



ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ
Εθνικόν και Καποδιστριακόν
Πανεπιστήμιον Αθηνών
——— ΙΔΡΥΘΕΝ ΤΟ 1837 ———

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ

ΤΜΗΜΑ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗΣ

ΤΟΜΕΑΣ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗΣ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ

“ΚΟΣΜΗΤΟΛΟΓΙΑ-ΔΕΡΜΑΤΟΦΑΡΜΑΚΟΛΟΓΙΑ”

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**Συγκριτική κλινική μελέτη γέλης διασπάσης με οκτενιδίνης για την
επούλωση ελκών επαγόμενων από την μέθοδο της κρυοχειρουργικής**

ΝΕΚΤΑΡΙΟΣ Χ. ΣΤΡΑΤΙΔΑΚΗΣ

ΑΘΗΝΑ

ΣΕΠΤΕΜΒΡΙΟΣ 2020

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Μιχαήλ Ράλλης (επιβλέπων)

Αναπληρωτής καθηγητής, Τομέας Φαρμακευτικής Τεχνολογίας, Τμήμα Φαρμακευτικής,
Σχολή Επιστημών Υγείας, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών.

Βλάχου – Κωνσταντινίδου Μαριλένα

Αναπληρώτρια καθηγήτρια , Τομέας Φαρμακευτικής Τεχνολογίας, Τμήμα Φαρμακευτικής,
Σχολή

Επιστημών Υγείας, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

Παρασκευάς Δάλλας

Επίκουρος καθηγητής , Τομέας Φαρμακευτικής Τεχνολογίας, Τμήμα Φαρμακευτικής, Σχολή
Επιστημών Υγείας, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Το βασικοκυτταρικό καρκίνωμα αποτελεί ένα τοπικά διεισδυτικό όγκο επιθηλιακής προέλευσης. Θεωρείται το συχνότερο είδος καρκίνου του δέρματος στη λευκή φυλή και χαρακτηρίζεται από βραδεία ανάπτυξη, ενώ μεθίσταται σπανίως. Αντιμετωπίζεται με τη μέθοδο της κρυοχειρουργικής, καθώς στους ιστούς προκαλείται αμετάκλητη βλάβη λόγω σχηματισμού ενδοκυττάριου και εξωκυττάριου πάγου. Ως αποτέλεσμα της θεραπείας είναι η δημιουργία έλκους στην περιοχή της βλάβης. Η επούλωση των δερματικών πληγών αποτελεί μια σύνθετη και συχνά χρονοβόρα διαδικασία, η οποία εάν δεν ολοκληρωθεί αποτελεσματικά, είναι πιθανό να οδηγήσει σε επιπλοκές στην υγεία. Στην πλειοψηφία τους τα δερματικά τραύματα σχηματίζουν νεκρωτικό ιστό ή ιστικό ράκος, που χρησιμοποιείται ως υπόστρωμα για την ανάπτυξη μικροβιακού φορτίου και επιβραδύνει σημαντικά την επουλωτική διαδικασία. Στην κλινική πράξη, οι νεκρωτικοί ιστοί αφαιρούνται συνήθως με χειρουργικό καθαρισμό (debridement), ωστόσο η συγκεκριμένη μέθοδος χαρακτηρίζεται από πρόκληση πόνου, αιμορραγίας και τελικά αναστολή της επούλωσης. Για αυτόν τον λόγο διερευνάται η χρήση ενζύμων για την νεαροποίηση πληγών, καθώς φαίνεται να συμβάλλει στη διάσπαση και αποβολή του ιστικού ράκους χωρίς τα μειονεκτήματα της χειρουργικής αφαίρεσης.

Ισχυρά προκλινικά δεδομένα από μελέτες που πραγματοποιήθηκαν στο εργαστήριο μικρών πειραματοζώων του Τομέα Φαρμακευτικής Τεχνολογίας του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών χρησιμοποιώντας γέλη διασπάσης σε δόση 5U/ml, μετά τον σχηματισμό των ιστικών ρακών, βοήθησε σημαντικά στην απομάκρυνση αυτών και συνέβαλε στην ταχύτερη επούλωση του δέρματος.

Στην παρούσα κλινική μελέτη, εφαρμόστηκε γέλη διασπάσης 5U/ml με εφαρμογή μία φορά ανά τρεις ημέρες σε σύγκριση με εμπορικό σκεύασμα οκτενιδίνης με στόχο τη διερεύνηση της επούλωσης όπως και της πιθανής προληπτικής τους δράσης ως προς τον σχηματισμό των ιστικών ρακών. Έγινε μορφοποίηση σε γέλη με έκδοχο το Serigel 305 για ελαχιστοποίηση πιθανής τοξικότητας. Μετά την κρυοχειρουργική επέμβαση ακολούθησε επάλειψη των σκευασμάτων μέχρι να επιτευχθεί πλήρης επούλωση.

Πραγματοποιήθηκε ο σχεδιασμός μιας ανοικτής ετικέτας, παράλληλων ομάδων, συγκριτικής μελέτης. Δεκαέξι ασθενείς που προσήλθαν για κρυοχειρουργική και πληρούσαν τα απαραίτητα κριτήρια, κατανεμήθηκαν, ώστε να λαμβάνουν είτε καθημερινά, το φάρμακο αναφοράς είτε με συχνότητα μία φορά ανά τρεις ημέρες τη γέλη διασπάσης. Δώδεκα από αυτούς ολοκλήρωσαν όλες τις ημέρες παρακολούθησης επιτυχώς για 21 ημέρες, ενώ οι 8 προσήλθαν και στην εξέταση επανέλεγχου την ημέρα 60. Η αξιολόγηση της επουλωτικής δράσης, της ασφάλειας και της ανοχής γινόταν τις ημέρες 1,2,7,21 και 60, μέσω της κλινικής εικόνας, της λήψης φωτογραφιών και εμβιομηχανικών μετρήσεων όπως ενυδάτωσης της περιοχής. Ως τελικό σημείο της έρευνας θεωρήθηκε είτε η πλήρης επούλωση του έλκους είτε η 8η εβδομάδα από την αρχή της χορήγησης. Η ανάλυση των αποτελεσμάτων αποτελεί μία πρώτη ένδειξη σε ανθρώπους δείχνοντας πως η γέλη διασπάσης εμφανίζει ταχύτερη επούλωση σε σύγκριση με το φάρμακο αναφοράς, εξετάζοντας ωστόσο μικρό μέγεθος δείγματος.

ABSTRACT

The basal cell carcinoma is a locally invasive tumor of epithelial origin. It is considered the most common type of skin cancer in Caucasians and is characterized by slow growth, while it is rarely metastasises. It is treated with the method of cryosurgery, as it causes irreversible tissue damage due to the formation of intracellular and extracellular ice. The result of the treatment is the formation of an ulcer in the area of the lesion. Healing of skin wounds is a complex and often time- consuming process, which can lead to health complications, if not completed effectively, In the majority of skin lesions form necrotic tissue or rash tissue, which is used as a substrate for the development of microbial load and significantly slows down the healing process. In clinical practice, necrotic tissues are usually removed by surgical methods (debridement), however this method is characterized by causing pain, bleeding and eventual postponement of healing. For this reason, the use of proteolytic enzymes for wound healing is being investigated, as it seems to contribute to the breakdown and elimination of tissue rash without the disadvantages of surgical removal.

Strong preclinical data from studies performed in the laboratory of small animals of the Department of Pharmaceutical Technology of the National and Kapodistrian University of Athens using a dispase gel at a dose of 5U / ml, after the formation of tissue rashes, significantly helped to remove the skin and help the skin to heal.

At the present clinical study, a 5U / ml dispase gel was applied once every three days in comparison with a drug reference that contains octenidine to investigate the healing as well as their possible preventive effect on the formation of tissue rashes. Gel formulated with Sepigel 305 to minimize possible toxicity. The cryosurgery was followed by application of the gels until complete healing was achieved.

An open label, parallel groups, comparative study was designed. Sixteen patients who came for cryosurgery and met the necessary criteria were assigned to receive the reference medicine daily or the gel that we formulated once every three days. Twelve of them successfully completed all follow-up days for 21 days, while 8 also underwent the re-examination on day 60. The evaluation of the healing effect, safety and tolerance was done on days 1,2,7,21 and 60, through of the clinical evaluation, photographs of skin and biomechanical measurements such as hydration of the area. The end point of the study was considered either the complete healing of the ulcer or the 8th week from the beginning of the administration. The analysis of the results is a first indication in humans showing that the dispase gel shows faster healing compared to the reference drug, however considering a small sample size.

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα να εκφράσω τις θερμές μου ευχαριστίες στον Αναπληρωτή καθηγητή Ράλλη Μιχαήλ του Τομέα Φαρμακευτικής Τεχνολογίας του Τμήματος Φαρμακευτικής, του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών για την ανάθεση της παρούσας μελέτης, την εμπιστοσύνη, την ενεργητική ακρόαση και το ενδιαφέρον που μου έδειξε καθ' όλη τη διάρκεια της εκπόνησης της διπλωματικής μου εργασίας καθώς και για τη συμμετοχή του στην τριμελή επιτροπή για την ανάγνωση και την αξιολόγηση της εργασίας. Ακόμη, θα ήθελα να ευχαριστήσω, την αναπληρώτρια καθηγήτρια κυρία Βλάχου – Κωνσταντινίδου Μαριλένα και τον επίκουρο καθηγητή Δρ. Παρασκευά Δάλλα για την συμμετοχή τους στην τριμελή επιστημονική επιτροπή την ανάγνωση και την αξιολόγηση της εργασίας μου.

Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά την Δ/ντρια του Ε.Σ.Υ. Δρ. Άννα Τάγκα του Νοσοκομείου Αφροδισίων & Δερματικών Νόσων <<Ανδρέας Συγγρός>> για την άοκνη υποστήριξη, καθοδήγηση και αρωγή της, τόσο στο σχεδιασμό του πειραματικού πρωτοκόλλου όσο και σε όλη την διάρκεια εκπόνησης της διπλωματικής μου εργασίας. Η στάση της με ενέπνευσε στο να έρθω σε επαφή και να εξοικειωθώ με τον κλινικό τομέα όπως και να εξελίξω τον τρόπο που σκέφτομαι ως επαγγελματίας υγείας. Θα ήταν σημαντική έλλειψη να σταθώ μόνο στην επιστημονική της συμβολή στην εργασία και να μην τονίσω την ηθική υποστήριξη της.

Ακόμη θα ήθελα να ευχαριστήσω τους Δ/ντες του Τμήματος Ειδικών Θεραπειών του νοσοκομείου Δρ. Παναγιωτόπουλο Αντώνιο και Πολυχρονάκη Ελένη για τις σημαντικές υποδείξεις τους όσον αφορά τον τομέα της Κρυσταλλοχειρουργικής, την βοήθεια, την προθυμία και το ειλικρινές ενδιαφέρον που υπέδειξαν για την διεξαγωγή της παρούσας μελέτης.

Επιπροσθέτως, θέλω να ευχαριστήσω το Τμήμα Ακτινοθεραπευτικής Ογκολογίας τον δ/ντη Δρ. Κολλιαράκη Νικόλαο και το προσωπικό την κυρία Τόνια και την κυρία Φανή για την παραχώρηση του χώρου ώστε να γίνονται οι μετρήσεις την αμέριστη κατανόηση και το ευχάριστο κλίμα που μας δημιουργούσαν.

Ένα μεγάλο ευχαριστώ και στον Επίκουρο Καθηγητή Καραλή Ευάγγελο του Τομέα Φαρμακευτικής Τεχνολογίας του Τμήματος Φαρμακευτικής, του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών για την σημαντική καθοδήγηση του στο κομμάτι της στατιστικής επεξεργασίας.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω ακόμα όλα τα μέλη του Εργαστηρίου Μικρών Πειραματοζώων του Τομέα Φαρμακευτικής Τεχνολογίας για την συνεργασία. Τέλος, ένα μεγάλο ευχαριστώ

οφείλω πάνω από όλα στους κοντινούς μου ανθρώπους, στους φίλους μου και ιδιαίτερα στην οικογένειά μου για την ηθική υποστήριξη, την κατανόηση, και την ανεκτικότητα που έδειξαν όλο αυτό το χρονικό διάστημα που απαιτήθηκε για να αφοσιωθώ στην εκπόνηση της διπλωματικής μου εργασίας.

Περιεχόμενα

1. Θεωρητικό μέρος	15
1.1 Δέρμα	15
Δομή του δέρματος	16
1.1.1Επιδερμίδα	16
1.1.2. Χόριο.....	16
1.1.3. Υπόδερμα	17
1.1.4. Αιμάτωση του δέρματος	18
1.1.5. Εξαρτήματα του δέρματος	19
1.1.6.Τρίχες.....	19
1.1.7. Σμηγματογόνοι αδένες.....	19
1.1.8. Ιδρωτοποιοί αδένες	19
1.1.9. Νύχια	20
1.2 Παθογένεια κρυοχειρουργικής βλάβης	20
1.2.1. Διαταραχές των ιστών λόγω άμεσης επίδρασης ψύχους.....	22
Αγγειακές βλάβες.....	25
Ανοσολογική απόκριση	26
Α. Ενδείξεις	27
Β. Αντενδείξεις.....	28
1.2.2. Τεχνικές ψεκασμού	28
Εξ επαφής τεχνική	29
Κρυοχειρουργική επέμβαση	31
Η πορεία της κρυοχειρουργικής βλάβης	35
1.2.3 Παραδείγματα επιδερμικών όγκων που εφαρμόζεται η τεχνική	36
Ακτινικές υπερκερατώσεις	36
Νόσος του Bowen.....	37
Δερματικό κέρας	38
Βασιλοκυτταρικό καρκίνωμα	38
Πρόγνωση.....	39
1.2.4. Ανεπιθύμητες ενέργειες.....	43
Μόνιμες.....	44
Προστασία βλάβης από μηχανικό τραύμα	45
1.3 Φυσιολογία Επούλωσης.....	45

Τρόποι Επούλωσης.....	46
1.3.1. Επούλωση κατά πρώτο σκοπό (Wound healing by first intention)	46
1.3.2.Καθυστερημένη επούλωση κατά πρώτο σκοπό (Delayed primary healing) ή επούλωση κατά τρίτο σκοπό (Wound healing by tertiary intention)	46
1.3.3.Επούλωση κατά δεύτερο σκοπό (Wound healing by second intention)	47
1.3.4. Επούλωση των μερικού πάχους τραυμάτων (Wound healing of partial - thickness wounds).....	47
1.3.5. Μηχανισμοί της επούλωσης	47
1.3.6. Φάση αιμόστασης και φλεγμονής	48
1.3.7. Φάση σχηματισμού του ιστού	51
1.3.8. Φάση αναδιαμόρφωσης του ιστού.....	53
1.4 Παράγοντες που επιδρούν στην επούλωση	55
1.4.1. Τοπικοί παράγοντες	55
1.4.1.1. Οξυγόνωση	55
1.4.1.2. Μόλυνση	56
1.4.1.3. Μικροκλίμα του δέρματος	57
1.4.2. Συστηματικοί παράγοντες.....	58
1.4.2.1. Ηλικία	58
1.4.2.2. Ορμόνες φύλου	59
1.4.2.3. Άγχος – Ψυχικό στρες.....	59
1.4.2.4. Φαρμακευτική αγωγή	60
Γλυκοκορτικοειδή.....	61
Μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη φάρμακα.....	61
Χημειοθεραπευτικά φάρμακα	61
1.4.2.5. Παχυσαρκία.....	62
1.4.2.6. Κάπνισμα.....	63
1.5. Αξιολόγηση και διαχείριση πληγών	64
Καθαρισμός	65
Μέθοδος καθαρισμού :.....	65
1.5.1 Νεαροποίηση	66
1.5.1.1 Μέθοδοι Νεαροποίησης	66
Μηχανικός καθαρισμός	66
Χειρουργικός καθαρισμός.....	67
Αυτολυτικός Καθαρισμός.....	68

Ενζυματικός καθαρισμός	68
Μικροβιακό Φορτίο	70
Ενυδάτωση πληγών.....	71
1.6. Τοπικά χορηγούμενοι αναπλαστικοί / επουλωτικοί παράγοντες	72
1.6.1. Υαλουρονικό οξύ	73
1.6.2. Εκχύλισμα του φυτού <i>Calendula officinalis</i> , Asteraceae.....	74
1.6.3 Οξείδιο του Zn (ZnO).....	74
1.6.4. Τοπικά χορηγούμενοι παράγοντες νεαροποίησης	74
1.6.5. Κολλαγενάση	74
1.6.6 Αφρώδη Επιθέματα.....	75
1.6.7 Αντιμικροβιακοί παράγοντες	75
1.6.8. Αντισηπτικοί παράγοντες	75
1.6.9 Οξικό οξύ	76
1.6.10. Αντιβιοτικοί παράγοντες	76
1.6.11 Πολυμυξίνες	76
1.6.12. Γενταμικίνη.....	77
1.6.13. Αργυρούχος σουλφαδιαζίνη	77
1.6.14. Σουκραλφάτη	77
1.6.15. Αιμοστατικοί Παράγοντες	78
1.6.16. Αυξητικοί παράγοντες.....	78
1.7 Δραστικές ουσίες που εξετάστηκαν στη μελέτη.....	78
1.7.1 Διασπάση	78
1.7.2 Οκτενιδίνη	80
2. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	81
2.1 Σχεδιασμός μελέτης	81
2.2. Χώρος	81
2.3. Μέγεθος Δείγματος.....	81
2.4. Επιλογή ασθενών	81
2.5. Μετρούμενα σημεία	82
2.6. Διαδικασία.....	82
2.7. Ερευνητικό πρωτόκολλο	83
Εμπιστευτικότητα.....	83
Διατήρηση Δεδομένων.....	83
Αναθεωρήσεις – Τροποποιήσεις στο Πρωτόκολλο	83

Παρακολούθηση	84
Τήρηση του Πρωτοκόλλου	84
Τερματισμός της μελέτης.....	84
Δημοσιεύσεις	84
Ηθικά θέματα	84
Κόστος	85
Διακοπή	85
2.8 Σκοπός	85
2.9. Οργανολογία και αρχές μεθόδων μετρήσεων	85
Πρωτόκολλο λήψης φωτογραφιών.....	85
Πρωτόκολλο εκτίμησης εμβαδού έλκους	86
ANTERA 3D® CS (Miravex)	86
Παράγοντες αξιολόγησης για κάθε παράμετρο	87
Άδηλη απώλεια ύδατος.....	88
TEWAMETER TM 210 – Αρχή μεθόδου	88
TEWAMETER TM 210 - Πρωτόκολλο Μέτρησης Άδηλης Απώλειας Νερού	89
Ένυδάτωση	90
CORNEOMETER CM820 - Αρχή μεθόδου	91
Πρωτόκολλο μέτρησης της ενυδάτωσης του δέρματος.	91
Μέτρηση οξυμετρίας	92
Μέτρηση Μελανίνης/ Ερυθήματος	92
3. Υλικά και μέθοδοι.....	93
Σκευάσματα:.....	93
1) Φάρμακο αναφοράς	93
2) Γέλη διασπάσης.....	93
Ερωτηματολόγιο	96
Στατιστική επεξεργασία	96
Γραφήματα	96
Περιγραφική στατιστική ανάλυση	96
Έλεγχοι ανεξάρτητων δειγμάτων t-test	96
Mann - Whitney.....	97
Wilcoxon.....	97
4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	98
4.1. Περιγραφική στατιστική των μεταβλητών.....	98

Δημογραφικά στοιχεία.....	106
5. Συζήτηση	136
6. Συμπεράσματα	138
7. Επόμενα βήματα	138
Βιβλιογραφία	139

1. Θεωρητικό μέρος

1.1 Δέρμα

Το δέρμα αποτελεί το μεγαλύτερο όργανο του σώματος. Εμβρυολογικά προέρχεται από το εξώδερμα και το μεσόδερμα. Αποτελεί το μεγαλύτερο όργανο και αντιπροσωπεύει το 15% του συνολικού σωματικού βάρους των ενηλίκων. Το δέρμα διαδραματίζει πολλές ζωτικές λειτουργίες:

- Αποτελεί ασπίδα προστασίας από τη θερμότητα, την υπεριώδη ακτινοβολία και τους τραυματισμούς.
- Προστατεύει το εσωτερικό του οργανισμού από την είσοδο μικροοργανισμών και τοξικών ουσιών.
- Είναι αισθητήριο όργανο για την αφή, τον πόνο, την πίεση και τη θερμοκρασία
- Λειτουργεί ως αναπνευστικό όργανο μέσω της άδηλης αναπνοής
- Έχει εκκριτικό ρόλο.
- Είναι απεκκριτικό όργανο, αφού συμβάλλει στην αποβολή με τον ιδρώτα προϊόντων ανταλλαγής της ύλης.
- Συμβάλλει στη ρύθμιση της θερμοκρασίας του σώματος, μέσω της αυξομείωσης του εύρους των αγγείων με τη λειτουργία των ιδρωτοποιών αδένων τις τρίχες και το υποδόριο λίπος.
- Αποθηκεύει νερό και λίπος
- Εμποδίζει την απώλεια νερού και την αφυδάτωση
- Συντελεί στην ομοιοστάση του ασβεστίου, καθώς εμφανίζει σημαντικό ρόλο στη σύνθεση της βιταμίνης D.
- Η ποιότητα του δέρματος με τα εξαρτήματά του επηρεάζει ψυχολογικά το άτομο ενώ η αισθητική του εμφανίζει κοινωνικές προεκτάσεις.

Το πάχος του δέρματος διαφοροποιείται από άτομο σε άτομο ανάλογα με το φύλο την ηλικία και την ανατομική περιοχή. Εμφανίζει εύρος από 0.5mm έως και 5mm, στις παλάμες και τα πέλματα, στις περιοχές συνεπώς που χρειάζεται να ανταπεξέλθουν σε μεγάλη φόρτιση έργου. Το χρώμα του ποικίλλει από άτομο σε άτομο, ανάλογα με τη φυλή και την ανατομική περιοχή. Συνδέεται με την ποσότητα της μελανίνης, της φυσιολογικής δηλαδή χρωστικής του δέρματος, με το πάχος της επιδερμίδας όπως και με τον αριθμό και το εύρος των αγγείων του. Χαρακτηρίζεται ως δυναμικό όργανο, αφού συνεχώς ανανεώνεται και μεταβάλλεται ανάλογα

με την ηλικία και άλλους παράγοντες, περιβαλλοντικούς και μη. Στο μέσο ενήλικα απαρτίζεται από 300 εκατομμύρια κύτταρα (Σκανδαλάκης et. al., 2015).

Δομή του δέρματος

Το δέρμα αποτελείται από τα ακόλουθα στρώματα από έξω προς τα μέσα:

- Επιδερμίδα
- Χόριο
- Υπόδερμα

1.1.1Επιδερμίδα

Η επιδερμίδα αποτελεί το εξωτερικό στρώμα του δέρματος. Είναι ένα πολύστιβο πλακώδες επιθήλιο και αποτελείται από πέντε οριζόντιες στιβάδες. Εμφανίζει μέσο πάχος ένα χιλιοστό και διαπερνάται από τα εξαρτήματα του δέρματος όπως οι τρίχες. Η επιδερμίδα χαρακτηρίζεται ως προστατευτική ασπίδα για το σώμα και ανανεώνεται πλήρως περίπου κάθε 15-30 μέρες, ανάλογα με την ανατομική περιοχή. Κύριο χαρακτηριστικό της επιδερμίδας είναι ότι στερείται αγγείων και για την θρέψη της και την αποβολή προϊόντων μεταβολισμού εξαρτάται από τη λέμφο. Απαρτίζεται από κερατινοκύτταρα (95%) , αλλά και μελανοκύτταρα κύτταρα Langerhans και κύτταρα Merkel. Κάθε στιβάδα αντιπροσωπεύει ένα στάδιο διαφοροποίησης των κερατινοκυττάρων αφού τα τελευταία έχουν ως αφετηρία τη βασική στιβάδα και μεταναστεύουν προς την επιφάνεια κατά την πορεία της διαφοροποίησής τους. Η διαδικασία κατά την οποία το κερατινοκύτταρο ξεκινάει από τη βασική στιβάδα και δέχεται αριθμό μεταβολών έως ότου να καταλήξει στην κεράτινη σαν απύρηνο αποπλατυσμένο πετάλιο λέγεται κερατινοποίηση. Η κερατινοποίηση διαρκεί 28 ημέρες. Επομένως η επιδερμίδα υπόκειται σε διαρκή ανανέωση.

Οι 5 στιβάδες των κυττάρων της επιδερμίδας από έξω προς τα έσω είναι η κεράτινη στιβάδα, η διανυγής στιβάδα, η κοκκιώδης, η ακανθωτή και η βασική (Αντωνίου και Κατσαμπας, 2015).

1.1.2. Χόριο

Το χόριο είναι ένας ινώδης ιστός που εμφανίζει μεγάλη σταθερότητα και ελαστικότητα. Συγκρατεί και υποστηρίζει την επιδερμίδα. Το πάχος του ποικίλλει ανάλογα με την ανατομική περιοχή από 0.5 έως 4mm. Η δομή του είναι πιο πολύπλοκη και αποτελείται από δύο στιβάδες την ανώτερη ή θηλώδη και την κατώτερη ή δικτυωτή, η οποία ονομάζεται έτσι εξ αιτίας της δικτυωτής μορφής που παρουσιάζει.

Αποτελείται κυρίως από ίνες κολλαγόνου και λιγότερο από ελαστικές ίνες, όπως και από θεμέλια ουσία. Εξετάζοντας την ανώτερη δερμίδα παρατηρείται ότι οι ίνες κολλαγόνου είναι πιο χαλαρές και αραιές μεταξύ τους. Αντίθετα, στην κατώτερη στιβάδα είναι πιο πυκνές. Τη δομή του χορίου αποτελεί επίσης, μία άμορφη κολλώδης ουσία, σαν γέλη, η οποία περιλαμβάνει ένα μίγμα πολυσακχαριτών και πρωτεϊνών. Αυτή ονομάζεται θεμέλιος ουσία. Τα κύτταρα που αποτελούν το χόριο είναι κυρίως ινοβλάστες και ιστιοκύτταρα (μονοκύτταρα/μακροφάγα) όπως και μαστοκύτταρα.

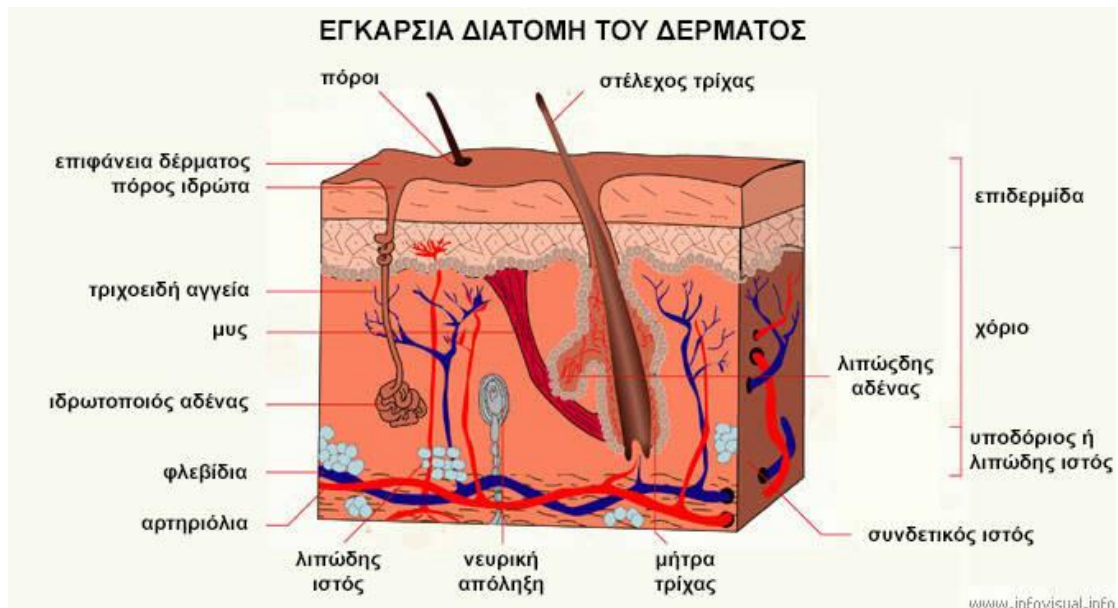
Το χόριο εμφανίζει πλούσια αιμάτωση και περιέχει αιμοφόρα αγγεία και λεμφαγγεία. Ακόμη, διαθέτει πλούσιο δίκτυο νευρικών ινών, λείες μυϊκές ίνες (ανεκκτήρες τριχών) και μέσα σε αυτό βρίσκονται εξαρτήματα του δέρματος όπως οι τρίχες και οι αδένες. (Kanitakis et. Al., 2002).

