

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ**

**SIÇAN SIRTINDA OLUŞTURULAN RANDOM PATERNLİ CİLT
FLEP MODELİNDE TADALAFİL' İN FLEP
YAŞAYABİLİRLİĞİ ÜZERİNE OLAN ETKİSİNİN
ARAŞTIRILMASI
(DENEYSEL ÇALIŞMA)**

Dr. Cem ÇERKEZ

**PLASTİK, REKONSTRÜKTİF VE ESTETİK CERRAHİ
ANABİLİM DALI
TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Zeki CAN**

**ANKARA
2012**

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ**

**SIÇAN SIRTINDA OLUŞTURULAN RANDOM PATERNLİ CİLT
FLEP MODELİNDE TADALAFİL' İN FLEP
YAŞAYABİLİRLİĞİ ÜZERİNE OLAN ETKİSİNİN
ARAŞTIRILMASI
(DENEYSEL ÇALIŞMA)**

Dr. Cem ÇERKEZ

**PLASTİK, REKONSTRÜKTİF VE ESTETİK CERRAHİ
ANABİLİM DALI
TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Zeki CAN**

**ANKARA
2012**

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi
Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Anabilim Dalı

Tıpta Uzmanlık eğitimi çerçevesinde yürütülmüş olan ‘**Sıçan sırtında oluşturulan random paternli cilt flep modelinde Tadalafil’in flep yaşayabilirliği üzerine olan etkisinin araştırılması**’ başlıklı, Dr. Cem Çerkez’e ait bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından Tıpta Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 16/10/2012

Prof. Dr. Zeki Can

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi
Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Anabilim/Bilim Dalı
Tez Danışmanı- Jüri Başkanı

Prof. Dr. Mustafa R. Özbek

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi
Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik
Cerrahi Anabilim Dalı
Jüri Üyesi

Prof. Dr. Serdar M. Gültan

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi
Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik
Cerrahi Anabilim Dalı
Jüri Üyesi

ÖNSÖZ

Büyük bir sevgi ve heyecanla başladığım Ankara Üniversitesi Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Anabilim Dalı'ndaki eğitimim esnasında bilgi ve tecrübelerini benden esirgemeyen, tıp etiği ve ahlakları ile her zaman örnek olan sayın hocalarım Prof. Dr. Erdem Yormuk, Prof. Dr. Mustafa Rıza Özbek, Prof. Dr. Kutlu Sevin, Prof. Dr. Serdar Mehmet Gültan, Prof. Dr. Murat Emiroğlu, Prof. Dr. Zeki Can ve Doç. Dr. Savaş Serel'e sonsuz teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Tezin oluşmasında emeği olan Op. Dr. Burak Kaya'ya, Klinik Farmakoloji Anabilim Dalı'ndan Prof. Dr. Hakan Ergün'e, Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı'ndan Prof. Dr. Belgin Can ve Dr. Hilal Göktürk'e, Biyoistatistik Anabilim Dalı'ndan Yrd. Doç. Dr. S. Kenan Köse ile Dr. Beyza Doğanay Erdoğan'a ayrıca teşekkürlerimi sunarım.

Uzmanlık eğitimim süresince beraber çalışmaktan keyif aldığım ve zorluklarla dolu asistanlık eğitimini kolaylaştıran asistan arkadaşlarıma, hemşirelere ve personele teşekkür ederim.

Son olarak hayatımda büyük öneme sahip olan eşime, desteklerini her zaman hissettiren aileme ayrıca teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay	i
Önsöz	ii
İçindekiler	iii
Kısaltmalar Dizini	v
Şekiller Dizini	vi
Tablolar Dizini	viii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1 Flep Fizyolojisi	2
2.2 Sıçan Dorsal Yarımda Flebi	5
2.3 Tadalafil ve Etki Mekanizması	7
3. GEREÇ ve YÖNTEM	8
3.1 Deney Hayvanları	8
3.2 Gereçler	8
3.3 Yöntem	10
3.3.1 Çalışma Grupları	10
3.3.2 Cerrahi Teknik	10
3.4. Değerlendirme Yöntemleri	14
3.4.1 Lazer Doppler Akım Ölçer	14
3.4.2 Flep Nekroz Alanı	15

3.4.3 Histopatolojik Değerlendirme	16
3.4.4 İstatistiksel Değerlendirme	17
4. BULGULAR	18
4.1 Lazer Doppler Akım Ölçer Bulguları	18
4.2 Flep Nekroz Alanı Bulguları	20
4.3 Histopatolojik Bulgular	22
5. TARTIŞMA	34
6. SONUÇLAR	40
ÖZET	41
SUMMARY	42
KAYNAKLAR	43

KISALTMALAR DİZİNİ

FDE5	: Fosfodiesteraz beş
cGMP	: Siklik guanozinmonofosfat
TXA2	: Tromboksan A2
PGF2α	: Prostoglandin F2 alfa
PGE1	: Prostoglandin E1
Prostosiklin	: Prostoglandin I2
FDA	: 'FoodandDrug Administration'
NO	: Nitrik oksit
H-E	: HematoksilenEozin
MA	: Mallory Azan
PMNL	: Polimorfonükleer lökosit
cAMP	: Siklik adenozinmonofosfat
GMP	: Guanozinmonofosfat

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1: Çalışmada kullanılacak olan 3x9 cm boyutlu, kaudal tabanlı, randompaternli sırt yarımada flebi	6
Şekil 3.1: Çalışmada kullanılan preparat; Cialis® (Lily).	9
Şekil 3.2: Siçandorsumunda oluşturulan 3x9 cm'lik flebin planlanması	11
Şekil 3.3: Planlamaya uygun olarak kaldırılan kaudal tabanlı flep	12
Şekil 3.4: Operasyondan hemen sonra 3/0 ipek sütürler ile yerine adapte edilen flebin 1/3 proksimal kısmından lazer Dopplerprobu ile kayıt alınması	12
Şekil 3.5: Operasyon sonrası 7. günde yapılacak ölçümlere referans oluşturması için fotoğraf karesine milimetrik cetvel yerleştirildi.	13
Şekil 3.6: Operasyon sonrası 7. günde flebin boyutları ölçülerek tam ortasından alınması kararlaştırılan 2x1 cm'lik doku örneğinin planlanması (Alınan doku örnekleri kimi deneklerde nekroz alanı içerirken kimi deneklerde içermemekteydi.)	13
Şekil 3.7: Lazer Doppler akım ölçer	14
Şekil 3.8: Çekilen fotoğraflar Universal Desktop Ruler Version 3.6.3481 isimli bilgisayar programı kullanılarak analiz edildi. Tüm flep alanı (ortada) ve nekrotik flep (en altta) alanı ölçüldü.	16
Şekil 4.1: Kontrol grubunda postoperatif 7. günde görülen nekroz alanı	21
Şekil 4.2: Tadalafil grubunda postoperatif 7. günde görülen nekroz alanı	21
Şekil 4.3: Tadalafil ve kontrol gruplarına ait normal deri görünümleri. Ok başı: epitel, ince ok: kıl folikülü, kuyruklu ok: kapiller. A, C: H-E, B, D: MA, Büyütme: x4. Bar: 2 µm A, B: Tadalafil grubuna ait normal deri kesitleri, C, D: Kontrol grubuna ait normal deri kesitleri	24
Şekil 4.4: Kontrol ve tadalafil grubuna ait epitel altı vaskularizasyon görüntüleri. Kuyruklu ok: kapiller, kartanesi: ekstravaze eritrosit, ok başı: epitel. Boya: MA, Büyütme: x40. Bar: 0,5 µm A: Kontrol grubu, B: Tadalafil grubu	26
Şekil 4.5: Kontrol ve tadalafil grubu ekstravaze eritrosit görüntüleri. Kuyruklu ok: kapiller, kalem: fibroblast hücreleri, kar tanesi:ekstravaze eritrosit, E: epidermis, 1:stratum(st) bazale, 2: st.spinozum, 3:st. granulozum, 4: st.corneum.Boya: H-E, Büyütme: x40. Bar: 0,5 µm. A: Kontrol grubu, B: Tadalafil grubu	27
Şekil 4.6: Kontrol grubuna ait normal alan-granülasyon dokusu geçiş bölgesi. Kıvrımlı ok: geçiş bölgesi, ok başı: epitel, kalın ok: epitel kaybı, şimşek: reepitelizasyon alanı, yıldız:hyalinozis, rd: retiküler dermiş, pd: papiller dermiş. Büyütme: x10. Boya: H-E, Bar: 1 µm	28

- Şekil 4.7:** Tadalafil grubuna ait normal alan-granülasyon dokusu geçiş bölgesi. Kıvrımlı ok: geçiş bölgesi, ince ok:kılfolikülü, ok başı:epitel, kalın ok: epitel kaybı, kuyruklu ok: kapiller, yıldız: hyalinozis, rd: retiküler dermiş, pd: papiller dermiş. Büyütme: x10. Bar: 1 µm. **A:**Tadalafil grubu geçiş bölgesi H-E boyaması, **B:**Tadalafil grubu geçiş bölgesi MA boyaması 29
- Şekil 4.8:** Kontrol ve tadalafil gruplarında granülasyon dokusunun daha büyük büyütmede görüntüsü. Yıldız: hyalinozis, şimşek: reepitelizasyon, kalp: artmış hücre yoğunluğu, kuyruklu ok: kapiller, hilal: PMNL-lenfosit artışı. Boya: H-E. Büyütme: x40. Bar: 0,5 µm **A:** Kontrol grubu, **B:**Tadalafil grubu 30
- Şekil 4.9:** Kontrol ve tadalafil gruplarına ait iyileşme bölgeleri. Kalp: artmış hücre yoğunluğu, yıldız: hyalinozis, kuyruklu ok: kapiller, ok başı: epitel, ince ok: kıl folikülü, pd: papillerdermis, rd: retikülerdermis, E: epidermis, 1: st.bazale, 2: st.spinozum, 3: st.granulozum, 4: st.corneum. Boya: H-E. **A:** Kontrol grubu. Büyütme: x40. Bar: 0,5 µm, **B:**Tadalafil grubu. Büyütme: x10. Bar: 1 µm 31
- Şekil 4.10:** Tadalafil grubuna artmış PMNL-lenfosit ve fibroblast benzeri hücrelerin yakından görünümü. Boya: H-E. **A:** Kar tanesi: ekstravaze eritrosit, L: lenfosit, n: nötrofil, m: monosit, p:plazmosit Büyütme: x100. Bar: 0,5 µm, **B:** Kalp: artmış hücre yoğunluğu, kalem: fibroblast benzeri hücreler. Büyütme: x40. Bar: 0,5 µm 32

TABLolar DİZİNİ

Tablo 3.1: Deney Grupları	10
Tablo 3.2: Histolojik değerlendirmeler yapılırken kullanılan skorlama sistemi	17
Tablo 4.1: Lazer Doppler ile elde edilen minimum kan akımı ölçümleri (ss:standart sapma, min: minimum, maks:maksimum, p:istatistiksel anlamlılık) P değerleri Wilcoxon testi ile hesaplandı.	19
Tablo 4.2: Lazer Doppler ile elde edilen ortalama kan akımı ölçümleri (ss:standart sapma, min: minimum, maks:maksimum, p:istatistiksel anlamlılık) P değerleri Wilcoxon testi ile hesaplandı.	19
Tablo 4.3: Lazer Doppler ile elde edilen maksimum kan akımı ölçümleri (ss:standart sapma, min: minimum, maks:maksimum, p:istatistiksel anlamlılık) P değerleri Wilcoxon testi ile hesaplandı.	20
Tablo 4.4: Lazer Doppler ile elde edilen ölçümlerin ilk hafta ile ikinci hafta yüzde değişimlerinin kontrol ve tadalafil grupları arasında karşılaştırılması. (Yüzde değişim= ((son ölçüm-ilkölçüm)/ilk ölçüm)*100) (ss:standart sapma, min: minimum, maks:maksimum, p:istatikselanlamlılık) P değerleri Wilcoxon testi ile hesaplandı.	20
Tablo 4.5: Flep değerlendirme parametrelerinin tadalafil ve kontrol grupları arasında Karşılaştırılması (ss:standart sapma, min: minimum, maks:maksimum, p:istatistiksel anlamlılık) P değerleri Mann Whitney U testi ile hesaplandı.	22
Tablo 4.6: Kontrol grubunda PMNL infiltrasyonu, papiller ve retikülerdermiste ödem, ekstravaze eritrosit ve kollajenlerde ödem parametrelerinin skorlanması	23
Tablo 4.7: Deney grubunda PMNL infiltrasyonu, papiller ve retikülerdermiste ödem, ekstravaze eritrosit ve kollajenlerde ödem parametrelerinin skorlanması	23
Tablo 4.8: Kontrol grubundan alınan kesitlerden yapılan damar sayım sonuçlarının ortalama değerleri	25
Tablo 4.9: Deney grubundan alınan kesitlerden yapılan damar sayım sonuçlarının ortalama değerleri	25
Tablo 4.10: Histolojik değerlendirme parametrelerinin tadalafil ve kontrol grupları arasında karşılaştırılması (ss:standart sapma, min: minimum, maks:maksimum, p:istatistiksel anlamlılık) P değerleri Mann Whitney U testi ile hesaplandı.	33

1. GİRİŞ

Plastik, rekonstrüktif ve estetik cerrahinin ana ilkelerinin başında insan vücudunun bütünlüğünün korunarak, form ve fonksiyonun sağlanması gelmektedir. Bu bağlamda flepler plastik, rekonstrüktif ve estetik cerrahide sıkça tercih edilen girişimlerdir. Kan dolaşımı bozulmadan vücudun başka alanlarına aktarılan dokulara flep ismi verilir. Flep cerrahisindeki gelişmelere rağmen, flep nekrozu halen büyük bir sorun olarak karşımıza çıkmaya devam etmektedir. Flep kaldırıldıktan sonra ortamda metabolit düzeyi artmakta, damarlarda vazokonstriksiyon oluşmaktadır. Bu nedenle flep cerrahisindeki kurallara uyulmadığı takdirde nekroz kaçınılmaz olmaktadır. Flep perfüzyonunun sağlıklı olabilmesi için uzunluk ile genişlik arası oran belli düzeylerde olmalıdır. Flebin boyu artırılmak istenirse geciktirme işlemi uygulanarak yada farmakolojik ajanlar verilerek flep yaşayabilirliği artırılmaya çalışılmalıdır. Aksi takdirde flepte beslenme sorunu gelişebilir. Flep cerrahisinde başarısızlığın en önemli nedeni kan akımının yetersizliğidir. Fleplerin anjiyozom yapılarının anlaşılması ile birlikte çalışmalar flep yaşayabilirliğini artıracak yöntemleri bulmaya yönelmiştir.

Tadalafil, fosfodiesteraz beş (FDE5) inhibisyonu yaparak siklik guanozin monofosfat (cGMP) düzeyinde artış sağlamaktadır. Bu durum trombosit agregasyonunda inhibisyona ve damarlarda vazodilatasyona sebebiyet vermektedir. Ortaya çıkan bu sonuçların, flep cerrahisi üzerine olumlu etkileri olduğu önceki çalışmalardan bilinmektedir.

Bu çalışmada, sıçan sırtında oluşturulan random paternli cilt flep modelinde tadalafilin flep yaşayabilirliğine olan etkisinin incelenmesi amaçlanmıştır. Yapılan bu çalışma, ileride flep cerrahisi geçirecek olan hastalarda olası flep beslenme bozukluklarına karşı tadalafilin kullanılabilirliği için ön çalışma niteliği taşımaktadır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1.Flep Fizyolojisi

Plastik, rekonstrüktif ve estetik cerrahinin temelini oluşturan flep cerrahisinde başarılı sonuç elde etmek için anatomik temel hakimiyetinde yapılan planlamanın önemi büyüktür. Düzgün bir planlama yapabilmek içinde kan akımının bilinmesi esastır.

Flep cerrahisinde makrodolaşım ve mikrodolaşım olmak üzere iki dolaşım sistemi mevcuttur. Bu dolaşım yolları intrensek ve ekstrensek faktörlere bağlıdır. Makrodolaşım flep planlaması ve tanımında kullanılır. Flebin ana arter ve venlerinden köken alan arteriol, kapiller, venül ve arteriyovenöz anastomozlar ise mikrodolaşım seviyesinde dokulara oksijen ve besin sağlayan, dokulardan ise karbondioksit ve diğer atık ürünleri uzaklaştıran yapılardır. Mikrodolaşım sistemi flebin makrodolaşımı sayesinde oluşur. Ancak kanlanmanın büyük kısmında mikrodolaşım seviyesinde olmaktadır (1). Bir kaynak arterin beslediği alan anjiozom olarak adlandırılmaktadır. Bu alan içerisinde ise fleplere kan desteği sağlayan üç boyutlu damar ağı olduğu Taylor ve Palmer'in 1987 yılında yaptıkları çalışma ile ortaya konulmuştur. Taylor vücudu bir arterden kaynaklanan ve kendileri de alt gruplara ayrılabilen kırk adet bölgeye ayırmıştır (2).

