



T.C.

DİCLE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ

PLASTİK, REKONSTRÜKTİF VE ESTETİK CERRAHİ ANABİLİM DALI BAŞKANLIĞI

AMLODİPİN'İN SIÇAN İNFERİOR EPİGASTRİK ARTER CİLT ADA FLEBİNDE
İSKEMİ-REPERFÜZYON HASARINA ETKİSİ

DR. SİNAN TAŞKAN

TIPTA UZMANLIK TEZİ

DİYARBAKIR, 2020



T.C.

DİCLE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ

PLASTİK, REKONSTRÜKTİF VE ESTETİK CERRAHİ ANABİLİM DALI BAŞKANLIĞI

**AMLODİPİN'İN SIÇAN İNFERİOR EPİGASTRİK ARTER CİLT ADA FLEBİNDE
İSKEMİ-REPERFÜZYON HASARINA ETKİSİ**

DR. SİNAN TAŞKAN

TIPTA UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI

PROF. DR. CAFERİ TAYYAR SELÇUK

DİYARBAKIR, 2020

ÖNSÖZ

“ Amlodipin’in sıçan inferior epigastrik arter cilt ada flebinde iskemi-reperfüzyon hasarına etkisi” başlıklı uzmanlık tezi Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Anabilim Dalı Başkanlığı’nın 28/03/2019 tarih ve 2019/06 sayı ile etik kurul onayı alınıp çalışmaya başlanmıştır.

Uzmanlık eğitimim süresince ve bu tez çalışmasının gerçekleştirilmesinde bana bilgi ve deneyimleri ile yol gösteren, tez danışmanım Prof. Dr. Caferi Tayyar SELÇUK hocama teşekkür ederim.

Uzmanlık eğitimim boyunca bana emekleri geçen, tüm bilgi ve birikimlerini paylaşan Doç. Dr. Burhan ÖZALP’a, Dr. Öğrt. Üyesi Serkan ERBATUR’a, Dr. Öğrt. Üyesi Hüseyin ELBEY’e ve Dr Öğrt. Üyesi M. Fatih AKKOÇ’a teşekkür ederim.

Histopatolojik preparatların değerlendirilmesinde yardımlarını esirgemeyen Prof. Dr. Engin DEVECİ’ye, biyokimyasal analizlerin gerçekleştirilmesini üstlenen Doç.Dr. İbrahim KAPLAN’a, elde edilen verilerin yorumlanması ve istatistiksel değerlendirilmesinde değerli katkıları olan Dr.Öğrt Üyesi İsmail YILDIZ ‘a teşekkür ederim.

Biyokimyasal analizlerin gerçekleştirilmesi sürecinde destek olan M. Veysi ÇAĞLAYAN ve Gülcan CİMİTAY’a teşekkür ederim.

Klinikte beraber çalıştığım asistan arkadaşlarıma, tüm klinik çalışanlarına teşekkürlerimi sunarım.

Bugünlere gelmemde büyük sabır ve emek sahibi olan, varlıklarıyla bana huzur ve mutluluk veren anneme, babama, kardeşlerime, eşim Hayriye’ye, oğullarım Bulut ve Deniz’e gönülden teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	ii
İÇİNDEKİLER	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ	v
TABLolar LİSTESİ	vi
ŞEKİLLER LİSTESİ	vii
ÖZET	viii
İNGİLİZCE ÖZET(ABSTRACT)	x
1.GİRİŞ VE AMAÇ	1
2.GENEL BİLGİLER	3
2.1. FLEP TANIMI VE FLEP FİZYOLOJİSİ	3
2.2. FLEPLERİN SINIFLANDIRILMASI	7
2.3. FLEP KAYBI VE İSKEMİ REPERFÜZYON HASARI	11
2.3.1. SERBEST OKSİJEN RADİKALLERİ	14
2.3.2. POLİMORF NÜVELİ LÖKOSİTLER	15
2.3.3. KOMPLEMAN SİSTEMİ	15
2.3.4. ENDOTEL HÜCRELERİ	16
2.4. KALSİYUM KANAL BLOKERLERİ	17
2.4.1. AMLODİPİN	19
3.GEREÇ VE YÖNTEM	21
3.1. KULLANILAN DENEKLER	21
3.2. DENEYDE KULLANILAN ALET VE MALZEMELER	22
3.3. FLEP MODELİ VE CERRAHİ YÖNTEM	23
3.4. DENEY PROTOKOLÜ VE DENEKLERİN SINIFLANDIRILMASI	26
3.4.1. GRUP I (SHAM GRUBU)	26
3.4.2. GRUP II (KONTROL GRUBU)	27
3.4.3. GRUP III (TEDAVİ GRUBU)	27
3.5. HİSTOPATOLOJİK DEĞERLENDİRME	28
3.6. BİYOKİMYASAL DEĞERLENDİRME	28

3.7. FLEP CANLILIK ORANLARININ BELİRLENMESİ	29
3.8. İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME	30
4. BULGULAR	31
4.1. HİSTOPATOLOJİK DEĞERLENDİRME SONUÇLARI	31
4.1.1. DAMAR ÇAPLARI ÖLÇÜMÜ	33
4.1.2. NÖTROFİL SAYIMI	34
4.2. BİYOKİMYASAL DEĞERLENDİRME SONUÇLARI	35
4.2.1. MALONDİALDEHİT(MDA) DÜZEYİ	35
4.2.2. MİYELOPEROKSİDAZ(MPO) DÜZEYİ	37
4.3. FLEP CANLILIK ORANLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ	38
5. TARTIŞMA	40
6. SONUÇ	48
7. KAYNAKLAR	49

SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

İ/R: İskemi reperfüzyon

DHP: Dihidropiridin

SOD: Süperoksit dismutaz

ATP: Adenozin trifosfat

CO₂: Karbondioksit

Na: Sodyum

K: Potasyum

Ca: Kalsiyum

PMNL: Polimorf nüveli lökositler

DNA: Deoksiribonükleik asit

MPO: Miyeloperoksidaz

NADPH: Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat

MSK: Membran saldırı kompleksi

IgM: İmmunglobülin M

MDA: Malondialdehit

FDA: Food and drug administration

LDL: Low Density Lipoprotein

TNF- α : Tumor necrosis factor alpha

İL-6: İnterlökin 6

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 1: Deri Dolaşımını Etkileyen Sistemik ve Lokal Etkenler

Tablo 2: Daniel ve Kerrigan'ın Flep Sınıflaması

Tablo 3: Deney Gruplarına Uygulanan İşlemler

Tablo 4: Grupların Damar Çapları

Tablo 5: Gruplardaki Nötrofil Sayıları

Tablo 6: Grupların MDA Değerleri

Tablo 7: Grupların MPO Değerleri

Tablo 8: Gruplardaki Flepte Canlı Alan Yüzdeleri



ŞEKİLLER LİSTESİ

- Şekil 1: Mathes-Nahai Fasyokutan ve Fasyal Flepler Sınıflaması
- Şekil 2: Kas Fleplerinin Kanlanma Şekillerine Göre Mathes-Nahai Sınıflaması.
- Şekil 3: Ratın Pozisyonu ve Flep Modeli
- Şekil 4: Flebin Ada Şeklinde Hazırlanması
- Şekil 5: Flep Kan Akımının Mikroklemp Yardımıyla Kesilmesi
- Şekil 6: Operasyon Sonrası Flebin Yerine Sütüre Edilmesi
- Şekil 7: Gruplara Ait Flep Yaşam Oranı Örnekleri
- Şekil 8: Sham Grubunun Işık Mikroskobundaki Histopatolojik Bulguları
- Şekil 9: Kontrol Grubunun Işık Mikroskobundaki Histopatolojik Bulguları
- Şekil 10: Tedavi Grubunun Işık Mikroskobundaki Histopatolojik Bulguları
- Şekil 11: Gruplardaki Ortalama Damar Çapları Grafiği
- Şekil 12: Gruplardaki Ortalama Nötrofil Sayıları Grafiği
- Şekil 13: Gruplardaki Ortalama Malondialdehit Düzeyleri Grafiği
- Şekil 14: Gruplardaki Ortalama Miyeloperoksidaz Düzeyleri Grafiği
- Şekil 15: Gruplardaki Ortalama Flep Canlılık Yüzdeleri Grafiği

ÖZET

Giriş ve Amaç: Plastik Cerrahi'nin uğraş alanlarından biri olan flep cerrahisinde iskemi reperfüzyon (İ/R) hasarı flep yaşayabilirliğini etkileyen en önemli faktörlerden birisidir. Fleplerde iskemi reperfüzyon hasarının olumsuz etkisini araştıran ve farklı farmakolojik ajanların kullanıldığı çok sayıda çalışma vardır.

Kalsiyum kanal blokerlerinden olan Amlodipin' in beyin, kalp ve karaciğer gibi dokularda iskemi reperfüzyon hasarına karşı koruyucu etkileri gösterilmiştir. Ancak fleplerde iskemi reperfüzyon hasarına karşı etkileri ile ilgili yeterli çalışma bulunmamaktadır. Farklı dokularda iskemi reperfüzyon hasarı üzerine olumlu etkileri gösterilen Amlodipin'in flepler üzerinde de bu etkisinin olabileceği hipoteziyle bu çalışma planlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Çalışmamızda herbir grup 8 adet rattan oluşmak üzere 24 adet Sprague Dawley cinsi dişi rat kullanıldı. Gruplar, Grup I; sham, Grup II; kontrol (İ/R) ve Grup III; tedavi (İ/R + Amlodipin) olacak şekilde ayrıldı. Çalışmada 3x6 cm lik rat inferior epigastrik arter cilt ada flebi kullanıldı. Sham grubundaki (Grup I) 8 rata 6x3 cm inferior epigastrik arter cilt ada flebi kaldırıldıktan sonra iskemi ve ilaç uygulanmadan 3/0 ipekle flep yerine suture edildi. Grup II (kontrol) ve grup III (tedavi)'e 8 saat iskemi ve 12 saat reperfüzyon uygulandı. Kontrol grubundaki (Grup II) 8 rata cerrahi girişim öncesi 7 gün ve cerrahi girişim sonrası 7 gün boyunca oral gavaj yoluyla 1cc izotonik solüsyonu verildi. Tedavi grubuna (Grup III) girişim öncesi 7 gün ve girişim sonrası 7 gün 5mg/kg/gün Amlodipin (ilacın tablet formu ezildi ve serum fizyolojik ile çözelti haline getirildi) oral gavaj yoluyla verildi. Bütün ratlardan girişim sonrası yirmibirinci saatte histopatolojik ve biyokimyasal analizler için flep uzun aksının orta 1/3 lük kısmından her biri 1x0,5 cm olmak üzere iki adet biyopsi alındı. Bütün ratlarda girişim sonrası yedinci gün 1 mm² lik alanlar şeklinde çizilen transparan asetat üzerine canlı ve doku kaybına uğrayan alanlar çizildi. Çizilen alanlar sayılarak canlı alan, total flep alanına bölünerek fleplerde sağ kalım oranı % olarak hesaplandı. Ardından ratlar, genel anestezi altında (50 mg/kg ketamin hidroklorür+10 mg/kg ksilazin hidroklorür-intraperitoneal) servikal dislokasyon yöntemiyle sakrifiye edildi.

Bulgular: Flep canlılık oranları, tedavi (İ/R+Amlodipin) grubunda kontrol (İ/R) grubuna göre anlamlı şekilde yüksek bulundu (**p<0,05**). Tedavi (İ/R+Amlodipin) grubunda nötrofil sayısı (**p=0,021**), MDA (**p=0,016**) ve MPO (**p=0,040**) değerleri kontrol(İ/R) grubuna göre anlamlı şekilde düşük bulundu (**p<0,05**). Damar çapları açısından tedavi ve kontrol grubu arasında anlamlı fark bulunmadı (**p=0,141**).

Sham grubunda, kontrol grubuna (İ/R) göre flep canlılık oranları ve damar çapı anlamlı şekilde yüksek iken, nötrofil sayısı, MDA ve MPO ise anlamlı şekilde düşük bulundu (**p<0,05**).

Sham grubunda, tedavi grubuna (İ/R+Amlodipin) göre flep canlılık oranları anlamlı şekilde yüksek (**p<0,05**), nötrofil sayısı ve MDA düzeyleri anlamlı şekilde düşük (**p<0,05**) bulundu. Damar çapları (**p=0,674**) ve MPO (**p=0,208**) düzeyleri açısından ise anlamlı fark bulunmadı.

Damar çapları açısından üç grup karşılaştırıldığında, gruplar arasında bir farklılık saptanmadı (**p=0,081**).

Sonuç: Çalışmamızdan elde ettiğimiz bulgular sonucunda, başka amaçlarla klinik uygulamalarda yeri olan Amlodipin'in cilt fleplerinde iskemi-reperfüzyon hasarını önlemede etkili olabileceği sonucuna varıldı.

Anahtar Kelimeler: İnferior epigastrik arter cilt ada flebi, Amlodipin, iskemi reperfüzyon

ABSTRACT

Introduction: Ischemia reperfusion (I / R) damage is one of the most important factors affecting flap viability in flap surgery, which is one of the main professions of Plastic Surgery. There are many studies investigating the negative effects of ischemia reperfusion damage in flaps and using different pharmacological agents.

Protective effects of amlodipine, which is a calcium channel blockers, against ischemia reperfusion damage in tissues such as brain, heart and liver have been demonstrated. However, there are not enough studies about its effects against ischemia reperfusion damage in flaps. This study is planned with the hypothesis that Amlodipine, that has positive effects on ischemia reperfusion damage in different tissues, may also have such an effect on flaps.

Material and Method: In our study, 24 female Sprague Dawley rats were used, each group consisting of 8 rats. Groups were divided as: Group I; sham, Group II; control (I / R) and Group III; treatment (I / R + Amlodipine). In the study, a 3x6 cm rat inferior epigastric artery skin island flap was used. After elevating the 6x3 cm inferior epigastric artery skin island flap in 8 rats of the sham group (Group I), flaps were resutured with 3/0 silk without application of ischemia and treatment. 8 hours of ischemia and 12 hours of reperfusion were applied in group II (control) and group III (treatment) . The 8 rats in the control group (Group II) were given 1cc isotonic solution by oral gavage for 7 days before surgery and 7 days after surgery. 5mg / kg / day Amlodipine (tablet form of the drug was crushed and mixed with isotonic solution) was administered to the treatment group (Group III) 7 days before and 7 days after the intervention. Twenty-one hour after intervention, for histopathological and biochemical analysis, two biopsies, 1x0.5 cm each, were taken from the middle 1/3 of the long axis of the flap from all rats. In all rats, live and necrotic areas were drawn on the seventh day after intervention on transparent acetate, which was drawn as 1 mm² areas. The drawn areas were counted and survival rate of flaps was calculated as % by dividing the live area into the total flap area. Then the rats were sacrificed under general anesthesia (50 mg / kg ketamine hydrochloride + 10 mg / kg xylazine hydrochloride-intraperitoneal) by cervical dislocation.

Results: Flap viability rates were significantly higher in the treatment (I / R + Amlodipine) group compared to the control (I / R) group (**p <0.05**). Neutrophil count (**p = 0.021**), MDA (**p = 0.016**) and MPO (**p = 0.040**) values in the treatment (I / R + Amlodipine) group were significantly lower than the control (I / R) group (**p <0.05**). No significant difference was found between the treatment and control groups in terms of vessel diameters (**p = 0.141**).

Flap viability rates and vessel diameter were significantly higher in the sham group compared to the control group (I / R), while neutrophil count, MDA and MPO were significantly lower (**p <0.05**).

In the sham group, flap viability rates were significantly higher (**p <0.05**), neutrophil count and MDA levels were significantly lower (**p <0.05**) compared to the treatment group (I / R + Amlodipine). No significant difference was found in terms of vessel diameters (**p = 0.674**) and MPO (**p = 0.208**) levels.

When the three groups were compared in terms of vessel diameters, there was no difference between the groups (**p = 0.081**).

Conclusion: As a result of the findings obtained from our study, it was concluded that Amlodipine, which is used for other purposes in clinical applications, may be effective in preventing ischemia-reperfusion damage in skin flaps.

Keywords: Inferior epigastric artery skin island flap, Amlodipine, ischemia reperfusion

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Yeniden onarım cerrahisinde amaç; doğumsal, travma, tümör ve yanık gibi farklı sebeplerle oluşan doku kayıplarını, fonksiyonel ve görünüm olarak en uygun şekilde onarmaktır. Doku kayıplarının onarımında yeniden onarım merdiveni olarak adlandırılan ve en basit seviyeden (yaranın sekonder iyileşmesi, primer kapama), daha karmaşık seviyelere (greftler, flepler ve serbest doku transferi) doğru kapama seçenekleri uygulanmaktadır (1). Yeniden onarımlarda çoğu zaman bu merdivenin basit seviyelerinden başlamak önerilsede, gelişen teknoloji ile beraber flep cerrahisi ve mikrocerrahi alanındaki ilerlemeler sayesinde uygun vakalarda daha karmaşık onarım yöntemleri ilk tercih olarak seçilebilmektedir (2). Bu gelişmelere paralel olarak flepler sıkça kullanılan yeniden onarım seçeneği haline gelmiştir.

Kanlanması özgün yerinden ayrılmadan ya da aktarıldığı yerde devam edecek şekilde başka bir vücut bölgesine, şekil ve fonksiyon oluşturmak amacıyla, aktarılan doku parçalarına flep adı verilir. Bu tanıma uyan ve şekil veya fonksiyon kaybına uğrayan tüm dokuların onarımında deri, kas, kıkırdak, kemik, tendon, sinir gibi farklı dokulardan flep hazırlanabilir. Flep seçiminde, uygulanan flebin alıcı alana uyum sağlaması ve yaşayabilirliği önemli bir etkindir. Flep cerrahisindeki gelişmelere rağmen, fleplerde tam veya kısmi doku kaybı hala sıkça karşılaşılan önemli bir sorundur. Bu soruna sebep olan durumlardan biri de Ames ve arkadaşları tarafından 1968 yılında tanımlanan iskemi-reperfüzyon (İ/R) hasarıdır (3). Herhangi bir sebeple iskemiye maruz kalan bir dokunun tekrar kanlanmasıyla meydana gelen oksijenizasyon, serbest oksijen radikallerinin oluşumuna sebep olmaktadır. Oluşan bu serbest oksijen radikalleri inflamatuvar, biyokimyasal ve hücrel değişikliklere neden olarak doku hasarına yol açmaktadır. İskemi reperfüzyon hasarı sadece flep cerrahisinde değil replantasyonlar, transplantasyon cerrahisi, karaciğer, beyin gibi kanlanan tüm dokuların yaşamını etkileyen çok önemli bir problemdir. Bu nedenle iskemi reperfüzyon hasarının engellenmesine veya azaltılmasına yönelik çok sayıda çalışma yapılmış olmasına rağmen etkili bir tedavi yöntemi bulunamamıştır. Bu konu ile ilgili çalışmalar devam etmektedir.

