bulunurlar. Örneğin; arteriollerde kuvvetli bağlantılar, venüllerde ise daha gevşek bağlantılar bulunmaktadır. Endotel hücrelerinin birbirine aralıklı bağlantı birimleri ile bağlandığı yerlerde subendotele geçirgenlik fazladır. Sıkı bağlantı birimleri ile bağlandığı yerlerde ise, geçirgenlik endotel hücre membranı tarafından kontrol edilmektedir. Endotel hücrelerinin farklı vasküler yataklarda farklı karakteristikler göstermesi, bazı işlevsel birimlerin oluşmasına neden olmaktadır. Örneğin; serebral damarlarda sıkı bağlantı birimleri kan beyin bariyerini oluşturmaktadır. Endotel hücre katmanı, kan ile dokular arasında selektif bir bariyer oluşturmaktadır [25, 27].

Büyük arterleri, venleri, kapilleri ve lenf yüzeyini döşeyen endotel hücrelerinde önemli yapısal ve işlevsel farklılıklar olmasına karşın temel fonksiyonları benzerlik göstermektedir. Bu hücrelerin vasküler lümene ve düz kas dokusuna bakan yüzeyleri de birbirinden farklıdır. Lümene bakan yüzeyleri, ince bir proteoglikan (Dermatansülfat, Heparansülfat, Heparin) tabaka oluşturur. Endotel hücreleri tarafından sentez edilen bu proteoglikanlar antitrombotik yüzeyi oluşturmaktadır [25].

Endotelyumun altında iyi gelişmiş endoplazmik retikuluma sahip düz kas hücrelerinden oluşan bir neointimanın varlığı saptanmıştır. Neointimanın hücreler arası boşluklarının proteoglikan ve bazal lamina benzeri maddeler içerdiği gözlemlenmiştir. F-aktin için yapılan boyama intimal düz kas hücrelerinin, mediadaki sirküler düz kas hücrelerine dik ve endotel hücreleri ile aynı yönde uzandığını ortaya koymuştur [26, 28]. Hücresel iskelet endotel hücrelerinin biçimlerini korumada önemli rol oynar (Şekil 1.3). Ultrastrüktürel incelemeler endotel hücre iskeletinin; gerilim lifleri, mikrotübüller ve ara filamentler olmak üzere üç farklı tipte sitoplazmik liflerden oluştuğunu göstermiştir.

Bütün bu lifler hücreye biçim veren dinamik bir çatıyı oluşturmakla beraber hücrenin üç boyutlu yapısında hızlı değişmelere de olanak vermektedir. Endotelyumu oluşturan hücrelerin yapısı ve dış etkilere karşı reorganize olma yeteneği, onun endotel bütünlüğünün devam ettilmesinde kritik ve önemli görevlere sahip olduğunu göstermektedir [29, 30].



Şekil 1. 3. Damar endotelyum hücre iskeleti.

### 1.3.1. Endotelyum Hücre Fonksiyonları:

Endotel hücreleri, salgıladıkları medyatörler ile koagülasyonu, fibrinolizisi, damar tonusunu, dolayısıyla kan akışı ve kan basıncını etkileyip çeşitli fizyolojik ve patolojik olaylarda rol oynayan aktif hücrelerdir [31].

Endotelyum hücre fonksiyonlarını beş bölüm altında özetleyebiliriz [28];

1. Kontrol edilemeyen makromoleküllü protein ve lipoproteinlerin çevre dokuya infiltrasyonuna karşı seçici bariyer görevi görmesi.
2. Dolaşımda bulunan lipoproteinlerin metabolizmasına katılıp, subendotelyal bölgeye geçecek lipoproteinlerin tipine karar vermesi.
3. Trombosit agregasyonu ve trombolizi önlemek
4. Gevşetici ve kastırıcı maddeler salarak vasküler tonusun düzenlenmesine katkıda bulunmak.
5. İmmünkompetan hücrelerle birlikte savunma mekanizmalarına katılma görevi.

Eskiden sanıldığı gibi endotelyum, dokularla kan arasında bulunan basit bir bariyer değil, tam aksine sentezlediği ve salgıladığı mediyatörlerle vasküler hemostazda çok önemli rol oynayan ve vücudun her tarafına yayılmış bir organ niteliğinde olduğu artık bilinmektedir.

Gaz geçirgenliği oldukça fazla olan endotel katmanının sıvı geçirgenliği ise oldukça azdır. Fizyolojik koşullarda solunum gazları, su, glikoz, yağ asitleri, aminoasitler ve aterojenik olmayan küçük lipoprotein molekülleri arter endotelinden geçerler. Makromoleküller, intrasellüler taşıyıcı vezikülleri ile geçer. Bunun için endotel membranında transendotelyal kanallar mevcuttur.

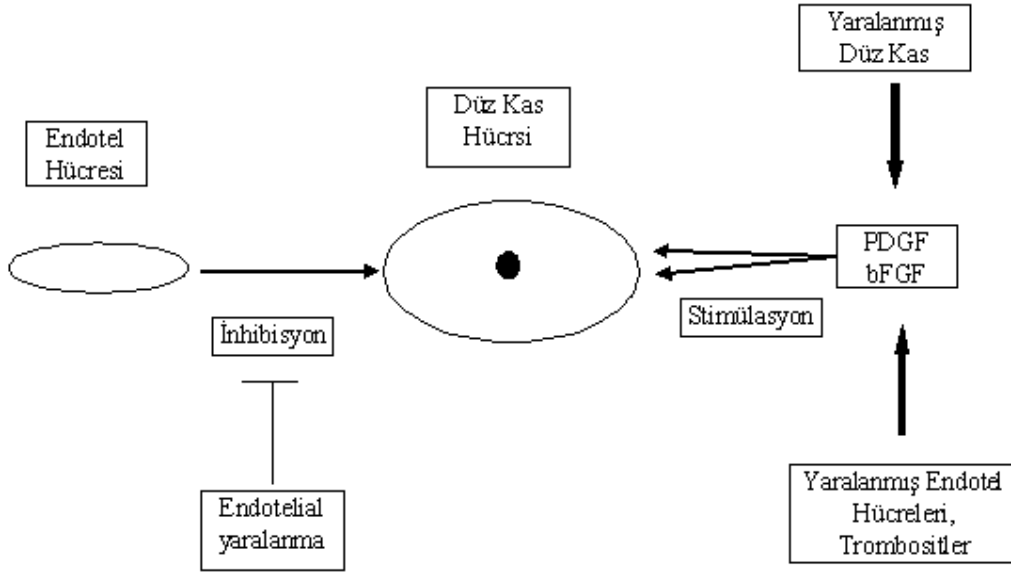
Endotel hücresi bulunduğu yere göre değişik yapı ve etkide hemostaz vazoaktivite immun reaksiyon ve iltihabi olaylarda görev alır. Bu görevleri ile ilgili çok sayıda mediyatör salgılayıp sentezlemektedir. Adeta çok fonksiyonlu bir salgı hücresi olarak iş yapmaktadır. Endotel hücresi, salgıladığını bildiğimiz birçok biyoaktif madde ile vasküler tonus, hücre proliferasyonu, kan pıhtılaşması, inflamasyon ve damar geçirgenliğini düzenlenmektedir [32, 33].

### ***1.3.2. Endotel Hücre Hasarına Damarın Yanıtı:***

Endotel hücreleri vasküler tonusu kontrol eden pek çok vazoaktif maddeler salgılamaktadır. Bu hücreler, gerek lümen içi basınç ve sürtünmedeki değişikliklerden, gerekse kanın şekilli elemanlarından kaynaklanan uyarılar ile vazokonstriktör veya vasodilatasyon şeklinde dengeli bir cevabı intakt endotelde oluştururlarken, aterosklerotik bir damarda bir dizi fizyopatolojik olayın gelişmesine yol açarlar. Arter duvarında iki tip hasar meydana gelir. Birincisi mekanik hasardır. Arterin diseksiyonu, süttürasyonu, endarterektomisi, trombektomisi ve luminal anjioplastisi sonrası meydana gelir. İkicisi ise arteriel olmayan yapıların implantasyonu sonrası görülür (Sentetik greftler, stentler, otolog ven greftleri) [34].

Her arteriyel rekonstrüksiyon işlemi bir miktar endotel hasarına neden olmaktadır. Bu hasarın en yaygın nedeni greftin çıkarılma işlemi ve anastomoz sırasında çeşitli derecede travmatize olmasıdır. Endotel hasarına intimanın yanıtı subendotelyal fibroproliferasyon ve neointima oluşması şeklindedir. Bu intimal neoplastik yanıt travma sonrası damar onarımının bir parçası olmakla beraber, bazı durumlarda gereğinden şiddetli olabilmektedir. Aşırı neointima proliferasyonu, endotelin antikoagülan özelliğinde bozulma, lümen daralma sonucu, kan akımı azalmakta ve bazı vakalarda trombozis oluşabilmektedir [35].

Arteriyel hasara intimal yanıt üç aşamada oluşur. İlk 24 saat içindeki reaksiyon mediada düz kas hücre proliferasyonudur. Endotel hasarı ile birlikte trombositler damar duvarına yapışmakta ve giderek çoğalmaktadır. Damar duvarına yapışan aktive olmuş trombositlerden büyüme faktörleri gibi mitogenler salgılanmakta bu da düz kas hücrelerinin intimaya migrasyonuna neden olmaktadır. İkinci aşama 3-14 gün sonra başlar ve böylece neointima şekillenir. Neointima bir kez oluşunca düz kas hücreleri ile hızla ve lümeni daraltacak bir tabaka oluşması ise 3. aşamada olur [36, 37]. İntimal hiperplazinin birinci basamağı düz kas hücre proliferasyonu, ikinci basamağı ise proliferen olan düz kas hücrelerinin intimaya göçüdür.



**Şekil 2.1.** Endotel kaybında intimal kalınlaşma.

Endotel bariyerinin kalkması sonucu büyüme faktörlerinin düz kas hücrelerine ulaşmasının önündeki engel kalkar. Öte yandan endotel hücrelerinin düz kas hücreleri üzerindeki proliferasyonu inhibe edici etkisi ortadan kaybolur. Sonuçta düz kas hücreleri endotelin olmadığı yere göç edip, orada çoğalmasına devam eder.

Media tabakasında düz kas hücre proliferasyonu ve intimaya migrasyonunun iki farklı büyüme faktörü tarafından tetiklendiği gösterilmiştir. Bunlar temel fibroblast büyüme faktörü (basic fibroblast growth factor; bFGF) ve trombosit kaynaklı büyüme faktörü (platelet derived growth factor; PDGF)'dür. bFGF hasarlanmış düz kas hücrelerinden ve

endotel hücrelerinden salgılanır, düz kas hücre proliferasyonunu regüle eder. PDGF ise trombosit ve vasküler hücrelerden salgılanır, düz kas hücre proliferasyonu ve migrasyonunu sağlar [36].

Düz kas hücresinin büyümesini damar duvarında ya da dolaşımda bulunan bir grup otokrin ve parakrin faktörler ve basınç gibi fiziksel kuvvetler stimule eder. Normal damarda NO, Adenozin, gibi büyüme inhibitörleri; PDGF, FGF, insülin benzeri büyüme faktörü, TGF-beta, anjiotensin 2 ve endotelin gibi büyüme faktörleri bir denge halindedir. Bu dengenin bozulması düz kas hücre proliferasyonuna neden olur.

Düz kas hücrelerinin anormal büyümesinin, büyüme faktörleri üretiminde artma veya inhibitörlerin azalması sonucunda meydana geldiği düşünülmektedir [38].

İntimaya ulaşabilen hücrelerin sayısı hasar sonrası mediada sağ kalabilen hücre sayısı ile ilişkilidir. Normalde hücreler, arteriel ekstraselüler matriks ile sıkı ilişki halindedirler. Bu sıkı ilişki integrinler gibi sellüler membran reseptörleri ile sağlanır. Bu temas hücre reseptörlerinden nukleusa sinyali iletir ve hücre sağkalımını sağlar. Hücre kaybı sonucu kontakt durunca sinyal durur ve hücre ölümü olur. Bu olay sonunda büyüme faktörleri intimal kalınlaşmayı uyarır. Endotelde oluşan hasar bölgesi 3 cm'den büyük ise kenarlardan başlayan endotel repopulasyonu hiçbir zaman hasarlı arteriel segmentin orta bölgesine ulaşamamaktadır. Bu alanda düz kas hücre proliferasyonu devam etmektedir. Bu sonuçlar; endotelin tekrar sağlanması ve korunmasının intimal hiperplazi kontrolünde önemli olduğunu göstermektedir [34].

Kronik endotel travmalarında endotel hasarı özellikle damarların bifurkasyon ve dallanma bölgelerinde olmaktadır. Dallanma yerlerinde ya da hemen ötesinde oluşan mekanik stresler endotel ve damar düz kas davranışlarını belirleyen en önemli stimuluslardır. Kanın damar duvarına uyguladığı basınç ve shear stres tetikleyici karakter taşımaktadır. Shear stres artışı ateroskleroz oluşumuna yol açması yanında endotelden prostosiklin ve NO (Nitrik Oksit) oluşumunu da artırmaktadır.

### **1.3.3. Balon Hasarına Arteriyel Cevap:**

İnsanlarda balon hasarı sonrası endotel ile ilişkili patofizyolojik cevaplar otopsi uygulamaları dışında mümkün olmadığından in vivo araştırmaların hepsi hayvan modellerinde araştırılmıştır. Vasküler duvarın yapısal ve fonksiyonel özelliklerinin sürdürülmesinde düz kas hücreleri ve endotelial hücrelerin bütünlüğü kritik rol oynamaktadır. Hasar sonrası gelişen histopatolojik olaylar incelendiğinde 3 evre görülür:

inisial (hasar-24saat), migratuar (3-7gün) ve proliferatif (7gün-3,4hafta). Balon kateterizasyonu ile oluşturulan arteriyel hasarlanma, müsküler arterlerin intimasında trombosit adezyonunu ve progresif düz kas hücre proliferasyonunu uyarmaktadır [39]. Vasküler yüzey deendotelize edildiğinde bir dizi olay birbirini takip eder. Deendotelize edilmiş bölgeler derhal trombosit kümesi ile kaplanır. Bu trombüsler rezorbe olur ve inflamatuar hücreler erkenden infiltre olurlar. Trombositler, daha sonraki günler içinde damar lümenine doğru ilerleyen rejenere endotelyum ile yer değiştirir. Aynı zamanda media içinde yer alan düz kas hücreleri proliferere olmaya başlar. Bu olaylar trombosit kaynaklı faktörlere değil, direkt olarak endotelin deendotelizasyonuna bağlıdır. Bu hücreler intimaya doğru göç eder ve bir yandan proliferasyona devam ederken, aynı zamanda büyük miktarlarda da ekstrasellüler matriks sentezleyip sekrete ederler [1, 39]. Bu süreçte endotelial tekrar büyüme tamamlanır ve düz neointima 2-3 hafta içinde hasarlı bölgeyi kaplar. More ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada, tavşanlarda balon ile oluşan hasardan 3 gün sonra reendotelizasyonun başladığını ve 14. günde bu sürecin tamamlanarak eksantrik intimal kalınlaşma oluştuğunu rapor etmişlerdir. Ekstrasellüler matriks birikimine bağlı olarak 1. ayda intimal kalınlaşmanın maksimum seviyeye ulaştığı ve 3 ay içinde azalma olduğu tespit edilmiştir [40]. Hasara cevapta endotel iki önemli noktada hayati rol oynar: Birincisi endotelin ortadan kalkması mitojenik cevabın oluşmasına izin verir, ikincisi normal endotelin tekrar oluşması daha ileri proliferasyonu inhibe eder.

#### **1.3.4. Arteriyel Akıma Ven Duvarı Adaptasyonu:**

Arteriel sisteme implante edilen tüm venler implantasyon sonrası dört–altı hafta içinde intimal kalınlaşma göstererek lümeni yaklaşık %25 daraltırlar. Bu nadiren belirgin stenoza neden olur. Fakat intimal hiperplazi ileride greftte ateroma oluşmasına neden olur. Venöz bypasslarda intimal hiperplazinin esas nedeni hemodinamik stesdir. Greftin venöz yoldan arteriyel yola geisinde (arteryalizasyonda) adaptasyon mekanizması ile intimal kalınlaşma oluşur. Ven greftleri yeniden venöz yola dönerse oluşan değişikliklerde gerilme meydana gelir. Bu remodiligi sırasında TGF-alfa salınımı artmaktadır [35].

Venöz bypasslardan hemen sonra endotele (oğunlukla anastomoz hattında ve ven endotelinin mekanik hasara uğradığı bölgelerde) trombosit, lökosit yapışır ve mikrotrombüsler oluşur. İki hafta içinde ven greftlerindeki ve anastomozdaki endotelin döküldüğü yerler tamamen reendotelizasyonla yenilenir. Bu dönemde düz kas hücrelerinin uyarılması ile intimal kalınlaşma başlar ve 4 haftada maksimal düzeye ulaşır. İlk 4 haftadan

sonra düz kas hücre proliferasyonu durur ve ekstrasellüler matriks artmaya başlar. Onikinci haftada duvar kalınlığı maksimal olur. İntimal hücrelerinin proliferasyonu ven lümeninin arter lümenine uygun hale geldiği dönemde durur [41].

### **1.3.5. Sentetik Greftlerde İntimal Kalınlaşma:**

Altmış mm porları olan poröz sentetik protezlerin (PTFE v.b) luminal yüzlerinde intimal kalınlaşma gözlenmektedir. Damar duvarına transvers olarak uygulanan shear stresler; arteriel akıma poröz protezlerin adaptasyonunda belirleyicidirler. İntimal hiperplazi geliştiği zaman grefte uygulanan shear stres arttırılırsa intimal hiperplazi kalınlığı azalır [42]. Artmış shear strese yanıt olarak endotel hücreleri artmış düzeyde NO sentez ederler. NO akut damar dilatasyonundan sorumludur. Düz kas hücresi ölümünü indükler ve MMP (Matriksmetalloproteinaz) gibi proteolitik enzimleri aktive eder. Sonuç olarak intimal kitle; düz kas hücreleri ortadan kalkması ve ekstrasellüler matriksin lizise uğraması nedeniyle azalır.

Yapılan çalışmalarda prostetik greft kullanılan olgularda otolog ven kullanılanlara göre intimal hiperplazi gelişme oranı daha yüksek bulunmuştur. Arter duvarı ve greftin mekaniksel özellikleri arasındaki farkların anastomozdaki intimal hiperplaziyi artırdığı düşünülmektedir. İntimal kalınlaşma en sık olarak sütür hattında ve ayrılma yüzeyinde meydana gelmektedir. Nedeni bu bölgedeki laminar akım durağan bölge ve hiperkompliyans alanları olarak gösterilmiştir. Anastomoz modellerinde egzersizi stimüle etmek için akım oranları ve pulsatil frekansları artırılmıştır. Bu sayede intimal hiperplazi oluşum oranının azaldığı gösterilmiştir [43, 44].

### **1.3.6. İntimal Hiperplazi Etiyolojisi:**

İki teori vardır.

- ◆ İnjurye cevap teorisi
- ◆ Reaktif-adaptif remodeling teorisidir.

Kan akımında veya kan basıncındaki değişikliklere arterlerin adaptif cevapları; genişleme, arter duvarının yapısal ve kompozisyon değişiklikleri şeklinde olur.

**Duvar Shear Stress:** (arter duvarına longitudinal gelen stres)

Endotelyal yüzeye shear stress kan akımı ile direkt, lümen çapının üçüncü kuvveti ile ters orantılıdır. Shear stress ( $T_w$ ) = viskozite x akım / çap<sup>3</sup> tır. Böylece çaptaki küçük azalmalar



bile duvar shear stresinde büyük artışlara neden olabilir. Shear stresdeki artış nedeniyle endotelden akut cevap olarak nitrik oksit (NO) salgılanır. Shear stresin normal değeri 15 dyne/cm<sup>2</sup> dir. Kan akımındaki artışın neden olduğu Tw artışına engel olmak için damar çapı artar. Deneysel AV fistüllerde; kan akımı 10 kat artarken, shear stres 3 kat artar ve adaptif cevap olarak 24 saat içerisinde damar çapı genişler. Dördüncü haftanın sonunda damar genişlemesi iki kata ulaşır ve böylece shear stres normale döner. Buna karşılık; kan akımı ve shear streste kronik azalmaya cevap olarakta lümen çapı azalır ve Tw normale döner. Damar çapındaki bu azalma intimal hiperplazi ile olmaktadır.

