

# Kronik yara iyileşmesi modelinde topikal nikotinamid ve asetil sisteinin etkileri

Effects of topical nicotinamide and acetyl cysteine in chronic wound healing model

Mehmet Özler\*, Cansel Özkan\*\*, Esra Erdoğan\*\*\*, Turgut Topal\*, Serdar Sadır\*, Bülent Uysal\*, Öter Şükrü\*, Ahmet Korkmaz\*

**Amaç:** Yara iyileşmesi cerrahi işlemler ya da travmalardan sonra ortaya çıkan iyi organize olmuş bir tamir sürecidir. İyileşme süreci birçok nedenle bozulabilir. İyileşmeyi kısıtlayan en önemli nedenlerden biri kanlanma azlığı ve gelişen hipoksidir. Bu şekilde bozulmuş olan iyileşme süreci çoğunlukla diyabet, venöz ve basıya bağlı ülserlerde ortaya çıkar. Çalışmamızda kronik yara iyileşmesinde nikotinamid ve asetil sistein moleküllerinin topikal uygulamalarda yara iyileşmesine olan etkisini görmeyi amaçladık.

**Yöntem:** Çalışmada toplam 45 adet Sprague-Dawley türü erkek rat kullanıldı. Kontrol, asetil sistein ve nikotinamid grupları 3., 5. ve 8.günlerde yara dokuları alınmak üzere üç alt gruba ayrıldı. Anestezi altında sırt kısmına bipediküllü flep yapılan deney hayvanlarında 3 gün sonra 6 mm punch biyopsi ile 6 adet eksizyonel cilt yarası oluşturuldu. Oluşturulan iskemik cilt yaralarına 50 mg/kg dozunda asetil sistein ve 100 mg/kg nikotinamid topikal olarak yedi gün süreyle günde bir kez uygulandı. Üçüncü, 5. ve 8. günlerde alınan yara dokularında yara yüzey alanı ölçümleri ve histopatolojik değerlendirme yapılarak iyileşme düzeyleri değerlendirildi.

**Bulgular:** Üçüncü, 5. ve 8. günlerde yapılan histopatolojik değerlendirmelerde, nikotinamid ve asetil sistein uygulanan gruplarda kontrol grubuna göre inflamatuvar hücre sayısı daha az, fibroblast sayısı ve kollajen sentezinin daha fazla olduğu görülmüştür. Tüm günlerde bakılan yara yüzey alanı ölçümleri de histolojik bulgulara benzer olarak tedavi uygulanan gruplarda anlamlı olarak düşük çıkmıştır.

**Sonuç:** Biz yaptığımız bu çalışma ile antioksidan özellikleri iyi bilinen nikotinamid ve asetil sistein moleküllerinin kronik yara modelinde olumlu etki gösterdiği ve yara iyileşmesini hızlandırdığını gösterdik.

**Anahtar Kelimeler:** Yara iyileşmesi, asetil sistein, nikotinamid, kronik yara

\*Gülhane Askeri Tıp Akademisi, Fizyoloji AD, Ankara, Türkiye  
\*\*Gülhane Askeri Tıp Akademisi, Eczacılık Bilimleri AD, Ankara, Türkiye  
\*\*\*Gülhane Askeri Tıp Akademisi, Tıbbi Histoloji ve Embriyoloji AD, Ankara, Türkiye

Dr. Mehmet Özler  
E-posta: fizyomehmet@gmail.com

Makale Geliş Tarihi: 20 Kasım 2009  
Makale Kabul Tarihi: 16 Aralık 2009

## GİRİŞ

Yara iyileşmesi cerrahi işlemler ya da travmalardan sonra ortaya çıkan iyi organize olmuş bir tamir sürecidir. Çeşitli faktörlere bağlı olarak bu organizasyonda meydana gelecek bozukluklar iyileşme sürecini uzatır veya kronikleştirir. İyileşmeyen bu tip yaralar gerek hasta gerekse hekim açısından önemli bir sorun teşkil eder. Kronik yaraya neden olan üç ana etken bası, diyabet ve venöz ülserler olarak sıralanabilir (1). Yara iyileşmesini bozan ve uzamasına neden olan ana faktör doku oksijenlenmesinin bozulmasıdır. Doku oksijenizasyonunun bozulması, oksijene bağımlı ve iyileşmenin en önemli basamaklarından bir tanesi olan kollajenin sentezini inhibe eder (2). Ayrıca kronik yaraların etyolojisi ne olursa olsun, biyokimyasal ölçümlerde oksidatif stres artışı dikkati

çekmektedir (3). Aynı zamanda bu yaralarda çoğunlukla artmış inflamasyon da mevcuttur. Artmış inflamasyon doku harabiyetini artırır. Bunun sonucunda iyileşme durabilir.