Etkili bir antihipertansif ajan olan Amlodipin'in (Dihidropiridin türevi kalsiyum kanal blokeri) antihipertansif etkileri dışında; nitrik oksit üretimini arttırması, lipid peroksidasyonunu inhibe etmesi ve süperoksit dismutaz (SOD) seviyesini koruması gibi etkileri ile antioksidan etkisinin olduğu gösterilmiştir (4).

Kalp, beyin, karaciğer ve over gibi dokularda iskemi reperfüzyon hasarından koruyucu etkileri olduğu gösterilen Amlodipin'in flep cerrahisinde de koruyucu olabileceği düşünülerek bu çalışma planlandı (5,6,7,8).



2.GENEL BİLGİLER

2.1. Flep Tanımı ve Flep Fizyolojisi

Flep, kan dolaşımı korunacak şekilde alıcı alandan verici alana aktarılabilen doku birimidir. Flepler plastik ve rekonstrüktif cerrahide doku kayıplarının onarımında çok önemli bir yere sahiptir. Flep cerrahisinde başarıyı arttırabilmek için doğru planlama, flep dokusunun besleyici damarlara zarar vermeden hazırlanması, flebin alıcı alana gerginlik olmadan aktarılması, operasyon sonrası takip ve oluşabilecek sorunların iyi bir şekilde yönetimi flep yaşayabilirliğini etkileyen temel etkenlerdir.

Diğer dokularda olduğu gibi fleplerde de görünür ve görünür olmayan düzeyde dolaşım mevcuttur. Görünür dolaşım sistemini besleyici arterler ve venler oluştururken, görünmeyen dolaşımı arterioller, kapillerler, venüller ve arteriovenöz anastomozlar oluşturur. Kanlanmanın kontrolü büyük ölçüde görünür olmayan dolaşım düzeyinde gerçekleşmektedir. Flep görünür olmayan dolaşımında arterioller, venüller ve arteriovenöz anastomozlar yoluyla oksijen taşınması, karbondioksit ve artık ürünlerin uzaklaştırılması sağlanır (9).

Derinin normal kan akımı 100 gr doku başına yaklaşık 20 ml/dk olarak bilinmektedir. Kasların yüksek metabolik aktivitesinden dolayı bu akım hızı kaslarda çok daha yüksektir (10). Flebin yaşayabilirliği de flebe gelen kan akımı ile flebin metabolik ihtiyaçları arasındaki denge ile ilişkilidir.

Derideki kan dolaşımı temel olarak lokal ve sistemik etkenler ile kontrol edilir. Bu etkenler nöral, hüüııoral, metabolik ve fiziksel yollar ile kontrol edilir.

Sistemik kontrol temel olarak nöral ve hüüııoral yol ile düzenlenirken lokal kontrol ise hipoksi, hiperkapni, asidoz, hipertermi, hipotermi gibi metabolik ve fiziksel etkenler ile düzenlenir. Sistemik kontrol nöral ya da hormonal olabilir fakat nöral kontrol daha baskındır (10). Nöral kontrol; arterioller ve arteriovenöz anastomoz seviyelerinde, sempatik lifler aracılığı ile gerçekleşir. Nöral kontrolde α -adrenerjik ve serotonerjik reseptörler vazokonstriktör etki gösterirken, β -adrenerjik reseptörler vazodilatatör etkilidirler. Hormonal kontrol ise sistemik vazoaıııif maddelerin kendilerine özgü reseptörlerindeki aktiviteleri ile sağlanır (9).

Lokal kontrolde ise hipoksi, hiperkapni, asidoz ve hipertermi vazodilatasyona sebep olurken, hipotermi vazokonstriksüyona neden olur (9).

NÖRAL	Nöral vazokonstrüktörler	Alfa adrenerjik, Seratonerjik
	Nöral vazodilatatörler	Beta adrenerjik, Kolinerjik
HÜMORAL	Hüморal Vazokonstriktörler	Nörepinefrin, Epinefrin, serotonin, Prostaglandin F2, Tromboksan A2, Endotelinler
	Hüморal Vazodilatörler	Nitrik oksit, Bradikinin, Histamin, Prostaglandin, Adenozin difosfat, Trombin
METABOLİK	Metabolik Vazokonstriktörler	
	Metabolik Vazodilatörler	Hipoksi, Asidoz, Hiperkarbi
FİZİKSEL	Fiziksel Vazokonstriktörler	Viskozite, Hipotermi, Myojenik refleks
	Fiziksel Vazodilatörler	Hipertermi, Sempatektomi

Tablo 1. Deri Dolaşımını Etkileyen Sistemik ve Lokal Etkenler. Daniel ve Kerrigan (10)' ndan alınmıştır.

İan Taylor tarafından 1987 yılında tanımlanan anjiozom kavramı flep cerrahisinin gelişiminde çok önemli bir dönemeçtir (11). Deri ve derialtı dokuları besleyen bir ana arterin oluşturduğu alan “anjiozom kavramı” olarak tanımlanır. Deri vücudun en büyük organı olmakla birlikte, fiziksel ve kimyasal etkilerden vücudu korunmak, vücudun ısı kontrolünün sağlanmasına katkıda bulunmak, vücuttan sıvı kaybını önlemek gibi bazı görevler üstlenir. Bu nedenle cilt flepleri planlanırken flebin alındığı sahada da şekil ve fonksiyon kaybının olmamasına dikkat edilmeli ve sağlam cilt dokusuna en az zarar verecek şekilde planlama yapılmalıdır. Flep planlaması için derinin besleyici damar yapısının bilinmesi önemlidir. Derinin farklı tabakalarında deriyi besleyen farklı damar ağları vardır. Bu damar ağları subfasiyal, prefasiyal, subkutanöz, subdermal, dermal ve subepidermal alanlarda yerleşmiş olup subdermal ağ deriyi besleyen ana yapıdır (10).

Anjiozom kavramı fleplerin kanlanmasını sağlayan akımın sadece ciltle sınırlı olmadığını, üç boyutlu bir yapının parçası olarak flebin bütün tabakalarına yayılmış farklı damar ağlarının dokunun beslenmesinde önemli olduğunu ortaya koymuştur (12).

Flepte kanlanmanın besleyici arterden kesilmesi ile flebin periferik kısımlarında akut iskemi meydana gelir. Bu periferik kısımların mikrodolaşımında ilk 24 saat içinde meydana gelen değişimler flebin hangi kısımlarının sağkalacağını belirler. Banbury ve arkadaşları kremaster kas flebinde mikrodolaşımda dinamik, trifazik cevapların meydana geldiğini bildirmişlerdir. Başlangıçtaki akut hiperadrenerjik fazı, belirgin vazodilatasyonun görüldüğü adrenerjik olmayan faz ile artmış kapiller perfüzyon izler (13). Son fazda ise vazoaktif maddelere aşırı duyarlılık mevcuttur. Flep kaldırıldığında flep pedikülünde kan akımı korunuyor olsa bile flep distalinde ilk 6-12 saatte kan akımı normalin % 20'sinin altına düşer, ilk 1-2 haftada flep dolaşımı dereceli olarak düzelir ve normalin % 75'ine ulaşır. % 100'üne ise 3-4. hafta içinde ulaşır (14,15).

Flebin kaldırılması ile birlikte meydana gelen anatomik, hemodinamik ve metabolik değişiklikler flep yaşayabilirliğini belirlemektedir. Flebin kaldırılmasından sonra meydana gelen değişiklikler şu şekilde özetlenebilir. İlk 12- 18 saat boyunca kan akımını taşıyan damarlar akut olarak azalır, vazoaaktif maddeler salınır ve lökosit aracılı endotel hasarına bağlı olarak, özellikle flep distalindeki akım dramatik olarak azalır. 6-12 saat boyunca flep distaline yeterli akım sağlanmaz ise distal kısımda doku kaybı oluşmaya başlar. 12-24 saat içinde vazoaaktif maddeler yıkılır ve 2-3 gün içerisinde flep yatağında meydana gelen yeni damarlanmaya bağlı olarak kan akımında kademeli olarak artış meydana gelir. Eğer flep distal kısmı 6-12 saat içerisinde ciddi şekilde iskemiye maruz kalırsa, sonradan artan kan akımı mikrovasküler yatağın kapanmasına ve doku kaybına yol açan reperfüzyon hasarını oluşturarak ölü dokuların canlı dokulardan ayrışmasına neden olur (9).

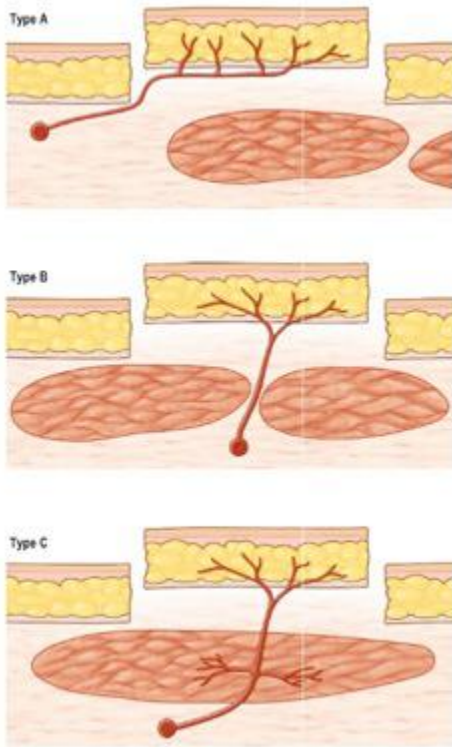
Meydana gelen anatomik değişikliklerden biri de, cerrahi travma sonrası gelişen inflamatuvar yanıt, flep geciktirme veya sempatik tonusun azalması ile flepte transvers yerleşimli damarlar arasında varolan choke (kapalı) anastomozların açılmasıdır (16).

2.2. Fleplerin Sınıflandırılması

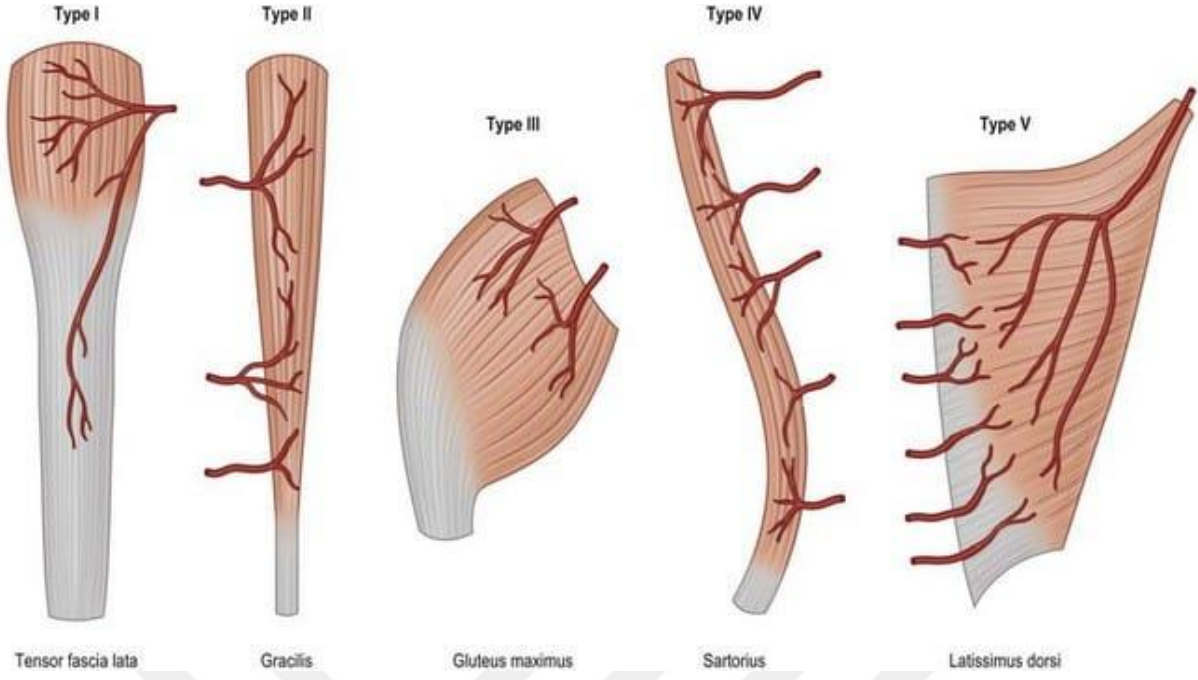
Plastik cerrahide fleplerin bilinen ilk kullanımı M.Ö. 600 yıllarında Hindistan'da Sushruta Samhita adlı kitapta anlatılmıştır. Bu kitapta Sushruta, alından cilt flebi transpozisyonu ile burun yeniden onarım yöntemlerini anlatmaktadır (17). Zaman içerisinde flep cerrahisindeki gelişmeler ve yeni flep çeşitlerinin tanımlanması ile, fleplerde sınıflandırma ihtiyacı ortaya çıkmıştır. Bu sınıflandırmalar temel olarak flebin içerdiği doku, kan akımı, aktarılacağı alana yakınlık ve aktarıldığı alana taşınma şekline göre yapılmaktadır.

Nakajima flepleri, flebin içerdiği dokuya göre; kutanöz, fasyokutanöz, adipofasyal, septokutan ve müskülokutan olmak üzere beş gruba ayırmıştır (18).

Mathes-Nahai kas fleplerini ve fasyokutan flepleri kanlanma şekillerine ve kanlanmayı sağlayan pediküle göre sınıflandırmışlardır (Şekil 1 ve Şekil 2).



Şekil 1. Mathes-Nahai fasyokutan ve fasyal flepler sınıflaması: A: Direkt kutanöz pedikül; B: Septokutanöz pedikül; C: Muskulokutan pedikül (19).



Şekil 2. Kas fleplerinin kanlanma şekillerine göre Mathes-Nahai sınıflaması (20). (Tip 1: tek vasküler pedikül, tip 2: dominant pedikül(ler) ve minör pedikül(ler) tip 3: iki dominant pedikül, tip 4: segmental vasküler pedikül tip 5: bir dominant pedikül ve segmental pediküller)

Daniel ve Kerrigan ise flepleri kan dolaşımına, flebe yaptırılan harekete ve flebin içerdiği dokulara göre üç ana gruba ayırmışlardır (10).

Tablo 2. Daniel ve Kerrigan'ın Flep Sınıflaması (10).

1.BESLENME (KAN DOLAŞIMI)		-Random(kutanöz) -Aksiyel/Pediküllü
2.YAPTIRILAN HAREKET	A)İLERLETME	-V-Y, Y-V -Tek pediküllü -Bipediküllü
	B)PİVOT	-Rotasyon -Transpozisyon -İnterpolasyon/ada
	C)UZAK	-Direkt -Tüp haline getirilmiş
	D)SERBEST	
3.İÇERDİĞİ DOKU		-Kutanöz -Fasyokutan -Muskulokutan -Kas -Osseokutan -Sensoryel

McGregor ve Morgan cilt fleplerini kan akımına göre random(rastgele) veya aksiyel paternli olarak sınıflandırmışlardır (21). Rastgele akımlı flepler baskın bir ana damardan beslenmeyip, subdermal ve subfasyal ağlardan gelen kan akımı ile beslenirler. Bu nedenle daha az güvenlidirler ve uzunluklarının, flep tabanının başlangıcından itibaren kısa bir mesafe ile sınırlandırılması gerekmektedir. Geleneksel olarak en boy oranı cilt flebi olarak planladı ise 1/1, flebe fasya dokusu dahil edildi ise 1/3'tür.

Aksiyel akımlı fleplerde ise flebi besleyen ve flebin uzun eksenine paralel olarak seyreden, anatomik yerleşimi belli bir damar yapısı bulunur. Aksiyel besleyici damar sistemleri ile beslenen flepler random fleplere göre daha güvenlidir (9,21).

Burada bahsi geçen bir diğer terim de ada flebidir. Çalışmamızda kullandığımız inferior epigastrik arter cilt ada flebi buna bir örnektir. Ada flebi; flep aksiyel akımlı gibi hazırlanıp, tabanı oluşturan deri bağlantısının da kesilmesi ile hazırlanır. Sadece flebi besleyen damarlar ve varsa sinir korunur.

Perforatör flep terimi ise bir perforatör pedikül tarafından beslenen deri ve deri altı dokuları içeren flepler olarak tanımlanmaktadırlar. Perforatör damar, vücudun aksiyal damarlarından birinden köken alan, subkutan yağ dokusuna gelinceye kadar yağ ve interstisiyel bağ dokusu dışında başka bir dokunun içinden geçen damardır. Sadece derin fasyayı delen direkt perforatörler ve yolları boyunca kas içinden veya intermusküler septumdan geçen indirekt perforatörler olarak sınıflandırılırlar.

2.3. FLEP KAYBI VE İSKEMİ REPERFÜZYON HASARI

Hatalı flep planlaması, mikrodolaşımı etkileyen sistemik etkenler, hematoma, pedikül katlanması, flep üzerine fiziksel baskı, sıkı pansuman, gergin dikişler ve iskemi reperfüzyon hasarı gibi etmenler flep kaybına sebep olabilir. Serbest fleplerde ek olarak anastomoz hattından kaynaklanan arteriyel veya venöz tromboz flep kaybı ile sonuçlanabilmektedir. İskemi reperfüzyon hasarına bağlı flep kayıpları, flep cerrahisindeki gelişmelere ve yapılan çalışmalarda birçok ajanın olumlu etkileri gösterilmesine rağmen; hala önemli bir sorun olmaya devam etmektedir ve flep kısmi kayıplarının altında yatan temel nedenlerden biri olarak belirtilmektedir (22).

Flep hazırlanmasını takiben flep ucunda oluşan lokal iskemi vazodilatasyona yol açar. Bu duruma yetersiz perfüzyon basıncı da eklenirse flebin ucunda arteriyel yetersizliğe ve flepte doku kaybına neden olur (14,15).

Fleplerde vasküler yetmezliğin flep kaybına etkileri ile ilgili birçok çalışma mevcuttur. Yeterli arteriyel akım olsa bile venöz yetmezlik durumunda flepte nekroz görülebileceği bilinmektedir. Serbest doku aktarımı ameliyatlarında venöz tıkanıklık, arteriyel tıkanıklığa göre daha sık görülür ve düzeltilmez ise flep kaybı ile sonuçlanır. Yapılan deneysel çalışmalarda venöz iskeminin, arteriyel iskemiye göre daha ciddi olduğu gösterilmiştir (23,24).

