

# İzole Rat Kalplerine Uygulanan Reperfüzyon Hasarında Resveratrol'ün Hemodinamik Etkileri

## THE HEMODYNAMIC EFFICACY OF RESVERATROL ON REPERFUSION INJURY IN ISOLATED RAT HEARTS

Murat İkizler, Sadettin Dernek, \*Nilüfer Erkasap, \*Ziya Kaygısız, Behçet Sevin, Tuğrul Kural

Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kalp Damar Cerrahisi Ana Bilim Dalı, Eskişehir  
\*Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Fizyoloji Ana Bilim Dalı, Eskişehir

### Özet

**Amaç:** Resveratrol tüzümde bol bulunan bir antioksidan maddedir. Yapılan çalışmalar, resveratrolün dokuları iskemiden koruyucu etkisi bulunduğunu göstermiştir. Bu deneysel çalışmada, iskemi öncesi uzun ve kısa dönem uygulanan resveratrolün hemodinamik açıdan kalbi koruyucu etkinliği araştırılmıştır.

**Materyal ve Metod:** Çalışma için 40 adet Spraque-Dawley cinsi rat kullanılarak 4 gruba ayrılmıştır. Grup 1 ve Grup 2'deki ratlara deney öncesi iki hafta  $10^{-6}$  g/kg resveratrol intraperitoneal enjeksiyon ile verildi. Grup 1 ve Grup 3'de  $10^{-6}$  g/kg resveratrol deney esnasında 30 dakika infüzyon olarak izole kalplere uygulandı. Grup 4'deki ratlara resveratrol verilmeyerek kontrol grubu olarak ayrıldı. İzole kalpler Langendorf perfüzyon sistemine asılarak Krebb's-Henseleit solüsyonu ile perfüze edildi. Hemodinamik verileri toplamak için sol ventrikül içine lateks balon yerleştirildi. Kalpler 300 atım/dakika hızında deney boyunca ayarlanarak, 20 dakika stabilize edildi. Otuz dakika ilaç periyodu sonunda perfüzyon kesildi, tüm kalpler kristalloid kardiyopleji solüsyonu kullanılarak durduruldu ve 60 dakika global iskemide tutuldu. İskemi periyodu ardından kalpler 30 dakika Krebb's-Henseleit solüsyonu ile reperfüze edildi. Grupları karşılaştırabilmek amacı ile hemodinamik veriler (sistolik basınç, diyastol sonu basınç,  $dP/dt_{max}$ ) ve koroner akım miktarları stabilizasyon sonunda ve reperfüzyon periyodunun her 10 dakikasında kaydedildi.

**Bulgular:** Stabilizasyon periyodunda gösterdikleri hemodinamik performans yönünden dört grupta da kalpler arasında fark yoktu. Reperfüzyon periyodunda hemodinamik veriler resveratrol uygulanan gruplarda (Grup 1, 2 ve 3) kontrol grubuna göre daha iyi kasılmayı gösterirken; Grup 1 ve 2 kalplerde fonksiyonel iyileşme Grup 3 göre daha iyi idi. Grup 1 ve 2 arasında anlamlı farklılık yoktu.

**Sonuç:** Bir antioksidan olan resveratrol, oksidatif stresi önleyerek iskemi/reperfüzyon hasarında koruyucu etki yaratmaktadır. İskemiden önce resveratrol uygulanması ile bu etki daha da belirgin olarak ortaya çıkmaktadır.

**Anahtar kelimeler:** Resveratrol, iskemi, reperfüzyon, kalp, antioksidan

Türk Göğüs Kalp Damar Cer Derg 2003;11:91-95

### Summary

**Background:** Resveratrol is an anti-oxidant agent and occurs in grapes and a variety of plants. Recent studies have demonstrated that resveratrol protected the tissues against ischemic conditions. In this experimental study we have examined the protective effects of resveratrol on prolonged global ischemia when it was applied for two weeks before and just prior to ischemia.