Kutanöz kan akımı regülasyonu sistemik ve lokal olmak üzere iki seviyede olmaktadır. Sistemik kontrol nöral ve humoral regülasyonun kontrolü altındadır. Bunlardan nöral regülasyon daha baskındır ve primer olarak sempatik lifler ile α -adrenerjik reseptörler üzerinden vazokonstriksiyon yaparak; β adrenerjik reseptörler üzerinden vazodilatasyon yaparak etki ederler. Ek olarak serotonerjik reseptörler arteriyovenöz anastomozlar üzerinde bulunurlar ve vazokonstriksiyon yaparlar. Bu mekanizma sayesinde, arteriyol ve arteriyovenöz anastomozlarda bulunan düz kasların tonusunu regüle etmeye çalışırlar (1).

Humoral regülasyonda sistemik vazoaktif maddeler spesifik reseptörleri üzerinden etkilidirler. En önemlilerinden epinefrin ve norepinefrin α -adrenerjik reseptörler üzerine etki ederek vazokonstriksiyon yaparlar. Diğer önemli

vazokonstrüktörler serotonin, tromboksan A₂ (TXA₂), prostoglandin F₂ alfa(PGF₂α) iken; vazodilatatörler prostoglandin E₁ (PGE₁), prostoglandin I₂ (prostosiklin), histamin, bradikinin, lökotrien C₄ ve D₄'tür.

Kan akımının lokal kontrolü, başka deyişle otheregölasyonu, vücudun pek çok bölgesinde kontrol mekanizmasıdır. Özellikle metabolik hızın yüksek olduğu kas iskelet sistemi bu şekilde idare olunur. Hiperkapni, hipoksi, asidoz gibi metabolik faktörler vazodilatasyon nedenidirler. Ek olarak fiziksel faktörlerin pekçoğu da kan akımı regölasyonunda etkilidir. Artmış doku perfüzyon basıncı myojenik refleksi tetikler. Buda vazokonstrüksiyon ile sonuçlanır. Lokal hipotermi lokal kan akımını azaltarak direkt vasküler düz kaslara vazokonstrüktör etkide bulunur. Buna zıt olarak hipertermide ise vazodilatasyon ile karşılaşılır (1).

Normal olmayandırurumlarda ise reolojik faktörler de kan akımına etki eder. Derin anemi reolojik faktörleri ve flep kan akımını artırır. Bazı çalışmalarda bu durumun distal flep canlılığını artırdığı gösterilmiştir (3). Ancak bazı çalışmalarda bu etkinin minimal olduğu yada hiç olmadığı, muhtemel azalmış oksijen sunumuna bağlı olarak azalmış reolojik faktörlerin etkisiyle oluştuğunu ortaya koymuştur (4). Polisitemi veya orak hücreli anemi de olduğu gibi anormal düzeyde artmış reolojik faktörler flebin uç noktalarında olmak üzere perfüzyonu ve canlılığını ciddi boyutta etkileyebilmektedir. Marjinal perfüzyon durumlarında reolojik faktörler önemli rol oynayabilirler (5).

Endotel de kan akımı üzerine salgıladığı vazoaktif maddeler ile etki eder. Ayrıca dolaşımdaki lökositler ve trombositler üzerinde de etkilidir. Bu ikinci etki yaralanmaya bağlı olarak oluşur ve flep dolaşımında da önemli fizyolojik rol oynamaktadır (5).

Flep kaldırma işlemi kan akımının dengesini bozmaktadır. Hızlı bir şekilde sempatik innervasyon kaybolmakta buda spontan olarak vazokonstrüktör nörotransmitterlerin salınmasına neden olmaktadır (6). Flebe katılan damarlarının kesilmesi ile flebin periferal kısımları akut iskemiye gider. İlk 24 saatte periferal alandaki mikrodolaşımda oluşan değişiklikler, flebin daha sonraki dönemde ne kadarının yaşayacağını gösterir. Banbury ve arkadaşları kremaster kas flebinin periferik mikrodolaşımında trifazik, dinamik bir cevap tanımlamışlardır (7). İlk olarak hiperadrenerjik faz, sonra nonadrenerjik faz yaşanır. Bu dönemde

vazodilatasyon olur. Devamında sentisize döneme girilir. Bu dönemde ise artmışkapiller perfüzyon ve vazoaktif maddelere karşı aşırı cevap gelişir (1).

Flep elevasyonu sonrası flep yaşamını belirleyen faktörler elevasyonla birlikte meydana gelen hemodinamik, anatomik, metabolik değişimlerdir. Hemodinamik değişimler özellikle önemlidir. Palmer, Nathanson, Kerrigan başta olmak üzere araştırmacılar işaretlenmiş mikrosferler ile fleplerin kan akımlarının incelendiği araştırmalar yapmışlardır (8-11). Bu çalışmalarda flebin pedikül kısmında kan akımının devam ettiği ancak ilk 6-12 saat içerisinde flebin uç kısmındaki kan akımının normalin %20'sine kadar düştüğü sonucuna varmışlardır. Kan akımının ilk 1-2 haftada normalin %75'ine, 3-4 hafta içerisinde de %100'üne kadar yükseldiğini göstermişlerdir.

Flebin iskemik kısmına pedikülden longitudinal olarak akım sağlanmakta, inoskülasyon ve neovaskülarizasyon yoluyla flep yatağından ek akım elde edilmektedir (1).

Sonuç olarak flep elevasyonu sırasında besleyici damarlar ve sempatik sinirler kesilir. İlk 12 -18 saati kapsayan dönemde damarların kesilmesi, sempatik vazokonstrüktörlerin salınımı ve lökositler tarafından oluşturulan ilerleyici endotel hasarı neticesinde perfüzyon basıncı düşer flebe giden kan akımı belirgin olarak azalır. Bu tablo flebin distal kısmında daha belirgin olarak yaşanır. Distal kısmın yaşayabilmesi için ilk 6-12 saatlik dilimde yeterli kan akımı sağlanmalıdır. Aksi takdirde bu doku için nekroz kaçınılmaz olur. Sempatik nörotransmitterler 12-24 saatlik zaman dilimi içerisinde tükenir ve 2-3 gün içerisinde flep yatağından gelişen inoskülasyon ile dolaşım aşamalı olarak düzelmeye başlar (1).

Unutulmamalıdır ki; uygunsuz flep dizaynı, iskemi-reperfüzyon hasarı, mikrodolaşımı olumsuz etkileyen sistemik durumlar (hipotansiyon, sepsis, sigara kullanımı, vazokonstrüktör ilaçlar) ve flebin basıya maruziyeti (uygunsuz pozisyon, hematoma, pedikülde katlanma) flep kaybına sebebiyet veren önemli faktörlerdendir. Elevasyon sonrasında dolaşımı bozulan flebin canlılığını sağlayabilmek için yukarıda sayılan durumlara ayrıca önem gösterilmelidir.

2.2.Sıçan Dorsal Yarımada Flebi

Sıçan, düşük maliyetle birçok araştırma yapılabilmesinden dolayı deri anatomisi insana göre farklı olmasına rağmen, araştırmalarda en çok tercih edilen deney hayvanıdır. Ancak avantajı yanında ciddi dezavantajı ise ‘otokanibalizasyon’ olayıdır. ‘Otokanibalizasyon’ sıçanın kendisi tarafından yenilerek zarar görmesine verilen isimdir. Bu nedenle ‘otokanibalizasyonu’ engellemek için sırt bölgesinden eleve edilen flep modelleri tercih edilmektedir (12).

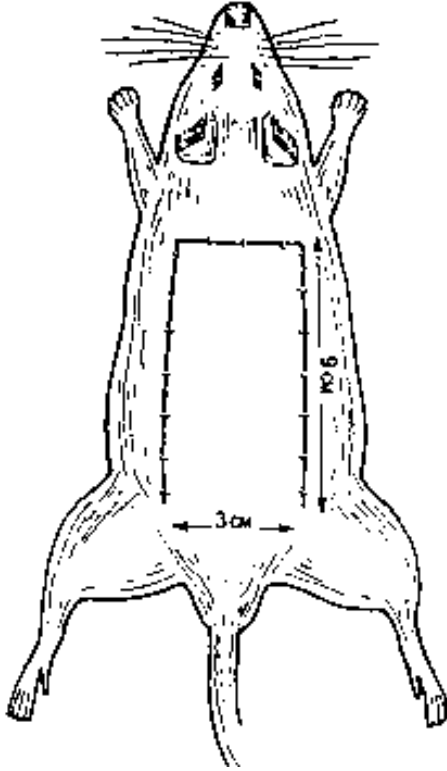
Sıçan sırtında hazırlanan flep modeli ilk olarak 1965 yılında Robert McFarlane ve arkadaşları tarafından tanımlanmıştır (13). Planlanan modelde yaşayan ve yaşamayan flep bölgelerinin yanı sıra dolaşımın sınırdaki olduğu bir ara bölge de bulunduğu için dolaşım değişikliklerinin sonuca etkisini gözlemek mümkün olabilmekteydi. Sonraki yıllarda değişikliklere uğramasına karşın McFarlane’in adıyla anılan bu modelin yaygın kabul görmesinde en önemli neden flebin en uç kısmında bir nekroz alanının bulunması ve kolay hazırlanmasıydı (12).

McFarlane ve arkadaşlarının orijinal tanımında, flep planlaması sabit anatomik noktalara dayanmaktaydı. Her iki skapula ve posterior ilyak çıkıntılar işaretlenip, flep bu noktalar arasında planlanmıştır. Bu nedenle hayvanın büyüklüğüne bağlı olarak flep boyutları değişiklik göstermekteydi. Sabit anatomik noktaların referans alınması hayvan büyüklüğünden bağımsız olarak flebin hep aynı damarlardan beslenmesini sağladığı için bir üstünlük olarak ileri sürülmüş olmasına karşın nekroz alanları hep aynı büyüklükte olmuyordu. Myers ve Cherry’de yaptıkları çalışmalarda McFarlane ve arkadaşları gibi nekroz oranları arasında ciddi farklar bulmuşlardı (14). Nekroz oranlarındaki bu farklılıklardan yola çıkılarak istatistiksel olarak anlamlı sonuçlara ulaşmak için yüzden fazla hayvan kesilmesi gerektiği sonucuna varıldı. Bu sebeple ilerleyen çalışmalar daha standart nekroz oranları bulma yönünde yoğunlaştı.

Roger Khouri ve arkadaşları ise sırttaki yarımada fleplerinde tutarlı nekroz oranı sağlayıp modeli standardize etmek için eni 3 ve 4 cm olan iki farklı yarımada flep tasarımını kaudal ve kranyal tabanlı olarak kullandılar. Yaptıkları çalışmada en tutarlı nekroz oranı kaudal ve kranyal tabanlı hazırlanan 3 cm enindeki fleplerde

ortaya çıktı (15,16). Nekroz oranının büyük varyasyonlar göstermemesi daha az sayıda hayvan kullanarak tutarlı istatistiksel sonuç almayı sağlayacağı için kaudal veya kraniyal tabanlı 'dar' flepler avantajlı kabul edildi. Halen bu modelde küçük tasarım değişiklikleri yapılabilmeyle birlikte eni 3, boyu 9 cm.'lik kaudal ve kraniyal tabanlı fleplerin daha tutarlı sonuçlar verdiği ve deney gruplarında daha az hayvanla istatistiksel olarak anlamlı sonuçların alınabildiği düşünülmektedir (12).

Flep elevasyonu sırasında flep kenarları deri altındaki pannikulus karnosus kası flebe dahil edilerek derin kas fasyası üzerine kadar kesilir, deri ve altındaki pannikulus karnosus kasından oluşan flep, kas üzerindeki gevşek ve nispeten avasküler anatomik planda kolayca ilerlenerek kaldırılır. Kranyal ve kaudalden flebe gelen dallar flebin planlamasına göre korunur ya da feda edilir. Sırt flebi kaldırıldıktan sonra yine aynı yere dikilir ve araştırma protokolü çerçevesinde izlenir (Şekil 2.1). Deri flebi ile ilgili çalışmalarda çevresel faktörlere dikkat edilmelidir. Oda sıcaklığı epiderminin mitotik aktivitesine uygun sıcaklıkta tutulmalı, soğüğün vazokonstrüksiyon yaparak flep dolaşımını olumsuz etkileyeceği unutulmamalıdır (12).



Şekil 2.1: Çalışmada kullanılacak olan 3x9 cm boyutlu, kaudal tabanlı, random paternli sırt yarımada flebi

2.3.Tadalafil ve Etki mekanizması

Fosfodiesteraz siklik nükleotidleri degrade eden bir enzimdir. Onbir alt gruba ayrılan fosfodiesteraz ailesine ait elliden fazla izoform mevcuttur. Bu enzimler substrat afinitesi, özgünlüğü, doku dağılımı ve hücre altı lokalizasyonları ile birbirinden ayrılırlar (17,18).

Yapılan orjinal çalışmalarda FDE5'in spesifik inhibitörü olan tadalafilin antianjinal etkisi olduğu gösterilsede popüler kullanım alanı erektil disfonksiyon ve pulmoner hipertansiyondur (19,20). Erektile disfonksiyonun tedavisinde kullanımı 2003 yılında 'Food and Drug Administration' (FDA) tarafından onaylanmıştır (21,22,23).

Endojen Nitrik Oksit (NO), damar endotel hücrelerinden salınır. Hücre içinde guanilat siklaz üzerinden cGMP düzeyini arttırarak düz kaslarda gevşeme ve damarlarda genişleme sağlar (24). FDE5 ise cGMP'yi hidrolize ederek inaktif hale dönüştürür. FDE5 inhibitörleri özellikle vasküler damarlardaki düz kas ve trombositler üzerindeki inaktivasyonu ortadan kaldırarak, cGMP düzeyinde artış sağlarlar. Bunun sonucu olarak periferel arterler ve venlerde vazodilatasyona, trombosit agregasyonunda da inhibisyona neden olurlar(25,26).

Günümüzde dört adet FDE5 inhibitörü piyasada kendine yer bulmuştur. Jenerik isimleri sildenafil, vardenafil, tadalafil ve udenafil olan bu ilaçların yarılanma ömürleri sırayla 4, 4-5 , 17.5 ve 12 saat kadardır (27,28). Tadalafil bunların arasında yarılanma ömrü en uzun olanıdır ve maksimum plazma konsantrasyonuna 2 saatte ulaşır (29,30). FDE5 ailesinin en popüler üyesi olan sildenafil ile ilgili flep cerrahisi üzerinde yeterli çalışma olmasına rağmen yarılanma ömrü daha uzun olan tadalafil ile ilgili yeterli çalışma yapılmamıştır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu deneysel tez çalışması için Ankara Üniversitesi Yerel Etik Kurulu'ndan 01.02.2012 tarih ve 2012-2-9 karar numaralı etik kurul onayı alınmıştır. Etik kurul onayını takiben çalışma, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Anabilim Dalı, Histoloji-Emriyoloji Anabilim Dalı ve Klinik Farmakoloji Anabilim Dalı'nın olanakları kullanılarak, Ankara Üniversitesi Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Laboratuvarında yürütülmüştür.

3.1 Deney Hayvanları

Çalışmada Ankara Üniversitesi Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Laboratuvarı'nda yetiştirilmiş toplam 16 adet, ağırlıkları 250-350 gram arasında değişen Wistar Albino cinsi erkek sıçan kullanıldı.

Sıçanlar hayvan laboratuvarında uygun kafeslerde, 21 +/-2 santigrat derece sıcaklıkta ve ışıkların saat 08:00'de yakılıp, saat 20:00 de söndürülmesiyle 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık ritminin sağlandığı koşullarda barındırıldı. Hayvanlar standart sıçan yemi ile beslendi, herhangi bir diyet ya da su kısıtlaması yapılmadı. Tüm hayvanlar ayrı kafeslerde barındırıldı.

