

اثر آزلایک اسید ۵٪ و مینوکسیدیل ۵٪ در کاهش ناحیه نکروتیک فلاپ‌های پوستی در موش صحرایی

زمینه و هدف: آسیب ناشی از ایسکمی خسارت‌های زیادی را در درمان بیماری‌های پوستی مانند جراحی‌هایی که بر روی فلاپ‌های پوستی انجام می‌شود، ایجاد می‌کند. مطالعه‌ی حاضر برای بررسی دو دارویی که در درمان بیماری‌های پوستی دارای کاربرد می‌باشند، در درمان آسیب ناشی از ایسکمی صورت گرفت.

روش اجرا: ۵۶ موش صحرایی در ۴ گروه قرار گرفتند: در دو گروه قبل از برداشتن فلاپ، مینوکسیدیل ۵٪ و آزلایک اسید ۵٪ به صورت موضعی بر روی ناحیه به کار برده شد. در تعدادی از موش‌های صحرایی که با مینوکسیدیل درمان شدند، از مهارکننده‌ی کانال‌های KATP (گلی‌بن‌کلامید ۰/۳ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم، داخل صفاقی) و در تعدادی از موش‌ها که با آزلایک اسید ۵٪ درمان شدند، از مهارکننده‌ی (L-NAME) Nitrous Oxide، ۲۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن، داخل صفاقی) استفاده شد. ۷ روز بعد از عمل میزان نکروز فلاپ پوستی محاسبه گردید.

یافته‌ها: درمان با آزلایک اسید یا مینوکسیدیل موضعی ناحیه نکروتیک را به شکل معنی‌داری به ترتیب ۴۲٪ ($P < 0.05$) یا ۳۴٪ ($P < 0.01$) کاهش داد. ترکیب آزلایک اسید با مینوکسیدیل اثرات خیلی قوی‌تری را در کاهش ناحیه نکروتیک ایجاد کرد (۲۶٪ ناحیه نکروتیک، $P < 0.001$). گلی‌بن‌کلامید اثرات محافظتی مینوکسیدیل ($P < 0.05$) و L-NAME اثرات محافظتی آزلایک اسید ($P < 0.05$) را از بین برد. درمان با گلی‌بن‌کلامید یا L-NAME اثرات محافظتی درمان ترکیبی را از بین بردند.

نتیجه‌گیری: مطالعه‌ی حاضر نشان‌دهنده‌ی نقش کانال‌های KATP در مسیر مینوکسیدیل و نیتریک اکسید در مسیر محافظتی ناشی از آزلایک اسید بود. به نظر می‌رسد که Overlap بین این مسیرها وجود داشته باشد.

کلیدواژه‌ها: مینوکسیدیل، آزلایک اسید، ایسکمی، گلی‌بن‌کلامید، L-NAME، فلاپ پوستی

دریافت مقاله: ۸۹/۳/۹ پذیرش مقاله: ۸۹/۴/۱۲

پوست و زیبایی؛ تابستان ۱۳۸۹، دوره ۱ (۲): ۷۸-۸۴

دکتر حمیدرضا پازکی طرودی^۱
دکتر مرجان عجمی^۲
روح‌اله حبیبی^۳
دکتر محمدعلی نیلفروش‌زاده^۴

۱. شرکت داروسازی نانوویشار
۲. گروه تغذیه، دانشگاه علوم پزشکی ایران
۳. گروه فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی ایران
۴. مرکز تحقیقات بیماری‌های پوستی و سالک، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، ایران

نویسنده مسؤول:

دکتر حمیدرضا پازکی طرودی

تهران، خیابان گاندی، کوچه ۱۹، شماره ۱۲، پست الکترونیک:

hpazooki@farabi.tums.ac.ir

مقدمه

ایجادشده باعث از بین رفتن بافت می‌گردد^{۱،۲}. در طول برقراری مجدد جریان خون به این بافت آسیب‌دیده ایجاد رادیکال‌های آزاد ناشی از اکسیژن در دسترس باعث ایجاد خرابی بیشتر بافت می‌گردد که از آن تحت عنوان آسیب ناشی از پرفیوژن یاد می‌شود^{۳-۶}. اگرچه مسأله‌ی انتقال فلاپ‌های آزاد در طی دهه‌های اخیر