**Methods:** Fourty male Spraque-Dawley rats were divided in four groups for the experiment. In Group I and II, resveratrol ( $10^{-6}$  g/kg) was given via intraperitoneal injection for two weeks. Additionally in Group I and in Group III, resveratrol infusion was given at  $10^{-6}$  g/kg dosage to isolated hearts for 30 minutes just prior to ischemia. Group IV rats were excluded from resveratrol and reserved as control group, saline was given according to same protocol. Hearts were mounted to Langendorf perfusion apparatus and perfused with Krebb's-Henseleit solution. A water filled latex balloon was inserted in the left ventricle through left atrium and connected to a pressure transducer to measure hemodynamic data. All hearts were paced at 300 beat/min and stabilized for 20 minutes. After 30-minute of drug infusion period, the hearts in all groups were arrested with cold cristalloid cardioplegia and subjected to 60-minute of global ischemia. At the end of ischemia period, the hearts were reperfused for 30 minutes with Krebb's-Henseleit solution. The hemodynamic data (peak systolic pressure, end diastolic pressure,  $dP/dt_{max}$ ) and coronary flow measurements were recorded at the end of the stabilization and every 10-minute intervals of reperfusion period to compare the each groups.

**Results:** There was no significant difference in all parameters at the stabilization period. At the reperfusion period the hemodynamic data and coronary flow measurements have displayed better contractile function in resveratrol groups (Group I, II and III) than control group (Group IV). Also, the functional recovery was statistically better in Group I and II hearts than in Group III. No significant difference was observed between groups I and II at reperfusion period.

**Conclusion:** Resveratrol, as an anti-oxidant agent, prevents the oxidative stress in ischemia/reperfusion injury and protects the myocardium. The long-term application of resveratrol is more effective than using just prior to ischemia.

**Keywords:** Resveratrol, ischemia, reperfusion, heart, antioxidant

Turkish J Thorac Cardiovasc Surg 2003;11:91-95

**Sunulduğu Kongre:** Türk Kalp Damar Cerrahisi Derneği VII. Ulusal Kongresi, 23-27 Ekim 2002, Antalya

**Adres:** Dr. Murat İkizler, Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kalp Damar Cerrahisi Ana Bilim Dalı, Eskişehir

**e-mail:** mikizler@ogu.edu.tr

## Giriş

Resveratrol (3,4,5-trihidroksistilben) üzüm tanelerinde bol miktarda bulunan polifenol yapıda doğal bir antioksidan maddedir. Yapılan epidemiyolojik çalışmalar Güney Fransa'da yağlı diyet ve sigara kullanımının fazla olmasına rağmen bol tüketilen şarap nedeni ile koroner kalp hastalığı insidansının diğer bölgelere göre daha düşük bulunmasına yol açmış, bu tabloya "Fransız Paradoksu" adı verilmiştir [1,2]. Bu konuda yapılan yayınlar paradoksa sebep olarak kırmızı şarap içinde bol miktarda bulunan resveratrolü işaret etmiştir [3]. Yapılan klinik ve deneysel çalışmalarda resveratrolün trombosit agregasyonunu engellediği [4], dokuları iskemiyin zararlı etkilerinden koruduğu ortaya konmuştur [5,6]. Bu deneysel çalışma, iskemi öncesi farklı zamanlarda verilen resveratrolün, uzun süreli global iskemiyeye maruz bırakılan izole rat kalpleri üzerine olan etkisini araştırmak amacı ile yapılmıştır.

## Materyal ve Metod

Çalışma için 300-350 gr ağırlığında 40 adet erkek Sprague-Dawley cinsi ratlar etik komite izni alınarak kullanıldı. Deneysel dahil edilen ratlar 4 gruba ayrıldı.