N-Asetil sistein, birçok çalışmada ve klinikte oldukça yaygın olarak kullanılan bir antioksidandır. Asetil sistein alındıktan sonra L-sistein'e metabolize edilir ki bu glutatyonun yapısında kullanılır. Asetil sistein aynı zamanda taşıdığı tiyol grubu sayesinde doğrudan kendisi de antioksidan olarak fonksiyon görür (4). Asetil sistein yıllardan beri asetaminofen toksisitesinde ve çeşitli akciğer hastalıklarında mukolitik olarak güvenle kullanılmaktadır (5).

Nikotinamid, nikotinik asidin amid formudur. Nikotinamid hücre ve dokularda nikotinamid adenin dinükleotid (NAD<sup>+</sup> veya NADH) ve nikotina-

mid adenin dinükleotid fosfat (NADP<sup>+</sup> veya NADPH) şeklinde bulunur. NAD<sup>+</sup> ve NADP<sup>+</sup>, çok sayıda oksidoredüksiyon reaksiyonlarında dehidrojenazların koenzimi olarak görev yaparlar. Bu enzimler hücrenin enerji metabolizması için oldukça önemlidir (6). Aynı zamanda glutatyon redüktaz NADPH varlığında okside glutatyonu indirger. Böylece nikotinamid enerji metabolizmasının yanında antioksidan sistemde de rol almış olur.

Büyük bir sağlık sorunu olan kronik yaraları iyileştirmeye yönelik çözümler üretmek, günümüzde oldukça önemlidir. Değişen çevresel etkenler sonucunda başta diyabet olmak üzere artan kronik hastalıklar sonucu bu problemle artan oranda karşılaşmaktayız. Bu amaçla biz de kronik yara iyileşmesinde nikotinamid ve asetil sistein moleküllerini topikal olarak uygulayarak iyileşme sürecine olan etkilerini değerlendirmeyi amaçladık.

#### GEREÇ VE YÖNTEM

GATA Hayvan Deneyleri Etik Kurulu tarafından etik onay verilmesinden sonra başlayan çalışmada 45 adet 200–250g Sprague-Dawley cinsi erkek sıçan kullanılmıştır. Deney hayvanları çalışma süresince aynı laboratuvar koşullarında tutulmuş, ticari sıçan yemi ve normal musluk suyuyla beslenmiştir.

#### Cerrahi yöntem

İlk önce deney hayvanları üç eşit gruba bölündü. Daha sonra her grup 3., 5. ve 8. günlerde yara dokuları alınmak üzere üç alt gruba ayrıldı.

Bipediküllü flebin oluşturulması: Çalışmamızda Schwarz ve ark. (7)'nin tanımladığı iskemik yara modeli kullanıldı. Bu yöntemde iskemik zemini simüle etmek amacıyla önce bipediküllü flep oluşturuldu. Anestezi (intraperitoneal (ip) ketamin (85 mg/kg) + ksilazin (12.5 mg/kg)) altında ratlar sırtları yukarıda olacak şekilde karın üzerine yatırılarak sabitlendi. Sırt bölgesinde, iki skapula arasından, iliak çıkıntılar arasına uzanan yaklaşık 10 x 4 cm'lik alandaki tüyler cerrahi sabun ile yumuşatıldıktan sonra traş edildi ve çalışma bölgesinden uzaklaştırıldı. Tüyden arındırılmış alan antiseptik (polyod, drogan, Ankara) solüsyonuyla temizlendikten sonra skapulalardan iliak çıkıntılara dek paralel uzanan iki kenar, bistüri ile panniculus karnozus dahil kesildi. Daha sonra flep cilt altı dokusu diseke edildi. Oluşturulan bipediküllü flebin kenarları 4/0 (Doğan ipek, Trabzon) atravmatik ipek kullanılarak sütüre edildi. En son opsite

(Smith@nephew medikal, İngiltere) anti-septik sprey sıkılarak işleme son verildi.

Yaraların oluşturulması: Bipediküllü flep oluşturulan deney hayvanları, sonraki üç gün kendi haline bırakıldı. Üçüncü gün, anestezi altında yara oluşturma işlemine başlandı. İşleme başlamadan önce betadine solüsyonuyla cilt temizliği yapıldıktan sonra işlemlere steril koşullar altında devam edildi. Altı adet tam kat cilt yarası, 6 mm'lik punç biopsi (Acupunch, Acuderm Inc., Lauderdale, FL, USA) aleti ile flep üzerinde oluşturuldu.