3.2 Gereçler

Çalışmada kullanılan cerrahi gereçler, sarf malzemeleri ve ilaçlar:

- 1- Temel cerrahi aletler (pens, penset, portegü, bistüri sapı, bistüri, vb.)
- 2- Steril enjektörler (1,2.5, 5, 10 cc)
- 3- Steril cerrahi eldiven
- 4- Steril cerrahi gazlı bez
- 5- Isıtmalı cerrahi deney masası
- 6- Povidone iodine
- 7- 3/0 keskin iğneli atravmatik cerrahi ipek suture
- 8- Traş bıçağı

- 9- Serum fizyolojik
- 10- Tadalafil (Cialis®,Lily)
- 11- Ketamin baz (Ketalar®, Pfizer)
- 12- Ksilazin (Rompun® %2, Pfizer)
- 13- Orogastrik tp
- 14- Lazer Doppler akım ölçer (Laser Doppler flowmeter, MP 100 Biopac Systems Inc, Santa Barbara, ABD)
- 15- Dijital fotoğraf makinası (Canon Powershot S5 IS, Çin)
- 16- Nikon Eclipse E600 ışık mikroskopy
- 17- Formol
- 18- Lam,Lamel
- 19- Hemotoksilen eozin ve Mallory Azan boyları
- 20- Parafin, ksilen
- 21- Formaldehit
- 22- Etanol



Şekil 3.1: Çalışmada kullanılan preparat; Cialis® (Lily).

3.3 Yöntem

3.3.1 Çalışma grupları

Hayvanlar her bir grupta 8 hayvan olacak şekilde randomizasyon yöntemi ile öncelikle 2 gruba ayrıldı. Gruplar, kontrol (Grup 1) ve tadalafil (Grup 2) olarak adlandırıldı (Tablo 3.1).

İkinci grupta yer alan hayvanlara cerrahiden 2 saat önce serum fizyolojik ile hazırlanmış olan tadalafil (Cialis®) 10 mg/kg dozundan orogastrik tüp kullanılarak verildi. Birinci gruptaki hayvanlarda da benzer stres oluşturmak amacıyla orogastrik tüp kullanılarak 1.5 cc serum fizyolojik oral yoldan verildi.

Grup Adı	Grup Açıklaması	Gruptaki sıçan sayısı(n)
Grup 1	Kontrol	8
Grup 2	Tadalafil	8

Tablo 3.1: Deney Grupları

3.3.2. Cerrahi Teknik

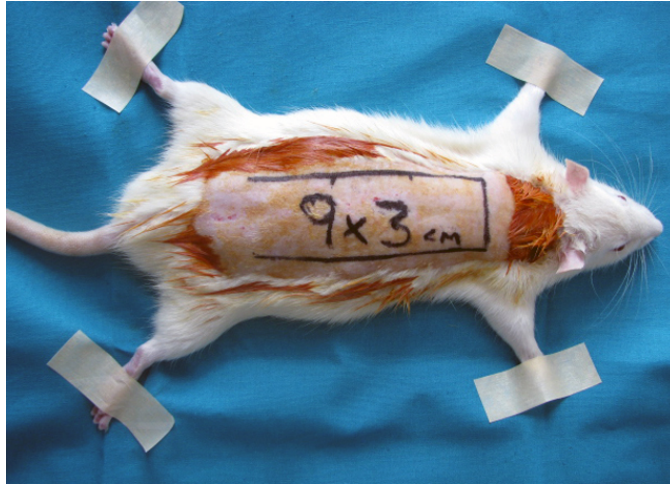
Deney başlamadan önce sıçanlara intraperitoneal yolla verilen 10mg/kg ksilazin + 80 mg/kg ketamin ile anestezi sağlandı. Her sıçanın sırt bölgesi ameliyat öncesi traş edilerek povidone iodine ile preoperatif hazırlık yapıldı. Sıçan prone pozisyonda tespit edildi ve tüm cerrahi işlemler asepsi, antisepsi kurallarına uygun olarak aynı cerrah tarafından gerçekleştirildi.

Sıçan dorsumunda her iki skapula ve posterior iliak çıkıntılar işaretlendi. 1:3 en boy oranında olacak şekilde 3x9 cm'lik kaudal tabanlı dorsal yarımada flebi (McFarlane Flebi) (13-16) planlandı (Şekil 3.2).Flep kenarları deri altındaki pannikulus karnosus kası flebe dahil edilerek derin kas fasyası üzerine kadar kesildi. Deri ve altındaki pannikulus karnosus kasından oluşan flep, kas üzerindeki gevşek ve nispeten avasküler anatomik planda ilerlenerek kaldırıldı (Şekil 3.3). Flepler

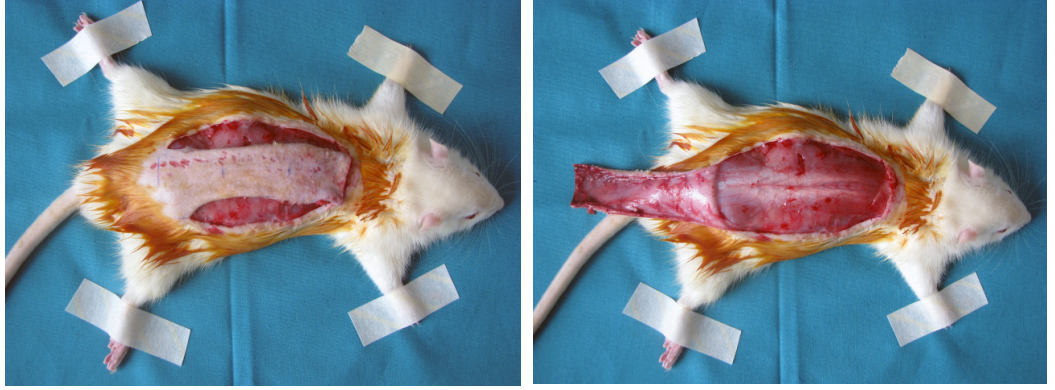
tekrar yerlerine 3/0 keskin iğneli atravmatik cerrahi ipek sütürler ile adapte edildi. Sütürasyondan hemen sonra fleplerin proksimal 1/3 orta noktalarından (3. cm) lazer Doppler ile 1 dakika süreyle kayıt alındı (Şekil 3.4). Sıçanlar cerrahi işlem tamamlandıktan sonra son ölçümlerin yapılacağı güne kadar ayrı kafeslerde yeterli miktarda standart yem ve su ile beslenip, takip edildiler.

Postoperatif 7. günde sıçanlar yukarıdaki anestezi protokolüne uygun bir şekilde tekrar uyutuldu ve aynı noktalardan tekrar birer dakikalık lazer Doppler kayıtları alındı . Postoperatif 7. gündeki ölçümlerden sonra flepler Canon Powershot S5 IS dijital fotoğraf makinesi ile görüntülendi. Fotoğraf çekimi sırasında, daha sonra yapılacak ölçümlere referans oluşturması için görüntü alanına milimetrik cetvel yerleştirildi (Şekil 3.5). Fotoğraf çekiminden sonra histopatolojik incelemeler için flebin uzunluğu ölçülerek tam ortaya denk gelecek şekilde referans bir nokta belirlendi. Uzunluğu 2 cm olacak olan doku örneğinin 1cm'si referans noktanın distalinde, 1 cm'si ise proksimalinde olacak şekilde işaretleme yapıldı. Alınacak doku örneğinin genişliği ise 1 cm olarak tasarlandı. Bu planlamaya uyularak gerekli ölçümler yapıldı ve her hayvandan 2x1 cm boyutlarında doku örnekleri alındı (Şekil 3.6).

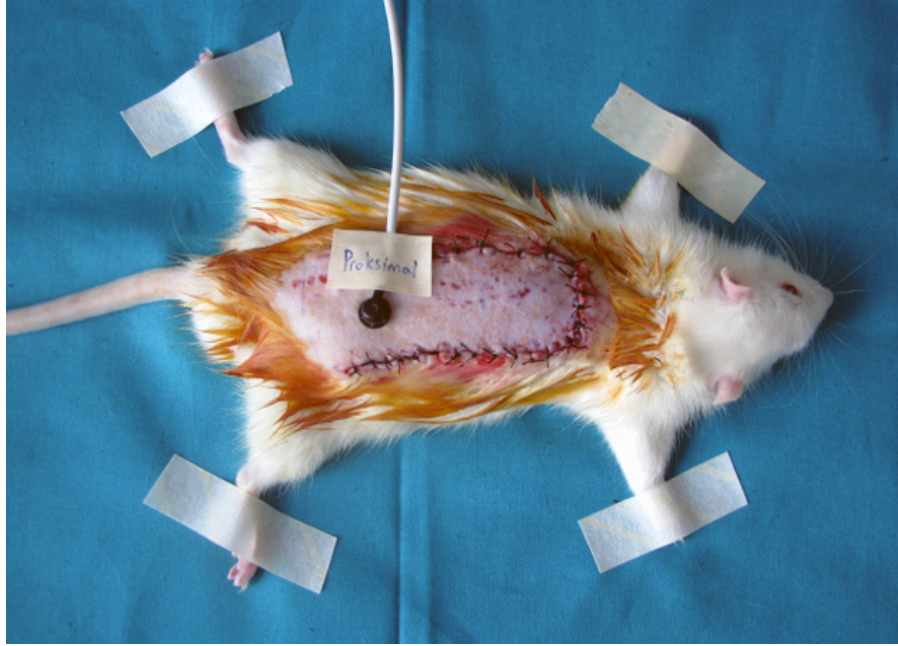
Deney protokolü sona erince sıçanlar yüksek doz anestezi madde uygulanarak sakrifiye edildiler.



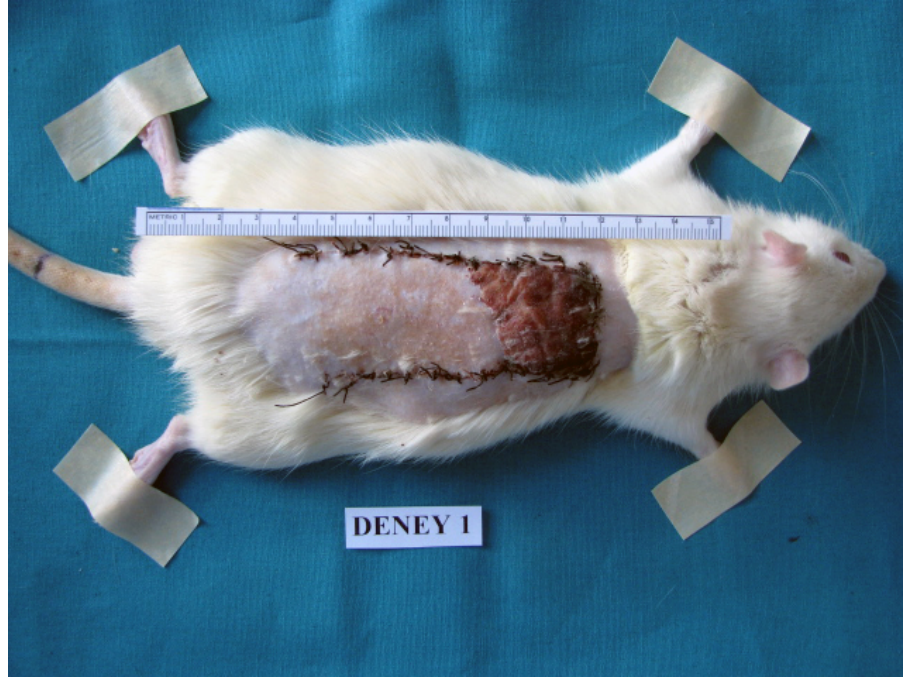
Şekil 3.2: Sıçan dorsumunda oluşturulan 3x9 cm'lik flebin planlanması



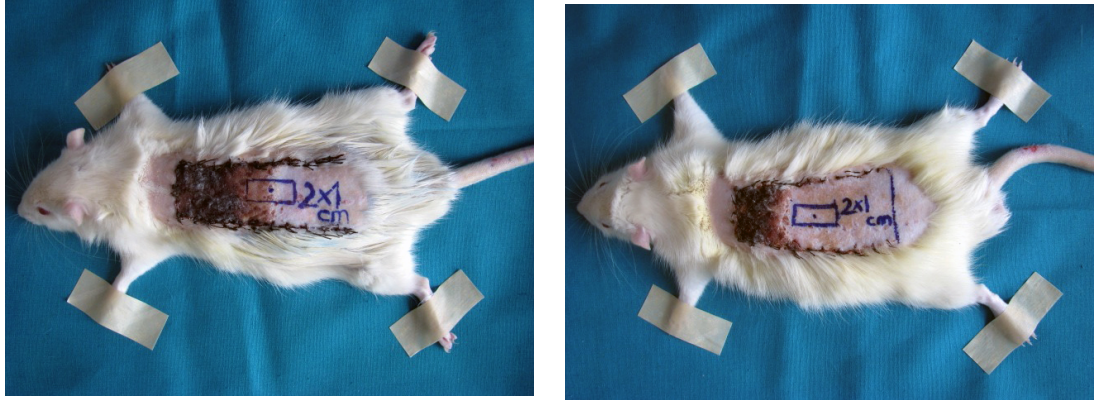
Şekil 3.3: Planlamaya uygun olarak kaldırılan kaudal tabanlı flep



Şekil 3.4: Operasyondan hemen sonra 3/0 ipek sütürler ile yerine adapte edilen flebin 1/3 proksimal kısmından lazer Doppler probu ile kayıt alınması



Şekil 3.5: Operasyon sonrası 7. günde yapılacak ölçümlere referans oluşturması için fotoğraf karesine milimetrik cetvel yerleştirildi.



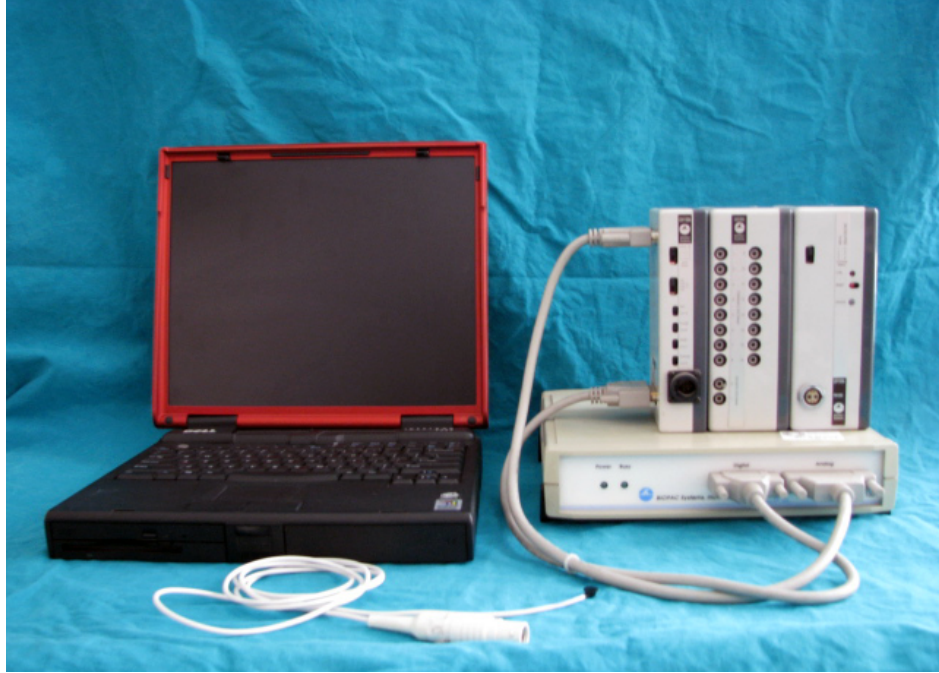
Şekil 3.6: Operasyon sonrası 7. günde flebin boyutları ölçülerek tam ortasından alınması kararlaştırılan 2x1 cm'lik doku örneğinin planlanması (Alınan doku örnekleri kimi deneklerde nekroz alanı içerirken kimi deneklerde içermemekteydi.)

3.4 Değerlendirme Yöntemleri

3.4.1 Lazer Doppler Akım Ölçer

Fleplerin kaldırılıp yerine tekrar suture edilmelerinden hemen sonra ve operasyon sonrası 7. günde, anestezi altında, proksimal 1/3 sabit noktalarından, birer dakika süreyle lazer Doppler akım ölçer ile kayıtlar alındı (Şekil 3.8). Alınan kayıtlar AcqKnowledge V.3.5.7 programı ile değerlendirildi.