فلاپ‌های پوستی در اغلب موارد جراحی‌های زیبایی برای بهبود بافت‌های آسیب‌دیده مورد استفاده قرار می‌گیرند^۱. با این وجود، مسأله‌ی عمده در این نوع جراحی‌ها کاهش خون‌رسانی به بخش‌های دیستال و ایجاد نکروز در این بخش‌ها می‌باشد که توسط ایسکمی

نیتریک اکسید نقش مؤثری را در فرایند حفظ بافت می‌تواند بازی کند.^{۲۳} جالب اینکه یکی از مسیرهای احتمالی برای محافظت بافت در برابر آسیب ایسکمی از طریق تولید نیتریک اکسید و باز شدن کانال‌های KATP می‌باشد.^{۲۴،۲۵} نشان داده شده است که مهار دی هیدروتستوسترون (DHT: dihydrotestosterone) باعث افزایش بیان نیتریک اکسید سنتتاز القایی در بافت بیضه و اپیدیدیم موش‌های صحرایی شد.^{۲۶} که یک پتانسیل محافظتی را برای مهارکننده‌های DHT نشان می‌دهد. آزلایک اسید که یکی از درمان‌های شناخته‌شده برای کاهش ضایعات التهابی و غیرالتهابی آکنه و لگاریس محسوب می‌گردد.^{۲۷،۲۸} می‌تواند DHT را مهار کند.^{۲۹،۳۰} در مطالعه‌ی حاضر اثر دو داروی مینوکسیدیل و آزلایک اسید در کاهش آسیب ناشی از ایسکمی پوست و نیز نقش کانال‌های KATAP و iNOS در این فرایند مورد بررسی قرار گرفت.

روش اجرا

۵۶ موش صحرایی از نژاد Wistar با وزن بین ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم وارد مطالعه شده و در ۸ گروه قرار گرفتند که هر کدام شامل ۷ موش بود. تمام مراحل مطالعه بر طبق اصول مطالعه بر روی حیوانات آزمایشگاهی منطبق با قوانین وزارت بهداشت و دانشگاه علوم پزشکی تهران بود. بعد از تزریق داخل صفاقی ۵۰ میلی‌گرم pentobarbital sodium حیوانات بی‌هوش شدند.^{۳۱} روش مشابه با روش McFarlane و همکاران برای بلند کردن فلاپ پوستی و ارزیابی ناحیه نکروتیک مورد استفاده قرار گرفت.^{۳۲} به‌طور خلاصه، موی حیوانات تراشیده شده و ناحیه توسط الکل ضدعفونی گردید. ۳۰ دقیقه قبل از عمل جراحی فلاپ داروهای موضعی بر روی ناحیه به‌کار برده شدند که شامل دارونما، مینوکسیدیل ۵٪، آزلایک اسید ۵٪ یا ترکیبی از هر دو بود. برای ارزیابی مکانیزم اثر داروها گلی‌بن‌کلامید (بلوکر کانال‌های KATP)، ۰/۳ میلی‌گرم

پیشرفت قابل توجهی را با توجه به پیشرفت تکنولوژی کسب کرده است، اما هم‌چنان ایسکمی رپرپیوژن بافتی از عمده‌ترین موانع این نوع درمان به حساب می‌آید.^۱ مینوکسیدیل، از مشتقات piperidinopyrimidine می‌باشد و برای درمان ریزش موی آندروژنتیک استفاده می‌شود.^{۱-۷} یکی از مکانیزم‌های مهم در اثر مینوکسیدیل بر افزایش رشد مو باز کردن کانال‌های پتاسیمی حساس به آدنوزین تری فسفات (KATP) (ATP-Sensitive Potassium Channels) و در نتیجه شل کردن عضلات صاف عروق و ازدیاد جریان خون به ناحیه می‌باشد که باعث می‌گردد مواد غذایی به راحتی در اختیار بافت در معرض خطر قرار بگیرد.^{۱۱،۱۲} دخالت کانال‌های KATP در ایجاد محافظت بافت‌های متعددی در برابر آسیب ناشی از ایسکمی رپرپیوژن قبلاً مورد ارزیابی قرار گرفته است و نشان داده شده که از مکانیزم‌های درگیر در این پدیده، یکی از مراحل باز شدن این کانال‌ها می‌باشد.^{۱۳،۱۴} اثر محافظتی ناشی از باز شدن کانال‌های KATP و سایر داروهایی که با به‌کار بردن قبل از ایسکمی می‌توانند در کاهش آسیب پوست دخیل باشند، در حیوانات متعددی مورد مطالعه قرار گرفته و ثابت شده است.^{۱۵-۱۸} قبلاً اثر محافظتی مینوکسیدیل خوراکی در بافت پوست در جلوگیری از آسیب ناشی از ایسکمی پوست ثابت گردیده است.^{۱۹} در مدل قلبی ایسکمی نیز نشان داده شده است که مینوکسیدیل با باز کردن کانال‌های KATP باعث ایجاد مقاومت بافت میوکارد در برابر آسیب ناشی از ایسکمی رپرپیوژن می‌گردد.^{۲۰}