Flep kaybında dikkate alınması gereken durumlardan biri de, flebin içerdiği dokuların kan akımı ve iskemiye duyarlılıkları açısından farklı oluşudur. Örneğin; cilt fleplerinde, kas fleplerine göre kan akımı daha az iken metabolik ihtiyaçlarının da daha az olması nedeniyle iskemiye duyarlılıkları daha iyidir (9).

Ayrıca kas ve cilt fleplerinde iskemiye ve reperfüzyona verilen yanıt da farklıdır. Kas fleplerinde reperfüzyon sırasındaki erken fazda kan akımında, flebin distal kısmı da dahil olmak üzere, her yöne belirgin artış oluşurken cilt fleplerinde ise kan akımında azalma olur (23).

İskemi hasarını oluşturan süreçlerin başlamasında tetikleyici nokta, hücrenin enerji depolarının belirli bir seviyenin altına inmesidir. Kritik iske­mi süresi; kan akımının durmasından sonra, dokunun canlı kalması ve enerji depolarının eşik seviyenin altına inmesine kadar geçen en uzun süredir. Kritik iske­mi süresi, doku türüne ve sıcaklığa bağlı olarak değişir (25). Bu süre aşıldığı zaman doku kan akımı yeniden sağlansa dahi doku hasarı kaçınılmazdır (26). Bu durum, daha sonra oluşacak, yıkım potansiyeli çok daha fazla olan ve serbest oksijen radikallerinin oluşmasıyla tetiklenen reaksiyonlara zemin hazırlamaktadır (26). Bu reaksiyonların neticesinde, yaygın doku yıkımı meydana gelmektedir.

İske­miye maruz kalan doku anaerob metabolizmaya yönelir. Bu durumda oksijen, glikoz, adenozin trifosfat (ATP) seviyeleri düşerken; CO₂, laktik asit gibi metabolitlerin seviyeleri artmaktadır. Prostaglandin ve tromboksan gibi hü­moral etkenlerin düzeyleri belirgin olarak yükselir (23). Ayrıca anaerobik metabolizmaya geçiş ile birlikte toksik superoksit radikallerinin oranı da anlamlı olarak artmakta iken antioksidan enzimlerden biri olan süperoksit dismutaz seviyelerinin azaldığı gözlenir (27, 28). Bu toksik süperoksit radikalleri, direkt sitotoksik etki gösterebildikleri gibi, daha da önemlisi lokal akut enflamasyonu tetikleyerek lökositlerin birikmesine, yapışmasına ve bunu takiben endotel hasarına neden olmaktadır. Bu olayların ardından mikrovasküler seviyede dolaşımın bozulmasına neden olan hücre­sel olaylar ortaya çıkmaktadır.

Hücredeki enerji depolarının azalması sonrası, hücre zarında bulunan Na⁺-K⁺ ATP az pompasının çalışması engellenir. Bunun sonucunda hücre içindeki Na⁺ ve Ca²⁺ iyon konsantrasyonları artış gösterir (29). Bu süreçte hasarlanan endoplazmik retikulumdan da hücre içine kalsiyum salınarak, kalsiyum artışına katkıda bulunulur (30). Hücre içi Ca²⁺ iyon konsantrasyonundaki artış, hücre için sitotoksiktir (31). Hücrede iyon konsantrasyonunun değişimi ile proinflatuar sitokinlerin ve lökosit adhezyon moleküllerinin yapımında artış görülür, ayrıca antioksidan enzimlerin oluşumunda hızla düşüş meydana gelir. Bu dengenin bozulması, hücreyi yeniden akımın sağlanması dönemindeki hasara karşı korumasız hale getirir. Oksijen ulaşan dokuda, serbest oksijen radikallerinin başlattığı nötrofil aktivasyonu ile beraber ödem ve endotelial hasarın rol aldığı olaylar meydana gelmektedir (31).

Uzamış iskemi sonunda dokuda yeniden akım sağlanmasına rağmen mikrodolaşımın geri dönmemesine “no-reflow fenomeni” denilmektedir. İskemi sonrası dokunun yeniden kanlanmasıyla hasar süreci başlar. Yeniden akım sırasında ksantin dehidrojenaz enzimi ksantin oksidaza dönüşür. Yeniden akım sonrası ortama gelen oksijen ile iskemi sürecinde oluşan hipoksantin ve diğer metabolitler reaksiyona girererek, süperoksit anyonunu oluşturur. Süperoksit anyonu doğrudan hücre hasarı yapar. Diğer bir mekanizma da, oksijen metabolitlerinin yeniden akım sahasında neden olduğu nötrofil göçü sonrası gerçekleşir. Damar içinde hızla nötrofil birikimiyle nötrofillerden sentezlenen mediatörler, kan akımının düşmesine neden olur bu da iskemi–reperfüzyon ile ilişkili “no-reflow fenomeni” ne neden olur. Nötrofillerin doğrudan endotel hasarına sebep oldukları veya mikro damarlar düzeyinde tıkanma yaparak iskemi oluşturdıkları bildirilmiştir (32, 33, 34).

Reperfüzyon hasarı, belirli bir sürede iskemiye maruz kalan dokuların tekrar kanlanması sonucu, mikrosirkülasyonda görülen tıkanmalar ve kan akımı olan dokunun kaybı ile karakterize bir yaralanma olarak tanımlanmıştır (35). Yeniden kan akımı süreci ile birlikte nötrofiller, plateletler ve diğer inflamatuvar hücreler kemotaktik sitümülasyona cevap olarak flep içinde birikir. Endotelyal hücreler şişer, intersitisyel ödem meydana gelir, mikrosirkülasyonda hidrostatik basınç artar ve neticede kapiller lümen daralır. Vasküler tonusun adrenerjik kontrolü ortadan kalkar. Endotelyal hücrelerde, nitrik oksit gibi vazodilatatör ajanların üretimi azalır. Lökosit ve plateletler postkapiller venülleri tıkar, kapiller akım azalır. Arteriovenöz şantlar açılarak kapiller mikrosirkülasyon bozulur. Süreç sonunda flep uç kısmında doku hasarı oluşur (36).

İskemi reperfüzyon hasarının fizyopatolojisinin anlaşılması için birçok faktör üzerinde durulmuş ve çalışmalar yapılmıştır. Hasarın nedenleri arasında başlıca dört faktör yer almaktadır. Bunlar; serbest oksijen radikalleri, polimorf nüveli lökositler (PMNL), kompleman sistemi ve endotel hücreleridir.

2.3.1. Serbest Oksijen Radikalleri

İskemik kalan dokuda yeniden kan akımı olmasıyla, sitotoksik olaylar başlar. Bu sitotoksik olayları başlatan faktörlerin en önemlisi serbest oksijen radikalleri olarak bilinmektedir. İskemik dokularda, serbest oksijen radikali üreten hücre içi mekanizmalar tam aktive edilmiş durumdadır (37). Dokunun reperfüzyonu ile birlikte dokuya kan ve oksijen gelir. Dokuda iskemi sürecinde biriken hipoksantin atılmaya çalışılır. Oksijen varlığında, ksantin oksidaz enzimi aktive olup serbest oksijen radikallerini oluşturur (38). Serbest oksijen radikalleri, süperoksit dismutaz (SOD) enzimi ile hidrojen peroksit ve oksijene dönüştürülür. Hidrojen peroksit ise katalaz enziminin etkisiyle su ve oksijene çevrilir (39). Serbest oksijen radikalleri dokuda deoksiribonükleik asit (DNA), protein ve lipidlerle reaksiyona girerek bu moleküllerin yapılarını bozarlar. Artan serbest oksijen radikallerinin başlattığı lipid peroksidasyonu ve protein hasarı sonucu, hücre fonksiyonları bozularak doku kaybı meydana gelir (40).

Hücre zarını oluşturan temel yapılardan biri olan ve hücreyi dış etkenlerden korumada büyük önem taşıyan lipidler, serbest radikallerin etkilerine karşı en hassas olan biyomoleküllerdir. Hücre zarlarındaki kolesterol ve yağ asitlerinin doymamış bağları serbest radikaller ile kolayca reaksiyona girerek peroksidasyon ürünleri oluştururlar. Üç veya daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonunda malondialdehit (MDA) meydana gelir. Oluşan malondialdehit; hücre membranlarındaki iyon alışverişini etkiler ve hücre membranlarındaki bileşiklerin çapraz bağlanmasına yol açar. Böylece iyon geçirgenliğinin ve enzim aktivitesinin değişimi gibi olumsuz sonuçlara neden olur (41, 42). Yağ asidi oksidasyonunun spesifik veya kantitatif bir göstergesi olmamakla beraber kanda ve idrarda ortaya çıkan malondialdehit (MDA) lipid peroksidasyon derecesiyle ilgilidir (43).

Serbest oksijen radikalleri, dokuya doğrudan zarar verdikleri gibi aynı zamanda PMNL' in de hasarlı dokuda birikimine neden olurlar. Dokuda biriken aktive PMNL' ler; miyeloperoksidaz (MPO), elastaz, proteaz, kollajenaz gibi enzimleri açığa çıkarırlar. Açığa çıkan bu enzimler bir kısır döngü oluşturarak, dokudaki hasarı arttırırlar ve daha fazla serbest oksijen radikalinin oluşmasına da yol açarlar (39).

2.3.2. Polimorf Nüveli Lökositler

Yapılan çalışmalarda reperfüzyon sonrası mikrovasküler geçirgenlikteki artıştan nötrofillerin sorumlu olduğu gösterilmiştir. Ayrıca polimorf nüveli lökositler (PMNL), fazla miktarda süperoksit radikalleri üretme kapasitesine sahiptirler (44).

Bu nedenle nötrofil birikimini engelleyen ajanların, iskemi reperfüzyon hasarını azaltması ve flep yaşayabilirliğini arttırması, çalışma konusu olmuştur (45).

Nötrofiller granüllerinde, doku hasarında önemli oksidan etkileri olan NADPH oksidaz, miyeloperoksidaz (MPO) ve elastaz enzimlerini içerirler. Aktive olmuş nötrofillerde ksantin oksidaz enziminin artması ile süperoksit radikalleri ortama salınırlar. İskemik kalan dokunun reperfüzyonu ile, dokuya gelen oksijenin çoğu NADPH bağımlı oksidaz enzimi ile süperoksit iyonlarına oksitlenir. Oluşan süreoksit iyonu da, çoğu zaman spontan dismutasyonla hidrojen peroksit'e dönüşür. Hidrojen peroksit ise klorür iyonlarının varlığında miyeloperoksidaz (MPO) enzimiyle hipoklorik aside dönüştürülür. Hipoklorik asit, antimikrobiyal etkisinin yanında çok güçlü bir oksidandır. Hücre zarının geçirgenliğini arttırarak doku hasarına sebep olurken aynı zamanda hücredeki bazı moleküllerle reaksiyona girerek reaktif oksijen moleküllerini oluşturur (46).

2.3.3. Kompleman Sistemi

İskemiye bağlı hücre yüzeyinde oluşan yeni bir antijene, dolaşımdaki IgM antikoru gelip bağlanır. Daha sonra kompleman sistemi bileşenlerinden biri olan C1'in bağlanması ile, kompleman aktivasyonu gerçekleşir ve böylece kompleman sisteminin bileşenlerinden C3a ve C3b oluşur. C3b daha sonra kompleman zincirinin geri kalan kısmını aktive ederek, hasarı oluşturan mediatörlerden sorumlu "membran saldırı kompleks" inin (MSK) oluşumunu sağlar. MSK ayrıca araziidonik asit metabolizmasını uyarır ve böylece makrofajlardan prostoglandin E2, nötrofillerden lökotrien B4, tromboxan B2, prostanoidler, interlökin-1 ve reaktif oksijen moleküllerinin salınımı sağlanır (47, 48). Reaktif oksijen molekülleri, güçlü okside edici ve redükte edici ajanlardır. Böylece lipid peroksidasyonu ile hücre membran hasarı yaparlar (49).

2.3.4. Endotel Hücreleri

İskemi reperfüzyon hasarından kaynaklanan stres endotel hücrelerinin aktive olmasına ve işlevlerinin bozulmasına sebep olur. Endotel hücreleri, serbest oksijen radikalleri için hem potansiyel hedef konumundadır hem de serbest oksijen radikallerinin üretim kaynağıdır.

Endotel hücreleri, mikrovasküler homeostazdan sorumlu olan endotelini ve nitrik oksiti üretir. Nitrik oksit, arteriyel dolaşımda endotelinin vazokonstriktör etkisini tersine çevirme eğilimindedir. Venlerde ise bu durumun tersi söz konusudur. İskemi reperfüzyon hasarında endotelin/nitrik oksit oranı endotelin lehine bozulur. Sonuçta arteriyel vazokonstrüksiyon oluşur, venlerde ise vazodilatasyon olur (50).



2.4. KALSİYUM KANAL BLOKERLERİ

Kalsiyum, canlı organizmada birçok yapısal ve fizyolojik görevleri olan ve uyarılabilir hücreler başta olmak üzere birçok hücre fonksiyonunun sürdürülmesi için gerekli bir iyondur. Kalsiyumun plazmadaki konsantrasyonu 8.5-10.4 mg/dl arası gibi dar bir aralıkta değişerek üç fraksiyon halinde bulunur. Yaklaşık % 50' si iyonize durumda, % 41' i plazma proteinlerine bağlanmış olarak, % 9 kadarı da iyonize olmayan bir durumda bağlanmış olarak bulunur.

Hücre dışına göre çok düşük konsantrasyonlarda olan hücre içi kalsiyum ise, ya sitoplazmada serbest halde ya da hücre içi organallerde bağlanmış bir şekilde bulunur (51-54).

Kalsiyum kanal blokerleri, sitoplazma membranında bulunan voltaja-bağımlı kalsiyum kanal proteini veya oligomerik kompleksi üzerindeki kendilerine özgü reseptörlere yüksek affinite ile bağlanarak hücreye kalsiyum girişini azaltırlar. Bu etkileri, damar düz kası ve kalp hücrelerinde yaparlar. Bunun neticesinde damarları gevşetirler, miyokardi ve diğer kalp hücrelerini deprese edebilirler (55).

L ve T tip olmak üzere 2 tip kalsiyum kanalı vardır (56). L-tipi kalsiyum kanalları, özellikle kalp ve düz kaslarda olmak üzere dokularda yaygın olarak mevcuttur (57). T kalsiyum kanalları ise atriyumda bulunur. T kanalları ayrıca vasküler düz kas hücrelerinde ve nöro hormonal sekretuar hücrelerde de vardır. T kanallarının, sinüs düğümünün ve atriyoventriküler nodal dokunun depolarizasyonunda rol oynadığı ileri sürülmektedir (56). L-tipi kanalların varlığı rat mesangial hücrelerinde de gösterilmiştir (58).

Kardiyovasküler hastalıkların tedavisinde kullanılan kalsiyum kanal blokerleri, yapıcı üç farklı alt gruba ayrılırlar. Bunlar; Dihidropiridin (DHP) türevleri (nifedipin, amlodipin ve diğer ilaçlar gibi), fenilalkilamin türevleri (verapamil ve gallopamil gibi), benzotiazepin türevleri (diltiazem gibi)'dir (59). Bu ilaçlar kalsiyum kanallarının L tipine yüksek affinite gösterirler.

DHP türevi kalsiyum kanal blokerleri ile diğer iki grup kalsiyum kanal blokerleri (fenilalkilamin türevleri, benzotiazepin türevleri) arasında, damar düz kaslarındaki ve kalp kasındaki etki güçleri bakımından fark vardır. Dihidropiridin türevi kalsiyum kanal blokerleri vazoselektiftirler; damarları gevşeten doz ve konsantrasyonlarda, kalp kası ve diğer kalp hücreleri üzerinde genellikle belirgin bir depresan etki yapmazlar. Fenilalkilamin türevi ve benzotiazepin türevi kalsiyum kanal blokerleri ise vazodilatatör etki yapan doz düzeylerinde, kalpte miyokard hücreleri ve özellikle nodal hücreler üzerinde belirgin depresyon yaparlar. Dihidropiridin grubundaki ilaçlar arasında da vazoselektivite açısından fark vardır. Bu grupta klinik kullanıma ilk giren ilaç olan nifedipin daha az, daha yeni ilaçlar olan amlodipin, felodipin, lasidipin ve lerkanidipin ise en fazla vazoselektif olanlardır. Dihidropiridin türevi vazoselektif kalsiyum kanal blokerlerinin öncelikli endikasyonları hipertansiyon ve stabil angina'dır. Ağız yoluyla kullanılırlar (55).

Kalsiyum kanal blokerlerinin; vazodilatasyon ile periferik direnci azaltarak kardiyak yükü düşürmek, miyokardial oksijen ihtiyacını azaltmak, kardiyak ve vasküler dokuda kalsiyum aşırı yükünü azaltmak gibi olumlu etkileri vardır (60). Bu ve benzeri pozitif etkileri nedeniyle kalsiyum kanal blokerleri, uzun zamandan beri hipertansiyon, aritmi ve koroner kalp hastalıklarının tedavisinde kullanılmaktadırlar (59).

2.4.1. Amlodipin

Tüm dünyada hipertansiyon tedavisinde yaygın olarak kullanılan amlodipin, uzun etki süreli bir dihidropiridin grubu kalsiyum kanal blokeridir (55). Miyokard hücrelerinde, kardiyak pacemaker hücrelerinde ve vasküler düz kas hücrelerindeki yavaş kalsiyum kanallarını bloke eder ve membranlar arası kalsiyum salınımını önler, böylece damarlarda vazodilatasyon sağlar (61).

Amlodipin oral uygulamadan sonra iyi absorbe olur. En yüksek plazma konsantrasyonuna uygulamaya başladıktan 6-12 saat sonra ulaşır. Terminal eliminasyon yarı ömrü 35-50 saate kadar uzar. Plazmada sabit konsantrasyona, ilaç uygulanmaya başladıktan 7-8 gün sonra ulaşır. Büyük ölçüde karaciğerde metabolize olmakla beraber, metabolitleri ve alınan dozun az bir kısmı değişmeden idrar ile vücuttan atılır (62).

Amlodipinin esas etki yeri periferik damarlardır. Koroner spazm durumlarında; periferik vazodilatasyonla, sistemik vasküler rezistansı azalttığı ve koroner kanlanmayı artırdığı için antianginal etki gösterir (varyant anjina). Böylece miyokarda oksijen sağlanmasını arttırmaktadır (63). Ayrıca yapılan klinik çalışmalarda amlodipinin antiaterojenik etkisinin de olduğu; bu sayede antihipertansif etkisinin dışında aterom plaklarının gelişim ve büyümesini de önleyerek hipertansiyon ve aterosklerozise bağlı gelişen birçok komplikasyonu önlediği gösterilmiştir (64, 65).