1.1.3. Υπόδερμα

Το υπόδερμα αποτελεί το βαθύτερο στρώμα του δέρματος, βρίσκεται κάτω από το χόριο. Ο υποδόριος ιστός διαθέτει ένα χαλαρό συνδετικό ιστό που στερεώνει χαλαρά το δέρμα πάνω στα εφαιπτόμενα όργανα, επιτρέποντας του να ολισθαίνει στις υποκείμενες δομές.

Το πάχος του αναφέρεται από 2 έως 30 mm, ενώ εξαρτάται από το φύλο, την ηλικία και την περιοχή του σώματος. Οι γλουτοί, οι παλάμες και τα πέλματα εμφανίζουν παχύτερο, όμως με την πάροδο του χρόνου ο υποδόριος ιστός ξεκινάει να ατροφεί, ακολουθώντας τη γήρανση του δέρματος.

Περιέχει κυρίως λιποκύτταρα και ινώδη διαφράγματα, ενώ τα αγγεία και τα νεύρα που διαθέτει διέρχονται προς το υπερκείμενο χόριο. Διαδραματίζει σημαντικό ρόλο για την ρύθμιση της θερμοκρασίας, καθώς μονώνει το σώμα από το κρύο. Επίσης έχει προστατευτικό ρόλο για τον οργανισμό από τραυματισμούς, αφού απορροφάει τους κραδασμούς. Στα λιπώδη κύτταρα του υποδόριου ιστού αποθηκεύονται θρεπτικά συστατικά και ενέργεια (Prost-Squarcioni et al., 2016).



Εικόνα 1 Εγκάρσια διατομή του δέρματος

1.1.4. Αιμάτωση του δέρματος

Το δέρμα αιματώνεται πολύ έντονα σχεδόν δεκαπλάσια σε σχέση με τις ανάγκες του για θρέψη. Αυτό δικαιολογείται, καθώς η αιμάτωση εξυπηρετεί το μεταβολισμό του και συμβάλλει στη θερμορρύθμισή του. Προκύπτει από αγγεία που διέρχονται από το υποδόριο λίπος. Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, η επιδερμίδα είναι ανάγεια, ωστόσο στο χόριο βρίσκεται πλούσιο δίκτυο αρτηριών φλεβών και λεμφαγγείων.

Οι αρτηρίες απαρτίζουν κλάδους υποκειμένων μυϊκών αρτηριών ή αποτελούν ίδιες αρτηρίες του δέρματος. Στο χόριο σχηματίζονται δύο παράλληλα προς την επιδερμίδα φερόμενα πλέγματα.

Επίσης, τα φλεβικά τριχοειδή ξεκινούν από τα κατιόντα σκέλη των τριχοειδικών αγκυλών και ως φλεβίδια αναστομώνονται μεταξύ τους για να σχηματίσουν δύο πλέγματα, το υποθηλώδες και το υποχοριοειδές. Οι αρτηριοφλεβικές αναστομώσεις, οι οποίες συνδέουν απευθείας τα αρτηρίδια με τα φλεβίδια παρατηρούνται σε αρκετές περιοχές του σώματος όπως τα δάκτυλα, τα χείλη, η μύτη τα αυτιά. Αυτές οι αναστομώσεις συμβάλλουν στη θερμορρύθμιση με σκοπό να αποβάλλεται θερμότητα από το δέρμα αλλά και να διατηρείται η θερμοκρασία του πυρήνα του σώματος.

Τα λεμφαγγεία αρχίζουν από τις θηλές του χορίου ως λεμφοφόρα τριχοειδή με τυφλό και διατεταγμένο άκρο και συγκλίνουν για να σχηματίσουν δύο πλέγματα παρόμοια με αυτά των αιμοφόρων αγγείων. (Kolarsick et. al., 2011).

1.1.5. Εξαρτήματα του δέρματος

Τα εξαρτήματα του δέρματος αποτελούν τα νύχια, οι τρίχες και οι αδένες. Πιο συγκεκριμένα, γίνεται αναφορά για εξαρτήματα της επιδερμίδας, αφού είναι επιθηλιακές δομές και προέρχονται εμβρυολογικά από την επιδερμίδα, όμως βρίσκονται στο χόριο (εκτός από τα νύχια) ή ακόμη και μέσα στον υποδόριο ιστό σε ορισμένες ανατομικές περιοχές, όπως στο πρόσωπο.

1.1.6.Τρίχες

Οι τρίχες χαρακτηρίζονται ως επιμήκεις, κερατοποιημένες δομές που προβάλλουν στην επιφάνεια του δέρματος. Απαντώνται σε όλη την επιφάνεια του δέρματος εκτός από τα πέλματα, τις παλάμες, την πόσθη και την ονυχοφόρο φάλαγγα των δακτύλων.

1.1.7. Σμηγματογόνοι αδένες

Οι σμηγματογόνοι αδένες βρίσκονται στο χόριο του μεγαλύτερου μέρους του σώματος, εκτός από παλάμες και πέλματα. Είναι μέρος της τριχοσμηγματογόνου μονάδας. Σε ορισμένες ανατομικές περιοχές, υπάρχουν «ελεύθεροι» σμηγματογόνοι αδένες, των οποίων το έκκριμα τους απελευθερώνεται άμεσα στην επιφάνεια του δέρματος. Οι σμηγματογόνοι αδένες αποτελούνται από επιθηλιακά κύτταρα, αυτά καθώς πολλαπλασιάζονται, υφίστανται τη διαδικασία της λιπώδους εκφύλισης. Τέλος, τα κύτταρα διαρρηγνύονται και προϊόν της διεργασίας αυτής αποτελεί το σμήγμα, το έκκριμα δηλαδή των σμηγματογόνων αδένων. Ο ρόλος που επιτελεί το σμήγμα είναι η λίπανση των τριχών, έτσι ώστε να διατηρείται η ελαστικότητα τους, η λίπανση του δέρματος με σκοπό να προστατεύεται από την τριβή, όπως και η αδιαβροχοποίησή του (Druno et al., 2009).

1.1.8. Ιδρωτοποιοί αδένες

Το δέρμα αποτελείται από δύο τύπους ιδρωτοποιών αδενών. Αυτοί είναι οι εκκρινείς και οι αποκκρινείς. Συναντώνται σε όλη την επιφάνεια του δέρματος, εκτός από το ερυθρό των χειλέων, τα έσω χείλη του αιδοίου, την βάλανο, την κοίτη των ονύχων, τον έξω ακουστικό πόρο και την έσω επιφάνεια της ακροπόσθιας. Η νεύρωσή τους γίνεται διά του συμπαθητικού νευρικού συστήματος και πιο συγκεκριμένα από χολινεργικές νευρικές ίνες.

Ο κάθε εκκρινής ιδρωτοποιός αδένας απαρτίζεται από ένα σπειροειδές εκκριτικό μέρος, το οποίο βρίσκεται βαθιά μέσα στο χόριο, και το σχετικά ευθύ ιδρωτοποιό πόρο, που χαρακτηρίζεται ως το αποχετευτικό τμήμα του αδένος και το οποίο στην κεράτινη στιβάδα κινείται ελικοειδώς, ενώ εκβάλλει στην επιφάνεια του δέρματος ως μικρός πόρος.

Η φυσιολογική λειτουργία των ιδρωτοποιών αδένων εναπόκειται στην παραγωγή ιδρώτα, ο οποίος ελαττώνει την θερμοκρασία του σώματος, μέσω της εξάτμισης.

Οι αποκρινείς ιδρωτοποιοί αδένες είναι επίσης περιελιγμένοι σχηματισμοί με πόρο. Όμως, διαφέρουν από τους εκκρινείς ιδρωτοποιούς αδένες, γιατί εκβάλλουν στους γειτονικούς τριχικούς θυλάκους. Επιπροσθέτως, είναι αριθμητικά λιγότεροι και απαντώνται κυρίως στις μασχάλες, στην πρωκτογεννητική περιοχή, στο όσχεο, στο εφηβαίο, στον έξω ακουστικό πόρο, στα βλέφαρα και στη θηλαία άλω του μαστού. Το έκκριμά τους εμφανίζει υπόλευκο χρώμα, έχει χαρακτηριστική μυρωδιά, αλλά ο ρόλος του παραμένει εν πολλοίς άγνωστος.

1.1.9. Νύχια

Τα νύχια αποτελούν αποπλατυσμένες, ελαφρώς κυρτές, κρατινοποιημένες πλάκες και

καλύπτουν το μεγαλύτερο τμήμα της ραχιαίας επιφάνειας της τελικής φάλαγγας των δακτύλων των χεριών και των ποδιών. Ο ρόλος των νυχιών εντοπίζεται στην προστασία των ευαίσθητων και πολύ σημαντικών άκρων των δακτύλων, ενώ παίζουν ρόλο και στην αίσθηση της αφής (Jiaravuthisian et. Al., 2007).

1.2 Παθολογία κρυοχειρουργικής βλάβης

Η κρυοβιολογία αποτελεί την επιστήμη που μελετά τις μεθόδους εφαρμογής και τα αποτελέσματα χαμηλών θερμοκρασιών στα βιολογικά συστήματα. Οι ζωντανοί ιστοί είναι πρωτευόντως υδατικά συστήματα το νερό είναι το κύριο συστατικό τους και δρα ως βασικό μέσο κατά τη συγκρότηση της μοριακής δομής. Το υδατικό σύστημα στον οργανισμό χωρίζεται σε δύο βασικά διαμερίσματα που περιλαμβάνουν το ενδοκυττάριο υγρό που κατανέμεται στο εσωτερικό των κυττάρων και το εξωκυττάριο υγρό που κατανέμεται στον εξωκυττάριο χώρο και αποτελείται από το μεσοκυττάριο υγρό (υγρό των ιστών) και το πλάσμα του αίματος.

Στον ανθρώπινο οργανισμό το ύδωρ βρίσκεται είτε ως ελεύθερο ύδωρ, δηλαδή σχετικά ελεύθερα κινούμενα μόρια που καθορίζουν τη διαλυτότητα των μικρο- και μακρομορίων του ενδοκυττάριου και του εξωκυττάριου χώρου ή σαν συνδεδεμένο αποτελώντας συστατικό πολλών βιολογικών δομών όπως οι μεμβράνες. Η ωσμωτική ισορροπία επισημαίνει ότι οι κυτταρικές μεμβράνες που διαχωρίζουν τα κύτταρα από το εξωκυττάριο υγρό είναι ελεύθερα διαπερατές από το νερό που μετακινείται ως απάντηση της μεταβολής συμπύκνωσης των ουσιών που δεν είναι ευδιάλυτες. Τα ιόντα νατρίου που περνούν ελεύθερα από τις κυτταρικές μεμβράνες αυξάνουν την ωσμωτική πίεση (Ganong, 1975).



Εικόνα 2 Κρυοχειρουργική δέρματος (Παναγιωτόπουλος, 2015)

Η αφαίρεση θερμότητας από ένα βιολογικό σύστημα λόγω της τοπικής δράσης ενός κρυογόνου προξενεί διαταραχές στα κύτταρα του ιστού και στον εξωκυττάριο χώρο. Οι διαταραχές αυτές είναι πολύπλοκες και εξαρτώνται από ποικίλους παράγοντες (ταχύτητα μείωσης της θερμοκρασίας, χρόνος επαναθέρμανσης του ιστού, ιοντική ισχύς, ελάχιστη θερμοκρασία που επιτυγχάνεται στον ιστό και ο όγκος του ψυχθέντος ιστού) (Merymann , 1956). Ωστόσο η αφαίρεση θερμότητας από ένα βιολογικό σύστημα δεν προκαλεί το ίδιο αποτέλεσμα καταστροφής των κυττάρων σε όλα τα στοιχεία του συστήματος. Οι αλλαγές που παρατηρούνται σε έναν ιστό κατά τη πτώση της θερμοκρασίας βήμα βήμα είναι οι ακόλουθες:

-0,6°C είναι το σημείο πήξης του κυτταροπλάσματος. Το ενδοκυττάριο ύδωρ παραμένει σε υγρή κατάσταση, δηλαδή στη θερμοκρασία αυτή δεν μετατρέπεται σε πάγο.

-5°C δεν παγώνει κανένα κυτταρικό σύστημα.

-10°C έως -15°C έστω κι αν υπάρχει πάγος στον εξωκυττάριο χώρο το κυτταρόπλασμα παραμένει σε υγρή κατάσταση (Mazur, 1984). Αυτό το φαινόμενο ονομάζεται υστέρηση της πήξης. Σε αυτές τις θερμοκρασίες ξεκινάει η αλλαγή της φυσικής κατάστασης του εξωκυτταρίου χώρου, ενώ ο ενδοκυττάριος παραμένει ρευστός.

Από τους -21°C έως τους -50°C γίνεται καθολική κρυσταλλοποίηση του ιστού.

Οι κυτταρικοί πληθυσμοί παρουσιάζουν διαφορετική αντοχή στο ψύχος. Τα μελανοκύτταρα εμφανίζουν την μεγαλύτερη ευαισθησία, αφού καταστρέφονται σε θερμοκρασία -4°C έως -7°C. Τα κύτταρα των σμηγματογόνων αδένων και τα κύτταρα των τριχοθυλακίων καταστρέφονται στους -20°C, ενώ τα κερατινοκύτταρα καταστρέφονται στους -20°C, ενώ τα κερατινοκύτταρα καταστρέφονται στους -20°C έως -30°C. Οι ινοβλάστες είναι ανθεκτικότεροι καθώς καταστρέφονται στους -30 έως -35°C.

Πίνακας 1 Ευαισθησία κυττάρων και ιστών σε χαμηλές θερμοκρασίες (Παναγιωτόπουλος, 2015)

Κύτταρο/ ιστός	Ευαισθησία
Μελανοκύτταρα	++++
Βασικά κύτταρα	+++
Κύτταρα αδένων	+++
Κερατινοκύτταρα	+++
Βακτήρια	++
Συνδετικός ιστός	+
Ενδοθήλιο αιμοφόρων αγγείων	+
Ιοί	-

1.2.1. Διαταραχές των ιστών λόγω άμεσης επίδρασης ψύχους

Το cryoprobe (καθετήρας) τοποθετούμενο κοντά στην αλλοίωση καταστρέφει με ελάχιστη απώλεια του γύρω φυσιολογικού ιστού όταν συγκρίνεται με μια τυπική χειρουργική εκτομή. Αυτή η διατήρηση των ιστών που προκύπτει μετά από Κρυοχειρουργική είναι ιδιαίτερα σημαντική στη χειρουργική ήπατος, πνευμόνων και εγκεφάλου, όπου η παρουσία του πέριξ φυσιολογικού ιστού είναι ιδιαίτερα κρίσιμη για την ομαλή λειτουργία του οργάνου.

Η κυτταρική βλάβη προκαλείται τόσο από την επίδραση της ψύξης στα βιολογικά συστήματα, αλλά και από την αγγειακή βλάβη μετά το τέλος της ψύξης και από πιθανές ανοσολογικές διαταραχές. Έτσι λοιπόν, η παθοφυσιολογία της κρυοχειρουργικής βλάβης περιλαμβάνει τις ακόλουθες φάσεις:

- Φυσική φάση που περιλαμβάνει την ψύξη – απόψυξη
- Αγγειακές βλάβες
- Ανοσολογικές διαταραχές

1. Φυσική φάση

Η φυσική φάση αποτελεί την άμεση επίδραση της ψύξης στον ιστό- στόχο κατά τη διάρκεια ενός κύκλου ψύξης – απόψυξης. Η άμεση αυτή επίδραση επιφέρει τον κυτταρικό θάνατο, που οφείλεται στην κρυσταλλοποίηση του ενδοκυττάριου και του εξωκυττάριου ύδατος και στις φυσικοχημικές αλλαγές που επιφέρει στο κύτταρο ο σχηματισμός του πάγου. Πιο συγκεκριμένα οι μεταβολές που προκαλούνται είναι οι εξής:

- 1) Σχηματισμός κρυστάλλων πάγου τόσο εξωκυττάρια όσο και ενδοκυττάρια
- 2) Διάσπαση του κυττάρου λόγω των μηχανικών επιδράσεων στο κύτταρο από τον σχηματισμό των κρυστάλλων.
- 3) Διαταραχή των συγκεντρώσεων των ηλεκτρολυτών στο κύτταρο που προκαλούν διαταραχές στο pH.

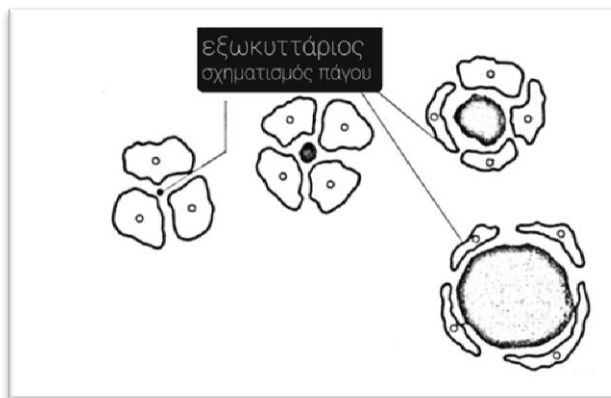
- 4) Κυτταρική αφυδάτωση που προκαλεί συρρίκνωση του κυττάρου
- 5) Θερμική καταπληξία με αποτέλεσμα τη βλάβη των κυτταρικών λιποπρωτεϊνών

Η φυσική φάση χωρίζεται στις εξής επιμέρους φάσεις : α) τη φάση της ψύξης, που διαρκεί όσο χρονικό διάστημα εφαρμόζεται το κρυογόνο στον ιστό και β) τη φάση της απόψυξης, που διαρκεί από το τέλος της εφαρμογής του κρυογόνου έως την πλήρη επαναθέρμανση όλου ιστού (Dawber,1992).

Φάση ψύξης

Η καταστροφή του ιστού δεν εξαρτάται μόνο από την πτώση της θερμοκρασίας, αλλά και από άλλες παραμέτρους όπως την ιοντική ισχύ του ιστού, τη διάρκεια ψύξης, τη χαμηλή θερμοκρασία, την απόσταση από την περιοχή που υποβάλλεται σε θεραπεία, από την επιφάνεια του δέρματος και από τον όγκο του ψυχθέντος ιστού (Mazur, 1984).

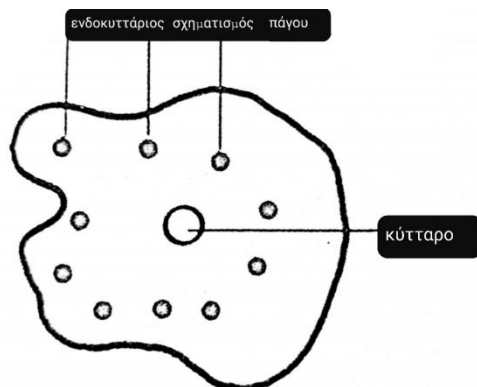
Ακόμη, σημαντικό ρόλο έχει και η ταχύτητα της ψύξης. Η αργή μείωση της θερμοκρασίας οδηγεί στην χρονικά ανομοιογενή κρυσταλλοποίηση του εξωκυττάριου και του ενδοκυττάριου χώρου με τη συνύπαρξη διαφορετικών φυσικών καταστάσεων στον ιστό. Με αυτόν τον τρόπο δημιουργούνται κρύσταλλοι μόνο εξωκυττάρια.



Εικόνα 3 Εξωκυττάριος σχηματισμός πάγου

Αντίθετα στο εσωτερικό του κυττάρου δεν δημιουργείται πάγος. Η δημιουργία πάγου εξωκυττάρια συνεπάγεται την αύξηση της συγκέντρωσης ηλεκτρολυτών, ώστε το ενδοκυττάριο νερό να διοχευέται από το εσωτερικό στον εξωκυττάριο χώρο, για να εξισωθεί η οσμωτική πίεση, όπου και παγώνει. Αυτό έχει ως απόρροια την αύξηση των ενδοκυττάριων ηλεκτρολυτών σε τοξικά επίπεδα, η αφυδάτωση του κυττάρου, η συρρίκνωση του και η μη αναστρέψιμη καταστροφή μεμβρανών λόγω της αποδόμησης των φωσφολιπιδίων (Fraser, 1967 ; Zouboulis, 1999).

Η ταχεία έως ταχύτατη ψύξη ($100^{\circ}\text{C} - 260^{\circ}\text{C/min}$) προκαλεί τη σύγχρονη κρυσταλλοποίηση του ενδοκυττάριου και του εξωκυττάριου χώρου.



Εικόνα 4 Ενδοκυττάριος σχηματισμός πάγου (Παναγιωτόπουλος, 2015)

Στην περίπτωση αυτή δεν παρατηρείται μετατόπιση ηλεκτρολυτών.

Απόψυξη

Η φάση αυτή διαρκεί από τη διακοπή της εφαρμογής του κρυογόνου έως την πλήρη επαναθέρμανση όλου του ιστού. Ο ρόλος της απόψυξης διαφαίνεται ιδιαίτερα σημαντικός για την ιστική καταστροφή, καθώς συμπληρώνει και επεκτείνει τις φυσικοχημικές μεταβολές. Ο βαθμός της ιστικής καταστροφής εξαρτάται από την ταχύτητα της απόψυξης. Το επιθυμητό είναι μία αργή διαδικασία απόψυξης. Η αργή απόψυξη προκαλεί μεγαλύτερη ιστική καταστροφή, αφού οι μικροί εξωκυττάριοι παγοκρύσταλλοι διαθέτουν αρκετό χρόνο ώστε να διεισδύσουν μαζί με το εν τω μεταξύ υγροποιημένο εξωκυττάριο ύδωρ στον υπέρτονο ενδοκυττάριο χώρο. Εκεί προκαλούν περαιτέρω καταστροφή του κυττάρου λόγω επανακρυσταλλοποίησης.

Αντίθετα, στην ταχεία απόψυξη προκαλείται τόσο ρήξη των κυττάρων όσο και των κυτταρικών οργανιδίων. Η ρήξη αυτή αποτελεί αποτέλεσμα της ταχείας υγροποίησης του εξωκυττάριου πάγου και της υψηλής ενδοκυττάριας συγκέντρωσης των ηλεκτρολυτών προκαλείται ταχεία εισροή ύδατος στον κατά τόπους μη παγωμένο και ανελαστικό ενδοκυττάριο χώρο, με αποτέλεσμα τη ρήξη των κυττάρων. Το φαινόμενο αυτό ονομάζεται μεταϋπερτονική καταστροφή (Μπασούκας, 2000 ; Farrant et al., 1973).

Στην ταχεία απόψυξη, μετά από ταχεία ψύξη τα κύτταρα θεωρητικά μπορούν να μείνουν άθικτα, ενώ στην αργή απόψυξη μετά από ταχεία ψύξη υπάρχει η μέγιστη κυτταρική καταστροφή. Ο συνδυασμός αυτός αποτελεί απόρροια της εξωκυττάριας και ενδοκυττάριας πήξης και επανακρυσταλλοποίησης ενδοκυτταρίως. Επιπροσθέτως με τον συνδυασμό αυτό σε θερμοκρασία -50°C δημιουργούνται μεγάλοι σφαιρικοί κρύσταλλοι, πράγμα ακόμη πιο καταστρεπτικό.

Όταν ολοκληρωθεί ο κύκλος ψύξης απόψυξης πρέπει όλα τα ανεπιθύμητα κύτταρα να έχουν καταστραφεί. Για αυτό είναι πολύ σημαντικό το ποσοστό επιβίωσης των καρκινικών κυττάρων μετά από μία κρυοχειρουργική επέμβαση. Στατιστικά, όταν έχουμε μόνο εξωκυττάριο πάγο επιβιώνει το 10% των κυττάρων, ενώ όταν έχουμε και ενδοκυττάριο μόνο το 1%. Το ποσοστό αυτό παρ' ότι είναι μικρό επιτρέπει το ενδεχόμενο υποτροπών. Για την αντιμετώπιση αυτού του κινδύνου διενεργείται ένας δεύτερος ή και τρίτος κύκλος ψύξης – απόψυξης. Πράγματι, όταν συμπληρωθεί και ο επαναληπτικός κύκλος ψύξης- απόψυξης όλα τα νεοπλασματικά κύτταρα έχουν καταστραφεί.

Αγγειακές βλάβες

Οι αγγειακές βλάβες προκαλούνται από την επίδραση του ψύχους επιτείνουν το βλαπτικό αποτέλεσμα του ψύχους και συμβάλλουν στον κυτταρικό θάνατο. Η αρχική απάντηση του ιστού στην ψύξη είναι η αγγειοσυστολή και η μείωση της αιματικής παροχής. Όταν ψυχθεί όλος ο ιστός σταματά η κυκλοφορία σε αυτόν. Κατά την απόψυξη επιστρέφει η κυκλοφορία αρχικά στις αρτηρίες, κατόπιν στα αρτηρίδια και τέλος στα φλεβίδια. Σε αυτή τη φάση επικρατεί η αγγειοδιαστολή και η ροή του αίματος μπορεί να αυξηθεί.

Η υπεραιμική απάντηση διαρκεί λίγο και η αυξημένη διαπερατότητα των αγγείων παρατηρείται 1 λεπτό μετά την απόψυξη. Η πρώτη διαπερατότητα των αγγείων οφείλεται κυρίως σε διαταραχές των φλεβιδίων είναι προσωρινή και προαλείται από την απελευθέρωση της ισταμίνης. Μετά από 30-40 λεπτά αρχίζει η όψιμη διαπερατότητα των αγγείων που οφείλεται στη βλάβη των αγγείων λόγω της ψύξης και εκδηλώνεται κλινικά ως οίδημα. Η βλάβη των αγγείων στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο, συνίσταται στη ρήξη των ενδοκυτταρικών συνδέσμων των κυττάρων του ενδοθηλίου, η οποία εμφανίζεται σε μισή με δύο ώρες μετά την ψύξη. Σταδιακά αναπτύσσεται αγγειακή στάση η οποία ολοκληρώνεται σε 30-40 λεπτά.

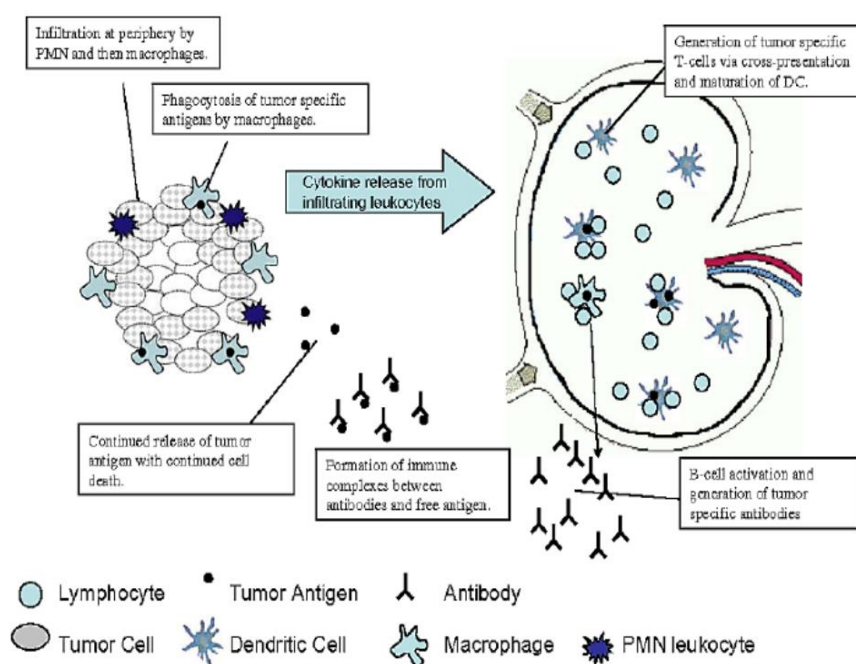
Η αυξημένη διαπερατότητα των αγγείων και η διαφυγή των υγρών οφείλεται στη βλάβη του ενδοθηλίου των αγγείων με αποτέλεσμα τον σχηματισμό οιδήματος, τη μείωση της ταχύτητας της κυκλοφορίας του αίματος, τη συσσώρευση αιμοπεταλίων τον σχηματισμό θρόμβων που προσκολλώνται στα τοιχώματα των αγγείων τα οποία φράσσονται με τελικό αποτέλεσμα την παύση της κυκλοφορίας. Η παύση της κυκλοφορίας του αίματος στερεί από τα επιβιώσαντα κύτταρα τα θρεπτικά τους συστατικά, συμπληρώνοντας έτσι την καταστρεπτική δράση του πάγου.

Αργότερα σε 5-8 ώρες παρουσιάζεται εστιακή ή τοπική νέκρωση των αιμοφόρων αγγείων. Εάν η βλάβη είναι έντονη, δηλαδή εάν η έκταση της ιστικής καταστροφής είναι μεγάλη κλινικά παρουσιάζεται ως νέκρωση μεταξύ της πρώτης και της έβδομης ημέρας (Παναγιωτόπουλος, 2004).