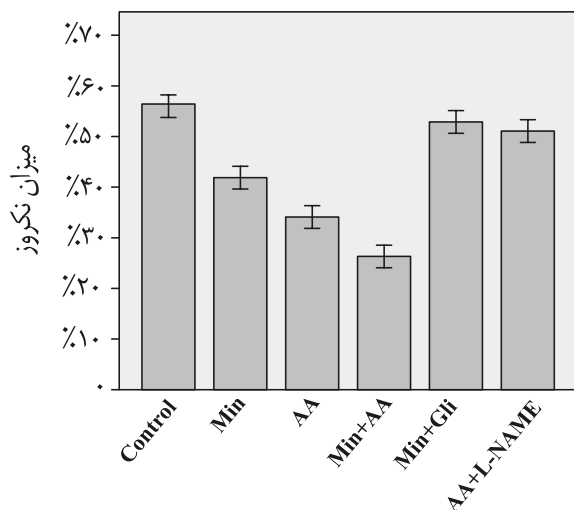
مکانیزم دیگری که در ایجاد آسیب ناشی از ایسکمی رپرپیوژن دخیل می‌باشد، تولید نیتریک اکسید و افزایش بیان پروتئین نیتریک اکسید سنتتاز القایی (iNOS) inducible Nitrous Oxide Synthase است.^{۲۱،۲۲} اثر محافظتی برخی از درمان‌های مؤثر در برابر آسیب ایسکمی با به‌کار بردن مهارکننده‌های آنزیم نیتریک اکسید سنتتاز از بین می‌رود که نشان می‌دهد

نکروتیک فلاپ (۲۶٪) از گروه کنترل ($P < 0.001$)، مینوکسیدیل ۵٪ ($P < 0.05$) و آزلائیک اسید ۵٪ ($P < 0.05$) بیشتر بود. درمان قبلی با گلی بن کلامید در گروه مینوکسیدیل و هم‌چنین درمان قبلی با L-NAME در گروه آزلائیک اسید هر دو باعث از بین رفتن اثرات محافظتی و افزایش معنی‌دار ناحیه نکروتیک گردیدند ($P < 0.01$).

نمودار ۲ اثرات درمان با گلی بن کلامید و L-NAME بر درمان ترکیبی آزلائیک اسید با مینوکسیدیل آورده شده که نشان‌دهنده اثرات معنی‌دار این دو دارو بر کاهش قدرت درمان ترکیبی و افزایش ناحیه نکروتیک بود ($P < 0.01$).

بحث

این مطالعه برای اولین بار نشان داد که آزلائیک اسید و مینوکسیدیل در کاهش نکروز فلاپ مؤثرند. به‌علاوه، نقش کانال‌های KATP در مسیر حفاظتی ناشی از مینوکسیدیل موضعی و هم‌چنین نقش



نمودار ۱: اثر درمان‌های متفاوت بر میانگین و خطای استاندارد میزان نکروز فلاپ پوستی در موش صحرایی (Min: مینوکسیدیل ۵٪، AA: آزلائیک اسید ۵٪، Gli: گلی بن کلامید ۰/۳ میلی گرم در گرم، L-NAME: ۲۰ میلی گرم در گرم).