Etkili bir antihipertansif ajan olan Amlodipin'in anhihipertansif etkileri dışında; nitrik oksit üretimini arttırması, lipid peroksidasyonunu inhibe etmesi ve süperoksit dismutaz (SOD) seviyesini koruması gibi etkileri ile antioksidan etkisinin olduğu gösterilmiştir. Güçlü antioksidan özelliği nedeniyle vasküler iskemilere bağlı gelişen organ hasarlarının azalmasında etkili olduğu bilinmektedir (4).

Amlodipinin kalp, beyin, karaciğer ve over gibi dokularda iskemi reperfüzyon hasarından koruyucu etkileri olduğu gösterilmiştir (5, 6, 7, 8).

Amlodipin, FDA tarafından 1996 yılında kullanılmak üzere onaylanmıştır ve klinik olarak esansiyel hipertansiyon, kronik stabil anjina, vazospastik anjina, miyokardiyal iskemi, konjestif kalp yetmezliği ve reynaud hastalığında kullanılabilmektedir (66).

Amlodipin'in en spesifik avantajı yavaş etkili ve uzun aktivite süresine sahip olmasıdır. Uzun yarı ömrü nedeniyle kronik kullanımda plazma seviyesi yükselir. Günlük dozu 5–10 mg/gün olup bu dozlarda vazodilatatör etkileri çok azdır (67). Bu nedenle antioksidan etkisiyle flepte iskemi reperfüzyon hasarını önlemek için kullanıldığında, flep dolaşımını (perfüzyonu azaltma açısından) ciddi şekilde olumsuz etkilemeyeceği sonucuna varılır. Amlodipin besilat, molekülünde aminoetoksimetil grubu gibi iyonize (bazik) olabilen bir grup içermesi nedeniyle; iyonize olmayan nötral DHP türevlerinin çoğundan farklılık gösterir. Nötral DHP türevleri kalsiyum kanallarında sadece voltaja bağımlı blokaj yaparlar fakat Amlodipin hem voltaja hem de frekansa bağımlı blokaj yapar. Diğer dihidropiridinlerden farklı olarak, kalsiyum kanallarının sadece DHP bağlanma yerlerine değil, verapamil ve diltiazem bağlayan yerlerine de bağlanır. Oral biyoyararlanımı diğer dihidropiridinlere göre yüksektir. İlk geçiste eliminasyona, diğer DHP türevlerine göre daha az uğrar. Plazma proteinlerine yüksek oranda bağlanır (55).

3.GEREÇ VE YÖNTEM

Amlodipin 'in sıçan inferior epigastrik arter cilt ada flebinde iskemi-reperfüzyon hasarına etkisi isimli deneysel tez çalışması Dicle Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun (DÜHADEK) 28/03/2019 tarihli ve 2019/06 numaralı onayı alındıktan sonra, Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Uygulama ve Araştırma Merkezi (DÜSAM) bünyesinde gerçekleştirildi.

3.1.Kullanılan Denekler

Ağırlıkları 220-300 gr arasında değişen 24 adet erişkin Sprague-Dawley cinsi dişi sıçan araştırmaya dahil edildi. Sıçanlar rastgele seçilerek her bir grup 8 sıçandan oluşacak şekilde üç grup oluşturuldu. Sıçanlar, Grup 1; flep hazırlanan ancak İ/R yapılmayan ve ilaç uygulaması yapılmayan (sham grubu), Grup 2; İ/R yapılan ve oral gavaj yoluyla 1 cc izotonik uygulanan grup (kontrol grubu) ve Grup 3; İ/R yapılan ve oral gavaj yoluyla 5mg/kg Amlodipin (Norvasc 5 mg tablet-Pfizer İlaçları Ltd.Şti. İstanbul, Türkiye) uygulanan grup (tedavi grubu) olacak şekilde ayrıldı. Tedavi grubunda uygulanan Amlodipin dozu (5mg/kg/gün), ratlarda literatürde farklı organ ve dokularda iskemi-reperfüzyon alanında yapılan çalışmalar göz önünde bulundurularak belirlendi (8,68). 21±2°C oda sıcaklığında, ışıklandırma 12 saatlik gece-gündüz ritmine uygun olacak şekilde ve standart sıçan yemi ile musluk suyu verilerek barınmaları sağlandı.

3.2.Deneyde Kullanılan Alet ve Malzemeler

Ketamin Hidroklorür(Ketalar®, Pfizer)
Ksilazin Hidroklorür(Rompun®, Bayer)
Amlodipin(Norvasc 5 mg tablet-Pfizer İlaçları Ltd.Şti.)
Rat MDA Elisa Kit(SinoGeneClon Biotech Co. , Ltd)
Rat MPO Elisa Kit(SinoGeneClon Biotech Co. , Ltd)
Cetvel ve çizim kalemi
Elektrikli traş makinesi
Enjektör 5 ml
İnsülin enjektörü 1 ml
%0.9 İzotonik Sodyum Klorür Solüsyonu
Povidon iyot
Oral gavaj kanülü
Flaster
Steril gazlı bez
Tartı aleti
Asetat kağıdı
3/0 ipek
4/0 prolene
15 numara bistüri
Adson penset
Doku makası
Portegue
Mikro damar klembi
1 adet mikro makas
2 adet mikro penset

3.3.Flep Modeli ve Cerrahi Yöntem

Sıçanlara intraperitoneal olarak 50 mg/kg ketamin hidroklorür ve 10 mg/kg ksilazin hidroklorür ile genel anestezi uygulandı. Karın ve kasık bölgesindeki tüyler tıraşlandıktan sonra rat supin pozisyonda tespit edildi ve operasyon bölgesi iyodin solüsyonu ile temizlendi. Alt sınırı pubis, üst sınırı ksifoid, medial sınırı orta hat ve lateral sınırı ise aksiller çizgi tarafından oluşturuldu; Petry ve Wortham'ın tariflediği eni 3 cm, boyu 6 cm olacak şekilde 6x3 cm'lik fasyokutan flep flep planlandı ve çizildi (69) (Şekil 3). Flep mikro makas ve mikro penset yardımıyla derin planda kas üzerinden kasık yağ yastığı dahil edilerek kraniyalden kaudale doğru diseke edildi ve kaldırılmaya başlandı. Kaudalde epigastrik pedikül serbestlendikten sonra kaudal kenar kesisi uygulandı. Femoral arter, femoral ven ve süperfisiyal epigastrik arter görüldü. Flep yalnızca yüzeysel inferior epigastrik arter tarafından beslenen cilt ada flebi haline getirildi (Şekil 4). Tüm deneklere aynı standartlarda bu flep uygulandı. Grup I (sham grubu)' de bu aşamada flep yerine 3/0 emilmeyen suture ile suture edildi. Grup II (kontrol grubu) ve Grup III (tedavi grubu)' te sağ inferior epigastrik arteriyel ve venöz kan akımları mikroklemple yardımıyla 8 saat süreyle kesilerek iskemi uygulandı (Şekil 5). Ardından kontrol ve tedavi gruplarında da flepler yerine 3/0 emilmeyen suture ile suture edildi (Şekil 6). İşlem sonrası 8. saatte denekler tekrar uyutulup alt sınıra atılan sutureleri alındı. Alt sınırdan açılan pencereden girilip mikroklempler alındı ve reperfüzyon sağlandı. Flep pedikülü eksplore edilip distale kan akımının geçişi kontrol edildikten sonra alt sınır 4/0 prolene ile basit primer suture edildi.

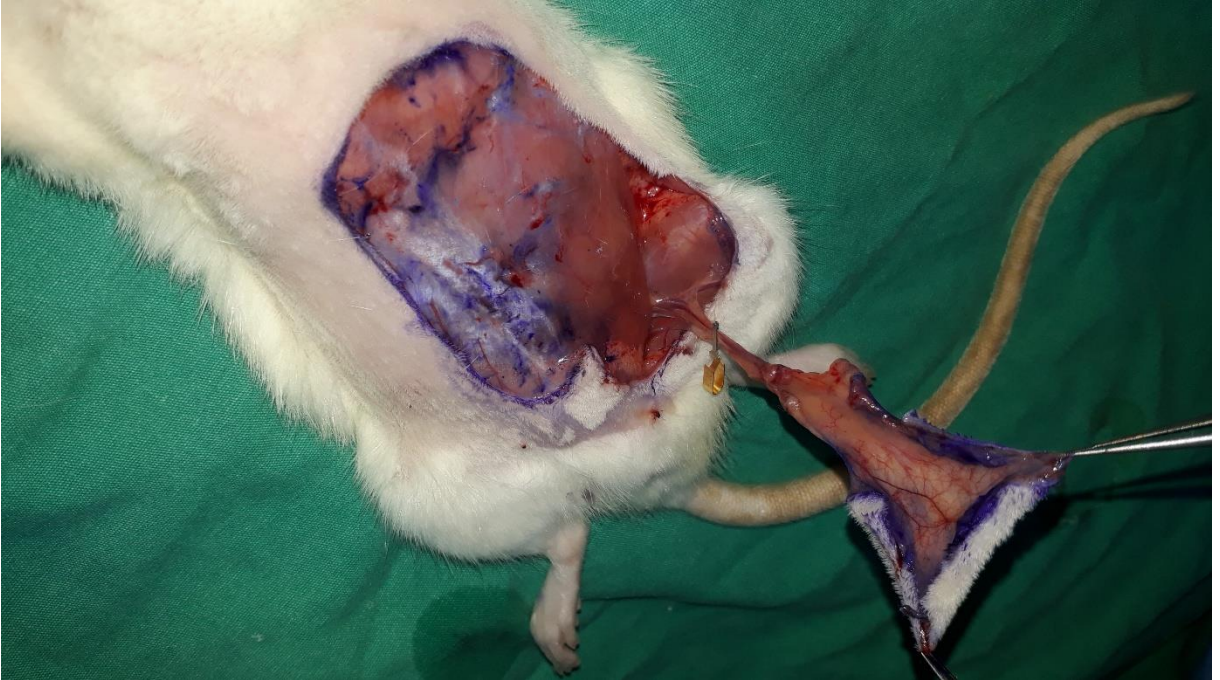
Girişim sonrası 21. Saatte (Grup II ve Grup III' te 12 saatlik reperfüzyonun bitiminden sonra) tüm deneklerden histopatolojik ve biyokimyasal analizler için flep uzun aksının lateral kenarının orta 1/3 lük kısmından eni 0,5 cm uzunluğu 2 cm olacak şekilde bir şerit eksize edildi. Bu şerit ortadan iki eşit parçaya bölünerek her biri 0,5x1cm olacak şekilde iki adet (biri biyokimyasal analiz için, biri histopatolojik analiz için) biyopsi materyali elde edildi. Ardından denekler, uygun yara yeri pansumanı yapılarak flep yaşayan alanlarını gözlemlemek üzere barınma kafeslerine konuldu.



Şekil 3. Ratın Pozisyonu ve Flep Modeli



Şekil 4. Flebin Ada Şeklinde Hazırlanması



Şekil 5. Flep Kan Akımının Mikroklemp Yardımıyla Kesilmesi



Şekil 6. Operasyon Sonrası Flebin Yerine Sütüre Edilmesi

3.4.Deney Protokolü ve Deneklerin Gruplandırılması

3.4.1.Grup I (Sham grubu):

Bu gruptaki 8 rata 6x3 cm inferior epigastrik arter cilt ada flebi kaldırıldıktan sonra iskemi uygulanmadan 3/0 ipekle flep yerine sütüre edildi. Cerrahi girişimin 21. saatinde histopatolojik ve biyokimyasal analizler için flep uzun aksının lateral kenarının orta 1/3 lük kısmından eni 0,5 cm uzunluğu 2 cm olacak şekilde bir şerit eksize edildi. Bu şerit ortadan iki eşit parçaya bölünerek her biri 0,5x1cm olacak şekilde iki adet (biri biyokimyasal analiz için, biri histopatolojik analiz için) biyopsi materyali elde edildi. Histopatolojik çalışma için alınan örnek formaldehit solüsyonunda, biyokimyasal çalışma için alınan örnek ise -20 °C de saklandı. Flep kaldırıldıktan 7 gün sonra flep yaşayan alanı ve doku kaybı olan alanlarının ölçümü transparan asetat kağıdı yardımıyla hesaplandı. Genel anestezi altında servikal dislokasyon yöntemiyle ratlar sakrifiye edildi.

3.4.2.Grup II (Kontrol grubu):

Bu gruptaki 8 rata cerrahi girişim öncesi 7 gün ve cerrahi girişim sonrası 7 gün boyunca oral gavaj yoluyla 1cc izotonik solüsyonu verildi. Takibin 8. gününde 6x3 cm inferior epigastrik arter cilt ada flebi kaldırıldıktan sonra pedikül mikrovasküler klemple klemlendi. Flep 8 saat iskemiye maruz bırakıldı. 8 saat sonra denekler tekrar uyutulup alt sınıra atılan sütürleri alındı. Alt sınırdan açılan pencereden girilip mikroklempler alındı ve reperfüzyon sağlandı. Flep pedikülü eksplore edilip distale kan akımının geçişi kontrol edildikten sonra alt sınır 4/0 prolene ile basit primer suture edildi. 12 saatlik reperfüzyonun bitiminden sonra histopatolojik ve biyokimyasal analizler için flep uzun aksının lateral kenarının orta 1/3 lük kısmından eni 0,5 cm uzunluğu 2 cm olacak şekilde bir şerit eksize edildi. Bu şerit ortadan iki eşit parçaya bölünerek her biri 0,5x1cm olacak şekilde iki adet (biri biyokimyasal analiz için, biri histopatolojik analiz için) biyopsi materyali elde edildi. Histopatolojik çalışma için alınan örnek formaldehit solüsyonunda, biyokimyasal çalışma için alınan örnek ise -20 °C de saklandı. Flep kaldırıldıktan 7 gün sonra flep yaşayan alanı ve doku kaybı olan alanlarının ölçümü transparan asetat kağıdı yardımıyla hesaplandı. Ardından genel anestezi altında servikal dislokasyon yöntemiyle ratlar sakrifiye edildi.

3.4.3.Grup III (Tedavi Grubu):

Bu gruptaki 8 rata cerrahi girişim öncesi 7 gün ve cerrahi girişim sonrası 7 gün boyunca oral gavaj yoluyla 5mg/kg/gün Amlodipin (ilacın tablet formu ezildi ve serum fizyolojik ile çözelti haline getirildi) verildi. Takibin 8. gününde 6x3 cm inferior epigastrik arter cilt ada flebi kaldırıldıktan sonra pedikül mikrovasküler klemple klemlendi. Flep 8 saat iskemiye maruz bırakıldı. 8 saat sonra denekler tekrar uyutulup alt sınıra atılan sütürleri alındı. Alt sınırdan açılan pencereden girilip mikroklempler alındı ve reperfüzyon sağlandı. Flep pedikülü eksplore edilip distale kan akımının geçişi kontrol edildikten sonra alt sınır 4/0 prolene ile basit primer suture edildi. 12 saatlik reperfüzyonun bitiminden sonra histopatolojik ve biyokimyasal analizler için flep uzun aksının lateral kenarının orta 1/3 lük kısmından eni 0,5 cm uzunluğu 2 cm olacak şekilde bir şerit eksize edildi. Bu şerit ortadan iki eşit parçaya bölünerek her biri 0,5x1cm olacak şekilde iki adet (biri biyokimyasal analiz için, biri histopatolojik analiz için) biyopsi materyali elde edildi.

Histopatolojik çalışma için alınan örnek formaldehit solüsyonunda, biyokimyasal çalışma için alınan örnek ise -20 °C de saklandı. Flep kaldırıldıktan 7 gün sonra flep yaşayan alanı ve doku kaybı olan alanlarının ölçümü transparan asetat kağıdı yardımıyla hesaplandı. Ardından genel anestezi altında servikal dislokasyon yöntemiyle ratlar sakrifiye edildi.

Tablo 3. Deney Gruplarına Uygulanan İşlemler

	Grup I	Grup II	Grup III
Flep Kaldırılması	+	+	+
8 Saat İskemi	-	+	+
Oral Gavaj Uygulama	-	1 cc izotonik	5m/kg Amlodipin
Biyopsi Alınması	+	+	+
Flep Canlılığı Hesaplanması	+	+	+

3.5.Histopatolojik Değerlendirme

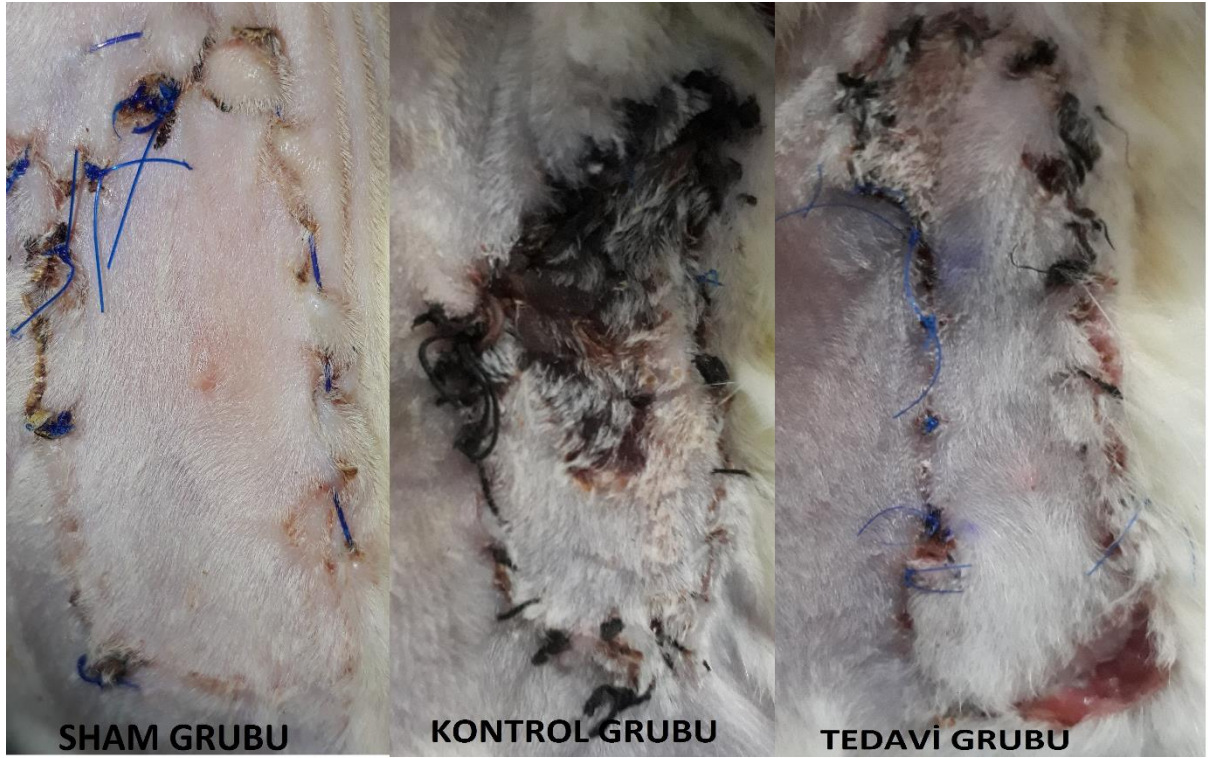
Histopatolojik değerlendirme için alınan cilt dokusu biyopsi örnekleri oda ısısında, %10'luk formalin solüsyonu içerisinde 72 saat tespit edildi. Tespit edilen dokular standart doku takip yöntemlerinden geçirildi. Hazırlanan parafin bloklardan mikrotom yardımıyla lamlara 5 µm kalınlığında kesitler alındı ve Hematoksilen Eozin boyası ile boyandı. Işık mikroskopuyla tüm kesitler, 100'lük büyütmede nötrofil sayımı için ve 200'lük büyütmede damar çapları ölçümü için değerlendirildi. Nötrofil sayımı ve damar çapları, beş farklı sahadaki değerlerin ortalaması alınarak hesaplandı.