Ανοσολογική απόκριση

Η ψύξη εκτός από τη φυσική καταστροφή και τις αγγειακές διαταραχές που προκαλεί επάγει και ανοσολογικές αντιδράσεις. Ο μηχανισμός τους δεν είναι ακόμη καλά γνωστός. Υπάρχουν ενδείξεις για ανοσοναντιδράσεις τόσο στο μοριακό όσο και στο κυτταρικό επίπεδο μετά από μια κρυοχειρουργική επέμβαση. Η εξαφάνιση και καταστροφή του πρωτογενούς όγκου θα μπορούσε να είναι ανοσολογικής φύσης.

Ενδεχομένως η ανοσολογική αντίδραση να βασίζεται στην απελευθέρωση ενδοκυτταρικών αντιγόνων λόγω κυτταρικής καταστροφής τα οποία θα μπορούσαν να δράσουν ως αυτοαντιγόνα στη μετατροπή των κυτταρικών μακρομορίων που θα μπορούσαν να αναγνωρίζονται από το ανοσολογικό σύστημα ως ξένα αντιγόνα και στην παρουσία νεοαντιγόνων από βεβλαμμένα κύτταρα από την κρυοχειρουργική αντιμετώπιση. Η κρυοανοσολογία αποτελεί ένα πεδίο για έρευνα με σκοπό την βελτίωση της θεραπείας του ασθενούς.



Εικόνα 5 Επαγόμενη από την Κρυοχειρουργική ανοσιακή απόκριση

Οι κυτταρικοί πληθυσμοί των λεμφοκυττάρων και των λευκών αιμοσφαιρίων ευαισθητοποιούνται στους επιχώριους λεμφαδένες από τα αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα (APCs) και εν συνεχεία εκδηλώνουν την αντινεοπλασματική τους βιολογική δράση (Εικόνα 5).

Οι τεχνικές που χρησιμοποιούνται στην κρυοχειρουργική είναι οι εξής :

1. Η τεχνική του βαμβakoφόρου στείλεού

2. Η τεχνική του ψεκασμού

3. Η εξ επαφής τεχνική

Η τεχνική του ψεκασμού χωρίζεται σε ανοιχτού ψεκασμού, ψεκασμού με ανοιχτό κώνο και ψεκασμού με κλειστό κώνο.

Οι παράμετροι για την εκτίμηση της αποτελεσματικότητας της κρυοχειρουργικής βλάβης είναι ο κύκλος ψύξης – απόψυξης, η ελάχιστη θερμοκρασία ιστού, ο χρόνος ψύξης, η ταχύτητα ψύξης, η ταχύτητα απόψυξης, η πλαγίως επεκτεινόμενη ψύξη, ο χρόνος απόψυξης της άλως, ο ολικός χρόνος απόψυξης, η επανάληση του κύκλου ψύξης – απόψυξης και το χρονικό διάστημα μεταξύ των δύο κύκλων ψύξης- απόψυξης (Παναγιωτόπουλος, 2004).

Σκοπός της θεραπείας του καρκίνου του δέρματος με την κρυοχειρουργική είναι η καταστροφή της βλάβης την πρώτη συνεδρία. Για να επιτευχθεί αυτό ο όγκος πρέπει να ψυχθεί σε ικανοποιητικό βαθμό και να περιληφθεί ένα κομμάτι υγιούς ιστού ώστε να μη μείνουν κάποιες εστίες καρκινικών κυττάρων ανέπαφες. Οι περισσότερες αποτυχίες στην κρυοχειρουργική θεραπεία του καρκίνου του δέρματος οφείλονται στην κακή τεχνική και όχι στην φύση της βλάβης, δεδομένου ότι στις θερμοκρασίες που επιτυγχάνονται όλα τα κύτταρα είναι ευαίσθητα. Το υγρό άζωτο είναι το πιο κατάλληλο κρυογόνο για τη σταθερή κυτταρική καταστροφή. Εάν δεν έχει τεθεί με βεβαιότητα η διάγνωση, πρέπει να λαμβάνεται βιοψία πριν την θεραπεία.

A. Ενδείξεις

Κατά πόσον ένας ασθενής θα θεραπευθεί με τη μέθοδο της κρυοχειρουργικής εξαρτάται από πολλούς παράγοντες. Η κρυοχειρουργική έχει πολλά πλεονεκτήματα ως μέθοδος θεραπείας συγκρινόμενη με άλλες μεθόδους. Η γενική κατάσταση της υγείας του ασθενούς παίζει σημαντικό ρόλο στην εκλογή μιας μεθόδου. Η κρυοχειρουργική θα πρέπει να χρησιμοποιείται μόνο σε επιλεγμένα περιστατικά, σε ορισμένους τύπους βασικοκυτταρικών καρκινωμάτων και στα ακανθοκυτταρικά καρκινώματα που έχουν αναπτυχθεί πάνω σε προϋπάρχουσες ακτινικές υπερκερατώσεις. Ο όγκος πρέπει να έχει προσδιορίσιμα, ψηλαφητά και καλώς ορατά όρια. Οι όγκοι που έχουν ακαθόριστα κλινικά όρια και πολυκεντρική φύση είναι ανθεκτικοί στην θεραπεία. Το μέγεθος του όγκου κατέχει σημαντικό ρόλο στη θεραπεία του καρκίνου του δέρματος. Οι πιο κατάλληλοι όγκοι είναι εκείνοι που έχουν μέγεθος έως 2cm. Το ποσοστό επιτυχούς αντιμετώπισης του βασικοκυτταρικού καρκινώματος μειώνεται, όσο αυξάνεται το μέγεθος του όγκου.

Ένα άλλο σημαντικό στοιχείο είναι η κλινική πορεία του όγκου, διότι τα βασικοκυτταρικά καρκινώματα που υπάρχουν για μεγάλο διάστημα μπορεί να διηθούν τους ιστούς πιο βαθιά

και ως εκ τούτου να χρειάζονται επιθετικότερη θεραπεία. Όγκοι που βρίσκονται πάνω από χόνδρο και οστά ανταποκρίνονται ευνοϊκότατα στη θεραπεία, διότι ο χόνδρος είναι αρκετά ανθεκτικός στην κρυοβλάβη. Η χονδροκένωση είναι πολύ σπάνια στην κρυοχειρουργική. Η επανόρθωση του οστού, ακόμη και μετά από βαθιά ψύξη, είναι πολύ ευνοϊκή. Πειράματα έχουν δείξει ότι οστά πλήρως νεκρωμένα από την έντονη ψύξη απορροφώνται αργά και ταυτόχρονα αντικαθίστανται από νέο οστό μέσω μιας επούλωσης παρόμοιας με εκείνης που παρατηρείται στα αυτογενή οστικά μοσχεύματα. Κατά τη διάρκεια της ανάπλασης το νεκρωμένο οστό διατηρεί το σχήμα του και συνεχίζει τη λειτουργία του.

Η κρυοχειρουργική προσφέρει ένα ειδικό πλεονέκτημα στη θεραπεία των υποτροπιάζόντων όγκων από προηγούμενη ακτινοθεραπεία. Στις περιπτώσεις αυτές η ψύξη επαναλαμβάνεται ακόμη και εάν εμφανισθούν νέες βλάβες. Αντίθετα, οι υποτροπιάζοντες όγκοι από προηγούμενη χειρουργική αφαίρεση δεν είναι κατάλληλοι για κρυοχειρουργική θεραπεία, διότι εμφανίζουν μεγάλο ποσοστό υποτροπής.

Η ιστολογική εξέταση είναι απαραίτητη στην κρυοχειρουργική θεραπεία των καρκινωμάτων του δέρματος. Όγκοι με επιθετική ιστολογική εμφάνιση όπως το σκληροδερμοειδές, το σκληρωτό BBC, το πολυκεντρικό διηθητικό BBC ή το βασικοκυτταρικό μετατυπικό καρκίνωμα, πολλές φορές είναι κλινικά επιθετικοί και ως εκ τούτου δύσκολο να θεραπευτούν.

Εκτός των ανωτέρω κλασικών ενδείξεων, η κρυοχειρουργική εφαρμόζεται και σε πολλές περιπτώσεις καρκίνου του δέρματος, όπως στο σάρκωμα Karosi, στην κακοήγη φακή, στα δευτεροπαθή μεταστατικά κακοήγη μελανώματα του δέρματος και ως παρηγορητική θεραπεία τους προχωρημένους όγκους.

B. Αντενδείξεις

Δεν υπάρχουν σαφείς αντενδείξεις για την κρυοχειρουργική. Προσοχή θα πρέπει να δοθεί στον τύπο του δέρματος, διότι στα μελαχρινά άτομα μπορεί να προκληθεί αχρωμία. Σαφής αντένδειξη είναι η απουσία σωστής διάγνωσης. Εκτός από μερικούς τύπους βασικοκυτταρικού καρκινώματος, κανένας άλλος κακοήθης όγκος του δέρματος δεν πρέπει να θεραπεύεται χωρίς προηγούμενη ιστολογική διάγνωση.

1.2.2. Τεχνικές ψεκασμού

Υπάρχουν οι εξής τεχνικές ψεκασμού:

- 1) Ο ανοιχτός, στον οποίο το υγρό άζωτο ψεκάζεται ελεύθερα πάνω στην βλάβη, κάθετα σε απόσταση 1cm από το δέρμα.

- 2) Ο ψεκασμός με ανοιχτό κώνο, στον οποίο το υγρό άζωτο ψεκάζεται πάνω στη βλάβη που περικλείεται από έναν κώνο. Το υγρό άζωτο κατευθύνεται στο βάθος του κώνου, ψύχει τη βλάβη και εξέρχεται από την ανοιχτή επιφάνεια του κώνου. Προσοχή πρέπει να δοθεί όταν η βλάβη είναι κοντά σε ευαίσθητες περιοχές (μάτια, ωτα), διότι το παχέος συσσωρευόμενο υγρό άζωτο δεν προλαβαίνει να εξατμισθεί και σχηματίζει σταγονίδια που μπορεί να προκαλέσουν κάποια ανεπιθύμητη βλάβη. Στην περίπτωση αυτή σταματάμε λίγο τον ψεκασμό, αφήνοντας το υγρό άζωτο να εξατμιστεί. Η τεχνική του ψεκασμού με ανοιχτό κώνο έχει το πλεονέκτημα ότι περιορίζει το κρυγόνιο αუსτηρά στην επιφάνεια του όγκου και προκαλεί πιο γρήγορη και πιο βαθιά ψύξη.
- 3) Ο ψεκασμός με κλειστό κώνο, στον οποίο το άζωτο ψεκάζεται πάνω στην βλάβη μέσω ενός κλειστού κυλίνδρου, πού προσαρμόζεται στο ειδικό εξάρτημα της φιάλης, το δε κρυγόνιο απομακρύνεται από μία ειδική δίοδο.

Ο ανοιχτός ψεκασμός χρησιμοποιείται για μεγάλες επιφάνειες με ακαθόριστα όρια. Ο ψεκασμός με ανοιχτό κώνο χρησιμοποιείται σε μικρές οζώδεις βλάβες, καθώς έχει το πλεονέκτημα ότι παρέχει ταχύτατη πτώση της θερμοκρασίας.

Εξ επαφής τεχνική

Η τεχνική εξ επαφής (μεταλλικό κρυόδιο) κατευθύνει το κρυγόνιο πάνω στη βλάβη. Επιλέγουμε το κρυόδιο με την κατάλληλη διάμετρο, ώστε να ψυχθεί όλη η επιφάνεια της βλάβης και η περιφερική άλως. Το κρυόδιο πρέπει να εφαρμόζεται με σταθερή πίεση επάνω στη βλάβη, για να προκληθεί ψύξη, πού είναι άκρως επιθυμητή. Εάν η επιφάνεια της βλάβη δεν είναι ομαλή (οζώδη ή ελκωτικά καρκινώματα ή άλλες βλάβες), θα πρέπει να ομαλοποιήσουμε την επιφάνεια (με απόξεση ή καυτηρίαση) ή να διαλέξουμε την τεχνική του ψεκασμού.

Αφού συμπληρωθεί ο χρόνος ψύξης αναμένουμε την επαναδέρμανση του ιστού χωρίς να επέμβουμε διότι η βραδεία απόψυξη προκαλεί ακόμη μεγαλύτερη καταστροφή του ιστού. Όταν συμπληρωθεί η απόψυξη, εκτελούμε μία δεύτερη ψύξη. Η περιγραφόμενη διαδικασία είναι γνωστή ως τεχνική της διπλής ψύξης- απόψυξης και έχει μεγαλύτερα ποσοστά επιτυχίας, διότι καταστρέφει τα εναπομείναντα καρκινικά κύτταρα.

Ο χρόνος της ψύξης για κάθε φάση ψύξη προσδιορίζεται στα 30sec. Έτσι για την θεραπεία των βασικοκυτταρικών και των ακανθοκυτταρικών καρκινωμάτων διεξάγουμε δύο κύκλους ψύξης-απόψυξης των 30sec καθένα. Από πολλούς συγγραφείς αναφέρονται χρόνοι

μεγαλύτεροι ή μικρότεροι των 30sec, αλλά ο ανωτέρω χρόνος θεωρείται ως ο κλασσικός χρόνος ψύξης. Ο χρόνος της απόψυξης πρέπει να είναι τριπλάσιος του χρόνου της ψύξης. Έτσι, όταν ο χρόνος της ψύξης είναι 30sec, ο χρόνος απόψυξης πρέπει να είναι τουλάχιστον 90sec. Πρέπει να έχουμε υπόψιν μας ότι σε μερικούς αγγειοβραδείς ιστούς ο χρόνος απόψυξης μπορεί να είναι μικρότερος, λόγω της αφθονότερης προσφοράς αίματος στον ψυχθέντα ιστό.

Εάν κατά τη διάρκεια του πρώτου κύκλου ψύξης-απόψυξης ο χρόνος της απόψυξης δεν είναι τριπλάσιος του χρόνου της ψύξης, τότε επιμηκύνουμε τον δεύτερο κύκλο ψύξης ή εφαρμόζουμε και τρίτο κύκλο ψύξης-απόψυξης, στον οποίο ο χρόνος της ψύξης θα κυμαίνεται στα 15-30 sec.

Το χρονικό διάστημα μεταξύ των δύο κύκλων ψύξης- απόψυξης παίζει σημαντικό ρόλο στην έκβαση της κρυοχειρουργικής βλάβης. Έχει παρατηρηθεί πειραματικά ότι ο δεύτερος κύκλος είναι πιο καταστρεπτικός από τον πρώτο, και αυτό εξηγείται διότι οι διαταραχές της μικροκυκλοφορίας που ήδη έγιναν στον πρώτο κύκλο προσφέρουν λιγότερη αιματική ροή. Όσο περνάω χρόνος, τα αποτελέσματα αυτά επιτείνονται. Γι'αυτό τον λόγο ο 2ος κύκλος θα πρέπει να απέχει χρονικά από τον πρώτο. Τα 20 λεπτά θεωρούνται ιδανικό χρονικό διάστημα μεταξύ των δύο κύκλων, για πρακτικούς όμως λόγους ένα χρονικό διάστημα 5 λεπτών είναι ικανοποιητικό. Η πλαγίως επεκτεινόμενη ψύξη LSF πρέπει να φθάσει τουλάχιστον τα 3mm αλλά μπορεί να είναι και μεγαλύτερη.

Η θερμοκρασία κάτω από τη βάση του όγκου κυμαίνεται μεταξύ -50°C και -60°C . Όταν μετράται με κρυόμετρο, η θερμοκρασία που αναγράφεται στην οθόνη του οργάνου είναι η θερμοκρασία του σημείου που έχει τοποθετηθεί η ακίδα του κρυομέτρου. Γι'αυτό σε μεγάλες βλάβες να τοποθετούνται περισσότερα του ενός κρυόμετρα.

Τα καρκινώματα με διάμετρο άνω των 2cm πρέπει να υποδιαιρούνται σε μικρότερους κύκλους των 2cm και κάθε τμήμα να θεραπεύεται με την τεχνική του ψεκασμού σε δύο κύκλους ψύξης-αποψυξης.

Τα καρκινώματα που έχουν ασαφή όρια ή είναι οξώδη με ανώμαλη επιφάνεια πρέπει να γίνεται απόξεση με ένα κοινό ξέστρο και ηλεκτροκαυτηρίαση. Η απόξεση είναι απαραίτητη στις περιπτώσεις αυτές, διότι αφαιρεί την πεπασχυσμένη και ανώμαλη επιφάνεια, την οποία μετατρέπει σε λεπτή και ομαλή, επιτρέποντας την εν τω βάθει ψύξη με γρήγορο και ασφαλή ρυθμό, ενώ ο κρυοχειρουργός διακρίνει πιο καθαρά τα κλινικά όρια της βλάβης. Η καυτηρίαση γίνεται είτε με ραδιοσυχνότητα 500-3500kHz είτε με ηλεκτρικό ρεύμα πλήρως τροποποιημένο, ώστε να χορηγεί ικανοποιητική αιμόσταση.

Κρυοχειρουργική επέμβαση

Αφού ολοκληρωθεί η προετοιμασία του ασθενούς, μπορεί να αρχίσει η επέμβαση χρησιμοποιώντας μία από τις προαναφερθείσες τεχνικές. Η βλάβη ψύχεται, ενώ ταυτόχρονα εκτιμάται το βάθος της ψύξης (depth dose). Διακόπτεται η παροχή αζώτου όταν διαπιστωθεί πως η ψύξη του ιστού έχει φτάσει στο επιθυμητό βάθος. Στην πράξη τα κύρια κριτήρια είναι όταν φτάσει την άλω και η οθόνη του κρυόμετρου δείξει τους -50°C έως -60°C .

Παραδείγματος χάριν στην εξ επαφής τεχνική (κρυόδιο) εάν $\text{LSF}=5\text{mm}$ όταν το κρυόμετρο εμφανίσει στην οθόνη του -50°C , τότε σταματάμε, Δηλαδή ο χρόνος της ψύξης εξαρτάται από τις δύο άλλες παραμέτρους. Συνήθως, στην εξ επαφής τεχνική είναι μεγαλύτερος 30sec, κυμαινόμενος μεταξύ 30-40 sec. Εάν δεν διαθέτουμε κρυόμετρο, τότε συνυπολογίζουμε τις δύο παραμέτρους (χρόνος ψύξης, LSF) έχοντας ως βάση τον χρόνο ψύξης των 30sec.

Έπειτα ακολουθεί η απόψυξη του ιστού. Ο απαιτούμενος χρόνος είναι τουλάχιστον τριπλάσιος του χρόνου της ψύξης. Πέντε λεπτά αργότερα επαναλαμβάνεται ο κύκλος ψύξης-αποψύξης. Σε περιπτώσεις επιθετικών καρκινωμάτων δύναται να χρειαστεί και 3ος κύκλος ψύξης-αποψύξης. Όταν ολοκληρωθεί ο τελευταίος χρόνος απόψυξης καθαρίζεται το τραύμα με φυσιολογικό ορό και καλύπτεται με γάζα που περιέχει αντιμικροβιακό παράγοντα και κατόπιν με κοινή αποστειρωμένη γάζα.

Πίνακας 2 Πλεονεκτήματα κρυοχειρουργικής

Είναι μια μέθοδος μικρού κινδύνου και μικρού κόστους
Δεν χρειάζεται γενική αναισθησία, η δε τοπική αναισθησία είναι ελάχιστη
Είναι ταχύτατη θεραπεία, πραγματοποιείται από ιατρείο σε λίγες επισκέψεις
Πολλαπλοί όγκοι μπορούν να θεραπευτούν σε μια επίσκεψη
Δεν υπάρχει κίνδυνος μετεγχειρητικής αιμορραγίας
Οι μετεγχειρητικές λοιμώξεις είναι σπάνιες
Οι επιπλοκές είναι σπάνιες
Τα αισθητικά αποτελέσματα είναι πολύ καλά
Τα ποσοστά θεραπείας είναι πολύ καλά

Πίνακας 3 Ασθενείς κατάλληλοι για κρυοχειρουργική

Ασθενείς όλων των ηλικιών των οποίων η υγεία είναι εύθραυστη
Άτομα με ανοιχτόχρωμο δέρμα (τα μελαχρινά άτομα εμφανίζουν συχνότερα υποχρωμία)

Ασθενείς που εμφανίζουν ανεπιθύμητες ενέργειες στην αναισθησία. Η κρυοχειρουργική μπορεί να γίνει και χωρίς αναισθησία
Ασθενείς υπό αντιπηκτική αγωγή
Ασθενείς με πολλαπλές βλάβες σε περιοχές όπου μπορεί να μην υπάρχει επαρκής κινητός ιστός όπως η ρις, οι οφθαλμοί, το μέτωπο, οι κροτάφοι και η ράχη των χεριών, διότι άλλες μέθοδοι, ιδιαίτερα η χειρουργική, είναι πιο πολύπλοκες.

Πίνακας 4 Ενδείξεις κρυοχειρουργικής σε καρκινώματα του δέρματος

Επιτολής βασικοκυτταρικό BBC
Οζώδες ή ελκωτικό BBC
Σύνδρομο πολλαπλών βασικοκυτταρικών σπύλων
Μικρά καλώς διαφοροποιημένα ακανθοκυτταρικά καρκινώματα προερχόμενα από ακτινικές υπερκερατώσεις
Δερματικές μεταστάσεις κακοήθους μελανώματος
Μικρές οζώδεις λη κηλιδώδεις βλάβες σαρκώματος Karoti

Πίνακας 5 Εκλογή όγκου για κρυοχειρουργική

Όγκοι διαμέτρου μικρότερης των 2cm
Όγκοι με καλά προσδιορισμένα όρια
Όγκοι πάνω από χόνδρους και οστά
Όγκοι που διηθούν οφθαλμούς, ώτα, ρίνα
Επιμολυνσμένοι όγκοι
Υποτροπιάζοντες όγκοι ακτινοθεραπείας

Πίνακας 6 Όγκοι που δεν είναι κατάλληλοι για κρυοχειρουργική

Όγκοι διαμέτρου μεγαλύτερης των 2 cm
Υποτροπιάζοντες όγκοι (εκτός των ακτινοβοληθέντων)
Όγκοι με μεγάλη πιθανότητα υποτροπής

Όγκοι των κάτω άκρων, διότι ο χρόνος επουλώσης είναι παρατεταμένων
Όγκοι με ιστολογική διάγνωση σκληροδερμοειδούς σκληρωτικού μετατυπικού ή μικτού τύπου.

Πίνακας 7 Αντενδείξεις κρυοχειρουργικής

Αγαμμασφαιριναιμία
Κρυοσφαιριναιμία
Κρυοδογαναιμία
Δυσκρασίες αίματος αγνώστου αιτιολογίας
Αυτοάνοσες νόσοι και νόσοι του κολλαγόνου
Ανοχή στο ψύχος
Αιμοκάθαρση
Λήψη ανοσοκατασταλτικών φαρμάκων
Πολλαπλούν μυέλωμα
Αιμοπεταλιακή ανεπάρκεια
Νόσος του Raynaud
Γαγγραινώδες πυόδερμα

Πίνακας 8 Κρυοχειρουργικές παράμετροι δερματικών καρκινωμάτων

Κρυοχειρουργικές παράμετροι δερματικών καρκινωμάτων					
	XΨ	XA	Κύκλος ψύξης-απόψυξης		LSF
θερμοκρασία					
BCC	30sec	>90sec	Διπλός	3-10mm	-60°C
SCC	30sec	>90sec	Διπλός	3-10mm	-60°C
MM	30sec	>90sec	Διπλός	3-10mm	-60°C
Σαρκώμα KAPOSI	30sec	>90sec	Διπλός	3-10mm	-60°C
Κακοήθης φακί	30sec	>90sec	Διπλός	3-10mm	-60°C

Πίνακας 9 Επεξήγηση και γραπτή συναίνεση ασθενούς που δίνεται στο τμήμα της Κρυοχειρουργικής

Αγαπητέ Κύριε/Κυρία, Η ιστολογική/ κλινική εξέταση έδειξε ότι πάσχετε από επιθηλίωμα του δέρματος. Κατάλληλη θεραπεία για την αντιμετώπιση της βλάβης αυτής είναι η Κρυοχειρουργική. Η θεραπευτική αυτή μέθοδος χρησιμοποιεί το υγρό άζωτο, το οποίο ψύχει το δέρμα σε πολύ χαμηλές θερμοκρασίες και καταστρέφει έτσι το επιθηλιωμα. Η επέμβαση αυτή διαρκεί πολύ λίγο (συνολικά 7 λεπτά) και έχει άριστα αποτελέσματα. Θα Πρέπει όμως να γνωρίζετε ότι στο σημείο που υπήρχε το επιθηλίωμα τη μία μικρή πληγή και θα δημιουργηθεί πρήξιμο. Στο τραύμα αυτό θα γίνεται καθημερινή περιποίηση έως ότου η πληγή εντελώς. Επίσης μπορεί στο μέρος της επέμβασης να παραμείνει μία μικρή αχρωμία (ασπρίλα). Σας παρακαλούμε διαβάσετε προσεκτικά αυτό το έντυπο να το υπογράψετε και να το έχετε μαζί σας την ημέρα της θεραπείας.
--

Πίνακας 10 Κλινικές μορφές βασικοκυτταρικού καρκινώματος

Κλινικές μορφές βασικοκυτταρικού καρκινώματος
1 οζώδες και ελκωτικό βασικοκυτταρικό καρκίνωμα που είναι και ο συνηθέστερος τύπος
2 μελαγχρωματικό βασικοκυτταρικό καρκίνωμα
3 βασικοκυτταρικό καρκίνωμα σαν ενοπισμένη σκληροδερμία
4 επιφανειακό ή παζετοειδές βασικοκυτταρικό καρκίνωμα
5 ινοεπιθηλίωμα του Pinkus
6 σύνδρομο των πολλαπλών βασικοκυτταρικών καρκινωμάτων
7 γραμματοειδής βασικοκυτταρικός σπίλος και γενικευμένος θυλακικός βασικοκυτταρικός σπίλος
*Στην κατάταξη αυτή προστίθεται το σύνδρομο του Basex και Rombo, και το βασικοκυτταρικό καρκίνωμα που αναπτύσσεται σε σηγγματογόνο σπίλο του Jadassohn.
Τέλος ορισμένοι διακρίνουν ως ιδιαίτερο τύπο τα βασικοακανθοκυτταρικά καρκινώματα.

Πίνακας 11 Παράμετροι εκτίμησης της αποτελεσματικότητας της κρυοχειρουργικής βλάβης

Παράμετροι	Καλοήθεις βλάβες	Καλοήθεις βλάβες
Κύκλος ψύξης-απόψυξης	Ναι	Ναι
Ελάχιστη θερμοκρασία ιστού	-20°C έως -30 °C	-50°C έως -60°C
Χρόνος ψύξης	30sec.σπανίως περισσότερα	2X3 sec
Ταχύτητα ψύξης	Μέτρια	100°-200°C/min
Ταχύτητα απόψυξης	Αργή	10°C/min
Πλαγίως επεκτεινόμενη ψύξη	1-3mm	3-10mm
Χρόνος απόψυξης της άλω	Δεν υπολογίζεται	>διπλάσιος του χρόνου ψύξης
Ολικός χρόνος απόψυξης	Δεν υπολογίζεται	>τριπλάσιος του χρόνου ψύξης
Επανάληψη κύκλου ψύξης-απόψυξης	Επιθυμητός αλλά όχι απαραίτητος	αναγκαίος
Χρονικό διάστημα μεταξύ των δύο κύκλων ψύξης-απόψυξης	Δεν είναι απαραίτητο	5 λεπτά

Η πορεία της κρυοχειρουργικής βλάβης

Η απόκριση του ιστού στην ψύξη κυμαίνεται από φλεγμονή έως καταστροφή που είναι επιθυμητή στις περισσότερες κρυοχειρουργικές εφαρμογές. Όταν ο σκοπός της κρυοχειρουργικής είναι η καταστροφή του ιστού, τότε η κρυογονική βλάβη χαρακτηρίζεται από μια σαφή περιγεγραμμένη νέκρωση, που αντιστοιχεί ακριβώς στον όγκο του ιστού που ψύχεται. Το τμήμα του δέρματος που υφίσταται την ψύξη είναι λευκό συμπαγές τεμάχιο πάγου. Όμως αμέσως μετά την απόψυξη ο ιστός φαίνεται συνήθως αποχρωματισμένος λόγω της υπεραιμίας και του οιδήματος.

