

آثار ترمیمی نیتریک اکساید در پروسه ترمیم زخم سوختگی در موش بزرگ آزمایشگاهی

✉ مجتبی کریمی پور Ph.D.*، لیلای زارعی M.Sc.**، بهروز ابلخانی زاده M.D.**، علیرضا شیرپور M.Sc.**، فرزاد رجائی Ph.D.***

* بخش علوم تشریحی دانشگاه علوم پزشکی ارومیه

** بخش پاتولوژی دانشگاه علوم پزشکی ارومیه

*** بخش فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی ارومیه

**** بخش علوم تشریحی دانشگاه علوم پزشکی قزوین

تاریخ وصول: آذرماه ۸۴، تاریخ پذیرش: بهمن ماه ۸۴

چکیده

هدف: بررسی آثار NO (Nitric Oxide) بر شاخصهای ترمیم زخمهای سوختگی در موش بزرگ آزمایشگاهی

مواد و روشها: در این تحقیق از ۶۰ سر موش بزرگ آزمایشگاهی نر بالغ با وزن ۲۷۰ - ۲۵۰ گرم استفاده شده است. بعد از ایجاد بیهوشی و تراشیدن موهای پشت آنها، مساحت معینی از پوست پشت حیوانات به مدت ۸ ثانیه در معرض آب ۹۵° سانتیگراد قرار گرفت و سوختگی مرطوب ایجاد شد. پس از ایجاد سوختگی، حیوانات به صورت تصادفی در دو دسته ۳۰ تایی قرار گرفتند. هر دسته دارای سه گروه بود: گروه کنترل، گروه تجربی یک، گروهی که به میزان ۱۰۰ mg/kg ال - آرژنین را دریافت می کردند گروه تجربی دو، گروهی که به میزان ۱۰ mg/kg L-NAME به صورت داخل صفاقی دریافت می کردند. به موشهای دسته اول در روزهای اول، سوم و پنجم تزریق صورت گرفت و در روز هفتم بعد از سوختگی نمونه پوستی تهیه شد. به موشهای دسته دوم از روز اول و یک روز در میان تا روز ۱۳ بعد از سوختگی تزریق و در روز ۱۵ نمونه گیری انجام شد. پس از تهیه نمونه و پردازش بافتی در نهایت لامهایی با رنگ آمیزی هماتوکسیلین - اتوزین تهیه شد و شاخصهای اپیتلیزاسیون، عمق اپیدرم و درم تازه ساخته شده، تعداد مقاطع عروق خونی، غدد چربی و نوتروفیلها با کمک قطعه چشمی در ده ناحیه از بستر زخم ارزیابی شد.

یافتهها: تجزیه و تحلیل آماری نشان داد که در گروههایی که ال - آرژنین را دریافت کرده بودند، میزان تشکیل اپیدرم و درم، تعداد مقاطع عروق خونی و غدد چربی افزایش معناداری نسبت به سایر گروهها داشتند. تعداد نوتروفیلها در گروههای L-NAME به طور معنی داری بیشتر از سایر گروهها بود.

نتیجه گیری: نتایج نشان داد که NO روی تمامی شاخصهای ارزیابی ترمیم زخم موثر بوده و با القای آن در زمان سوختگی می توان با خونرسانی بهتر به بستر زخم از عمیق شدن زخم و در نهایت از عفونی شدن آن جلوگیری کرد.

کلیدواژهها: سوختگی، نیتریک اکساید، ال آرژنین، L-NAME

✉ آدرس مکاتبه: ارومیه، نازلو، دانشکده پزشکی، گروه علوم تشریح

E-mail: mojtaba_karimpour@yahoo.com

مقدمه

سوختگیهای حرارتی و آسیبهای مربوط به آن هنوز یکی از مهم ترین علل مرگ و میر و ناتوانی در سراسر دنیا محسوب میشوند و در جوامع مختلف همواره خسارتهای جسمی و روانی و اقتصادی فراوانی را بر جامعه تحمیل کرده اند. در کشورهای توسعه یافته سالانه بالغ بر ۲ میلیون نفر دچار سوختگیهای جدی شده و نیازمند به درمانهای پزشکی هستند [۱ و ۲].