#### Asetil sistein ve Nikotinamid uygulaması

İlk önce topikal uygulamalarımız için gereken özel jel yapıldı. Jelin ana taşıyıcısı olarak biyoadheziv özelliği olan Karbopol 981 polimeri (Goodrich, Belçika) kullanıldı. Karbopol 981 toz halindeyken propilen glikol (Sigma, ABD) ve su ile karıştırılarak bir gece bekletildi. Oluşan jele istenen miktarda trietanolamin (Carlo Erba, İtalya) karıştırılarak jelin yoğunluğu ayarlandı. Daha sonra propilen glikol ve su yardımı ile etken maddeler nikotinamid (Sigma, ABD) ve asetil sistein (Sigma, ABD) karışıma katıldı. Son olarak koruyucu madde benzalkonyum klorür eklendi ve trietanolamin ile pH değeri 5,5'e ayarlanarak jel tamamlandı (8).

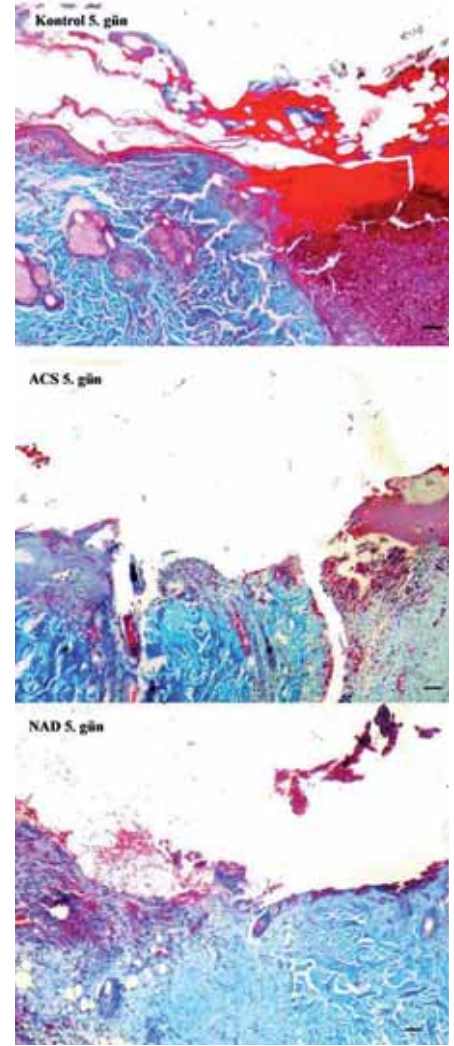
Tedavi gruplarına 50 mg/kg asetil sistein ve 100 mg/kg nikotinamid topikal olarak günde bir kez uygulandı. Kontrol grubuna ise sadece taşıyıcı jel uygulaması yapıldı. Üçüncü, 5. ve 8.günlerde anestezi altında alınan yara dokularında yara yüzey alanı ölçümleri ve histopatolojik değerlendirme yapılarak iyileşme düzeyleri değerlendirildi.

#### Yara dokusunun çıkarılması

Deney hayvanları anestezi altında karınları üzerine yatırılarak yara yüzey alanı ölçümleri için şeffaf bir naylona yara sınırları çizilerek aktarıldı. Daha sonra bu çizimler milimetrik kağıt yardımı ile ölçülerek sayısal veriler haline getirildi. Son olarak kalplerinden kan alınarak feda edilen deney hayvanlarının yara dokuları çıkartıldı ve histopatolojik değerlendirme için formaldehite konularak saklandı.

#### Histolojik değerlendirme

Yara dokuları fiksasyon işlemi için 18 saat süre ile tamponlanmış %10'luk formalinde tutulduktan sonra doku takip cihazında (Thermo scientific, Tissue Excelsior, İngiltere) şeffaflandırma işlemi gerçekleştirildi. Parafin bloklara gömülen dokular mikroskop cihazında (Microm, HM 355S, Alman-