Μετά το οίδημα μπορεί να εμφανισθεί φυσαλιδοποίηση και αιμορραγική πομφόλυγα που μπορεί να αφήσει μια διαβρωτική επιφάνεια. Ο χρόνος που απαιτείται ώστε να αποβληθεί ο νεκρωτικός ιστός εξαρτάται από το στρώμα του ιστού. Συνήθως διαρκεί 1 έως 2 βδομάδες ή και περισσότερο. Οι κυτταροβριθείς ιστοί αποπίπτουν γρήγορα. Οι ιστοί με άφθονα ινώδη στοιχεία ανθίστανται περισσότερο και για αυτό η απόπτωση επιβραδύνεται. Τα μεγάλα αγγεία, οι χόνδροι και τα νεύρα δεν υφίστανται μεγάλες διαταραχές και αναγεννώνται με επιτυχία αργά , αλλά σταθερά. Η ιστική καταστροφή αποκαθίσταται πλήρως με την

επιθηλιοποίηση. Στις περισσότερες περιπτώσεις η επιθηλιοποίηση είναι πολύ καλή και ξεκινά από τη μήτρα του ιστού η οποία βλάπτεται ελάχιστα και χρησιμεύει ως δίκτυο για ανάπτυξη.

Στο δέρμα η αντίσταση των κολλαγόνων ινών στη βλάβη από την ψύξη παίζει σημαντικό ρόλο στην αναπλαστική πορεία. Από τις κολλαγόνες ίνες εξαρτάται η καλή επούλωση. Η σύγκριση της επούλωσης των τραυμάτων του δέρματος από το έγκαυμα των βλαβών από την ψύξη δείχνει την αντίσταση του κολλαγόνου στις διαταραχές από την ψύξη. Σε αντίθεση με το τραύμα από έγκαυμα, στην ψύξη δεν παρατηρείται συρρίκνωση των κολλαγόνων ινών. Η διαφύλαξη του δικτύου του συνδετικού ιστού από την ψύξη συμβάλλει στην ευνοϊκή επούλωση. Οι κατεστραμμένες κολλαγόνες ίνες απορροφώνται και έπεται η εναπόθεση νέων κολλαγόνων για επανόρθωση της δομής του ιστού. Η διατήρηση των κολλαγόνων ινών είναι πολύ σημαντική για την πορεία της επούλωσης και έχει αποδειχθεί ότι οι ινοβλάστες είναι πιο ανθεκτικοί από τα επιδερμικά κύτταρα στη βλάβη.

Οι ελαστικές ίνες, οι θύλακοι των τριχών και οι αδένες του δέρματος αντίθετα καταστρέφονται και δεν αναγεννιούνται σε μέτριες θερμοκρασίες ψύξης.

Ο βλεννογόνος της στοματικής κοιλότητας αντιδρά με παρόμοιο τρόπο με εκείνο του δέρματος αλλά δεν έχει την ισχυρή δομή του κολλαγόνου που έχει το δέρμα και ως εκ τούτου είναι περισσότερο επιρρεπής στις δομικές διαταραχές και την ατροφία. Παρ' όλα αυτά η επούλωση σε αυτό το σημείο είναι πολύ καλή επειδή η αναγέννηση του ιστού προέρχεται από τα άκρα του τραύματος.

Τα περιφερικά νεύρα συνήθως δεν βλάπτονται μόνιμα από την βλάβη. Αμέσως μετά την ψύξη η λειτουργία του νεύρου μπορεί να επηρεασθεί προσωρινά λόγω της καταστροφής των αξόνων και των κυττάρων Schwann. Όμως το περινεύριο παραμένει άθικτο και χρησιμοποιείται για την αναγέννηση των αξόνων. Η νευρική λειτουργία αποκαθίσταται όταν η αναγέννηση του νεύρου ολοκληρωθεί.

1.2.3 Παραδείγματα επιδερμικών όγκων που εφαρμόζεται η τεχνική

Ακτινικές υπερκερατώσεις

Οι ακτινικές υπερκερατώσεις αποτελούν την πιο σύνηθη πάθηση ασθενών που προσέρχονται στο τμήμα Κρυοχειρουργικής. Είναι ενδοεπιθηλιακά νεοπλάσματα του δέρματος και αποτελούν τις πιο συχνές προκαρκινικές βλάβες στον άνθρωπο. Τα κύτταρα, τα οποία παρουσιάζουν ατυπίες είναι τα κερατινοκύτταρα της επιδερμίδας. Δυνητικά οι ΑΚ ενδέχεται να εξελιχθούν σε ακανθοκυτταρικά καρκινώματα. Συνεπώς, είναι απαραίτητη η θεραπεία τους με κάυση της περιοχής.

Εμφανίζονται σε φωτοεκτεθειμένες περιοχές του σώματος συνήθως σε άτομα πάνω των 50 ετών. Προξενούνται έπειτα από χρόνια έκθεση στην υπεριώδη ακτινοβολία, που οδηγεί σε αθροιστική βλάβη των κερατινοκυττάρων. Η παρουσία τους αποτελεί δείκτη φωτοκαταστροφής του δέρματος και σημείο αυξημένου κινδύνου για εμφάνιση καρκίνου του δέρματος. Επομένως, χρήζει συστηματικής ιατρικής παρακολούθησης.

Η βασική βλάβη αποτελεί μία κλασικά ερυθρηματώδης κηλίδα ή βλατίδα με προσκολλημένα λευκωπά, κιτρινωπά ή σταχτιά λέπια, τα οποία παρουσιάζουν χαρακτηριστική τραχιά σαν γυαλόχαρτο στη ψηλάφηση υφή. Το μέγεθος ποικίλει από μερικά χιλιοστά μέχρι μεγάλες συρρέουσες πλάκες διαμέτρου αρκετών εκατοστών, κυρίως σε ασθενείς με σημαντική φωτοκαταστροφή. Εφ' όσων οι βλάβες είναι λίγες και σαφώς περιγεγραμμένες αντιμετωπίζονται μεμονωμένα με τη μέθοδο της κρυοχειρουργικής, ενώ όταν υπάρχει σημαντική φωτοκαταστροφή του δέρματος με συρρέουσες μη καλά διακριτές βλάβες, τότε η αντιμετώπιση είναι συνολική στην ευρύτερη πάσχουσα περιοχή (θεραπεία πεδίου) (Mitsuiishi et al., 2003 ; Morton et al., 2007).

Νόσος του Bowen

Η νόσος του Bowen είναι μία μορφή ακανθοκυτταρικού καρκινώματος *in situ* που μπορεί να εμφανιστεί τόσο σε φωτοεκτεθειμένα αλλά και σε φωτοπροστατευμένα μέρη του σώματος. Αναφορικά με την κλινική εικόνα, παρουσιάζει μονήρη , σαφώς αφοριζόμενη , ασυμπτωματική, ερυθρηματώδη, υπερκερατωσική και επίπεδη πλάκα. Οι βλάβες είναι πολλαπλές σε ποσοστό 10-20% των ασθενών. Ορισμένοι πιθανοί παθογενετικοί παράγοντες αποτελούν η μακροχρόνια έκθεση σε ηλικιακή ακτινοβολία, η επίδραση αρσενικών ενώσεων, ανοσοανεπάρκεια λόγω π.χ. AIDS ή μεταμόσχευσης. Επίσης, καθοριστικοί παράγοντες για την τελική θεραπευτική επιλογή αποτελούν η ηλικία του ασθενή, ο αριθμός και το μέγεθος των βλαβών όπως και η εντόπισή τους (Παναγιωτόπουλος, 2015).

Εξαιρετικά αποτελέσματα με χαμηλά ποσοστά υποτροπών αναφέρονται μετά από κύκλο ψύξης- απόψυξης 30sec. με υγρό άζωτο. Τα χαμηλότερα όμως ποσοστά υποτροπών φαίνεται να σχετίζονται με παράταση του χρόνου επούλωσης και κακά αισθητικά αποτελέσματα όπως η εμφάνιση ουλών και ο τοπικός αποχρωματισμός του δέρματος. Συνεπώς, η κρυοθεραπεία αποτελεί μια αποτελεσματική οικονομική μέθοδο που συστήνεται για θεραπεία μικρών σχετικά βλαβών σε περιοχές που εμφανίζουν καλή επούλωση του δέρματος (Mitsuiishi et al., 2003 ; Morton et al., 2007)

Δερματικό κέρας

Το δερματικό κέρας είναι μία μορφολογική περιγραφή για ένα προεξέχον, κωνικό, σκληρό και υπερκερατωσικό οζίδιο, το οποίο προκύπτει από ασυνήθη συνεκτικότητα κερατινοποιημένου υλικού. Πρέπει πάντοτε να εξετάζεται ιστολογικά η βάση του δερματικού κέρατος για να αποκλεισθεί η ύπαρξη διηθητικού ακανθοκυτταρικού καρκινώματος.

Η κρυοχειρουργική, μόνη ή σε συνδυασμό με απόξεση και ηλεκτροκαυτηρίαση, έχει πολύ καλά αποτελέσματα.

Όλες οι τεχνικές της κρυοχειρουργικής μπορούν να χρησιμοποιηθούν.

Βασικοκυτταρικό καρκίνωμα

Το βασικοκυτταρικό καρκίνωμα είναι κακοήθης όγκος του δέρματος, το οποίο εμφανίζει τοπική καταστροφή και διήθηση του δέρματος και σπανιότατα μεθίσταται. Τα ιστολογικά στοιχεία του βασικοκυτταρικού καρκινώματος και του περιβαλλοντικού στρώματος εμφανίζουν χαρακτηριστική μορφολογία. Οι νεοπλασματικές βλαβές αποτελούνται από κύτταρα που προσομοιάζουν μορφολογικά προς εκείνα της βασικής στιβάδας της επιδερμίδας και των εξαρτημάτων της.

Συνήθως, εμφανίζεται στους ενήλικους ως μονήρης βλάβη. Απαντά αποκλειστικά στο δέρμα. Φείδεται των βλεννογόνων, ενώ δεν συναντάται σε παλάμες και πέλματα, με μόνη εξαίρεση το σύνδρομο των πολλαπλών βασικοκυτταρικών καρκινωμάτων.

Η παρατεταμένη έκθεση του δέρματος στο ηλιακό φως παρουσιάζει καρκινογενετική δράση, ειδικά σε ανοιχτού χρώματος άτομα. Στην Ελλάδα τα καρκινώματα δέρματος αναπτύσσονται συνήθως σε άτομα που η εργασία τους απαιτεί να εκτίθενται πολλές ώρες στον ήλιο (αγρότες, ναυτικοί κ.α) (Madan et al., 2010).

Κατά κανόνα το βασικοκυτταρικό καρκίνωμα σπάνια μεθίσταται. Ωστόσο, υπάρχουν και σπάνιες εξαιρέσεις. Αναφορικά με τις μεταστάσεις, το βασικοκυτταρικό καρκίνωμα χαρακτηρίζεται ως <<καλοθέστερο>> από το ακανθοκυτταρικό. Αναπτύσσονται βραδέως και εμφανίζουν τοπική κακοήθεια. Η ονομασία του δόθηκε από την ομοιότητα των κυττάρων με τα κύτταρα της βασικής στιβάδας της επιδερμίδας. Είναι ο συχνότερος καρκίνος των λευκών. Στις ΗΠΑ υπολογίζεται ότι η συχνότητά του είναι 900.000 το χρόνο. Η συχνότητα του είναι μεγαλύτερη στους άνδρες απ' ό τι στις γυναίκες, αν και τα τελευταία χρόνια παρατηρείται αύξησή του στις γυναίκες (Σταυριανέας et al., 2001).

Τα βασικοκυτταρικά καρκινώματα εντοπίζονται συνήθως στο πρόσωπο (βλέφαρα, ζυγωματική χώρα, μάγουλα, μέτωπο, άνω χείλος, μύτη κ.α.). Εκτός από το πρόσωπο, δύναται να εμφανιστεί σπανιότερα και σε άλλα σημεία της επιφάνειας του δέρματος, κυρίως

ο επιφανειακός του τύπος. Εμφανίζεται συνήθως με μια βλάβη. Σπανιότερα είναι δυνατόν να αναπτύσσονται στο ίδιο άτομο δύο και περισσότερα καρκινώματα. Η εμφάνιση BCC (βασικοκυτταρικού καρκινώματος) στους βλεννογόνους είναι εξαιρετικώς σπάνια.

Αρχικά εμφανίζεται ως ρόδινη βλατίδα που μεγεθύνεται προοδευτικώς. Επίσης είναι δυνατόν να ξεκινάει με διάβρωση χωρίς τάση να επουλωθεί, είτε τέλος σαν διογκώσεις μαργαριτοειδούς χρώματος με επιφάνεια ομαλή και λεία. Ο οριστικός κλινικός τύπος που θα εμφανίσει τελικώς το BCC γίνεται σαφής συνήθως μετά από κάποια χρόνια από την εμφάνισή του.

Κλινικώς τα BCC παρουσιάζουν μεγάλη ετερογένεια. Σύμφωνα με τον Lever υπάρχουν 7 διαφορετικοί κλινικοί τύποι:

1. Το οζώδες και ελκωτικό βασικοκυτταρικό καρκίνωμα που είναι ο συνηθέστερος τύπος.
2. Το μελαγχρωτικό βασικοκυτταρικό καρκίνωμα
3. Το βασικοκυτταρικό καρκίνωμα ως εντοπισμένη σκληροδερμία
4. Το επιφανειακό η παζετοειδές βασικοκυτταρικό καρκίνωμα
5. Το ινοεπιθηλίωμα του Pinkus
6. Το σύνδρομο των πολλαπλών βασικοκυτταρικών καρκινωμάτων
7. Ο γραμμοειδής βασικοκυτταρικός σπίλος και ο γενικευμένος θυλακικός βασικοκυτταρικός σπύλος.

Σε αυτή την κατάταξη συμπληρώνεται και το σύνδρομο του Basex και Rombo. Ακόμη, το βασικοκυτταρικό καρκίνωμα, το οποίο αναπτύσσεται σε σημματογόνο (οργανοειδή) σπίλο (σπίλος του Jadassohn). Τέλος ορισμένοι διακρίνουν και τα βασικοακανθο-κυτταρικά καρκινώματα (Lansbury et al., 2013).

Πρόγνωση

Η φυσική πορεία των BCC καθορίζεται από την συνήθως βραδεία τους εξέλιξη και ανάπτυξη. Στην πορεία του καταστρέφει τοπικώς τους ιστούς στους οποίους αναπτύσσεται. Η τοπική αυτή <<κακοήθεια>> σπανιότατα μπορεί να συνοδεύεται και από μετάσταση του όγκου. Το BCC μεθίσταται σπάνια. Οι περισσότερες από τις περιπτώσεις αυτές των μεταστάσεων αφορούν κυρίως άνδρες με εκτεταμένα ελκωμένα και παραμελημένα BCC. Ο

μέσος όρος επιβίωσης μετά τη διάγνωση είναι λιγότερος από χρόνο. Οι μεταστάσεις γίνονται στους επιχώριους λεμφαδένες στους πνεύμονες κτλ.

Όταν ένα άτομο έχει δεχθεί τόση δόση υπερϊώδους ακτινοβολίας και το δέρμα του έχει τόσο φωτοφθαρεί ώστε να εμφανίζει ένα BCC απαιτεί ιδιαίτερη προσοχή και παρακολούθηση και μετά τη θεραπεία του πρώτου αυτού καρκίνου. Ο λόγος είναι ότι αποτελεί άτομο υψηλού κινδύνου για την εμφάνιση επιπρόσθετων δερματικών καρκίνων. Για τα άτομα αυτά που εμφάνισαν έναν πρώτο καρκίνο ο κίνδυνος για δεύτερο ανέρχεται σε 17% τον πρώτο χρόνο , 35% μέσα σε 2 χρόνια και 50% μέσα σε 5 χρόνια. Έτσι άτομα που έχουν θεραπευθεί από BCC πρέπει να παρακολουθούνται και να εξετάζονται προσεκτικά ανά τακτά χρονικά διαστήματα από έμπειρους ειδικούς και να μην το αμελούν. Από πλευράς πρόληψης απαραίτητη είναι η φωτοπροστασία από τη γέννηση και μετά. Ειδικά για τα άτομα με ανοιχτό φωτότυπο(Σταυριανέας , 2001; Lansbury et al., 2013).

Η βλάβη της κρυοχειρουργικής επέμβασης ακολουθεί προβλέψιμη πορεία, δηλαδή αυτή της επούλωσης του τραύματος κατά δεύτερο σκοπό. Κατά την πορεία της επούλωσης θα παρατηρηθούν μερικές εκδηλώσεις αναμενόμενες, όπως οίδημα, νεκρωτική εφελκίδα, καθώς και μερικές ανεπιθύμητες ενέργειες. Οι τελευταίες είναι συνήθως αποτέλεσμα της υπερβολικής ψύξης ή της ασυνήθιστης αντίδρασης του ιστού στην ψύξη. Οι αντιδράσεις του ιστού, η εμφάνιση των ανεπιθύμητων ενεργειών και η επούλωση που ακολουθούν την κρυοχειρουργική επέμβαση έχουν σχέση με τα χαρακτηριστικά και την εντόπιση της βλάβης, με το βάθος της ψύξης και με την αντίδραση του ιστού.

A. Η μετεγχειρητική φροντίδα του τραύματος

Η φροντίδα του τραύματος της κρυοχειρουργικής επέμβασης είναι σε γενικές γραμμές ίδια με την φροντίδα των άλλων τραυμάτων. Πρέπει, όμως, να επεξηγείται με κατανοητό τρόπο στον ασθενή αυτήν η φροντίδα και όλη η πορεία του τραύματος, για να μην ανησυχεί και να δίδονται γραπτές οδηγίες για την περιποίηση του ασθενούς και συμμόρφωση του ασθενούς.

B. Κλινικές εκδηλώσεις μετεγχειρητικά

Η πρώτη αντίδραση που παρατηρείται αμέσως μετά την επέμβαση είναι μια κνιδωτικού τύπου αντίδραση και οίδημα. Το οίδημα μπορεί να είναι τοπικό ή να επεκτείνεται και στη γύρω περιοχή. Ιδιαίτερα όταν η θεραπευθείσα βλάβη ευρίσκεται σε περιοφθάλμιες περιοχές, το οίδημα μπορεί να διαρκέσει αρκετές ημέρες, ενώ το οίδημα των ωτών μπορεί να διαρκέσει μερικές εβδομάδες.

Το πρώτο 24ωρο εμφανίζεται ορώδες εξίδρωμα το οποίο διαρκεί 6-10 ημέρες μετά την επέμβαση. Ο ασθενής περιποιείται το τραύμα σύμφωνα με τις οδηγίες που του έχουν δοθεί.

Τη δεύτερη ημέρα μερικές φορές αναπτύσσεται πομφόλυγα στα όρια της βλάβης. Οι πομφόλυγες εμφανίζονται κυρίως στον κορμό, στο μέτωπο, στον αυχένα ή στα άνω άκρα. Συνήθως υποχωρούν αυτόματα, αλλά μπορεί να παροχευτούν τρυπώντας τη βάση τους με μια αποστειρωμένη βελόνα.

Η επούλωση προχωράει αργά, καθώς το νεκρωτικό υλικό αρχίζει να ξηραίνεται και εμφανίζεται κοκκιωματώδης ιστός. Αυτό συνήθως συμβαίνει την 7η με 14η ημέρα, και εξαρτάται από το μέγεθος και τη θέση του όγκου. Σχηματίζεται κεντρική εφελκίδα, η οποία αυξάνεται και τελικά καλύπτει όλη την επιφάνεια. Σε αυτό το σημείο προτιμάται να αφήνεται η εφελκίδα άθικτη, για να αποξηρανθεί στον αέρα βοηθούμενη από την εφαρμογή οιοπονεύματος δύο φορές την ημέρα. Η κάλυψη με γάζα είναι προαιρετική, εξαρτώμενη από την επιθυμία του ασθενούς. Καθώς η επανεπιθυλιοποίηση προχωράει, η αρχική εφελκίδα αποπύπτει και σχηματίζεται μια δεύτερη μικρότερη εφελκίδα, τότε θεωρούμε ότι η πληγή έχει επουλωθεί. Οι βλάβες του προσώπου επουλώνονται σε 5-6 εβδομάδες, ενώ η επούλωση των βλαβών του κορμού διαρκεί λίγο περισσότερο.

Γ. Αισθητικά αποτελέσματα της κρυοχειρουργικής επέμβασης

Η κρυοχειρουργική δεν είναι μόνο αποτελεσματική ως θεραπεία, αλλά έχει και εξαιρετικά αισθητικά αποτελέσματα. Η βελτίωση της εμφάνισης του τραύματος συνεχίζεται αρκετό διάστημα μετά την επούλωση. Έχει παρατηρηθεί βελτίωση της εμφάνισης του τραύματος έως και 6-12 μήνες μετά τη θεραπεία. Τα αισθητικά αποτελέσματα της κρυοχειρουργικής θεωρούνται εφάμιλλα ή και καλύτερα των άλλων μεθόδων θεραπείας.

Υπάρχουν πολλοί παράγοντες που επηρεάζουν το αισθητικό αποτέλεσμα της επέμβασης, όπως η εντόπιση, το βάθος και το μέγεθος της βλάβης, η ηλικία και το χρώμα του δέρματος του ασθενούς. Από αυτούς ο πιο σημαντικός είναι η εντόπιση της βλάβης. Τα τραύματα μερικών περιοχών έχουν πολύ καλή επούλωση, π.χ. κρόταφοι, πέριξ των ώτων, έσω κανθός, κορμός, άκρα.

Σε γενικές γραμμές οι μικροί όγκοι έχουν καλύτερα αποτελέσματα σε σύγκριση με τους μεγαλύτερους. Η ουλή των μικρών όγκων είναι δυσδιάκριτη, δεν έχει μεγάλη αντίθεση με το γύρω δέρμα και καλύπτεται πιο εύκολα με μαικ απ. Αντίθετα, η ψύξη των μεγάλων όγκων καταστρέφει περισσότερο ιστό, ενώ η ουλή είναι χωρίς αγγεία, με βυθισμένη στροφική επιφάνεια.

Η ηλικία παίζει επίσης, σημαντικό ρόλο στο αισθητικό αποτέλεσμα της επέμβασης. Οι βλάβες ασθενών ηλικίας μεγαλύτερης των 50 ετών επουλώνονται καλύτερα σε σχέση με τις βλάβες νεώτερων ασθενών. Η ουλή είναι απαλή και δεν έχει μεγάλη αντίθεση με το γύρω δέρμα. Αυτό ίσως οφείλεται στην απώλεια της ελαστικότητας του γερασμένου δέρματος λόγω των δομικών αλλαγών του, κυρίως της διαταραχής του δικτύου των ελαστικών ιστών.

Το χρώμα του δέρματος παίζει επίσης ρόλο στο τελικό αισθητικό αποτέλεσμα. Η ουλή των ανοιχτόχρωμων ατόμων δεν διακρίνεται εύκολα σε σχέση με τις ουλές των μελαχρινών.

Δ. Ανεπιθύμητες ενέργειες της κρυοχειρουργικής

Η συχνότητα των ανεπιθύμητων ενεργειών στην κρυοχειρουργική είναι μικρή. Γενικά η κρυοχειρουργική είναι μια ασφαλής μέθοδος, όταν δε η εκλογή του ασθενούς εκπληρεί τους κανόνες της μεθόδου και η τεχνική γίνει *lege artis*, οι επιπλοκές δεν εμφανίζονται συχνά.

Οι ανεπιθύμητες ενέργειες εξαρτώνται από :

- ❖ Τον τύπο του δέρματος
- ❖ Τη θέση της βλάβης
- ❖ Το μέγεθος της βλάβης
- ❖ Τον τρόπο της κρυοχειρουργικής επέμβασης
- ❖ Την παθολογία της βλάβης

Οι ανεπιθύμητες ενέργειες διαιρούνται σε παροδικές και μόνιμες όπως φαίνεται στον Πίνακα 12.

Πίνακας 12 Ανεπιθύμητες ενέργειες Κρυοχειρουργικής (Παναγιωτόπουλος , 2015)

<i>Παροδικές</i>	<i>Μόνιμες</i>
Τοπικό άλγος	Υπομελάγχρωση
Κεφαλαλγία	Εκτρόπιο και εισολκή βλεφάρων
Λιποθυμία	Εισολκή δερματοβλεννογονίου ορίου χειλέων
Πυρετός	Εντύπωμα και ατροφία χόνδρου
Οίδημα	Ατροφία
Πομφόλυγα	Αλωπεκία
Κνίδωση εκ ψύχους	
Υπερτροφική ουλή	

Λοίμωξη	
Αιμορραγία	

1.2.4. Ανεπιθύμητες ενέργειες

1.Παροδικές

Ως παροδικές ανεπιθύμητες ενέργειες της κρυοχειρουργικής θεραπείας θεωρούνται εκείνες που εμφανίζονται 1-2 ημέρες μετά την επέμβαση, στο στάδιο της επούλωσης έως και έναν χρόνο μετά την επέμβαση. Οι παροδικές ανεπιθύμητες ενέργειες είτε υποχωρούν αυτομάτως είτε αντιμετωπίζονται με τις συνήθεις μεθόδους θεραπείας. Ούτως ή άλλως η ανεπιθύμητη ενέργεια υποχωρεί και δεν αφήνει μόνιμο αποτέλεσμα.

A. Τοπικό άλγος

Ο ουδός του άλγους είναι διαφορετικός σε κάθε άνθρωπο. Άλλα άτομα είναι λίαν ευαίσθητα στο άλγος ενώ άλλα είναι σχετικών ανθεκτικά. Στις κρυοχειρουργικές επεμβάσεις, κάποιοι ασθενείς αναφέρουν την τοποθέτηση του βαμβακοφόρου στείλεου ως αίσθημα “απλού καύσου”, άλλοι ως “έντονο κάψιμο”, ενώ άλλοι ανέχονται την περάτωση της θεραπείας του καρκινώματος χωρίς τοπική αναισθησία. Πάντως, στην κρυοχειρουργική θεωρούμε ως αρχή ότι στις καλοήθεις παθήσεις και για μικρούς χρόνους ψύξης δεν κάνουμε τοπική αναισθησία, ενώ στα καρκινώματα και σε καλοήθεις παθήσεις με μεγάλο χρόνο ψύξης είναι απαραίτητη η τοπική αναισθησία.

Όταν δεν διεξαχθεί τοπική αναισθησία, όλοι οι ασθενείς αισθάνονται κάποιου βαθμού “δυσφορία” που εκφράζεται ως καύσος ή άλγος. Μερικές ανατομικές περιοχές προκαλούν εντονότερο άλγος συγκριτικά με άλλες π.χ. δάχτυλα, χείλη, κρόταφοι, περιωμύχιο, πολφός, χόνδρος και έλικα του ωτός, τριχωτά κεφαλής.

B. κεφαλαλγία

Η κεφαλαλγία εμφανίζεται όταν εφαρμόζεται κρυοχειρουργική στο τριχωτό της κεφαλής, στο μέτωπο ή στους κροτάφους. Είναι παροδική, αλλά σε μερικές περιπτώσεις μπορεί να επιμείνει για αρκετές ώρες, οπότε πρέπει να χορηγηθούν τα συνήθη αναλγητικά φάρμακα.

Γ. Λιποθυμία

Κατά τη διάρκεια της κρυοχειρουργικής επέμβασης, μπορεί να προκύψει λιποθυμική κρίση, ιδιαίτερα αν δεν έχουμε ενημερώσει κατανοητά τον ασθενή. Ευτυχώς πρόκειται για σπάνια αντίδραση. Το “περίεργο” είναι ότι συμβαίνει κυρίως σε νέα άτομα και σε εύκολες

θεραπείες, όπως στις μυρμηκίες των χεριών, παρά σε θεραπείες καρκινωμάτων σε άτομα μεγαλύτερης ηλικίας.

Δ. Πυρετός

Πολύ σπάνια εμφανίζεται μια πυρετική αντίδραση 24 ώρες μετά την επέμβαση. Διαρκεί ελάχιστα και εμφανίζεται μετά από τη θεραπεία μεγάλων ή πολλών όγκων μαζί. Η αντιμετώπιση του είναι συμπτωματική

Ε. Οίδημα

Το οίδημα είναι αποτέλεσμα της οξείας φλεγμονής και της διαφυγής πλάσματος από τα αιμοφόρα αγγεία. Το οίδημα παρατηρείται σε όλους σχεδόν τους ασθενείς, η δε ένταση του εξαρτάται από τη σοβαρότητα της θεραπείας. Πιο έντονο οίδημα συναντάται σε

περιοχές όπου το δέρμα είναι πιο χαλαρό, όπως στα βλέφαρα, στα χείλη και στα γεννητικά όργανα.

Στ. Πομφόλυγα

Οι πομφόλυγες εμφανίζονται στα όρια της θεραπευθείσας βλάβης. παρουσιάζονται συνήθως μετά από τη θεραπεία βλαβών μεγάλης έκτασης συνήθως στον κορμό, στα άνω άκρα και στο μέτωπο. Όμως, υποχωρούν αυτόματα, η δε πορεία της επούλωσης δεν επηρεάζεται.