3.6.Biyokimyasal Değerlendirme

Biyokimyasal analiz için alınan rat deri dokuları %10 (w/v) olacak şekilde pH 7.4 fosfat tamponu içinde homojenizatörle homojenize edildi. Homojenizasyon sonrası örnekler 10.000 g' de 10 dakika santrifüj edildi. Süpernatanttan, Rat MDA Elisa Kit(SinoGeneClon Biotech Co. , Ltd. Katalog No: SG-20889) ile malondialdehit (MDA) ve Rat MPO Elisa Kit(SinoGeneClon Biotech Co. , Ltd. Katalog No: SG-20635) ile Myeloperoksdaz (MPO) düzeyleri tayin edildi.

3.7.Flep Canlılık Oranlarının Belirlenmesi

Flepler, günlük olarak takip edildi. Cerrahi girişim sonrası yedinci gün fleplerde doku kaybı gelişen ve canlı kalan alanların belirginleştiği görüldü. 1 mm² lik alanlar şeklinde çizilen transparan asetat üzerine canlı ve doku kaybına uğrayan alanlar çizildi. Çizilen alanlar sayılarak canlı alan, total flep alanına bölünerek fleplerde sağ kalım oranı % olarak hesaplandı.



şekil 7. Gruplara Ait Flep Yaşam Oranı rnekleri

3.8.İstatistiksel Değerlendirme

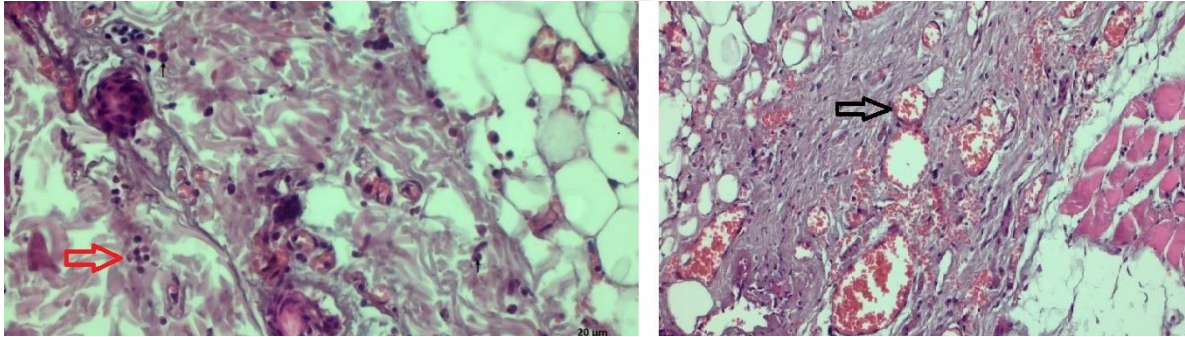
Araştırma verilerimizin istatistiksel değerlendirmesinde IBM SPSS 21.0 for windows istatistik paket programı kullanıldı. Ölçümsel değişkenler ortalama $\pm$ standart sapma (SD) ile, kategorik değişkenler sayı ve yüzde (%) ile sunuldu. Her gruptaki veri sayısı 8 olduğundan üç grubun karşılaştırılmasında Kruskal-Wallis Varyans Analizi kullanıldı. Çoklu karşılaştırma testi olarak da Mann Whitney U testi uygulandı. Hipotezler çift yönlü olup, karşılaştırmalarda $p \leq 0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı sonuç kabul edildi.



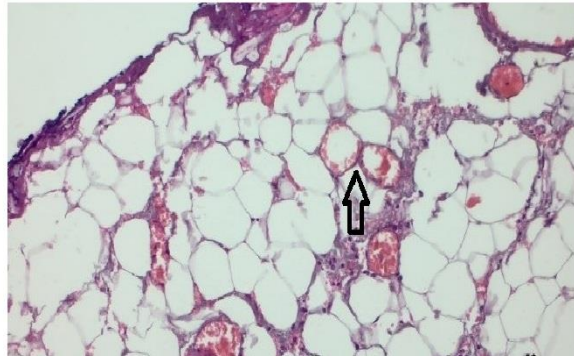
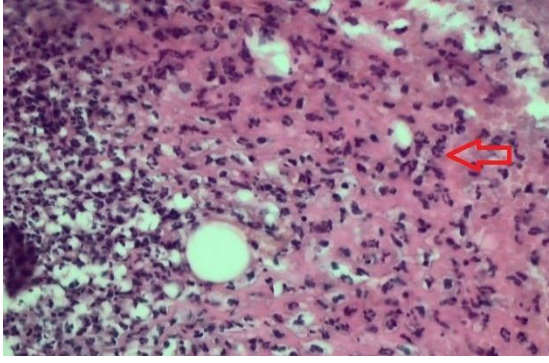
4.BULGULAR

4.1. Histopatolojik Değerlendirme Sonuçları

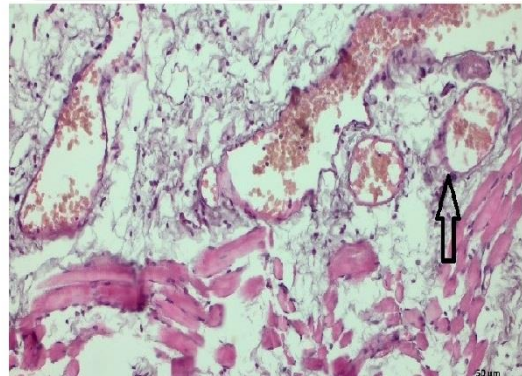
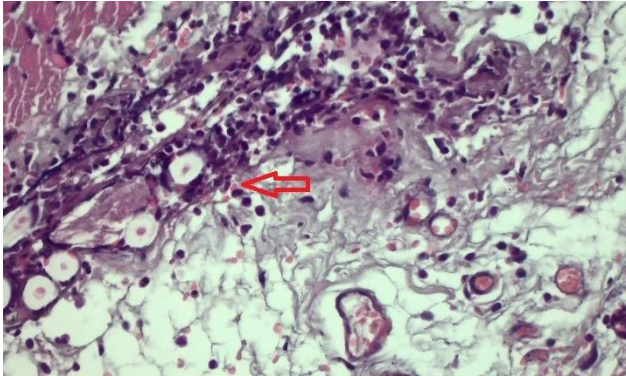
Hematoksilen Eozin boyası ile boyanan kesitler, ışık mikroskopunda 100'lük büyütmede nötrofil sayımı için ve 200'lük büyütmede damar çapları ölçümü için değerlendirildi. Nötrofil sayımı ve damar çapları, beş farklı sahadaki değerlerin ortalaması alınarak hesaplandı. Şekil 6'da Sham Grubu, şekil 7'de Kontrol Grubu ve şekil 8'de Tedavi Grubu'na ait histolojik görüntülere birer örnek izlenmektedir. Genel olarak iskemi reperfüzyon uygulanmayan sham grubunda nötrofil infiltrasyonunun az olduğu ve damar çaplarının belirgin olduğu görüldü (Şekil 8). Kontrol grubunda nötrofil infiltrasyonunun yaygın olduğu ve damar çaplarının küçüldüğü gözlemlendi (Şekil 9). Tedavi grubunda ise iskemi reperfüzyon uygulanmasına rağmen; nötrofil infiltrasyonunun kontrol grubundan daha az olduğu ve damar çaplarının sham grubuna yakın büyüklükte olduğu görüldü (Şekil 10).



Şekil 8 - Sham Grubu. Işık mikroskobu incelemesi. İskemi reperfüzyon uygulanmayan sham grubunda nötrofil infiltrasyonunun az olduğu (100'lük büyütme ile - kırmızı ok) ve damar çaplarının belirgin olduğu (200'lük büyütme ile - siyah ok) izlendi. (Hematoksilen Eozin boyama)



Şekil 9 - Kontrol Grubu. Işık mikroskobu incelemesi. Kontrol grubunda nötrofil infiltrasyonunun yaygın olduğu (100'lük büyütme ile - kırmızı ok) ve damar çaplarının küçüldüğü (200'lük büyütme ile - siyah ok) gözlemlendi. (Hematoksilen Eozin boyama)



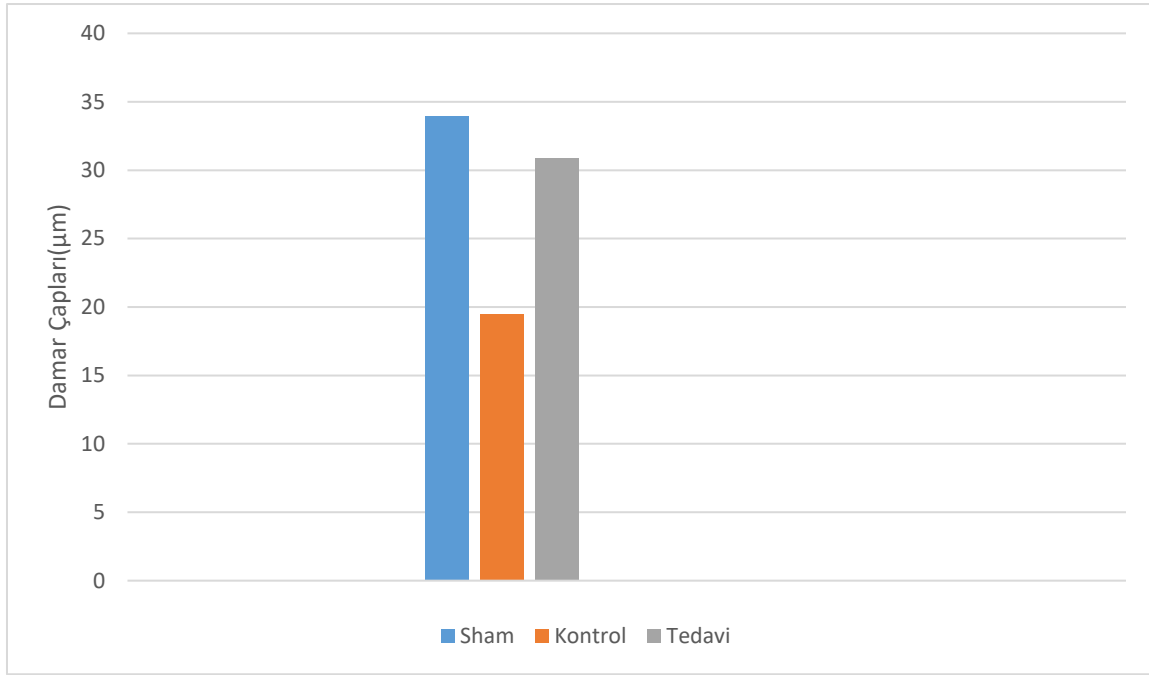
Şekil 10 - Tedavi Grubu. Işık mikroskobu incelemesi. Tedavi grubunda iskemi reperfüzyon uygulanmasına rağmen; nötrofil infiltrasyonunun kontrol grubundan daha az olduğu (100'lük büyütme ile - kırmızı ok) ve damar çaplarının sham grubuna yakın büyüklükte olduğu (200'lük büyütme ile - siyah ok) görüldü. (Hematoksilen Eozin boyama)

4.1.1. Damar çapları lümü

Damar çapları 200'lük büyütme ile beş farklı sahada bakıldı ve mikrometre cinsinden ölçüm yapıldı. Ölçülen damar çaplarının ortalama değeri alındı. Bu sonuçlara göre gruplardaki ortalama damar çapları; Sham grubunda **33,95±12,04** µm, Kontrol grubunda **19,51±5,98** µm, Tedavi grubunda **30,91±15,10** µm olarak bulundu (Tablo 4). Yapılan istatistiksel değerlendirmede, damar çapları açısından 3 grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı (**p=0.081**). İekli grup karşılaştırmalarında yalnızca, damar çapları kontrol (İ/R) grubunda sham grubuna göre anlamlı olarak düşüktü (**p<0.05**).

Tablo 4. Grupların Damar çapları (µm)

	Sham Grubu (n:8)	Kontrol Grubu (n:8)	Tedavi Grubu (n:8)
1	29,7	22,5	44,9
2	38	19	40
3	47,8	21,5	10,3
4	43	25,6	47
5	33	13,4	43
6	15,4	16,6	21,4
7	45,7	10	29,7
8	19	27,5	11
Ort ±SD	33,95 ±12,04	19,51±5,98	30,91±15,10



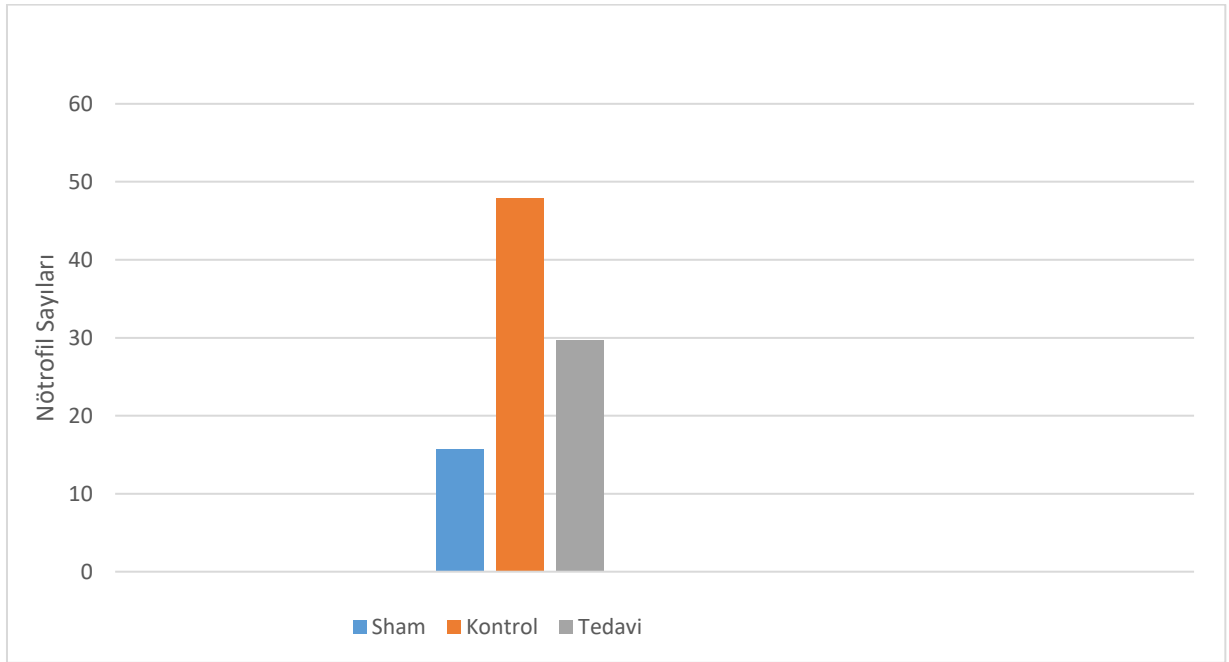
Şekil 11. Gruplardaki Ortalama Damar Çapları (µm)

4.1.2. Nötrofil Sayımı

Kesitlerdeki nötrofil sayılarına 100'lük büyütme ile bakıldı ve beş farklı sahada ölçülen nötrofil sayılarının ortalama değeri alındı. Bu sonuçlara göre gruplardaki ortalama nötrofil sayıları; Sham grubunda **15,75±12,33**, Kontrol grubunda **47,87±21,29**, Tedavi grubunda ise **29,75±12,57** olarak hesaplandı (Tablo 5). Gruplar arasında karşılaştırma yapıldığında, nötrofil sayısı kontrol (İ/R) ve tedavi (İ/R+Amlodipin) gruplarında sham grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulundu (**p<0.05**). Kontrol (İ/R) grubunda da nötrofil sayısı tedavi (İ/R+Amlodipin) grubundan anlamlı olarak yüksek bulundu (**p<0.05**).