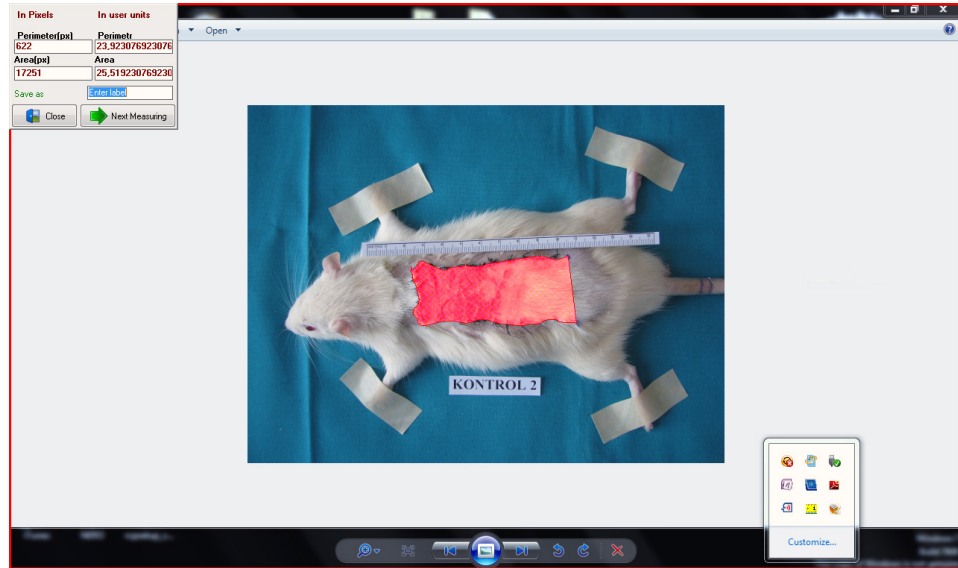
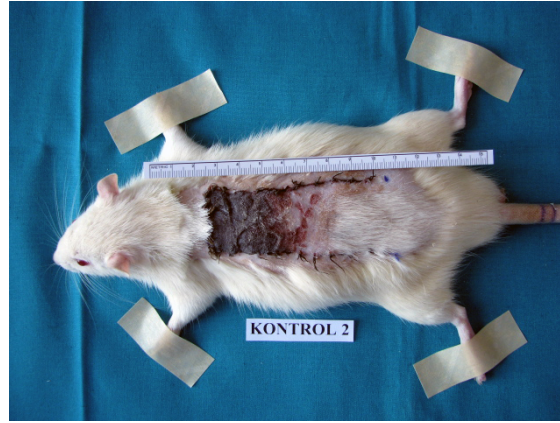
Birer dakika süren kan akım kaydı yapıldı. Kayıt sonrası minimum, ortalama ve maksimum değerler değerlendirilmeye alındı. Sıçanlar arasındaki varyasyonu ortadan kaldırmak için sutureasyon işleminden hemen sonra yapılan ölçümler bazal değer olarak kabul edilmiş (bazal ölçüm=100) ve bu değerlere göre cerrahiden 7 gün sonra elde edilen ölçümler yüzde değişim olarak ifade edilmiştir.

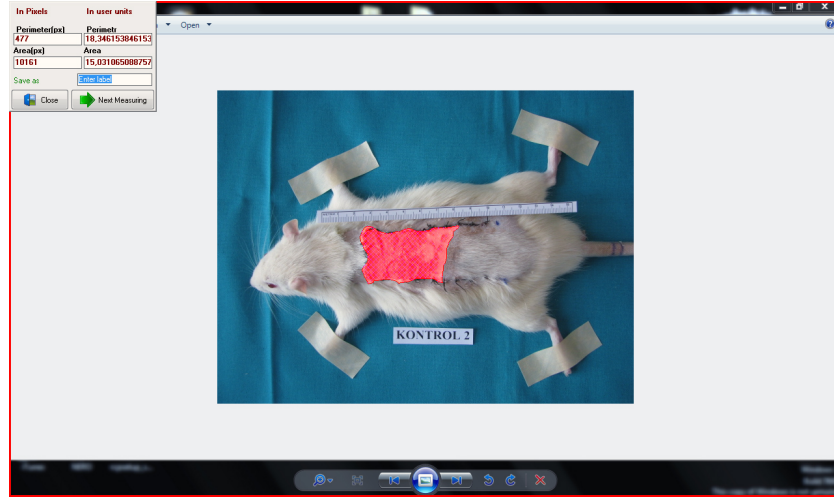


Şekil 3.7: Lazer Doppler akım ölçer

3.4.2 Flep Nekroz Alanı

Cerrahi işlemlerden sonraki 7. günde nekroz alanlarını görüntülemek üzere dijital fotoğraflar çekildi. Çekilen fotoğraflardan Universal Desktop Ruler Version 3.6.3481 isimli bilgisayar programı kullanılarak flep çevre uzunluğu, flep alanı, nekrotik alan çevre uzunluğu, nekrotik alan ölçümleri yapıldı (Şekil 3.7).





Şekil 3.8: Çekilen fotoğraflar Universal Desktop Ruler Version 3.6.3481 isimli bilgisayar programı kullanılarak analiz edildi. Tüm flep alanı (ortada) ve nekrotik flep (en altta) alanı ölçüldü.

3.4.3 Histopatolojik Değerlendirme

Kontrol ve deney gruplarında 7. günde flebin uzunluğu ölçülerek tam orta noktası referans olarak alındı. Referans noktasının proksimalinden ve distalinden 1'er cm ölçülerek uzunluğu 2 cm eni ise 1 cm olacak şekilde doku örnekleri alındı. %10'luk tamponlu formalin (pH: 7,35) çözeltisine alınarak tespit edildi. Örnekler sırasıyla dereceli alkollerden (%75, %75, %96, %96 (1 gece bekletildi), %100, %100) geçirilerek dehidratasyona uğratıldı. Ksilende şeffaflamaları tamamlanan dokular 60°C etüvde 5 saat sıvı parafin infiltrasyonuna maruz bırakıldı. Sonrasında parafine gömülerek sert bloklar elde edilen dokular +4 °C'de bekletildi. Kesim işlemine başlamadan önce -18°C'ye alınan bloklardan Leica RM 2125RT model mikrotom ile doku örneğinin uzun eksenine paralel olacak ve tüm deri katlarını içerecek şekilde 4 µm kalınlığında kesitler alındı. Kesitler Hematoksilen Eozin (H-E) ve Mallory Azan (MA) histolojik boyaları ile boyandı ve Nikon Eclipse E600 marka ışık mikroskopuyla incelenerek fotoğraflandı.

Doku örneklerinde polimorfonükleer lökosit (PMNL) ve lenfosit yoğunluğu, kapiller damar proliferasyonu, papiller dermiste ödemli kollajen yoğunluğu, retiküler dermiste ödem varlığı, ekstrasöz eritrosit yoğunluğu, kollajenlerde ödem olmak üzere 6 parametre incelendi. Örnekler değerlendirilirken Tablo 3.2'deki skorlama sistemi kullanıldı.

	Yok	Az	Orta	Yoğun	Çok Yoğun
PMNL ve lenfosit yoğunluğu	0	1+	2+	3+	4+
Papiller dermiste ödem	0	1+	2+	3+	4+
Retiküler dermiste ödem	0	1+	2+	3+	4+
Ekstravaze Eritrositler	0	1+	2+	3+	4+
Kollajenlerde Ödem	0	1+	2+	3+	4+

Tablo 3.2: Histolojik değerlendirmeler yapılırken kullanılan skorum sistemi

Diğer bir parametre olan damar yoğunluğu hesaplanırken de her hayvana ait kesitlerden ikisi gelişigüzel seçilerek x40 büyütmede rastgele seçilen 4'er alandaki tüm damarlar büyüklüklerine bakılmaksızın sayılıp toplanarak ortalamaları alındı(31).

3.4.4 İstatistiksel Değerlendirme

Verilerin istatistiksel değerlendirmesi SPSS for Windows 15.0 paket programında yapıldı. Veriler ortalama +/- standart sapma ve ortanca (minimum - maksimum) biçiminde özetlendi. Hem tadalafil hem de kontrol grubunda ilk hafta ve ikinci hafta ölçümlerinin karşılaştırılmasında Wilcoxon testi kullanıldı. İlk ve ikinci hafta ölçümleri arasındaki değişim, yüzde değişim alınarak hesaplandı ve yüzde değişim bakımından da tadalafil ve kontrol grubu karşılaştırıldı. Tadalafil ve kontrol gruplarının karşılaştırılmasında ise Mann Whitney U testi kullanıldı. İstatistiksel anlamlılık sınırı 0,05 ($P<0.05$) olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1 Lazer Doppler Akım Ölçer Bulguları

Deneyde kullanılan tüm hayvanlardan sütürasyon sonrası flep proksimal 1/3'lük kısmından elde edilen kan akımı ölçümleri, hayvanlar arası standardizasyonu sağlamak amacıyla 100 olarak kabul edildi. Postoperatif 7. günde yapılan ölçümler ise bazal ilk değerın yüzdesi şeklinde ifade edilerek istatistiksel olarak değerlendirildi. Ölçümler minimum, ortalama ve maksimum değerler üzerinden karşılaştırılmıştır.

Kontrol grubunda flebin kaldırılıp yerine hemen iade edildiği ilk hafta ölçümleri ile ikinci hafta ölçümlerinin minimum, ortalama ve maksimum kan akımı değerlerine bakıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç elde edilememiştir (Tablo 4.1, 4.2, 4.3). Tadalafil grubunda ise ilk hafta ile ikinci hafta ölçümleri arasında minimum, ortalama ve maksimum kan akımlarındaki artış istatistiksel olarak anlamlı olarak değerlendirilmiştir (Tablo 4.1, 4.2, 4.3).

Elde edilen ölçümlerin ilk hafta ile ikinci hafta yüzde değişimlerinin kontrol ve tadalafil grupları arasında karşılaştırılması sonucunda ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı (Tablo 4.4).

	Minimum Kan Akımı (1 . Hafta)	Minimum Kan Akımı (2.Hafta)	p
Tadalafil Grubu (n=8) Ortalama ± ss Ortanca (min-maks)	46.15 ± 9.72 44.85 (32.96 – 65.30)	78.80 ± 33.27 68.65 (53.10 – 155.01)	0.025
Kontrol Grubu (n=8) Ortalama ± ss ortanca(min-maks)	73.61 ± 32.25 68.65 (35.40 – 122.06)	76.36 ± 43.27 88.18 (27.46 – 119.01)	0.779

Tablo 4.1: Lazer Doppler ile elde edilen minimum kan akımı ölçümleri (ss:standart sapma, min: minimum, maks:maksimum, p:istatistiksel anlamlılık) P değerleri Wilxocon testi ile hesaplandı.

	Ortalama Kan Akımı (1. Hafta)	Ortalama Kan Akımı (2.Hafta)	p
Tadalafil Grubu (n=8) Ortalama ± ss Ortanca (min-maks)	56.71 ± 10.31 55.09 (39.94 – 136.81)	109.08 ± 37.82 105.03 (72.67 – 185.73)	0.012
Kontrol Grubu (n=8) Ortalama ± ss ortanca(min-maks)	91.74 ± 31.55 81.30 (55.88 – 136.81)	113.53 ± 62.98 140.28 (34.19 -188.32)	0.484

Tablo 4.2: Lazer Doppler ile elde edilen ortalama kan akımı ölçümleri (ss:standart sapma, min: minimum, maks:maksimum, p:istatistiksel anlamlılık) P değerleri Wilxocon testi ile hesaplandı.

	Maksimum Kan Akımı (1. Hafta)	Maksimum Kan Akımı (2.Hafta)	p
Tadalafil Grubu (n=8) Ortalama ± ss Ortanca (min-maks)	70.01 ± 11.27 72.01 (50.04 – 83.61)	180.35 ± 89.08 210.29 (42.72 – 276.46)	0.012
Kontrol Grubu (n=8) Ortalama ± ss ortanca(min-maks)	119.61 ± 36.91 114.73 (67.74 – 175.15)	180.35 ± 89.08 210.29 (42.72 – 276.46)	0.123

Tablo 4.3: Lazer Doppler ile elde edilen maksimum kan akımı ölçümleri (ss:standart sapma, min: minimum, maks:maksimum, p:istatiksel anlamlılık) P değerleri Wilcoxon testi ile hesaplandı.

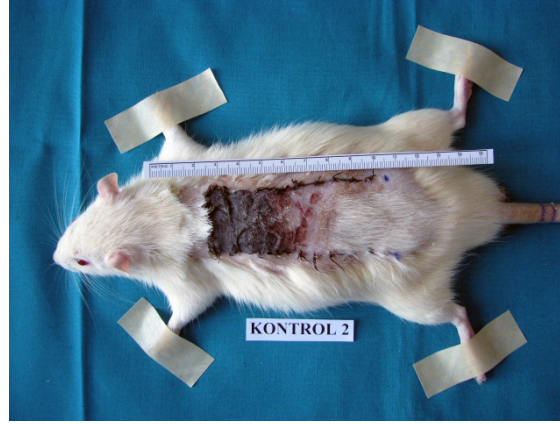
	Minimum Kan Akımı Yüzde Değişimi	Ortalama Kan Akımı Yüzde Değişimi	Maksimum Kan Akımı Yüzde Değişimi
Tadalafil Grubu (n=8) Ortalama ± ss Ortanca (min-maks)	80.07 ± 90.55 50.82 (-18.68 – 279.09)	99.55 ± 81.26 87.86 (1.20 – 260.22)	59.51 ± 141.64 125.30 (28.47 – 475.24)
Kontrol Grubu (n=8) Ortalama ± ss ortanca(min-maks)	20.32 ± 86.54 -1.61 (-74.50 – 192.17)	27.48 ± 68.55 26.78 (-67.96 – 107.43)	57.08 ± 79.82 69.13 (-53.02 – 165.59)
p	0.161	0.130	0.130

Tablo 4.4 : Lazer Doppler ile elde edilen ölçümlerin ilk hafta ile ikinci hafta yüzde değişimlerinin kontrol ve tadalafil grupları arasında karşılaştırılması. (Yüzde değişim= ((son ölçüm-ilk ölçüm)/ilk ölçüm)*100) (ss:standart sapma, min: minimum, maks:maksimum, p:istatiksel anlamlılık) P değerleri Wilcoxon testi ile hesaplandı.

4.2 Flep Nekroz Alanı Bulguları

Bütün fleplerde postoperatif 7. günde kontraksiyon geliştiği gözlemlendi. Tüm flepler üzerinde bilgisayar programları yardımı ile flep çevre uzunluğu, flep alanı,

nekrotik alan çevre uzunluğu, nekrotik alan ölçümleri yanında nekrotik alanın flep alanına oranı da hesaplandı. Tüm parametreler tadalafil ve kontrol grupları arasında karşılaştırıldı ancak istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı (Tablo 4.5).



Şekil 4.1: Kontrol grubunda postoperatif 7. günde görülen nekroz alanı



Şekil 4.2: Tadalafil grubunda postoperatif 7. günde görülen nekroz alanı

	Tadalafil Grubu (n=8) Ortalama ± ss Ortanca (min-maks)	Kontrol Grubu (n=8) Ortalama ± ss ortanca(min-maks)	p
Flep çevre uzunluğu	22.30 ± 0.51 22.44 (21.32 – 22.85)	21.55 ± 1.79 21.11 (19.55 – 23.92)	0.382
Flep alanı	23.35 ± 1.46 22.99 (21.66 – 25.79)	22.68 ± 2.32 21.90 (19.89 – 25.52)	0.442
Nekrotik alan çevre uzunluğu	12.08 ± 1.75 12.50 (8.85 – 13.89)	13.44 ± 3.21 12.27 (10.26 – 18.35)	0.721
Nekrotik alan	8.22 ± 2.27 8.40 (4.33 – 10.95)	9.30 ± 3.84 7.87 (5.06 – 15.03)	0.878
Nekrotik alanın flep alanine oranı	0.35 ± 0.11 0.37 (0.17 – 0.51)	0.40 ± 0.12 0.36 (0.23 – 0.59)	0.574

Tablo 4.5: Flep değerlendirme parametrelerinin tadalafil ve kontrol grupları arasında karşılaştırılması (ss:standart sapma, min: minimum, maks:maksimum, p:istatistiksel anlamlılık) P değerleri Mann Whitney U testi ile hesaplandı.

4.3 Histopatolojik Bulgular

Tadalafil uygulanangrup ile kontrol grubu arasında PMNL, lenfosit, ekstrasvaze eritrosit ve kollajen liflerde ödem varlığı arasında ışık mikroskopik incelemede belirgin fark gözlenmedi, yapılan puanlandırma sonuçları arasındaki fark da istatistiki olarak anlamlı çıkmadı (Tablo 4.6, 4.7, 4.10). Yeni damar oluşumu ise deney grubunda daha yüksek olarak izlendi. Işık mikroskopunda gözlenen damar yoğunluğu bulgularının skorları arasındaki fark istatistiki olarak anlamlı bulundu (Tablo 4.8, 4.9, 4.10).