به ازای هر کیلو وزن بدن (Themad, Tehran, Iran) و L-NAME مهارکننده‌ی غیراختصاصی آنزیم نیتریک اکسید سنتتاز (۲۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن، Sigma) به‌صورت داخل صفاقی و ۴۵ دقیقه قبل از داروهای موضعی در گروه‌های مورد نظر به‌کار برده شدند. دو برش ۸ سانتی‌متری از زیر شانه‌ها به فاصله ۳ سانتی‌متر از یکدیگر در امتداد بدن داده شد و سپس بخش دیستال این دو برش توسط برش ۳ سانتی‌متری به هم وصل شده و پوست از بافت پایه جدا گردید.^{۳۳} سپس یک لایه از پلاستیک نفوذناپذیر به همان ابعاد بریده و در زیر پوست قرار داده شد و برش‌ها بخیه زده شدند.^{۳۴}

هفت روز بعد از عمل میزان نکروز بافت فلاپ ارزیابی شد. برای این کار از روش paper template method استفاده شد، به این صورت که فلاپ کاملاً جدا شد و خطوط حاشیه‌ای بخش نکروتیک بر روی صفحه ترانسپارنت به ابعاد ۸ در ۳ سانتی‌متری برش داده شد و درصد نکروز از فرمول زیر محاسبه گردید.

$$\text{وزن قالب ترانس پرنٹ معادل ناحیه ی نکروتیک درصد ناحیه نکروتیک} = \frac{\text{وزن قالب ترانس پرنٹ معادل کل سطح فلاپ}}{\text{فلاپ}} \times 100$$

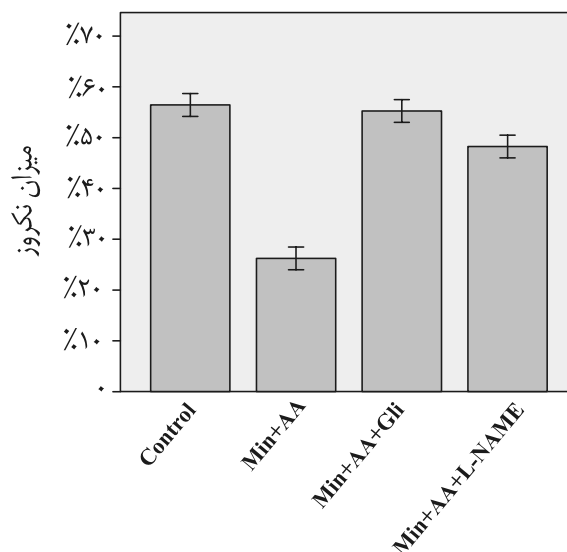
داده‌ها به‌صورت بین گروهی و با روش‌های آماری One-way analysis of variance (ANOVA) و Post-Hoc analysis (Tukey test) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. میزان اختلاف آماری در سطح $P < 0.05$ معنی‌دار تلقی شد. کل مراحل ارزیابی آماری در نرم‌افزار SPSS version 14 انجام گرفت.

یافته‌ها

مینوکسیدیل ۵٪ و آزلائیک اسید ۵٪ هر کدام به تنهایی به شکل معنی‌داری ناحیه نکروتیک را از ۵۶٪ در گروه کنترل به ترتیب به ۴۲٪ ($P < 0.05$) و ۳۴٪ ($P < 0.01$) کاهش دادند (نمودار ۱). اثر ترکیب مینوکسیدیل ۵٪ با آزلائیک اسید ۵٪ در کاهش ناحیه‌ی

نشان داده شده است که دسته زیادی از داروهای بازکننده کانال‌های KATP اگر قبل از ایسکمی تزریق گردند، می‌توانند باعث کاهش آسیب ناشی از ایسکمی گردند و نوعی مقاومت در برابر ایسکمی ایجاد کنند که از این پدیده تحت عنوان Preconditioning شیمیایی یاد می‌شود.^{۱۸} مینوکسیدیل که یکی از بازکننده‌های این کانال‌ها محسوب می‌شود به‌عنوان یک مقلد خوبی برای افزایش مقاومت بافت در برابر آسیب ایسکمیک می‌تواند باشد.^{۱۱،۱۲} چنانچه در این مطالعه مشاهده شد، به‌کار بردن بلوکر کانال‌های KATP اثرات محافظتی مینوکسیدیل را از بین برد و نشان داد که باز شدن کانال‌های KATP برای ایجاد مقاومت بافت فلاپ ناشی از درمان با مینوکسیدیل، مؤثر است (نمودار ۱).