Tablo 5. Gruplardaki Nötrofil Sayıları

	Sham Grubu (n:8)	Kontrol Grubu (n:8)	Tedavi Grubu (n:8)
1	20	32	21
2	36	42	30
3	4	31	21
4	32	34	23
5	11	86	57
6	6	47	28
7	6	35	20
8	11	76	38
Ort ±SD	15,75±12,33	47,87±21,29	29,75±12,57



Şekil 12. Gruplardaki Ortalama Nötrofil Sayıları

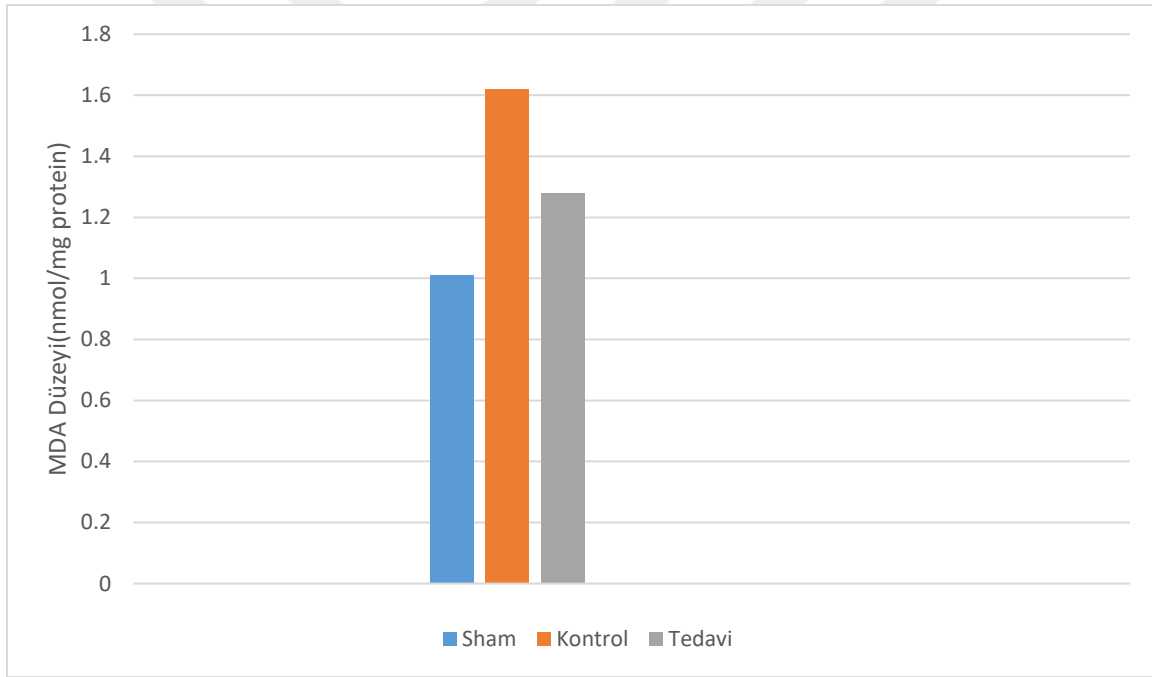
4.2. Biyokimyasal Değerlendirme Sonuçları

4.2.1. Malondialdehit (MDA) Düzeyi

Ortalama Malondialdehit (MDA) düzeyleri; Sham grubunda **1,01±0,04** nmol/mg protein, Kontrol grubunda **1,62±0,30** nmol/mg protein, Tedavi grubunda ise **1,28±0,28** nmol/mg protein olarak bulundu (Tablo 6). Gruplar arasında karşılaştırma yapıldığında; MDA düzeyi sham grubunda ve tedavi (İ/R+Amlodipin) grubunda, kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşük seviyede bulundu (**p<0.05**).

Tablo 6. Grupların MDA Değerleri (nmol/mg protein)

	Sham Grubu (n:8)	Kontrol Grubu (n:8)	Tedavi Grubu (n:8)
1	0,98	1,34	1,13
2	1,01	1,75	1,22
3	0,97	1,91	1,15
4	1,03	1,87	1,26
5	1,08	2,03	1,82
6	1,01	1,49	1,06
7	0,97	1,31	1,61
8	1,09	1,29	0,99
Ort ±SD	1,01±0,04	1,62±0,30	1,28±0,28

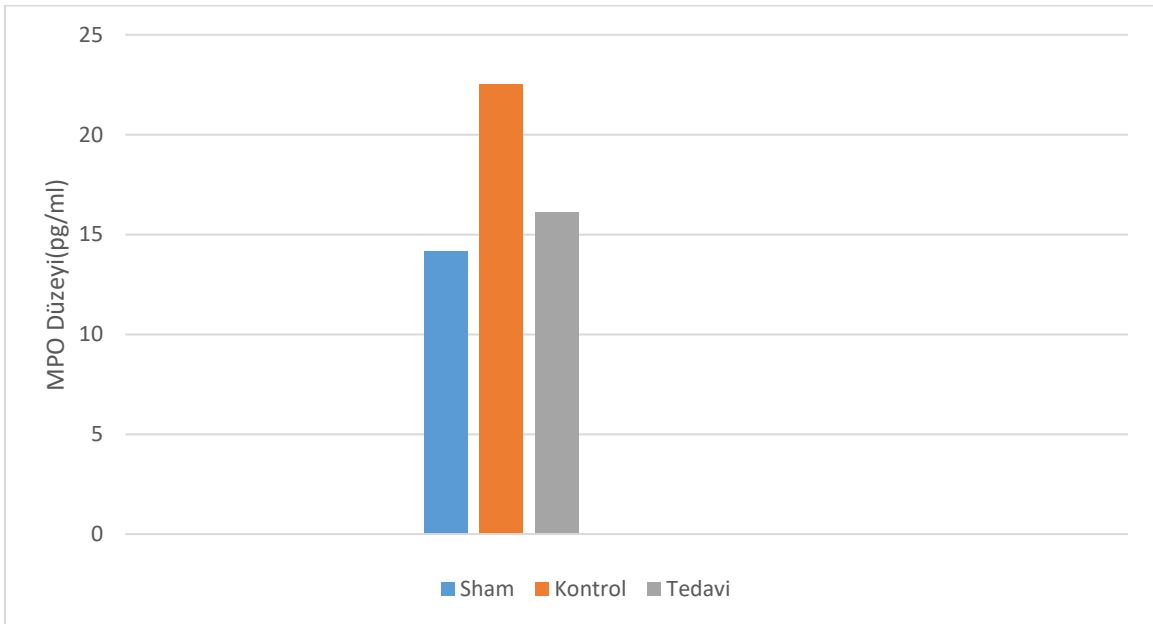
**Şekil 13.** Gruplardaki Ortalama Malondialdehit Düzeyleri (nmol/mg protein)

4.2.2.Miyeloperoksidaz (MPO) Düzeyi

Ortalama Miyeloperoksidaz (MPO) düzeyleri; Sham grubunda **14,13±1,73** pg/ml, Kontrol grubunda **22,52±11,91** pg/ml, Tedavi grubunda ise **16,10±3,60** pg/ml olarak bulundu (Tablo 7). Gruplar arasında karşılaştırma yapıldığında; MPO düzeyi kontrol (İ/R) grubunda sham ve tedavi (İ/R+Amlodipin) grubuna göre anlamlı seviyede yüksek bulundu (**p<0.05**). Sham ve tedavi (İ/R+Amlodipin) grupları arasında ise istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı (**p=0.208**).

Tablo 7. Grupların MPO Değerleri (pg/ml)

	Sham Grubu (n:8)	Kontrol Grubu (n:8)	Tedavi Grubu (n:8)
1	13,88	21,15	14,40
2	11,91	15,58	13,07
3	14,60	18,41	23,75
4	12,08	14,74	13,13
5	15,65	50,76	14,67
6	13,75	20,57	17,74
7	17,17	14,67	14,20
8	14,01	24,31	17,91
Ort ±SD	14,13±1,73	22,52±11,91	16,10±3,60



Şekil 14. Gruplardaki Ortalama Miyeloperoksidaz Düzeyleri (pg/ml)

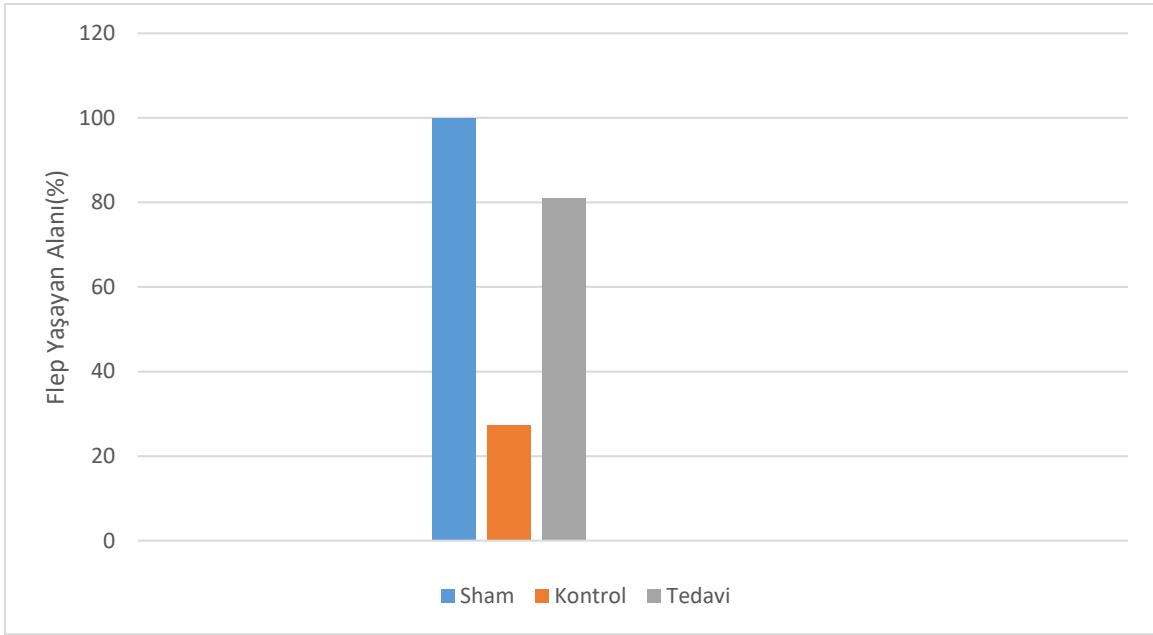
4.3.Flep Canlılık Oranlarının Değerlendirilmesi

Cerrahi girişim sonrası 7. günde 1 mm² lik alanlar şeklinde çizilen transparan asetat üzerine canlı ve doku kaybına uğrayan alanlar çizildi. Çizilen alanlar sayılarak canlı alan, total flep alanına bölünerek fleplerde sağ kalım oranı % olarak hesaplandı. Sham grubunda canlılık oranları **%100±0**, Kontrol grubunda canlılık oranları **%27,37±23,29**, Tedavi grubunda canlılık oranları **%81±13,14** olarak bulundu (Tablo 8).

Yapılan istatistiksel değerlendirmede, flep canlılık oranları açısından 3 grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu (**p<0.001**). Ortalama flep canlılık oranları karşılaştırıldığında, tedavi (İ/R + Amlodipin) grubundaki flep canlılık oranı kontrol (İ/R) grubundaki flep canlılık oranından anlamlı şekilde yüksek bulundu (**p<0.05**). Sham grubu ve tedavi (İ/R + Amlodipin) grubu arasında flep canlılık oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı (**p=0,674**).

Tablo 8. Gruplardaki Flepte Canlı Alan Yüzdeleri (%)

	Sham Grubu (n:8)	Kontrol Grubu (n:8)	Tedavi Grubu (n:8)
1	100	44	76
2	100	54	80
3	100	35	55
4	100	46	78
5	100	0	85
6	100	40	92
7	100	0	100
8	100	0	82
Ort ±SD	100±0	27,37±23,29	81±13,14



Şekil 15. Graplardaki Ortalama Flep Canlılık Yüzdeleri

5.TARTIŞMA

Flep cerrahisi, yeniden onarım cerrahisinin temelini oluşturur. Anatomi, fizyoloji ve cerrahi teknik ile ilgili artan bilgi birikimine rağmen, flepte doku kaybı yeniden onarım cerrahisinde önemli bir problem olmaya devam etmektedir. Flep kaybı; enfeksiyon, arterioskleroz, hipotansiyon, malnütrisyon, flepte bası, gerginlik, tromboz, pedikülde katlanma ve yetersiz besleyici akım gibi nedenlerle meydana gelebilir (70). Ayrıca hasta kaynaklı sorunlar (sigara içiciliği, eşlik eden hastalıklar, hastanın tedaviye uyumu), flebin doğru planlanıp uygulanması, ameliyat sonrası bakım gibi pek çok etken flep yaşayabilirliğinde göz önünde bulundurulmalıdır. Gerekli durumlarda ameliyat öncesi ilaç başlanması, ameliyat öncesi damarsal sistemin görüntülenmesi, hastanın psikiyatrik durumunun değerlendirilmesi ve eğer malnütrisyon varsa bunun tespiti ve düzeltilmesi diğer dikkat edilecek hususlardır (71).

Serbest flep uygulamalarının yaygınlaşması yeniden onarım cerrahisi yapan cerrahlara belirgin bir manevra üstünlüğü kazandırmış olsa da beraberinde farklı sorunları gündeme getirmiştir. Geniş seriler incelendiğinde, serbest doku aktarımlarında flep kayıplarının azaldığı görülmektedir. Bu flep kayıpları pediküllü fleplerin kısmi kayıplarından farklı olarak serbest fleplerde genellikle tam kayıp şeklindedir. İster kısmi olsun, ister tam olsun tüm flep kayıpları, geçirilen ameliyat sayısını, hastanede kalış süresini, sonuçta morbidite ve mortaliteyi doğrudan etkileyen cerrahi komplikasyonlardır (72,73). Serbest fleplerin kullanımının artmasıyla birlikte, flep verici alandan ayrılıp arteryal kan akımın kesilmesi ve ardından anastomozla beraber tekrar kan akımı sağlanan süreç içinde, kaçınılmaz iskemi-reperfüzyon hasarı görülmeye başlanmıştır. Bundan dolayı iskemi reperfüzyon hasarı plastik cerrahi pratiğinde ve araştırmalarında yerini almaya başlamıştır. Ayrıca iskemi reperfüzyon hasarı sadece flep cerrahisinde değil replantasyonlar, transplantasyon cerrahisi, karaciğer, beyin gibi kanlanan tüm dokuların yaşamını etkileyen çok önemli bir problemidir.

Arteriyel veya venöz kan akımının herhangi bir nedenle kesilmesi veya azalmasına bağlı organ ve dokunun yetersiz perfüzyonu sonucu bu doku veya organların oksijenden yoksun kalması şeklinde tanımlanan iskemi, doku ve organlarda hücresel düzeyde enerji depolarının azalması ve toksik metabolitlerin birikmesi sonucunda hücresel ölüme yol açar. İskemik dokuya hem hücrenin kendini yenilemesi (rejenerasyonu), hem de toksik metabolitlerin temizlenmesi için yeniden dolaşımın sağlanması gerekir. Ancak, iskemik dokunun yeniden kanlanması yani reperfüzyonu, dokuda sadece iskemi ile oluşan hasara göre çok daha ciddi bir hasara yol açar.

Flep kaybını önlemek ve flebin iskemiye dayanıklılığını artırmak için yapılagelen iki yöntem bulunmaktadır. Bunlar geciktirme cerrahisi (delay fenomeni) ve farmakolojik ajanların (flep damarlanmasını arttıran ilaçlar, antioksidanlar, antitrombotik ilaçlar, antiinflamatuvar ilaçlar, dolaşım düzenleyiciler gibi) kullanımıdır (9, 74, 75). Cerrahi geciktirme olan delay fenomeni flep cerrahisinde nekroz gelişmemesi için erken dönemlerde tanımlanmıştır. Delay yönteminin flep cerrahisinde yaşayabilirliği arttırmak için en etkili yöntemlerden olduğu bilinmektedir. Fakat delay yöntemi en az iki operasyon gerektirdiği için maliyetli ve zaman kaybettiricidir. Bu nedenle araştırmacılar, delay yönteminin etkinliğini gösterecek ama cerrahi gerektirmeyen, iskemi ve ardından gelişen reperfüzyon hasarının zararlı etkilerini ortadan kaldıracak veya azaltabilecek pek çok endojen ve ekzojen ajan tanımlamışlardır (76-82).

Rohrich ve arkadaşları flep yaşayabilirliğini arttırmaya yönelik kullanılacak bir ilaç veya uygulama için ideal özellikleri şöyle sıralamıştır; kolay uygulanabilir olmalı, güvenilir olmalı, etkili sonuçları olmalı, ameliyat sonrası da kullanılabilmesi, ucuz olmalı, etki mekanizması tam olarak bilinmeli, elde edilmesi kolay olmalı ve flep doku kaybından koruyucu olmalı (83). Bu anlamda, çalışmamızda kullandığımız Amlodipin bu özelliklerin çoğunu taşımaktadır.

Organizmada serbest radikallerin oluşum hızı ile bunların ortadan kaldırılma hızı bir denge içerisindedir ve bu durum oksidatif denge olarak adlandırılır. Oksidatif denge sağlandığı sürece organizma, serbest radikallerden etkilenmemektedir (84). Bu radikallerin oluşum hızında artma ya da ortadan kaldırılma hızında bir düşme oksidan-antioksidan dengenin bozulmasına neden olur. ‘‘Oksidatif stres’’ olarak adlandırılan bu durum özetle; serbest radikal oluşumu ile antioksidan savunma mekanizması arasındaki ciddi dengesizliği göstermekte olup, sonuçta doku hasarına yol açmaktadır.

Antioksidanlar, iskemi-reperfüzyon sırasında artan radikallerin vücudumuzdan uzaklaştırılmasını sağlamaktadır (85). Yapılan çalışmalarda özellikle iskemi-reperfüzyon hasarına bağlı olarak azalan antioksidanlar ile doku hasarı arasında direkt ilişki gösterilmiştir. Bazıları cilt fleplerinde olmak üzere serbest radikallere karşı antioksidan etkileri araştırılan ajanlara; Süperoksit Dismutaz (77), Allopürinol (78), Deferoksamin (79), Vitamin C (80), Selenyum (81) ve Carvedilol (82) rnek verilebilir.

Kalsiyum kanal blokerlerinin kimyasal yapılarına göre dihidropridin (DHP) grubu içerisinde bulunan Amlodipin, abuk etki gösteren ve etkin bir antihipertansif ilaç olduğu gibi ayrıca güçlü antioksidan zelliginde olduğundan, vasküler iskemilere bağlı gelişen organ hasarlarının azalmasında da etkin role sahiptir.

Amlodipin’in antioksidan etkinliği; nitrik oksit üretimini arttırması, lipid peroksidasyonunu inhibe etmesi ve süperoksit dismutaz (SOD) seviyesini koruması gibi etkileri ile gösterilmiştir (4).

Bir başka çalışmada da Amlodipinin, anjiotensinle oluşturulan oksidatif strete oksijen radikalinin üretimini azalttığı, süperoksit dismutaz düzeyini ise yükselttiği ve lipid peroksidasyonunu inhibe ederek LDL (Low Density Lipoprotein)’lerin oksidasyonunu önlediği gösterilmiştir (86). Ayrıca Amlodipin inflamasyona bağlı olarak yükselen TNF- ve IL-6 gibi sitokinlerin düzeyini de düşürmektedir (87).

Dihidropiridin türevlerinin ve diğer kalsiyum kanal blokörlerinin antiaterojenik etkilerinin de, bahsi geçen antiinflamatuvar ve antioksidan etkilerinden kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir (64).