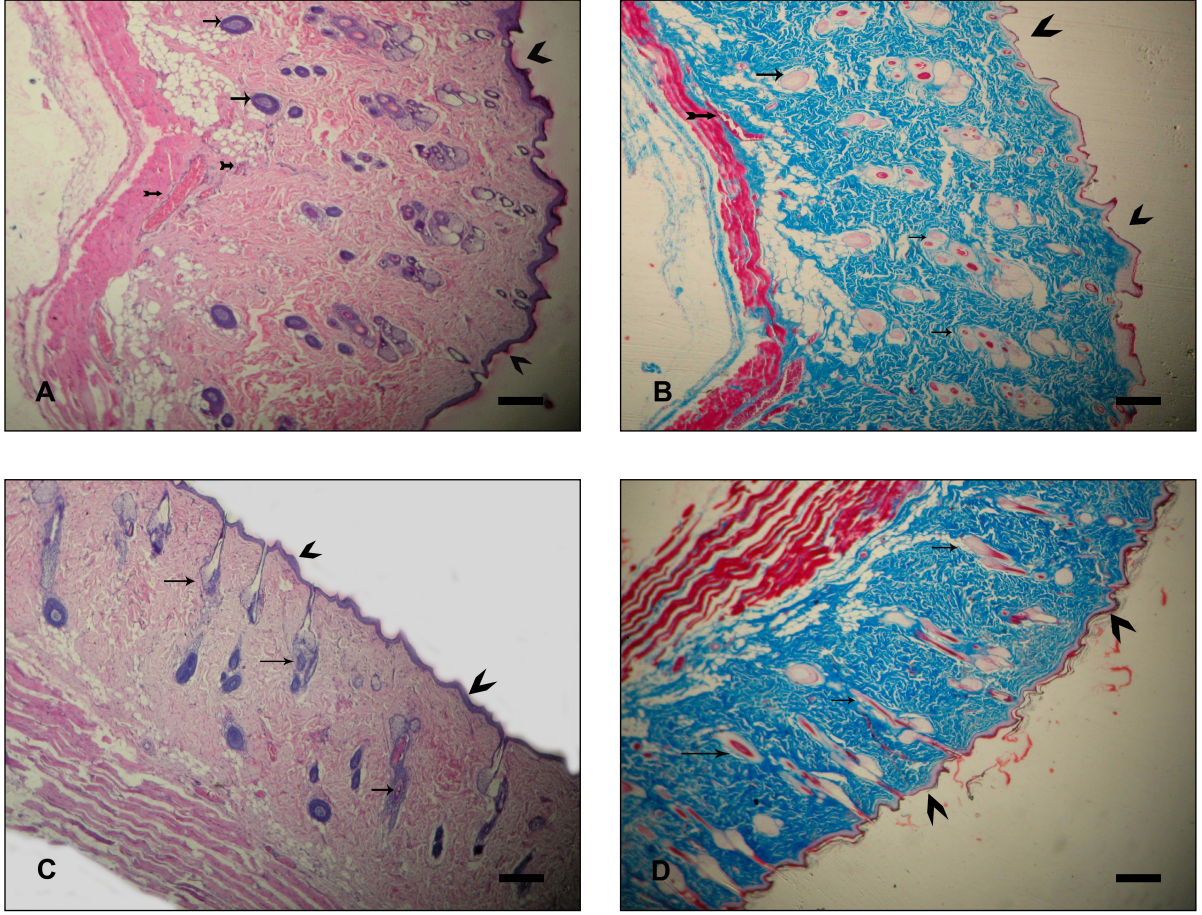
	K-1	K-2	K-3	K-4	K-5	K-6	K-7	K-8
PMNL-Lenfosit Yoğunluğu	4	4	1	1	3	4	3	1
Papiller Dermiste Ödem	4	4	1	2	1	4	2	2
Retiküler Dermiste Ödem	3	3	2	2	2	3	3	2
Ekstravaze Eritrositler	4	4	0	2	3	4	2	1
Kollajenlerde Ödem	4	3	2	2	1	3	2	1

Tablo 4.6:Kontrol grubunda PMNL infiltrasyonu, papiller ve retiküler dermiste ödem, ekstravaze eritrosit ve kollajenlerde ödem parametrelerinin skorlanması

	D-1	D-2	D-3	D-4	D-5	D-6	D-7	D-8
PMNL-Lenfosit Yoğunluğu	2	3	4	2	3	2	1	4
Papiller Dermiste Ödem	1	2	4	2	4	1	0	4
Retiküler Dermiste Ödem	2	2	4	3	4	2	0	4
Ekstravaze Eritrositler	2	3	4	3	4	2	3	4
Kollajenlerde Ödem	2	2	4	3	4	2	0	4

Tablo 4.7:Deney grubunda PMNL infiltrasyonu, papiller ve retiküler dermiste ödem, ekstravaze eritrosit ve kollajenlerde ödem parametrelerinin skorlanması

Her iki grupta da flebin tam orta alanından alınan kesitlerin bir kısmında granülasyon dokusunun varlığı gözlemlendi. Bir kısmında ise iyileşme sahaları, bu alanlarda epitel kayıpları ve kollajenlerin eozinofilik boyanmasında artış izlendi. Örneklerden her iki grupta da yalnızca birer tanesinde granülasyon dokusu veya iyileşme sahası görülmedi, kesitin tüm alanı normal görünümdeydi (D-7, K-8).



Şekil 4.3: Tadalafil ve kontrol gruplarına ait normal deri görünümleri. Ok başı: epitel, ince ok: kıl folikülü, kuyruklu ok: kapiller. A, C: H-E, B, D: MA, Büyütme: x4. Bar: 2 μ m **A, B:** Tadalafil grubuna ait normal deri kesitleri, **C, D:** Kontrol grubuna ait normal deri kesitleri

Her hayvandan alınan rastgele iki kesitten gelişigüzel seçilen toplamda 8 alandaki damarlar büyüklüklerine bakılmaksızın sayıldı (31). Tadalafil uygulanan grupta özellikle epitel altındaki bölgede vaskularizasyonun arttığı gözlemlendi (Tablo 4.8, 4.9, 4.10).

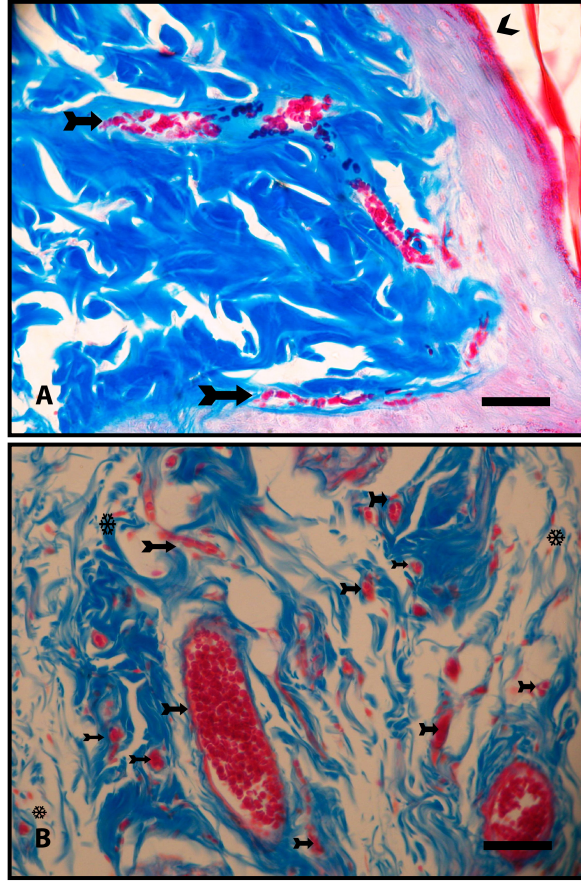
	K-1	K-2	K-3	K-4	K-5	K-6	K-7	K-8
Damar Yoğunluğu	8,25	8,5	5,875	6,125	7,125	8.5	6,25	7,75

Tablo 4.8: Kontrol grubundan alınan kesitlerden yapılan damar sayım sonuçlarının ortalama değerleri

	D-1	D-2	D-3	D-4	D-5	D-6	D-7	D-8
Damar Yoğunluğu	11,25	11,875	11,125	11,125	8,5	9	10,375	7,125

Tablo 4.9: Deney grubundan alınan kesitlerden yapılan damar sayım sonuçlarının ortalama değerleri

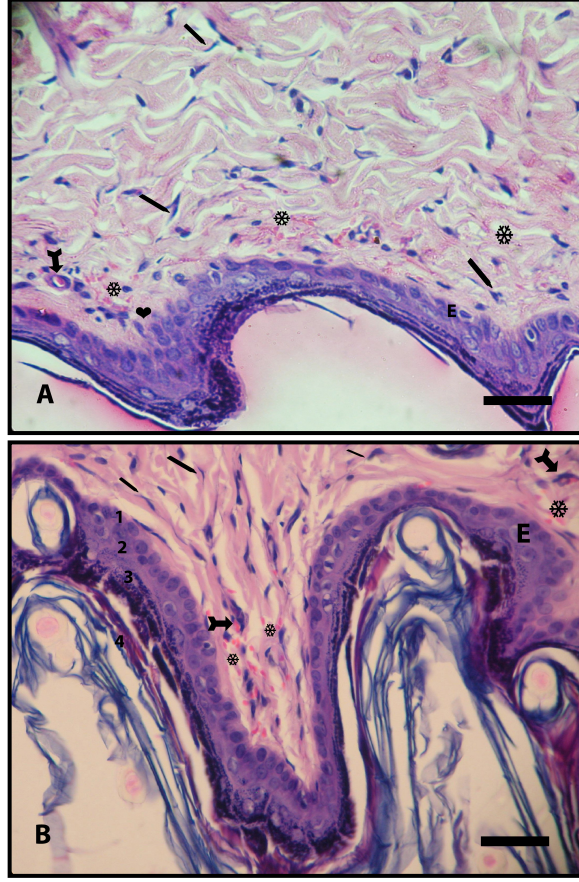
Vaskülarizasyon artışının yara iyileşmesine katkıda bulunan süreçlerden birisi olduğu bilinmektedir. Deney grubunda kapiller damar artışının ışık mikroskopik olarak gösterilmesinin yanısıra yapılan sayım sonuçları istatistiksel olarak da değerlendirildi ve sonuçlar anlamlı bulundu (Tablo 4.10).



Şekil 4.4: Kontrol ve tadalafil grubuna ait epitel altı vaskularizasyon görüntüleri. Kuyruklu ok: kapiller, kartanesi: ekstravaze eritrosit, ok başı: epitel. Boya: MA, Büyütme: x40. Bar: 0,5 µm **A:** Kontrol grubu, **B:** Tadalafil grubu

Şekil 4.4'te de görüldüğü gibi deney grubuna ait kesitlerde epitel altında büyüklü küçüklü çok sayıda kapiller bulunmaktadır, kontrol grubunda ise kapiller damarlar daha az sayıda izlenmiştir. Kesitlerde kollajen liflerinde yoğunlaşma ve kollajen liflerinin aralarının açılmasıyla karakterize ödem izlenmektedir.

Damar dışına çıkmış eritrositler epitel altında ve granülasyon dokusunun olduğu alanlarda daha fazla izlendi (Şekil 4.5). Kontrol ve deney grupları arasında ekstravaze eritrosit açısından belirgin farklılık gözlenmemekle birlikte yapılan skorlama sonuçlarında istatistiki açıdan anlamsız bulundu (Tablo 4.10).



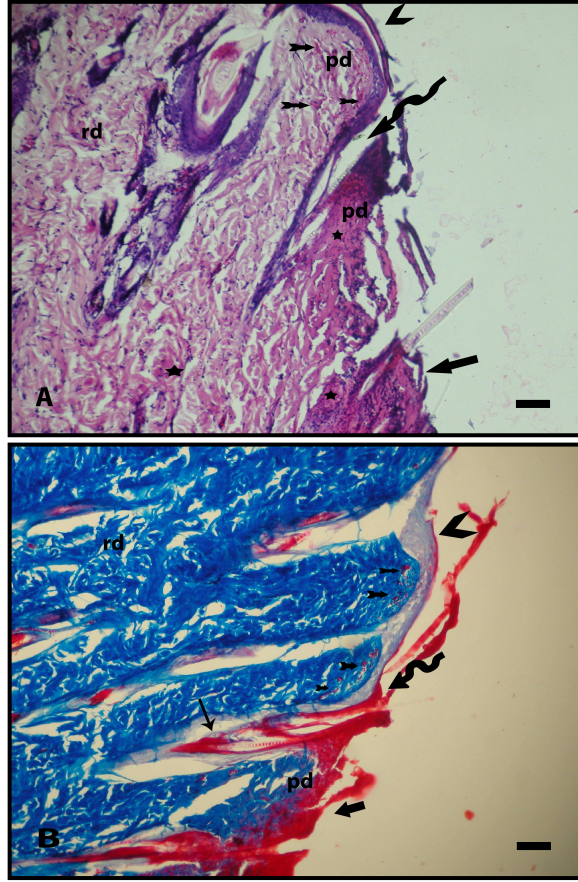
Şekil 4.5: Kontrol ve tadalafil grubu ekstravaze eritrosit görüntüleri. Kuyruklu ok: kapiller, kalem: fibroblast hücreleri, kar tanesi:ekstravaze eritrosit, E: epidermis, 1:stratum(st) bazale, 2: st. spinosum, 3:st. granulosum, 4: st. corneum.Boya: H-E, Büyütme: x40. Bar: 0,5 µm. **A:** Kontrol grubu, **B:** Tadalafil grubu

Tadalafil grubunda 3 deneye ait örneklerde (D-3, D-5, D-8) kollajen liflerde belirgin ödem, yer yer hyalinozis, ekstravaze eritrositlerde belirgin artış, PMNL ve lenfositlerde yoğunlaşma, epitel kaybı ve bazı bölgelerde reepitelizasyon ile karakterize granülasyon dokusu izlendi (Şekil 4.7, Şekil 4.8 B). Deneklerden 4'üne ait kesitlerde ise lokal hücre artışı (fibroblast), ekstravaze eritrosit, kapiller artışı, kollajen liflerinde eozinofilik boyanma artışı ve dermiste yer yer ödem ile karakterize iyileşme sahaları vardı (D-1,D-2,D-4,D-6) (Şekil 4.9 B), Bir deneye ait kesitin tüm bölgeleri normal görünümdeydi (D-7) (Şekil 4.3 A,B).

Kontrol grubunda bu sayılar; granülasyon dokusu içeren kesit sayısı: 3 (K-1, K-2, K-5)(Şekil 4.6, Şekil 4.8 A), iyileşme sahası içeren kesit sayısı: 3 (K-3, K-4, K-7) (Şekil 4.9 A), hiçbir değişiklik gözlenmeyerek tüm alanları normal izlenen kesit sayısı ise 1 (K-8) olarak belirlendi (Şekil 4.3 C,D).