ΙΓ. Υπερμελάγχρωση

Οι διαταραχές της μελάγχρωσης παρατηρούνται συχνότερα σε μελαχρινά άτομα. Η μεταφλεγμονώδης υπέρχρωση είναι συχνή μετά από μικρής διάρκειας θεραπεία για καλοήθεις παθήσεις. Μία ασυνήθης μελάγχρωση είναι η μεταφλεγμονώδης μελάγχρωση που εμφανίζεται σαν δαχτυλίδι γύρω από μία υπόχρωμη περιοχή μετά από θεραπεία ενός καρκινώματος. Παρατηρείται σε μελαχρινά άτομα και με την πάροδο του χρόνου βελτιώνεται και τελικά εξαφανίζεται (Dawber et al., 1992).

Μόνιμες

Ως μόνιμες χαρακτηρίζονται οι ανεπιθύμητες ενέργειες που διαρκούν περισσότερο από έναν χρόνο και δεν επιδέχονται θεραπεία με τις κλασικές δερματολογικές θεραπείες. Η εμφάνισή τους έχει σχέση κυρίως με την εντόπιση της βλάβης και δευτερευόντως με τις παραμέτρους της ψύξης

Α. Υποχρωμία

Από τις διαταραχές της μελάγχρωσης η υποχρωμία είναι η πιο κοινή και όταν συμβαίνει είναι μόνιμη. Για όταν λόγο οι κρυοχειρουργικές επεμβάσεις αποφεύγονται σε μελαχρινά άτομα ειδικά σε περιοχές που μπορεί να δημιουργήσουν αισθητικό πρόβλημα όπως το πρόσωπο. Οι ασθενείς πρέπει να ενημερώνονται πλήρως και με κατανοητό τρόπο για την πιθανότητα εμφάνισης ανεπιθύμητης ενέργειας.

B. Ατροφική ουλή

Η ατροφική ουλή αναπτύσσεται συνήθως στην μύτη στο αυτί και στα βλέφαρα και οφείλεται στη διήθηση του χόνδρου από την καρκινωματογόνη μάζα με αποτέλεσμα την απώλεια ιστού. Μπορεί όμως να οφείλεται όχι στη διήθηση του ιστού από τον όγκο αλλά στην υπερβολική ψύξη της βλάβης (Jackson et al., 1991).

Προστασία βλάβης από μηχανικό τραύμα

Η κεράτινη στιβάδα αποτελεί ισχυρό τμήμα του δέρματος. Αυτό οφείλεται στην παρουσία μιας σειράς κερατινοποιημένων κυττάρων ισχυρά συνδεδεμένων μεταξύ τους μέσω δεσμοσωμάτων και αφετέρου στις ελαστικές της ιδιότητες που αποδίδονται στην παρουσία πρωτεϊνών και λιπιδίων.

Το χόριο και το υποδόριο λίπος προσφέρουν προστασία σε περίπτωση τραύματος από αμβλύ χτύπημα. Επιπροσθέτως, η αυξημένη νευρώση της περιοχής συνεπάγεται απομάκρυνση του άκρου παρουςία επικειμένου κινδύνου.

Η επιδερμίδα περιέχει ένα βιοχημικό μηχανισμό προστασίας κατά επαναλαμβανόμενου μηχανικού τραύματος. Ο ρυθμός κυτταρικής διαίρεσης στο βασικό στρώμα της επιδερμίδας αυξάνεται με απόρροια την υπερπλασία των ιστών (Κουτσιλιέρης, 2014).

1.3 Φυσιολογία Επούλωσης

Με τον όρο ‘‘τραύμα’’ γίνεται αναφορά στη λύση της συνέχειας της επιφάνειας του δέρματος, ενώ μπορεί να συνοδεύεται από διαταραχή στην φυσιολογική ανατομία και λειτουργία του επιθηλίου ή και των υποκείμενων φυσιολογικών ιστών (Enoch και Leaper, 2007).

Τα ιατρογενή τραύματα είναι αποτέλεσμα της αρχής *vulnerando sanamus*, δηλαδή ίαση μέσω τραυματισμού. Μπορεί να είναι αποτέλεσμα χειρουργικών, διαγνωστικών ή άλλων θεραπευτικών χειρισμών. Διακρίνονται σε:

- ❖ τομές
- ❖ παρακεντήσεις και ανατρήσεις
- ❖ εφαρμογές laser

- ❖ περιοχές δότριες δερματικών μοσχευμάτων
- ❖ ακρωτηριασμούς

Οξεία ή Φυσιολογική επούλωση τραύματος λαμβάνει χώρα όταν η επούλωση του τραυματισμένου ιστού «προχωρά» κανονικά, ομαλά και έγκαιρα και η διαδικασία της επιδιόρθωσης οδηγεί στην αποκατάσταση της ανατομικής και λειτουργικής ακεραιότητας (Lazarus et al., 1994).

Χρόνια επούλωση τραυμάτων επιτυγχάνεται όταν η επούλωση του τραυματισμένου ιστού που αδυνατεί να προχωρήσει ομαλά και έγκαιρα και η διαδικασία της αποκατάστασης της ανατομικής και λειτουργικής ακεραιότητας δεν έχει σταθερό και ανατομικά λειτουργικό αποτέλεσμα (Lazarus et al., 1994).

Η διάρκεια όπως και οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ των παραγόντων που συμμετέχουν στην διαδικασία της επούλωσης του τραύματος διαφέρουν για τα οξέα και χρόνια τραύματα, παρόλα αυτά οι βασικές φάσεις παραμένουν ίδιες (Diegelmann, 2004; Robson et al, 2001).

Τρόποι Επούλωσης

Σύμφωνα με τη μορφολογία των τραυμάτων η επούλωση της πληγής γίνεται με τους ακόλουθους τρόπους:

1.3.1. Επούλωση κατά πρώτο σκοπό (Wound healing by first intention)

Συμβαίνει όταν η πληγή έχει κλείσει κατά την διάρκεια 12-24 ωρών από την πρόκληση της (π.χ. χειρουργική τομή). Η προσέγγιση των χειλών του τραύματος δύναται να γίνει με τη βοήθεια ραμμάτων, κόλλας, ταινίας ή μηχανικής συσκευής. Η τομή προξενεί μόνο επιφανειακή διακοπή της συνέχειας της επιθηλιακής βασικής μεμβράνης, και θάνατο σχετικά λίγων επιθηλιακών και υποκείμενων κύτταρων του συνδετικού ιστού (Enoch και Leaper, 2007).

1.3.2Καθυστερημένη επούλωση κατά πρώτο σκοπό (Delayed primary healing) ή επούλωση κατά τρίτο σκοπό (Wound healing by tertiary intention)

Συμβαίνει σε μία μολυσμένη ή με ανώμαλα χείλη πληγή, η οποία κλείνει έπειτα από λίγες μέρες, έχοντας μείνει ανοιχτή με σκοπό οποιαδήποτε μόλυνση ή λοίμωξη ή νεκρός ιστός να

απομακρυνθεί (π.χ. δαγκώματα). Τα χείλη του τραύματος τότε προσεγγίζονται και η επούλωση πλέον πραγματοποιείται κατά πρώτο σκοπό (Enoch και Leaper, 2007; Beldon, 2010).

1.3.3.Επούλωση κατά δεύτερο σκοπό (Wound healing by second intention)

Αποτελεί τη διαδικασία που ακολουθούν τα τραύματα της κρυοχειρουργικής. Αναφέρεται σε πληγές που τα άκρα της πληγής, δεν μπορούν να προσεγγιστούν (π.χ. μεγάλα τραύματα, σοβαρά εγκαύματα, χειρουργικές επεμβάσεις). Η αναγέννηση των επιθηλιακών κυττάρων από μόνη της δεν είναι αρκετή, για να αποκαταστήσει την αρχική δομή του δέρματος, συνεπώς χρειάζεται η ανάπτυξη του κοκκιώδους ιστού από τα χείλη του τραύματος, και του συνδετικού ιστού του εξωκυττάριου υποστρώματος (extracellular matrix). Αυτές λοιπόν, οι ολικού πάχους πληγές, επουλώνονται διά μέσου επιθηλιοποίησης και ταυτόχρονης συστολής του τραύματος (Enoch και Leaper, 2007; Beldon, 2010).

1.3.4. Επούλωση των μερικού πάχους τραυμάτων (Wound healing of partial - thickness wounds)

Πραγματοποιείται σε τραυματισμούς, όπως επιφανειακά εγκαύματα ή εκδορές. Σε αυτά, η βλάβη εντοπίζεται στο επιθήλιο και το επιφανειακό (θηλώδες) μέρος του χορίου. Η βασική στιβάδα είναι ατραυματίστη, ενώ επιθηλιακά κύτταρα σε συνδυασμό με τα δερματικά εξαρτήματα, όπως τους θύλακες των τριχών και των σμηγματογόνων αδένων πολλαπλασιάζονται με σκοπό να επουλώσουν το εκτεθειμένο χόριο. Η επούλωση γίνεται μέσω επιθηλιοποίησης. Η ανατομική και η φυσιολογική αποκατάσταση της βλάβης θεωρούνται σχεδόν πλήρεις (Enoch και Leaper, 2007).

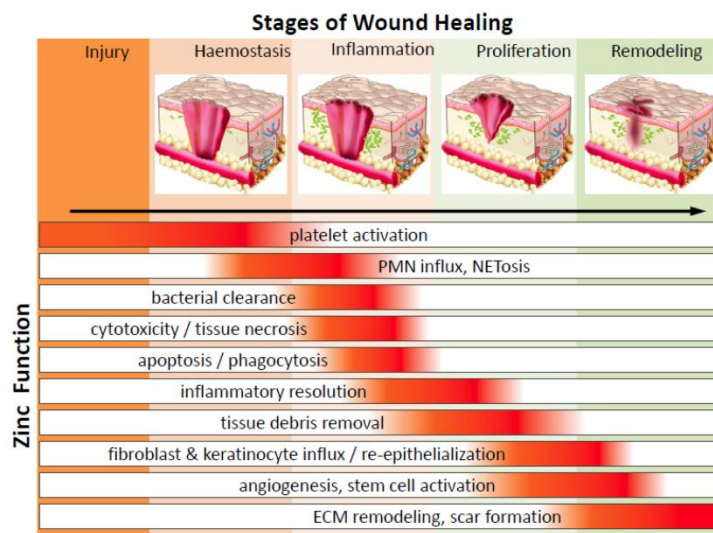
1.3.5. Μηχανισμοί της επούλωσης

Η επούλωση ελκών αποτελεί μία δυναμική, διαδραστική διαδικασία, η οποία πραγματοποιείται μέσω αρκετών μεσολαβητών, όπως κύτταρα του αίματος, συστατικά της εξωκυττάριας μήτρας (ECM) και παρεγχυματικά κύτταρα. Η διαδικασία της επούλωσης γίνεται σε τρεις φάσεις:

1. Η φάση της αιμόστασης και της οξείας φλεγμονής
2. Η φάση σχηματισμού του ιστού στην οποία λαμβάνουν χώρα:
 - η κυτταρική μετανάστευση και δημιουργία κοκκιώδους και συνδετικού ιστού
 - η αγγειογένεση
 - η επιθηλιοποίηση
 - η συστολή ή συρρίκνωση του τραύματος
3. Η φάση αναδιαμόρφωσης του ιστού (ανακατανομή του κολλαγόνου-αναδιαμόρφωση των ιστών)

Σε χρονικό επίπεδο, οι φάσεις αυτές εκτυλίσσονται συγχρόνως, χωρίς να απαιτείται η ολοκλήρωση της προηγούμενης για την αρχή της επόμενης. Συνολικά, η διαδικασία είναι δυναμικά εξελισσόμενη και η κάθε φάση επικαλύπτεται από την άλλη.

Η πρώτη περίοδος ξεκινά αμέσως μετά τον τραυματισμό στα πρώτα δυο 24ωρα θα μπορούσε να χαρακτηριστεί ως αρχική. Η επόμενη, η οποία διαρκεί μερικές μέρες, ως ενδιάμεση, η επόμενη ως όψιμη και η τελική, που διαρκεί μεγάλο χρονικό διάστημα και ξεπερνά τους 12 μήνες.



Εικόνα 6 Σχηματική απεικόνιση των φάσεων της επουλωτικής διαδικασίας (Wang et. al., 2013)

1.3.6. Φάση αιμόστασης και φλεγμονής

Η αιμορραγία που δημιουργείται κατά την πρόκληση του τραύματος δεν γίνεται μόνο για το ξέπλυμα της πληγής από διάφορους μικροοργανισμούς και αντιγόνα, αλλά ταυτόχρονα

ενεργοποιεί και την αιμόσταση. Τα αιμοπετάλια προσκολλώνται στα αιμοφόρα αγγεία και το εκτεθειμένο κολλαγόνο στην εξωκυττάρια μήτρα (ECM) μέσω της ροής του αίματος από την περιοχή του έλκους. Με αυτόν τον τρόπο ενεργοποιούνται τα αιμοπετάλια, ώστε να απελευθερωθούν κυτοκίνες, αυξητικοί παράγοντες και πολλοί προφλεγμονώδεις μεσολαβητές που προκύπτουν από την συσσωμάτωση των αιμοπεταλίων με την πρόκληση του καταρράκτη πήξης, που οδηγεί στον σχηματισμό ινώδους (Beldon, 2010). Τα αιμοπετάλια εγκλωβίζονται στον ιώδη θρόμβο με αποτέλεσμα να αυξάνεται ο όγκος, καθώς σχηματίζουν μία μεμβράνη στην οποία ενεργοποιούνται πηκτικά ένζυμα και προάγεται η διαδικασία της πήξης (Menke και Diegelmann, 2006).

Η φλεγμονή χαρακτηρίζεται ως η πρώτη φυσιολογική απάντηση του οργανισμού στο τραύμα και δείχνει την αντίδραση του πέριξ αγγειοβριθούς ιστού. Εμφανίζεται σε όλα τα τραύματα ανεξαρτήτως αιτιολογίας και διαρκεί 1-4 ημέρες.

Η τοπική εκδήλωση της φλεγμονής γίνεται αντιληπτή με την εμφάνιση οιδήματος, άλγους, ερυθρότητας και αύξησης θερμοκρασίας. Αποτελεί απόρροια κυρίως των παρακάτω μηχανισμών:

i. Αντιδραστική αγγειοσύσπαση που διαρκεί από μερικά δευτερόλεπτα έως μερικά λεπτά. Έπεται η επίσχεση της αιμορραγίας με κατακρήμνιση αιμοπεταλίων και δημιουργία θρόμβων, αρχικά από αιμοπετάλια και στη συνέχεια από ίνες κολλαγόνου και ερυθρά αιμοσφαίρια που παγιδεύονται στο δίκτυο της ινικής.

ii. Αγγειοδιαστολή. Γίνεται μέσω της έκλυσης ισταμίνης και σεροτονίνης από τα ενδοθηλιακά κύτταρα της βασικής μεμβράνης των αγγείων όπως και από τους σωρούς των αιμοπεταλίων. Ακολουθεί η πρόκληση οιδήματος εξ αιτίας της αύξησης της διαπερατότητας του τοιχώματος των αγγείων και διαπύδσης υγρού στον εξωαγγειακό χώρο. Η διαδικασία αυτή επιτείνεται από την ενζυμική διάσπαση της νοραδρεναλίνης, μίας ουσίας η οποία είναι υπεύθυνη για την διατήρηση του τόνου των αγγείων. Ακόμη, ενεργοποιείται το σύστημα καλικρεΐνης-κινινών από τα πρωτεολυτικά ένζυμα, τα οποία παράγονται από τις μεμβράνες των κατεστραμμένων κυττάρων στην περιοχή του τραύματος, προκαλώντας περαιτέρω αύξηση της διαπερατότητας των τριχοειδών και επίταση του τοπικού οιδήματος. Στην τραυματική επιφάνεια που αιμορραγεί, το αίμα έρχεται σε επαφή με το κολλαγόνο, ενεργοποιώντας τον παράγοντα Hageman, που ακολούθως κινητοποιεί τα αιμοπετάλια (Carrico et al., 1984; Wahl et al., 1974). Από τα αιμοπετάλια που συσσωρεύονται στην περιοχή εκκρίνονται στον εξωκυττάριο χώρο ουσίες που επηρεάζουν την επούλωση, όπως οι προσταγλανδίνες που επιδρούν στα λευκοκύτταρα, οι θρομβοξάνες που ευθύνονται για την αγγειοσύσπαση, βιογενείς αμίνες που αυξάνουν τον τόνο και τη διαπερατότητα των αγγείων και χημειοτακτικοί παράγοντες όπως οι αυξητικοί παράγοντες (Knighton, 1982; Lord et al., 1980; Gillitzer και Goebeler, 2001; Yamaguchi και Yoshikawa, 2001; Munster, 1984; Feliciani et al., 1996).

iii. Κυτταρικής διήθηση, η οποία συνεπάγεται την εισβολή κυττάρων στον αγγειοβριθή συνδετικό ιστό της τραυματικής περιοχής. Η ταχεία κινητοποίηση των λευκοκυττάρων προς την τραυματική περιοχή ελέγχεται από το σύστημα των χημειοκινών. Η ιντερλευκίνη IL-8 και ο αυξητικός παράγοντας GRO (growth related oncogene) κινητοποιούν και στέλνουν τα ουδετερόφιλα στην περιοχή του τραύματος. Η μετανάστευση των μακροφάγων προάγεται από την πρωτεΐνη MCP-2 (monocyte chemoattractant protein-1). Έπειτα, τα λεμφοκύτταρα συρρέουν προς την τραυματική επιφάνεια, υπό την επίδραση των πρωτεϊνών IP-10 (gamma interferon inducible protein-1) και MIG (monokine induced by interferon-gamma) (Yamaguchi και Yoshikawa, 2001; Munster, 1984; Feliciani et al., 1996)

iv. Τα ουδετερόφιλα συρρέουν τις πρώτες 6-12 ώρες στο σημείο της βλάβης και εγκλωβίζουν τα ξένα σώματα όπως και τα κατεστραμμένα κύτταρα, ενώ παράγουν υδρολυτικά ένζυμα, τα οποία αποδομούν τα κατεστραμμένα κύτταρα. Έχει αποδειχθεί, ότι τα ουδετερόφιλα πολυμορφοπύρρηνα διηθούν σχετικά υγρά τραύματα, αντίθετα σε ξηρό περιβάλλον η αντιμικροβιακή τους δράση περιορίζεται. (Gillitzer και Goebeler, 2001; Yamaguchi και Yoshikawa, 2001).

Πίνακας 13 Οι κυρότεροι μεσολαβητές και ο ρόλος τους στην επούλωση του τραύματος (Li et. al., 2007)

Μεσολαβητής	Χημειοταξία	Δράση στα αγγεία			Άλλες δράσεις	Κύρια προέλευση
		Συστολή	Διαστολή	Διαπερατότητα		
Αγγειοδραστικές αμίνες						
ισταμίνη			+	+		αιμοπετάλια, μαστοκύτταρα και βασεόφιλα
σεροτονίνη	+					αιμοπετάλια, μαστοκύτταρα
Πρωτεάσες του πλάσματος						
βραδυκινίνη			+	+	πόνος	πρωτεΐνη πλάσματος
συμπλήρωμα	+		+	+		πρωτεΐνη πλάσματος και μακροφάγα
Σύστημα πήξης						
παράγοντας Hageman				+	πήξη	πρωτεΐνη πλάσματος
ινοπεπτιδία	+			+		πρωτεΐνη πλάσματος
παράγοντας XIIIa				+		πρωτεΐνη πλάσματος
ηπαρίνη					αντιπηκτική δράση και ινωδόλυση	μαστοκύτταρα
PAF	+		+	+		λευκοκύτταρα
μεσολαβητές αιμοπεταλίων	+	+			πήξη	αιμοπετάλια
Μεταβολίτες του αραχιδονικού οξέος						
PGs	+		+		πόνος και πυρετός	φωσφολιπίδια μεμβρανών
LTs	+	+		+		λευκοκύτταρα και φωσφολιπίδια μεμβρανών
Ελεύθερες ρίζες						
μεταβολίτες O ₂		+		+	καταστροφή ενδοθηλίου και ιστών	λευκοκύτταρα
NO			+		ιστική καταστροφή	μακροφάγα και ενδοθήλιο
Κυτοκίνες						
ILs, TNF	+					μακροφάγα
PDGF, TGF-β	+					αιμοπετάλια και μακροφάγα

Τα μονοκύτταρα επάγουν ανοσολογικές αντιδράσεις τις επόμενες 24-48 ώρες. Είναι τα κύτταρα που συντελούν στο μέγιστο βαθμό στην διαδικασία της επούλωσης. Μόλις ενεργοποιηθούν εκκρίνουν μονοκίνες, όπως και βιολογικούς μεσολαβητές π.χ. αυξητικούς παράγοντες PDGF (Platelet derived growth factor), TNF α (Tumor necrosis factor α), TGF (transforming growth factor) καθώς και IGF 1 (insulin growth factor 1). Αυτοί προάγουν την σύνθεση νέου κολλαγόνου αλλά και την αγγειογένεση. Τα μαστοκύτταρα καταφθάνουν ταυτόχρονα με τα μακροφάγα και απελευθερώνουν πολυσακχαρίτες και ένζυμα όπως ηπαρίνη, ισταμίνη και υδρολάσες, που υποβοηθούν στην αποδόμηση και στην απομάκρυνση

κατεστραμμένων ιστών (Gillitzer και Goebeler, 2001; Artuc, 1999). Τα δενδριτικά Τ-λεμφοκύτταρα της επιδερμίδας πιθανολογείται ότι παίζουν ρόλο στην επούλωση του τραύματος, με την αναγνώριση των αντιγόνων από τα κατεστραμμένα κερατινοκύτταρα και στην συνέχεια με την παραγωγή αυξητικών παραγόντων των κερατινοκυττάρων (KGFs) και χημειοκινών (chemokines) (Gillitzer και Goebeler, 2001; Jacinto et al., 2001).

1.3.7. Φάση σχηματισμού του ιστού

Η φάση αυτή ξεκινάει 2 ημέρες μετά τον τραυματισμό και έχει διάρκεια έως και 3 εβδομάδες για τα τραύματα που επουλώνονται κατά πρώτο σκοπό. Κατά τον σχηματισμό του ιστού σηματοδοτούνται 4 λειτουργίες: η επιθηλιοποίηση, η νεοαγγειογένεση, η σύνθεση κολλαγόνου και η συρρίκνωση του τραύματος, οι οποίες εκτυλλίσονται παράλληλα.

Η επιθηλιοποίηση αποτελεί την αναγέννηση των στιβάδων του δέρματος. Αρχίζει από τα όρια του τραύματος και από τα επιθηλιακά στοιχεία των εξαρτημάτων του δέρματος στο χόριο. Τα κύτταρα της βασικής στιβάδας της επιδερμίδας, τα οποία σε αυτή τη φάση είναι ενεργοποιημένα φαγοκύτταρα, μεταναστεύουν κυρίως με σύστημα μικροινιδίων πολλαπλασιάζονται και διαφοροποιούνται (Feliciani et al., 1996; Jacinto et al., 2001). Όταν συνυπάρχει ιστικό έλλειμμα και έχει σχηματισθεί εσχάρα καθώς το έλκος εμφανίζει ξηρότητα, τότε θα αναπτυχθεί επιθήλιο μόνο όπου οι τοπικές συνθήκες είναι ικανές να υποστηρίξουν και να θρέψουν τα επιθηλιακά κύτταρα, ενώ όταν το τραύμα βρίσκεται σε συνθήκες ελεγχόμενης υγρασίας και δεν είναι εκτεθειμένο, τα επιθηλιακά κύτταρα καλύπτουν πλήρως και απρόσκοπτα την περιοχή του τραύματος και σε συντομότερο χρονικό διάστημα (Gillitzer και Goebeler, 2001; Yamaguchi και Yoshikawa, 2001).

Η νεοαγγειογένεση αποτελεί μία διαδικασία πολύπλοκη, κατά την οποία τα μακροφάγα απελευθερώνουν χημειοτακτικούς παράγοντες, που προάγουν την μετανάστευση μυοϊνοβλαστών στο τραύμα, αλλά και αυξητικούς παράγοντες που προάγουν τη δημιουργία νεόπλαστων αγγείων, τα οποία έπειτα διαφοροποιούνται σε αρτηρίδια και φλεβίδια (Ruszczak και Schwartz, 2000; Gillitzer και Goebeler, 2001; Munster, 1984).

Το κολλαγόνο παράγεται από τους ινοβλάστες, οι οποίοι πολλαπλασιάζονται στην τραυματική περιοχή αμέσως μετά τη φάση της φλεγμονής, υπό την επίδραση αυξητικών παραγόντων που εκκρίνονται από τα αιμοπετάλια και τα μακροφάγα. Οι ινοβλάστες είναι τα βασικά κύτταρα για την παραγωγή της θεμέλιας ουσίας. Εκτός από κολλαγόνο, παράγουν και άλλες ουσίες όπως: τενασίνη, ινωδονεκτίνη και πρωτεογλυκάνες. Κλινικά, η παραγωγή της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας εμφανίζεται ως σχηματισμός του κοκκιώδους ιστού. Παράλληλα, στην τραυματική περιοχή συμμετέχουν και άτυποι ινοβλάστες, οι μυοϊνοβλάστες, οι οποίοι συνδυάζουν δομή και ιδιότητες ινοβλαστών αλλά και λείων μυϊκών

κυττάρων. Ευθύνονται για την παραγωγή κολλαγόνου, αλλά και για την συρρίκνωση της ουλής.

Οι αυξημένες μεταβολικές ανάγκες του τραυματικού ιστού σε συνδυασμό με την ανεπαρκή αιμάτωσή του, συνεπάγονται τοπική μεταβολική οξέωση και συγκέντρωση γαλακτικού οξέος. Αυτό σηματοδοτεί την έναρξη για την παραγωγή κολλαγόνου από τους ινοβλάστες. (Knighiton, 1983; Montagnani et al., 2001; Leibovich και Ross, 1976)

Αρχικά, το κολλαγόνο παράγεται ως ενδοκυττάρια μακρομοριακή πρωτεΐνη, το προ - κολλαγόνο, το οποίο περιέχει προλίνη και λυσίνη. Ακολουθεί ενδοκυττάρια υδροξυλίωση της προλίνης και της λυσίνης με την καταλυτική δράση της βιταμίνης C και στη συνέχεια εξωκυττάρια έκκριση κολλαγόνου. Πέρα από τη βιταμίνη C, απαραίτητα για τον πολυμερισμό του κολλαγόνου είναι ο χαλκός, η πυριδοξίνη και το οξυγόνο. Αρχικά, στο τραύμα συντίθεται περισσότερο ο τύπος III κολλαγόνου (Enquist και Adamson, 1965; Tanzer, 1973).

Κατά τη σύνθεση της νέας εξωκυττάριας ουσίας, η ήδη υπάρχουσα στην επιφάνεια και στα χείλη του έλκους αποσυντίθεται από διάφορα ένζυμα, όπως οι μεταλλοπρωτεϊνάσες της θεμέλιας ουσίας (matrix metalloproteinases-MMPs) και οι ενεργοποιητές του πλασμινογόνου.

Ιδιαίτερο ενδιαφέρον πιθανολογείται να εμφανίζει ο ρόλος των MMPs, μιας ομάδας που περιλαμβάνει περισσότερα από 14 ένζυμα με πρωτεολυτική δράση, που εκκρίνονται αρχικά ως προένζυμα, σταθεροποιούνται από ιόντα ασβεστίου, ενώ αναστέλλονται από ιστικούς αναστολείς (Tissue inhibitors – TIMMPs).

Οι ιστικοί αναστολείς διαφαίνονται ιδιαίτερα σημαντικοί για την επούλωση των τραυμάτων , διότι θέτουν σε όριο την υπέρμετρη αποδόμηση της εξωκυττάριας ουσίας (Saarialho-Kerre, 1997).

Στην αρχή της φάσης της κυτταρικής διήθησης, η σύνθεση του κολλαγόνου εξελίσσεται παράλληλα με την αποδόμηση του. Όταν γίνεται ινοδόλυση σε μεγάλο βαθμό ή ελαττωμένη ινοπλασία δύναται να οδηγήσουν σε διάσπαση του τραύματος. Λόγω του ότι οι ινοβλάστες εισχωρούν βαθύτερα στο έλκος, η ινοδόλυση είναι μεγαλύτερη και η εναπόθεση κολλαγόνου εντονότερη (Enquist και Adamson, 1965).