İntimal hiperplaziyi aktive eden faktörler ise:

- ◆ Tw azalması
- ◆ Akım dallanması
- ◆ Ossilasyon (kardiak dp/dt, nabız basıncı) dur.

**Duvar Tensile Stress:** (tanjansiyal stres); arter duvarına transvers gelen basınç yükü:

Damar duvar kalınlaşması duvar tensile stres ile ters orantılıdır. Duvar tensile stres kan basıncı ve çap ile direkt orantılıdır.  $T_s = P \times r / d$  (duvar kalınlığı) dir. Arter kan basıncındaki artış  $T_s$ 'yi artırır. Adaptif cevap olarak ( $T_s$ 'nin artması sonucu) duvar kalınlığında artış ortaya çıkar ve damar duvarının yapı ve kompozisyonunda değişiklikler gözlenir. Damar içindeki basıncın değişmesi sonucu  $T_s$ 'de oluşacak değişikliklerin adaptasyon olarak oluşan duvar kalınlaşmasındaki değişikliğe en iyi örnek postpartum pulmoner ve aort değişiklikleridir. Doğumdan sonra aort basıncı yükselir ve aort duvarı kalınlaşır. Pulmoner basınç düşer ve pulmoner duvar çap değişmeden ince kalır. Arteriyel yatağa konan ven greftlerdede; hem basınç artışına cevap olarak tensile stress arttığından duvar kalınlığı artacaktır, hem de shear stresin düşmesine (çünkü safen çapı artere göre büyüktür) sekonder olarak çap azalacaktır. Bu iki mekanizmada intimal hiperplaziyi başlatacaktır. Sonuçta arterlerin adaptif cevapları:

- ◆ Lümen çapının shear stres regülasyonu.
- \*Shear stres azalmış ise intimal hiperplazi olur
- \*Shear stres artmış ise dilatasyon olur
- ◆ Tensile stres regülasyonu ile dir.

Basınç artması (ven greftin arteriyel yatağa konması) ve lümen çapı artması (küçük artere büyük ven) durumlarında intimal hiperplazi olur [42,44].

İntimal hiperplazinin gelişmesindeki adaptif mekanizmanın amaçları;

1. Shear stresi artırmak ( $T_w = \text{akım} / w_t$ , akımı arttırmalı)

2. Duvar tensile stresi azaltmak ( $T_s = P \times r / WT$ , basıncı ve greft çapını azaltmalı).

Yani; arter yatağı konan ven greftlerde akım iyi, çap arter çapına yakın olmalıdır.

### ***İntimal Hiperplastik Cevap:***

Kan ve damar duvarının etkileşiminde endotel arter duvarı homeostazda potansiyel düzenleyici olarak görev yapar. Endotelden; vasküler tonusu, antikoagülasyonu ve inflamatuvar cevabı düzenleyen faktörler salgılanır. Endotelyal hücreler; düz kas hücrelerinin proliferasyonu, büyümesi, migrasyonu ve ölümünü kontrol eden faktörler salgılar. Aynı zamanda intima ve ekstrasellüler matriksin kontrolünü de yapar. İntimal kalınlaşmayı oluşturan komponentler düz kas hücreleri ve ekstrasellüler matriks (kollajen, elastin, proteoglikan) dir.

İntrauterin kan damarlarının oluşumunda düz kas hücrelerinin oluşumu ve organizasyonunu endotelin oluşması takip eder. Eğer endotel oluşması engellenirse damar gelişmesi olmaz.

### ***Endotel Hücrelerinin Yokluğunda Damar Duvarı Adaptasyonu:***

İnjüriden sonra trombositler adhere ve degranüle olurlar. 24 saat sonra mediada düz kas hücresi proliferasyonu başlar. Düz kas hücre sayısındaki artış günde normaldeki %0.06 dan %10-30'a çıkar. Dört gün sonra mediadan intimaya göç başlar. Bazı hücreler intimaya geldikten sonrada proliferasyon devam eder. Ekstrasellüler matriks de (kollajen, elastin, proteoglikan) artış başlar ve 3 ay sonra intimanın %20'si hücreden, %80'i ekstrasellüler matriksten oluşur. İntimal hiperplazinin endotelle örtülmesi düz kas hücrelerindeki proliferasyonu inhibe eder. Eğer hasarlı bölge 3 cm.den fazla ise; tümüyle neointima gelişemeyeceği için hasarın santral bölgelerinde düz kas hücreleri kanla direkt temas eder ve proliferasyon uyarılır. İntimal hiperplazinin ilk basamağı düz kas hücresi proliferasyonu, ikinci basamağı migrasyondur. Bu basamakları uyaran faktörler; fibroblast büyüme faktörü (FGF) (hasarlı endotelden ve düz kas hücrelerinden salgılanır ve esas olarak düz kas hücrelerinin proliferasyonunu yapar), platelet kaynaklı büyüme faktör (PDGF) (trombosit  $\alpha$  granüllerinden ve endotelden salgılanır), PDGF-BB (düz kas hücresi migrasyonu), PDGFAA (düz kas hücre proliferasyonu) dır. Transforming büyüme faktör (TGF) ve angiotensin-II migrasyona etki ederler.

Proteazlar proliferasyon ve migrasyon üzerine etkilidirler. İki tip proteaz bildirilmiş olup, bunlardan *Plasminojen aktivatörler olan*; doku plazminojen aktivatör (tPA) ve ürokinaz düz kas hücrelerini proliferere ederlerken, aynı zamanda PDGF ve FGF plasminojen

aktivatörlerini aktive ederek intimal kalınlaşmayı da artırır. tPA üretiminde azalma kalınlaşmayı geriletir. *Metalloproteinaz ise*; migrasyonu artırmaktadır. Böylece proteolitik ve antiproteolitik dengenin endotel tarafından kontrolü intimal hiperplazide önemli rol oynar. İnsülin benzeri büyüme faktör (IGF) ve TGF de migrasyona etkilidir. T lenfositlerinden salgılanan interferon- $\gamma$  proliferasyonu inhibe eder. Endotel rejenerasyonu ise proliferasyonu inhibe eder. Endotel hücreleri büyüme faktörlerinin (BF) düz kaslara girişine karşı bariyer oluşturur. Endotel ayrıca düz kas hücre proliferasyonunu inhibe eden maddeleri (heparan sulfat, NO vs. gibi) sentez edip salgılar.

### ***Endotel Hücrelerinin Varlığında Damar Duvarı Adaptasyonu:***

Venöz bypasslarda intimal hiperplazinin esas nedeni hemodinamik stress dir. Greftin venöz yoldan arteryel yola geçişinde (arteryalizasyonda) adaptasyon mekanizması ile intimal kalınlaşma oluşur. Ven greftleri yeniden venöz yola dönerse oluşan değişikliklerde gerileme meydana gelir.

Venöz bypass lardan hemen sonra endotele (çoğunlukla anastomoz hattında ve ven endotelinin mekanik hasara uğradığı bölgelerde) trombosit, lökosit yapışır ve mikrotrombüsler oluşur. İki hafta içinde ven greftlerindeki ve anastomozdaki endotelin döküldüğü yerler tamamen reendotelizasyonla yenilenir. Bu dönemde düz kas hücrelerinin uyarılması ile intimal kalınlaşma da başlar ve 4 haftada maksimal düzeye ulaşır. İlk 4 haftadan sonra düz kas hücrelerinin proliferasyonu durur ve ekstrasellüler matriks artmaya başlar. Onikinci haftada duvar kalınlığı maksimal olur. İntimal düz kas hücrelerinin proliferasyonu ven lümeninin arter lümenine uygun hale geldiği dönemde durur.

Diğer taraftan intimal hiperplaziyi idare eden hemodinamik faktörler ise:

- ◆ Damar tensile stres ve
- ◆ Damar shear stres'dir.

Tanjansiyal (tensile) stres; damarın çevresinde artışa neden olan basınç yüklenmesidir. Bu stres'i oluşturan komponentler: Basınç x çap/duvar kalınlığıdır. Tanjansiyal (tensile) stresi azaltmak için vasküler adaptasyon damar duvar kalınlığını artırmaktır, yani intimal hiperplazidir. Tanjansiyal (tensile) stresi azaltmak için ven greftleri eksternal olarak rijit sentetik greftlerle desteklenirse intimal hiperplastik cevap azalır. Shear stres'i oluşturan komponentler: Akım x vizkozite/çap tır. Kan akımının artması shear stressi artırırken, duvar kalınlığını azaltır.

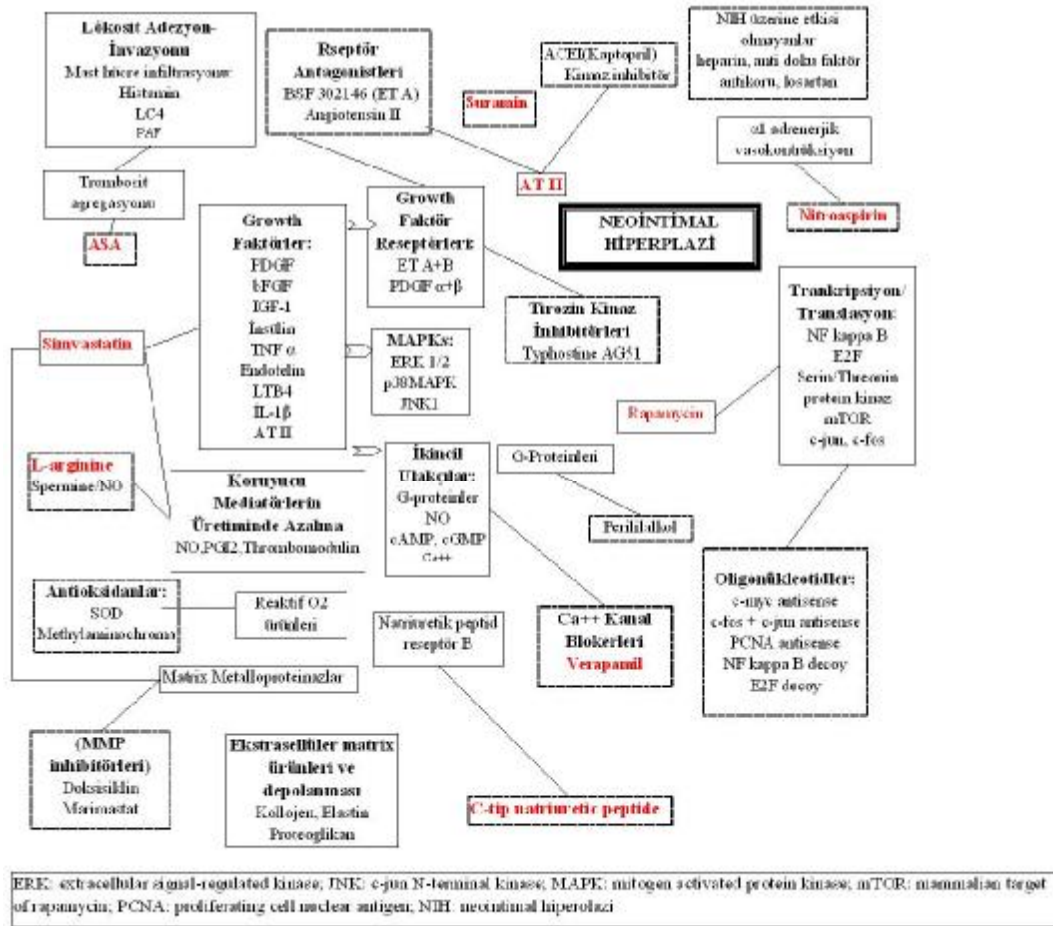
Shear stresin azalması (çapın artması ve akımın azalması gibi geniş çaplı safenin run-off'u iyi olmayan arter yatağa konması) intimal kalınlaşmayı uyarır. Shear stresteki artış damar endotelinde NO sentazın uyarılması ile arter duvarında siklik guanosine monofosfatı (cGMP) arttırarak NO oluşumunu arttırır. Sonuç olarak NO'nun artması ile aşağıdaki olaylar gelişir: [42].

- ◆ İntimal kalınlaşma azalır
- ◆ İntimadaki hücre sayısı azalır
- ◆ Düz kas hücreleri proliferasyonu inhibe olur
- ◆ Hücre ölümüne yol açar
- ◆ Endotel hücrelerindeki adezyon moleküllerinin salınmasını ve inflamasyonu azaltır.
- ◆ Fibroblastlardan kollajen salınımı azalır.

Ven greftindeki endotel asla arter endoteli gibi fonksiyon görmez. Bu endotelin prostasiklin, EDRF ve NO salınımı daha az, TxA2 üretimi daha çoktur. PTFE protezler 3 hafta içinde komple endotelize olurlar [42].

Sonuç olarak neointimal hiperplaziyi önlemede kullanılan farmakolojik yaklaşımları yukarıdaki bilgiler ışığında aşağıda sıralanan temel mekanizmalar üzerinden özetleyebiliriz [45].

1. Reaktif oksijen ürünleri
2. Nitrik oksit ve prostasiklin
3. Endotelin
4. Trombosit kaynaklı büyüme faktörü
5. Angiotensin
6. Matriks metallaproteinazlar
7. Kalsiyum
8. G proteinleri
9. Mitojen aktive eden proteinkinazlar

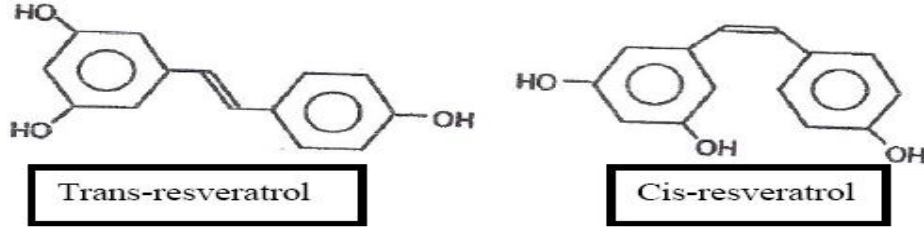


Şekil 2.2 Neointimal hiperplaziyi önlemede farmakolojik yollar [45].

#### 1.4. RESVERATROL:

Resveratrol, travmatik zedelenme veya fungal saldırılara karşı bitkiler tarafından sentezlenen flavonoid yapıda polifenolik bir fitoaleksindir. Fitoaleksinin denilen maddeler patojenik mikroorganizmalara karşı bitkiler tarafından korunma amaçlı üretilen kimyasal maddelerdir. “*Polygonum cuspidatum*” kökleri tarafından sentezlenir ve geleneksel doğu tıbbında bu bitkinin kökleri uzun zamandır kullanılmaktadır. Japonya ve Çin’de Kojo-Kon yada İdatori çayı denilen bitkinin yapraklarının kurutulmasıyla yıllardır hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır. Trans-resveratrol 1976 yılında Langcake ve Pryce tarafından “*Vitis vinifera*” bitkisinden izole edilmiştir ve bu araştırmacılar bileşiğin genellikle *Botrytis cinerea* adlı mantarın saldırısına karşı veya ultraviyole ışığa maruz kalan bitkinin yaprak dokularında üretildiğini bulmuşlardır [46]. Resveratrol, 1992 yılında Siemann ve Creasy adlı

araştırmacıların resveratrolün kırmızı şarabın içinde bulunduğu ve fransız paradoksunun yaratıcısı olduğunu iddia etmeleriyle dikkati çekmiştir [44]. 3, 4', 5 trihidroksistilben ve 3, 4', 5 stilbenetriol adları ile bilinen resveratrol cis- ve trans- izomerik formlarında bulunur, ancak cis-izomeri üzüm ekstralarında bulunamamıştır. Resveratrol viniferinler isimli polifenol ailesinin ana molekülüdür.



**Şekil 2.3.** Resveratrolün kimyasal yapısı.

Resveratrolün molekül formülü  $C_{14}H_{12}O_3$  'tür ve molekül ağırlığı 228,25 Dalton'dur [46]. Resveratrol en çok üzüm kabuğunda bulunmakla beraber üzüm meyvesinde ve yaprak saplarında, kökte, çekirdekte, yer fıstığında, yer fıstığı yağı, şam fıstığı, yaban mersini, nar, karadut, siyah çikolata, kakao likörü, kırmızı şarapta, dut meyvesinde ve "*Polygonum cuspidatum*" bitkisinin kök ve gövdesinde bulunur [46]. 72 adet bitki türünde bulunan bir fitoaleksindir (bitki antibiyotiği). Ladin ve okaliptus ağaçlarında da bulunmaktadır.

#### **1.4.1. Biyolojik Aktivite.**

Hiperlipidemik diyetle beslenen ratlarda, resveratrolün triaçilgliserol ve kolesterolün karaciğer tarafından akümülyasyonunu inhibe ettiği ve peroksitlemiş yağla beslenen ratlarda karaciğer hasarını önlediği gösterilmiştir [47,48]. Bertelli ve arkadaşları resveratrolün biyoyararlanımı ile ilgili yaptıkları çalışmada 26 µg akut resveratrol dozu ve 15 günlük bir süreçte 13 µg'lık doz uygulaması yapılarak bileşiğin hızla kana geçtiği ve tetkikinin mümkün olduğunu göstermişlerdir [49]. Aynı grup, kardiyak biyoyararlanım ve böbrek ile karaciğere güçlü afiniteyi kanıtlamışlar; resveratrolün hem in vivo hem de in vitro düzeyde farmakolojik olarak aktif olduğunu göstermişlerdir [50]. Resveratrolün temel biyolojik aktiviteleri tablo 3.1' de özetlenmiştir [46].

**Tablo 3.1. Resveratrolün Temel Biyolojik Aktiviteleri**

1. Lipid peroksidasyonunun inhibisyonu (LDL, membranlar)
2. Bakır şelasyonu
3. Serbest radikal süpürücü etki
4. Trombosit agregasyonunun inhibisyonu
5. Anti-inflamatuar aktivite
6. Vazorelaksan aktivite
7. Lipid metabolizmasının düzenlenmesi
8. Anti-kanser aktivite
9. Östrojenik aktivite

**Tablo 3.2. Resveratrolle Yapılan Aktivite Çalışmaları.**

Adhezyon molekül ekspresyon inhibisyonu	100 nM/1µ M	M Ferrero et al. [51].
Sitokrom P450 bağlı enzim aktivite inhibisyonu	<1µ M	Teel and Huynh [52].
İnsan endotel hücrelerinde eNOS artışı	1µ M	Leikert et al. [53].
İnsan endotel progenitör hücrelerinde eNOS ekspresyonu artışı	1µ M	Gu et al. [54].
Kompleks 3 ve mitokondrial membran koruma etkisi	100 nM/1	M Zini et al. [55].
Antiplatelet aktivitesi	1µ M	Bertelli et al. [56].
Plateletlerde CA kanal inhibisyonu	1µ M	Bertelli et al. [57].
Ventrikül miyositlerinde CA kanal antagonizması	1µ M	Liew et al. [58].
Ratlarda antiaritmik etki	1µ M	Zhang et al. [59].

Soğuk koruma sıcak reperfüzyon hasarına karşı koruma	1 $\mu$ M	Plin et al. [60].
Angiogenesis baskılaması(in vivo)	<1 $\mu$ M	Brakenhielm et al. [61].
İnsan endotel hücrelerinde NFkB üzerine bifazik etki	100 nM/1 $\mu$ M	Pellegatta et al. [62].
IL-8 gen transkripsiyon supresyonu	100 nM/1 $\mu$ M	Shen et al. [63].
Danmar düz kas hücrelerinde artmış iNOS ekspresyonu	100 nM/1	Cignarella et al. [64].