یکی از جنبه‌های مهم تحقیقاتی در زمینه سوختگی ترمیم زخم است بطوریکه مطالعات زیادی در خصوص آن انجام گرفته و یا در حال انجام است. ترمیم زخم سوختگی فرآیند پیچیده است که اگر چه به خودی خود انجام می پذیرد اما به علت روند کند آن باعث ناراحتی بیمار شده و از طرفی بیمار مبتلا به سوختگی دارای استعداد افزایش یافته ای نسبت به ابتلا به انواع عفونتها است [۳]. از طرفی مشاهدات فیزیوپاتولوژی که بلافاصله بعد از سوختگی انجام گرفته است نشان دهنده وجود سه ناحیه مجزا در زخم سوختگی است. ناحیه انعقاد یا ناحیه مرکزی که در مرکز زخم قرار دارد و نشان دهنده محل مستقیم ضایعه گرمائی است و شامل انعقاد پروتئین همراه با قطع کامل جریان خون وریدی و شریانی است. ناحیه انعقادی خود بوسیله ناحیه توقف (استاز) احاطه می شود و بافت موجود در این ناحیه از نظر تغذیه و اکسیژن ضعیف است اگر ناحیه استاز را از نظر عفونت محافظت کنیم این ناحیه در نهایت التیام می یابد. ناحیه سوم یا پرخونی که دیگر نواحی را احاطه می کند درگیری سلولی در آن ضعیف است [۴ و ۵].

نیتریک اکساید^۱ (NO) یک رادیکال آزاد با نیمه عمر کوتاه است که در بسیاری از فرآیندهای بیولوژیک دخالت دارد و نخستین بار در سال ۱۹۷۸ کشف شد و در سال ۱۹۹۲ به عنوان مولکول سال انتخاب شد [۶]. NO از اکسیداسیون ال - آرژنین توسط آنزیم نیتریک اکساید سنتاز^۲ (NOS) حاصل می شود و در طیف وسیعی از اعمال پیچیده در روند پاسخهای التهابی

به ویژه در جراحات سوختگی پوست ایفای نقش می کند [۷]. از سوی دیگر نقش درمانی این ماده در ترمیم زخمها و پاسخهای التهابی پس از سوختگی از جمله زمینه‌های مهم تحقیقاتی به شمار می رود.

تحقیقات متعدد نشان داده که NO در سوختگی توسط ماکروفاژها ساخته می شود [۸] و دارای آثار سودمندی در ترمیم زخم می باشد اما در مقابل گزارشهای متعددی نیز مبنی بر آثار مضر NO در سوختگی وجود دارد که با مطالعات دیگر همسویی ندارد.

آکای (Akcay) و همکاران در سال ۲۰۰۰ تاثیر آمینوگوانیدین (یکی از مهارکننده‌های تولید NO) را بر ترمیم سوختگی موشهای سوری بررسی کردند. این محققین عنوان کردند که روند ترمیم زخم (تکثیر اپی تلیوم، تشکیل کلاژن و بافت گرانوله غنی از عروق خونی) در گروهی که آمینوگوانیدین را دریافت کرده بودند با تاخیر مواجه شده بود [۹]. در یک مطالعه دیگر توسط وایت (Witte) و همکاران در سال ۲۰۰۲، که تاثیر ال - آرژنین را در ترمیم زخمهای سوختگی در موشهای دیابتی مورد مطالعه قرار داده بودند عنوان شد که NO نقش مهمی را در ترمیم زخم سوختگی اعمال می کند [۱۰]. در مطالعه دیگر سانتارک (Canturk) و همکاران در سال ۲۰۰۲ عنوان کردند که ال - آرژنین سبب افزایش سنتز کلاژن در طی ترمیم زخم می شود [۱۱]. شفر (Schaffer) و همکاران نیز با تائید مطلب فوق گزارش کردند که تجمع کلاژن در بستر زخم در اثر ال - آرژنین سبب افزایش مقاومت مکانیکی پوست می شود [۱۲]. محققین دیگر نیز خاصیت باکترکشی NO در محیط کشت و موضع سوختگی صحه گذاشتند و تاکید کردند که NO می تواند در زخمهای سوختگی که دچار عفونت شده اند مفید باشد [۱۳].