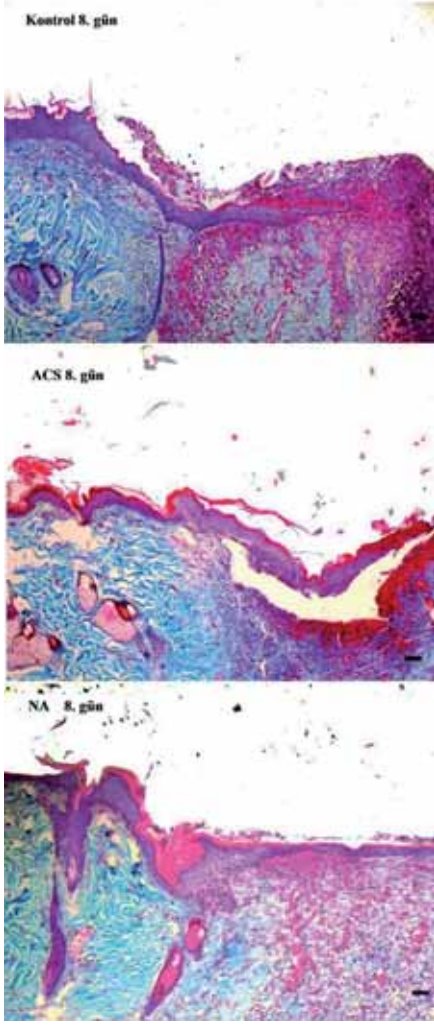


Şekil 1. Tedavinin 5. gününde yara kesitleri (Masson trikrom, x10)(ACS: Asetilsistein, NA Nikotinamid).

ya) 5 mikronluk kesitlere ayrıldı. Elde edilen preparatlar deparafinizasyon sonrası doku boyama cihazında (Leica, ST5020, Almanya) Masson Trikrom boyama yapılarak ışık mikroskopunda incelendi.

#### İstatistik

Tüm istatistiksel analizler SPSS11.0 (SPSS-FW, SPSS Inc., Chicago, IL., USA) istatistik paket programı ile yapılmıştır. İlk önce punç biyopsi aletinin yüzey alanı hesaplanarak bazal yara yüzey alanımız olarak belirlendi. Çalışmada kullanılan tüm grupların yara yüzey alanlarının bu alana göre iyileşme yüzdeleri hesaplandı. Bu amaçla, "Kruskal wallis" testi ile varyans analizi yapıldıktan sonra, anlamlı sonuç veren grupların ikiyeşerli olarak karşılaştırılmalarında denek sayısına uygun olarak nonparametrik Mann Whitney-U testi