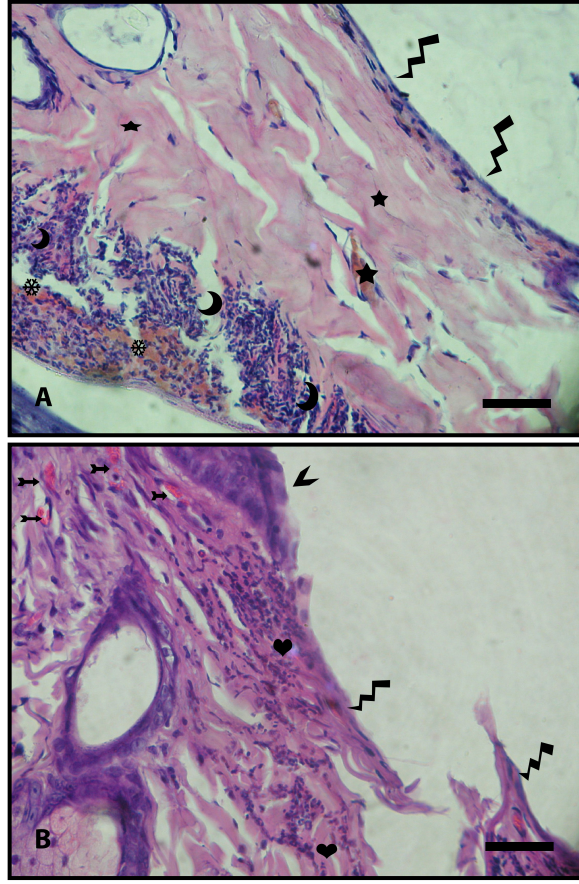


Şekil 4.6: Kontrol grubuna ait normal alan-granülasyon dokusu geçiş bölgesi. Kıvrımlı ok: geçiş bölgesi, ok başı: epitel, kalın ok: epitel kaybı, şimşek: reepitelizasyon alanı, yıldız:hyalinozis, rd: retiküler dermiş, pd: papiller dermiş. Büyütme: x10. Boya: H-E, Bar: 1 µm



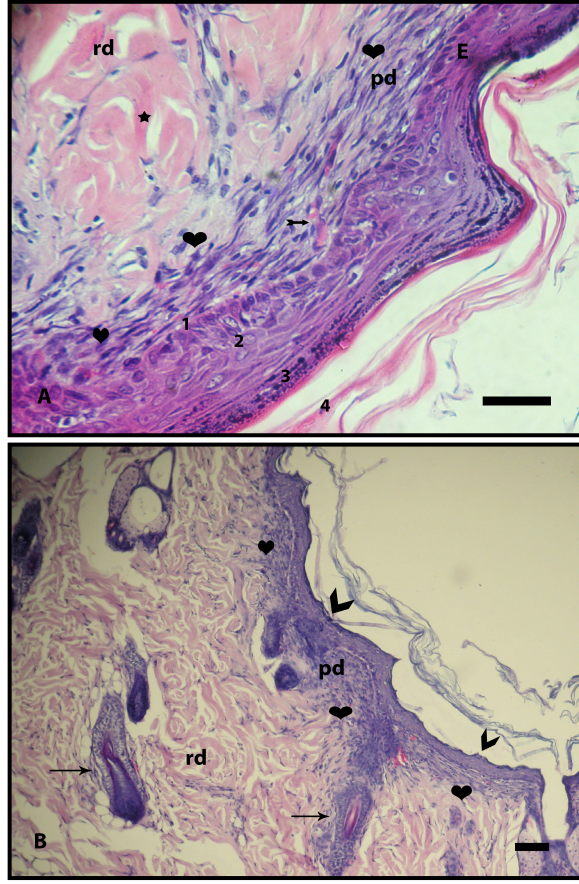
Şekil 4.7: Tadalafil grubuna ait normal alan-granülasyon dokusu geçiş bölgesi. Kıvrımlı ok: geçiş bölgesi, ince ok:kıl folikülü, ok başı:epitel, kalın ok: epitel kaybı, kuyruklu ok: kapiller, yıldız: hyalinozis, rd: retiküler dermiş, pd: papiller dermiş. Büyütme: x10. Bar: 1 µm. **A:** Tadalafil grubu geçiş bölgesi H-E boyaması, **B:** Tadalafil grubu geçiş bölgesi MA boyaması

Şekil 4.6 ve şekil 4.7’te normal alan ile granülasyon sahası yan yana görülmektedir. Granülasyon dokusunda papiller dermiste ödem, hyalinozis, PMNL ve lenfosit artışının olduğu dikkati çekmektedir.



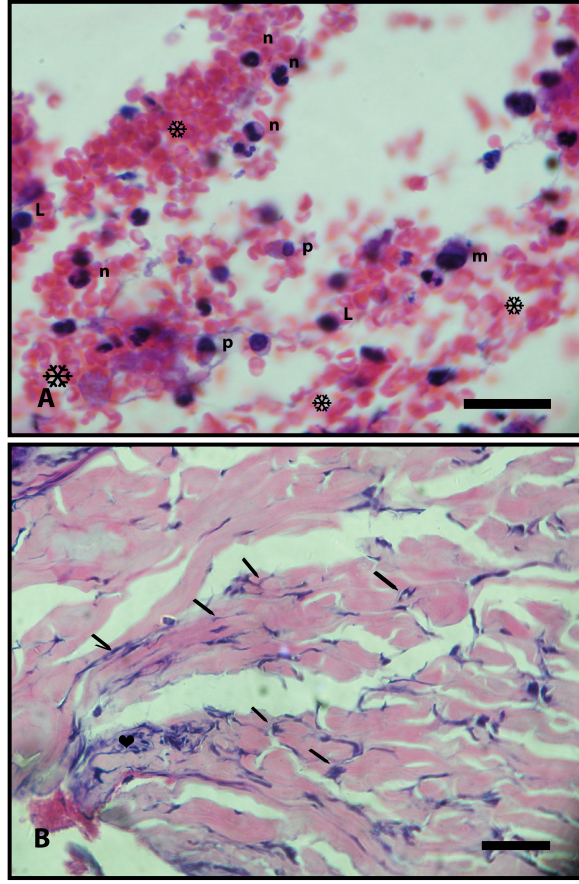
Şekil 4.8: Kontrol ve tadalafil gruplarında granülasyon dokusunun daha büyük büyütmede görüntüsü. Yıldız: hyalinozis, şimşek: reepitelizasyon, kalp: artmış hücre yoğunluğu, kuyruklu ok: kapiller, hilal: PMNL-lenfosit artışı. Boya: H-E. Büyütme: x40. Bar: 0,5 µm **A:** Kontrol grubu, **B:** Tadalafil grubu

Şekil 4.8, şekil 4.6 ve 4.7’te görüntülenen kesitlerin ışık mikroskopunda daha büyük büyütmede alınmış görüntülerini içermektedir. Burada da görüldüğü gibi granülasyon dokusunun olduğu bölgede artan yapım ve inflamasyon sebebiyle fazla sayıda bağ dokusu hücresi (özellikle fibroblastlar), kollajenlerde hyalinozis ve ödem, epitel kaybı olan bölgelerde yeniden oluşmaya başlayan epitel ve bu yeni epitelin hemen altında artmış hücre yoğunluğu ve özellikle tadalafil grubunda artmış kapillerler dikkati çekmektedir.



Şekil 4.9: Kontrol ve tadalafil gruplarına ait iyileşme bölgeleri. Kalp: artmış hücre yoğunluğu, yıldız: hyalinozis, kuyruklu ok: kapiller, ok başı: epitel, ince ok: kıl folikülü, pd: papiller dermis, rd: retiküler dermis, E: epidermis, 1: st.bazale, 2: st. spinozum, 3: st. granulozum, 4: st.corneum. Boya: H-E. **A:** Kontrol grubu. Büyütme: x40. Bar: 0,5 µm, **B:** Tadalafil grubu. Büyütme: x10. Bar: 1 µm

Şekil 4.9’da kontrol ve tadalafil gruplarında epidermis altında papiller dermiste PMNL, lenfosit ve bağ dokusu hücre artışı görülmektedir. Granülasyon sahalarındaki aksine epitel dokusunun bu alanlarda sağlamlığını ve devamlılığını sürdürdüğü dikkat çekmektedir.



Şekil 4.10: Tadalafil grubuna artmış PMNL-lenfosit ve fibroblast benzeri hücrelerin yakından görünümü. Boya: H-E. **A:** Kar tanesi: ekstrasvaze eritrosit, L: lenfosit, n: nötrofil, m: monosit, p: plazmosit Büyütme: x100. Bar: 0,5 μ m, **B:** Kalp: artmış hücre yoğunluğu, kalem: fibroblast benzeri hücreler. Büyütme: x40. Bar: 0,5 μ m

Şekil 4.10'de, hem kontrol hem de tadalafil gruplarında artmış ve granülasyon dokusunda ve iyileşme alanlarında yoğun olarak izlenen PMNL-lenfosit, fibroblast benzeri hücrelerin yakından görünümleri izlenmektedir. Flepin yaşayabilirliğini korunması ve yara yerinin iyileşmesinde yeni kollajen yapımı önemlidir ve bu yapıyı sağlamak üzere her iki grupta da fibroblast benzeri hücreleri artmış sayıda görülmektedir. Aynı bölgelerde inflamasyon da devam ettiği için PMNL-lenfosit sayısı da artmış ve hücreler belirli bölgelerde yoğunlaşmalar göstermişlerdir.

Çalışmanın bu kısmında tadalafil etken maddeli preparatın flep yaşayabilirliği üzerine etkisi histolojik açıdan incelenmiştir. Her iki grupta da nekrotik alana rastlanmamış olmakla birlikte yara yeri iyileşmesinin gruplar arasında

benzer hızda ilerlediği görülmüştür. Sonuç olarak, kontrol ve deney grupları arasında incelenen genel parametreler açısından ışık mikroskopik olarak belirgin fark gözlenmemekle birlikte yara iyileşmesini hızlandırıcı bir faktör olduğu bilinen vaskülarizasyon artışı deney grubunda daha yüksek oranda izlenmiştir. Yapılan istatistiksel incelemelerde de vaskülarizasyon artışı anlamlı olarak bulunmuştur. Ancak diğer parametrelerde istatistiksel olarak fark tespit edilememiştir.

	Tadalafil Grubu (n=8) Ortalama ± ss Ortanca (min-maks)	Kontrol Grubu (n=8) Ortalama ± ss ortanca(min-maks)	p
Damar Yoğunluğu	10.04 ± 1.65 10.75 (7.13 – 11.88)	7.29 ± 1.10 7.43 (5.88 – 8.50)	0.003
PMNL-Lenfosit Yoğunluğu	2.62 ± 1.06 2.50 (1.00 – 4.00)	2.62 ± 1.40 3.00 (1.00 – 4.00)	0.959
Papiller Dermiste Ödem	2.25 ± 1.58 2.00 (0 – 4.00)	2.50 ± 1.30 2.00 (1.00 – 4.00)	0.721
Retiküler Dermiste Ödem	2.62 ± 1.40 2.50 (0 – 4.00)	2.50 ± 0.53 2.50 (2.00 – 3.00)	0.721
Ekstravaze Eritrositler	3.12 ± 0.83 3.00 (2.00 – 4.00)	2.50 ± 1.51 2.50 (0 – 4.00)	0.505
Kollajenlerde Ödem	2.62 ± 1.40 2.50 (0 – 4.00)	2.25 ± 1.03 2.00 (1.00 – 4.00)	0.505

Tablo 4.10: Histolojik değerlendirme parametrelerinin tadalafil ve kontrol grupları arasında karşılaştırılması (ss:standart sapma, min: minimum, maks:maksimum, p:istatistiksel anlamlılık) P değerleri Mann Whitney U testi ile hesaplandı.

5. TARTIŞMA

Vücutun dış örtü tabakası olan cildin, büyük defektlerinin kapatılması, plastik, rekonstrüktif ve estetik cerrahinin önemli sorunlarından. Doku defektlerinin kapatılmasında form ve fonksiyon sağlamak amacı ile flepler sık başvurulan yöntemlerdendir. Sık kullanılmasına rağmen flep kaybı ve nekrozu önemli bir sorun olmaya devam etmektedir (32-36). Nekroz oluşunca ek cerrahi girişimler, hastanede kalış süresinde artış, artan tedavi masrafları gibi istenmeyen sonuçlar meydana gelmektedir. Bu bağlamda random paternli fleplerin distal kısmının yaşayabilirliğini arttırarak nekroz görülme sıklığını azaltmak klinik olarak önemli bir hedeftir (37,38).

Flebin elevasyonu ile birlikte dokuya olan kan akımı bozulur. Sempatik innervasyonun ortadan kalkmasını takiben vazokonstrüktör ajanlar salınır(6). Ayrıca flebe kan akımı sağlayan pedikül haricindeki kan damarlarının, flebin kaldırılması esnasında kesilmesi, doku perfüzyonuna olumsuz yönde etki eder. Vazokonstrüktör ajanların salınımı, lökositler tarafından oluşturulan endotel hasarı, ve düşen perfüzyon basıncı sonucunda flebin distal kısmında akut iskemi gelişir ve devamı halinde ilerleyen safhalarda nekrozla karşılaşılır (1).

Flep nekrozlarında anatomik, fizyolojik, fizyopatolojik ve metabolik nedenler rol oynamaktadır. Bu başlıklar altında da arteriyel iskemi, venöz iskemi, iskemik dokudaki anaerobik metabolizma ile laktat birikimi, iskemi ve sonrasındaki reperfüzyonlar ile ortaya çıkan oksijen radikalleri ve anormal inflamatuvar yanıtın sözedilebilir (39-43).

Flep nekrozuna sebebiyet verdiği düşünülen bu mekanizmaları ortadan kaldırmak amacı ile cerrahi veya farmakolojik geciktirme yöntemleri ve bazı farmakolojik ajanlar kullanılmaktadır. Sempatolitikler, vazodilatörler, kalsiyum kanal blokörleri, hemoreolojik ajanlar, prostaglandin inhibitörleri, antikoagülanlar ve serbest radikalleri ortadan kaldıran preparatlar farmakolojik ajanlar başlığı altında sayılabilir (44-57).

Günümüzde fosfodiesteraz ailesine yönelik çalışmalar devam etmekle birlikte, substrat afinitesi, özgünlüğü, doku dağılımı ve hücre alt lokalizasyonları doğrultusunda fosfodiesteraz ailesi 11 alt gruba ayrılmaktadır (17,18). Aile

içerisinde farklı doku dağılımları gösteren izoenzimlere özgü seçici inhibitörlerin geliştirilmesi, ilaç endüstrisi için önemli farmakolojik hedefler haline gelmiştir. Çalışmada kullanılan FDE5 grubuna yönelik inhibitör ajanlar bu aile içerisinde yapılan incelemeler arasında en popüler olanlarındandır. FDE5 özellikle trombosit ve damar düz kasları üzerinde yer almaktadır (17). FDE5 inhibitörleri cGMP'nin FDE5 enzimi tarafından hidrolize edilmesini engellemekte ve ortamda cGMP düzeyinde artışa neden olmaktadır. Ortamda artan cGMP sayesinde periferik arter ve venler üzerinde vazodilatasyon, trombosit agregasyonunda ise inhibisyon ortaya çıkmaktadır (25,26).

İnhibisyon sonrasında ortaya çıkan sonuçların flep yaşayabilirliği üzerinde olumlu etkiler doğurabileceğini düşünen araştırmacılar son yıllarda FDE5 inhibitörleri üzerinden önemli çalışmalara imza atmışlardır.

Sildenafil sitrat FDE5 inhibitörlerinin ilk bilinenlerindedir. Sildenafilin random paternli cilt fleplerinin yaşamı üzerine olan potansiyel etkileri ilk kez Sarifakioglu ve arkadaşları tarafından araştırılmıştır. Çalışma sonunda sildenafilin random paternli cilt fleplerinde oral yoldan günde iki kez 10 mg/kg/gün dozundan kullanılmasının flep yaşayabilirliği üzerinde etkili olduğu sonucuna varmışlardır (58).

Ulusoy ve arkadaşları flep yaşama oranını artırmak için sildenafil sitratın bir bölgeye özel uygulanabilmesi için fibrin yapıştırıcı ile birlikte kullanmışlar, 2.5 mg/kg/gün ve 10 mg/kg/gün dozundan lokal sildenafil uygulaması yapılan gruplarda flep yaşayabilirliği üzerine olumlu katkı sağladığını görmüşlerdir (59).

Hart ve arkadaşları da periton içine uygulanan sildenafilin rat sırtından kaldırdıkları random paternli flep üzerine kısa ve uzun dönem etkilerini incelemişlerdir. Çalışma sonucuna göre sildenafil uygulanan fleplerde 1. ve 3. gün anlamlı derecede flep nekrozunda ve ödeminde azalma olduğu, ancak 5. ve 7. günde gözlenen azalmanın 1. ve 3. gündeki kadar belirgin olmadığı sonucuna varmışlardır (60).

Günümüzde dört adet FDE5 inhibitörü piyasada kendine yer bulmuştur. Jenerik isimleri sildenafil, vardenafil, tadalafil ve udenafil olan bu ilaçların yarılanma ömürleri sırayla 4, 4-5 , 17.5 ve 12 saat kadardır (27).

Literatür tarandığında, FDE5 inhibitörleri ile ilgili yapılan çalışmalar olduğu ancak yarılanma ömrü diğerlerine göre daha uzun olan tadalafil ile ilgili kısıtlı sayıda çalışma olduğu görüldü.

Tadalafil FDE5 ailesinin (sildenafil, vardenafil, udenafil) yarılanma ömrü en uzun olan üyesidir (27,28). Farmakokinetik profiline bakıldığında maksimum plazma konsantrasyonuna 2 saatte ulaştığı ve eliminasyon yarı ömrünün 17.5 saat olduğu sonucuna varılmıştır (29,30). Deneysel hayvanları üzerinde yapılan çalışmalarda ise tadalafil dozunun 0.5 ile 10 mg/kg/gün aralığında kullanılabileceği (61-64), bununda klinik doz olarak 2.5 mg/gün ile 40 mg/gün dozlarına denk geldiği gösterilmiştir (64).

Yakın tarihli çalışmalarda FDE5 inhibitörlerinin güvenilir oldukları ve koroner arter hastalığı olan kişilerde kardiyovasküler riski artırmadığı sonucuna varılmıştır (27,65,66). Endotelial fonksiyon bozukluğuna sahip yüksek riskli kardiyovasküler grupta da endotelial fonksiyon sağlayıp damar ve myokard dokusu üzerinde koruyucu etkileri olduğu gösterilmiştir (67-75).