#### 1.4.1. Resveratrolün Vasküler Sistem Üzerine Etkileri.

Resveratrolün vazodilatasyon etkisinin mekanizmaları halen araştırılmakla birlikte, bu etki araşidonik asit metabolizmasının inhibisyonuna ve NO sentezinin indüksiyonuna bağlanmıştır [65]. Vasküler endotel, arter duvarının fizyolojik fonksiyonlarını sürdürmesinde, vasküler tonusun ayarlanması gibi, hayati öneme sahiptir [66]. Endotelial hücreler NO ve endotelin gibi vasküler düz kaslara etki ederek arteriyal damar tonusunu ayarlayan vazoaktif maddeler sentezler. Çeşitli mediatörler ve hormonlar (asetilkolin, bradikinin, insülin) ile aktivitesi artırılabilen NOS'a endotel cevabının ateroskleroz, obezite, tip II diabet, hipertansiyon ve hiperkolesterolemide bozulduğu gösterilmiştir [66]. L-NAME ile resveratrol-bağımlı vazorelaksasyonun önlenmesi, resveratrolün endotelden NO salınımı yoluyla etkisini gösterdiğini göstermiştir [66]. Nederalı ve arkadaşlarının domuzlarla yaptığı çalışmada, noradrenalin veya potasyum klorür ile kastırılmış arterlerde resveratrolün doz-bağımlı olarak hem rezistans hem de konduktan arterlerde vazodilatasyon yaptığı ancak rezistans damarlarda bu etkinin daha belirgin olduğu gösterilmiştir [65]. Resveratrolün vasküler etkilerinin hem endotel-bağımlı (düşük resveratrol konsantrasyonlarında belirgindir ve NOS inhibitörleri (L-NAME) ile bloke edilebilir.) hem de endotel-bağımsız (yüksek resveratrol konsantrasyonlarında açığa çıkar ve NOS inhibitörleri veya endotel hasarı ile bloke edilemez.) olduğu düşünülmektedir [65]. Endotel-bağımsız mekanizmada, resveratrolün vazodilatör etkileri olan cAMP ve cGMP yıkımını inhibe etmesi ve guanilil siklaz aktivasyonu öne sürülmüştür [67]. Endoteli alınmış aort parçalarında siklik nükleotid fosfodiesteraz inhibitörlerinin dilatasyonu indüklemesi bu fikri



doğurmuştur [65]. Resveratrolün ayrıca düz kas hücre membranı ile, bir membran reseptörü veya kalsiyum kanalları yoluyla, birleşerek vazorelaksan aktiviteyi indüklediği öne sürülmüştür [65]. Yapılan çalışmalarda resveratrolün domuz trakeal düz kaslarında antijen ile indüklenen kontraksiyonları, izole rat aortasında fenilefrin ile indüklenen kasıcı cevabı ve izole domuz koroner arterlerinde histamin veya flor ile indüklenen vazokonstriksiyonu değiştirdiği rapor edilmiştir [68]. Fang-Li ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada endotel hücrelerde resveratrolün geri-dönüşümlü olarak  $K^+$  dışı akım büyüklüğünü arttırdığı, konsantrasyon ve voltaj bağımlı olarak  $K^+$ -bağımlı büyük-konduktan  $Ca^{++}$  kanallarının ( $BK_{Ca}$ ) aktivitesini arttırdığı gösterilmiştir [68]. Yazarlar resveratrolle-indüklenen  $BK_{Ca}$  kanal aktivasyonunu, kanalın açık ve kapalı kalma sürelerindeki kısalmaya bağlamışlardır.  $BK_{Ca}$  kanal aktivasyonunun yarattığı membran hiperpolarizasyonu ve takiben  $K^+$  dışı akımının yarattığı myoendotelyal aralıkta  $K^+$  konsantrasyonunu arttırarak vasküler miyositleri hiperpolarize ettiği ve damar dilatasyonuna neden olduğunu iddia etmektedirler. Yazarlar, resveratrolün östrojen agonist etkisini göz önüne alarak, bir östrojen reseptör antagonisti olan tamoksifen kullanmışlar ve dışarı  $K^+$  akımının etkilenmediğini görerek vazodilatör etkinin östrojen reseptörlerinden bağımsız olduğunu ileri sürmüşlerdir [68].

Damar düz kas hücre DNA sentezini antimitotik aktivite ile doz bağımlı olarak resveratrolün azalttığı ve ratlarda aorta damar düz kas hücre proliferasyonunu NO yapımıyla östrojen reseptörleri üzerinden inhibe ettiği gösterilmiş [69]. Resveratrolün tavşanlarda aortada oluşturulan iskemi-reperfüzyon hasarında geçici spinal kort iskemisine karşı koruyucu olduğu gösterilmiş [70].

#### **1.4.2. Antioksidan Aktivite**

Düşük dansiteli lipoproteinlerin (LDL) özelliklerinin çoklu-doymamış yağ asitleri ile değiştirilmesi aterosklerozda önemli rol oynar [70]. Oksidasyon, LDL partiküllerinin, apo B proteinin içeriğini değiştirerek, apo B/E reseptör sistemi tarafından katabolizmasını engeller. Böylece fenolik bileşiklerce zengin yiyeceklerin koruyucu özellikleri antioksidan özelliklerine bağlanmıştır. Frankel ve arkadaşları, LDL'ye trans-resveratrol eklenmesinin bakırın katalize ettiği oksidasyonu azalttığını göstermişlerdir [71]. Resveratrol etkisini esas olarak bakırla şelasyon yaparak göstermektedir [72]. Resveratrolün her iki izomerinin de eşit oranda serbest radikal süpürücü etkisi vardır ancak cis- izomerinin şelat yapma

kapasitesi, trans- izomerinin yarısı kadardır. Resveratrol, membran lipidlerinin peroksidasyonunu inhibe eder, LDL'nin apo B proteinini okside etmesini önler ve apo B'nin intraselüler konsantrasyonlarını azaltır [73]. Kolesterol sentezinin hız kısıtlayıcı basamağı olan monooksijenazı inhibe ederek kolesterol biyosentezini azaltır [73]. Resveratrol, hücre membranlarını koruyarak yaşayan hücrelerde oksidatif stresin zararlı etkilerini azaltmaktadır [46]. Chanvitayapongs ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada resveratrolün antioksidan ve antimutajenik özelliklerinin yanında hücre ölümünü de azalttığı gösterilmiştir [74]. Endotelial hücrelerde TNF- $\alpha$  ile indüklenen ICAM-1, VCAM-1 ve TF gen ekspresyonlarını azaltır [68]. Resveratrolün, NF $\kappa$ B aktivasyonunu önleyerek endotoksinle indüklenen inflamasyonu azalttığı gösterilmiştir. NF $\kappa$ B aktivasyonu, iNOS'un lipopolisakkarit tarafından indüklenmesi için gereklidir [75].

#### **1.4.3. Trombosit Agregasyonunun İnhibisyonu**

Trombosit agregasyonu, araşidonik asitten sentezlenen eikozanoidlere bağlıdır. Siklooksijenaz yolağıyla güçlü bir vazodilatör ve trombosit agregasyonunu inhibe edici bir madde olan PGI<sub>2</sub> ve güçlü bir agregan ve vazokonstriktör olan TxA<sub>2</sub> sentezlenir. Ayrıca lipoksijenaz yolağıyla hidroksiasitler (HHT, HPETE, HETE) ve lökotrienler üretilir. Kimura ve arkadaşları, resveratrolün lipoksijenaz ürünleri ve TxB<sub>2</sub> üretimini inhibe ettiğini göstermişlerdir [46]. Bir başka deyişle resveratrol hem lökosit hem de trombositlerde AA metabolizmasını inhibe eder.

#### **1.4.4. Östrojenik Aktivite**

Resveratrol, östrojen reseptörüne bağlanarak onu aktive eder ve bu yüzden fitoöstrojen olarak da bilinmektedir. Trans-resveratrol ve dietilstilbesterol yapıca benzer [46].

#### **1.4.5. Anti-Kanser Aktivite**

Japonya'da *Yucca schidigera* ekstresi, bakteri hücrelerinde antimutajenik etki göstermiş ve ekstredeki resveratrolün hidroksil gruplarının bu etkiden sorumlu olduğu belirtilmiştir. Resveratrolün, karsinojenlerin detoksifikasyonu, hücre farklılaşmasının indüklenmesi, arilhidrokarbonları genotoksik metabolitlere metabolize eden enzimlerin inhibisyonu ve

arilhidrokarbon reseptör antagonizması, lösemi hücrelerinde ribonükleotid redüktaz inhibisyonu, p53 ve p21<sup>WAF1/CIP1</sup> tümör baskılayıcı gen proteinlerinin artışı, hücre siklusunun S ve G<sub>2</sub> aşamalarında durdurulması, COX-2 inhibisyonu gibi çeşitli antimitojenik özelliklerini vurgulanmıştır [46,76,77].

#### **1.4.6. Resveratrolün Farmakokinetiği:**

Resveratrolün büyük kısmı jejunumdan, az kısmı ileumdan emilir. Resveratrolün çoğu, glukuronid ve sülfat formlarına konjuge edilir. Resveratrolün ve konjugatlarının yalnızca % 6'sı barsak epitelini geçmektedir [78]. Resveratrol diyet ürünlerinde *cis* ve *trans* şeklinde bulunur. Glikozile formu 3-O-β-D-glukoziddir. Glikozilasyon resveratrolün enzimatik olarak oksidasyonunu önler ve böylece biyolojik etkinliğini korur, kararlılığını ve biyoyararlanımını artırır. Resveratrolün hidrofilik konjuge hale gelmesi kana geçişini, vücutta dağılımını ve ekskresyonunu kolaylaştırır. Resveratrol ve metabolitleri karaciğer ve safra kesesi tarafından kandan filtre edilerek safra ile barsaklara atılır. Daha sonra geri emilime uğrar. Resveratrol oral yolla alındıktan kısa süre sonra kolonda bulunur. Ancak dokulara dağılımı birkaç saat alır. Diyetle alınan oral dozun % 70'i plazmada resveratrol ve konjugatları şeklinde tepe noktaya erişir; yarı ömrü dokuz saattir. Değişmemiş resveratrol eser miktarda plazmada saptanır [79]. Resveratrolün hücre içi reseptörleri konusunda bilinenler çok azdır. Aril hidrokarbon reseptörüne (AhR) bağlanan digoksinin kompetitif antagonist olabileceği gösterilmiştir. Resveratrol, AhR'nin nukleusa translokasyonunu sağlamaktadır. Atılım zamanı plazmada bulunan resveratrolün konsantrasyonuna bağlıdır. Üretilen miktar ile atılan miktar arasında ilişki yoktur. Çok küçük miktarda glikozile olmayan resveratrol idrarda bulunur. Böbrekte başlıca doğal formda bulunurken, idrarda konjuge formu büyük çoğunluktadır [78].

#### **1.4.7. Resveratrolün Kardiyoprotektif Etkileri**

Kardiyak hasarın akut ve kronik modellerinde, resveratrol miyokardiyal iskemi reperfüzyon hasarının şiddetini azaltmaktadır [80]. Vazorelaksasyonda NO'nun doğrudan rolü resveratrol ile muame edilen pulmoner arter endotel hücre kültüründe nitrik oksit sentaz (NOS) etkinliğinde artış bulunduğu gösterilmiştir. Resveratrolün NOS üretimini etkileyerek

kardiyoprotektif etki gösterdiği de saptanmıştır [80]. Shen ve ark. [81] ratlarda iskemi/reperfüzyon (I/R) hasarında resveratrolün kardiyoprotektif etkilerini miyokardiyal nitrik oksit (NO) ve malondialdehit (MDA) parametreleri ile değerlendirmişlerdir. Resveratrol, I/R hasarı uygulanan ratlarda kalbi korumaktadır. Csiszar ve ark. [82]. resveratrolün insan koroner arter endotel hücrelerinde TNF- $\alpha$ 'nın indüklediği NF- $\kappa$ B aktivasyonunu ve enflamatuar gen ifadenmesini doza bağlı olarak inhibe ettiğini göstermişlerdir. Resveratrolün miyokardiyal enfarkt büyüklüğünü azalttığı ve iskemi sonrası ventriküler fonksiyonda önemli iyileştirmeler yaptığı gözlenmiştir [80].

Resveratrol in vivo antioksidan olarak fonksiyon görür, kalpte peroksil radikalini yakalayabilir ve bu yolla iskemi-reperfüzyon hasarından kalbi korur [83]. Brito ve ark [83]. Sığır aortik endotel hücresinde peroksinitritin aracılık ettiği endotel hücre toksitesinde resveratrolün değişik doz ve sürelerinin etkisini hücre canlılığı, okside ve redükte glutatyon düzeyi ile değerlendirmişlerdir. Resveratrolün peroksinitritin indüklediği oksidatif strese karşı hücre içi indirgenmiş glutatyon (GSH) düzeyini arttırarak kardiyoprotektif etki sağladığını göstermişlerdir. Resveratrolün iskemik-reperfüze kalpte apoptotik kardiyomiyositleri azalttığı gösterilmiş ve anti-apoptotik etkileri desteklenmiştir [80]. Resveratrol, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile oluşan apoptotik hücre ölümündeki artışa karşı endotel hücresini korur ve damarların oksidatif strese direncini arttırır [85].

## **2. MATERYAL VE METOD**

### **2.1. ÇALIŞMA PLANI:**

Randomize, kontrollü, deneysel bir araştırma olan çalışmamıza; Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Etik Kurulundan 06.06.2008 tarihinde 58/2008 protokol numarası ile izin alındıktan sonra başlanmış ve Deney Hayvanları laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

Çalışmamızda randomize olarak seçilen, ortalama 2-3kg ağırlığında 14 adet Yeni Zelanda tipi erkek tavşan kullanıldı. Çalışma süresi boyunca tüm denekler aynı yerde (20 $\pm$ 2C° sıcaklıkta, havalandırma tertibatı olan ve güneş ışığı alabilen bir oda) bakıldılar ve tavşan yemi ile beslendiler. Tavşanlara preoperatif kulak arkasında bulunan marginal venden branül takıldı (Resim 3.1.a). Deney günü tavşanlara anestezi olarak 50 mg/kg intramüsküler ketamin ve 5 mg/kg intramüsküler ksilazin uygulandı. Enfeksiyondan korunmak için

preoperatif olarak tavşanlara 50mg/kg dozunda sefazolin intravenöz yol ile antibiyoterapi uygulandı. Cerrahi sırasında daha iyi görüş sağlamak amacıyla deneklerin insizyon yapılacak bölgeleri tıraş edildi ve batikonla dezenfeksiyon sağlandı. Çalışmadaki tüm anastomozlar aynı araştırmacı tarafından yapıldı. Bütün deneklerde anastomoz için sağ taraf karotis arteri, kontrol için ise sol taraf karotis arteri kullanıldı. Sterilizasyon sağlanarak uygun pozisyon verildi ve tüm grup tavşanlara vertikal sağ taraf boyun insizyonu yapılarak karotid arter eksplore edildi (Resim 3.1.b). Daha sonra karotid arter diseke edilerek, 100 IU/kg dozda İ.V heparinizasyon yapıldı. Karotis arteri proksimal ve distalinden bulldog klemple klemlendi (Resim 3.2.a). Aynı arter transekte edildi (Resim 3.2.b). Daha sonra 8/0 polipropilen sütür ile continu teknikle anastomoz tamamlandı (Resim 3.3) ve dokular anatomik planda kapatıldı. İşlem esnasında 3.5 büyütme loop kullanıldı. Tavşanlar 2 gruba ayrıldı. Grup A tavşanlar kontrol grubuydu. Grup B'deki deneklere ondört gün 1mg/kg/gün dozda resveratrol intravenöz olarak uygulandı. Yirmisekizinci gün sonunda anastomoz yapılan taraf ve anastomoz yapılmayan karşı taraf karotid arter segmenti çıkarılarak incelenmek üzere histopatoloji laboratuvarına gönderildi. Yüksek doz pentobarbital ile hayvanların yaşamına son verildi. Örnek dokular 0.1 mol/lit fosfat tamponlu %4 lük paraformaldehit solüsyonuna konuldu ve 4C°de saklandı. Mikroskopik spesmenler parafin bloklar halinde 5 µm kalınlığında kesildi ve hematoxylin-eosin ile boyandı.

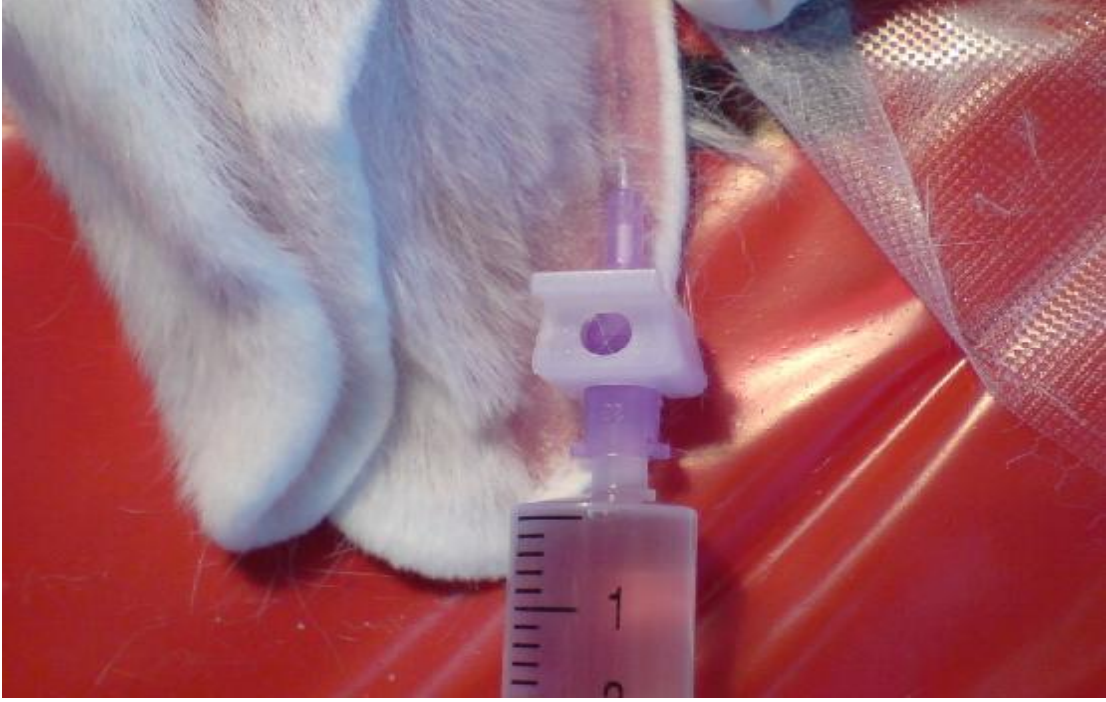
## 2.2. DENEY PROTOKOLÜ:

**Grup A:** Tavşanlar kontrol grubunu oluşturdu. Herhangi bir ilaç uygulanmadı. Yirmisekizinci gün sonunda anastomoz yapılan sağ taraf ve yapılmayan sol taraf karotid segmenti çıkarılarak histoloji laboratuvarına gönderildi.

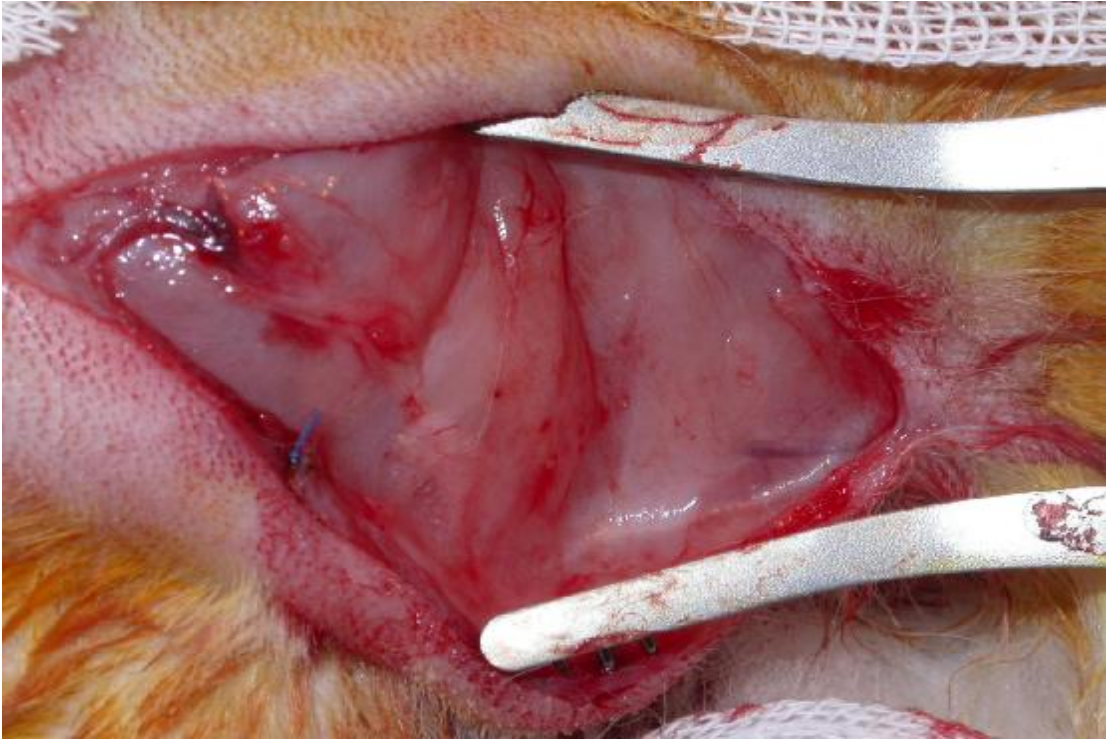
**Grup B:** Grup A ile aynı protokol uygulandı. Farklı olarak tavşanlara ondört gün süre ile 1mg/kg/g dozda intravenöz resveratrol verildi. Yirmisekizinci gün sonunda anastomoz yapılan sağ taraf ve yapılmayan sol karotid segmenti çıkarılarak histoloji laboratuvarına gönderildi.