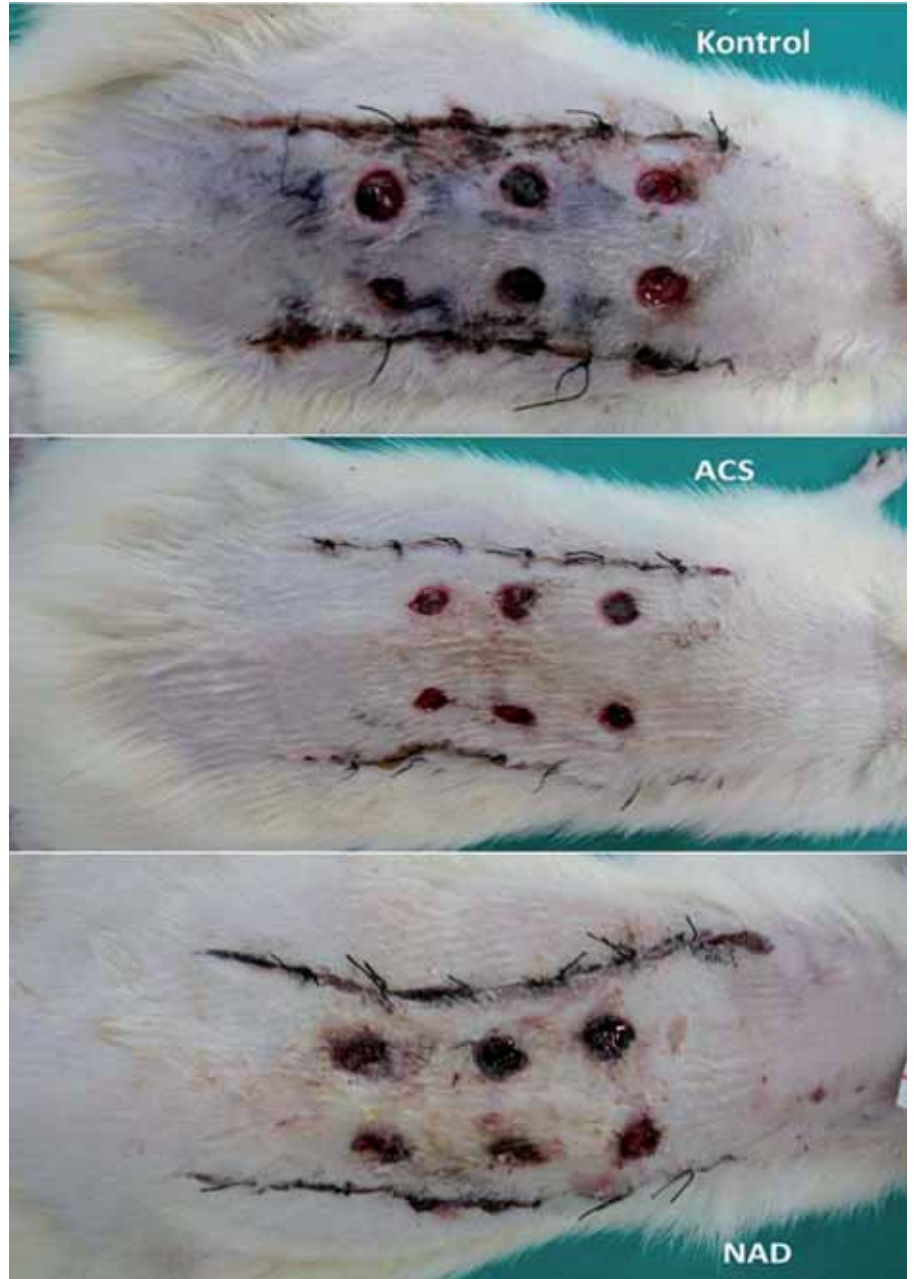


Şekil 2. Tedavinin 8. gününde yara kesitleri (Masson trikrom, x10).

kullanıldı. Sonuçta  $p < 0.05$  bulunduğu anda sonuç anlamlı olarak kabul edildi.

#### BULGULAR

Yapılan histolojik değerlendirmelerde 3., 5., ve 8.günlerde alınan yara dokularının genel olarak tedavi gruplarında daha matür görünümde olduğu izlendi. Bu günlerde yapılan değerlendirmelerde özellikle, fibroblastik aktivitede, granülasyon dokusu oluşumunda, neovaskülarizasyon ve kollajen gelişiminde kontrol grubuna göre belirgin bir artış olduğu izlenmiştir. Ayrıca yine bu günlerde tedavi gruplarında inflamatuvar hücre yoğunluğunun daha az olduğu gözlenmiştir. 8.gün alınan yara dokuları kesitlerinde tedavi gruplarında epitelizasyonun kontrol grubuna göre belirgin ilerlemiş olması dikkat çekmektedir. Yapılan histolojik değerlendirmelerde nikotinamid ve asetilsistein grupları arasın-



Şekil 3. Tedavi ve kontrol grupları yaralarının görünümü (3.gün).

da belirgin bir farklılık gözlenmemiştir. Şekil 1 ve 2'de örnek mikroskopik görüntüler görülmektedir.

Üçüncü, 5. ve 8.günlerde yapılan yara yüzey alanı ölçümlerinde tedavi gruplarındaki yaraların kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha hızlı iyileştiği görüldü. Üçüncü nikotinamid uygulaması 3. günde asetilsistein uygulamasına göre yara iyileşmesini anlamlı olarak azaltmıştır. Sekizinci gün yara yüzey alanları değerlendirilmesinde ise asetil sistein nikotinamid uygulamasına göre anlamlı olarak

iyileşmeyi hızlandırmıştır. Bazal yara yüzey alanına göre iyileşme yüzdesinin tüm gruplara ait değerleri Tablo 1'de verilmiştir. Çalışmanın üçüncü gününde kontrol ve tedavi gruplarının örnek yara görüntümleri Şekil 3'te izlenmektedir.

#### TARTIŞMA

Yaralanmadan hemen sonra inflamasyonla başlayan iyileşme süreci, yeni doku oluşumu ve olgunlaşma evresi ile devam eder. İnflamasyonun erken evresinde salgılanan kemotaktik faktörlerin etkisi ile dolaşımdan bol miktarda nötrofil ve mak-

**Tablo 1.** İlk güne göre yara yüzey alanı iyileşme yüzdesi (Ortanca (dağılım))

Grup	Yara iyileşme yüzdesi (ortanca(dağılım))
Kontrol 3. gün	41,4 (29,1-53,9)
Asetil sistein 3. gün	57,4 (50,3-68,1) <sup>a</sup>
Nikotinamid 3. gün	50,3 (43,2-68,1) <sup>a,b</sup>
Kontrol 5. gün	43,2 (32,6-60,9)
Asetil sistein 5. gün	64,5 (53,9-82,2) <sup>a</sup>
Nikotinamid 5. gün	62,7 (53,9-78,7) <sup>a</sup>
Kontrol 8. gün	64,5 (43,2-75,1)
Asetil sistein 8. gün	85,8 (71,6-89,3) <sup>a</sup>
Nikotinamid 8. gün	89,3 (82,2-92,9) <sup>a,b</sup>