İskemi reperfüzyon hasarı çalışmalarında en sık kullanılan flep modeli olan sıçan inferior epigastrik arter cilt ada flebi ilk kez 1967 yılında Strauch ve Murray tarafından tarif edilmiştir (88). Mikrocerrahi eğitiminde ve birçok deneysel çalışmada en sık kullanılan flep modelidir. Kolay diseksiyon sonrası mikrocerrahiye uygun damarlara ulaşılabilmesi, inferior epigastrik sinirden dallanan bir duyusal sinir ağına sahip olması, deri adasının güvenle beslenmesinin bilinmesi nedeniyle sık tercih edilmektedir. Flep boyutu sıçanın büyüklüğüne, cerrahın tercihin ve çalışmanın özelliklerine göre tasarlanabileceği için standart bir ölçü verilememektedir.

Tosa ve arkadaşları, yaptıkları çalışmada rat karın bölgesinden 4,5x3 cm'lik inferior epigastrik arter tabanlı cilt ada flebinin hazırlanmasını takiben flepte oluşturulan 9 saatlik iskemi sonrası flep canlılık oranını %18-19 tespit etmişlerdir (89). Bir başka çalışmada bu oranlar, 7x4 cm'lik flepte 8 saatlik iskemide %65 ve 12 saatlik iskemide %22 olarak tespit edilmiştir (90). Bizim yaptığımız çalışmada kontrol grubunda (İ/R) 3x6 cm'lik rat inferior epigastrik arter cilt ada flebinde 8 saatlik iskemide flep canlılığı ortalama değeri $27,37 \pm 23,29$ olarak bulundu. Yaptığımız çalışmadaki deney modelimizde iskemi süresini 8 saat olarak belirledik. Çünkü literatürde bu flebe 8 saatin üzerinde uygulanan iskemilerde flep yaşayan oranının dramatik olarak azalmakta olduğunu ve uygulanan tedavinin etkisinin ciddi şekilde azaldığını düşündük (89,90).

Çalışmamızda iskemi-reperfüzyon uygulanmayan sham grubun ile iskemi-reperfüzyon uygulanan kontrol karşılaştırıldığında, kontrol grubu iskemi-reperfüzyon hasarı ile uyumlu değişiklikler göstermiştir. Buna göre; kontrol grubunda sham grubuna göre flep canlılığı azalmış, Malondialdehit (MDA), Miyeloperoksidaz (MPO) ve nötrofil düzeyi artmış ve damar çapı genişliği azalmış olarak bulundu.

Yaptığımız çalışmada Amlodipin'in cilt fleplerinde görülen iskemi reperfüzyon hasarını önlemede etkinliğini araştırmak amacıyla gruptaki ratlarda yaşayan flep oranı hesaplandı. Buna göre ortalama yaşayan flep oranları sham grubunda 100 ± 0 , kontrol (İ/R) grubunda $27,37 \pm 23,29$, tedavi grubunda ise $81 \pm 13,14$ olarak saptandı. Bu sonuçlar değerlendirildiğinde, Amlodipin'in cilt fleplerinde iskemi reperfüzyon hasarını önlemede etkili olduğu görülmektedir. Sonuçlar istatistiksel olarak da anlamlı bulundu ($p < 0,05$).

Bu çalışmada doku morfolojisini saptamak ve Amlodipin'in nötrofiller üzerine etkisi olup olmadığını araştırmak için, histopatolojik çalışma için alınan örneklerde hematoksilin-eozin boyaması yapıldı. Nötrofillerin iskemi reperfüzyon hasarında lokal inflamatuvar yanıtın önemli bir parçası olduğu ve serbest radikal üretiminde rol aldıkları gösterilmiştir (9,91). Ayrıca yapılan çalışmalarda nötrofil sayısını azaltmanın ya da nötrofil fonksiyonunu önlemenin, iskemi reperfüzyon hasarını önemli ölçüde azalttığı saptanmıştır (92,93). Bu sebeple, yaptığımız çalışmada Amlodipin'in iskemi reperfüzyon hasarında önemli rol oynayan nötrofiller üzerinde etkisi olup olmadığı araştırıldı. Yapılan histopatolojik olarak değerlendirmede kontrol grubunda (İ/R), sham grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde nötrofil infiltrasyonu saptandı (**p<0,05**). Tedavi grubunda (İ/R+Amlodipin) ise kontrol grubuna (İ/R) göre nötrofil sayısının anlamlı bir şekilde azaldığı görüldü (**p<0,05**).

Damar çapı azalmasının, flep kanlanmasını ve flep canlılık oranını azaltacağı beklenir. Ancak bizim çalışmamızda ortalama damar çapları oranı sham ve tedavi (İ/R+Amlodipin) gruplarında, kontrol grubuna göre daha yüksek saptanmakla birlikte üç grup istatistiksel olarak karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı fark bulunmadı (**p=0,081**). İkili grup karşılaştırmalarında ise damar çapları sham grubunda, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı ölçüde yüksek bulundu (**p<0,05**).

Çetinkale ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, MDA ve MPO düzeylerindeki artışın, reperfüzyon hasarına bağlı olduğunu ve MDA düzeyinin artmış nekroz oranını ve MPO düzeyinin artmış nötrofil birikimini yansıttığını belirtmişlerdir (94).

Serbest oksijen radikallerinin yarı ömürlerinin kısa olması ve stabil olamamaları nedeniyle direkt ölçümleri mümkün değildir. Lipit peroksidasyonun sabit bir son ürünü olan malondialdehit (MDA), hücre membranındaki lipidler üzerindeki serbest radikal etkisinin ölçülebilen kimyasal bir belirteçdir. Hücre zarının hasarlanması ile beraber MDA ortaya çıkar ve seviyelerinin yüksekliği hücre yıkımı işaret eder. Malondialdehit, dokudan hazırlanan homojenatta ölçülebilir. İskemi reperfüzyon olgularında serbest radikal aktivitesini tespit etmek için malondialdehit kullanılabilmektedir (11,95).

Bizim çalışmamızda da Amlodipin verilen grupta malondialdehit değerlerinde kontrol grubuna göre anlamlı bir düşme saptandı (**p<0,05**). Malondialdehit değerlerindeki bu düşüş, Amlodipin'in antioksidan etkisi ile hücre membranını koruyup lipit oksidasyonunu önlediğini göstermiştir.

Çalışmamızda nötrofil birikiminin bir göstergesi olan miyeloperoksidaz (MPO) açısından da biyokimyasal değerlendirme yapıldı. Bu sonuçlara göre kontrol grubunda (İ/R) nötrofil birikimine bağlı olarak MPO düzeyleri diğer gruplara göre anlamlı bir şekilde yüksek bulundu (**p<0,05**). Sham grubu ve tedavi grubu (İ/R+Amlodipin) arasında ise MPO düzeyleri açısından anlamlı fark bulunmadı (**p=0,208**).

Bu sonuçlar bize Amlodipin'in nötrofil ve miyeloperoksidaz (MPO) seviyelerini paralel şekilde azaltarak; yani hem nötrofil birikimini hem de nötrofil fonksiyonunu azaltarak flep yaşamını artırdığını göstermektedir.

Çalışmamızdaki bu sonuçlara paralel olarak Güngör ve arkadaşları da yapmış oldukları çalışmada, bilinen antioksidan, antiinflamatuvar ve antiagregan etkileri olan Resveratrol'ün nötrofil birikimini önleyerek rat inferior epigastrik arter cilt ada flebinde yaşam oranını arttırdığını göstermişlerdir. Bu çalışmada da bizim çalışmamıza benzer şekilde sham gurunda (iskemi uygulanmayan) yaşayan flep oranı % 100±0,00 iken, İ/R+Resveratrol uygulanan grupta flep yaşam oranları % 99,25±1,96 olarak bulunmuştur. Bizim çalışmamızda ise İ/R+Amlodipin uygulanan grupta flep yaşam oranı % 81±13,14 olarak bulundu (96).

Vries ve arkadaşları yayınlamış da oldukları bir çalışmada iskemi-reperfüzyon hasarının önemli bir özelliğinin nötrofil göçü olduğunu bildirmişlerdir (97).

Sıçan perforatör flep modelinde antitrombotik etkili Fondaparinux'un iskemi-reperfüzyon hasarı ve flep yaşayabilirliğine etkisinin araştırıldığı bir çalışmada iskemi+ilaç (Fondaparinux) uygulanan grupta ortalama flep canlılık oranları %91,1 ± 9,9 olarak sonuçlanmış iken, bizim çalışmamızda iskemi+Amlodipin uygulanan grupta bu oran % 81±13,14 olarak bulundu. Bu çalışmada biyokimyasal parametreler olarak bizim çalışmamızda olduğu gibi MDA ve MPO çalışılmıştır fakat sonuçları itibariyle çalışmamızdan farklılık arz etmektedir. Bu çalışmadaki üç grup karşılaştırıldığında MDA ve MPO değerleri arasında anlamlı fark bulunmamıştır (98).

Gürlek ve arkadaşlarının, benzer flep modeli kullanarak yaptıkları çalışmada, Melatonin kullanılarak iskemi reperfüzyon hasarına karşı serbest radikallerden koruyucu etki ile flep canlılığı arttırılmıştır (antioksidan etki). Yine bu çalışmada Melatonin kullanılan grupta artan flep canlılığının yanında MDA ve MPO düzeylerindeki düşüş ile bizim çalışmamıza benzer sonuçlar elde edilmiştir (99).

Sıçanlarda Melatonin ve Amlodipin'in antioksidan etkileriyle, serebral iskemi reperfüzyon kaynaklı oksidatif beyin hasarına karşı koruyucu etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada da bu tedavilerin uygulandığı gruplarda MDA ve MPO seviyeleri azalmıştır. Bu biyokimyasal parametreler açısından çalışmamız ile uyumlu sonuçlar elde edilmiştir (100).

Bir başka çalışmada da rat overindeki iskemi reperfüzyon deneysel modelinde Amlodipin'in indüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz'ı azalttığı ve Süperoksit Dismutaz seviyelerini ise arttırarak, biyokimyasal olarak iskemi reperfüzyon hasarından koruyucu etkinliği gösterilmiştir (8).

Tavşan ileumunda uygulanan iskemi reperfüzyon modelinde de Amlodipin'in etkileri araştırılmış ve Amlodipin uygulanan grupta serum MDA düzeylerinin önemli ölçüde azaldığı, antioksidan etkileri olan Süperoksit Dismutaz ve GSH (Glutasyon) seviyelerinin ise artarak iskemi reperfüzyon hasarından koruyucu etkileri gösterilmiştir (101).

Kalsiyum kanal blokerlerinin ve antitrombositer etkili ilaçların, vazokonstrüksiyonu önleyerek kan akımını düzenledikleri yapılan deneysel hayvan modellerinde gösterilmiştir. Bu çalışmalara bir örnek olarak, fare ve tavşanlarda oluşturulan deneysel modellerde deri fleplerinde doku kaybının önlenmesi için nifedipin, nimodipin, nitrendipin ve diltiazemin topikal veya sistemik uygulamaları yapılmış ve doku kaybı oluşumunda azalma olduğu tespit edilmiştir (102). Yapılan bir başka çalışmada ise nikotinin fare derisinde oluşturmuş olduğu etkileri verapamil ve nifedipinin azalttığı ve flep sağ kalımına istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde katkı sağladığı gösterilmiştir. Bu durum kalsiyum kanal blokerlerinin flep ameliyatı gerektiren aktif sigara içicilerinde ameliyatlardaki komplikasyon riskini azaltabileceğini düşündürmektedir (103). Yaptığımız bu çalışmada kullandığımız Amlodipin de bir kalsiyum kanal blokeri olup hem antioksidan etkisi hem de vazokonstrüksiyonu önleyici etkisi ile, bu alanda yapılan çalışmalara katkı sağlayacaktır.

Amlodipin'in diğer kalsiyum kanal blokerlerine göre en spesifik avantajı yavaş etkili ve uzun aktivite süresine sahip olmasıdır. Uzun yarı ömrü nedeniyle kronik kullanımda plazma seviyesi yükselir (67). Oral biyoyararlanımı diğer dihidropiridinlere göre yüksektir. İlk geçiste eliminasyona, diğer DHP türevlerine göre daha az uğrar. Plazma proteinlerine yüksek oranda bağlanır (55).

Çalışmamızda Amlodipin'in oksidatif stres parametrelerine etkisi literatürle uyumlu bulundu. Amlodipin'in cilt fleplerinde iskemi-reperfüzyon hasarını önlemede etkili olabileceği sonucuna varıldı. Ancak Amlodipin'in iskemi-reperfüzyon sonrası doku hasarını azaltma ve flep canlılığını arttırmada altta yatan tüm mekanizmaları aydınlatmak için ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Ayrıca uygun şartlar sağlandığında, yaptığımız çalışmanın immünohistokimyasal yöntemler kullanılarak da desteklenmesi, bu alanda yapılan çalışmalara katkıda bulunacaktır.



6.SONUÇ

Bu çalışmada antioksidan etkinliği olduğu bilinen Amlodipin'in cilt fleplerinde oluşan iskemi reperfüzyon hasarına karşı etkinliği makroskobik, mikroskobik ve biyokimyasal olarak araştırıldı. Bu çalışmada elde edilen bulgular aşağıda sıralanmıştır:

1-Sıçan inferior epigastrik arter cilt ada flebinde uygulanan iskemi reperfüzyon modelinde Amlodipin, yaşayan flep oranlarını istatistiksel olarak anlamlı bir biçimde arttırmaktadır.

2-Amlodipin, sıçan inferior epigastrik arter cilt ada flebinde uygulanan iskemi reperfüzyon modelinde oksidatif stres ve lipit peroksidasyonunun göstergesi olan Malondialdehit(MDA) seviyelerini düşürmektedir.

3-Amlodipin, sıçan inferior epigastrik arter cilt ada flebinde uygulanan iskemi reperfüzyon modelinde nötrofil akümülyasyonunu gösteren Miyeloperoksidaz(MPO) seviyelerini düşürmektedir.

4- Amlodipin, sıçan inferior epigastrik arter cilt ada flebinde uygulanan iskemi reperfüzyon modelindeki 12 saatlik reperfüzyon sonrası alınan örneklerde nötrofil infiltrasyonunu baskılamaktadır.

5.Sıçan inferior epigastrik arter cilt ada flebinde uygulanan iskemi reperfüzyon modelinde Amlodipin'in , iskemi reperfüzyon hasarına bağlı damar çapları üzerine belirgin bir etkisi yoktur.

Bu bulgular sonucunda, başka amaçlarla klinik uygulamalarda yeri olan Amlodipin'in cilt fleplerinde iskemi-reperfüzyon hasarını önlemede etkili olabileceği sonucuna varıldı.

7.KAYNAKLAR

- 1.**Gottlieb LJ,Krieger LM. From the reconstructive ladder to reconstructive elevator.Plast Reconstr Surg 93: 1503-1504 ,1994
- 2.**Place MJ, Herber SC, Haerdesty RA: Basic techniques and principles in plasticsurgery. In: Thorne CH, Beasley RW, Aston SJ, Bartlett SP, Gurtner GC, Spear SL, eds. Grabb _ Smith's Plastic Surgery. Lippincott-Raven Publishers; Philadelphia:1997; 13-25.
- 3.** Ames A 3rd, Wright RL, Kowada M, et al. Cerebral ischemia. II. The no-reflow phenomenon. Am J Pathol. 1968 Feb;52(2):437-53.
- 4.** Mason RP. Mechanisms of plaque stabilization for the dihydropyridine calcium channel blocker amlodipine: review of the evidence. Atherosclerosis, 2002, 165: 191-199.
- 5.** Lucchesi BR, Hoff PT, Tamura Y. Cardioprotective effects of amlodipine in animal models of ischemia and reperfusion. Journal of cardiovascular pharmacology, 1991, 17 Suppl 1: S34-39.
- 6.** Yamagata K, Ichinose S, Tagami M. Amlodipine and carvedilol prevent cytotoxicity in cortical neurons isolated from stroke-prone spontaneously hypertensive rats. Hypertension research: official journal of the Japanese Society of Hypertension, 2004, 27: 271-282.
- 7.** Pronobesh C,Dagagi A,Pallab C,Kumar W. Protective role of the calcium channel blocker amlodipine against mitochondrial injury in ischemia and reperfusion injury of rat liver. Acta Pharm, 2008;58: 421-28.
- 8.** Halici Z, Karaca M, Keles ON, Borekci B, Odabasoglu F, Suleyman H, Cadirci E, Bayir Y, Unal B. Protective effects of amlodipine on ischemia-reperfusion injury of rat ovary: biochemical and histopathologic evaluation. Fertility and Sterility, 2008, 90: 2408-2415.
- 9.** Vedder NB. Flap physiology. In: Mathes SJ, editor. Plastic Surgery, 2nd ed. Philadelphia: Saunders Elsevier Inc, 2006: Vol1, 483-506.
- 10.** Daniel RK, Kerrigan CL. Principles and physiology of skin flap surgery. In: Mc Carthy JG, ed. Plastic Surgery. Philadelphia: WB Saunders, 1990:275-328.