Η συρρίκνωση ή συστολή του τραύματος είναι μια λειτουργία κατά την οποία ανοικτά τραύματα του δέρματος συρρικνώνονται και επουλώνονται αυτόματα. Ο πρώτος που περιέγραψε την παρατήρηση ότι ο φυσιολογικός ιστός από τα χείλη του τραύματος έλκεται αυτόματα προς την ανοικτή τραυματική επιφάνεια, έτσι ώστε να πραγματοποιηθεί επούλωση ήταν ο J. Hunter. Με αυτό τον τρόπο, μεγάλα ελλείματα στον αυχένα και σε άλλες περιοχές

που το δέρμα είναι χαλαρό, κλείνουν πλήρως με συρρίκνωση, ενώ σε άλλες ανατομικές περιοχές όπου υπάρχει σχετική τάση του δέρματος, η λειτουργία της συρρίκνωσης δεν είναι τόσο έντονη.

Η συρρίκνωση του τραύματος διαφέρει ως διεργασία από την συρρίκνωση της ουλής, που ελαττώνει την κινητικότητα των ιστών γύρω από την σχηματισμένη ουλή. Η συρρίκνωση του τραύματος έγκειται στους μυοϊνοβλάστες, οι οποίοι διαθέτουν σύστημα μικροινιδίων και μικροσωληναρίων, όπως τα κύτταρα των λείων μυϊκών ινών. Η συρρίκνωση αναστέλλεται από την κορτιζόνη και από την επικάλυψη με ολικού ή μερικού πάχους μοσχεύματα (Snowden et al., 1984).

1.3.8. Φάση αναδιαμόρφωσης του ιστού

Η αναδιαμορφωτική φάση είναι η τελική και ευθύνεται, για την ανάπτυξη του νέου επιθηλίου και του τελικού σχηματισμού της ουλής. Η σύνθεση του εξωκυττάριου υποστρώματος στην φάση σχηματισμού και αναδιαμόρφωσης γίνεται ταυτόχρονα με την δημιουργία του κοκκιώδους ιστού. Μπορεί να διαρκέσει μέχρι και 1 ή 2 χρόνια, ή μερικές φορές και ακόμα περισσότερο (Witte και Barbul, 1997; Samuels και Tan, 1999). Η αναδιαμόρφωση της πληγής ελέγχεται από ρυθμιστικούς μηχανισμούς, για την διατήρηση ισορροπίας μεταξύ της καταστροφής και της σύνθεσης με αποτέλεσμα την κανονική επούλωση.

Ιδιαίτερα εξαρτάται από την ενδοκυτταρική ωρίμανση του υποστρώματος, την αύξηση της διαμέτρου των δεσμών κολλαγόνου και την καταστροφή του υαλουρονικού οξέος και της φιμπρονεκτίνης (Hunt, 1998; Baum και Arpey, 2005). Η μηχανική αντοχή του τραύματος αυξάνεται προοδευτικά λόγω της εναπόθεσης κολλαγόνου (Baum και Arpey, 2005; Clark, 1993). Οι ίνες κολλαγόνου μπορούν να ανακτήσουν περίπου το 80% της αρχικής αντοχής σε σύγκριση με μη τραυματισμένο ιστό. Η αποκτηθείσα τελική αντοχή διαμορφώνεται από την εντόπιση της επισκευής και τη διάρκειά της, ωστόσο η αρχική αντοχή του ιστού δεν μπορεί να ξαναποκτηθεί (Robson et al., 2001; Clark, 1993).

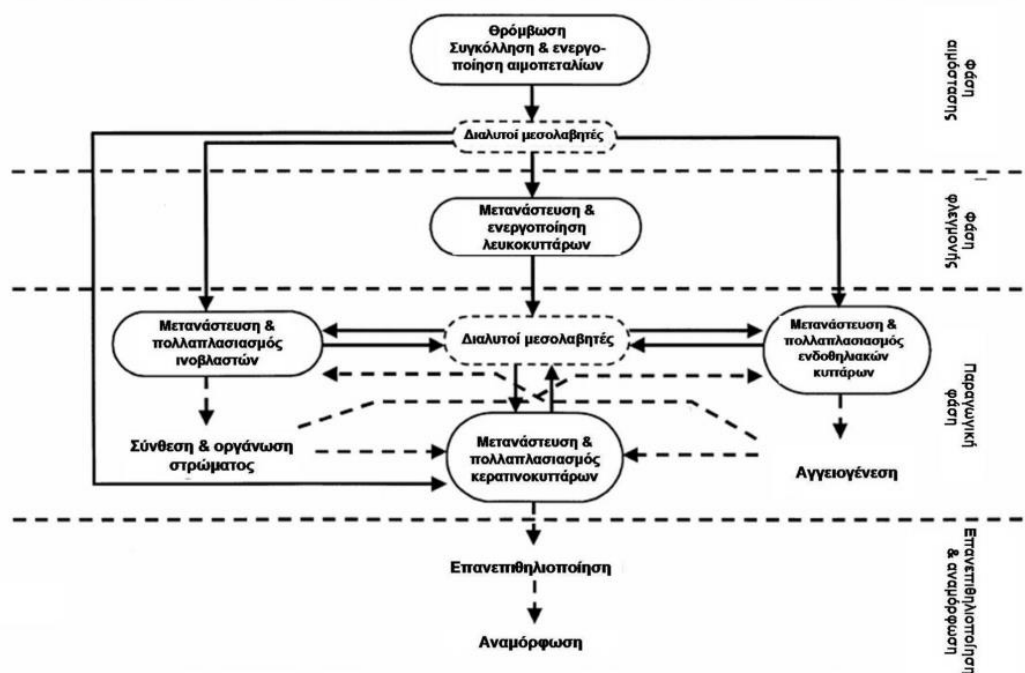
Η σύνθεση του κολλαγόνου, όπως και η αναδιαμόρφωση του εξωκυττάριου υποστρώματος τείνουν να σταθεροποιηθούν σε χρονικό διάστημα τριών εβδομάδων, μετά τον τραυματισμό (Ennis και Meneses, 2000; Szycher και Lee, 1992). Ένζυμα μεταλλοπρωτεϊνών τα οποία παράγονται από ουδετερόφιλα, μακροφάγα και ινοβλάστες στην πληγή δρουν με σκοπό την αποικοδόμηση του κολλαγόνου. Η δράση τους είναι καθορισμένη. (Velnar et al., 2009).

Σταδιακά, η δραστηριότητα των αναστολέων των μεταλλοπρωτεϊνών αυξάνεται, με αποτέλεσμα να ελαχιστοποιείται η δραστηριότητα των μεταλλοπρωτεϊνών, προωθώντας τη συσσώρευση νέου υποστρώματος (Toy, 2005; Clark, 1993; Mulder και Vande Berg, 2002).

Αν και η αρχική εναπόθεση των δεσμών κολλαγόνου είναι εξαιρετικά αποδιοργανωμένη, η διαμόρφωση του νέου κολλαγόνου του υποστρώματος γίνεται όλο και πιο προσανατολισμένη και διασταυρούμενη με τη πάροδο του χρόνου (Velnar et al., 2009). Το κολλαγόνο τύπου III, το οποίο είχε παραχθεί στην φάση σχηματισμού του ιστού, έχει πλέον αντικατασταθεί από το ισχυρότερο κολλαγόνο I (Gurtner και Evans, 2000). Ακολούθως, οι μυοϊνοβλάστες προκαλούν συσπάσεις στην πληγή και πολλαπλές προσκολλήσεις στο κολλαγόνο ώστε να επέλθει η μείωση της επιφάνειας της ουλής (Tziotzios et al., 2012; Profyris et al., 2012; Gurtner και Evans, 2000).

Η πληγή καθώς επουλώνεται, η πυκνότητα των ινοβλαστών και των μακροφάγων μειώνεται σταδιακά ακόμη περισσότερο μέσω απόπτωσης (Greenhalgh, 1998; Ganz, 1993). Με την πάροδο του χρόνου, η ανάπτυξη των τριχοειδών σταματά, η ροή του αίματος στην περιοχή μειώνεται και η μεταβολική δραστηριότητα στην περιοχή της προϋπάρχουσας πληγής ελαττώνεται (Baum και Arpey, 2005; Clark, 1993; Falanga, 1998). Το τελικό αποτέλεσμα είναι μια πλήρως ώριμη ουλή με μειωμένο αριθμό κυττάρων και αυξημένη αντοχή (Reinke και Sorg, 2012).

Αντίθετα από την επούλωση των τραυμάτων στα έμβρυα, στους ενήλικες ορισμένα δερματικά συστατικά ποτέ δεν θα ανακάμψουν πλήρως μετά το κλείσιμο της πληγής. Υποδερμικά προσαρτήματα όπως τριχοθυλάκια ή ιδρωτοποιείς αδένες δεν έχουν καμία δυνατότητα να θεραπευτούν ή να αναπτυχθούν ξανά μετά από σοβαρό τραυματισμό. Η επιδερμίδα της προκύπτουσας ουλής μετά την επούλωση της πληγής παρουσιάζει διαφορές σε σχέση με την φυσιολογική. Αυτό οφείλεται κυρίως στην έλλειψη προεξοχών που συνδέονται με τον υποκείμενο συνδετικό ιστό και είναι απαραίτητες για την σφικτή σύνδεση της επιδερμίδας με το χόριο (Robson et al., 2001).



Εικόνα 7 Σχηματική αναπαράσταση των μηχανισμών που ενεργοποιούνται στις διάφορες φάσεις της επούλωσης ενός τραύματος (Zielins, 2015)

1.4 Παράγοντες που επιδρούν στην επούλωση

Η επουλωτική διαδικασία επηρεάζεται από διάφορους παράγοντες, οι οποίοι μπορεί να την επηρεάσουν είτε ενισχύοντας είτε επιβραδύνοντας την επούλωση. Ακόμη δύναται να προκύψει μειωμένη μηχανική σταθερότητα της ουλής ή και δύσμορφες ουλές. Η κατανόηση της επιρροής αυτών των παραγόντων στην επούλωση μπορεί να οδηγήσει σε θεραπείες οι οποίες θα τη βελτιώσουν και θα λύσουν το πρόβλημα της εξασθενημένης επούλωσης. Οι παράγοντες αυτοί μπορούν να διαιρεθούν σε τοπικοί και συστηματικοί. Τοπικοί ονομάζονται οι παράγοντες που επηρεάζουν άμεσα τα χαρακτηριστικά του έλκους, ενώ οι συστηματικοί παράγοντες αφορούν τη γενική κατάσταση υγείας του ασθενή που επηρεάζει την επουλωτική διαδικασία (Guo S. et Di Pietro, 2010).

1.4.1. Τοπικοί παράγοντες

1.4.1.1. Οξυγόνωση

Το οξυγόνο διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στον μεταβολισμό των κυττάρων (παραγωγή ενέργειας μέσω του ATP) και ευθύνεται για όλες σχεδόν τις διεργασίες επούλωσης των ελκών. Προλαμβάνει τις πληγές από μόλυνση, προκαλεί αγγειογένεση, αυξάνει τη διαφοροποίηση και μετανάστευση των κερατινοκυττάρων, και συντελεί στην επιθηλιοποίηση, ενισχύει τον πολλαπλασιασμό των ινοβλαστών και τη σύνθεση κολλαγόνου και προάγει τη συστολή του τραύματος (Bishop, 2008, Rodriguez et al., 2008). Τα τραύματα

εμφανίζουν αγγειακές διαταραχές και υψηλή κατανάλωση οξυγόνου από μεταβολικά ενεργά κύτταρα, το μικροπεριβάλλον της πρώιμης πληγής εξαντλείται από οξυγόνο και είναι αρκετά υποξικό. Αρκετές συστηματικές καταστάσεις, συμπεριλαμβανομένης της προχωρημένης ηλικίας και του διαβήτη, μπορούν να δημιουργήσουν βλάβη της αγγειακής ροής, προκαλώντας κακή οξυγόνωση των ιστών. Οι τάσεις οξυγόνου που έχουν μετρηθεί διαδερμικά σε χρόνιες πληγές ποικίλουν από 5 έως 20 mm Hg, σε αντίθεση με τις φυσιολογικές τιμές που κυμαίνονται από 30 έως 50 mm Hg (Tandara και Mustoe, 2004).

Όταν η οξυγόνωση δεν αποκαθίσταται, η επούλωση εξασθενεί. Η προσωρινή υποξία μετά από τραυματισμό βοηθά στην επούλωση, αλλά η παρατεταμένη ή η χρόνια υποξία καθυστερεί την επούλωση πληγών (Bishop, 2008, Rodriguez et al., 2008). Στις οξείες πληγές, η υποξία αποτελεί ένα σήμα που διεγείρει πολλές πτυχές της επουλωτικής διαδικασίας, καθώς μπορεί να προκαλέσει την παραγωγή κυτοκίνης και αυξητικού παράγοντα από μακροφάγα, κερατινοκύτταρα και ινοβλάστες. Οι κυτταροκίνες που παράγονται ως απάντηση στην υποξία περιλαμβάνουν PDGF, TOP-β, VEGF, παράγοντα νέκρωσης όγκων-α (TNF-α) και είναι σημαντικοί προαγωγοί του κυτταρικού πολλαπλασιασμού, της χημειοταξίας και της αγγειογένεσης κατά την επούλωση πληγών (Rodriguez et al., 2008).

Όταν ακολουθείται η φυσιολογική διαδικασία της επούλωσης, οι ενεργές μορφές οξυγόνου (ROS), όπως το υπεροξειδίο του υδρογόνου (H₂O₂) και το υπεροξείδιο (O₂), θεωρείται ότι δρουν ως κυτταρικοί αγγελιοφόροι διεγείροντας τις βασικές διεργασίες που σχετίζονται με την επούλωση, συμπεριλαμβανομένης της κινητικότητας των κυττάρων, της δράσης της κυτοκίνης, αλλά και της αγγειογένεσης. Τόσο η υποξία όσο και η υπεροξία αυξάνουν την παραγωγή ROS, όμως ένα αρκετά αυξημένο επίπεδο αυτών ξεπερνά το ευεργετικό αποτέλεσμα και προκαλεί πρόσθετη βλάβη των ιστών (Rodriguez et al., 2008).

Επομένως, η υποξία διεγείρει την επούλωση των πληγών μέσω διεργασιών όπως η απελευθέρωση αυξητικών παραγόντων και η αγγειογένεση, ωστόσο το οξυγόνο είναι απαραίτητος παράγοντας για τη διατήρηση της διαδικασίας επούλωσης (Bishop, 2008).

1.4.1.2. Μόλυνση

Μόλις δημιουργείται μία ασυνέχεια στο δέρμα, οι μικροοργανισμοί που βρίσκονται φυσιολογικά στην επιφάνεια του δέρματος αποκτούν πρόσβαση στους υποκείμενους ιστούς. Η κατάσταση της λοίμωξης και του πολλαπλασιασμού των μικροοργανισμών καθορίζει εάν το τραύμα θα ταξινομηθεί ως έχον μόλυνση, αποικισμό, τοπική λοίμωξη ή κρίσιμο αποικισμό και διεισδυτική λοίμωξη. Η μόλυνση είναι η παρουσία μη πολλαπλασιαζόμενων μικροοργανισμών σε ένα τραύμα, ενώ ο αποικισμός ορίζεται ως η παρουσία πολλαπλασιαζόμενων μικροοργανισμών, χωρίς όμως την πρόκληση βλάβης του ιστού. Η

τοπική μόλυνση ή ο κρίσιμος αποικισμός είναι ένα ενδιάμεσο στάδιο, με πολλαπλασιασμό μικροοργανισμών και έναρξη τοπικής απόκρισης του ιστού. Η διεισδυτική λοίμωξη αποτελεί την παρουσία πολλαπλασιαζόμενων μικροοργανισμών στο έλκος με επακόλουθη πρόκληση βλάβης του ξενιστή (Edwards και Harding, 2004).

Η φλεγμονή, ως διεργασία αποτελεί ένα φυσιολογικό στάδιο για την επούλωση και παίζει πρωταρχικό ρόλο για την απομάκρυνση των μολυσματικών μικροοργανισμών. Όμως αν δεν υπάρχει αποτελεσματική αντισηψία, η φλεγμονή μπορεί να διαρκέσει παραπάνω, καθώς η μικροβιακή κάθαρση δεν είναι αρκετή.

Τα βακτηρίδια και οι ενδοτοξίνες μπορούν να οδηγήσουν στην παρατεταμένη αύξηση των προ-φλεγμονωδών κυτοκινών όπως η ιντερλευκίνη1 (IL-1) και του TNF-α και να επιμηκύνουν τη φλεγμονώδη φάση. Αν αυτό συνεχιστεί, η πληγή μπορεί να εισέλθει σε χρόνια κατάσταση και να μην προχωρήσει η επουλωτική διαδικασία. Αυτή η παρατεταμένη φλεγμονή οδηγεί επίσης σε αυξημένο επίπεδο μεταλλοπρωτεϊνών της εξωκυττάριας μήτρας (MMPs). Σε συνδυασμό με την αυξημένη περιεκτικότητα σε πρωτεάσες παρατηρείται ελλειπεί εντόπιση των αναστολέων πρωτεϊνών, έχοντας ως απόρροια να προκαλείται ανισορροπία. Αυτό μπορεί να συνεπάγεται ταχεία αλλοίωση των αυξητικών παραγόντων που εμφανίζονται σε χρόνιες πληγές (Edwards και Harding, 2004, Menke et al., 2007). Τα βακτήρια σε μολυσμένα έλκη έχουν την ικανότητα να εμφανίζονται και με τη μορφή βιοϋμενίου (biofilm). Το βιοϋμένιο αποτελεί μια σύνθετη κοινότητα συσσωματωμένων βακτηρίων που είναι ενσωματωμένα σε μια αυτοεκκρινόμενη μήτρα εξωκυττάριου πολυσακχαρίτη (Extracellular polysaccharide matrix) (Edwards και Harding, 2004). Τα ώριμα βιοϋμένια αναπτύσσουν ένα καλά προστατευμένο μικροπεριβάλλον και χαρακτηρίζονται από ισχυρή αντοχή έναντι στη συμβατική θεραπεία με αντιβιοτικά. Τα *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), *Pseudomonas aeruginosa* (*P. Aeruginosa*) και ο β-αιμολυτικός στρεπτόκοκκος είναι τα πιο κοινά βακτηρίδια σε μολυσμένα και κλινικά μη μολυσμένα έλκη (Edwards και Harding, 2004, Davis et al., 2008).

1.4.1.3. Μικροκλίμα του δέρματος

Με τον όρο μικροκλίμα δέρματος γίνεται αναφορά στη θερμοκρασία και υγρασία στην επιφάνεια του δέρματος. Η θερμοκρασία και η υγρασία διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στη δομή και τη λειτουργία της επιδερμίδας αυξάνοντας ή μειώνοντας πιθανά όρια βλάβης για το δέρμα και τους υποκείμενους μαλακούς ιστούς. Από την προοπτική της έρευνας για την πρόληψη ελκών, οι επιδράσεις της υγρασίας και της θερμοκρασίας δίπλα στην επιφάνεια του δέρματος είναι συνδεδεμένες με την παράλληλη παραμόρφωση του μαλακού ιστού. Το δέρμα συνιστάται να διατηρείται στεγνό και δροσερό. Η κεράτινη στιβάδα για να εξασφαλίζει την υγεία του δέρματος, πρέπει να αποτρέπει από υπερβολική υγρασία ή από την ξήρανση,

αλλά δεν είναι γνωστές οι ακριβείς σειρές ενός αποδεκτού μικροκλίματος. (Jan Kottner et al,2018). Το επίπεδο ενυδάτωσης του έλκους πρέπει να διατηρείται υψηλό καθώς η αφυδάτωση συνεπάγεται κυτταρικό θάνατο. Η αγγειογένεση όπως και η δράση διαφόρων κυττάρων π.χ. τα ουδετερόφιλα, τα μακροφάγα και οι ινοβλάστες χρειάζονται ενυδατωμένο περιβάλλον για την λειτουργία τους (Hamiorwitz,1997).

Αντίθετα, η υπερενυδάτωση της επιδερμίδας δημιουργεί μια χημική ή φλεγμονώδη απόκριση (Lumbers M, 2018). Η εξισορρόπηση των επιπέδων ενυδάτωσης του δέρματος είναι σημαντική, καθώς οποιαδήποτε διαταραχή της ισορροπίας του νερού θα οδηγήσει σε διαταραχή της ακεραιότητας του δέρματος. Ένα υγρό περιβάλλον υποστηρίζει ενεργά την απόκριση επούλωσης σε σύγκριση με ένα στεγνό περιβάλλον. Αυτό επισημαίνει τη σημασία της στάθμης του νερού και την καλή ενυδάτωση για βέλτιστη επούλωση (Rippon et al,2016). Η θερμοκρασία του δέρματος διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην σωστή λειτουργία του δέρματος ως φραγμού . Αν υπάρχει μείωση της θερμοκρασίας του δέρματος, οδηγεί σε αυξημένη TEWL, αυξημένη ξηρότητα και σε μια συνολική μειωμένη λειτουργία φραγμού του δέρματος (Chen et al., 2011 , Cravello et Ferri, 2008 , Engebretsen et al, 2016). Σε πειραματόζωα έχει φανεί, ότι οι χαμηλές θερμοκρασίες αυξάνουν επίσης την ακαμψία των ιστών, αυξάνοντας την ευαισθησία σε βλάβη παραμόρφωσης (Engebretsen et al., 2016).

1.4.2. Συστηματικοί παράγοντες

1.4.2.1. Ηλικία

Η ηλικία αποτελεί ένα σημαντικό παράγοντα που σχετίζεται με την ταχύτητα επούλωσης ελκών. Έχουν γίνει πολλές μελέτες σε κλινικό και προκλινικό επίπεδο όπως και σε κυτταρικό και μοριακό, οι οποίες έχουν εξετάσει τον συσχετισμό μεταξύ ηλικίας και καθυστέρησης επούλωσης. Σε υγιείς ηλικιωμένους συνήθως παρατηρείται ότι η γήρανση συνεπάγεται χρονική καθυστέρηση στην επούλωση πληγών, ωστόσο δίχως να επηρεάζεται η ποιότητα της επούλωσης (Gosain και DiPietro, 2004, Keylock et al., 2008). Η καθυστερημένη επούλωση τραυμάτων στους ηλικιωμένους σχετίζεται με μια αλλοιωμένη φλεγμονώδη απόκριση, όπως η καθυστερημένη διήθηση των Τ-κυττάρων στην περιοχή του τραύματος με αλλοιώσεις στην παραγωγή χημειοκινών και μειωμένη φαγοκυτταρική ικανότητα των μακροφάγων (Swift et al., 2001). Η επιβράδυνση στην επιθηλιοποίηση, στη σύνθεση κολλαγόνου και στην αγγειογένεση έχουν παρατηρηθεί επίσης σε ηλικιωμένους μύες σε σύγκριση με νεαρούς (Swift et al., 1999). Οι διαφορές που παρατηρούνται στην διαδικασία της επούλωσης μεταξύ νέων και ηλικιωμένων ατόμων είναι σημαντικές. Οι αλλαγές στην επουλωτική διαδικασία εντοπίζονται σε κάθε φάση της επούλωσης όπως για παράδειγμα αυξημένη συσσωμάτωση αιμοπεταλίων, αυξημένη έκκριση φλεγμονωδών μεσολαβητών, καθυστερημένη διήθηση μακροφάγων και λεμφοκυττάρων, μειωμένη λειτουργία μακροφάγων, μειωμένη έκκριση

αυξητικών παραγόντων, καθυστερημένη επανεπιθηλιοποίηση, καθυστερημένη αγγειογένεση και εναπόθεση κολλαγόνου και μειωμένη αντοχή πληγής (Gosain και DiPietro, 2004). Έχουν μελετηθεί αρκετές θεραπείες για τη μείωση της επίδρασης της ηλικίας σε σχέση με την επούλωση. Η άσκηση έχει αναφερθεί να βελτιώνει την επούλωση δερματικών πληγών σε ηλικιωμένους και η βελτίωση αυτή σχετίζεται με μειωμένα επίπεδα προφλεγμονωδών κυτοκινών στην περιοχή του τραύματος (Emery et al., 2005, Keylock et al., 2008).

1.4.2.2. Ορμόνες φύλου

Οι ορμόνες φύλου επηρεάζουν στην επούλωση των ελκών που σχετίζονται με την ηλικία. Σε ηλικιωμένους άνδρες έχει παρατηρηθεί μεγαλύτερη καθυστέρηση στην επούλωση μιας οξείας πληγής. Σε αυτό πιθανολογείται πως επηρεάζουν τα οιστρογόνα (οιστρόνη και 17β-οιστραδιόλη), τα ανδρογόνα (τεστοστερόνη και 5α-διυδροτεστοστερόνη, DHT), αλλά και το πρόδρομο μόριο αυτών η δεϋδροεπιανδροστερόνη (DHEA) (Gilliver et al., 2007). Πρόσφατα διαπιστώθηκε ότι οι διαφορές στην γονιδιακή έκφραση κατά την επούλωση μεταξύ ηλικιωμένων αντρών και νεαρών ατόμων είναι σχεδόν αποκλειστικά ρυθμιζόμενη από τα οιστρογόνα (Hardman και Ashcroft, 2008). Τα οιστρογόνα επηρεάζουν την επουλωτική διαδικασία ρυθμίζοντας μια ποικιλία γονιδίων που σχετίζονται με την αναγέννηση, την αναστολή πρωτεασών, την επιδερμική λειτουργία και κυρίως με τη φλεγμονή (Hardman και Ashcroft, 2008). Μελέτες υποδεικνύουν ότι τα οιστρογόνα δύναται να βοηθήσουν την διαδικασία της επούλωσης που σχετίζεται με την ηλικία τόσο στους άνδρες όσο και στις γυναίκες. Αντίθετα, τα ανδρογόνα επιβραδύνουν την δερματική επούλωση ελκών (Gilliver et al., 2007).

1.4.2.3. Άγχος – Ψυχικό στρες

Το άγχος παίζει σημαντικό ρόλο στην ανθρώπινη υγεία. Πολλές ασθένειες, όπως οι καρδιαγγειακές παθήσεις, ο καρκίνος, τα άτονα έλκη και ο διαβήτης, σχετίζονται με το άγχος. Πολλές μελέτες επιβεβαίωσαν ότι η διάσπαση της νευροενδοκρινικής ανοσολογικής ισορροπίας επάγεται από το άγχος επηρεάζει την κατάσταση της υγείας (Glaser και Kiecolt-Glaser, 2005, Vileikyte, 2007). Μελέτες τόσο σε κλινικό όσο και εργαστηριακό επίπεδο, έχουν δείξει ότι το ψυχολογικό στρες προκαλεί σημαντική καθυστέρηση στην επούλωση πληγών. Άτομα που εκτίθονταν σε συνθήκες άγχους όπως οι φροντιστές των ατόμων με Αλτσχάιμερ και οι μαθητές που υποβάλλονταν σε ακαδημαϊκό άγχος κατά τη διάρκεια των εξετάσεων παρουσίασαν καθυστερημένη επούλωση πληγών (Kiecolt-Glaser et al., 1995; Marucha et. al., 1998). Ο άξονας υποθάλαμος-υπόφυση-επινεφρίδια και ο άξονας συμπαθητικό-επινεφρίδια ρυθμίζουν την απελευθέρωση των ορμονών της υπόφυσης και των επινεφριδίων. Οι ορμόνες αυτές περιλαμβάνουν τις αδρενοκορτικοτρόπες ορμόνες, την κορτιζόλη και την προλακτίνη και τις κατεχολαμίνες (επινεφρίνη και νορεπινεφρίνη). Το άγχος ρυθμίζει την παραγωγή γλυκοκορτικοειδών και μειώνει τα επίπεδα των

προφλεγμονωδών κυτοκινών IL-1β, IL-6 και TNFα στη θέση του τραύματος. Το στρες μειώνει επίσης την έκφραση της IL-1α και της IL-8 στις περιοχές τραύματος, τους δύο χημειοτακτικούς παράγοντες που είναι απαραίτητοι για την αρχική φλεγμονώδη φάση της επούλωσης πληγών (Godbout και Glaser, 2006, Boyapati και Wang, 2007). Επιπροσθέτως, τα γλυκοκορτικοειδή επηρεάζουν τα κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος, καταστέλλοντας τη διαφοροποίηση και τον πολλαπλασιασμό, ρυθμίζοντας τη μεταγραφή γονιδίων και μειώνοντας την έκφραση των μορίων κυτταρικής προσκόλλησης (Sternberg, 2006). Η κορτιζόλη αποτελεί ένα αντιφλεγμονώδη παράγοντα και ρυθμίζει τις ανοσολογικές αποκρίσεις μέσω των Th1 λεμφοκυττάρων, που είναι απαραίτητες για την αρχική φάση της επούλωσης. Με αυτόν τον τρόπο, το ψυχολογικό στρες εμποδίζει την κανονική ανοσία που προκαλείται από τα κύτταρα στην περιοχή του τραύματος, προκαλώντας σημαντική καθυστέρηση στη διαδικασία επούλωσης (Godbout και Glaser, 2006). Οι αγχογόνοι παράγοντες μπορεί να οδηγήσουν σε αρνητικές συναισθηματικές καταστάσεις, όπως ανησυχία και κατάθλιψη, οι οποίες μπορεί με τη σειρά τους να έχουν αντίκτυπο στις φυσιολογικές διεργασίες ή / και στη συμπεριφορά του ατόμου με αποτέλεσμα να επηρεάζεται η κατάσταση της υγείας του. Εκτός από τις άμεσες επιδράσεις του άγχους και της κατάθλιψης στην ενδοκρινική και ανοσοποιητική λειτουργία, τα άτομα που είναι πολύ πιθανό να έχουν και ανθυγιεινές συνήθειες π.χ. κακές συνήθειες ύπνου, ανεπαρκή διατροφή, λιγότερη άσκηση και μεγαλύτερη τάση για κατάχρηση οινόπνευματος, κάπνισμα κ.α. Οι παραπάνω παράγοντες δύναται να συσχετιστούν με επιβράδυνση στην επουλωτική διαδικασία (Guo, S. και DiPietro, L., 2010).