در مطالعه‌ی حاضر اثرات محافظتی ناشی از آزلایک اسید قوی‌تر از مینوکسیدیل بود و توسط مهار نیتریک اکسید از بین رفت. جالب اینکه نشان داده شده است که نیتریک اکسید نقش خیلی مهمی را در ایجاد مقاومت بافتی ناشی از درمان با انواع ترکیبات دارد.^{۱۳-۱۶،۳۵} مهارکننده‌های نیتریک اکسید سنتتاز قادرند اثرات محافظتی این داروها را از بین ببرند.^{۲۳،۳۶} در نهایت اینکه میزان بیان نیتریک اکسید سنتتاز القایی در اغلب این درمان‌هایی که مقاومت در برابر آسیب ایسکمیک ایجاد می‌کنند بالا می‌رود.^{۲۲} نشان داده شده است که آزلایک اسید می‌تواند فعالیت آنزیم ۵ آلفا ردوکتاز که در تبدیل تستوسترون به دی‌هیدروتستوسترون نقش دارد، را کاهش دهد.^{۳۰} مطالعاتی دیگر نشان داده‌اند که با مهار دی‌هیدروتستوسترون، میزان بیان نیتریک اکسید سنتتاز افزایش می‌یابد که در نتیجه میزان تولید نیتریک اکسید و سطح بافتی آن را بالا می‌برد.^{۲۶} مهار محافظت ناشی از آزلایک اسید توسط L-NAME در مطالعه‌ی حاضر می‌تواند به این دلیل اتفاق افتاده باشد. درمان ترکیبی مینوکسیدیل با آزلایک اسید قوی‌تر و مؤثرتر از درمان تنها با هر کدام از عوامل عمل کرد و جالب اینکه هم توسط گلی‌بن‌کلامید و هم توسط



نمودار ۲: اثر بلوکه کردن کانال‌های KATP با گلی‌بن‌کلامید و آنزیم نیتریک اکسید سنتتاز با L-NAME بر میانگین و خطای استاندارد میزان نکروز فلاپ پوستی در موش صحرائی به دنبال درمان ترکیبی با مینوکسیدیل و آزلایک اسید (Min: مینوکسیدیل ۵٪، AA: آزلایک اسید ۵٪، Gli: گلی‌بن‌کلامید ۰/۳ میلی‌گرم در گرم).

نیتریک اکسید در محافظت ایجادشده توسط آزلایک اسید معلوم گردید. درمان ترکیبی با مینوکسیدیل و آزلایک اسید اثرات بارزتری را در کاهش آسیب ایسکمیک فلاپ داشت.

اثر درمان با مینوکسیدیل در کاهش آسیب ایسکمیک فلاپ قبلاً نشان داده شده است.^{۱۹} به این ترتیب که درمان خوراکی ۵۰ میلی‌گرم در هر کیلوگرم وزن بدن در هر روز باعث افزایش جریان خون به بخش‌های دیستال فلاپ گردید. نشان داده شد که این دوز مینوکسیدیل اگر قبل از ایسکمی تجویز گردد می‌تواند ناحیه نکروتیک را به‌صورت قابل ملاحظه‌ای کاهش دهد، حال آنکه تجویز بعد از ایجاد نکروز و بعد از ایسکمی مؤثر نبوده است. در مطالعه‌ی حاضر نشان داده شد که درمان موضعی مینوکسیدیل نیز وقتی قبل از ایسکمی به‌کار برده می‌شود می‌تواند باعث کاهش ناحیه نکروتیک گردد (نمودار ۱).

نیتریک اکسید سنتتاز می‌گردد که در نتیجه با تولید نیتریک اکسید اضافی به محافظت کمک می‌کند.^{۲۵،۳۷،۳۸}

نتیجه‌گیری

مینوکسیدیل ۰.۵٪ موضعی از طریق بازکردن کانال‌های KATP و آزلائیک اسید ۰.۵٪ موضعی توسط افزایش تولید نیتریک اکسید هر دو به تنهایی توانستند بافت فلاپ را در برابر آسیب ناشی از ایسکمی محافظت کنند و ناحیه نکروتیک را کاهش بدهند که این اثر در ترکیب این دو دارو باهم محسوس‌تر بود. بررسی‌های بیشتری برای درک دقیق مکانیزم‌های درگیر در اثر محافظتی این دو دارو لازم است.