### Grup 1 (n = 10)

Ratlara deneyden önce 14 gün  $10^{-6}$  g/kg resveratrol (Sigma, katalog no: R5010, USA) günde bir kez intraperitoneal enjeksiyon ile verildi. Deney esnasında kalplere stabilizasyon periyodu sonunda 30 dakika  $10^{-6}$  g/kg resveratrol infüzyonu uygulandı.

### Grup 2 (n = 10)

Ratlara deneyden önce 14 gün  $10^{-6}$  g/kg resveratrol günde bir kez intraperitoneal enjeksiyon ile verildi. Stabilizasyon periyodu sonunda bu grup kalplere 30 dakika salin infüzyonu yapıldı.

### Grup 3 (n = 10)

Kalplere stabilizasyon periyodu sonunda 30 dakika  $10^{-6}$  g/kg resveratrol infüzyonu verildi.

### Grup 4 (n = 10)

Kalplere stabilizasyon periyodu sonunda 30 dakika salin infüzyonu uygulandı.

Deney hazırlık aşamasında tüm ratlara önce 300 IU/kg intraperitoneal heparin verildi ve 10 dakika sonra 50 mg/kg intraperitoneal sodyum pentotal ile anestezileri sağlandı. Medyan sternotomi ardından çıkartılan kalpler karlı-buz şeklinde salin içerisine daldırılarak soğuk arrest sağlandı. Daha sonra kalpler aortadan Langendorf perfüzyon sistemine asılarak 70 mmHg sabit basınç ve 37°C sabit ısı altında Krebb's Henseleit (mmol/L: NaCl 118; KCl 4.7; CaCl<sub>2</sub> 2.0; MgSO<sub>4</sub> 1.2; NaHCO<sub>3</sub> 25; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1.2; Glikoz 11.1) solüsyonu ile perfüzyona başlandı. Pulmoner artere kesi yapılarak perfüze edilen Krebb's solüsyonunun drenajı sağlandı. Kalpler 300 atım/dak hızında epikardiyal lead ile uyarıldı ve tüm gruplarda 20 dakika stabilizasyon sağlandı. Hemodinamik verileri toplamak amacı ile sol ventrikül içine lateks balon yerleştirildi ve basınç ölçere (Transpack II, Abbott, USA) bağlandı. Elde

edilen hemodinamik veriler (sistolik basınç, diyastol sonu basınç,  $dp/dt_{max}$ ) "data acquisition" sistem (BIOPACK MP100 System, Inc., USA) yardımı ile deney boyunca izlendi. Stabilizasyonun sonunda tüm gruplarda 30 dakika ilaç (resveratrol veya salin) infüzyon safhası uygulandı ve ardından perfüzyon kesildi, pace kapatıldı ve soğuk kristalloid kardiyopleji solüsyonu ile kalpler durduruldu. Altmış dakika oda ısısında (24°C) global iskemiyeye maruz bırakılan kalpler iskemi periyodu sonunda tekrar 30 dakika Krebb's-Henseleit solüsyonu ile reperfüze edildi. Grupları hemodinamik yönden karşılaştırmak amacı ile sistolik basınç, diyastol sonu basınç,  $dp/dt_{max}$  değerleri stabilizasyon periyodu sonunda ve reperfüzyon periyodunun her 10 dakikasında kaydedildi. Bir dakika boyunca perfüze edilen ve koroner perfüzyon sonrası pulmoner arteriyotomi yolu ile drene olan Krebb's solüsyonu bir kap yardımı ile toplanarak ölçüldü ve koroner akım miktarı olarak stabilizasyon periyodu sonunda ve reperfüzyon periyodunun her 10 dakikasında kaydedildi.