Ακόμη, αναφορικά με τις επιδράσεις της κακής ψυχολογικής κατάστασης στην ενδοκρινική και ανοσοποιητική λειτουργία, τα άτομα αυτά είναι πιθανό να έχουν και ανθυγιεινές συνήθειες, όπως κακές συνήθειες ύπνου, ανεπαρκή διατροφή, λιγότερη άσκηση και μεγαλύτερη τάση για κατάχρηση οινόπνευματος, κάπνισμα κ.α. Όλοι αυτοί οι παράγοντες μπορεί να συσχετιστούν έμμεσα με καθυστέρηση στην επουλωτική διαδικασία (Guo, S. και DiPietro, L., 2010).

1.4.2.4. Φαρμακευτική αγωγή

Πολλά φάρμακα, εμφανίζουν επίδραση στην επούλωση των τραυμάτων. Αυτά είναι αυτά, φάρμακα που παρεμποδίζουν τον σχηματισμό θρόμβων ή τη λειτουργία των αιμοπεταλίων ή τις φλεγμονώδεις αποκρίσεις και τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων. Σε αυτή την διπλωματική, θα αναφερθούν μόνο τα συνήθως χρησιμοποιούμενα φάρμακα που έχουν σημαντικό αντίκτυπο στην επούλωση, όπως τα τα γλυκοκορτικοειδή, τα μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη φάρμακα (ΜΣΑΦ) και τα χημειοθεραπευτικά φάρμακα

Γλυκοκορτικοειδή

Τα συστηματικά γλυκοκορτικοειδή χρησιμοποιούνται συχνά ως αντιφλεγμονώδη. Αναστέλλουν την επιδιόρθωση του τραύματος μέσω των εκτενών αντιφλεγμονωδών δράσεων τους και της καταστολής των κυτταρικών αποκρίσεων σε πληγές, όπως ο πολλαπλασιασμός των ινοβλαστών και της σύνθεσης κολλαγόνου. Τα συστηματικά στεροειδή μπορεί να προκαλέσουν επούλωση με ελλειπή κοκκιωματώδη ιστό και μειωμένη συρρίκνωση του τραύματος (Franz et al., 2007).

Τα γλυκοκορτικοειδή αναστέλλουν την παραγωγή του παράγοντα-1 (HIF-1) που επάγεται σε συνθήκες υποξίας, ενός βασικού μεταγραφικού παράγοντα στην επούλωση τραυμάτων (Wagner et al., 2008). Τα συστηματικά κορτικοστεροειδή μπορεί να αυξήσουν τον κίνδυνο μόλυνσης των ελκών, αντίθετα η τοπική εφαρμογή παράγει αρκετά διαφορετικά αποτελέσματα. Η τοπική χορήγηση χαμηλής δόσης κορτικοστεροειδών σε έλκη έχει βρεθεί ότι επιταχύνει την επούλωση, μειώνει τον πόνο και το εξίδρωμα και καταστέλλει τον σχηματισμό ιστού υπερκοκκιωματώδους ιστού στο 79% των περιπτώσεων. Μπορεί αυτά τα θετικά αποτελέσματα να είναι ενθαρρυντικά, όμως χρειάζεται προσεκτική παρακολούθηση για να αποφευχθεί ο αυξημένος κίνδυνος μόλυνσης ή λοίμωξης μετά από παρατεταμένη χρήση (Hofman et al., 2007).

Μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη φάρμακα

Τα μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη φάρμακα (NSAIDs) όπως η ιβουπροφαίνη χορηγούνται ευρέως για τη θεραπεία της φλεγμονής και για τη διαχείριση του πόνου. Ένα συνηθισμένο θεραπευτικό σχήμα είναι η χαμηλή δόση ασπιρίνης, λόγω της αντι-αιμοπεταλικής λειτουργίας της, που χρησιμοποιείται συνήθως ως προληπτικό θεραπευτικό μέσο για καρδιαγγειακή νόσο και όχι ως αντιφλεγμονώδες φάρμακο (Pieringer et al., 2007). Υπάρχουν ελάχιστα δεδομένα που να δείχνουν ότι η βραχεία χρήση ΜΣΑΦ έχει αρνητικό αντίκτυπο στην επούλωση. Ωστόσο, το ζήτημα του κατά πόσο τα μακράς χρήσης ΜΣΑΦ παρεμβαίνουν στην επούλωση τραυμάτων παραμένει ανοιχτό. Σε πειραματόζωα, η συστηματική χρήση ιβουπροφαίνης κατέδειξε διακοπή πολλαπλασιασμού των κυττάρων, με αποτέλεσμα τον μειωμένο αριθμό ινοβλαστών, εξασθενημένη αντοχή σε θραύση, μειωμένη συρρίκνωση του τραύματος, καθυστερημένη επιθηλιοποίηση (Dong et al., 1993; Dvivedi et al., 1997; Krischak et al., 2007) και μειωμένη αγγειογένεση (Jones et al., 1999). Αναφορικά με τα τοπικής εφαρμογής ΜΣΑΦ στην τραυματική περιοχή χρόνιων ελκών, η χρήση αφρού ιβουπροφαίνης παρέχει την επιθυμητή υγρή επούλωση των πληγών, μειώνοντας τον επίμονο και τον προσωρινό πόνο του τραύματος και ωφελεί ιδιαίτερα χρόνια έλκη λόγω φλεβικής ανεπάρκειας (Price et al., 2007).

Χημειοθεραπευτικά φάρμακα

Τα χημειοθεραπευτικά φάρμακα ως επι το πλείστον αναστέλλουν τον κυτταρικό μεταβολισμό, την ταχεία κυτταρική διαίρεση και την αγγειογένεση και έτσι αναστέλλουν πολλά από τα μονοπάτια που είναι κρίσιμα για την κατάλληλη επιδιόρθωση του τραύματος. (Waldron και Zimmerman-Pope, 2003; Franz et al., 2007). Τα φάρμακα αυτά καθυστερούν την κυτταρική μετανάστευση στο τραύμα, μειώνουν την παραγωγή κολλαγόνου, τον πολλαπλασιασμό των ινοβλαστών και εμποδίζουν τη συρρίκνωση των τραυμάτων (Franz et al., 2007). Επιπλέον, αυτοί οι παράγοντες αποδυναμώνουν τις ανοσολογικές λειτουργίες των ασθενών και έτσι παρεμποδίζουν τη φλεγμονώδη φάση της επούλωσης και αυξάνουν τον κίνδυνο 51 μόλυνσης. Η χημειοθεραπεία προξενεί ουδετεροπενία, αναιμία και θρομβοκυτταροπενία, έτσι τα τραύματα είναι ευάλωτα σε λοίμωξη, προκαλώντας λιγότερη παροχή οξυγόνου στο τραύμα και κάνοντας τους ασθενείς ευάλωτους στην υπερβολική αιμορραγία στο σημείο της πληγής. (Lawrence et al., 1986).

1.4.2.5. Παχυσαρκία

Τα παχύσαρκα άτομα εμφανίζουν συχνά επιπλοκές που σχετίζονται με την εμφάνιση ελκών, όπως λοίμωξη του δέρματος, κατακλίσεις και φλεβικά έλκη (Wilson και Clark, 2004; www.cdc.gov/nccdrhp/dnpa/obesity). Επιπλέον, η δυσκολία ή η ανικανότητα μετακίνησης των παχύσαρκων ατόμων αυξάνει τον κίνδυνο τραυματισμών που σχετίζονται με την πίεση (κατακλίσεις). Οι πτυχές του δέρματος φιλοξενούν μικροοργανισμούς που ευδοκιμούν σε υγρές περιοχές και υποβοηθούν στη μόλυνση και στην λύση των ιστών. Η τριβή που προκαλείται από την επαφή του δέρματος με το δέρμα προκαλεί εξέλκωση. Όλοι αυτοί οι παράγοντες προδιαθέτουν τα παχύσαρκα άτομα στην ανάπτυξη και στην δυσκολία αντιμετώπισης ελκών (Wilson και Clark, 2004; Anaya και Dellinger, 2006; Greco et al., 2008). Εκτός από τις τοπικές συνθήκες, οι συστημικοί παράγοντες επηρεάζουν στην εξασθένηση της επούλωσης των πληγών και των επιπλοκών των τραυμάτων σε παχύσαρκους ασθενείς. Η παχυσαρκία ορισμένες φορές συνυπάρχει με άγχος και κατάθλιψη, δηλαδή καταστάσεις που μπορούν να προκαλέσουν μια εξασθενημένη ανοσοαπόκριση (Wilson και Clark, 2004). Η λειτουργία του λιπώδους ιστού θεωρήθηκε ως κύρια αποθήκευση θερμίδων. Όμως, πιο πρόσφατα ευρήματα έχουν τεκμηριώσει ότι ο λιπώδης ιστός εκκρίνει μια μεγάλη ποικιλία βιοδραστικών ουσιών που ονομάζονται συλλογικά λιποκίνες. Τα ίδια τα λιποκύτταρα και τα μακροφάγα μέσα στον λιπώδη ιστό είναι γνωστό ότι παράγουν βιοδραστικά μόρια που περιλαμβάνουν κυτοκίνες, χημειοκίνες και παράγοντες που μοιάζουν με ορμόνες όπως η λεπτίνη, η λιπονεκτίνη και η ρεζιστίνη. Οι λιποκίνες έχουν βαθιά επίδραση στην ανοσολογική και φλεγμονώδη απόκριση (Juge - Aubry et al., 2005; Calabro και Yeh, 2007; Wozniak et al., 2009). Η αρνητική επίδραση των λιποκινών στη συστημική ανοσολογική αντίδραση φαίνεται παίζει ρόλο στη διαδικασία της επούλωσης, αν και δεν υπάρχει άμεση απόδειξη. Η μειωμένη λειτουργία των μονοπύρηνων κυττάρων του

περιφερικού αίματος, ο μειωμένος πολλαπλασιασμός λεμφοκυττάρων και τα αλλαγμένα περιφερικά επίπεδα κυτοκίνης έχουν αναφερθεί στην παχυσαρκία. Είναι σημαντικό, ωστόσο, ότι πολλές από τις αλλαγές που σχετίζονται με την παχυσαρκία στην περιφερική ανοσολογική λειτουργία εμφανίζουν βελτίωση από την απώλεια βάρους (Nieman et al., 1999; Fontana et al., 2007; de Mello et al., 2008).

1.4.2.6. Κάπνισμα

Τα αρνητικά αποτελέσματα του καπνίσματος σε σχέση με την επούλωση έχουν διερευνηθεί σε αρκετές μελέτες. (Siana et al., 1989; Jensen et al., 1991; Ahn et al., 2008). Πάνω από 4000 ουσίες στον καπνό του τσιγάρου έχουν εντοπιστεί και μερικές από αυτές έχει αποδειχθεί ότι έχουν αρνητικό αντίκτυπο στην επούλωση (Ahn et al., 2008). Οι περισσότερες μελέτες επικεντρώθηκαν στις επιδράσεις της νικοτίνης, του μονοξειδίου του άνθρακα και του υδροκυανίου που εντοπίζονται στον καπνό.

Η νικοτίνη επηρεάζει την παροχή οξυγόνου προκαλώντας ισχαιμία του ιστού, αφού μπορεί να προκαλέσει μειωμένη ροή αίματος μέσω των αγγειοσυσταστικών επιδράσεων (Ahn et al., 2008; Sørensen et al., 2009). Επίσης, διεγείρει τη συμπαθητική νευρική δραστηριότητα, απελευθερώνοντας επινεφρίνη, που προκαλεί περιφερική αγγειοσυστολή και μειωμένη αιμάτωση ιστού. Η νικοτίνη αυξάνει το ιξώδες του αίματος που προκαλείται λόγω μείωσης της ινωδολυτικής δράσης και αύξησης της συγκολλητικότητας των αιμοπεταλίων. Εκτός από τις επιδράσεις της νικοτίνης, το μονοξείδιο του άνθρακα στον καπνό των τσιγάρων προκαλεί επίσης υποξία ιστού, αφού συνδέεται με την αιμοσφαιρίνη με συγγένεια 200 φορές μεγαλύτερη από αυτή του οξυγόνου, με αποτέλεσμα να προκύπτει μειωμένο κλάσμα οξυγονωμένης αιμοσφαιρίνης στην κυκλοφορία του αίματος.

Το υδροκυάνιο, ένα άλλο συστατικό του καπνού τσιγάρου, αλλοιώνει τον κυτταρικό μεταβολισμό του οξυγόνου, προκαλώντας μειωμένη κατανάλωση οξυγόνου στους ιστούς. Πέρα από τις άμεσες επιδράσεις στο ιστό, το κάπνισμα αυξάνει τον κίνδυνο για αθηροσκλήρωση και χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια, δύο καταστάσεις που έμμεσα μπορούν να μειώσουν την συγκέντρωση του οξυγόνου του ιστού (Siana et al., 1989; Jensen et al., 1991; Ahn et al., 2008).

Στη φλεγμονώδη φάση, το κάπνισμα διαταράσσει τη μετανάστευση των λευκών αιμοσφαιρίων, με αποτέλεσμα μικρότερους αριθμούς μονοκυττάρων και μακροφάγων στην περιοχή του τραύματος όπως και μείωση της βακτηριοκτόνου δράσης των ουδετερόφιλων. Η λειτουργία των λεμφοκυττάρων, η κυτταροτοξικότητα των NK κυττάρων και η παραγωγή της IL-1 είναι χαμηλές. (Ahn et al., 2008; 53 McMaster et al., 2008). Αυτό οδηγεί σε κακή επούλωση τραυμάτων και σε αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης λοίμωξης από πληγές. Κατά τη διάρκεια της φάσης σχηματισμού του ιστού, η έκθεση σε καπνό προκαλεί μειωμένη

μετανάστευση και πολλαπλασιασμό των ινοβλαστών, μειωμένη συρρίκνωση του τραύματος, παρεμπόδιση της επιθηλιακής αναγέννησης, μειωμένη παραγωγή εξωκυττάριας μήτρας και διαταραχή στην ισορροπία πρωτεάσεων (Ahn et al., 2008). Τέλος, έχει αποδειχθεί ότι η διακοπή του καπνίσματος οδηγεί σε καλύτερη αποκατάσταση και περιορίζει τη μόλυνση του τραύματος (Sorensen et al., 2003, Lauerman, 2008).

Ωστόσο, παρά τις συνολικά αρνητικές συνέπειες του καπνίσματος, κάποιες πρόσφατες μελέτες έχουν δείξει ότι χαμηλές δόσεις νικοτίνης ενισχύουν την αγγειογένεση και στην πραγματικότητα βελτιώνουν την επούλωση (Jacobi et al., 2002; Morimoto et al., 2008).

1.5. Αξιολόγηση και διαχείριση πληγών

Η ορθή αξιολόγηση και περιποίηση των πληγών θα συμβάλλει καθοριστικά στην επιτυχή επούλωσή τους. Ένα πολύ σημαντικό κομμάτι της κλινικής αντιμετώπισης αποτελεί η σωστή περιποίηση του τραύματος, καθώς θα μειώσει το χρόνο ανοιχτής πληγής του ασθενούς και θα βελτιώσει άμεσα την καθημερινότητά του. Ο προσδιορισμός της έκτασης του τραύματος είναι το βασικό στοιχείο της αξιολόγησης :

Εξέταση του βάθους ή του βαθμού τραυματισμού

- Προσδιορισμός μεγέθους πληγής , την κατάσταση του ιστού γύρω απο τραύμα

(π.χ. περιφερικό οίδημα)

- Της παρουσίας ξένων σωμάτων συμπεριλαμβανομένης της παρουσίας

νεκρωτικού ιστού

- Μετά την αξιολόγηση έπεται η περιποίηση της πληγής

Αυτό περιλαμβάνει τέσσερα βασικά στάδια:

- τον καθαρισμό
- την απομάκρυνση του νεκρωτικού ιστού
- τον έλεγχο του βακτηριακού φορτίου
- τον έλεγχο του βαθμού ενυδάτωσης.

Καθαρισμός

Απαιτεί την εφαρμογή υγρού για τον καθαρισμό του τραύματος και τη βελτιστοποίηση του περιβάλλοντος επούλωσης. Ο στόχος του καθαρισμού των πληγών είναι να απομακρυνθούν τα ξένα σώματα και ο κατεστραμμένος ιστός.

Οι αρχές που πρέπει να ακολουθούνται είναι οι ακόλουθες:

- Ακολουθείται διαδικασία άσηπτης τεχνικής
- Ο καθαρισμός των πληγών δεν πρέπει να γίνεται για να απομακρύνεται το «φυσιολογικό» εξίδρωμα
- Ο καθαρισμός πρέπει να γίνεται με τρόπο που να ελαχιστοποιεί τον επιπλέον τραυματισμό της πληγής
- Τα τραύματα καθαρίζονται καλύτερα με αποστειρωμένο ισοτονικό αλατόνερο ή νερό
- Όσο λιγότερο διαταράσσουμε μια πληγή κατά τη διάρκεια της επίδεσης, τόσο μικρότερη είναι η παρεμβολή στη θεραπεία
- Τα υγρά πρέπει να θερμανθούν στους 37 ° C για να υποστηρίξουν την κυτταρική δραστηριότητα
- Τα καθαριστικά του δέρματος και των τραυμάτων θα πρέπει να έχουν ουδέτερο pH και να είναι μη τοξικά
- Αποφύγετε αλκαλικό σαπούνι σε άθικτο δέρμα, καθώς το pH του δέρματος μεταβάλλεται, η αντίσταση στα βακτήρια μειώνεται
- Αποφύγετε τη χρήση αλκοόλης ή ακετόνης καθώς είναι τοξικά για τους ιστούς
- Τα αντισηπτικά δεν συνιστώνται συστηματικά για καθαρισμό και πρέπει να χρησιμοποιούνται μόνο με φειδώ για μολυσμένα τραύματα.

Μέθοδος καθαρισμού :

Η έκπλυση αποτελεί τη προτιμώμενη μέθοδο καθαρισμού ανοιχτών πληγών. Αυτό μπορεί να γίνει χρησιμοποιώντας μια σύριγγα που θα παράγει μικρή πίεση.

Τα επιθέματα γάζας και το βαμβάκι πρέπει να χρησιμοποιούνται με προσοχή, καθώς μπορεί να προκαλέσουν μηχανική βλάβη σε νέους ιστούς.

Τα διαλύματα καθαρισμού πρέπει να είναι μη τοξικά, υποαλλεργικά, εύκολα διαθέσιμα, οικονομικά αποδοτικά και εύχρηστα. Στη διαχείριση τραυμάτων συνήθως χρησιμοποιούνται: αποστειρωμένο φυσιολογικό ορό, αποστειρωμένο νερό, πόσιμο νερό της βρύσης και υγρά αντισηπτικά. Μία θεραπευτική έκπλυση με δύναμη 4-15 psi έχει αποδειχθεί ότι είναι αποτελεσματική και γενικά ασφαλής.

Όταν υπάρχει υπόνοια μόλυνσης, συνιστάται ένα διάλυμα με επιφανειοδραστικό, αντισηπτικό ή αντιμικροβιακό παράγοντα.(Leaper ,2008 ; Sussman,2012; Greatrex-White,2015).

1.5.1 Νεαροποίηση

Η λέξη *debridement* ετυμολογικά προέρχεται από την γαλλική λέξη *débridement* , που μεταφράζεται ως “απομάκρυνση ενός περιορισμού” . Στα ελληνικά ο όρος μεταφράζεται ως νεαροποίηση (καθιστώ κάτι νέο). Στην κλινική ως “νεαροποίηση” ή ως “χειρουργικό καθαρισμό” αναφέρεται η απομάκρυνση κάθε μη βιώσιμου, νεκρωμένου ή μολυσμένου ιστού από την περιοχή του τραύματος ή έλκους με σκοπό την προαγωγή της επούλωσης διαδικασίας. Δεν πρέπει να συγχέεται με τον όρο “καθαρισμός τραύματος” με τον οποίο αποσαφηνίζεται η απομάκρυνση ακαθαρσιών (μεταβολικά υπολείμματα ή ξένα σώματα).

Η νεαροποίηση υποδυκνύεται ως βασικό κομμάτι της περιποίησης τραυμάτων στην κλινική πράξη καθώς επάγει τους μηχανισμούς επούλωσης. Η ένδειξη για νεαροποίηση δεν εξαρτάται από τη διάγνωση του τραύματος, αλλά από τον τύπο των ιστικών ράκων που υπάρχουν στο τραύμα, τον βαθμό ενυδάτωσης, και τη γενική κλινική εικόνα του ασθενούς. Με τη νεαροποίηση δύναται να απομακρύνεται ο νεκρωτικός ή μολυσμένος ιστός, το πύον, τα αιματώματα, τα ξένα σώματα και τα θραύσματα, που αποτελούν πρόσφορο έδαφος για την ανάπτυξη παθογόνων μικροοργανισμών. Με τον τρόπο αυτό γίνεται μείωση των φλεγμονωδών κυτταροκινών και τοξινών που παράγονται από το βακτηριακό φορτίο και αναστέλλουν τον πολλαπλασιασμό των κερατινοκυττάρων. Επιπροσθέτως, μειώνονται ο βιοχημικός δείκτης , ινωδονεκτίνη και οι μεταλλοπρωτεϊνάσες που παράγονται από ένα χρόνια φλεγμονώδες τραύμα, λόγω της παρουσίας του νεκρωτικού ιστού. Ως απόρροια, επάγεται η φάση της επιθηλιοποίησης και επιταχύνεται τελικά η επουλωτική διαδικασία. (Granick,2007; Elliot 1964; Atkin,2014).

1.5.1.1 Μέθοδοι Νεαροποίησης

Μηχανικός καθαρισμός

Ο μηχανικός καθαρισμός πραγματοποιείται για απομάκρυνση μετρίου βαθμού νεκρωτικών ιστών με μηχανικό τρόπο. Είναι μια από τις συνηθέστερα χρησιμοποιούμενες μεθόδους καθαρισμού. Μπορεί να περιλαμβάνει τη χρήση υδροθεραπείας (λουτρό με δίνη, σύριγγες, καθετήρες), ή τη χρήση επιδέσμων, υγρών ή ξηρών. Όταν εφαρμόζεται ένας επίδεσμος, ορισμένοι από τους νεκρωτικούς ιστούς εμφανίζουν κολλώδη συμπεριφορά σε αυτόν και αφαιρούνται μετά την αποκόλλησή του. Πλεονεκτήματα της μεθόδου αποτελεί η ταχεία δράση και το χαμηλό κόστος. Μειονεκτήματα της μεθόδου αναφέρονται η έλλειψη εκλεκτικότητας, δηλαδή ο τραυματισμός του φυσιολογικού ιστού με επιπλοκές όπως αιμορραγία και πόνο για τον ασθενή, καθώς και η πιθανή καθυστέρηση της διαδικασίας λόγω

της ανάγκης για συχνές αλλαγές των γαζών. Σημαντικό μειονέκτημα της μεθόδου είναι και η υδατογενής επιμόλυνση του τραύματος και τα πιθανά υπολείμματα επιδέσμου που θα παραμείνουν στο τραύμα ως ξένα σώματα. (Koller,2008; Wang,2008).

Χειρουργικός καθαρισμός

Αποτελεί μια ταχεία μέθοδος καθαρισμού που χρησιμοποιείται εδώ και πολλά χρόνια. Πραγματοποιείται από χειρουργό ιατρό, ο οποίος θα χρησιμοποιήσει νυστέρι, ψαλίδι, λαβίδα και άλλα όργανα για να αφαιρέσει νεκρωτικό ιστό, θραύσματα και ξένα σώματα. Ο ασθενής είθισται να βρίσκεται υπό γενική ή τοπική αναισθησία, ενώ η διαδικασία θα πρέπει να διεξάγεται υπό στείρες συνθήκες, ανεξάρτητα από την έκταση της επέμβασης. Ο χειρουργικός καθαρισμός θα πρέπει να πραγματοποιείται μόνο εφόσον οι άλλες τεχνικές ήταν αναποτελεσματικές ή η κατάσταση του ασθενούς απαιτεί άμεση επέμβαση.

Οι ενδείξεις για χειρουργικό καθαρισμό περιλαμβάνουν ένα στέρεο στρώμα νεκρωτικού ιστού και μια σαφή γραμμή οριοθέτησης μεταξύ βιώσιμου και μη βιώσιμου ιστού καθώς και περιπτώσεις όπου υπάρχει σοβαρή μικροβιακή μόλυνση του τραύματος.

Το βασικό πλεονέκτημα του χειρουργικού καθαρισμού είναι η ταχύτητα και η αποτελεσματικότητα αφαίρεσης νεκρωτικού ιστού , η οποία συμβάλλει στην άμεση έναρξη της επουλωτικής διαδικασίας.

Απεναντίας, τα κύρια μειονεκτήματα της μεθόδου αποτελούν η μη εκλεκτικότητα , η επεμβατικότητα ,η ανάγκη για αναισθησία και το κόστος. Με τον χειρουργικό καθαρισμό υπάρχει ο κίνδυνος τραυματισμού του φυσιολογικού ιστού , η προκλήση βλαβών στις βαθύτερες δομές ή αιμορραγίας και συνεπώς σημαντική καθυστέρηση της επούλωσης.

Προσοχή κατά τον χειρουργικό καθαρισμό επιβάλλεται στα τραύματα, τα οποία βρίσκονται σε συγκεκριμένες περιοχές όπως είναι ο λαιμός και η βουβωνική χώρα όπου οι νευροαγγειακές δέσμες περνούν επιφανειακά και μπορεί να προκληθούν βλάβες σε ζωτικές και λειτουργικές δομές (αιμοφόρα αγγεία,νεύρα,τένοντες) Ακόμη, ο χειρουργικός καθαρισμός αποτελεί επεμβατική μέθοδο έτσι λοιπόν πρέπει να λαμβάνονται ιδιαίτερες προφυλάξεις όταν οι τεχνική πραγματοποιείται σε λειτουργικές και αισθητικά σημαντικές περιοχές όπως το πρόσωπο, τα χέρια, τα πόδια και το περίνεο.

Τέλος σοβαρή αντένδειξη για χειρουργικό καθαρισμό επισημαίνεται η φτωχή κλινική εικόνα του ασθενούς και οι διαταραχές πήξης του αίματος (Dryburgh,2008;Edwards ,2010;Lebrun,2010).

Αυτολυτικός Καθαρισμός

Ο αυτολυτικός καθαρισμός πραγματοποιείται μέσω της απελευθέρωσης ενδογενών πρωτεολυτικών ενζύμων από τα λευκοκύτταρα του ασθενούς και της ενεργοποίησης της φαγοκυττάρωσης. Ένζυμα που επιτελούν αυτές τις λειτουργίες είναι η κολλαγενάση, η ελαστάση, η λυσοζύμη και η μυελοπεροξειδάση. Τα ένζυμα αυτά θα μαλακώσουν , θα υγροποιήσουν και θα αποσυνθέσουν τον νεκρωτικό ιστό, μέσω της ιδιότητάς τους να σπάνε τους δεσμούς κολλαγόνου και των ελαστικών ινών. Με αυτό τον τρόπο διευκολύνουν την πέψη των ιστικών ρακών από τα μακροφάγα κύτταρα. Τα ένζυμα αυτά χρειάζονται υδατικό περιβάλλον για να δράσουν, γι'αυτό πλέον στο εμπόριο διατίθεται πληθώρα προϊόντων, που προσφέρουν την κατάλληλη υγρασία στην πληγή. Ανάλογα με το είδος του τραύματος υπάρχουν επιθέματα, τα οποία προσφέρουν ενυδάτωση στις αφυδατωμένες πληγές και επιθέματα που απορροφούν τις υπερβολικές εκκρίσεις μιας εξιδρωματικής πληγής. Παραδείγματα επιθεμάτων αποτελούν τα υδροκολλοειδή επιθέματα , τα επιθέματα πολυμερών , επιθέματα με άργυρο για ταυτόχρονη αντιμικροβιακή προστασία , επιθέματα πολυουρεθάνης για απορρόφηση υδαρών εκκρίσεων και επιθέματα επιποματισμού από ίνες αλγινικού ασβεστίου, οι οποίες όταν έρχονται σε επαφή με τα εκκρίματα του τραύματος, μετατρέπονται σε γέλη.