L-NAME مهار شد (نمودار ۲). این نتایج نشان می‌دهند که رابطه‌ای بین مسیرهای مربوط به باز شدن کانال‌های KATP و تولید نیتریک اکسید وجود دارد زیرا انسداد هر کدام از این مسیرها باعث از بین رفتن مقاومت بافتی ناشی از درمان ترکیبی مینوکسیدیل با آزلائیک اسید گردید. قبلاً مطالعات زیادی دال بر وجود چنین تداخلی بین مسیرهای محافظتی مربوط به نیتریک اکسید و مسیرهای مربوط به باز شدن کانال‌های KATP انجام گرفته و شاهد چنین یافته‌ای می‌باشند.^{۲۳-۲۵،۳۷،۳۸} در چنین مطالعاتی نشان داده شده است که افزایش تولید نیتریک اکسید باعث باز شدن کانال‌های KATP می‌گردند که باز شدن این کانال‌ها به نوبه خود در سطح ژنی باعث فعال شدن بیان

References

1. Knight KR. Review of postoperative pharmacological infusions in ischemic skin flaps. *Microsurgery* 1994;15:675-84.
2. Kerrigan CL. Skin flap failure: pathophysiology. *Plast Reconstr Surg* 1983;72:766-77.
3. Cordeiro PG, Mastorakos DP, Hu Q-Y, et al. The protective effect of L-arginine on ischemia-reperfusion injury in rat skin flaps. *Plast Reconstr Surg* 1997;100:1227-33.
4. Reilly PM, Schiller HJ, Bulkley GB. Pharmacologic approach to tissue injury mediated by free-radicals and other reactive oxygen metabolites. *Am J Surg* 1991;161:488-503.
5. Cordeiro PG, Lee JJ, Mastorakos D, et al. Prevention of ischemia-reperfusion injury in a rat skin flap model: the role of mast cells, cromolyn sodium, and histamine receptor blockade. *Plast Reconstr Surg* 2000;105:654-59.
6. Yoshida WB, Campos EB. Ischemia and reperfusion in skin flaps: effects of mannitol and vitamin C in reducing necrosis area in a rat experimental model. *Acta Cir Bras* 2005;20:358-63.
7. Mounsey AL, Reed SW. Diagnosing and treating hair loss. *Am Fam Physician* 2009;80:356-62.
8. Saraswat A, Kumar B. Minoxidil vs finasteride in the treatment of men with androgenetic alopecia. *Arch Dermatol* 2003;139:1219-21.
9. Tsuboi R, Arano O, Nishikawa T, et al. Randomized clinical trial comparing 5% and 1% topical minoxidil for the treatment of androgenetic alopecia in Japanese men. *J Dermatol* 2009;36:437-46.
10. Olsen EA, Whiting D, Bergfeld W, et al. A multicenter, randomized, placebo-controlled, double-blind clinical trial of a novel formulation of 5% minoxidil topical foam versus placebo in the treatment of androgenetic alopecia in men. *J Am Acad Dermatol* 2007;57:767-74.