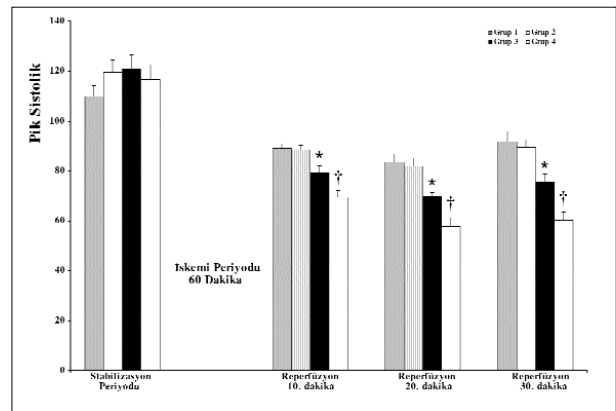
### Verilerin Analizi

Sonuçlar ortalama  $\pm$  standart hata değerleri olarak sunulmuştur. Dört gruptan elde edilen verilerin istatistiksel analizi ANOVA testi ile yapılmıştır.  $P < 0.05$  değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

## Bulgular

### Sistolik Basınç

Stabilizasyon periyodunun sonunda sistolik basınç değerleri açısından gruplar arasında anlamlı fark bulunamadı ( $p > 0.05$ ). Reperfüzyon döneminde alınan tüm ölçümlerde Grup 1 ve Grup 2 arasında farklılık saptanamadı ( $p > 0.05$ ).



Şekil 1. Sistolik basınç değerleri.

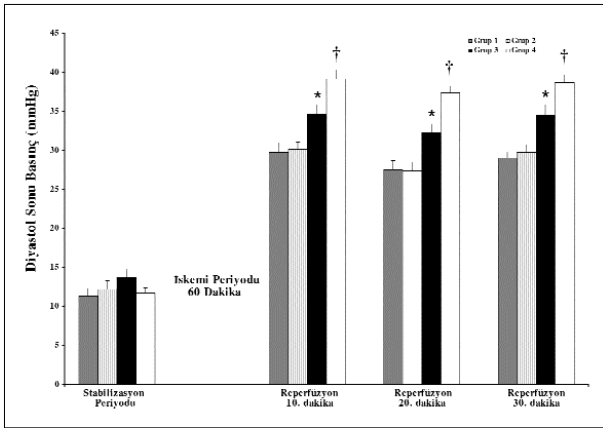
(\*  $p < 0.05$  ; †  $p < 0.01$ ).

Ancak reperfüzyon döneminde Grup 3 kalplerden elde edilen sistolik basınç değerleri Grup 1 ve 2'den istatistiksel olarak farklı idi ( $p < 0.05$ ). Grup 4 sistolik basınç değerleri ise Grup 1 ve 2'den ( $p < 0.01$ ) ve Grup 3'den ( $p < 0.05$ ) belirgin olarak daha düşük idi (Şekil 1).

### Diyastolik Basınç

Stabilizasyon döneminde elde edilen diyastolik basınç

değerleri gruplar arasında anlamlı farklılık içermiyordu ( $p > 0.05$ ). Reperfüzyonun 10., 20. ve 30. dakikalarında alınan değerlere göre Grup 1 ve 2 arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanamadı ( $p > 0.05$ ). Ancak Grup 3'de kaydedilen diyastolik basınç değerleri reperfüzyonun her üç döneminde de Grup 1 ve 2'den anlamlı olarak yüksekti ( $p < 0.05$ ). Grup 4 diyastolik basınç ölçümleri ise hem Grup 1 ve 2'den ( $p < 0.001$ ), hem de grup 3'den ( $p < 0.05$ ) çok daha yüksekti (Şekil 2).



Şekil 2. Diyastol sonu basınç değerleri.  
(\*  $p < 0.05$  ; †  $p < 0.001$ ).