Çeşitli çalışmalar sildenafil ve vardenafilin infarkt boyutunu küçülttüğünü, apoptozisi azalttığı, iskemik reperfüzyon sonrası ve deneysel olarak oluşturulan kalıcı koroner arter ligasyonu sonrasında ortaya çıkan kardiyak disfonksiyonu azalttığını göstermişlerdir (70,76,77).

Sesti ve arkadaşları tadalafilin infarkt boyutunu azalttığını ratlar üzerinde yaptıkları çalışmada göstermişler ancak myokardiyal kontraktileti tam ortaya koyamamışlardır. Çalışmada kullanılan ratlarda oluşturulan koroner arter oklüzyonundan 2 saat önce 10 mg/kg dozundan orogastrik yoldan tadalafil verilmiş; çalışmanın sonuçları tadalafilin myokardiyal iskemik alanı azalttığı, arteriyel basınçta azalma sağlarken koroner çalma fenomeni yapmadığı ve koroner oklüzyon süresince olan aritmiylede ilişkili olmadığını göstermiştir. Tadalafil kullanımı ile iskemi-reperfüzyon süresince ortalama arteriyel basınç, sistolik kan basıncı ve diyastolik kan basıncı üzerinde orta seviyeli azalma olduğu görülmüş, diğer çalışmalarda sildenafil ve vardenafil ile sistolik ve diyastolik kan basınçları üzerinde çok az düşüş olduğu raporlanmıştır. Ayrıca tadalafil deneysel olarak koroner oklüzyon modeli oluşturulan grupta iyi tolere edilmiş ve kalp hızını, aritmi

ve koroner kaçağı artırdığı yönünde bir kanıt elde edilmemiştir. İlâveten tadalafil kalp üzerinde koruyucu etkiye sahip olduğu ve akut koroner arter hastalarında da iskemik hücre ölümünü önemli ölçüde azalttığı görülmüştür (78).

Ahmad ve arkadaşları tadalafilin kalpte oluşturulan iskemik hasar üzerine olan koruculuğunu değerlendirmişler; çalışmada tadalafil 5 mg/kg dozunda kullanılmıştır. Çalışma sonucunda tadalafilin hücre koruyucu özelliğinin olduğu, sol ventrikül sonu diyastolik basıncını azalttığı, sol ventrikülün basıncını artırdığı ve laktad dehidrogenaz salınımını azalttığı gözlenmiştir. Tadalafilin kalp üzerindeki koruyucu etkisinin 36 – 40 saat boyunca devam ettiği 36. ve 72. saatlerde yapılan ilave dozun ise bu koruyuculuğu 108 saate kadar çıkardığı tespit edilmiştir (79).

Koktekir ve arkadaşları serebral vazospazma yeni yaklaşım başlıklı çalışmalarında ratlarda oluşturulan deneysel vazospazm modelinde tadalafilin anjiografik etkisini araştırmışlardır. Çalışmanın neticesinde serebral vazospazmın akut ve kronik periyotlarında tadalafilin vazospastik damarlar üzerinde vazodilatör etki ortaya çıkardığını göstermişlerdir (80).

Kaya ve arkadaşları tarafından ratlarda yapılan bir çalışmada tadalafilin iskemik ince bağırsaklarda anastomoz iyileşmesi üzerine olan etkileri değerlendirilmiştir. Çalışmada tadalafilin vazodilatasyon ve antiagregan etkisi sayesinde anastomoz hattı üzerinde ve özellikle iskemik alanda olumlu etkiler ortaya çıkardığı gözlenmiştir (81).

Fosfodiesteraz 5 inhibitörlerinden yarılanma ömrü en uzun olan tadalafil ile piyasaya çıkan ilk FDE5 inhibitörü sildenafilin yarılanma ömrü arasındaki fark, flep modellerinde kullanılan sildenafilin flep yaşayabilirliğini artırması ve tadalafilin yukarıdaki paragraflarda belirtildiği gibi kardiyovasküler sistem üzerindeki olumlu etkilerinden yola çıkılarak flep cerrahisi üzerinde olumlu sonuçlar doğuracağı düşünülerek çalışma planlandı.

Çalışmada, Wistar albino cinsi erkek sıçanlarda, 3x9 cm uzunluğundaki kaudal tabanlı, random paternli dorsal yarımada fleplerinde flep yaşayabilirliğini artıracığı düşünülen, FDE5 inhibitörü olan tadalafilin etkileri araştırıldı. Makroskopik inceleme, dijital alan ölçümleri, lazer Doppler kan akımı ölçümü ve histopatolojik parametreler kullanarak flep sağkalım oranlarını değerlendirildi.

Çalışma kontrol grubu ve tadalafil grubu olmak üzere iki grup şeklinde

yürütüldü. Toplam 16 hayvan üzerinden yapılan çalışmada kontrol vetadalafil gruplarında sekizer hayvan kullanıldı. Tadalafil grubunda yer alan hayvanlara, 3x9 cm'lik kaudal tabanlı random paternli dorsal yarımada flebi kaldırılmadan 2 saat önce orogastrik yoldan tekdoz 10 mg/kg tadalafil verildi. Kontrol grubunda da benzer stres oluşturmak amacı ile flep kaldırılmadan 2 saat öncesinde orogastrik yoldan serum fizyolojik uygulaması yapıldı

Literatür tarandığı zaman tadalafilin flep cerrahisinde sadece bir çalışmada kullanıldığı görüldü. Oh ve arkadaşlarının yapmış oldukları bu çalışmada rat sırtından 2x9 cm'lik aksiyel paternli flep kaldırıp, flep pedikülü çevresine 3 gün boyunca enjeksiyon yapmışlardır. Kontrol grubuna günlük serum fizyolojik yapılırken, deney grubuna günlük 10 mg/kg dozundan tadalafil uygulanmıştır. Sonuçlar incelendiğinde tadalafilin lokal olarak enjekte edilmesinin flep yaşayabilirliğini artırdığı gözlemlenmiştir (91).

Tadalafil ile ilgili yayınlara bakıldığında birden fazla (80-88) veya tek doz (78,79,89-91) halinde uygulama yapılan çalışmalar mevcut olup tek doz kullanımı ile de olumlu sonuçlar alınan çalışmalar mevcuttur. Burdan yola çıkarak çalışmada tadalafil tek doz olarak kullanıldı. Çalışma sonuçları incelendiğinde nekroz oranlarında istatistiksel olarak anlamlı bir sonuca ulaşılmadı. Lazer Doppler sonuçlarında da kontrol grubunda flebin kaldırılıp yerine hemen iade edildiği ilk hafta ölçümleri ile ikinci hafta ölçümlerinin minimum, ortalama ve maksimum kan akımı değerlerine bakıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç elde edilemezken, tadalafil verilen grupta ilk hafta ile ikinci hafta ölçümleri arasında minimum, ortalama ve maksimum kan akımlarındaki artış istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Histolojik inceleme başlığı altında bakılan parametlerdenise sadece damar yoğunluğu artışında tadalafil grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farka ulaşıldı ve tadalafil kullanımının damar yoğunluğunu artırdığı görüldü.

Fosfodiesteraz 5 inhibitörlerinin kan akımı ve damar yoğunluğu artışı üzerine olan olumlu etkileri Sarifakioglu, Ulusoy, Hart, Oh, Koktekir, Kayave arkadaşlarının yaptığı çalışmalarda gösterilmiş olup yapılan diğer araştırmalarda FDE5 inhibitörlerinin kardiyovasküler sistem üzerinde koruyucu etkiye sahip oldukları gösterilmiştir (27,65-79). Bu çalışmada da yukarıda sayılan araştırmalarla benzerlik

gösterecek şekilde, lazer Doppler sonuçlarındaki artış ile damar yoğunluğundaki artışın istatistiksel olarak anlamlı bulunması, tadalafilin flep yaşayabilirliği üzerine olumlu katkı sağlayacağını düşündürmekle birlikte nekroz oranları ve diğer histopatolojik parametrelerdeki istatistiksel olarak anlamlı olmayan neticelerin elde edilmesi, bir nedene bağlanamamıştır. Bu doğrultuda tadalafilin etkisinin kesin olarak gösterilebilmesi için daha geniş kapsamlı ve ileri çalışmalar yapılması uygun olacaktır.

6. SONUÇLAR

Sıçan sırtında oluşturulan random paternli cilt flep modelinde tadalafilin flep yaşayabilirliği üzerine olan etkisinin araştırıldığı bu deneysel çalışmada elde edilen sonuçlar şu şekilde özetlenebilir:

1. Tadalafil verilen grupta kan akımı ve damar yoğunluğu artışı istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

2. Kontrol ve tadalafil grubu arasında nekroz alan ölçümlerinde ve damar yoğunluğu haricindeki diğer histolojik parametrelerde anlamlı bir fark saptanmamıştır.

Tadalafilin kan akımı ve damar yoğunluğu üzerinde sağladığı artış flep yaşayabilirliği üzerinde olumlu bir sonuç gibi görünmekle beraber yapılacak daha geniş çalışmalar bu ilacın flep yaşayabilirliği üzerine etkisi hakkında daha fazla bilgiye ulaşılmasını sağlayacaktır.

ÖZET

Sıçan Sirtında Oluşturulan Random Paternli Cilt Flep Modelinde Tadalafil'in Flep Yaşayabilirliği Üzerine Olan Etkisinin Araştırılması

Amaç: Tadalafil, FDE5 inhibisyonu yaparak cGMP düzeyinde artış sağlamaktadır. Bu durum trombosit agregasyonunda inhibisyona ve damarlarda vazodilatasyona neden olmaktadır. Bu çalışmada tadalafilin sıçan sırtında oluşturulan random paternli cilt flep modelinde flep yaşayabilirliği üzerine olan etkisi araştırılmıştır.

Yöntem: Hayvanlar her bir grupta 8 hayvan olacak şekilde randomizasyon yöntemi ile 2 gruba ayrıldı. İkinci gruba cerrahiden 2 saat önce serum fizyolojik ile hazırlanmış olan tadalafil 10 mg/kg dozundan orogastrik tüp kullanılarak verildi. Birinci gruptaki hayvanlarda da benzer stres oluşturmak amacıyla orogastrik tüp kullanılarak 1.5 cc serum fizyolojik oral yoldan verildi. Sıçan dorsumundan 3x9 cm'lik kaudal tabanlı McFarlane Flebi planlanıp eleve edildi. Cerrahiyi hemen takiben ve postoperatif 7. günde proksimal 1/3 orta noktalarından lazer Doppler ile 1 dakika süreyle kayıt alındı ve bu kayıtlar biyoistatistiksel olarak karşılaştırıldı. Postoperatif 7. günde flepler dijital fotoğraf makinesi ile görüntülene ve nekroz alanı / tüm flep yüzdeleri dijital ortamda hesaplandı. Daha sonra histopatolojik incelemeler için flebin ortasından tam kat doku örneği alındı. Deney protokolü sona erince sıçanlar yüksek doz anestezi madde uygulanarak sakrifiye edildiler. Alınan biyopsiler ışık mikroskopu altında PMNL ve lenfosit yoğunluğu, ekstravaze eritrosit miktarı, papiller ve retiküler dermiste ödem varlığı, kollajenlerde ödem varlığı ve damar yoğunluğu açısından incelenip karşılaştırıldı.

Bulgular: İki grup arasında postoperatif 7. gün nekroz alanı oranları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir sonuca ulaşılmadı. Lazer Doppler ölçümleri karşılaştırıldığında ise tadalafil grubundaki sıçanlarda postoperatif 7. gün kan akımlarında anlamlı bir artışa ulaşılırken kontrol grubundaki sıçanlarda istatistiksel olarak anlamlı bir artış saptanmadı. Yapılan histopatolojik incelemelerde de tadalafil uygulanan grupta kontrol grubuna göre damar yoğunluğunda anlamlı bir artış olduğu ancak diğer histolojik parametlerde bir fark olmadığı gözlemlendi.

Sonuç: Tadalafilin kan akımı ve damar yoğunluğu üzerinde sağladığı artış flep yaşayabilirliği üzerinde olumlu bir sonuç gibi görünmekle beraber yapılacak daha geniş çalışmalar bu ilacın flep yaşayabilirliği üzerine etkisi hakkında daha fazla bilgiye ulaşılmasını sağlayacaktır.

Anahtar Sözcükler: Flep yaşayabilirliği, flep cerrahisi, tadalafil, sıçan

SUMMARY

Study of the Effect of Tadalafil on Flap Viability in Randomly Patterned Rat Dorsal Flaps

Aim: Tadalafil inhibites FDE5 and increases CGMP. This situation causes inhibition of platelet aggregation and vasodilation in vessels. This study is planned to evaluate the effect of tadalafil on flap viability in randomly patterned rat dorsal flaps.

Methods: Rats were divided into 2 groups with 8 rats in each one within randomised pattern. 10 mg/kg dose tadalafil was prepared to saline, received orogastrically 2 hours before the surgery in the second group. In order to compose the similar stress on the first group animals, 1.5 cc saline was administered orally by using orogastric tube. A caudal based McFarlane flap with 3x9 cm was planned on rat dorsum and elevated. Immediately after surgery and postoperative day 7, laser Doppler recordings were taken for one minute from proximal 1/3 midpoint of fixed areas and the records were compared biostatistically. Photographs of flaps were taken on postoperative day 7 and the percentage of necrosis area over the total flap area was calculated digitally. After that full thickness biopsies were taken from the midline from all of the flaps for histopathological examination and then animals were sacrificed with high dose anesthetic drugs. Biopsies were examined under light microscopy and compared for the PMNL and lymphocyte counts, extravasated erythrocyte counts, edema formation in papillary and reticular dermis, edema formation in collagens and vessel density.

Results: According to statistical results there was no significant difference found in the comparison of both groups in terms of the percentage of necrotic areas on postoperative day 7. When we compare the laser Doppler recordings, recordings from the rats in tadalafil group on postoperative day 7 were significantly higher and the rats in control group were no significant difference in terms of statistical results. Vessel density were found to be more expressive in histopathological assessments of the tadalafil group compared to the control group but in histopathologic parameters there were no significant differences.

Conclusion: Tadalafil increased blood flow and vessel density. It can be seen that tadalafil had positive result for flap viability however further studies on tadalafil will help us to get more information about the effect of tadalafil on flap viability.

Keywords: Flap viability, flap surgery, tadalafil, rat.

KAYNAKLAR

1. Vedder N. B., 2006. Flap Physiology. Mathes Plastic Surgery, 2nd ed., volume 1, Saunders Elsevier, Philadelphia, 483-506 p.
2. Taylor GI, Palmer JH: The vascular territories(angiosomes) of the body: experimental study and clinical applications. Br J Plast Surg 1987;40:113,141.
3. Gatti JE, LaRossa D, Neff SR, Silverman DG. Altered skin flap survival and fluorescein kinetics with hemodilution. Surgery 1982; 92(2):200-205.
4. Kim KZ, Thompson DH, George TF, McQuillan PM, Kao TC. Effect of anemia on survival of myocutaneous flaps in the pig. Otolaryngol Head Neck Surg 1994; 111(4):509- 512.
5. Burnstock G, Ralevic V: New insights into the local regulation of blood flow by perivascular nerves and endothelium. Br. J Plast Surg 1994;47:527-543.
6. Daniel RK. and Kerrigan CL, Principles and physiology of skin flap surgery. JG McCarthy, Editor, Plastic Surgery, WB Saunders, Philadelphia (1990), pp. 275–328.
7. Banbury J. et al., Muscle flaps triphasic microcirculatory response to sympathectomy and denervation. Plast Reconstr Surg, 1999. 104(3): p. 730-737.
8. Kerrigan CL. and Daniel RK., Monitoring acute skin-flap failure. Plast Reconstr Surg, 1983. 71(4): p. 519-24.
9. Kerrigan CL. and Daniel RK., Skin flap research: a candid view. Ann Plast Surg, 1984. 13(5): p. 383-7.
10. Nathanson SE. and Jackson RT., Blood flow measurements in skin flaps. Arch Otolaryngol, 1975. 101(6): p. 354-7.
11. Palmer B., G. Jurell, and Norberg KA., The blood flow in experimental skin flaps in rats studied by means of the 133 xenon clearance method. Scand J Plast Reconstr Surg, 1972. 6(1): p. 6-12.
12. Bayramiçli M. Deneysel Mikrocerrahi. İstanbul: Argos İletişim Hizmetleri Reklamcılık ve Ticaret AŞ., 2005. Bölüm 1.5, sayfa 85.
13. McFarlane RM, De Young G, Henry RA. The design of a pedicle flap in the rat to study necrosis and prevention. Plastic and Reconstructive Surgery. 1965; 35: 177-182.