**Grup AK:** Grup A'deki anastomoz yapılmayan sol karotis arterin histopatolojik incelemesinin yapıldığı grup.

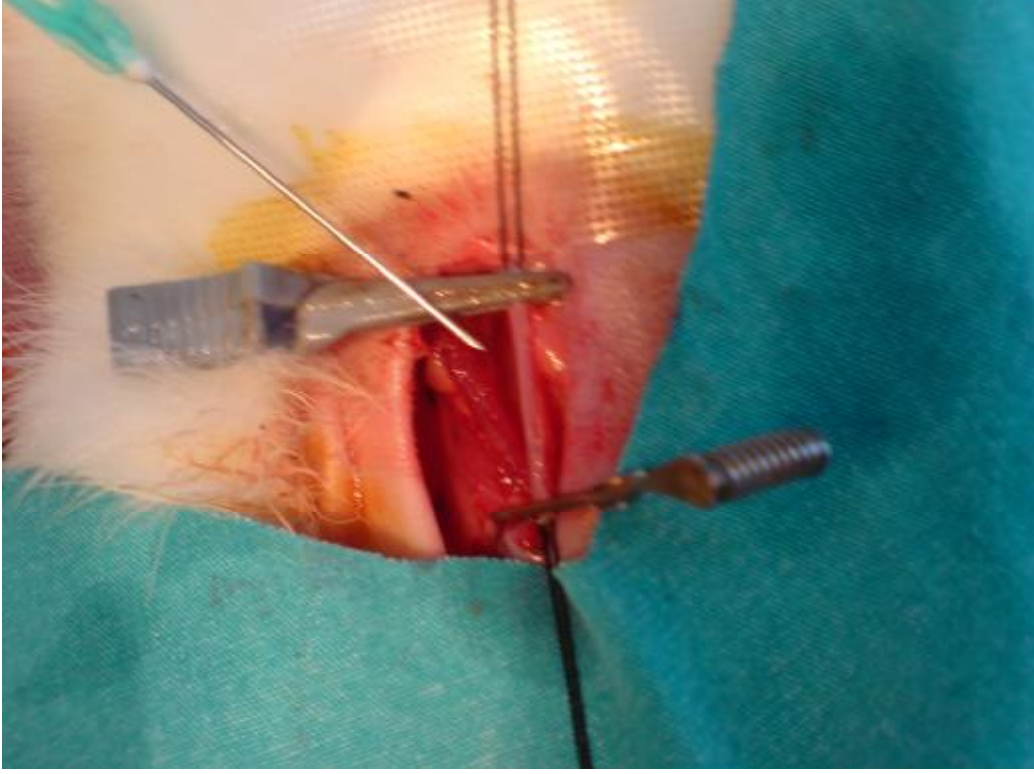
**Grup BK:** Grup B'deki anastomoz yapılmayan sol karotis arterin histopatolojik incelemesinin yapıldığı grup.



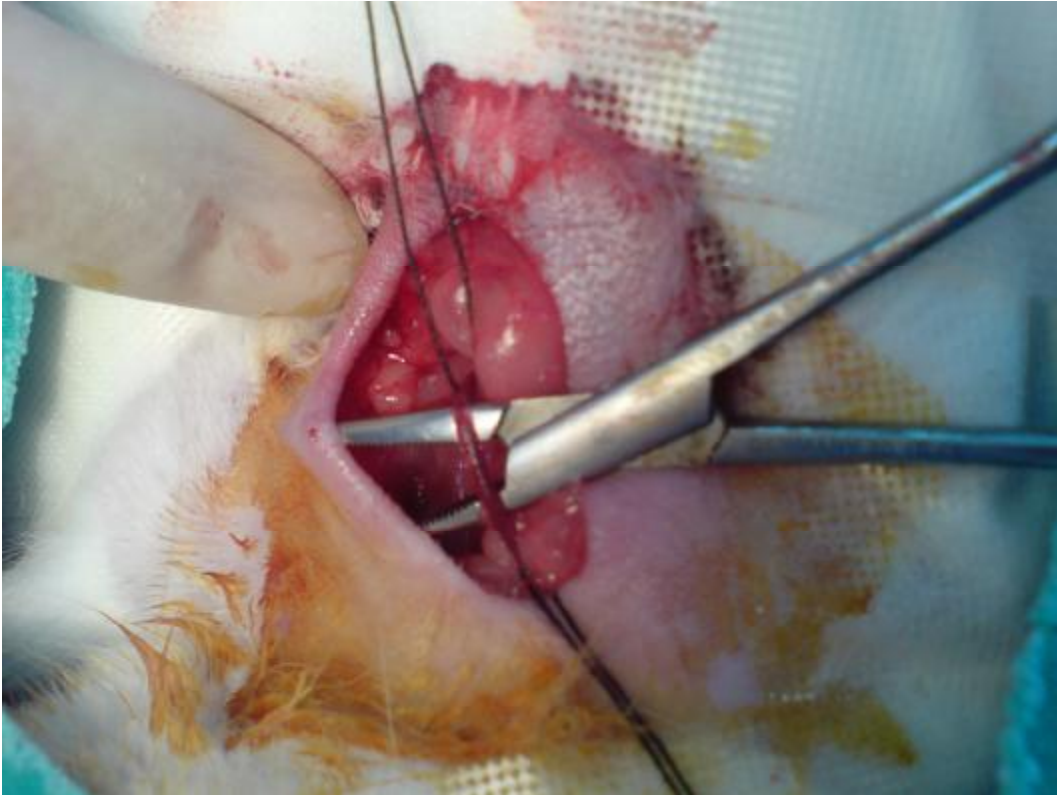
**Resim 3.1.a.** Tavşan kulak arkası marginal veninden branül takılması.



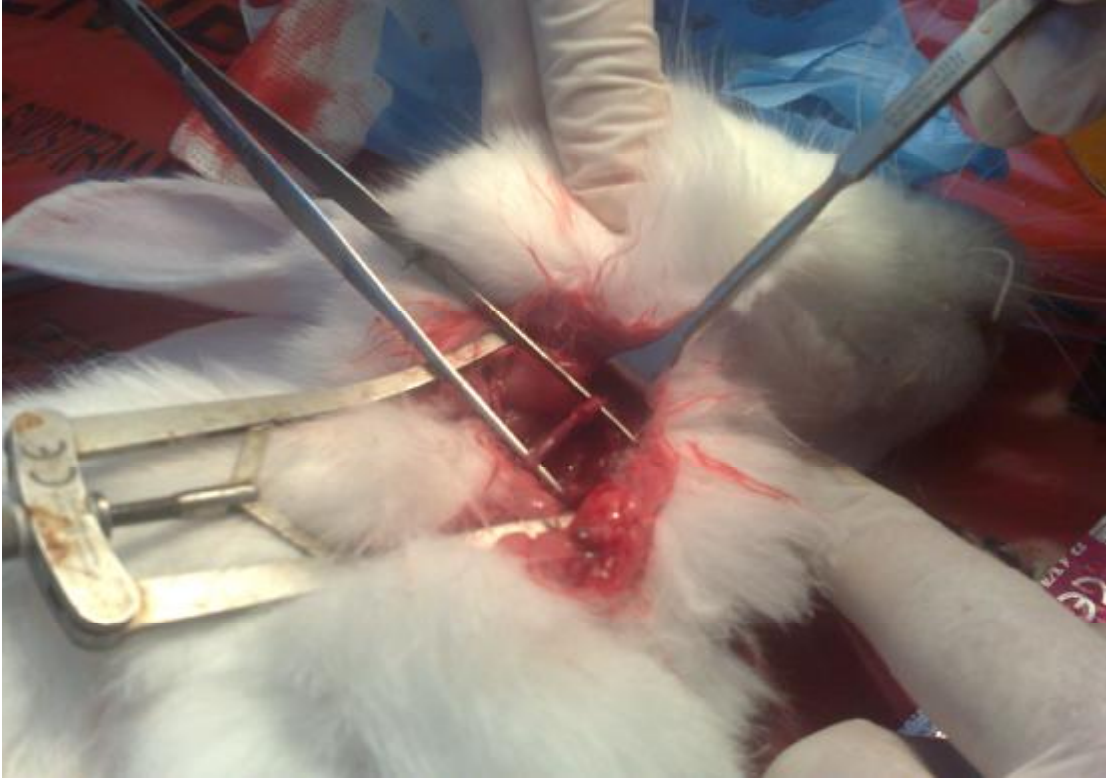
**Resim 3.1.b.** Tavşan sağ karotis arterinin eksplorasyonu.



**Resim 3.2.a.** Karotis arterinin anastomoz öncesi buldog klemple oklüde edilmesi.



**Resim 3.2.b.** Karotis arterinin transekte edilmiş görünümü.



**Resim 3.3.** Karotis arterin anastomoz edilmesi.

### **2.3. HİSTOPATOLOJİK DEĞERLENDİRME:**

Histolojik inceleme için tavşanlardan elde edilen damar dokuları, %10'luk tamponlu formaldehid içinde fikse edilip parafine gömüldükten sonra hazırlanan parafin bloklardan 5µm kalınlığında seri kesitler alındı. Bu kesitler, Hematoksilen-eozin, Masson-Trikrom ile boyandı. Hazırlanan preparatlar Olympus BH-2 (Tokyo, Japan) ışık mikroskopunda incelendi. Anastomoz yapılan ve karşı taraf sağlam damar dokusu kesitleri ışık mikroskopik düzeyinde karşılaştırmalı olarak incelendi. Ayrıca elde edilen görüntüler (JVC TK-890E, Japan) digital görüntü analiz programı ile değerlendirildi (UTSCSA; Image tool version 3.0 University of Texas, San Antonio, Texas.). Çalışma sırasında damar dokusu incelenirken, tunica intima ile tunica media'nın kalınlıkları, tunica intima ile tunica media'nın alanları, damar çapları ve damar lümen alanları stereolojik yöntemlerle gruplar arasında karşılaştırıldı. Gruplar arasındaki damar lümen çapı, lümen alanı, intima/media kalınlığı ve alanı arasındaki farklar değerlendirildi. Ayrıca hazırlanan parafin dokulardan seri kesitler alındı. Bu seri kesitler fotoğraflanarak bilgisayar ortamına aktarıldı. Reconstruct 1.0.9.9 (JC Fiala) programı ile intima ve media kalınlıkları ölçülerek kesitler üç boyutlu hale getirildi.

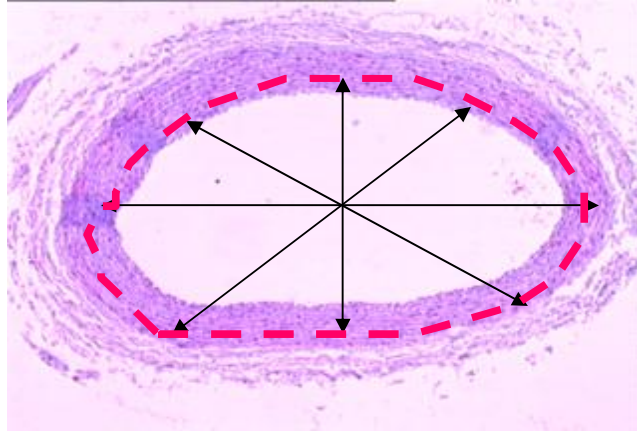


## 2.4. İSTATİSTİKSEL YÖNTEM:

Elde edilen sonuçlar, ortalama  $\pm$  standart hata olarak verildi. Veriler SPSS 15.0 evaluation version (SPSS, Chicago, IL, USA) istatistik programında Oneway, Anova ile değerlendirildi, Posthoc; multipl karşılaştırmalarda Bonferroni testi ile analiz edildi.  $p < 0.05$  anlamlı olarak kabul edildi.

## 3. BULGULAR

Çalışmamızda Yeni Zelanda tipi 14 adet erkek tavşan kullanılmıştır. Tüm denekler çalışma süresi boyunca yaşamışlardır. 28. gün sonunda tavşanların hiç birinde yara yeri enfeksiyonu ve nörolojik problem gelişmemiştir. Çalışma süresi bitiminde tüm tavşanların anastomoz yapılan sağ taraf karotis arteri ve anastomoz yapılmayan sol taraf karotis arteri çıkarılarak incelenmek üzere histopatoloji laboratuvarına gönderildi. Alınan dokulardan yapılan kesitlerde lümen çapı lümen alanı, intima-media alanları oranına bakıldı (Resim 3.4.).

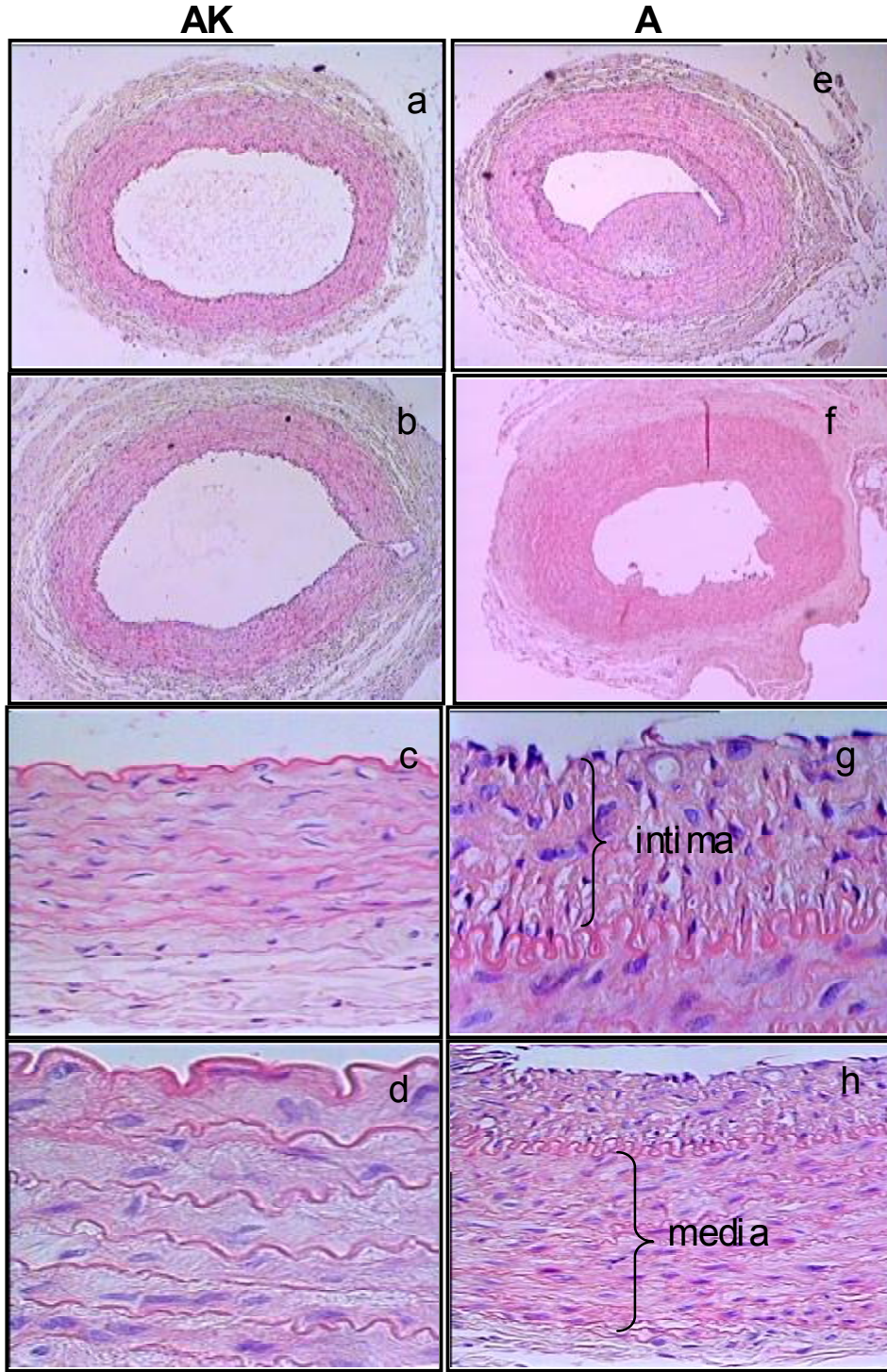


**Resim 3.4.** Lümen çapı (  $\longleftrightarrow$  ) ve lümen alanının (  $- - -$  ) ölçülmesi.

### 3.1. HİSTOPATOLİK DEĞERLENDİRME:

#### 3.1.1. Grup A:

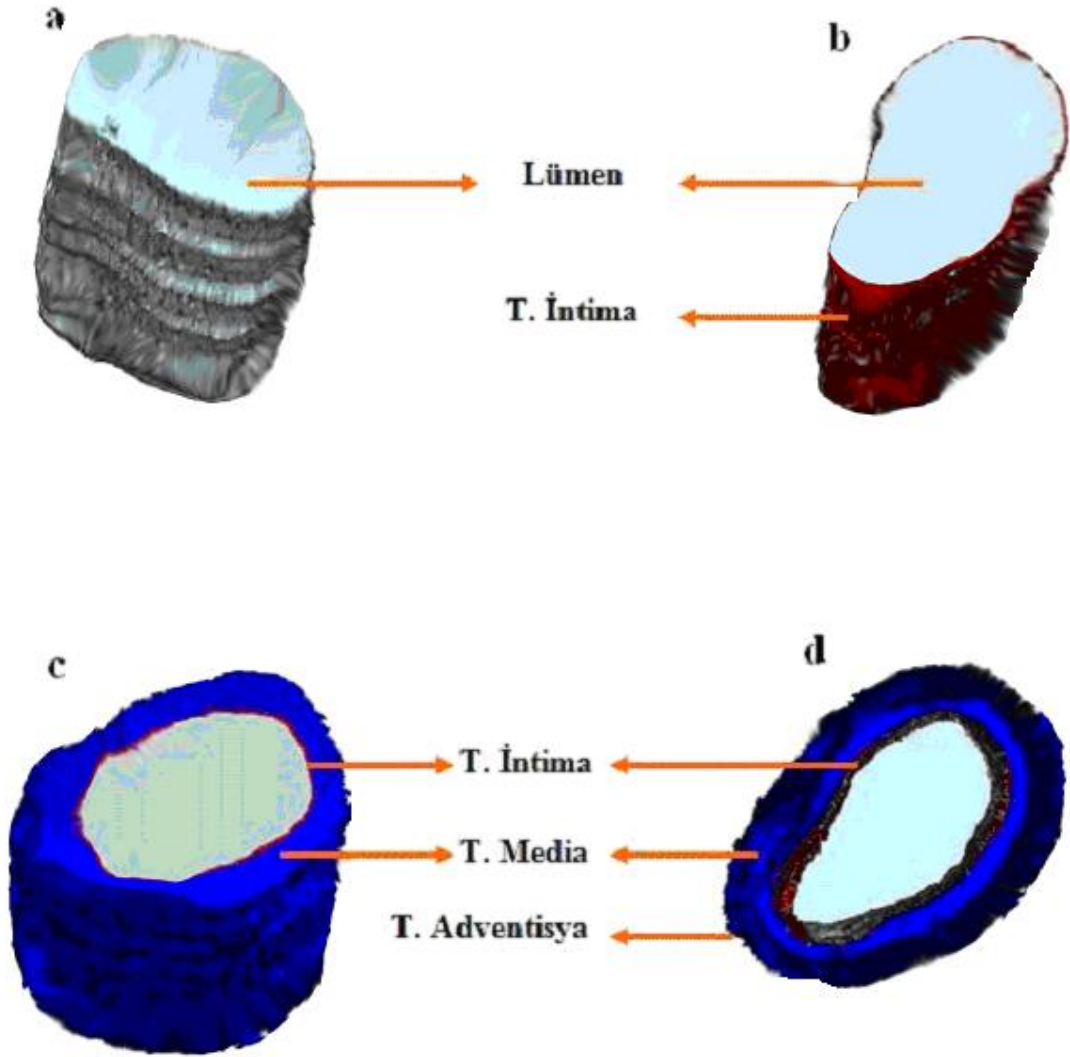
Resveratrol verilmeyen tavşanlardan elde edilen kesitlerde anastomoz yapılan sağ taraf karotis arterin yapılmayan sol taraf karotis arter ile karşılaştırıldığında damar lümeninin daraldığı (Resim 3.5 e), lümenin düzgün dairesel şeklinin bozulduğu (Resim 3.5 e,f) görüldü. İntimal alanda ise düz kas hücre proliferasyonunun olduğu görüldü. Hücresel dizilimlerin dağınık olduğu ve yoğun bağ dokusu artışı ile intimal hiperplazinin olduğu görüldü (Resim 3.5 g,h). Resim 3.5’ de Grup A’deki tavşanlardan yapılan kesit örnekleri verilmiştir. Anastomoz uygulanan Grup A da Grup AK’ya oranla lümen alanının daha dar olduğu görülmektedir. Grup A’ da intimal hiperplazinin (Resim 3.5 g) Grup B ile kıyaslandığında çok daha fazla olduğu görülmektedir (Resim 4.0 c). Grup A’ da görülen media hipertrofinin (Resim 3.5 g) Grup B ile kıyaslandığında daha fazla olduğu görülmektedir (Resim 4.0 c).