### dP/dt<sub>max</sub>

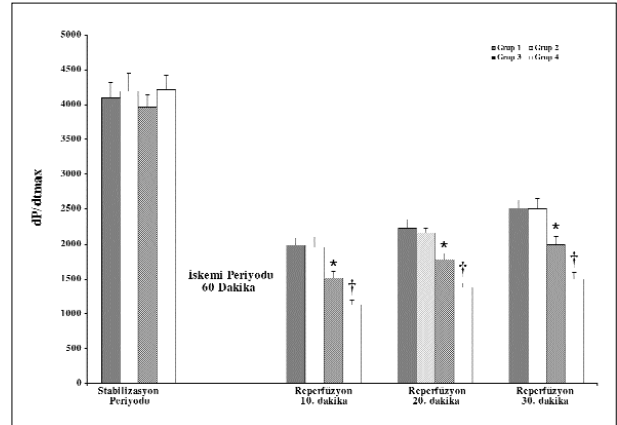
Deney boyunca kaydedilen dP/dt<sub>max</sub> değerleri sistolik basınç değerleri ile paralellik içinde idi. Stabilizasyon döneminde gruplar arasında farklılık yoktu ( $p > 0.05$ ). Reperfüzyon döneminin tüm zamanlarında Grup 1 ve 2 arasında istatistiksel olarak fark saptanamadı ( $p > 0.05$ ). Reperfüzyonun 10., 20. ve 30. dakikalarında Grup 3 değerleri, Grup 1 ve 2'den ( $p < 0.05$ ); Grup 4 değerleri Grup 1, Grup 2 ( $p < 0.001$ ) ve Grup 3'den ( $p < 0.05$ ) anlamlı olarak daha düşük idi (Şekil 3).

### Koroner Akım

Stabilizasyon döneminde elde edilen koroner akım miktarlarında gruplar arasında anlamlı fark yoktu ( $p > 0.05$ ). Reperfüzyonun hiçbir döneminde Grup 1 ve 2 arasında fark saptanamadı ( $p > 0.05$ ). Grup 3 kalplerde elde edilen koroner akım miktarları reperfüzyonun tüm zamanlarında Grup 1 ve 2'den daha az idi ( $p < 0.05$ ). Grup 4'de ölçülen değerler ise hem Grup 1 ve 2'den ( $p > 0.01$ ), hem de Grup 3'den ( $p < 0.05$ ) daha düşük idi (Şekil 4).

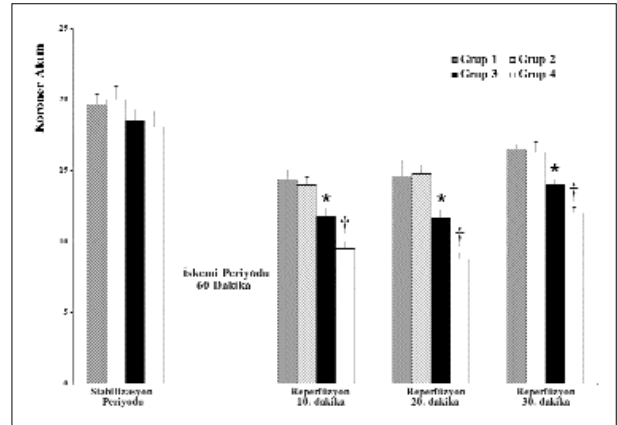
### Tartışma

Dokuların oksijenizasyonu ile oluşan serbest oksijen radikalleri, normal şartlar altında superoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz ve katalaz gibi hücrel antioksidan mekanizmalar ile etkisiz hale getirilir. Ancak kronik hastalıklar, iske mi gibi patolojik durumlarda oluşan serbest oksijen radikallerinin miktarı bu koruyucu mekanizmanın kapasitesini aşar ve oksidatif stres oluşur [7]. Kalp hastalıklarına bağlı olarak gelişen kalp yetmezliği patolojisinin zemininde de artmış oksidatif stres



Şekil 3. dP/dt<sub>max</sub> değerleri.  
(\*  $p < 0.05$  ; †  $p < 0.001$ ).