11. Hamaoka H, Minakuchi K, Miyoshi H, et al. Effect of K⁺ channel openers on K⁺ channel in cultured human dermal papilla cells. *J Med Invest* 1997;44:73-77.
12. Messenger AG, Rundegren J. Minoxidil: mechanisms of action on hair growth. *Br J Dermatol* 2004;150:186-94.
13. Murry CE, Jennings RB, Reimer KA. Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation* 1986;74:1124-36.
14. Pang CY, Forrest CR. Acute pharmacologic preconditioning as a new concept and alternative approach for prevention of skeletal muscle ischemic necrosis. *Biochem Pharmacol* 1995;49:1023-34.
15. Zahir KS, Syed SA, Zink JR, et al. Ischemic preconditioning improves the survival of skin and myocutaneous flaps in a rat model. *Plast Reconstr Surg* 1998;102:40-52.
16. Matsumura H, Yoshizawa N, Vedder NB, et al. Preconditioning of the distal portion of a rat random-pattern skin flap. *Br J Plast Surg* 2001;54:58-61.
17. Hosnuter M, Babucçu O, Kargi E, et al. Dual preconditioning: effects of pharmacological plus ischemic preconditioning on skin flap survival. *Ann Plast Surg* 2003;50:398-402.
18. Beheshtian A, Demehri S, Kiumehr S, et al. ATP-sensitive potassium channels mediate the anti-ischemic properties of ischemic and pharmacologic preconditioning in rat random-pattern skin flap. *Ann Plast Surg* 2006;57:94-99.
19. Bittencourt Rde C, Biondo-Simões Mde L, Paula JB, Martynetz J, Groth A. Influence of minoxidil on ischemic cutaneous flaps in rats. *Acta Cir Bras* 2005;20:450-54.
20. Sato T, Li Y, Saito T, Nakaya H. Minoxidil opens mitochondrial K (ATP) channels and confers cardioprotection. *Br J Pharmacol* 2004;141:360-66.
21. Lochner A, Marais E, Genade S, Moolman JA. Nitric oxide: a trigger for classic preconditioning? *Am J Physiol* 2000;279:2752-65.
22. Wang Y, Guo Y, Zhang SX, et al. Ischemic preconditioning upregulates inducible nitric oxide synthase in cardiac myocyte. *J Mol Cell Cardiol* 2002;34:5-15.
23. Ferdinandy P, Szilva'ssy Z, Horva'th LI, et al. Loss of pacing-induced preconditioning in rat hearts: role of nitric oxide and cholesterol-enriched diet. *J Mol Cell Cardiol* 1997;29:3321-33.
24. Cohen MV, Yang XM, Liu GS, et al. Acetylcholine, bradykinin, opioids, and phenylephrine, but not adenosine, trigger preconditioning by generating free radicals and opening mitochondrial K(ATP) channels. *Circ Res* 2001;89:273-78.
25. Cuong DV, Kim N., Youm JB, et al. Nitric oxide-cGMP-protein kinase G signaling pathway induces anoxic preconditioning through activation of ATP-sensitive K⁺ channels in rat hearts. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2006;290:1808-17.
26. Kolasa A, Marchlewicz M, Kurzawa R, et al. The expression of inducible nitric oxide synthase (iNOS) in the testis and epididymis of rats with a dihydrotestosterone (DHT) deficiency. *Cell Mol Biol Lett* 2009;14:511-27
27. Gollnick HPM, Graupe K. Azelaic acid for the treatment of acne. *Comparative trials. J Dermatol Treatm* 1989;1:27-30.
28. Cavicchini S, Caputo R. Long-term treatment of acne with 20% azelaic acid cream. *Acta Derm Venereol (Stockh)* 1989;14 (suppl):40-44.
29. Passi S, Picardo M, De Luca C, Nazzaro-Porro M. Mechanism of azelaic acid action in acne. *G Ital Dermatol Venereol* 1989;124:455-63.

30. Stamatiadis D, Bulteau-Portois MC, Mowszowicz I. Inhibition of 5 alpha-reductase activity in human skin by zinc and azelaic acid. *Br J Dermatol* 1988;119:627-32.
31. Ghavami A, Nutt MP, Hardy SP. Heat shock protein and high-dose aspirin: effects on random skin flap survival in a rat model. *Ann Plast Surg* 2002;48: 60-67.
32. Mc farlane RM, De Young G, Henry RA. The design of a pedicle flap in the rat to study necrosis and its prevention. *Plast Reconstr Surg* 1965;35:177-82.
33. Pazoki-Toroudi H, Ajami M, Habibey R, et al. The effect of enalapril on skin flap viability is independent of angiotensin II AT1 receptors. *Ann Plast Surg* 2009;62:699-702.
34. De Carvalho EN, Ferreira LM, de Carvalho NA, et al. Viability of a random pattern dorsal skin flap, in diabetic rats. *Acta Cir Bras* 2005;20:225-28.
35. Duranski MR, Elrod JW, Calvert JW, et al. Genetic overexpression of eNOS attenuates hepatic ischemia-reperfusion injury. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2006;291:2980-86.
36. Sakamoto K, Yonoki Y, Kubota Y, et al. Inducible nitric oxide synthase inhibitors abolished histological protection by late ischemic preconditioning in rat retina. *Exp Eye Res* 2006;82:512-18.
37. Sasaki N, Sato T, Ohler A, et al. Activation of mitochondrial ATP-dependent potassium channels by nitric oxide. *Circulation* 2000;101:439-45.
38. Tritto I, D'Andrea D, Eramo N, et al. Oxygen radicals can induce preconditioning in rabbit hearts. *Circ Res* 1997;80:743-48.
39. Han JH, Kwon OS, Chung JH, et al. Effect of minoxidil on proliferation and apoptosis in dermal papilla cells of human hair follicle. *J Dermatol Sci* 2004;34:91-98.