**Resim 3.5.** Resveratrol almayan Grup A grubuna ait histolojik kesitler (H+E).

**\*e, f, g, h:** Anastomoz yapılan ve Resveratrol almayan gruba ait damar kesitleri. (A)

**\*a, b, c, d:** Anastomoz yapılmayan (cerrahi girişim yapılmayan karşı taraf A carotis communis) grubuna ait damar kesitleri (AK)



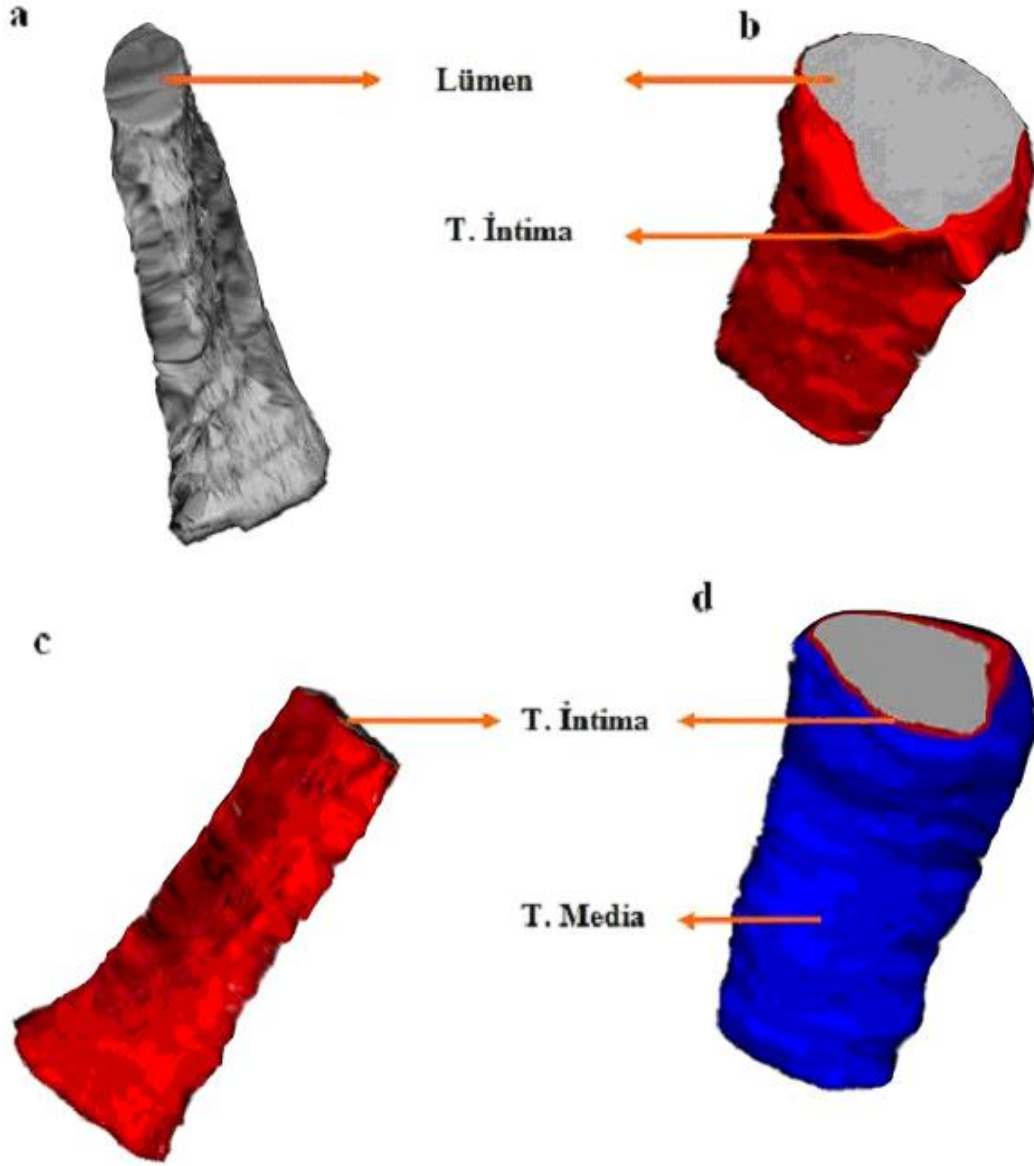
**Resim 3.6.** Resveratrol almayan gruba ait histolojik kesitler (3D Reconstruct For Windows 1.0.9.9).

**a:** Kontrol (cerrahi girişim yapılmayan karşı taraf A.karotis kommunis) grubuna (Grup AK) ait damar kesitinin lümeni.

**b:** Kontrol grubuna (Grup AK) ait damar kesitinin lümeni + tunica intiması.

**c:** Kontrol grubuna (Grup AK) ait damar kesitinin lümeni + tunica intiması + tunica media.

**d:** Kontrol grubuna( Grup AK) ait damar kesitinin lümeni + tunica intiması + tunica media + tunica adventisyası.



**Resim 3.7.** (Resveratrol almayan) Grup A grubuna ait histolojik kesitler (3D Reconstruct For Windows 1.0.9.9).

**a:** Anastomoz yapılan ve Resveratrol almayan gruba ait damar kesitlerinin lümeni

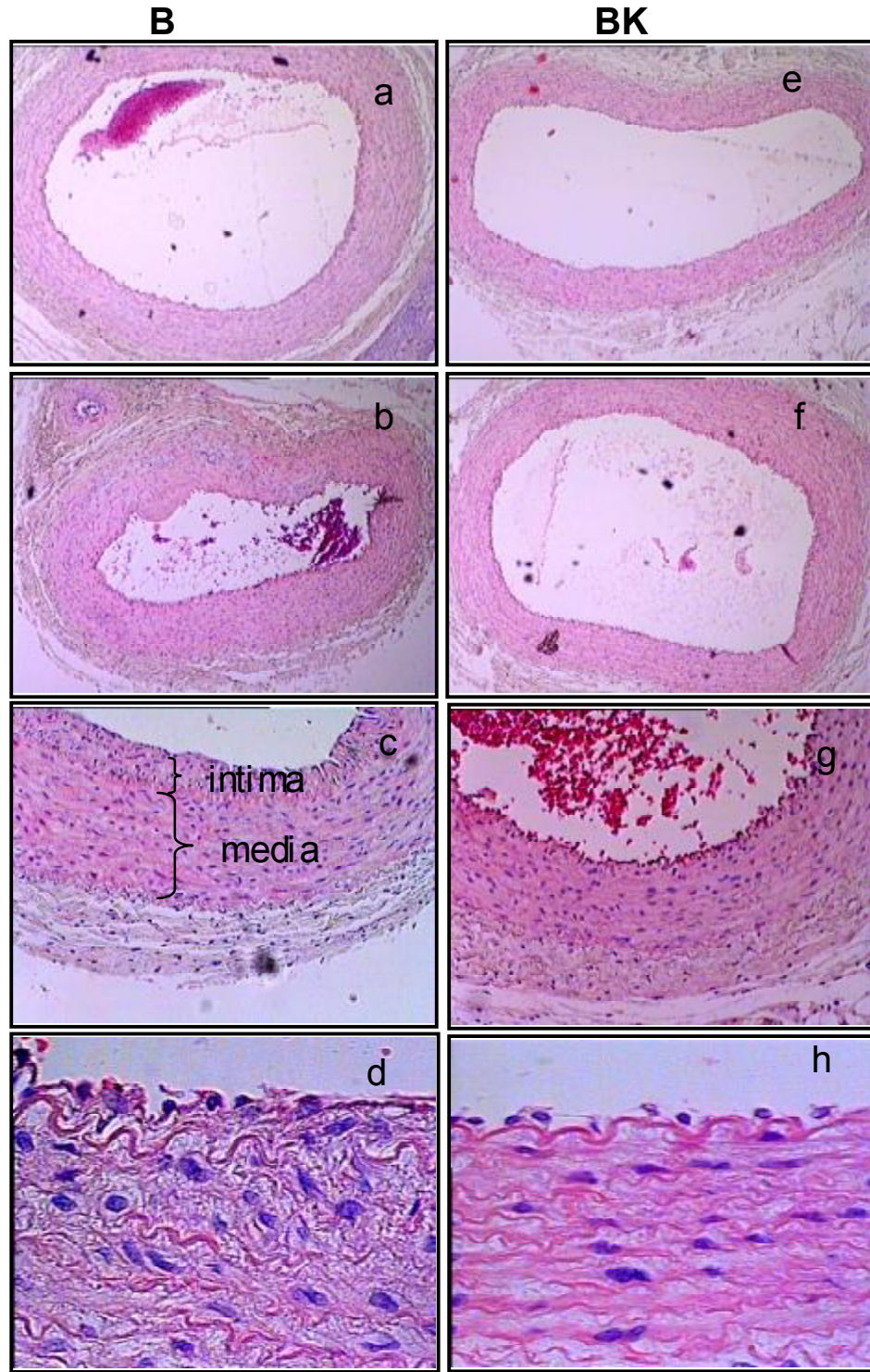
**b:** Anastomoz yapılan ve Resveratrol almayan gruba ait damar kesitinin lümeni + tunica intiması.

**c:** Anastomoz yapılan ve Resveratrol almayan gruba ait damar kesitinin lümeni + tunica intiması.

**d:** Anastomoz yapılan ve Resveratrol almayan gruba ait damar kesitinin lümeni + tunica intiması + tunica mediası.

### **3.1.2. Grup B:**

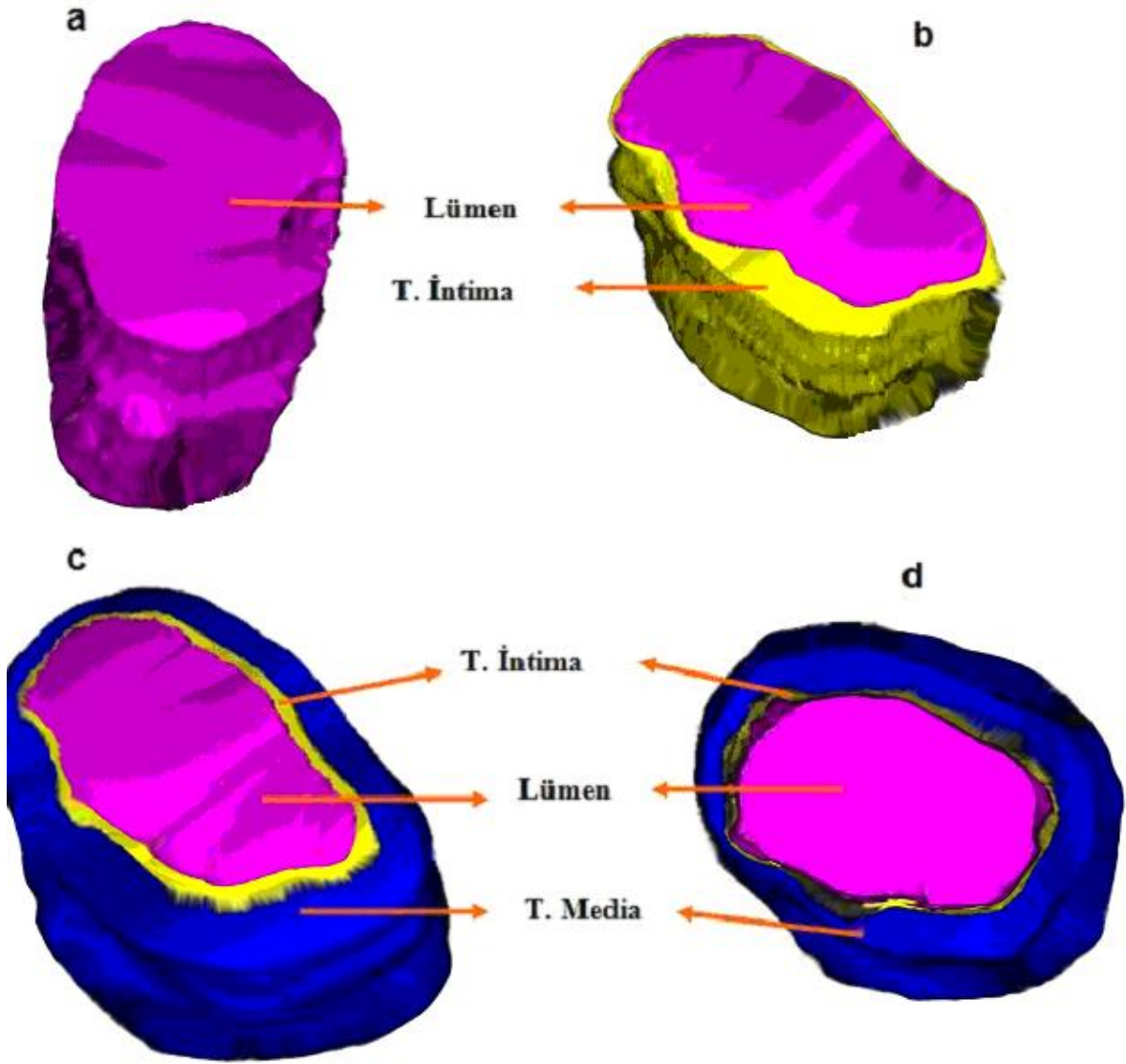
Bu grupta çalışmaya alınan tavşanların anastomoz yapılan sağ karotis arter segmentlerinden elde edilen kesitlerden yapılan incelemede; Hem anastomoz yapılan hem de anastomoz yapılmayan gruplarda damar lümenlerinin daha genişlemiş ve düzgün olduğu, lümen çapının Grup A'ya oranla istatistiksel olarak anlamlı ölçüde daha geniş kaldığı tespit edildi (Resim 4.0 a). Lümen geometrisinin Grup A'ya göre daha düzgün olduğu (Resim 4.0 a,b,e,f), intimal hiperplazinin lümen düzgünlüğünü bozacak şekilde lümene çıkıntı yaptığı görüldü (Resim 4.0 b). Ortalama tunika intima kalınlığına (Resim 4.0 c) bakıldığında resveratrol alan grupta azalma olduğu tespit edildi. Her iki taraf media tabakalarında Grup A aleyhine bir artma olduğu görüldü.



**Resim 4.0.** 14 gün Resveratrol alan ( Grup B) gruba ait histolojik kesitler (H+E).

\***c,f,g,h:** Karşı (cerrahi girişim yapılmayan ve Resveratrol alan taraf A.carotis communis) grubuna ait damar kesitleri. (BK)

\***a,b,c,d:** Anastomoz yapılan ve Resveratrol alan gruba ait damar kesitleri.(B)



**Resim 4.1.** 14 gün Resveratrol alan **Grup B**'ye ait histolojik kesitler (3D Reconstruct For Windows 1.0.9.9).

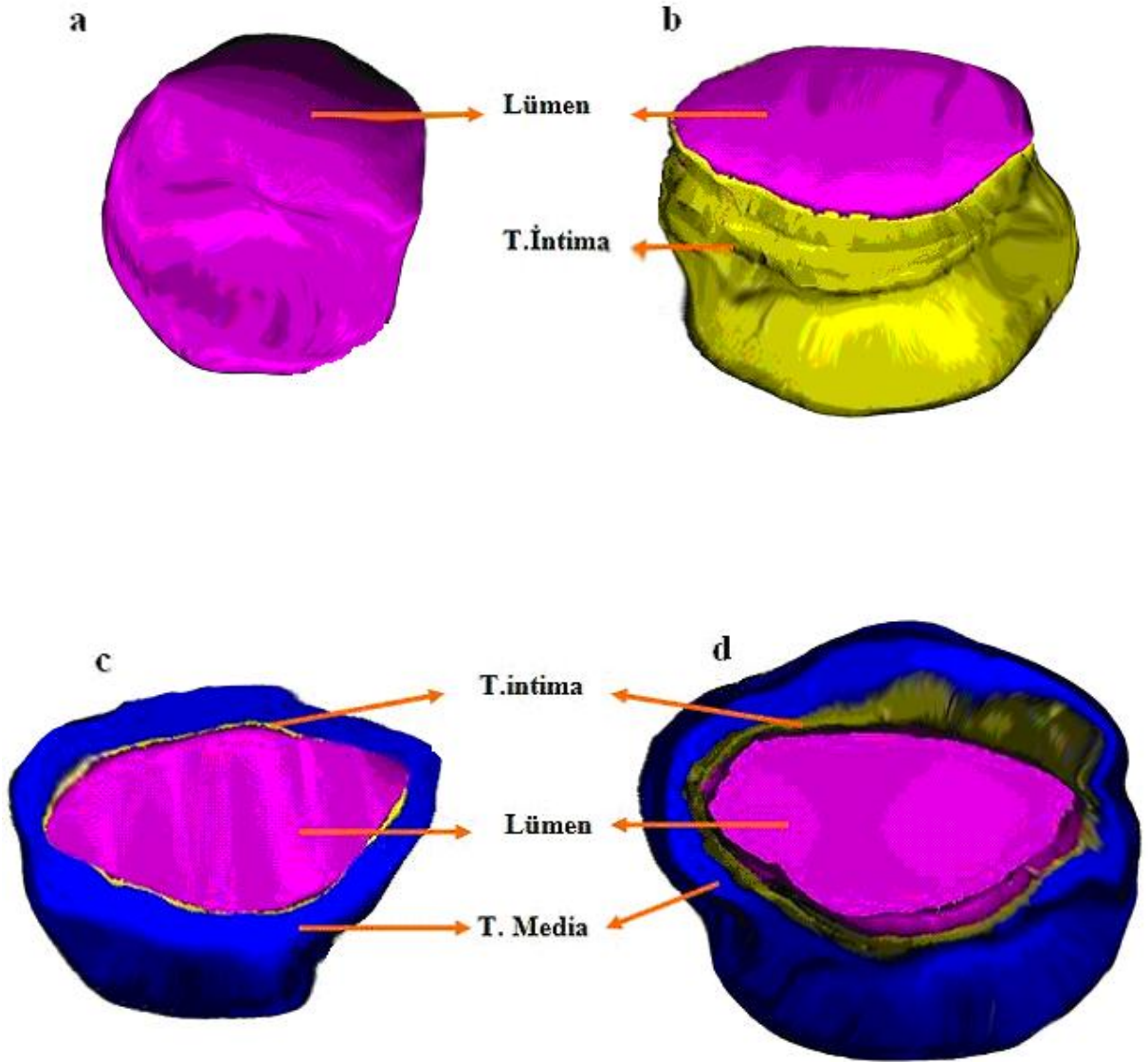
**a:** 14 gün Resveratrol alan gruba ait damar kesitlerinin lümeni.