gösterilmiş, bu tablonun hem kalbin yapısı, hem de fonksiyonu üzerine tahrip edici etkisi olduğu saptanmıştır [8]. Buna karşılık, tedavide antioksidan ajanların kullanılması kalp yetmezliği tablosunun ilerlemesini yavaşlatmıştır [9,10]. Benzer şekilde, kalpte iske mi/reperfüzyon hasarının oluşmasında da



Şekil 4. Koroner akım miktarları.  
(\*  $p < 0.05$  ; †  $p < 0.001$ ).

nitrojen ve serbest oksijen radikallerinin önemli rolü vardır [11]. İske mi sonrası erken reperfüzyon döneminde, kardiyak antioksidan mekanizmanın yetersiz kalması nedeni ile serbest oksijen radikallerinin miktarı artar ve ciddi miyokardiyal hasara neden olur [12]. Bu aşamada, serbest oksijen radikallerini yakalayan maddeler ve antioksidanlar iske mi/reperfüzyon hasarını azaltıcı ve düzeltici etki gösterirler [13]. Resveratrol doğada üzüm kabuğunda bol bulunan ve bitkiyi fungal enfeksiyonlardan koruyan polifenol yapıda antioksidan bir maddedir [14]. Fransız Paradoksu'nda temel koruyucu ajan olarak belirlenmesinin ardından, resveratrol ve iske mi ilişkisi daha ileri çalışmalar ile araştırılmıştır. Li-Man Hung ve arkadaşları [15] sol ana koroner arter oklüzyonu yapılan ratlarda resveratrolün enfarkt alanını ve reperfüzyon aritmilerini azalttığını göstermişlerdir. Bradamante ve arkadaşları [6] ise resveratrolün iske mi/reperfüzyon modellerinde farmakolojik "preconditioning" etkisi yarattığını vurgulamışlardır.

Çalışmamızda resveratrol, deney öncesi iki hafta düzenli uygulama ve hemen iskemiyi öncesi uygulama olarak iki ayrı zaman diliminde verilmiştir. Yapılan çalışmalarda resveratrolün iskemiden koruyucu etkileri  $10^{-6}$  ile  $10^{-9}$  g/kg aralığında farklı dozlarda araştırılmış ve en etkili dozun  $10^{-6}$  g/kg olduğu gösterilmiştir [16]. Biz de çalışmamızda tüm ilaç gruplarında resveratrolü  $10^{-6}$  g/kg dozunda uyguladık. Gruplar içinde iskemiyi sonrası en iyi hemodinamik performansı iki hafta ilaç uygulanan gruplar göstermiştir. Bu ilacın düzenli kullanımında yeterli ve etkin doku konsantrasyonu sağlaması ile ilgili olabilir. Bunu destekler şekilde yapılan iki ayrı çalışmada resveratrolün farmakokinetiği incelenmiş ve ratlarda kronik olarak oral yoldan verilen kırmızı şarabın kalp dokusunda oldukça belirgin miktarda resveratrol birikimine yol açtığı gösterilmiştir [17,18].