در مقابل تحقیقات ذکر شده فوق گزارشهای دیگری مبنی بر اثرهای سوء NO در زخم سوختگی وجود دارد. از مطالعات انجام شده در این زمینه مطالعه الویرا (Oliveira) و همکاران در سال ۲۰۰۴ است. این محققین نشان دادند که پس از سوختگی افزایش NO سبب افزایش پراکسی نیتريت می شود. محققین

1. Nitric oxide
2. Nitric oxide syntase

می‌کردند و گروه تجربی دو که میزان L-NAME ۱۰mg/kg (مهار کننده تولید NO) دریافت می‌کردند. ال - آرژنین و L-NAME استفاده شده به صورت پودر از شرکت سیگما تهیه و در نرمال سالین حل شد. تزریق موشهای دسته اول در روزهای اول، سوم و پنجم بود و در روز هفتم بعد از سوختگی نمونه پوستی تهیه شد. به موشهای دسته دوم یک روز در میان از روز اول تا سیزدهم تزریق انجام شد و نمونه‌گیری از آنها در روز پانزدهم بود.

نمونه‌گیری از همه موشها به گونه ای انجام می‌شد که حاوی مرکز زخم سوختگی و بافت سالم اطراف باشد. سپس نمونه‌ها با فرمالین ۱۰ درصد تثبیت و مراحل پردازش بافتی انجام شد و در نهایت از بلوکهای پارافینی مقاطع ۶ میکرونی تهیه و با هماتوکسیلین - ائوزین رنگ‌آمیزی شدند.

برای ارزیابی مورفومتريک ترمیم زخم از قطعه چشمی کالبره‌ای (eye piece) که روی میکروسکوپ سوار شده بود با بزرگنمایی مناسب استفاده شد. شاخصهای مورد نظر شامل شمارش مقاطع عروق خونی (با بزرگنمایی $\times 100$) شمارش غدد چربی (با بزرگنمایی $\times 100$) و نوتروفیلها (با بزرگنمایی $\times 400$) در ده ناحیه میکروسکوپی درم بود که به صورت تصادفی انتخاب شدند. علاوه بر این؛ میزان پیشروی اپیدرم از لبه سالم زخم، عمق اپیدرم و درم تازه ساخته شده (با بزرگنمایی $\times 100$) نیز ارزیابی شد. برای ارزیابی داده‌های خام از برنامه نرم افزاری SPSS و آزمون ANOVA یک طرفه استفاده شد.

یافته‌ها

روز هفتم

تعداد مقاطع عروق خونی شمارش شده در ده ناحیه از بستر زخم در گروه تجربی یک نسبت به گروه کنترل با ($P < 0.01$) و گروه تجربی دو با ($P < 0.01$) بیشتر بود (نمودار ۱).

میزان پیشروی اپیدرم از لبه سالم زخم در گروه تجربی یک با ($P < 0.05$) نسبت به سایر گروهها بیشتر بود (نمودار ۲).