- 11.** Taylor GI, Palmer JH. The vascular territories (angiosomes) of the body: experimental study and clinical applications. *Br J Plast Surg* 40: 113-141, 1987.
- 12.** Taylor GI, Corlett RJ, Dhar SC, Ashton MW. The anatomical (angiosome) and clinical territories of cutaneous perforating arteries: development of the concept and designing safe flaps. *Plast Reconstr Surg*;127(4):1447-59, 2011.
- 13.** Banbury J, Siemionow M, Porvasnik S, Petras S, Zins JE. Muscle flaps' triphasic microcirculatory response to sympathectomy and denervation. *Plast Reconstr Surg*, 104(3):730-7, 1999.
- 14.** Kerrigan C.L., Daniel R.K.: Monitoring acute skin-flap failure. *Plast Reconstr Surg*, 1983,71:519-524.
- 15.** Kerrigan C.L., Daniel R.K.: Skin flap research: A candid view. *Ann Plast Surg*, 1984,13:383- 387.
- 16.** Saint-Cyr M, Schaverien MV, Rohrich RJ. Perforator flaps: history, controversies, physiology, anatomy, and use in reconstruction. *Plast Reconstr Surg*. 2009;123:132-145.
- 17.** Bhishagratna KK: An English Translation of the Sushruta Samhita Based on Original Sanskrit Text. Calcutta, Bose, 1916.
- 18.** Nakajima H, Fujino T, Adachi S. A new concept of vascular supply to the skin and classification of skin flaps according to their vascularization. *Ann Plast Surg* 1986; 16: 1–19.
- 19.** Mathes SJ, Nahai F. *Reconstructive Surgery: General principles. Reconstructive Surgery: Principles, Anatomy & Technique*. New York: Churchill Livingstone, 1997:253.
- 20.** Mathes SJ, Nahai F. Classification of the vascular anatomy of muscles: experimental and clinical correlation. *Plast Reconstr Surg*. 1981;67(2):177-187.
- 21.** McGregor IA, Morgan G. Axial and random pattern flaps. *Br J Plast Surg* 1973; 26: 202–13

- 22.** van den Heuvel MGW, Buurman WA, Bast A, van der Hulst RRWJ, R.R. Review: Ischaemia-reperfusion injury in flap surgery. *Journal of Plastic, Reconstructive & Aesthetic Surgery*. 2009; 62: 721–726.
- 23.** Hjortdal VE, Sinclair T, Kerrigan CL, Solymoss S. Arterial ischemia in skin flaps: microcirculatory intravascular thrombosis. *Plast Reconstr Surg*. 93(2): 375-85, 1994.
- 24.** Hjortdal V.E., Sinclair T., Kerrigan C.L.: Venous ischemia in skin flaps: Microcirculatory intravascular thrombosis. *Plast Reconstr Surg*, 93: 366-374, 1994.
- 25.** Gillani S, Cao J, Suzuki T, Hak DJ. The effect of ischemia reperfusion injury on skeletal muscle. *Injury*. 2012;43(6):670-5.
- 26.** Blaisdell F.W.: The pathophysiology of skeletal muscle ischemia and the reperfusion syndrome:a review. *Cardiovasc Surg*, Dec;10 (6): 620-30, 2002
- 27.** Kusza K, Siemienow M. Is the knowledge on tissue microcirculation important for microsurgeon? *Microsurg* 2011; 31: 572-579.
- 28.** Manson PN, Anthenelli RM, Im MJ, Bulkley GB, Hoopes JE: The Role of oxygenfree radicals in ischemic tissue injury in island skin flaps. *Ann Surg* 1983; 198: 87-90.
- 29.** Green, C. J., Gower, J. D., Healing, G., Cotterill, L. A., Fuller, B. J., & Simpkin, S. The importance of iron, calcium and free radicals in reperfusion injury: an overview of studies in ischaemic rabbit kidneys. *Free Radical Research*. 1989; 7(3-6), 255-264.
- 30.** Sanada S, Komuro I, Kitakaze M. Pathophysiology of myocardial reperfusion injury: preconditioning, postconditioning, and translational aspects of protective measures. *American journal of physiology-heart and circulatory physiology*. 2011;301(5):H1723-H41.
- 31.** Widgerow AD. Ischemia-reperfusion injury: influencing the microcirculatory and cellular environment. *Annals of plastic surgery*. 2014;72(2):253-60.

- 32.** May JW, Chait LA, O'Brien JV, Hurley JV: The no-reflow phenomenon in experimental free flaps. *Plast Reconstr Surg* 1978; 61: 256-267.
- 33.** Nathanson SE, Jackson RT: Blood flow measurements in skin flaps. *Arch Otolaryngol* 1975; 101: 354-357.
- 34.** Calhoun KH., Tan L., Seikaly H.: An integrated theory of the no-reflow phenomenon and the beneficial effect of vascular washout on no-reflow. *Laryngoscope*, Apr; 109 (4): 528-35, 1999.
- 35.** Tosa Y, Lee W, Kollias N, Randolph MA, May JJ. Monoclonal antibody to intercellular adhesion molecule 1 protects skin flaps against ischemia-reperfusion injury: an experimental study in rats. *Plastic and reconstructive surgery*. 1998;101(6):1586-94; discussion 95-6.
- 36.** Carroll WR, Esclamado RM. Ischemia/reperfusion injury in microvascular surgery. *Head Neck*. 2000 Oct;22(7):700-13. Review.
- 37.** Zhao L, Wang Y, Qin S, Sun X, Wang M, Zhong R. Protective effect of hydrogen rich saline on ischemia-reperfusion injury in rat skin flap. *Journal of Zhejiang University*; 2013 14(5): 382-391
- 38.** Lewis MS, Whatley RE, Cain P, McIntyre TM, Prescott SM, Zimmerman GA. Hydrogen peroxide stimulates the synthesis of platelet-activating factor by endothelium and induces endothelial cell-dependent neutrophil adhesion. *The Journal of clinical investigation*. 1988;82(6):2045-55.
- 39.** Otamiri T. Oxygen radicals, lipid peroxidation, and neutrophil infiltration after small-intestinal ischemia and reperfusion. *Surgery*. 1989;105(5):593-7.
- 40.** Özkaya MO. Ratlarda intestinal iskemi reperfüzyon hasarına levosimendan'ın etkileri: Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi; 2010.
- 41.** Niki E. Antioxidants in relation to lipid peroxidation. *Chemistry and physics of lipids*, 1987, 44: 227-253.

- 42.** Porter NA. Chemistry of lipid peroxidation. *Methods Enzymol*, 1984, 105: 273- 282.
- 43.** Marnett LJ. Lipit peroxidation-DNA damage by malondialdehyde. *Mutat Res*. 1999 Mar 8;424(1-2):83-95. Review
- 44.** Frangogiannis NG. Chemokines in ischemia and reperfusion. *Thromb Haemost*. 2007; 97: 738-747.
- 45.** Luo XY, Takahara T, Hou J, Kawai K, Sugiyama T, Tsukada K, Takemoto M, TakeuchiM, Zhong L, Li XK: Theaflavin attenuates ischemia-reperfusion injury in a mouse fatty liver model. *Biochem Biophys Res Commun*. 2012; 417: 287-293.
- 46.** Korthuis RJ., Granger DN. Reactive oxygen metabolites, neutrophils, and the pathogenesis of ischemic-tissue/reperfusion. *Clin Cardiol*. 1993; 16(4 Suppl 1): 119-26
- 47.** Hansch GM, SeitzM, Martinotti G, et al. Macrophages release arachidonic acid, prostaglandin E2,and thromboxane in response to late complement components. *J Immunol* 1984;133:2145–50.
- 48.** Morgan BP. Regulation of the complement membrane attack pathway. *Crit Rev Immunol* 1999;19: 173–98.
- 49.** Kumar V, Abbas AK, Fausto N, Aster JC. Robbins and Cotran pathologic basis of disease, professional edition e-book: elsevier health sciences; 2014.
- 50.** García-Villalón AL., Amezquita YM., Monge L., Fernández N., Salcedo A., Diéguez G. Endothelin-1 potentiation of coronary artery contraction after ischemia-reperfusion. *Vascul Pharmacol*. 2008; 48: 109-114
- 51.** Spedding M, Paolett R. Classification of calcium channels and the sites of action drugs modifying channel function. *Pharmacological Reviews* 1992: 44 (3); 363-373.
- 52.** Kesim Yüksel, Dökmeci İ. (editor). Kalsiyum Metabolizması Hormonal Kontrolü içinde. *Farmakoloji Temel kavramlar* Izmir: Saray Kitabevleri, 1996: 2. Cilt: 665-674.

- 53.** Arthur C.Guyton, John E. Hall Text Book of Medical Physiology. Çeviri: Çavuşoğlu H. Tıbbi Fizyoloji. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri Ltd Şti., 2001: 899-916
- 54.** Kayaalp O (yazar). Kalp damar sistemi ilaçları. Kayaalp O (editör). Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji Ankara: Hacettepe Taş Yayınevleri, 2002: 429-464
- 55.** Oğuz Kayaalp. Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji, Kalsiyum Kanal Blokorleri, 12. baskı, Pelikan Yayıncılık, Ankara, 391-394.
- 56.** Fleckenstein A. Specific pharmacology of calcium in myocardium, cardiac pacemakers and vascular smooth muscle. 1977: 149.
- 57.** Gielow ML, Gu GG, Singh S. Resolution and pharmacological analysis of the voltage-dependent calcium channels of Drosophila larval muscles. The Journal of neuroscience: the official journal of the society for Neuroscience, 1995, 15: 6085- 6093.
- 58.** Nishio M, Tsukahara H, Hiraoka M, Sudo M, Kigoshi S, Muramatsu I. Calcium channel current in cultured rat mesangial cells. Molecular Pharmacology, 1993, 43: 96-99.
- 59.** Opie LH. Clinical use of calcium channel antagonist drugs. 2. Baskı. Boston, Kluwer Academic 1990.
- 60.** Binggeli C, Corti R, Sudano I, Luscher TF, Noll G. Effects of chronic calcium channel blockade on sympathetic nerve activity in hypertension. Hypertension, 2002, 39: 892-896.
- 61.** Burges R, Moisey, D. (1994) Unique pharmacologic properties of amlodipine. *Amer J Cardio.* 73:2A-9A.
- 62.** Packer M, O'Connor CM, Ghali JK, Pressler ML, Carson PE, Belkin RN, Miller AB, Neuberg GW, Frid D, Wertheimer JH, Cropp AB, DeMets DL. Effect of amlodipine on morbidity and mortality in severe chronic heart failure. Prospective Randomized Amlodipine Survival Evaluation Study Group. The New England journal of medicine, 1996, 335: 1107-1114.

- 63.** Carter AJ, Gardiner DG, Burges RA. Natriuretic Activity of Amlodipine, Diltiazem, and Nitrendipine in Saline-Loaded Anesthetized Dogs. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*, 1988, 12: S34-S38.
- 64.** Kataoka C, Egashira K, Ishibashi M, Inoue S, Ni W, Hiasa K, Kitamoto S, Usui M, Takeshita A. Novel anti-inflammatory actions of amlodipine in a rat model of arteriosclerosis induced by long-term inhibition of nitric oxide synthesis. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2004; 286(2):768-774.
- 65.** Jukema JW, Van Der Hoorn JW. Amlodipin and atorvastatin in atherosclerosis. *Expert Opin Pharmacother* 2004; 5(2):459-468.
- 66.** Hutchison TA, Shahan DR, eds. DRUGDEX System. MICROMEDEX, Greenwood Village, Colorado. 2003; 115.
- 67.** Fischell TA, Maheshwari A. Current applications for nicardipine in invasive and interventional cardiology. *J Invasive Cardiol* 2004; 16(8):428-432.
- 68.** S Javanmardi, S Azizi, P Mohajeri, M Khordadmehr. The Protective Effect of Orally Administered Amlodipine against Intestinal Ischemia-Reperfusion Injury in Rats. *Iran J Vet Surg* 2018, 2(29) : 18-25.
- 69.** Petry JJ, Wortham KA. The anatomy of the epigastric flap in the experimental rat. *Plast Reconstr Surg*. 1984 Sep;74(3):410-3.
- 70.** Schusterman MA, Kroll SS, Weldon ME. Immediate Breast Reconstruction: Why the Free TRAM Over the Conventional TRAM Flap? *Plastic and Reconstructive Surgery*. 1992;90(2):255-61.
- 71.** Ishimaru M, Ono S, Suzuki S, Matsui H, Fushimi K, Yasunaga H. Risk Factors for Free Flap Failure in 2,846 Patients With Head and Neck Cancer: A National Database Study in Japan. *Journal of oral and maxillofacial surgery: official journal of the American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons*. 2016;74(6):1265-70.
- 72.** Banic A, Greulich M: Late results of breast reconstruction with free TRAM flaps: a prospective multicentric study. *Plast Reconstr Surg* 1995; 95: 1195-1203.

- 73.** Geddes CR, Morris SF, Neligan PC, et al.: Perforator flaps: evolution, classification, and applications. *Ann Plast Surg* 2003; 50: 90-99.
- 74.** Shalom A, Herbert M, Westreich M. Effect of aspirin on random pattern flap survival in rats. *Eur J Plast Surg* 2000; 23: 21–24.
- 75.** Zhang F, Fischer K, Komorowska-Timek E, Guo M, Cui D, Dorsett-Martin W, Buncke HJ, Lineaweaver WC. Improvement of skin paddle survival by application of vascular endothelial growth factor in a rat tram flap model. *Ann Plast Surg* 2001; 46: 314–319.
- 76.** Du, Z., et al., A study of blood flow dynamics in flap delay using the full-field laser perfusion imager. *Microvasc Res*, 2011. 82(3): p. 284-90.
- 77.** Rasmussen It, seljelid r. Novel immunomodulators with pronounced in vivo effects caused by stimulation of cytokine release. *J cell biochem* 1991; 46: 60-68.
- 78.** Moura T, Marques AA, Bernal SO, Gagliocca GD, Gemperli R, Ferreira MC. Study of the Effect of Streptokinase and Allopurinol on Island Skin Flaps Submitted to Prolonged Ischemia – Experimental Study In Rats. *Rev Assoc Med Bras* 2009;55(5): 601–5
- 79.** Angel MF, Narayanan K, Swartz WM, et al. Deferoxamine increases skin flap survival: additional evidence of free radical involvement in ischaemic flap surgery. *Br J Plast Surg*. 1986 Oct;39(4): 469-72.
- 80.** Zaccaria A, Weinzwieg N, et al. Vitamin C reduces ischemiareperfusion injury in rat epigastric island skin flap. *Ann Plast Surg* 1994; 33: 620-623.
- 81.** TENEKECI, Goktekin, et al. The effect of selenium on ischemia-reperfusion injury: an experimental study on a transverse rectus abdominis musculocutaneous flap model. *Journal of Craniofacial Surgery*. 2016, 27. 1: 242-246.
- 82.** Tadolini B, Franconi F. Carvedilol inhibition of lipid peroxidation. A new antioxidative mechanism. *Free Radic. Res*. 1998; 29, 377-387.
- 83.** Rohrich RJ, Cherry GW, Spina M: Enhancement of skin flap survival using nitroglycerin ointment. *Plast Reconstr Surg* 1983; 72: 680-687.

- 84.** Pellegrini N, Miglio C, Del Rio D, Salvatore S, Serafini M, Brighenti F. Effect of domestic cooking methods on the total antioxidant capacity of vegetables. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*. 2009;60(sup2):12-22.
- 85.** Hu S, Dong H, Zhang H, Wang S, Hou L, Chen S, Zhang J, Xiong L. Noninvasive limb remote ischemic preconditioning contributes neuroprotective effects via activation of adenosine A1 receptor and redox status after transient focal cerebral ischemia in rats. *Brain Research*. 2012; 1459: 81–90.
- 86.** Zhou MS, Maimes EA, and Raji L. Inhibition of oxidative stress and improvement of endothelial function by amlodipine in angiotensin II-infused rats. *Am J Hypertens* 2004; 17:167-171
- 87.** Mohler III ER, Facc MD, Sorensen LC, Ghali LK, Schocken DD, Willis PW, Bowers JA, Cropp AB and Pressler ML. Role of cytokines in the mechanism of action of amlodipine: The PRAISE heart failure trial. Prospective Randomized Amlodipine Survival Evaluation. *J Am Coll Cardiol* 1997; 30 (1);35-41
- 88.** B Strauch, D E Murray. Transfer of composite graft with immediate suture anastomosis of its vascular pedicle measuring less than 1 mm. in external diameter using microsurgical techniques. *Plast Reconstr Surg*. 1967 Oct;40(4):325-9.
- 89.** Tosa, Y., Andrew Lee, W. P., Kollias, N., Casanova, R., Randolph, M. A., and May, J. W. Monoclonal antibody to intercellular adhesion molecule-1 protects rat skin flap against ischemia-reperfusion injury. In K. Harii (Ed.), *Plastic Reconstructive and Aesthetic Surgery: Transactions of the 11th Congress of the international Confederation*. Amsterdam: Kugler, 1995.
- 90.** Kuo, Y. R., Jeng S. F., Wang, F. S., Huang, H. C., Wei, F. C., and Yang, K. D. Platelet glycoprotein b/a receptor antagonist (abciximab) inhibited platelet activation and promoted skin flap survival after ischemia/reperfusion injury. *J. Surg. Res*. 2002;107: 50-5.
- 91.** Siemionow M, Arslan E. Ischemia/reperfusion injury: a review in relation to free tissue transfers. *Microsurgery*. 2004;24(6):468-75.
- 92.** Romson JL, Hook BG, Kunkel SL, et al. Reduction of the extent of ischemic myocardial injury by neutrophil depletion in the dog. *Circulation*. 1983 May;67(5):1016-23.

- 93.** Vedder NB, Winn RK, Rice CL, et al. Inhibition of leukocyte adherence by anti-CD18 monoclonal antibody attenuates reperfusion injury in the rabbit ear. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1990 Apr;87(7):2643-6.
- 94.** Cetinkale O, Bilgiç L, Bolayirli M, et al: Involvement of neutrophils in ischemia-reperfusion injury of inguinal island skin flaps in rats. *Plast Reconstr Surg* 1998;102:153-160.
- 95.** Cormack GC, Lamberty BGH: Introduction and the microcirculation. In: *The Arterial Anatomy of Skin Flaps*, Editor: , Churchill Livingstone, 1994, 1-32
- 96.** Güngör M. Deri Fleplerinde İskemi Reperfüzyon Hasarına Resveratrolün Etkinliğinin Değerlendirilmesi, CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ, Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Uzmanlık Tezi, Manisa; 2011.
- 97.** Vries B, Kohl J, Leclercq WK, et al. Complement factor C5a mediates renal ischemia-reperfusion injury independent from neutrophils. *J Immunol* 2003;170(7): 3883-9.
- 98.** Eren Ozcan GG, Agir H, Alagoz MS, Kum T, Trabzonlu L. Effect of fondaparinux on viability and ischemia reperfusion injury in the abdominal perforator flap. *Turk J Plast Surg* 2020;28: 1-8
- 99.** Gurlek A, Celik M, Parlakpınar H, Aydoğan H, Bay-Karabulut A. The protective effect of melatonin on ischemia-reperfusion injury in the groin (inferior epigastric) flap model in rats. *J Pineal Res.* 2006 May;40(4):312-7.
- 100.** H Toklu, M Deniz, M Yüksel, M Keyer-Uysal, G Sener. The protective effect of melatonin and amlodipine against cerebral ischemia/reperfusion-induced oxidative brain injury in rats. *Marmara Medical Journal* 2009;22(1); 034-044.
- 101.** Coskun, A. Kagan, et al. The effects of amlodipine on the biochemical and histopathological changes in the rabbit ileum subjected to ischemia-reperfusion. *Eurasian J Med.* 2011 Apr;43(1):33-8.

102.Kawabata H, Knight KR, Coe SA, Angus JA, O'Brien BM: Experience with calcium antagonists nitrendipine, diltiazem, and verapamil and beta 2-agonist salbutamol in salvaging ischemic skin flaps in rabbits. *Microsurgery* 1991;12: 160-3.

103. Rinker B, Fink BF, Barry NG, Fife JA, Milan ME: The effect of calcium channel blockers on smoking-induced skin flap necrosis. *Plast Reconstr Surg* 2010;125:866-71.