<sup>a</sup> p<0.05 Kontrol grubuna göre iyileşmede anlamlı artış

<sup>b</sup> p<0.05 Asetil sistein grubuna göre anlamlı fark

rofaq yara bölgesine gelir. Yara bölgesine gelen bu hücreler ve diğerlerinin katkısı ile kollajen sentezi ve kontraksiyon ile yara kapanması gerçekleşir. Dolaşım veya herhangi bir metabolik problemi olmayan bir zeminde oluşacak yara, kendi aktif sürecinde kısa sürede iyileşir. Kan akımındaki yetersizlik, iskeminin derecesine bağlı olarak kronik yaraların oluşmasına neden olabilir. Herhangi bir sebeple oluşan iske-mi, dokuda hasara neden olan reaktif oksijen türevlerinin (ROT) oluşmasına neden olur (9,10). Kronik yara patogenezinde rol alan iskemi ve bunun sonucunda oluşan ROT'lar dokuda azalmış protein sentezine, artmış lökosit infiltrasyonuna ve artmış metalloproteinaz seviyesine neden olmaktadır. İskeminin neden olduğu bu patolojik değişiklikler sonucunda bozulmuş ekstrasellüler matriks yapımı ve uzamış inflamatuvar cevap nedeni ile yara iyileşmesi normal seyirinden çıkmaktadır (11).

Çalışmamızda yara iyileşmesinin önemli göstergelerinden biri olan yara yüzey alanı değişimleri incelendiğinde tedavi grupları değerlerinin kontrol grubundan an-

lamı olarak daha az olduğu görülmüştür. Tedavi amacıyla topikal olarak kullanılan hem nikotinamid hem de asetil sistein anlamlı olarak yara iyileşmesini hızlandırmıştır. Yapılan histolojik değerlendirmelerde tedavi gruplarında artmış kollajen sentezi ve epitelizasyon izlenmesi bu farklılığı desteklemektedir.

Yara iyileşmesi için anjiogenezis kritik öneme sahiptir. Kull ve ark. yaptıkları bir çalışmada nikotinamidin anjiogenik bir etkisinin olduğunu göstermişlerdir (12). Ayrıca Collins ve ark. (13) flep yaşayabilirliği üzerine yaptıkları çalışmada nikotinamidin olumlu etkisinin bu özelliğinden kaynaklanabileceğini iddia etmişlerdir. Yine bu araştırmacılar nikotinamidin hiperbarik oksijenin flep yaşayabilirliğini artırma etkisine olumlu katkı yaptığını da göstermişlerdir (14). Bizim çalışmamızda nikotinamid uygulanan grupta bulunan yara iyileşmesine olumlu katkı nikotinamidin anjiogenik özelliğinden kaynaklanabilir. Çünkü bizim uyguladığımız model kanlanma bozulmuş bir bölgede oluşturulmuş yaraları kapsamaktadır. Bu bölgede anjiogenezise bir katkı iyileşmeyi hızlandırmış olabilir.

Asetil sistein non spesifik antioksidan bir moleküldür. Hücrede glutatyon prekürsörü olarak görev alır. Birçok çalışmada antioksidan özelliği ile oksidatif stres ortamında hücre yaşayabilirliğini artırdığı gösterilmiştir (15,16). Yara bölgesinde bulunan başta nötrofiller olmak üzere immün hücreler mevcut bakteri ve mikroorganizmaları öldürmek için oksidatif patlama denilen NADPH oksidaz enziminin kullanıldığı bir reaksiyon ile ROT sentezini gerçekleştirirler (17). Kanlanma azlığı ya da başka nedenlerle nötrofillerin bölgede kalış sürelerinin uzaması ROT üretimini devam etmesine neden olarak doku hasarına neden olur. Bu durum kronik yaralarda daha çok görülmektedir (18,19). Bizim kullandığımız yara modeli ile yapılan çalışmalarda yara bölgesinde kan akımında azalma, iyileşmede uzama, oksidan stresde artma, eks-