از نظر ضخامت درم، گروه تجربی یک نسبت به سایر گروهها بیشتر بود ($P < 0.05$). و میزان ضخامت اپیدرم در

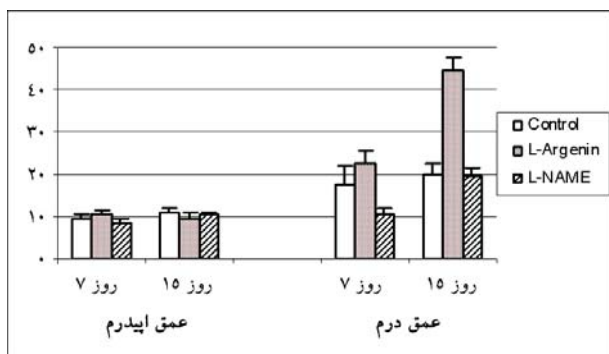
مذکور برای کاستن از آثار سوء NO و متابولیت‌های آن از BBS-2 که یک مهار کننده اختصاصی NOS است استفاده نمودند و نتایج مطلوبی را کسب کردند [۱۴]. در یک تحقیق دیگر توسط هوسناتر (Hosnater) و همکاران در سال ۲۰۰۴ با استفاده از CAPE^۱ که در کندوهای زنبور عسل حاصل می‌شود و به عنوان یک آنتی اکسیدانت عمل می‌کند، نشان دادند که این ماده قادر است در زخمهای سوختگی به دلیل کاهش سطح NO مؤثر واقع شود و از تغییرات پاتولوژیک در بافت جلوگیری نماید [۱۵].

بنابراین با توجه به مطالعات فوق در تحقیق حاضر آثار NO بر پروسه ترمیم زخم سوختگی در موش بزرگ آزمایشگاهی بررسی شد. بنابراین هدف این تحقیق پاسخ دهی به این سؤال است که آیا استفاده از پیش ساز یا مهار کننده‌های NO تاثیری بر تسریع یا اختلال در بهبود زخم سوختگی ایجاد می‌کند یا خیر؟

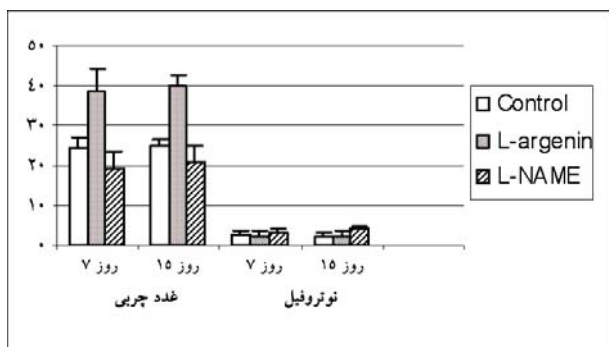
مواد و روشها

در این مطالعه از ۶۰ سر موش بزرگ آزمایشگاهی از نژاد ویستار به وزن ۲۷۰-۲۵۰ گرم استفاده شده است. ابتدا حیوانات را وزن کرده و با تزریق داخل عضلانی کتامین به میزان ۵۰mg/kg همراه با دیازپام ۵mg/kg بیهوش شدند و موهای ناحیه پشت آنها تراشیده شد. سوختگی درجه دو توسط فرو کردن پشت حیوان در ظرف آب ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۸ ثانیه ایجاد شد. سوختگی با قالبی انجام شد که داخل آن عایق بوده و فقط سوراخ کوچکی از آن در معرض آب ۹۵ قرار می‌گرفت. سوراخ قالب مورد نظر به میزان $5 \times 3/5$ سانتی‌متر بود. پس از ایجاد سوختگی برای جلوگیری از شوک به میزان ۳ ml نرمال سالین به طریقه داخل صفاقی تزریق شد. پس از به هوش آمدن، به قفسهای جداگانه منتقل شده و به‌طور تصادفی در دو دسته قرار گرفتند. هر دسته دارای سه گروه ۱۰ تایی بود: گروه کنترل، گروه تجربی یک که میزان ۱۰۰mg/kg ال - آرژنین (پیش ساز NO) به صورت داخل صفاقی دریافت

1. Caffeic Acid Phenethyl



نمودار ۳. میانگین و انحراف معیار عمق اپیدرم و عمق درم در روزهای هفتم و پانزدهم پس از سوختگی. ضخامت اپیدرم در گروههای ال - آرژنین بیشتر از گروههای L-NAME بود. عمق درم تازه ساخته شده نیز در گروههای ال - آرژنین به طور معنی داری بیشتر از سایر گروهها بود



نمودار ۴. میانگین و انحراف معیار تعداد زخم و نوتروفیل در روزهای هفتم و پانزدهم. تعداد زخم در گروههای ال - آرژنین به طور معنی داری بیشتر است اما تعداد نوتروفیلها در گروههای L-NAME بیشتر از سایر گروهها است.