Resveratrol üzerine yapılan deneysel hayvan çalışmalarında, ilacın bolus olarak intravenöz yoldan uygulanması, femoral arterden ölçülen kan basıncı değerlerinde ve kalp hızında belirgin bir değişikliğe yol açmamıştır [15,16]. Bizim çalışmamızda da stabilizasyon periyodu sonunda resveratrol uygulanan gruplarda ilaç, hemodinamik değerler ve koroner akım miktarı üzerinde anlamlı değişikliğe yol açmamıştır. Çalışmamızda resveratrol iki hafta uygulandığı gruplarda daha belirgin olmak üzere 60 dakika iskemiyi periyodu sonunda reperfüzyon döneminde fonksiyonel iyileşmeyi arttırmıştır. İskemiyi sonrası erken reperfüzyon döneminde kalp dokusunda serbest oksijen radikalleri miktarının belirgin olarak arttığı yapılan çalışmalarda gösterilmiştir [19]. Resveratrolün iskemiden koruyucu etkisi antioksidan etki ile iskemiyi ve reperfüzyon esnasında artan serbest oksijen radikalleri miktarını azaltması ile açıklanabilir [20]. Preconditioning üzerine yapılan rat çalışmalarında kalp dokusunda adenozin düzeyinin arttığı saptanmış ve "preconditioning" mekanizmasında adenozinin önemli bir mediyatör olarak rol oynadığı ortaya konulmuştur [21]. Bardi ve arkadaşlarının [22] çalışmasında resveratrolün, kalp dokusunu iskemiden koruduğu ve kalpte adenozin salınımını stimüle ettiği gösterilmiştir. Benzer şekilde preconditioning mekanizması üzerine yapılan çalışmalar rat kalplerinde nitrik oksit preconditioning'i tetikleyici rol oynadığını göstermiştir [23]. Imamura ve arkadaşları [24], resveratrolün nitrik oksit miktarını artırarak, kalp dokusunda farmakolojik preconditioning etkisi yarattığı saptanmıştır. Bahsedilen bu mekanizmalar miyokard dokusunu iskemiyi ve reperfüzyon hasarından koruyan temel preconditioning mekanizmalarıdır ve bizim çalışmamızda da resveratrol verilen grupta daha iyi fonksiyonel iyileşme gözlenmesini açıklamaktadır.

Chen ve arkadaşları [25] çalışmalarında izole rat aortası üzerinde resveratrolün güçlü vasodilatatör etki yarattığını göstermişlerdir. Bu etki, koroner akım miktarının artışına neden olabilir. Çalışmamızda hemodinamik değerler dışında, reperfüzyon döneminde koroner akım miktarı, resveratrol uygulanan gruplarda, uygulanmayan gruptan anlamlı olarak fazla idi. Bu sonuç iskemiyi esnasında miyokardın korunması yanında, resveratrolün güçlü vasodilatatör etkisi ile açıklanabilir.

Doğada üzüm kabuğunda bol miktarda bulunan resveratrol, kalp dokusu üzerinde iskemiyi zararlı etkilerinden koruyucu özelliğe sahiptir. Özellikle global iskemiyi maruz kalmış kalplerde, reperfüzyon döneminde hemodinamik performansı

arttırmaktadır. Resveratrol üzerine yapılacak ileri çalışmalar bu anti-iskemik kabul edebileceğimiz maddenin klinik kullanımında yer edinmesini sağlayabilir; iskemik kalp hastalıkları ve global iskemiyi uygulanan kalp cerrahisi operasyonları gibi sahalarda tedavi protokollerinde seçenek haline gelmesine yardımcı olabilir.