**b:** 14 gün Resveratrol alan gruba ait damar kesitinin lümeni + tunica intiması.

**c:** 14 gün Resveratrol alan gruba ait damar kesitinin lümeni + tunica intiması + tunica mediası.

**d:** 14 gün Resveratrol alan gruba ait damar kesitinin lümeni + tunica intiması + tunica mediası.





**Resim 4.2.** 14 gün Resveratrol alan grubun karşı taraf damarına (**Grup BK**) ait histolojik kesitler (3D Reconstruct For Windows 1.0.9.9).

**a:** 14 gün Resveratrol alan grubun karşı taraf damarına ait damar kesitlerinin lümeni.

**b:** 14 gün Resveratrol alan grubun karşı taraf damarına ait damar kesitinin lümeni + tunica intiması.

**c:** 14 gün Resveratrol alan grubun karşı taraf damarına ait damar kesitinin lümeni + tunica intiması + tunica mediası.

**d:** 14 gün Resveratrol alan grubun karşı taraf damarına ait damar kesitinin lümeni + tunica intiması + tunica mediası.

## 4. SONUÇLAR

### 4.1. LÜMEN ÇAPLARININ KARŞILAŞTIRILMASI:

Yapılan seri kesit incelemelerinde gruplar arası lümen çapı karşılaştırmasında; Grup A'nın ortalama lümen çapı  $663,56 \pm 208,92 \mu\text{m}$ , Grup AK'nın ortalama lümen çapı  $756,81 \pm 176,97 \mu\text{m}$  olarak tespit edildi.

Grup A'nın ortalama lümen çapının ( $663,56 \pm 208,92 \mu\text{m}$ ) Grup AK ve diğer Resveratrol alan gruba (Grup B) ve bu grubun karşı grubuna (GrupBK) göre belirgin olarak daha küçük olduğu görüldü. Bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p = 0.000$ ).

Grup AK ortalama lümen çapı  $756,81 \pm 176,97 \mu\text{m}$ , grup BK ortalama lümen çapı  $1.100,60 \pm 168,15 \mu\text{m}$  olarak tespit edildi. Anastomoz yapılmayan karşı taraf karotis arterlerin değerlendirmelerinde lümen çapları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edildi ( $p = 0.000$ ). Grup B'nin ortalama lümen çapının ( $991,65 \pm 132,09 \mu\text{m}$ ) Grup A'dan daha geniş olduğu ( $663,56 \pm 208,92 \mu\text{m}$ ) ve bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü ( $p = 0.000$ ).

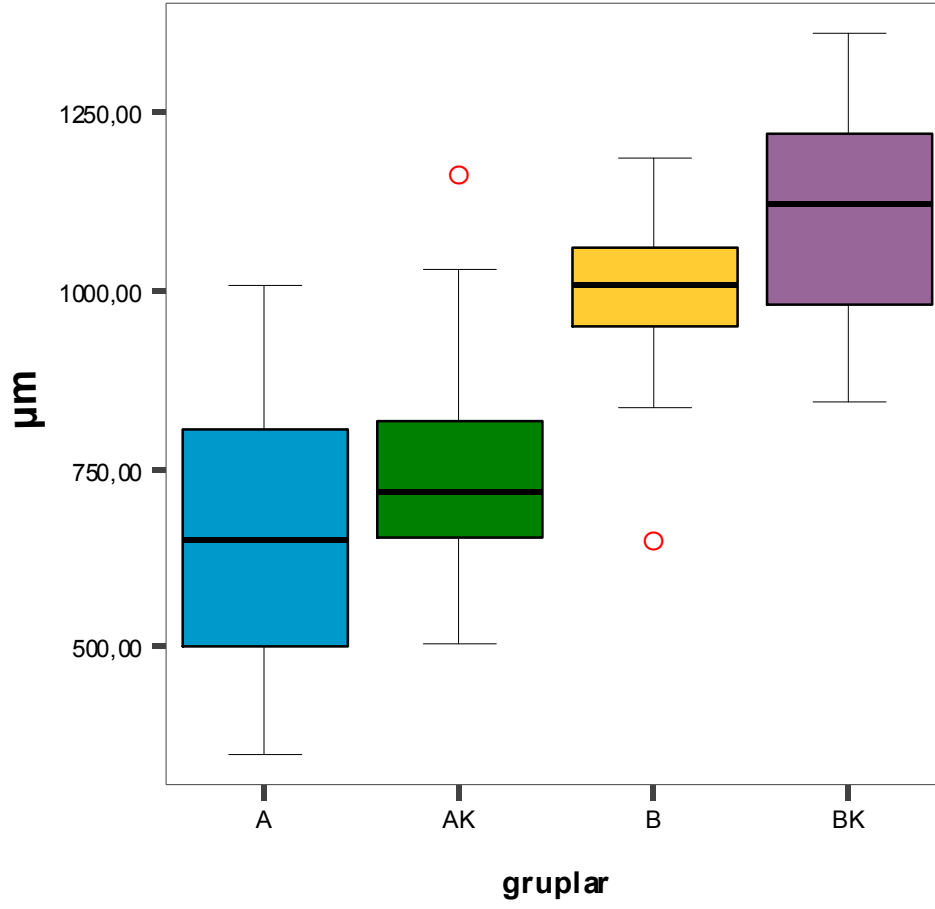
Grup B ile BK arasında lümen çapı açısından rakamsal olarak fark olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ( $p=0.081$ ).

**Tablo 5.1.** Ortalama lümen çapı kontrol grupları ile karşılaştırılması

Grup	Anastomoz Yapılmayan Kontrol	Anastomoz Grupları
	Ortalama lümen çapı ( $\mu\text{m}$ ) $\pm$ SE	Ortalama lümen çapı ( $\mu\text{m}$ ) $\pm$ SE
Grup A	$756,81 \pm 176,97$ b	$663,56 \pm 208,92$ a
Grup B	$1100,60 \pm 168,15$ b	$991,65 \pm 132,09$ a

a: Grup B'nin Grup A ile arasındaki istatistiksel anlamlı fark,  
b: Kontrol grupları arasında istatistiksel anlamlı fark bulunduğu

## Lümen Çapı



**Grafik 5.1.** Ortalama lümen çaplarının karşılaştırılması. Grup A; Resveratrol almayan anastomoz yapılan grup, Grup AK; Resveratrol almayan anastomoz yapılmayan karşı taraf grup, Grup B; 14 gün resveratrol alan anastomoz yapılan grup, Grup BK; 14 gün resveratrol alan anastomoz yapılmayan karşı taraf grup.

## 4.2. LÜMEN ALANLARININ KARŞILAŞTIRILMASI:

Yapılan seri kesit incelemelerinde gruplar arası lümen alanı karşılaştırmasında; Grup A'nın ortalama lümen alanı ( $318.703,08 \pm 116.541,64 \mu\text{m}^2$ ) Grup AK'nın ortalama lümen alanına ( $375.220,00 \pm 154.185,86 \mu\text{m}^2$ ) oranla daha az bulunmuştur. Fakat bu istatistiksel olarak anlamlı bir fark yaratmamıştır ( $p=0.318$ ).

Grup A'nın (resveratrol almayan grup) ortalama lümen alanının ( $318.703,08 \pm 116.541,64 \mu\text{m}^2$ ) Resveratrol alan B grubunun ortalama lümen alanına göre ( $451.201,11 \pm 86.116,93 \mu\text{m}^2$ ) azalmış olduğu görüldü. Bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p<0.05$ ).

Grup AK'nın ortalama lümen alanı ( $375.220,00 \pm 154.185,86 \mu\text{m}^2$ ) ile Grup BK'nın ortalama lümen alanı arasında ( $507.760,34 \pm 67.121,61 \mu\text{m}^2$ ) istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ( $p=0.038$ ).

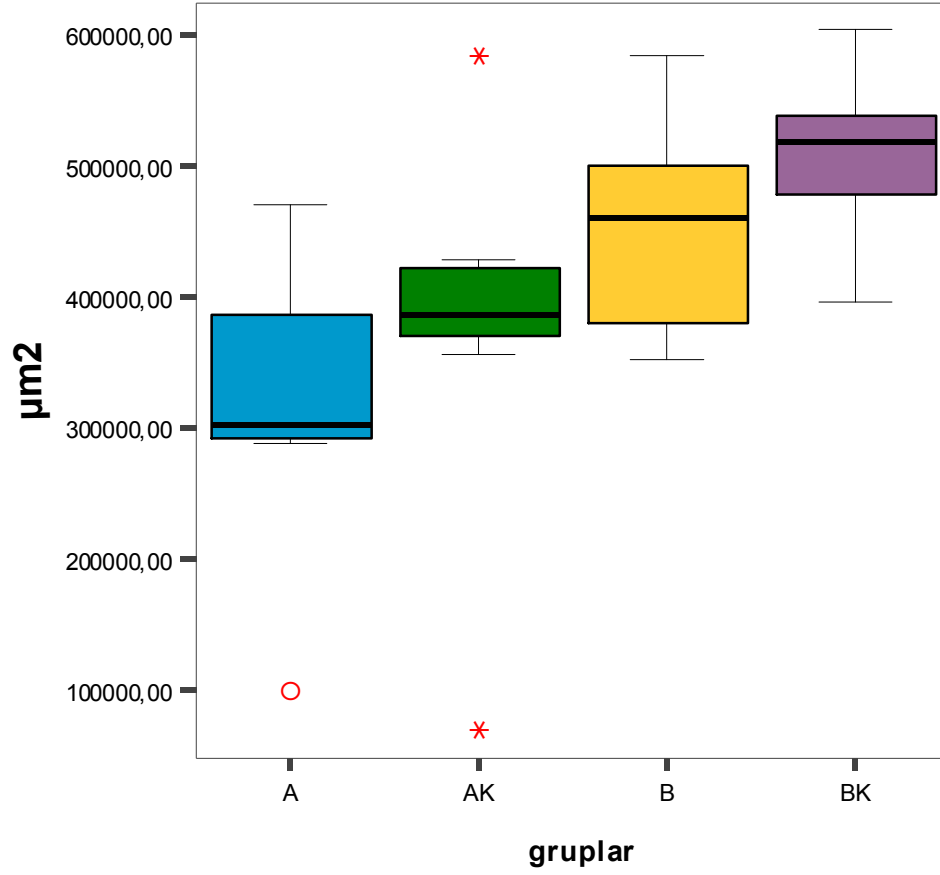
Grup B'nin ortalama lümen alanı ( $451.201,11 \pm 86.116,93 \mu\text{m}^2$ ) ile Grup BK'nın ortalama lümen alanı ( $507.760,34 \pm 67.121,61 \mu\text{m}^2$ ) arasında rakamsal olarak fark olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ( $p=0.259$ ).

**Tablo 5.2.** Ortalama lümen alanı kontrol grupları ile karşılaştırması

Grup	Anastomoz Yapılmayan Kontrol	Anastomoz Grupları
	Grupları	
	Ortalama lümen alanı ( $\mu\text{m}^2$ ) $\pm$ SE	Ortalama lümen alanı ( $\mu\text{m}^2$ ) $\pm$ SE
Grup A	$375.220,00 \pm 154.185,86$ b	$318.703,08 \pm 116.541,64$ a
Grup B	$507.760,34 \pm 67.121,61$ b	$451.201,11 \pm 86.116,93$ a

a: Grup B'nin Grup A ile arasındaki istatistiksel anlamlı fark,  
b: Kontrol grupları arasında istatistiksel anlamlı fark bulunduğu

## Lümen Alanı



**Grafik 5.2.** Ortalama lümen alanlarının karşılaştırılması. Grup A; Resveratrol almayan anastomoz yapılan grup, Grup AK; Resveratrol almayan anastomoz yapılmayan karşı taraf grup, Grup B; 14 gün resveratrol alan anastomoz yapılan grup, Grup BK; 14 gün resveratrol alan anastomoz yapılmayan karşı taraf grup.

### 4.3. İNTİMA KALINLIĞININ KARŞILAŞTIRILMASI:

Yapılan seri kesit incelemelerinde gruplar arası intima kalınlığının karşılaştırmasında; Grup A'nın ortalama intimal kalınlığı ( $58,24 \pm 22,31 \mu\text{m}$ ) Grup AK'nın ortalama intimal kalınlığına ( $7,26 \pm 3,6 \mu\text{m}$ ) oranla daha fazla bulunmuş olup bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p = 0.000$ ).

Grup A'nın ortalama intimal kalınlığı ( $58,24 \pm 22,31 \mu\text{m}$ ) Grup B'nin ortalama intimal kalınlığına ( $17,48 \pm 5,54 \mu\text{m}$ ) oranla daha fazla bulunmuş olup bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p = 0.000$ ).

Grup B < Grup A ( $p = 0.000$ )

Grup B'nin ortalama intimal kalınlığı ( $17,48 \pm 5,54 \mu\text{m}$ ) Grup BK'nın ortalama intimal kalınlığına ( $6,17 \pm 2,4 \mu\text{m}$ ) oranla daha fazla bulunmuş olup bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p = 0.000$ ).

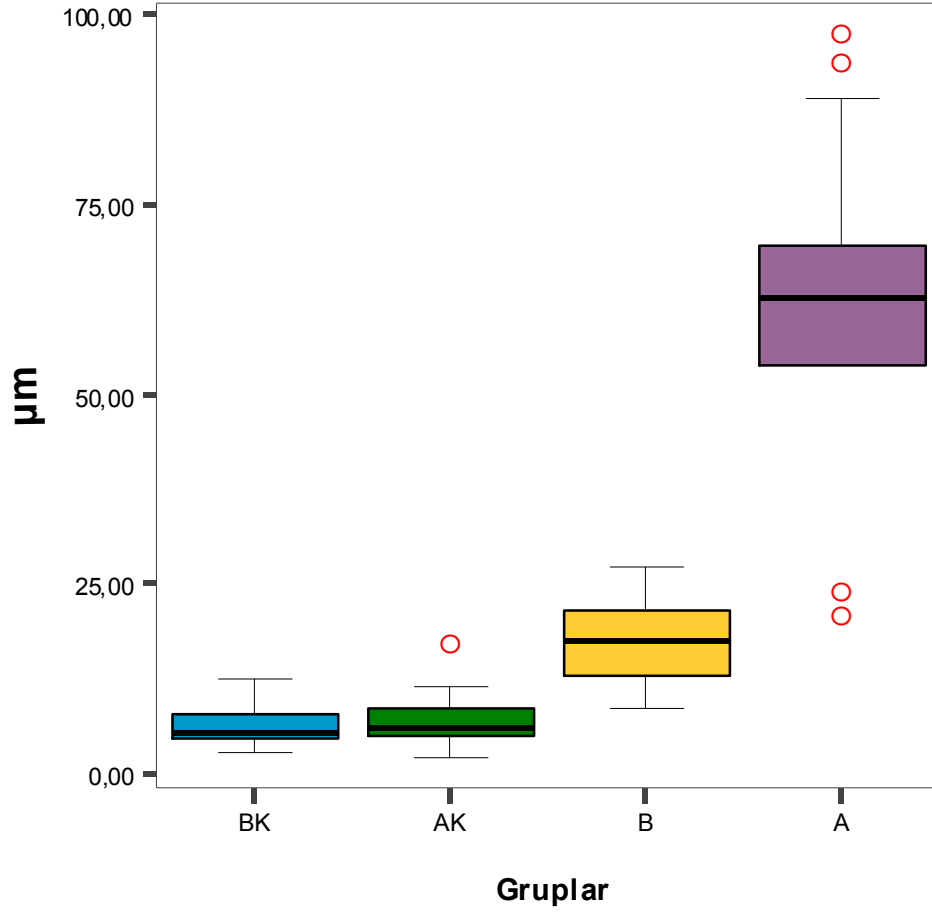
Grup AK ile grup BK arasında ortalama intima kalınlığı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ( $p = 0.214$ ).

**Tablo 5.3.** Ortalama intimal kalınlığın kontrol grupları ile karşılaştırması

Grup	Anastomoz Yapılmayan Kontrol	Anastomoz Grupları
	Grupları	
	<i>Ortalama intimal kalınlık (<math>\mu\text{m}</math>) <math>\pm</math> SE</i>	<i>Ortalama intimal kalınlık (<math>\mu\text{m}</math>) <math>\pm</math> SE</i>
Grup A	7,26 $\pm$ 3,6 b	58,24 $\pm$ 22,31 a
Grup B	6,17 $\pm$ 2,4 b	17,48 $\pm$ 5,54 a

a: Grup B'nin Grup A ile arasındaki istatistiksel anlamlı fark,  
b: Kontrol grupları arasında istatistiksel anlamlı bir fark bulunmadığı,

## İntima Kalınlığı



**Grafik 5.3.** Ortalama intimal kalınlığının karşılaştırılması. Grup A; Resveratrol almayan anastomoz yapılan grup, Grup AK; Resveratrol almayan anastomoz yapılmayan karşı taraf grup, Grup B; 14 gün resveratrol alan anastomoz yapılan grup, Grup BK; 14 gün resveratrol alan anastomoz yapılmayan karşı taraf grup.

#### 4.4 MEDIA KALINLIĞININ KARŞILAŞTIRILMASI:

Yapılan seri kesit incelemelerinde gruplar arası media kalınlığının karşılaştırmasında; Grup A'nın ortalama media kalınlığı (170,74±26,3 µm) Grup AK'nin ortalama media kalınlığına (134,58±34 µm) oranla daha fazla bulunmuş olup bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p = 0.000).

Grup A > Grup AK (p = 0.000).

Grup A'nın ortalama media kalınlığı (170,74±26,3 µm) Grup B'nin ortalama media kalınlığına (149,89±26,71 µm) oranla daha fazla bulunmuş olup bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p = 0.04).

Grup B < Grup A (p = 0.04).

Grup B'nin ortalama media kalınlığı (149,89±26,71 µm) Grup BK'nin ortalama media kalınlığına (135,8±31,55 µm) oranla daha fazla bulunmuş olup bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (p = 0.089).

Grup AK'nin ortalama media kalınlığı (134,58±34 µm) ile Grup BK'nin ortalama media kalınlığı (135,8±31,55 µm) birbirine yakın değerler olarak bulunmuş olup istatistiksel olarak da anlamlı bulunmamıştır (p = 0.894).

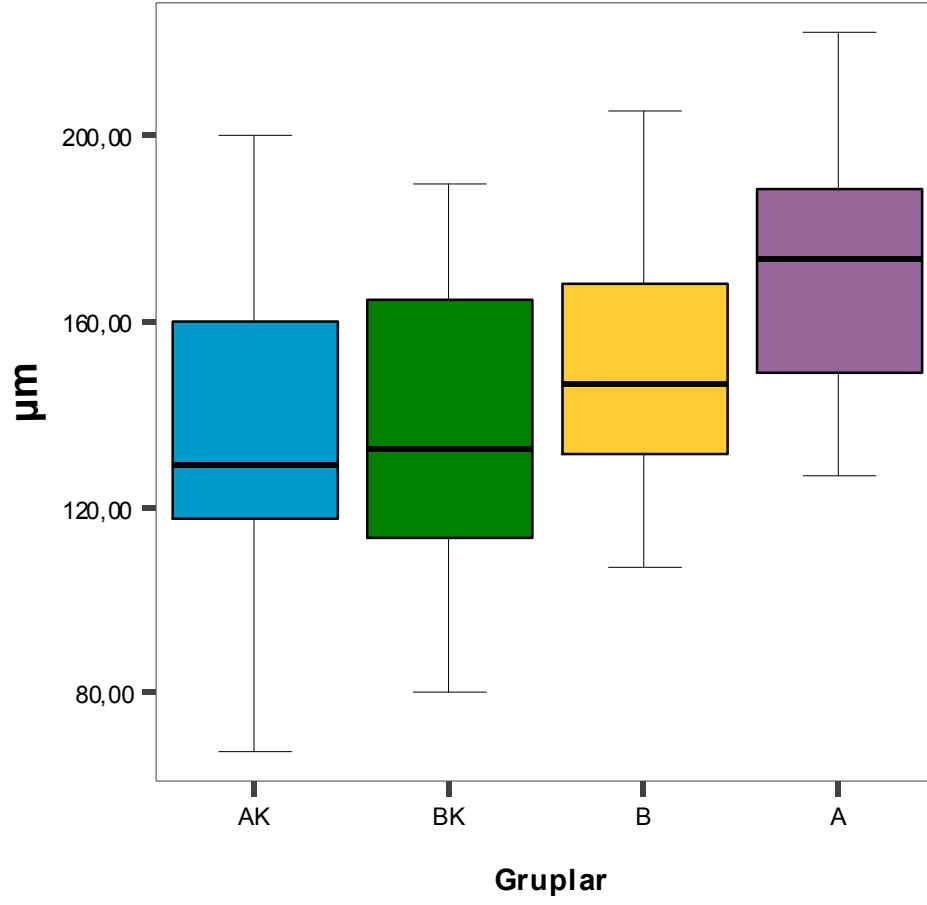
**Tablo 5.4.** Ortalama media kalınlığının kontrol grupları ile karşılaştırması

Grup	Anastomoz Yapılmayan Kontrol	Anastomoz Grupları
	Grupları	
	<i>Ortalama media kalınlığı ( µm ) ± SE</i>	<i>Ortalama media kalınlığı ( µm ) ± SE</i>
Grup A	134,58±34,0 b	170,74±26,3 a
Grup B	135,8±31,55 b	149,86±26,71 a

a: Grup B'nin Grup A ile arasındaki istatistiksel anlamlı fark,  
b: Kontrol grupları arasında istatistiksel anlamlı bir fark bulunmadığı.