بحث

نقش NO در ترمیم زخم سوختگی به طور کامل مشخص نشده است و تاکنون از آثار سودمند و مضر آن گزارشهای متعددی منتشر شده است. در این مطالعه سعی شده تا از دیدگاه هیستوپاتولوژی اثرهای ترمیمی NO در زخمهای سوختگی در موش بزرگ آزمایشگاهی بررسی شود. شاخصهای اصلی برای این بررسی میزان رگ زایی، میزان پیشروی اپیدرم از لبه سالم زخم، اندازه گیری ضخامت اپیدرم و درم تازه ساخته شد و شمارش غدد چربی و نوتروفیلها بستر زخم بود.

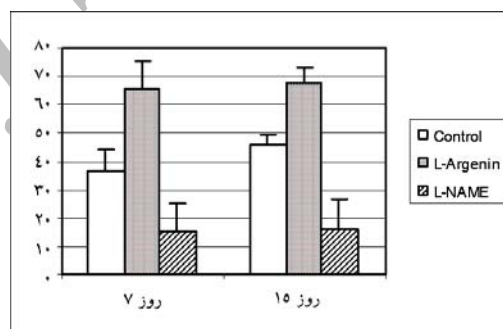
میزان رگ زایی یا آنژیوژنسیس و توسعه عروق خونی در واقع یکی از اساسی ترین عوامل موثر در امر ترمیم زخم است. در صورتی که عاملی بتواند در زمان مناسب تشکیل عروق

بین گروههای تجربی یک و کنترل معنی دار نبود اما بین گروههای تجربی یک و دو معنی دار بود ($P < 0.05$)، (نمودار ۳). تعداد غدد چربی در گروه تجربی یک با ($P < 0.01$) نسبت به سایر گروهها بیشتر بود. تعداد نوتروفیلها در گروه تجربی دو با ($P < 0.05$) نسبت به گروههای تجربی یک و کنترل بیشتر بود (نمودار ۴).

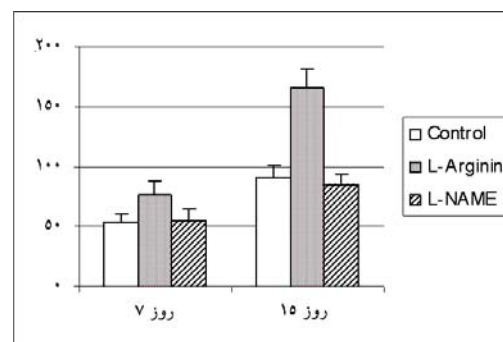
روز پانزدهم

از نظر تعداد عروق خونی، میزان پیشروی اپیدرم و عمق درم مانند روز هفتم، در گروه تجربی یک نسبت به گروه تجربی دو با ($P < 0.01$) بیشتر بود (نمودار ۱، ۲ و ۳).

از نظر ضخامت اپیدرم، اختلاف میانگین مابین گروههای مورد مطالعه معنی دار نبود (نمودار ۳) تعداد نوتروفیلها نیز مانند روز هفتم در گروه تجربی دو بیشتر بود (نمودار ۴).



نمودار ۱. میانگین و انحراف معیار تعداد عروق خونی بستر زخم در روزهای هفتم و پانزدهم پس از سوختگی. عروق خونی در گروههای ال - آرژنین به طور معنی دار بیشتر از سایر گروهها است.