trasellüler matriks yapımında bozulma; inflamatuvar evrenin uzaması ve artmış matriks metalloproteinleri aktivitesi gösterilmiştir (7,20,21). Kabali ve ark. (22) ratlarda kolon anastomuzu yaparak yara iyileşmesini değerlendirmişlerdir. Asetil sistein uygulanan gruplarda anlamlı olarak yara iyileşmesi hızlanmıştır. Yapılan başka bir çalışmada ise asetil sistein korneada oluşturulan yaraların iyileşmesini hızlandırmıştır (23). Asetilsisteinin olumlu etkisinin görüldüğü çalışmalarda, etkisini genellikle antioksidan sistem üzerinden yaptığı iddia edilmektedir. Başka bir çalışmada asetil sistein uygulamasının fibroblast proliferasyonunu artırdığını gösterilmiştir (24). Fibroblastlar yara iyileşmesi için çok önemli olan kollajen ve glikozaminoglikan sentezi yaparlar. Yara dokusunda yeterli fibroblast proliferasyonu ve beraberinde kollajen sentezinin olması yara iyileşmesini hızlandırır (25).

Çalışmamızda kullandığımız asetil sistein ve nikotinamid sayılan etkilerinin dışında antioksidan sistem üzerinden de etki etmiş olabilir. Eğer çalışmamızda antioksidan ve oksidatif parametrelere bakma imkanımız olsa idi belki bunu gösterebilirdik. Histolojik kesitlerde tedavi gruplarında inflamasyonun göreceli olarak kontrol grubuna göre daha az olduğu görüldü. Kronik yaraların özelliği olan iyileşmeyi engelleyen yoğun inflamasyonun uyguladığımız tedaviler ile sınırlanması iyileşmeyi hızlandırmış olabilir.

Sonuç olarak, yaptığımız çalışma ile hem asetil sistein hem de nikotinamid topikal uygulamalarının kronik yara iyileşmesini hızlandırdığını göstermiş olduk. Yara kapanmasını akut dönemde nikotinamid daha fazla hızlandırırken uzun dönemde asetil sisteininin daha fazla hızlandırdığı görülmüştür. Çalışmamızdan çıkan sonuçlara göre dolaşımı bozulan bölgelerde oluşan yaralarda asetil sistein ve nikotinamid uygulaması bilinen klasik tedavilerin etkisini artırarak tedaviye ekstra katkı sağlayabilir.

## SUMMARY

### Effects of topical nicotinamide and acetyl cysteine in chronic wound healing model

**Purpose:** Wound healing is a well-organized reparation process that develops after an operation or trauma. Healing process can be disturbed due to various factors. Decreased blood supply and subsequent hypoxia are some main factors. This interrupted process can frequently happen during diabetes and, decubitus and venous ulcers. In this study we aimed to observe the effects of nicotinamide and acetyl cysteine over chronic wound healing in topical applications.

**Patients and Methods:** Forty five Sprague-Dawley male rats are used in this study. Control, acetyl cysteine and nicotinamid groups are divided into three sub groups, as wound tissues to be obtained in 3rd, 5th and 8th days. A 6 mm punch biopsy was performed under anesthesia, to create a total of 6 excisional skin wounds on the bipedicular flaps at the dorsal side of each animal. On these ischemic skin wounds 50 mg/kg acetyl cysteine and 100 mg/kg

nicotinamide was applied b.i.d. for 7 days. At 3rd, 5th and 8th days, the degree of healing was assessed by wounds' surface area measurements and histopathological evaluation.

**Results:** In the histopathological assessments performed in 3rd, 5th and 8th days, it is found that the groups in which nicotinamide and acetyl cysteine were applied had less inflammatory cell numbers but more fibroblasts and collagen synthesis, in comparison to the control groups. Similar to the histopathological findings, a significant decrease was observed in the wounds' surface areas measured on a daily basis.

**Conclusion:** We demonstrated in this study that nicotinamide and acetyl cysteine molecules which are known to be effective antioxidants affect the chronic wound model positively and accelerate the recovery process.