### Media Kalınlığı



**Grafik 5.4.** Ortalama media kalınlığının karşılaştırılması. Grup A; Resveratrol almayan anastomoz yapılan grup, Grup AK; Resveratrol almayan anastomoz yapılmayan karşı taraf grup, Grup B; 14 gün resveratrol alan anastomoz yapılan grup, Grup BK; 14 gün resveratrol alan anastomoz yapılmayan karşı taraf grup.

#### 4.5. İNTİMA/MEDİA ALAN ORANININ KARŞILAŞTIRILMASI:

Yapılan seri kesit incelemelerinde gruplar arası intima/media oranının karşılaştırmasında; Grup A'nın ortalama intima/media oranı ( $0,4794 \pm 0,11139$ ) Grup B'nin ortalama intima /media oranı ( $0,2131 \pm 0,09168$ ) ile karşılaştırıldığında daha büyük bulunmuş ve bu istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p=0.002$ ).

Grup B < Grup A ( $p=0.002$ ).

Grup A'nın ortalama intima/media oranı ( $0.4794 \pm 0.11139$ ) Grup AK'nın ortalama intima/media oranı ( $0.0944 \pm 0.04424$ ) ile karşılaştırıldığında daha büyük bulunmuş ve bu istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p=0.002$ ).

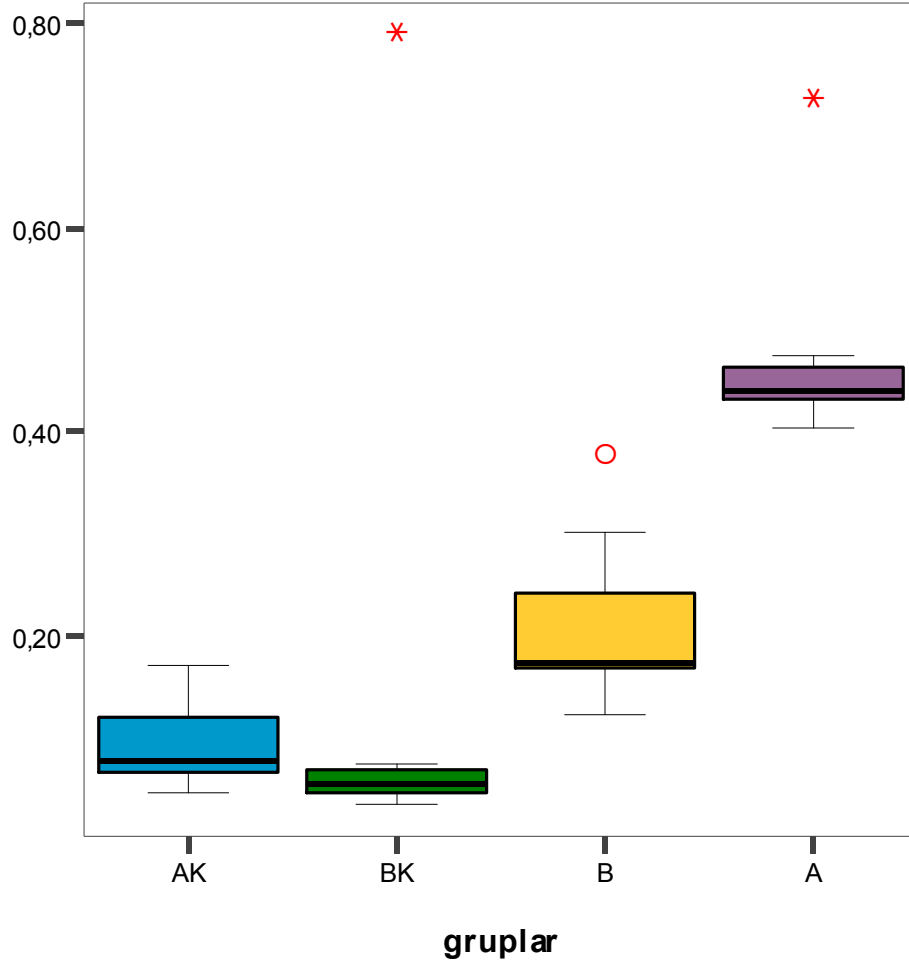
Grup AK'nın ortalama intima/media oranı ( $0.0944 \pm 0.04424$ ) Grup BK'nın ortalama intima/media oranı ( $0.1585 \pm 0.27876$ ) ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ( $p=0.180$ ).

**Tablo 5.5.** İntima/Media alan oranı kalınlığının kontrol grupları ile karşılaştırılması

Grup	Anastomoz Yapılmayan Kontrol	Anastomoz Grupları
	Grupları	
	<i>İntima/media alan oranı <math>\pm SE</math></i>	<i>İntima/media alan oranı <math>\pm SE</math></i>
Grup A	$0.0944 \pm 0.04424$ b	$0.4794 \pm 0.11139$ a
Grup B	$0.1585 \pm 0.27876$ b	$0.2131 \pm 0.09168$ a

a: Grup B'nin Grup A ile arasındaki istatistiksel anlamlı fark,  
b: Kontrol grupları arasında istatistiksel anlamlı bir fark bulunmadığı.

## İntima-Media Alan Oranı



**Grafik 5.5.** İntima/media alan oranının gruplar arası karşılaştırılması. Grup A; Resveratrol almayan anastomoz yapılan grup, Grup AK; Resveratrol almayan anastomoz yapılmayan karşı taraf grup, Grup B; 14 gün resveratrol alan anastomoz yapılan grup, Grup BK; 14 gün resveratrol alan anastomoz yapılmayan karşı taraf grup.

**Tablo 6.1.** Anastamoz yapılan grupların histomorfometrik değerlendirmesi

	<b>Grup A</b>	<b>Grup B</b>
<b>İntima Alanı</b>	58,24±22,31	17,48±5,54
<b>Media Alanı</b>	170,74±26,3	149,86±26,71
<b>İntima/Media Alan Oranı</b>	0.4794±0.11139	0.2131±0.09168

***Kontrol Gruplarının Histomorfometrik Değerlendirmesi:***

Yaptığımız alışma sonucunda resveratrol alan grup ile almayan grubun kontrol amaçlı olarak alınan sol taraf karotis arterleri incelendiğinde (Grup BK ile Grup AK) lümen çapı ve lümen alanı karşılaştırılmaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur. Yine aynı şekilde Grup BK ile Grup AK'nın sol taraf karotis arterleri incelendiğinde İntima/Media oranları arasında istatistiksel olarak bir fark bulunamamıştır.

**Tablo 6.2.** Kontrol gruplarının histomorfometrik değerlendirmesi

	<b>Grup AK</b>	<b>Grup BK</b>
<b>Lümen apı</b>	756,81±176,97	1.100,60±168,15
<b>Lümen Alanı</b>	375.220,00±154.185,86	507.760,34±67.121,61
<b>İntima Alanı</b>	49.436,93±22.836,76	50.858,73±9.054,68
<b>Media Alanı</b>	544.387,20±122.702,84	837.847,76±371.984,15
<b>İntima/Media Alan Oranı</b>	0.0944±154.185,86	0.1585±0.27876

## 5. TARTIŞMA

Gelecekte damar biyolojisi alanındaki çalışmalar endotelin vasküler tonusun düzenlenmesindeki rolünün daha iyi anlaşılmasını sağlayarak kardiovasküler cerrahi hastaların yaşam kalitelerini olumlu yönde etkileyecektir [86]. Endotel fiziksel uyarılara ileri derecede hassastır, uyarılar endotelde değişikliklere ve inflamatuvar yanıtta artışa yol açar [87]. Fiziksel uyarılar sonrası endotelde oluşan fonksiyon değişikliklerine “endotel hücre aktivasyonu” denir. Bu aktivasyon sonrası endotelin bariyer fonksiyonu, koagülasyon düzenlemesi, vazokonstrüksiyon, lökosit adezyonu ve düz kas hücre proliferasyonda artma yanında intimada anormal fibrinoproliferatif yanıt oluşur [87].

Vasküler rekonstrüktif girişimlerden sonra erken ve orta dönemdeki daralma veya restenozda düz kas hücre migrasyonu, proliferasyonu ve ekstrasellüler matriks birikimi sonucu oluşan neointimal hiperplazi önemli rol oynamaktadır [1,4]. Damar yaralanması patolojik tamir ve remodelinge neden olur [2]. Yaralanan kan damarında patolojik tamirde endotel hücre kaybı majör katkısı olan faktördür [3]. Hiperplazik intimal kalınlaşma, arterlerin hemodinamik strese karşı normal adaptif bir özelliği olduğu kadar, arteriyel hasarın iyileşmesinin de karakteristik bir özelliğidir [4]. Birçok cerrahi girişim normal vasküler yapıyı bozar. Embolektomi kateterinin damar boyunca çekilmesi, endotelial yüzeyde ve mediada bazı düz kas hücrelerinin hasarına yol açar [1]. PTCA, endarterektomi ve bypass-greft anastomoz bölgelerinde görülen intimal hiperplazi, vasküler rekonstrüktif girişimlerden sonraki erken ve orta dönemdeki daralmanın en önemli etkenlerinden biridir [4]. Hiperplastik yanıtın engellenmesi bypass greftlerinde ve balon anjiyoplasti uygulamalarında damarın açık kalma süresinin belirgin olarak uzatılmasını ve organ kayıplarının azaltılmasını sağlayabilir, yaşam süresinin artırılmasında doğrudan etkili olabilir [4]. İki yıl içinde otolog safen ven greftlerle yapılan femoro-popliteal bypasslarda %30, sentetik greftlerle yapılan bypasslarda %40–50, periferik arterlerin anjioplastisinden sonra da %20–50 oranında tıkanma meydana gelebilir [36].

Bu güne kadar ister anastomoz sonrası ister PTCA veya stent sonrası olsun intimal hiperplazinin ve düz kas hücre proliferasyonunun engellenmesi üzerine birçok ilaç denenmiş ve çalışma yapılmıştır. Bu amaçla büyüme faktörü inhibitörleri, selektif A2a adenosin reseptör agonistleri, immunsupresif ilaçlar, kalsiyum kanal blokerleri, statinler, aspirin, iloprost, heparinler, pentoksifilin, ACE inhibitörleri gibi çeşitli ilaçlar denenmiştir [64].

Arter duvarında iki tip hasar meydana gelebilir. Birincisi arterin diseksiyonu, sütürasyonu, endarterektomisi, trombektomisi ve luminal anjioplastisi sonrası meydana gelen mekanik hasardır. İkicisi ise sentetik greftler, stentler, otolog ven greftleri arteriel olmayan yapıların implantasyonu sonrası görülür. Her arteriyel rekonstrüksiyon işlemi bir miktar endotel hasarına neden olmaktadır. Bu hasarın en yaygın nedeni greftin çıkarılma işlemi ve anastomoz sırasında çeşitli derecede travmatize olmasıdır. Endotel hasarına intimanın yanıtı subendotelyal fibroproliferasyon ve neointima oluşması şeklindedir. Bu intimal neoplastik yanıt travma sonrası damar onarımının bir parçası olmakla beraber, bazı durumlarda gereğinden şiddetli olabilmektedir. Aşırı neointima proliferasyonu, endotelin antikoagülan özelliğinde bozulma, lümen daralma sonucu, kan akımı azalmakta ve bazı vakalarda trombozis oluşabilmektedir.

Arteriyel hasara intimal yanıt üç aşamada oluşur. İlk 24 saat içindeki reaksiyon mediada düz kas hücre proliferasyonudur. Endotel hasarı ile birlikte trombositler damar duvarına yapışmakta ve giderek çoğalmaktadır. Damar duvarına yapışan aktive olmuş trombositlerden büyüme faktörleri gibi mitogenler salgılanmakta bu da düz kas hücrelerinin intimaya migrasyonuna neden olmaktadır. İkinci aşama 3-14 gün sonra başlar ve böylece neointima şekillenir. Neointima bir kez oluşunca düz kas hücrelerinin hızla ve lümeni daraltacak bir tabaka oluşturması ise 3. aşamada olur [37, 38].

Arteriyel hasar oluşuktan sonra, bu bölge trombositlerle kaplanır. Adhezyon sonrası trombositler granüllerindeki vazoaktif ve trombotik faktörleri (Serotonin, ADP, Fibrinojen, von Willebrand Faktör) ve ayrıca büyüme faktörlerini (Trombosit kaynaklı büyüme faktörü, Dönüştürücü büyüme faktörü, Epidermal büyüme faktör) salgılar [5]. Mitojenik özellikteki büyüme faktörleri düz kas hücre proliferasyonunu başlatırlar. Hasara cevap olarak media tabakasında çoğalmaya başlayan düz kas hücreleri, intimaya göç ederek intimal hiperplaziye neden olurlar. Russel Ross tarafından öne sürülen ve halen yaygın kabul gören yaralanmaya cevap (response-to-injury) hipotezine göre de intimal kalınlaşmayı başlatan mekanizma, hasar gören damar duvarına yapışan aktive trombositlerden ve endotel hücrelerinden salınan, düz kas hücreleri proliferasyonunu uyaran büyüme faktörleridir [5].

Düz kas hücresinin büyümesini damar duvarında ya da dolaşımda bulunan bir grup otokrin ve parakrin faktörler ve basınç gibi fiziksel kuvvetler stimule eder. İntimal hiperplazinin birinci basamağı düz kas hücre proliferasyonu, ikinci basamağı ise proliferen olan düz kas hücrelerinin intimaya göçüdür [37, 65]. Gu J ve arkadaşlarının intima hasarlı ratlarda resveratrolün endotelial progenitor hücre aktiviteleri, bu hücrelerin dolaşımdan

mobilizasyonu ve intimanın reendotelizasyonu için yaptıkları çalışmada; düşük doz resveratrol belirgin bir şekilde endotelial progenitor hücrelerin proliferativ, migrativ ve adezive aktivitelerini artırmakta, eNOS ekspresyonunu endotelial progenitor hücrelerin mobilizasyonu gibi artırmakta olduğu gösterilmiş [6].

Tavşan normal iliak arterin deneysel endotel hasarında, resveratrol damar intima hiperplazisini azalttığı, lümen alanını artırdığı, kalınlaşmış intimada düz kas hücre sayısını istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde azalttığı ve tavşan düz kas hücre kültürüne ilave edilen resveratrolün doz bağımlı olarak DNA sentezini inhibe ettiği görülmüş [7].

Bertelli ve arkadaşları resveratrolün biyoyararlanımı ile ilgili yaptıkları çalışmada 26 µg akut resveratrol dozu ve 15 günlük bir süreçte 13 µg'lık doz uygulaması yapılarak bileşiğin hızla kana geçtiği ve tetkikinin mümkün olduğunu göstermişlerdir [49]. Bu çalışmadan yola çıkarak resveratrolü 14 günlük bir sürede vermeyi planladık.

Resveratrolün vasküler etkilerinin hem endotel-bağımlı (düşük resveratrol konsantrasyonlarında belirgindir ve NOS inhibitörleri (L-NAME) ile bloke edilebilir.) hem de endotel-bağımsız (yüksek resveratrol konsantrasyonlarında açığa çıkar ve NOS inhibitörleri veya endotel hasarı ile bloke edilemez.) olduğu düşünülmektedir [65]. Endotel-bağımsız mekanizmada, resveratrolün vazodilatör etkileri olan cAMP ve cGMP yıkımını inhibe etmesi ve guanilil siklaz aktivasyonu öne sürülmüştür [67].

Damar düz kas hücre DNA sentezini antimitotik aktivite ile doz bağımlı olarak resveratrolün azalttığı ve ratlarda aorta damar düz kas hücre proliferasyonunu NO yapımıyla östrojen reseptörleri üzerinden inhibe ettiği gösterilmiş [69]. Resveratrolün tavşanlarda aortada oluşturulan iskemi-reperfüzyon hasarında geçici spinal kort iskemisine karşı da koruyucu olduğu gösterilmiş [70].

More ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada, tavşanlarda balon hasarından 3 gün sonra reendotelizasyonun başladığını ve ekstrasellüler matriks birikimine bağlı olarak 1. ayda intimal kalınlaşmanın maksimum seviyeye ulaştığını ve üç ay içinde azalma olduğunu tespit etmişlerdir [40]. Bu çalışma doğrultusunda deneklerin sakrifikasyon günü 28. gün olan intimal hiperplazinin maksimum olduğu gün olarak belirlendi.

Bu tip çalışmalar genelde PTA ile oluşturulan endotel hasarı çalışmalarıdır. Anastomoz çalışmaları çok enderdir. Biz de resveratrolle dünyada ilk anastomoz çalışması olması nedeniyle bu deneyi planladık. Resveratrolün, anastomoz sonrası intimal hiperplaziye etkisini araştırdık. Balon anjioplasti sonrası damarda soyulmaya bağlı sadece intima tabakasında hasar meydana gelmektedir. Anastomoz sonrası damarın intima, media ve

intimal hiperplaziye olan katkısı genellikle göz ardı edilen adventisya tabakası dahil damarın tüm katları etkilenmektedir. Bizim çalışma modelimizin hem vasküler rekonstrüksiyon sonrası görülen intimal hiperplaziye benzerliği, hem de anastomoz sonrası damarın tüm katlarının etkileniyor olmasından dolayı balon ile oluşturulan hasar modeline göre daha farklı olduğu kanısındayız. Bu nedenlerden dolayı resveratrolün anastomoz sonrası etkilerini araştırmak için 14 gün boyunca intravenöz olarak uyguladık.

Çalışmamızın sonucunda lümen alanı olarak; Grup B'in lümen alanı Grup A'dan daha geniş olduğu tespit edilmiş olup bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Kontrol grupları lümen alanı karşılaştırılmasında; resveratrol alan Grup BK (anastomoz yapılmayan taraf sol karotis arter) ile Resveratrol almayan Grup AK (anastomoz yapılmayan taraf sol karotis arter) arasındaki lümen alanları arasında da istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur. Burada resveratrolün kontrol gruplarındaki lümen alanını artırıcı etkisini, damar lümenini genişleterek yaptığı kanısındayız.

Çalışmamızın sonucunda lümen çapı; Grup B'in lümen çapı Grup A'dan daha geniş olduğu tespit edilmiş olup bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Resveratrol alan anastomoz yapılmayan sol taraf karotis arteri (GrupBK) ile resveratrol almayan anastomoz yapılmayan sol taraf karotis arteri (GrupAK) arasında da lümen çapı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmiştir. Yine yukarıdaki lümen alanındakine benzer etki ile resveratrolün bunu yaptığını düşünmekteyiz. Anastomoz yapılmayan resveratrol alan BK ile anastomoz yapılan ve resveratrol alan B grubu karşılaştırıldığında sağlam sol taraf karotis arterin (BK) lümen çapının daha fazla olduğu görülmektedir. Buradan da resveratrolün intimal kalınlığı anastomoz yapılan tarafta daha da azaltarak lümen çapını BK'ya göre daha az artırdığı sonucu çıkmaktadır. Yani resveratrol anastomoz yapılan taraftaki intimal hiperplaziyi azaltmıştır ve buna bağlı olarak lümen çapını artırmıştır. Ama bu artış sağlam taraftaki lümen çapı artışı kadar olmamıştır. Endotel bütünlüğü bozulmayan sağlam taraf damar üzerinde lümen çapı daha fazla artmıştır.