نمودار ۲. میانگین و انحراف معیار میزان پیشروی اپیدرم از لبه سالم زخم در روزهای هفتم و پانزدهم پس از سوختگی. میزان پیشروی در گروههای ال - آرژنین به طور معنی داری بیشتر از سایر گروهها است.

نسبت به گروه ال - آرژنین تاخیر فاز دارند.

شاخص دیگری که در این مطالعه در نظر گرفته شده است؛ بررسی میزان تکثیر اپیدرم از لبه سالم و هم چنین ضخامت اپیدرم تازه ساخته شده است. همان طوری که می دانیم اپیتلیزاسیون با مهاجرت سلولهای اپیتلیال از لبه های سالم زخم شروع می شود و به طرف مرکز پیش می رود تا سرانجام سراسر زخم را می پوشاند. از آنجا که اپیدرم ساخته شده از تعداد سلولها و لایه های بیشتری نسبت به حالت طبیعی برخوردار است و به محض آنکه محل ضایعه توسط سلولهای اپیدرمی مهاجر و تازه پوشیده شد تمایز آنها آغاز شده و در صورت موفقیت آمیز بودن ترمیم، سلولها شکل و آرایش طبیعی خود را به مرور زمان بدست آورده و از تعداد لایه های آن نیز کاسته می شود. یافته های مربوط به شاخص اپیتلیزاسیون در مطالعه حاضر نشان داد که میزان پیشروی اپیدرم در گروه ال - آرژنین نسبت به گروه L-NAME بیشتر است که موید این حقیقت است که مهار NO سبب مهار تشکیل اپیدرم تازه می شود که با نتایج آکای (Ackay) و همکاران در سال ۲۰۰۰ همسویی دارد [۹]. یادآوری می شود که در هیچ کدام از گروههای مورد مطالعه سطح زخم به طور کامل بسته نشده بود که این خود می تواند به این دلیل باشد که سطح زخم سوختگی ایجاد شده در این مطالعه وسیع بوده و ۱۵ روز فرصت مناسب و کافی برای اپیتلیزاسیون کامل نیست و توصیه می شود برای بررسی بسته شدن کامل زخم سوختگی با این سطح حداقل ۳۰ روز فرصت داده شود.

از دیگر شاخصهای مورد بررسی در این مطالعه، شمارش غدد چربی و نوتروفیلهای بستر زخم بود. تعداد غدد چربی شمارش شده در گروه ال - آرژنین بیشتر از سایر گروهها بود و توجیه این یافته می تواند بدین صورت باشد که احتمالاً ال - آرژنین (پیش ساز NO) توانسته است با فراهم آوردن شرایط بهتر (مثلاً از طریق خونرسانی مناسب) غدد چربی بهتر حفظ شده و آنهایی که آسیب دیده اند توانسته اند خود را طی روند ترمیم بازسازی کنند.

هنوز آثار دقیق NO بر التهاب سوختگی به درستی روشن نشده است و نتایج ضد و نقیضی در رابطه با آن ذکر می شود.

خونی جدید را تحریک و تشدید نماید و خونرسانی به منطقه توقف را سبب شود می توان گفت که روند ترمیم با موفقیت پیش می رود و از عمیق شدن زخم جلوگیری می شود. آخرین گام در آنژیوژنسیس بلوغ سلولهای اندوتلیال و سازمان یافتن این سلولها برای تشکیل لوله های مویرگی است. طی این پدیده که همزمان با مرحله تجدید ساختار (Remodeling) است انسداد و حذف بسیاری از رگهای تمایز یافته اولیه رخ می دهد و بدین ترتیب تعداد زیادی از عروق خونی تازه تشکیل شده از بین رفته و حذف می شود [۶ و ۱۶]. نتایج به دست آمده از بررسیهای انجام شده در مطالعه حاضر در خصوص تعداد عروق خونی در روز هفتم پس از ایجاد سوختگی نشان داد که میانگین تعداد عروق خونی در گروهی که ال - آرژنین را دریافت کرده بودند نسبت به سایر گروهها بیشتر بود. محققین معتقدند که نقش NO در این زمینه به دلیل القای تولید فاکتور رشد اندوتلیال عروقی (VEGF) است که توسط سلولهای اندوتلیال عروق تولید می شود. علاوه بر آن نشان داده شده که NO در *in Vivo* سبب تحریک عروق زائی می شود و مهار آنزیم NOS تشکیل عروق جدید را مهار می کند [۱۷]. محققین دیگر با استفاده از VEGF به طور موضعی در زخمهای دیابتی نتایج مطلوبی را در زمینه آنژیوژنسیس کسب کردند [۱۸].