14. Myers MB ve Cherry G. Augmentation of survival in pedicle skin flaps by the chemical production of ischemia. *Surg Forum.* 22:485, 1971.
15. Khouri RK, Angel MF, Edström LE. Standardizing the dorsal rat flap. *Surg Forum.* 37:590, 1986.
16. Khouri RK, Edström LE, Angel MF. The dorsal rat flap: an appraisal of the model. *Surg Forum.* 37:598, 1986.
17. Boswell-Smith V, Spina D, Page CP. Phosphodiesterase inhibitors. *Br J Pharmacol.* 2006;147: 252-257.
18. Lugnier R. Cyclic nucleotide phosphodiesterase superfamily: a new target for the development of specific therapeutic agents. *Pharmacol Ther* 2006; 109:366-398
19. Brock GB, McMahon CG, Chen KK, Costigan T, Shen W, Watkins V, et al. Efficacy and safety of tadalafil for the treatment of erectile dysfunction: results of integrated analyses. *J Urol* 2002;168: 1332–6.
20. Galie N, Brundage BH, Ghofrani HA, Oudiz RJ, Simonneau G, Safdar Z, et al. Tadalafil therapy for pulmonary arterial hypertension. *Circulation* 2009;119:2894–903.)
21. Schwarz ER, et al. The effects of chronic phosphodiesterase-5 inhibitor use on different organ systems, *Int J Impot Res.* 2007 Mar-Apr;19(2):139-48.
22. Salloum FN, et al. Phosphodiesterase-5 inhibitor, tadalafil, protects against myocardial ischemia/reperfusion through protein-kinase g-dependent generation of hydrogen sulfide, *Circulation.* 2009 Sep 15;120(11 Suppl):S31-6.
23. Reffelmann T, et al. The cardiovascular safety of tadalafil, *Expert Opin Drug Saf.* 2008 Jan;7(1):43-52.
24. Moncada S, Higgs A. The L-arginine-nitric oxide pathway. *N Engl J Med* 1993; 329: 2002-12
25. Li Z, Xi X, Gu M, et al. A stimulatory role for cGMP-dependent protein kinase in platelet activation. *Cell* 2003;112:77–86.
26. Bischoff E. Potency, selectivity, and consequences of nonselectivity of PDE inhibition. *Int J Impot Res* 2004;16:11–4.
27. Kloner RA. Cardiovascular effects of the 3 phosphodiesterase-5 inhibitors approved for the treatment of erectile dysfunction. *Circulation* 2004;110:3149–55.
28. Wright PJ. Comparison of phosphodiesterase type 5 (PDE5) inhibitors. *Int J Clin Pract* 2006;60:967–75.

29. Salloum FN, Chau VQ, Hoke NN, Abbate A, Varma A, Ockaili RA, Toldo S, Kukreja RC. Phosphodiesterase-5 inhibitor, tadalafil, protects against myocardial ischemia/reperfusion through protein-kinase g-dependent generation of hydrogen sulfide. *Circulation*. 2009;120:31-36.
30. Rosen RC, Kostis JB. Overview of phosphodiesterase 5 inhibition in erectile dysfunction. *Am J Cardiol* 2003;92:9-18.
31. Ulusoy MG, Uysal A, Koçer U, Karaaslan O, Cuzdan SS, Ayyildiz A, Ustün H. Improved flap viability with site-specific delivery of sildenafil citrate using fibrin glue. *Ann Plast Surg*. 2005;55:292-296.
32. Smith JD, Pribaz JJ. Flaps. In: Plastic surgery indications, operations and outcomes. Achauer BM, Eriksson E, Wilkins EG, Vandekam VM (editors). Second edition. St. Louis--Missouri: Mosby, 2000;1:261-290.
33. Karacaoğlu E, Yüksel F, Turan SO, Zienowicz RJ. Chemical delay: an alternative to surgical delay experimental study. *Ann Plast Surg* 2002; 49:73-81.
34. Daniel RK, Kerrigan CL. Principles and physiology of skin flap surgery. In: Plastic surgery. McCarthy JG (editor). Second edition. Philadelphia: W.BSaunders company, 1990;1:275-328
35. Williams PB, Hankins DB, Layton CT, Phan T, Pratt MF. Long-term pretreatment with pentoxifylline increases random skin flap survival. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1994;120:65-71.
36. Eroğlu L, Karacaoğlu N, Uysal OA. The effect of pentoxifylline on venous flap survival. *Eur J Plast Surg* 2001;24:169-171.
37. Pang Y, Lineaweaver WC, Lei MP, Oswald T, Shamburger S, Cai Z, Zhang F. Evaluation of the mechanism of vascular endothelial growth factor improvement of ischemic flap survival in rats. *Plast Reconstr Surg* 2003;112:556-564.
38. Foster BC, Arnason JT, Briggs CJ. Natural Health Products and Drug Disposition. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2005;45:203-226.
39. Kerrigan C.L. and R.K. Daniel, Pharmacologic treatment of the failing skin flap. *Plast Reconstr Surg*. 1982;70:541-549
40. Hoopes JE and Im MJ. Skin flap necrosis in guinea pigs: limitation of glucose supply and accumulation of lactate. *Plast Reconstr Surg*. 1978;61:748-752.
41. Heden P, Sollevi CT, Hamberger B. Early circulatory and metabolic events in island skin flaps of the pig. *Plast Reconstr Surg*. 1989;84(3) :468-474.
42. Stadelman WK, Hess DB et al. Aprotinin in ischemia-reperfusion injury: Flap survival and neutrophil response in a rat skin flap model. *Microsurgery*. 1998;18:

354 – 361.

43. Manson PN, Anthenelli RM, Im MJ et al. The role of oxygen-free radicals in ischemic tissue injury in island skin flaps. *Ann Surg* 1983; 198:87 – 90.

44. Ergun H, Cilingir MG, Apaydin I, et al. The effect of dipyrone on survival of skin flaps. *Scand J Plast Reconstr Surg Hand Surg*. 2001;35:19 –22.

45. Tellioglu AT, Uras KA, Yılmaz T, et al. The effect of carnitine on random-pattern flap survival in rats. *Plast Reconstr Surg*. 2001;108: 959 –962.

46. Shalom A, Herbert M, Westreich M. Effect of aspirin on random pattern flap survival in rats. *Eur J Plast Surg*. 2000;23:21–24.

47. Wray RC Jr, Young VL. Drug treatment and flap survival. *Plast Reconstr Surg*. 1984;73:939–942.

48. Esclamado RM, Larrabee WF Jr, Zel GE. Efficacy of steroids and hyperbaric oxygen on survival of dorsal skin flaps in rats. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 1990;102:41–44.

49. Freedman AM, Hyde GL, Luce EA. Failure of pentoxifylline to enhance skin flap survival in the rat. *Ann Plast Surg*. 1989;23:31–34.

50. Emekli U, Tuncer S, Kabakas F, et al. The effect of short- versus long-term administration of alpha tocopherol on the survival of random flaps in experimental diabetes mellitus. *J Diabetes Complications*. 2004;18:249 –257.

51. Davis RE, Wachholz JH, Jassir D, et al. Comparison of topical anti- ischemic agents in the salvage of failing random pattern skin flaps in rats. *Arch Facial Plast Surg*. 1999;1:27–32.

52. Miyawaki T, Jackson IT, Bier UC, et al. The effect of capsaicin ointment on skin for the survival of a cutaneous flap. *Eur J Plast Surg*. 2001;24: 28 –30.

53. Nakanishi Y, Nakajima T, Yoshimura Y, et al. The transepidermal absorption of prostaglandin E1 as a topical ointment: an experimental study of application over a rat skin flap. *Ann Plast Surg*. 1998;40:44 – 47.

54. Huemer GM, Wechselberger G, Otto-Schoeller A, et al. Improved dorsal random-pattern skin flap survival in rats with a topically applied combination of novamide and nicoboxil. *Plast Reconstr Surg*. 2003;111: 1207–1211.

55. Morain WD, Pettit RJ, Rothkopf DM, et al. Augmentation of surviving flap area by intraarterial vasodilators administered through implantable pumps. *Ann Plast Surg*. 1983;11:46–52.

56. Nichter LS, Sobieski MW, Edgerton MT. Efficacy of topical nitroglycerin for random pattern skin-flap salvage. *Plast Reconstr Surg*. 1985;75: 847– 852.

57. Rohrich RJ, Cherry GW, Spira M. Enhancement of skin-flap survival using nitroglycerin ointment. *Plast Reconstr Surg*. 1984;73:943–948.
58. Sarifakioglu N, Gokrem S, Ates L, Akbuga UB, Aslan G. The influence of sildenafil on random skin flap survival in rats: an experimental study. *Br J Plast Surg*. 2004;57:769-772.
59. Ulusoy MG, Uysal A, Kocer U, Karaaslan O, Cuzdan SS, Ayyildiz A, Ustun H. Improved Flap Viability Site-Specific Delivery of Sildenafil Citrate Using Fibrin Glue. *Annals of Plastic Surgery*, 2005;55:292-296.
60. Hart K, Baur D, Hodam J, Lesoon-Wood L, Parham M, Keith K, et al. Short- and longterm effects of sildenafil on skin flap survival in rats. *Laryngoscope*, 2006;116:522-528.
61. Tsai BM, Turrentine MW, Sheridan BC, Wang M, Fiore AC, Brown JW, et al. Differential effects of phosphodiesterase-5 inhibitors on hypoxic pulmonary vasoconstriction and pulmonary artery cyto- kine expression. *Ann Thorac Surg* 2006;81:272–278.
62. Ko IG, Shin MS, Kim BK, Kim SE, Sung YH, Kim TS, et al. Tadalafil improves short-term memory by suppressing ischemia-induced apoptosis in hippocampal neuronal cells in gerbils. *Pharmacol Biochem Behav* 2009;91:629–635.
63. Oh M, Chang H, Minn KW. The effects of tadalafil on axial-pattern skin flap survival in rats. *Dermatol Surg* 2008;34:626–630.
64. Sawamura F, Kato M, Fujita K, Nakazawa T, Beardsworth A. Tadalafil, a long-acting inhibitor of pde5, improves pulmonary hemodynamics and survival rate of monocrotaline-induced pulmonary artery hypertension in rats. *J Pharmacol Sci* 2009;111: 235–243.
65. Jackson G, Kloner RA, Costigan TM, Warner MR, Emmick JT. Update on clinical trials of tadalafil demonstrates no increased risk of cardiovascular adverse effects. *J Sex Med* 2004; 1: 161–167.
66. Kloner RA, Padma-Nathan H. Erectile dysfunction in patients with coronary artery disease. *Int J Impot Res* 2005; 17: 209–215.
67. Kukreja RC, Ockaili R, Salloum F, Yin C, Hawkins J, Das A et al. Cardioprotection with phosphodiesterase-5 inhibition – a novel preconditioning strategy. *J Mol Cell Cardiol* 2003; 36: 165–173.
68. Rosano GMC, Aversa A, Vitale C, Fabbri A, Fini M, Spera G. Chronic treatment with tadalafil improves endothelial function in men with increased cardiovascular risk. *Eur Urol* 2005; 47: 214–222.
69. Takimoto E, Champion HC, Li M, Belardi D, Ren S, Rodriguez ER et al.

Chronic inhibition of cyclic GMP phosphodiesterase 5A prevents and reverses cardiac hypertrophy. *Nat Med* 2005; 11: 214–222.

70. Ockaili R, Salloum F, Hawkins J, Kukreja RC. Sildenafil (Viagra) induces powerful cardioprotective effect via opening of mitochondrial KATP channels in rabbits. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2002; 283:1263–1269.

71. Katz SD, Balidemaj K, Homma S, Wu H, Wang J, Maybaum S. Acute type 5 phosphodiesterase inhibition with sildenafil enhances flow-mediated vasodilation in patients with chronic heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2000; 36: 845–851.

72. Desouza C, Parulkar A, Lumpkin D, Akers D, Fonseca VA. Acute and prolonged effects of sildenafil on brachial artery flow-mediated dilatation in type-2 diabetes. *Diabetes Care* 2002; 25: 1336–1339.

73. Kimura M, Higashi Y, Hara K, Noma K, Sasaki S, Nakagawa K et al. PDE5 inhibitor sildenafil citrate augments endothelium-dependent vasodilation in smokers. *Hypertension* 2003; 41: 1106–1110.

74. Guazzi M, Samaja M. The role of PDE5-inhibitors in cardiopulmonary disorders: from basic evidence to clinical development. *Curr Med Chem*, 2007;14:2181–2191.

75. Kass DA, Champion HC, Beavo JA. Phosphodiesterase type 5: expanding roles in cardiovascular regulation. *Circ Res* 2007;101:1084–1095.

76. Salloum FN, Ockaili RA, Wittkamp M, Marwaha VR, Kukreja RC. Vardenafil: a novel type 5 phosphodiesterase inhibitor reduces myocardial infarct size following ischemia/reperfusion injury via opening of mitochondrial KATP channels in rabbits. *J Mol Cell Cardiol*. 2006;40:405–411.

77. Salloum FN, Abbate A, Das A, Houser J, Mudrick CA, Qureshi IZ, Hoke NN, Roy SK, Brown WR, Prabhakar S, Kukreja RC. Sildenafil (Viagra) attenuates ischemic cardiomyopathy and improves left ventricular function in mice. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2008;294:1398–1406.

78. Sesti C, Florio V, Johnson EG, Kloner RA. The phosphodiesterase-5 inhibitor tadalafil reduces myocardial infarct size. *Int J Impot Res* 2007;19:55–61.

79. Ahmad N, Wang Y, Ali AK, Ashraf M. Long-acting phosphodiesterase-5 inhibitor, tadalafil, induces sustained cardioprotection against lethal ischemic injury. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2009;297:387-391.

80. Koktekir E, Erdem Y, Akif Bayar M, Gokcek C, Karatay M, Kilic C. A new approach to the treatment of cerebral vasospasm: the angiographic effects of tadalafil on experimental vasospasm. *Acta Neurochir (Wien)*. 2010;152:463-469.

81. Kaya Y, Coskun T, Ayhan S, Kara E, Sakarya A, Var A. The effect of tadalafil on anastomotic healing in ischemic small intestine in rats. *Surg Today*. 2010;40:555-560.
82. Oh M, Chang H, Minn KW. The effects of tadalafil on axial-pattern skin flap survival in rats. *Dermatol Surg*. 2008;34:626-630.
83. Mostafa T, Rashed LA, Kotb K. Testosterone and chronic sildenafil/tadalafil anti-apoptotic role in aged diabetic rats. *Int J Impot Res*. 2010;22:255-261.
84. Koka S, Das A, Zhu SG, Durrant D, Xi L, Kukreja RC. Long-acting phosphodiesterase-5 inhibitor tadalafil attenuates doxorubicin-induced cardiomyopathy without interfering with chemotherapeutic effect. *J Pharmacol Exp Ther*. 2010;334:1023-1030.
85. Salloum FN, Chau VQ, Hoke NN, Abbate A, Varma A, Ockaili RA, Toldo S, Kukreja RC. Phosphodiesterase-5 inhibitor, tadalafil, protects against myocardial ischemia/reperfusion through protein-kinase g-dependent generation of hydrogen sulfide. *Circulation*. 2009;120:31-36.
86. Ozdegirmenci O, Kucukozkan T, Akdag E, Topal T, Haberal A, Kayir H, Oter S, Akyol M, Uzbay T. Effects of sildenafil and tadalafil on ischemia/reperfusion injury in fetal rat brain. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2011;24:317-323.
87. Zhang L, Zhang Z, Zhang RL, Cui Y, LaPointe MC, Silver B, Chopp M. Tadalafil, a long-acting type 5 phosphodiesterase isoenzyme inhibitor, improves neurological functional recovery in a rat model of embolic stroke. *Brain Res*. 2006;1118:192-198.
88. Tessler RB, Zadinello M, Fiori H, Colvero M, Belik J, Fiori RM. Tadalafil improves oxygenation in a model of newborn pulmonary hypertension. *Pediatr Crit Care Med*. 2008;9:330-332.
89. Serarslan Y, Yönden Z, Ozgiray E, Oktar S, Güven EO, Söğüt S, Yilmaz N, Yurtseven T. Protective effects of tadalafil on experimental spinal cord injury in rats. *J Clin Neurosci*. 2010;17:349-352.
90. Arikan DC, Bakan V, Kurutas EB, Sayar H, Coskun A. Protective effect of tadalafil on ischemia/reperfusion injury of rat ovary. *J Pediatr Surg*. 2010;45:2203-2209.
91. Guzeloglu M, Yalcinkaya F, Atmaca S, Bagriyanik A, Oktar S, Yuksel O, Fansa I, Hazan E. The beneficial effects of tadalafil on renal ischemia-reperfusion injury in rats. *Urol Int*. 2011;86:197-203.