Çalışmanın sonucunda intima kalınlığına bakıldığında; Kontrol grupların (AK-BK) intimal kalınlığı karşılaştırılması haricinde tüm diğer grupların intimal kalınlığı karşılaştırılması sonrasında istatistiksel olarak anlamlı farklar olduğu tespit edilmiştir. Resveratrol alan ve almayan grupların anastomoz yapılmayan sol taraf karotis arterlerinin intimal kalınlığı birbirine yakın bulunmuştur. Buradan da resveratrolün cerrahi işlem yapılmamış (endotel kaybı olmayan) damar intiması üzerindeki etkilerinin hiperplaziyi azaltıcı etkilerinden farklı olduğu sonucu çıkarılabilir. Anastomoz yapıp resveratrol



verilmeyen grubun intimal kalınlaşmasının tüm gruplar içinde oldukça fazla olduğu görülmüştür. Resveratrolün anastomoz yapılan grupta intimal hiperplaziyi istatistiksel olarak anlamlı derecede azalttığı görülmüştür.

Çalışmanın sonucunda media kalınlığına bakıldığında; Anastomoz yapılan resveratrol alan grup ile anastomoz yapıp resveratrol almayan gruba bakıldığında, media kalınlığında resveratrolün anlamlı şekilde azalmaya neden olduğu görülmüştür. AK ile BK arasında aynı intima kalınlığında olduğu gibi media kalınlığı açısından anlamlı bir fark yoktur. Buradan da media düz kas hipertrofisi üzerine sağlam ve resveratrol almayan AK'ya göre BK üzerinde benzer etkisinin olduğu söylenebilir. Yani resveratrol düz kas hiperplazisini inhibe ederek media kalınlığını azaltmaktadır.

Çalışmanın sonucunda intima/media oranına bakıldığında; Grup A'nın ortalama intima/media oranı Grup B'nin ortalama intima /media oranı ile karşılaştırıldığında daha büyük bulunmuş ve bu istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Grup AK'nın ortalama intima/media oranı Grup BK'nın ortalama intima/media oranı ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

Çalışmamızdan çıkan sonuçlar; Tavşan normal iliak arterin deneysel endotel hasarında, resveratrolün damar intima hiperplazisini azaltması ve lümen alanını artırması çalışmalarına benzer şekilde lümen çapında kontrol grubuna kıyasla istatistiksel anlamlı genişleme bizim çalışmamızda da tespit edilmiştir. Resveratrolün damar düz kas hücre proliferasyonu üzerine ratlarda gösterilen inhibisyon etkisi, media kalınlığında azalma olarak bizim çalışmamızda da görülmüştür. Resveratrolün vazodilatör etkilerini cAMP ve cGMP yıkımını inhibe etmesi yoluyla gösterdiğini söyleyen çalışmalara paralel olarak bizim çalışmamızda da resveratrol verdiğimiz grupların lümen çapları diğer gruplara göre belirgin artmış bulunmuştur. Bunun sadece intima üzerindeki etkilerinden değil vazodilatasyon yapıcı etkisinden de kaynaklandığını düşünmekteyiz.

Özetle neointimal hiperplaziyi araziidonik asit metabolizması üzerinden etkileyerek proinflamatuvar mediatörlerin birikimini azaltma yoluyla, ATP fosforilasyonunu inhibe ederek, tümör supresör gen ekspresyonunu artırarak apoptosis üzerinden hücre büyümesini durdurarak, vazodilatasyon regülasyonu üzerinden, LDL peroksidasyon ve ROS inhibisyonu ile trombosit agregasyonunu baskılaması ve intimadaki düz kas proliferasyonunu antimitojenik etki ile bloke etmesi yollarından etkileyerek inhibe ettiğini düşünmekteyiz. Sonuç olarak damar anastomozu sonrası intimal hiperplazinin azaltılması açısından resveratrolün en az 14 gün boyunca kullanılabileceğini düşünmekteyiz.

## KAYNAKLAR

1. Clowes, A., *Pathologic intimal hyperplasia as a response to vascular injury and reconstruction*. Rutherford RB, ed. Vascular Surgery, 1995: p. 285-93.
2. Pauleto P, Sartore S, Pessina AC. *Smooth muscle proliferation and differentiation in neointima formation and vascular restenosis*. Clin Sci. 1994; (87): p.467–479.
3. Schwartz RS. *Pathophysiology of restenosis: interaction of thrombosis, hyperplasia and/or remodeling*. Am J Cardiol. 1998 ; (81): p.14–17.
4. Galt G, Z.Z., *Differential response of arteries and vein grafts to blood flow reduction*. J Vasc Surg, 1993. 17(3): p. 563-570.
5. Donohoe., S., *Myointimal thickening in experimental vein grafts is dependent on wall tension*. J Vasc Surg 1992. 15(1): p. 176-186.
6. Gu J, Wang CQ, Fan HH, et al. *Effects of resveratrol on endothelial progenitor cells and their contributions to reendothelialization in intima-injured rats*. J Cardiovasc Pharmacol 2006. (47): p.711–21.
7. Zou J., et al. *Effect of resveratrol on intimal hyperplasia after endothelial denudation in an experimental rabbit model*. Life Sci. 2000.68(2): p.153-63.
8. Aggarwal, B. B., et al. *Inflammation and cancer: how hot is the link?* Biochem. Pharmacol. 2006.72: p.1605–1621.
9. Provinciali, M., et al. *Effect of resveratrol on the development of spontaneous mammary tumors in HER-2/neu transgenic mice*. Int. J. Cancer 2005.115: p.36–45.
10. Baur, J. A., et al. *Resveratrol improves health and survival of mice on a high-calorie diet*. Nature 2006.444: p.337–342.
11. Kinlay S, Libby P, Ganz P. *Endothelial function and coronary artery disease*. Curr Opin Lipidol 2001.12: p.383–389.
12. Davignon J, Ganz P. *Role of endothelial dysfunction in atherosclerosis*. Circulation 2004.109: p.III27–III32.
13. Liu JC, Chen JJ, Chan P. *Inhibition of cyclic strain-induced endothelin-1 gene expression by resveratrol*. Hypertension 2003. 42: p.1198–1205.
14. 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: p.2511– 2521.

15. Wang Z, You J, Huang Y. *Effect of resveratrol on platelet aggregation in vivo and in vitro.* *Chin Med J (Engl)* 2002.115: p.378–380.
16. Price GC, Thompson SA, Kam PC. *Tissue factor and tissue factor pathway inhibitor.* *Anaesthesia* 2004.59: p.483–492.
17. Petersen LC, Freskgard PO, Ezban M. *Tissue factor-dependent factor VIIa signaling.* *Trends Cardiovasc Med* 2000.10: p.47–52.
18. Hsieh TC, Juan G, Darzynkiewicz Z. *Resveratrol increases nitric oxide synthase, induces accumulation of p53 and p21WAF1/CIP1, and suppresses cultured bovine pulmonary artery endothelial cell proliferation by perturbing progression through S and G2.* *Cancer Res* 1999.59: p.2596–2601.
19. Zou J, Huang Y, Chen Q. *Suppression of mitogenesis and regulation of cell cycle traverse by resveratrol in cultured smooth muscle cells.* *Int J Oncol* 1999.15: p.647–651.
20. Haider UG, Sorescu D, Griendling KK. *Resveratrol increases serine 15-phosphorylated but transcriptionally impaired p53 and induces a reversible DNA replication block in serum-activated vascular smooth muscle cells.* *Mol Pharmacol* 2003. 63: p. 925–932.
21. Mnjoyan ZH, Fujise K. *Profound negative regulatory effects by resveratrol on vascular smooth muscle cells: a role of p53-p21WAF1/CIP1 pathway.* *Biochem Biophys Res Commun* 2003.311: p.546–552.
22. Gartner, L., Hiatt James, L. , *Circulatuar system.* *Color Textbook of Histology*, 2001. second edition: p. 251-270.
23. Ross, M., *Circulatuar system.* *Circulatuar system In; Ross MH. Histology A Text and Atlas.*, 1995. Third edition( Williams& Wilkins Maryland ): p. 302-314.
24. Cones, M., *Connective Tissue and stains.* *In; Bancroft J.D, Gamble M. Theory and Practice of Histological Techniques*, 2002. Fifth edition(Churchill Livingstone Toronto): p. 125-163.
25. Furchgott, R.F. and J.V. Zawadzki, *The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine.* *Nature*, 1980.288(5789):p. 373-6.
26. Panza, J.A., et al. *Abnormal endothelium-dependent vascular relaxation in patients with essential hypertension.* *N Engl J Med*, 1990. 323(1): p. 22-7.

27. Kilbourn, R.G., et al. *Reversal of endotoxin-mediated shock by NG-methyl-L-arginine, an inhibitor of nitric oxide synthesis*. *Biochem Biophys Res Commun*, 1990. 172(3): p. 1132-8.
28. Michiels, C., *Endothelial cell functions*. *J Cell Physiol*, 2003. 196(3): p. 430-43.
29. Shirk, R.A., F.C. Church, and W.D. Wagner, *Arterial smooth muscle cell heparan sulfate proteoglycans accelerate thrombin inhibition by heparin cofactor II*. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1996. 16(9): p. 1138-46.
30. Shalaby, F., et al. *Failure of blood-island formation and vasculogenesis in Flk-1-deficient mice*. *Nature*, 1995. 376(6535): p. 62-6.
31. Schiffrin, E.L. *Role of endothelin-1 in hypertension and vascular disease*. *Am J Hypertens*, 2001. 14(6 Pt 2): p. 83S-89S.
32. DeSouza, C.A., et al. *Regular aerobic exercise prevents and restores age-related declines in endothelium-dependent vasodilation in healthy men*. *Circulation*, 2000. 102(12): p. 1351-7.
33. Verhaar, M.C., et al. *Effects of oral folic acid supplementation on endothelial function in familial hypercholesterolemia. A randomized placebo-controlled trial*. *Circulation*, 1999. 100(4): p. 335-8.
34. Zubilewicz, T., et al. *Injury in vascular surgery--the intimal hyperplastic response*. *Med Sci Monit*, 2001. 7(2): p. 316-24.
35. Doğan., D.E., *N. İntimal hiperplazi nedenleri, önleme ve tedavi yöntemleri*. *Kalp ve damar cerrahisi*, 2004. I.baskı(İstanbul, Çapa tıp kitapevi): 2004: p.639-647.
36. Takahashi, A., et al. *Tranilast inhibits vascular smooth muscle cell growth and intimal hyperplasia by induction of p21(waf1/cip1/sdi1) and p53*. *Circ Res*, 1999. 84(5): p. 543-50.
37. Peyot, M.L., et al. *Extracellular adenosine induces apoptosis of human arterial smooth muscle cells via A(2b)-purinoceptor*. *Circ Res*, 2000. 86(1): p. 76-85.
38. Dubey, R.K., et al. *Adenosine inhibits growth of rat aortic smooth muscle cells. Possible role of A2b receptor*. *Hypertension*, 1996. 27(3 Pt 2): p. 786-93.
39. De Meyer, G.R. and H. Bult, *Mechanisms of neointima formation--lessons from experimental models*. *Vasc Med*, 1997. 2(3): p. 179-89.
40. More, R.S., et al. *A time sequence of vessel wall changes in an experimental model of angioplasty*. *J Pathol*, 1994. 172(3): p. 287-92.

41. Zou, Y., et al. *Mouse model of venous bypass graft arteriosclerosis*. Am J Pathol, 1998. 153(4): p. 1301-10.
42. Mattsson E., et al. *Increased blood flow induces regression of intimal hyperplasia*. Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology. 1997.17: p.2245–2249
43. Tiwari, A., et al. *Improving the patency of vascular bypass grafts: the role of suture materials and surgical techniques on reducing anastomotic compliance mismatch*. Eur J Vasc Endovasc Surg, 2003. 25(4): p. 287-95.
44. Mason, R.A., et al. *The early and late responses of the arterial wall to graft placement*. J Surg Res, 1989. 47(5): p. 383-8.
45. Schachner T. *Pharmacologic inhibition of vein graft neointimal hyperplasia*. JThorac Cardiovasc Surg. 2006.131(5): p.1065-72.
46. Fremont L. *Biological effects of resveratrol*. Life Sci 2000. 66(8): p.663-73.
47. Arichi H., et al. *Effects of stilbene components of the roots of Polygonum cuspidatum Sieb. Et Zucc. on lipid metabolism*. Chem Pharm Bull 1982.30(5): p.1766-70.
48. Kimura Y., et al. *Effects of stilbene components of roots of Polygonum ssp. on liver injury in peroxidized oil-fed rats*. Planta Med 1983.49(1): p.51-4.
49. Bertelli AA., et al. *Evaluation of kinetic parameters of natural phytoalexin in resveratrol orally administered in wine to rats*. Drugs Exp Clin Res 1998.24(1): p.51-5.
50. Bertelli A., et al. *Plasma and tissue resveratrol concentrations and pharmacological activity*. Drugs Exp Clin Res 1998. 24(3): p.133-8.
51. Ferrero ME., et al. *Activity in vitro of resveratrol on granulocyte and monocyte adhesion to endothelium*. AmJ Clin Nutr 1998. 68: p.1208–14.
52. Teel RW, Huynh H. *Modulation by phytochemicals of cytochrome P450-linked enzyme activity*. Cancer Lett 1998. 133: p.135–41.
53. Leikert JF., et al. *Red wine polyphenols enhance endothelial nitric oxide synthase expression and subsequent nitric oxide release from endothelial cells*. Circulation 2002.106: p.1614–7.
54. Gu J., et al. *Effects of resveratrol on endothelial progenitor cells and their contributions to reendothelialization in intima-injured rats*. J Cardiovasc Pharmacol 2006.47: p.711–21.
55. Zini R., et al. *Resveratrol induced limitation of dysfunction of mitochondria isolated from rat brain in an anoxia-reoxygenation model*. Life Sci 2002.71: p.3091–108.

56. Bertelli AAE., et al. *Antiplatelet activity of cis-resveratrol*. *Drugs Exptl Clin Res* 1996 .22: p.61–3.
57. Dobrydneva Y., et al. *Trans-resveratrol inhibits calcium influx in thrombin-stimulated human platelets*. *Br J Pharmacol* 1999.128: p.149–57.
58. Liew R., et al. *The red wine polyphenol, resveratrol, exerts acute direct actions on guinea-pig ventricular myocytes*. *Eur J Pharmacol* 2005.519: p.1–8.
59. Zhang Y., et al. *Resveratrol, a natural ingredient of grape skin: antiarrhythmic efficacy and ionic mechanisms*. *Biochem Biophys Res Commun* 2006.340: p.1192–9.
60. Plin C., et al. *Resveratrol protects against cold ischemia—warm reoxygenation-induced damages to mitochondria and cells in rat liver*. *Eur J Pharmacol* 2005.528: p.162–8.
61. Br°akenhielm E., et al. *Suppression of angiogenesis, tumor growth, and wound healing by resveratrol, a natural compound in red wine and grapes*. *FASEB*, Published online June 8, 2001.
62. Pellegatta F., et al. *Different short- and long-term effects of resveratrol on nuclear factor-kB phosphorylation and nuclear appearance in human endothelial cells*. *Am J Clin Nutr* 2003. 77: p.1220–8.
63. Shen F., et al. *Suppression of IL-8 gene transcription by resveratrol in phorbol ester treated human monocytic cells*. *J Asian Nat Prod Res* 2003.5: p.151–7.
64. Cignarella A., et al. *Potential pro-inflammatory action of resveratrol in vascular smooth muscle cells from normal and diabetic rats*. *Nutr metab Cardiovasc Dis* 2006.16: p.322–9.
65. Naderali EK., et al. *Resveratrol induces vasorelaxation of mesenteric and uterine arteries from female guinea-pigs*. *Clin Sci* 2000.98 p.537-43.
66. Naderali EK., et al. *The mechanism of resveratrol-induced vasorelaxation differs in the mesenteric resistance arteries of lean and obese rats*. *Clin Sci* 2001.100 p.55-60.
67. Andriambelason E., et al. *Nitric oxide production and endothelium-dependent vasorelaxation induced by wine polyphenols in rat aorta*. *Br J Pharmacol* 1997. 120: p.1053-8.
68. Li HF., et al. *Evidence for the stimulatory effect of resveratrol on Ca(2+)-activated K<sup>+</sup> current in vascular endothelial cells*. *Cardiovasc Res* 2000.45:p.1035-45.

69. Ekshyyan VP., et al. *Resveratrol inhibits rat aortic vascular smooth muscle cell proliferation via estrogen receptor dependent nitric oxide production.* J Cardiovasc Pharmacol. 2007.50: p.83-93.
70. Kızıltepe U., et al. *Resveratrol, a red wine polyphenol, protects spinal cord from ischemia-reperfusion injury.* J Vasc Surgery 2004.40: p.138-45.
71. Frankel EN., et al. *Inhibition of human LDL oxidation by resveratrol.* Lancet 1993.24; 341(8852): p.1103-4.
72. Belguendouz L., et al. *Resveratrol inhibits metal ion-dependent and independent peroxidation of porcine low-density lipoproteins.* Biochem Pharmacol 1997.53: p.1347-55.
73. Laden BP., et al. *Inhibition of human squalene monooxygenase by tellurium compounds: evidence of interaction with vicinal sulfhydryls.* J Lipid Res 2001 Feb; 42(2):235-40.
74. Chanvitayapongs S., et al. *Amelioration of oxidative stress by antioxidants and resveratrol in PC12 cells.* Neuroreport 1997. 8: p.1499-502.
75. Lin JK., et al. *Chemoprevention of cancer and cardiovascular disease by resveratrol.* Proc Natl Sci Counc Repub China B 1999.23:p.99-106.
76. Hsieh TC., et al. *Resveratrol increases nitric oxide synthase, induces accumulation of p53 and p21(WAF1/CIP1), and suppresses cultured bovine pulmonary artery endothelial cell proliferation by perturbing progression through S and G2.* Cancer Res 1999.59: p.2596-601.
77. Ray PS., et al. *The red wine antioxidant resveratrol protects isolated rat hearts from ischemia reperfusion injury.* Free Radic Biol Med 1999.27:p.160-9.
78. Signorelli P., et al. *Resveratrol as an anticancer nutrient: molecular basis, open questions and promises.* J Nutr Biochem. 2005.16: p.449–466.
79. WalleT., et al. *High absorption but very low bioavailability of oral resveratrol in humans.* Drug Metab Dispos. 2004.32: p.1377-1382.
80. Das DK, Maulik N. *Resveratrol in cardioprotection: a therapeutic promise of alternative medicine.* Mol Interv. 2006.6: p.36- 47
81. Shen M, Jia GL, Wang YM. *Cardioprotective effect of resvaratrol pretreatment on myocardial ischemia–reperfusion induced injury in rats.* Vascul Pharmacol. 2006.45: p.122–126.

82. Csiszar A, Smith K, Labinsky N. *Resveratrol attenuates TNF- $\alpha$  induced activation of coronary arterial endothelial cells: role of NF- $\kappa$ B inhibition* Am J Physiol Heart Circ Physiol.2006. 291: p.1694–1699.
83. Moskaug J, Carlsen H, Myhrstad MCV. *Polyphenols and glutathione synthesis regulation*. Am J Clin Nutr. 2005.81:p. 277–283.
84. Paula M. Brito., et al. *Resveratrol affords protection against peroxynitrite- mediated endothelial cell death: A role for intracellular glutathione*. Chem Biol Interact. 2006.164: p.157-166.
85. Ungvari Z, Orosz Z. *Resveratrol increases vascular oxidative stress resistance*. Am J Physiol Heart Circ Physiol. 2007.292: p.2417-2424.
86. Boyle EM Jr., et al.*Endothelial cell injury in cardiovascular surgery:atherosclerosis*. Ann Thorac Surg. 1997 .63(3): p.885-94.
87. Ross R.*Cell biology of atherosclerosis*. Annu Rev Physiol.1995.57:p.791-804