با ادامه آزمایش در روز پانزدهم بعد از سوختگی، تعداد عروق خونی موجود در بستر زخم هنوز در گروهی که ال - آرژنین را دریافت کرده بودند، بالاتر از سایر گروهها بود ولی تفاوت میانگین بین گروهها نسبت به روز هفتم کاهش یافته بود. با ادامه روند یک ترمیم موفق بایستی که از تعداد و تراکم عروق خونی تازه تشکیل شده کاسته می شود که این امر در مرحله تجدید ساختار رخ می دهد که در آن بسیاری از عروق خونی تمایز یافته از بین می روند و حذف می شوند. با مشاهده میانگین تعداد عروق خونی در گروههای مورد مطالعه در روز پانزدهم می توان گفت که احتمالاً گروه ال - آرژنین وارد این مرحله شده است و تکثیر چندانی پیدا نکرده است در حالی که در گروههای کنترل و L-NAME در مرحله تزیاید بوده و

نتیجه‌گیری محققین دیگر در این خصوص به این صورت بوده است که NO نقشی مهمی را در تنظیم عملکرد فیروپلاستها ایفا می‌کند و مهار سنتز NO در زخم منجر به کاهش سنتز کلاژن توسط فیروپلاستهای زخم می‌شود [۹]. علاوه بر این VEGF به‌عنوان کلید اصلی تنظیم‌کننده تشکیل بافت گرانوله معرفی کرده اند و تولید آن در بافت گرانوله وابسته به حضور فعال NOS و تولید NO است [۲۲]. نتایج این قسمت از مقاله با حاضر با نتایج بسیاری از محققین دیگر همسویی دارد [۱۱، ۱۲].

با توجه به نتایج حاصل از بررسی شاخصهای ترمیمی در مطالعه حاضر می‌توان نتیجه‌گیری کرد که احتمالاً NO سبب تسریع در بهبود زخم می‌شود و مهار آن ترمیم را با اختلال مواجه می‌سازد. اما در رابطه با عوارض سوختگی و NO در سایر ارگانها نمی‌توان قضاوت کرد که آیا تجویز پیش‌سازهای NO و یا مهار تولید آن چه نقشی بر سایر ارگانها دارد. گان (Gan) و همکاران در سال ۲۰۰۵ عنوان کردند که بیان Nos در نورونهای گانگلیون میانتریک روده‌ها در موشهای بزرگ آزمایشگاهی دچار سوختگی منجر به اختلال حرکتی روده‌ها می‌شود [۲۳] یا پروکسی نیتريت تولید شده در زخمهای سوختگی که یک ماده سمی است می‌تواند منجر به ضایعاتی در ریه شود. یادآوری می‌شود که پروکسی نیتريت از واکنش سریع بین سوپراکسید و نیتريك اکساید ایجاد می‌شود [۲۴]؛ بنابراین بررسی عوارض NO در سایر ارگانهای افراد دچار سوختگی نیازمند تحقیقات بیشتر است.