**Key Words:** Wound healing, nicotinamide, acetyl cysteine, chronic wound

## KATKIDA BULUNANLAR

**Çalışmanın düşünülmesi ve planlanması:**  
Mehmet Özler

## Verilerin elde edilmesi:

Mehmet Özler, Cansel Özkan, Serdar Sadır, Bülent Uysal

## Verilerin analizi ve yorumlanması:

Turgut Topal, mehmet Özler, Esra Erdoğan

## Yazının kaleme alınması:

Mehmet Özler, Şükrü Öter, Ahmet Korkmaz

## İstatistiksel değerlendirme:

Turgut Topal

## KAYNAKLAR

1. Mustoe TA, O'Shaughnessy K, Loeters O. Chronic wound pathogenesis and current treatment strategies: a unifying hypothesis. *Plast Reconstr Surg* 2006;117:35-41.
2. Hutton J, Tappel A, Udenfried S. Cofactor and substrate requirements of collagen proline hydroxylase. *Arch Biochem Biophys* 1967;118:231-240.
3. Medina A, Scott PG, Ghahary A, Tredget EE. Pathophysiology of chronic non-healing wounds. *J Burn Care Rehabil* 2005;26:306-319.
4. Bulger EM, Maier RV. Antioxidants in critical illness. *Arch Surg* 2001;136:1201-1207.
5. Millea PJ. N-acetylcysteine: multiple clinical applications. *Am Fam Physician* 2009;80:265-269.
6. Ying W. NAD<sup>+</sup>/NADH and NADP<sup>+</sup>/NADPH in cellular functions and cell death: regulation and biological consequences. *Antioxid Redox Signal* 2008;10:179-206
7. Schwarz DA, Lindblad WJ, Rees RS. Altered collagen metabolism and delayed healing in a novel model ischemic wounds. *Wound Rep Reg* 1995;3:204-212.
8. Tas C, Ozkan CK, Savaser A, Ozkan Y, Tasdemir U, Altunay H. Nasal absorption of metoclopramide from different Carbopol 981 based formulations: In vitro, ex vivo and in vivo evaluation. *Eur J Pharm Biopharm* 2006;64:246-254.
9. Adamson B, Schwarz D, Klugston P, Gilmont R, Perry L, Fisher J, Lindblad W, Rees R. Oxidant stress: the role of the glutathione redox cycle in skin preconditioning. *J Surg Res* 1996;62:159-164.
10. Mustoe T. Understanding chronic wounds: a unifying hypothesis on their pathogenesis and implications for therapy. *Am J Surg* 2004;187:65-70.
11. Saarialho-Kere UK. Patterns of matrix metalloproteinase and TIMP expression in chronic ulcers. *Arch Dermatol Res* 1992;290:47-54.
12. Kull F, Brent DA, Parikh I, Cuatrecasas P. Chemical identification of a tumor derived angiogenic factor. *Science* 1987;236:843-845.
13. Collins TM, Denish A, Sheffield J, Mitra A, Stueber K, Smith YR. Nicotinamide enhances skin flap survival. *Scand J Plast Reconstr Surg* 1989;23:177-179.
14. Collins TM, Caimi R, Lynch PR, Sheffield J, Mitra A, Stueber K, Smith YR. The effects of nicotinamide and hyperbaric oxygen on skin flap survival. *Scand J Plast Reconstr Surg Hand Surg* 1991;25:5-7
15. Walsh TS, Lee A. N-acetylcysteine administration in the critically ill. *Intensive Care Med* 1999;25:432-4.
16. Gillissen A, Nowak D. Characterization of N-acetylcysteine and ambroxol in antioxidant therapy. *Respir Med* 1998;92:609-623.
17. Broughton G, Janis JE, Attinger CE. The basic science of wound healing. *Plast Reconstr Surg* 2006;117:12-34.
18. Broughton G, Janis JE, Attinger CE. Wound healing: an overview. *Plast Reconstr Surg* 2006;117:1-32.
19. Steiling H, Munz B, Werner S, Brauchle M. Different types of ROS-scavenging enzymes are expressed during cutaneous wound repair. *Exp Cell Res* 1999;247:484-494.
20. Rees RS, Smith DJ, Adamson B, Im M, Hinshaw D. Oxidant stress: the role of glutathione redox cycle in skin preconditioning. *J Surg Res* 1995;58:395-400.
21. Chen C, Schultz GS, Bloch M, Edwards PD, Tebes S, Mast BA. Molecular and mechanistic validation of delayed healing rat wounds as a model for human chronic wounds. *Wound Repair Regen* 1999;7:486-494.
22. Kabali B, Girgin S, Gedik E, Ozturk H, Kale E, Buyukbayram H. N-Acetylcysteine prevents deleterious effects of ischemia/reperfusion injury on healing of colonic anastomosis in rats. *Eur Surg Res* 2009;43:8-12
23. Aldavood SJ, Behyar R, Sarchahi AA, Rad MA, Noroozian I, Ghamsari SM, Sadeghi-Hashjin G. Effect of acetylcysteine on experimental corneal wounds in dogs. *Ophthalmic Res* 2003;35:319-323.
24. Kunnavatana SS, Quan SY, Koch RJ. Combined effect of hyperbaric oxygen and N-acetylcysteine on fibroblast proliferation. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2005;131:809-814.
25. Broughton G, Janis JE, Attinger CE. The basic science of wound healing. *Plast Reconstr Surg* 2006;117:12-34.