## Kaynaklar

1. Renaud SC, Geuguen R, Schenker J, d'Houtaud A. Alcohol and mortality in middle-aged men from eastern France. *Epidemiology* 1998;9:184-8.
2. Law M, Wald N. Why heart disease mortality is low in France: The time lag explanation. *Br Med J* 1999;318:1471-6.
3. Kopp P. Resveratrol, a phytoestrogen found in red wine. A possible explanation for the conundrum of the "French Paradox". *Euro J Endo* 1998;138:619-20.
4. Russo P, Tedesco I, Russo M, Russo GL, Venezia A, Cicala C. Effects of de-alcoholated red wine and its phenolic fractions on platelet aggregation. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2001;11:25-9.
5. Huang SS, Tsai TC, Chih CL, Hung LM, Tsai SK. Resveratrol reduction of infarct size in Long-Evans rats subjected to focal cerebral ischemia. *Life Sci* 2001;69:1057-65.
6. Bradamante S, Piccinini F, Barenghi L, et al. Does resveratrol induce pharmacological preconditioning? *Int J Tissue React* 2000;22:1-4.
7. Kaul N, Siveski-Illiskovic N, Hill M, Slezak J, Singal PK. Free radicals and the heart. *J Pharmacol Toxicol Methods* 1993;30:55-67.
8. Singal PK, Beamish RE, Dhalla NS. Potential oxidative pathways of catecholamines in the formation of lipid peroxides and genesis of heart disease. *Adv Exp Med Biol* 1983;161:391-401.
9. Axford-Gatley RA, Wilson GJ. Reduction of experimental myocardial infarct size by administration of alpha tocopherol. *Cardiovasc Res* 1991;25:89-92.
10. Stampfer MJ, Hennekens CH, Manson JE, Golditz GA, Rosner B, Willett WC. Vitamin E consumption and risk of coronary disease in women. *N Engl J Med* 1993;328:1444-9.
11. Das DK, Engelman RM, Rousou JA, Breyer RH, Otani H, Lemeshow S. Pathophysiology of superoxide radicals as potential mediator of reperfusion injury in pig heart. *Basic Research in Cardio* 1986;81:155-66.
12. Robicsek F, Schaper J. Reperfusion injury: Fact or myth? *J Cardiac Surg* 1997;12:133-7.
13. Das DK, Maulik N. Antioxidant effectiveness in ischemia-reperfusion tissue injury. *Methods Enzymol* 1994;233:601-10.
14. Hain R, Bieseler B, Kindl H, Schroder G, Stodker R. Expression of a stilbene synthase gene in *Nicotiana glauca* results in synthesis of the phytoalexin resveratrol. *Plant Mol Biol* 1990;15:325-35.
15. Hung LM, Chen JK, Huang SS, Lee RS, Su MJ. Cardio protective effect of resveratrol, a natural antioxidant derived from grape. *Cardiovascular Research* 2000;47:549-55.
16. Huang SS, Tsai MC, Chih CL, Hung LM, Tsai SK.

- Resveratrol reduction of infarct size in Long-Evans rats subjected to focal cerebral ischemia. *Life Sciences* 2001;69:1057-65.
17. Bertelli AAE, Giovannini L, Stradi R, Urien S, Tillement JP, Bertelli A. Kinetics of trans- and cis-resveratrol after red wine oral administration in rats. *Int J Clin Pharmacol Res* 1996;16:77-81.
  18. Bertelli A, Bertelli AAE, Gozzini A, Giovannini L. Plasma and tissue resveratrol concentrations and pharmacological activity. *Drug Exp Clin Res* 1998;24:133-8.
  19. Zweier JL. Measurement of superoxide-derived free radicals in the reperfused heart: Evidence for a free radical mechanism of reperfusion injury. *J Biol Chem* 1988;263:1353-7.
  20. Hung LM, Su MJ, Chu WK, Chiao CW, Chan WF, Chen JK. The protective effect of resveratrol on ischemia-reperfusion injuries of rat hearts is correlated with antioxidant efficacy. *Br J Pharmacol* 2002;135:1627-33.
  21. Kuzmin AI, Gourine AV, Molosh AI, Lakomkin VL, Vassort G. Effects of preconditioning on myocardial interstitial levels of ATP and its catabolites during regional ischemia and reperfusion in the rat. *Basic Res Cardiol* 2000;95:127-36.
  22. Blardi P, De Lalla A, Volpi L, Di Perri T. Stimulation of endogenous adenosine release by oral administration of quercetin and resveratrol in man. *Drugs Exptl Clin Res* 1999;25:105-10.
  23. Lochner A, Marais E, Genade S, Moolman JA. Nitric oxide: A trigger for classic preconditioning? *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2000;279:2752-65.
  24. Imamura G, Bertelli AA, Bertelli A, Otani H, Maulik N, Das DK. Pharmacological preconditioning with resveratrol: An insight with iNOS knockout mice. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2002;282:1996-2003.
  25. Chen CK, Pacc-Asciak CR. Vasorelaxing activity of resveratrol and quercetin in isolate rat aorta. *General Pharmacology* 1996;27:363-6.