References

1. **Cakir B, Yegen C.** Systemic responses to burn injury. *Turk J Med Sci* 2004; 34: 215-26.
2. **Heimbach D.** Burn patients, then a now. *Burns* 1999; 25(1): 1-2.
3. **Mokaddas E, Roimi Vo, Sanyal SC.** In vitro activity of piperacillin/ tazobactam versus other broad – spectrum antibiotics against nasolacrimal gram – negative pathogens isolated from burn patients. *J Chemother* 1998; 10(3): 208-214.
4. **Jacques I.** A simple guide to burn treatment. *Burns* 1995; 21: 221-5.
5. **Smahel S.** Viability of skin thickness thermal damage: experimental studies. *Burns* 1991; 17: 17-27.
6. **Kosliand DE.** Molecule of the year. *Science* 1993; 202: 1953-60.
7. **Rawlingson A.** Nitric oxide, inflammation and acute burn injury. *Burns* 2003; 29(7): 631-40.
8. **Paulsen SM, Wurster SH, Nanncy LB.** Expression of inducible nitric oxide synthase in

- human burn wounds. *Wound Repair Regen* 1998; 6: 142-8.
9. **Akcaay MN, Ozcan O.** Effect of nitric oxide synthase inhibitor on experimentally induced burn wounds. *J Trauma* 2000; 49: 327-30.
 10. **Witte MB, Burbul A.** Role of nitric oxide in wound repair. *Am J Surg* 2002; 183(4):406-12.
 11. **Canturk NZ, Vural B, Canturk Z, Esen S.** The role of L-arginine and neutrophils on incisional wound healing. *Eur J Emerg Med* 2001;8(4):311-5.
 12. **Schaffer MR, Tantry U, Van Wesep RA, Barbul A.** Nitric oxidw metabolism in wounds. *J surg Res* 1997;71(1):25-31.
 13. **Ghaffari A, Neil DH, Road J, Ghahary A.** A direct nitric oxide gas delivery system for bacterial. *Nitric oxide* 2005;12 (3):129-40
 14. **Oliveria GV, Shimodo K.** Skin nitric oxide and its metabolites are increased in non burned skin after thermal injuries. *Shock* 2004; 22(3): 278-82.
 15. **Hosnuter M, Gurel A.** The effect of CAPE on lipid peroxidation and nitric oxide levels in the plasma of rats following thermal injury. *Burns* 2004; 30(2): 121-35.
 16. **Keswani MH, Vartak AM, Patil A.** Histological and bacteriological studies of burn wounds treated with boiled potato peel dressing. *Burns* 1991; 16: 137-43.
 17. **Frank S, Stallmeyer B, Kampfer H, Kolb N.** Nitric oxide triggers enhanced induction of vascular endothelial growth factor expression in cultured keratinocytes and during cutaneous wiund repair. *FASEB J* 1999; 13: 2002-14.
 18. **Galiano D, Tepper M, Polo R, Bhalt A, Steinmetz G, Gurtner C.** Topical Vascular endothelial growth factor accelerates diabetic wound healing through increased angiogenesis and by mobilizing and recuiting bone marrow – derived cells. *Am J Pathol* 2004; 164: 1935-47.
 19. **Shi HP, Eyron DT.** Supplemental L- Arginine enhanced wound healing in diabetic rats. *Wound Repair Regen* 2003; 11(3): 198-203.
 20. **Lindblom L, Cassuto J, Yvegard L.** Importance of nitric oxide in regulation of burn oedema, proteinureia and urine output. *Burns* 2000; 26: 13-7.
 21. **Weitzberg E, Lundberg JO.** Nonenzymatic NO production in humans. *Nitric oxide* 1998;2(1): 1-7.
 22. **Howdieshell TR, Webb WL, Sathyanaragana M.** Inhibition of inducible nitric oxide synthage results in reductions in wound vascular endothelial growth factor expression, granulation tissue formation and local perfusion. *Surgery* 2003; 133(5): 528-37.
 23. **Gan HT, Chen JD.** Roles of nitric oxide and prostaglandins in pathogenesis of delayed colonic transit after burn injury in rats. *Am J physiol* 2005; 288(5): 1316-24.
 24. **Chen LW, Wang US, Chen HL, Chen JS.** Perexinitrite is an important mediator in thermal injury induced lung damage. *Crit Care Med* 2003; 31(8): 2170-7.