Η μέθοδος αυτή εμφανίζει αρκετά πλεονεκτήματα όπως η ασφάλεια, η εκλεκτικότητα (μη πρόκληση βλάβης του φυσιολογικού ιστού) , η απουσία πόνου για τον ασθενή , η μη πρόκληση ερεθισμού στο δέρμα πέριξ της πληγής και η μη διαταραχή του φυσικού μηχανισμού επούλωσης. Σημαντικό πλεονέκτημα ακόμη, αποτελεί ότι τα περισσότερα προϊόντα αυτολυτικού καθαρισμού δεν χρειάζονται συχνές αλλαγές και είναι διάφανα , επιτρέποντας έτσι τον έλεγχο των πληγών χωρίς να πρέπει πρώτα να αφαιρεθούν.

Σημαντικό μειονέκτημα της μεθόδου είναι ο αργός μηχανισμός δράσης και λόγω της μεγάλης χρονικής διάρκειας της θεραπείας, ο ασθενής εκτίθεται σε πιθανή ανάπτυξη μικροβίων καθώς το περιβάλλον της πληγής παρέχει τις ιδανικές συνθήκες για τον πολλαπλασιασμό τους (τροφή από τον νεκρωτικό ιστό και υγρασία). Επομένως συμπεραίνουμε ότι οι ήδη μολυσμένες πληγές αποτελούν αντένδειξη για αυτή την μέθοδο καθαρισμού. Επίσης, μειονέκτημα αποτελούν οι πιθανές αντιδράσεις υπερευαισθησίας των ασθενών σε ορισμένα συστατικά των επιθεμάτων π.χ. στην προπυλενογλυκόλη, η οποία χρησιμοποιείται ως συντηρητικό πολλών επιθεμάτων (König,2005; Gray,2011; Dissemond,2006; Caruso,2006).

Ενζυματικός καθαρισμός

Προϊόντα όπως γέλες ή κρέμες , τα οποία περιέχουν σαν δραστική ουσία εξωγενή πρωτεολυτικά ένζυμα και τα οποία θα δράσουν συνεργατικά με τα ενδογενή ένζυμα για να καθαρίσουν την πληγή επιτελούν τον ενζυματικό καθαρισμό. Τα πρωτεολυτικά ένζυμα έχουν

την ιδιότητα να διασπούν τους πεπτιδικούς δεσμούς και έτσι διευκολύνουν την αποδόμηση και απομάκρυνση του νεκρωτικού ιστού από το τραύμα , χωρίς να προκαλούν βλάβη στον βιώσιμο κοκκιοποιητικό ιστό.

Τα ένζυμα αυτά χωρίζονται στις εξωπεπτιδάσες και στις ενδοπεπτιδάσες. Οι εξωπεπτιδάσες υδρολύουν τα αμινο- και καρβόξυ- τελικά άκρα των πρωτεϊνών, ενώ οι ενδοπεπτιδάσες αποικοδομούν πεπτιδικούς δεσμούς εντός των μορίων πρωτεΐνης (Falabella,2006; Pullen,2000; Hellgren,1986). Στον ανθρώπινο οργανισμό αυτό τον ρόλο τον έχει η κολλαγενάση. Η κολλαγενάση αποτελεί ένα μεταλλοένζυμο και ανήκει στην ομάδα των μεταλλοπρωτεϊνών της θεμέλιας ουσίας, που αποτελούν ενδοπεπτιδάσες εξαρτώμενες από ψευδάργυρο. Στον οργανισμό απαντώνται ενδογενείς κολλαγενάσες που ρυθμίζουν τη φυσιολογική ισορροπία μεταξύ της δημιουργίας και της αποικοδόμησης του κολλαγόνου. Οι κολλαγενάσες είναι οι μόνες ενδοπρωτεάσες, που μπορούν να αποικοδομήσουν το ανθρώπινο τριπλό ελικοειδές κολλαγόνο και ταυτόχρονα δεν προσβάλλουν την κερατίνη, το λίπος, το ινώδες ή την αιμοσφαιρίνη.

Σύμφωνα με μία πρόσφατη μελέτη η κολλαγενάση εμφάνισε ευεργετικά και ασφαλή αποτελέσματα ακόμη και σε πληγές με υψηλό βακτηριακό φορτίο. Φαίνεται να διαδραματίζει βοηθητικό ρόλο στην έκταση και τον ρυθμό επούλωσης, πιθανώς μειώνοντας το βακτηριακό φορτίο μέσω των θετικών ενζυματικών ενεργειών σε βακτήρια και νεκρωτικούς ιστούς (Wyatt G. Payne, 2008) .

Ο νεκρωτικός ιστός αποτελείται από κυτταρικά υπολείμματα ενσωματωμένα σε μια εξωκυττάρια θεμέλια ουσία (ECM, που αποτελείται κυρίως από κολλαγόνο τύπου IV , γλυκοπρωτεΐνες και πρωτεογλυκάνες. Τα συστατικά αυτά διασπώνται από τη δραστηριότητα των κολλαγενασών και μπορούν στη συνέχεια να αποικοδομηθούν από τα μακροφάγα και άλλες πρωτεάσες. Τα προκύπτοντα θραύσματα κολλαγόνου διεγείρουν επιπλέον ινοβλάστες και μακροφάγα και έτσι προκαλούν έναν χημειοτακτικό καταράκτη, ο οποίος θα οδηγήσει στον καθαρισμό του τραύματος και στην επιτάχυνση της επιθηλιοποίησης. Επιπλέον, το κολλαγόνο περιλαμβάνει το 70-80% του ξηρού βάρους του

δέρματος και είναι το κύριο συστατικό της ανθρώπινης δερμίδας, ως εκ τούτου αποτελεί και το κύριο συστατικό του μη βιώσιμου ιστού (Dissemond,2003).

Σε αντίθεση με τις κολλαγενάσες των θηλαστικών, η βακτηριακή κολλαγενάση διασπά τη δομή της τριπλής έλικας διαφόρων κολλαγόνων σε πολλαπλά σημεία, δημιουργώντας έτσι μικρότερα πεπτίδια, που επάγουν περαιτέρω την αποικοδόμηση του κολλαγόνου. Η βακτηριακή κολλαγενάση προάγει την επούλωση του τραύματος, επειδή διασπά τους δεσμούς κολλαγόνου, που συνδέουν τον μη βιώσιμο ιστό με την επιφάνεια του τραύματος και

με τη διάλυση των τμημάτων κολλαγόνου μέσα στο τραύμα. Τα συνηθέστερα χρησιμοποιούμενα προϊόντα για τον ενζυματικό καθαρισμό τραυμάτων περιέχουν την κολλαγενάση *Clostridiopeptidase* από το βακτήριο *Clostridium histolyticum*. Υπάρχουν διάφορα ένζυμα που μπορούν να χρησιμοποιηθούν για ενζυματικό καθαρισμό πέραν της κολλαγενάσης, π.χ. η παπαΐνη ή η στρεπτοκινάση. Το μοναδικό προϊόν με κολλαγενάση που έχει λάβει έγκριση από τον FDA αποτελεί η αλοιφή Santyl (Ramundo,2009; Shapira,2005).

Σημαντικό πλεονέκτημα του ενζυματικού καθαρισμού αποτελεί η ευκολία και η ασφάλεια της μεθόδου. Επιπροσθέτως, η θεραπεία είναι ανώδυνη και δεν συντρέχει ο κίνδυνος της αιμορραγίας ή του τραυματισμού φυσιολογικού ιστού. Εμφανίζει εκλεκτικότητα στον τρόπο δράσης οπότε μπορεί να είναι κατάλληλη για χρήση σε θεραπείες μακροχρόνιας φροντίδας και για εξωνοσοκομιακές θεραπείες φροντίδας τραύματος.

Ωστόσο απαιτείται προσοχή για τα ξερά τραύματα , καθώς τα πρωτεολυτικά ένζυμα για να δράσουν χρειάζεται να βρίσκονται συνεχώς σε επαρκώς ενυδατωμένο περιβάλλον. Επίσης, η χρήση αντισηπτικών ή σαπουνιών πρέπει να αποφεύγεται καθώς τα πρωτεολυτικά ένζυμα καθίστανται ανενεργά παρουσία αυτών των διαλυμάτων. Εάν η πληγή είναι μολυσμένη θα πρέπει να καθαριστεί καλά πριν την εφαρμογή των ενζυματικών προϊόντων και ο ασθενής εν συνεχεία να βρίσκεται υπό αντιμικροβιακή αγωγή από του στόματος.

Ακόμη, κάποια πρωτεολυτικά ένζυμα (π.χ. παπαΐνη) μπορεί να προκαλέσουν ερεθισμό του φυσιολογικού δέρματος γύρω από το τραύμα , με κλινικές ενδείξεις φλεγμονής και δυσφορίας για τον ασθενή (Dissemond,2006; Mekkes,1998; Smith,2008).

Μικροβιακό Φορτίο

Το φυσιολογικό δέρμα αποτελεί ισχυρό φραγμό για την είσοδο των μικροοργανισμών στο σώμα. Τόσο τα οξέα, όσο και τα χρόνια τραύματα είναι επιρρεπή σε μικροβιακή μόλυνση, λόγω της ασυνέχειας του δερματικού φραγμού (Thomas2008;Percival 2011). Η διαταραχή της ακεραιότητας του δέρματος επιτρέπει τον μικροβιακό αποικισμό και πολλαπλασιασμό στον υποδόριο ιστό, παρέχοντας την κατάλληλη υγρασία, θερμοκρασία και θρεπτικό υλικό. Η παρουσία ξένων σωμάτων και του νεκρωτικού ιστού αφήνει εκτεθειμένο το τραύμα στον πολλαπλασιασμό των μικροβίων (Robson, 1997).

Τα δερματικά τραύματα αποικίζονται από αερόβια, αναερόβια βακτηριακά και μυκητιακά στελέχη, τα περισσότερα από τα οποία ανήκουν στη φυσιολογική μικροβιακή χλωρίδα του δέρματος, της στοματικής κοιλότητας και του εντέρου ή από το εξωτερικό περιβάλλον (Serban ,2014). Αερόβια ή δυνητικά παθογόνα βακτήρια όπως *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Klebsiella spp.*, *Enterobacter spp.*, *Enterococcus spp.* και ο βήτα-αιμολυτικός στρεπτόκοκκος, καθώς επίσης *Candida spp.* αποτελούν τις

βασικές αιτίες καθυστερημένης επούλωσης και της μόλυνσης τόσο στις οξείες όσο και στις χρόνιες πληγές, ιδιαίτερα στις χειρουργικές (Duerden, 1994, Mangram et al., 1999). Τα αναερόβια *Bacteroides fragilis*, *Clostridium perfringens*, *Porphyromonas spp.* *Peptostreptococcus spp.* και *Prevotella spp.* Αποτελούν τα συχνότερα είδη που εμπλέκονται σε μαλακούς ιστούς και μολύνσεις τραύματος από δείγμα (Brook, 1996; Brook and Randolph, 1981 ; Brook and Frazier, 1990).

Η μόλυνση των τραυμάτων από μικροοργανισμούς μαρτυρά την ύπαρξη μολυσματικών παραγόντων , που ξεπερνούν το ανοσοποιητικό σύστημα του ασθενούς, ακολουθούμενη από τη διάδοση των μικροβίων και την διείσδυση στους υποκείμενους ιστούς (Peel, 1992). Τα βακτήρια και οι τοξίνες τους προκαλούν την φλεγμονώδη αντίδραση του οργανισμού και βλάβες στους ιστούς. Η μόλυνση των τραυμάτων είναι σημαντικός ανασταλτικός παράγοντας της επούλωσης και γι' αυτό θα πρέπει να αντιμετωπίζεται άμεσα πριν τα μικρόβια πολλαπλασιαστούν ανεξέλεγκτα και εισέλθουν στη συστηματική κυκλοφορία προκαλώντας γενικευμένη μόλυνση, ακόμη και θάνατο.

Η φλεγμονή αποτελεί ένα φυσιολογικό στάδιο της διαδικασίας επούλωσης και διαδραματίζει σημαντικό ρόλο για την απομάκρυνση των μολυσματικών μικροοργανισμών. Ωστόσο, ελλείψει αποτελεσματικής αντισηψίας, η φλεγμονή μπορεί να παραταθεί, καθώς η μικροβιακή κάθαρση είναι ελλιπής. Τόσο τα βακτηρίδια, όσο και οι ενδοτοξίνες μπορούν να οδηγήσουν στην παρατεταμένη διάρκεια της αύξησης των προ- φλεγμονωδών κυτοκινών όπως η ιντερλευκίνη- 1 (IL-1) και του TNF-α και να επιμηκύνουν τη φλεγμονώδη φάση. Εάν αυτό συνεχιστεί, η πληγή μπορεί να καταστεί χρόνια και να μην προχωρήσει η επουλωτική διαδικασία. Αυτή η παρατεταμένη φλεγμονή οδηγεί επίσης σε αυξημένο επίπεδο μεταλλοπρωτεϊνών της εξωκυττάριας μήτρας (MMPs). Σε συνδυασμό με την αυξημένη περιεκτικότητα σε πρωτεάσες παρατηρείται μειωμένη εντόπιση των αναστολέων πρωτεϊνών, με αποτέλεσμα να προκαλείται ανισορροπία. Αυτό μπορεί να οδηγήσει σε ταχεία αλλοίωση των αυξητικών παραγόντων που εμφανίζονται σε χρόνιες πληγές (Edwards και Harding, 2004, Menke et al., 2007).

Ενυδάτωση πληγών

Τα επίπεδα ενυδάτωσης της πληγής χρειάζεται να διατηρούνται υψηλά καθώς η αφυδάτωση οδηγεί σε κυτταρικό θάνατο.

- Η επούλωση απαιτεί τη δράση διαφόρων κυττάρων όπως είναι τα ουδετερόφιλα τα μακροφάγα , οι ινοβλάστες κ.α. Τα κύτταρα αυτά δεν λειτουργούν σε αφυδατωμένο περιβάλλον.
- Τα κύτταρα που είναι απαραίτητα για την αγγειογένεση απαιτούν επίσης

ενυδατωμένο περιβάλλον.

- Ενίσχυση αυτολυτικού καθαρισμού. Σε ενυδατωμένο περιβάλλον τα ουδετερόφιλα κύτταρα δρουν και τα πρωτεολυτικά ενζύμα συσσωρεύονται στην περιοχή του τραυματος επιφέροντας νεαροποίηση. Τα προϊόντα αποικοδόμησης του ινώδους είναι παράγοντες που προσελκύουν τα μακροφάγα τα οποία με τη σειρά τους θα εκκρίνουν αυξητικούς παράγοντες για την επίτευξη της επούλωσης.
- Άυξηση την επιθηλιοποίησης. Τα επιδερμικά κύτταρα πρέπει να εξαπλωθούν σε όλη την επιφάνεια της πληγής ξεκινώντας από τις άκρες της και γι'αυτό χρειάζονται θρεπτικά συστατικά και καλή αιμάτωση της περιοχής. Ξηρές, αφυδατωμένες πληγές με κρούστες μεινουν των παροχή του αίματος και των θρεπτικών συστατικών , δημιουργώντας έτσι ένα εμπόδιο στη μετανάστευση των κυττάρων και επιβραδύνοντας την επιθηλιοποίηση τους.
- Μείωση του πόνου. Μια ενυδατωμένη πληγή μονώνει και προστατεύει τις νευρικές απολήξεις μειώνοντας έτσι τον πόνο (Hamionwitz,1997). Τοπικά χορηγούμενοι φαρμακευτικοί παράγοντες για την επουλωτική διαδικασία.

Πληθώρα τοπικών παραγόντων έχουν ανακαλυφθεί για την θεραπεία ελκών με σημαντικά δεδομένα τόσο *in vitro* όσο και *in vivo*. Η επουλωτική διαδικασία περιλαμβάνει την συμμετοχή πολλών ειδών κυττάρων όπως τα κερατινοκύτταρα, τους ινοβλάστες, τα μελανοκύτταρα, τα λεμφοκύτταρα και άλλους κυτταρικούς πληθυσμούς οι οποίοι είναι ιδιαίτερα ευαίσθητοι σε τυχόν επιδράσεις τοπικών εφαρμοζόμενων ουσιών. Σε πολλές περιπτώσεις, οι επιβλαβείς επιδράσεις των τοπικών σκευασμάτων στην επούλωση των ελκών, υπερτερούν της θεραπευτικής δράσης.

Επιπλέον, ένα τραύμα χαρακτηρίζεται από διαταραγμένο φραγμό της επιδερμίδας γεγονός που το καθιστά περισσότερο ευαίσθητο στην εφαρμογή παραγόντων που θα μπορούσαν να θεωρηθούν αβλαβείς για το φυσιολογικό δέρμα, αλλά από την άλλη πλευρά, η ιδιότητα αυτή επιτρέπει την διείσδυση τοπικών παραγόντων διευρύνοντας έτσι την πιθανότητα ευεργετικών επιδράσεων (Cross, 2007).

1.6. Τοπικά χορηγούμενοι αναπλαστικοί / επουλωτικοί παράγοντες

Αρκετές επουλωτικές κρέμες κυκλοφορούν στο εμπόριο και χρησιμοποιούνται στην κλινική πρακτική για την επούλωση ελκών. Παρακάτω γίνεται μία σύντομη αναφορά ορισμένων εκ των πιο κοινών:

1.6.1. Υαλουρονικό οξύ

Το υαλουρονικό οξύ (HA) είναι ένας πολυσακχαρίτης που ανήκει στην οικογένεια των γλυκοζαμινογλυκανών και αποτελείται από μια βασική μονάδα δύο σακχάρων, γλυκουρονικού οξέος και N-ακετυλο-γλυκοζαμίνης. Το HA συνήθως υπάρχει ως υψηλή μοριακή μάζα στο αρθρικό υγρό που περιβάλλει τις αρθρώσεις, στους χόνδρους και στους ιστούς του ματιού και το δέρμα.

Πρόσφατες μελέτες έχουν ξείξει την αποτελεσματικότητα του υαλουρονικού οξέος στην επουλωτική διαδικασία καθώς διευκόλυνε την επανα-επιθηλιοποίηση, οδήγησε στο σχηματισμό μαλακού ιστού με καλή ελαστικότητα και αυξημένη μικροαγγειακή πυκνότητα. Το υαλουρονικό οξύ έδειξε επίσης πολλά υποσχόμενα αποτελέσματα για την επιδιόρθωση των συνδετικών ιστών (Neuman MG et al, 2015). Το υαλουρονικό οξύ είναι βασικό συστατικό πολλών κρεμών του εμπορίου που χρησιμοποιούνται στην κλινική πρακτική.



Εικόνα 8 Σχηματική αναπαράσταση της επίδρασης του υαλουρονικού οξέος στις διάφορες φάσεις της επούλωσης

1.6.2. Εκχύλισμα του φυτού *Calendula officinalis* , Asteraceae

Τα άνθη της καλέντουλας έχουν θεωρηθεί ευεργετικά για τη μείωση των φλεγμονών και τη γρήγορη αποθεραπεία πληγών, λόγω των αντισηπτικών τους δυνατοτήτων και εκχυλίσματα του φυτού χρησιμοποιούνται εδώ και δεκαετίες. *In vivo* μελέτες παρέχουν στοιχεία για βελτιωμένη ανάκτηση από τη φάση φλεγμονής και αυξημένη παραγωγή κοκκιδώδους ιστού σε θεραπεία ελκών με εκχύλισμα *Calendula*. Γενικότερα, το εκχύλισμα *Calendula officinalis* έχει δείξει ευεργετικά αποτελέσματα στην επούλωση ελκών, σύμφωνα με το ρόλο του φυτού στην παραδοσιακή ιατρική. Υπάρχει όμως ανάγκη για μεγαλύτερες, καλά σχεδιασμένες τυχαιοποιημένες δοκιμές ελέγχου για την εκτίμηση της επίδρασης του *Calendula* στην επούλωση τραυμάτων (Givol O. et al, 2019). Πολλές επουλωτικές κρέμες του εμπορίου περιέχουν εκχύλισμα *Calendula officinalis*.

1.6.3 Οξείδιο του Zn (Zno)

Το οξείδιο του ψευδαργύρου χρησιμοποιείται εκτεταμένα στην βιομηχανία λόγω των πολλαπλών ιδιοτήτων του. Αποτελεί ένα αδρανές ορυκτό που χρησιμοποιείται ως πηκτικό, λευκαντικό, λιπαντικό και αντηλικά συστατικό στα καλλυντικά καθώς ανακλά και τις UVA αλλά και τις UVB ακτίνες της υπεριώδους ακτινοβολίας. Στην επούλωση χρησιμοποιείται κυρίως ως παράγοντας αδιαβροχής για την αποφυγή της επέκτασης του έλκους λόγω του εκτεταμένου εξιδρώματος: δηλαδή για προστασία του περιβάλλοντος του έλκους δέρματος (Gutha Y et al, 2017). Στην κλινική πρακτική χρησιμοποιείται ευρέως ως συμπληρωματική θεραπεία πέριξ του έλκους.

1.6.4. Τοπικά χορηγούμενοι παράγοντες νεαροποίησης

Η λέξη debridement προέρχεται από την γαλλική λέξη débridement , που μεταφράζεται ως “απομάκρυνση ενός περιορισμού. Στην κλινική ως “νεαροποίηση” ή “χειρουργικό καθαρισμό” επισημαίνεται η απομάκρυνση κάθε μη βιώσιμου, νεκρωμένου ή μολυσμένου ιστού από την περιοχή του έλκους με στόχο την προαγωγή της επούλωσης. Είναι βασικό κομμάτι της περιποίησης ελκών αφού επάγει τους μηχανισμούς επούλωσης. (Granick,2007, Elliot 1964, Atkin,2014).

1.6.5. Κολλαγενάση

Η κολλαγενάση είναι μία μεταλλοπρωτεϊνάση της θεμέλιας ουσίας εξαρτώμενη από ψευδάργυρο. Η βακτηριακή κολλαγενάση διασπά τη δομή της τριπλής έλικας διαφόρων κολλαγόνων σε πολλαπλά σημεία προωθώντας έτσι την επούλωση του έλκους καθώς διασπά τους δεσμούς κολλαγόνου που συνδέουν τον μη βιώσιμο ιστό με την επιφάνεια του έλκους. Τα συνθιθέστερα χρησιμοποιούμενα προϊόντα για τον ενζυματικό καθαρισμό περιέχουν την κολλαγενάση *Clostridioopeptidase A* από το βακτήριο *Clostridium histolyticum* (Ramundo et

Gray, 2019, Shapira E. et al, 2005). Στην κλινική πρακτική χρησιμοποιούνται σκευάσματα που περιέχουν κολλαγενάση ειδικά σε περιπτώσεις συσσώρευσης ρυπαρού ιστού.

1.6.6 Αφρώδη Επιθέματα

Τα αφρώδη επιθέματα (επιθέματα πολυουρεθάνης) χρησιμοποιούνται ιδιαίτερα στα διαβητικά έλκη των ποδιών. Έχουν την ιδιότητα να απορροφούν μεγάλες ποσότητες εξιδρωμάτων σε μη προσκολλημένη φύση, συνεπώς δεν προκαλούν περεταίρω τραυματισμούς κατά την αφαίρεση. Διατηρούν το κατάλληλο περιβάλλον υγρασίας αποτρέποντας την δημιουργία μόλυνσης και προάγουν την καλύτερη επούλωση πληγών (Amin N. et Doupris J,2016).

1.6.7 Αντιμικροβιακοί παράγοντες

Οι αντιμικροβιακοί που χρησιμοποιούνται στην περιποίηση των ελκών μπορούν γενικά να χωριστούν σε αντιβιοτικά, αντισηπτικά και απολυμαντικά. Καθώς τα απολυμαντικά δεν χρησιμοποιούνται σε ζωντανό ιστό και συνεπώς δεν εφαρμόζονται στους ανθρώπους, θα αναφερθούν μόνο τα αντιβιοτικά και τα αντισηπτικά. Ενώ τα αντιβιοτικά χορηγούνται εντερικά ή παρεντερικά στους ασθενείς και μπορούν να μεταφερθούν μέσω του αίματος ή του λεμφικού συστήματος σε άλλα μέρη του σώματος, τα αντισηπτικά (και μερικά αντιβιοτικά όταν εφαρμόζονται τοπικά) περιορίζονται στην τοπική χρήση. Ιδανικά, τα αντιμικροβιακά παρασκευάσματα που προορίζονται για την περιποίηση των πληγών πρέπει να διαθέτουν ένα ευρύ φάσμα αντιμικροβιακής δράσης, να είναι ταχέως ενεργά και σταθερά, χωρίς να προάγουν ανθεκτικά βακτηριακά στελέχη. Επιπλέον, αυτοί οι παράγοντες θα πρέπει να χαρακτηρίζονται από μηδαμινή κυτταροτοξικότητα για τον ιστό του ξενιστή, να μην προκαλούν ανεπιθύμητες ενέργειες, να μην είναι μεταλλαξιογόνες/καρκινογόνες και να μην παρατείνουν την επούλωση πληγών. Οι μεταλλαξιογόνοι και καρκινογόνοι παράγοντες δεν έχουν θέση στην φροντίδα του τραύματος, αλλά η εξισορρόπηση της αντιμικροβιακής αποτελεσματικότητας έναντι της κυτταροτοξικότητας είναι δύσκολη (Gotttrup F, et. al., 2013).

1.6.8. Αντισηπτικοί παράγοντες

Είναι κοινώς αποδεκτό ότι τα αντισηπτικά δύναται να χρησιμοποιηθούν για να καθαρίσουν και να προστατεύσουν τους ιστούς ενός τραύματος έναντι της βακτηριακής λοίμωξης (Cross, 2007). Τα αντισηπτικά διαλύματα (υδραργυρικά, τεταρτοταγείς ενώσεις αμμωνίας, ιώδιο και ιωδιούχα, αλκοόλες, χλωρεξιδίνη και υπεροξείδιο του υδρογόνου) είναι χημικές ενώσεις που προορίζονται για την εφαρμογή σε ανέπαφο δέρμα (Smith, 2005). Έχει αποδειχθεί ότι τα αντισηπτικά έχουν βλαπτικές επιδράσεις σε λευκοκύτταρα, ινοβλάστες, στην επιθηλιοποίηση και στην απόθεση κολλαγόνου, επομένως και στην επουλωτική διαδικασία. (Tatnall et al., 1990; Brown και Zitelli, 1993). Η σύγκριση τοξικότητας των αντισηπτικών έναντι των

ινοβλαστών και των κερατινοκυττάρων *in vitro* έχει προταθεί σαν κατευθυντήρια γραμμή για τη χρήση τους (Wilson et al., 2005). Η διαμάχη για την ασφάλεια των αντισηπτικών συνεχίζεται λόγω έλλειψης επαρκών κλινικών μελετών (Smith, 2005).

1.6.9 Οξικό οξύ

Το οξικό οξύ χρησιμοποιείται στην θεραπευτική για περισσότερα από 6000 χρόνια για την απολύμανση τραυμάτων και ιδιαίτερα ως αντισηπτικό μέσο στη θεραπεία και στη προφύλαξη της πανώλης. Έχει παρατηρηθεί ότι το οξικό οξύ διαθέτει εξαιρετική βακτηριοκτόνο, ιδιαίτερα εναντίον των Gram αρνητικών βακτηρίων όπως *P. aeruginosa*, *A. baumannii* και *P. vulgaris* (Ryssel et al., 2009), χωρίς να επηρεάζει την διαδικασία της επούλωσης που συνήθως προκαλούν τα αντισηπτικά διαλύματα. (Bennett et al., 2001)

1.6.10. Αντιβιοτικοί παράγοντες

Τα τοπικά αντιβιοτικά χορηγούνται συχνότερα κατά την θεραπεία εγκαυμάτων, δίχως η χρήση τους σε άλλους τύπους πληγών να αντενδείκνυται (Cross, 2007). Η τοπική οδός εφαρμογής έχει ως πλεονέκτημα την ελαχιστοποίηση της συστηματικής απορρόφησης που συνδέεται με παρενέργειες, την επίτευξη υψηλών συγκεντρώσεων φαρμάκου τοπικά στο έλκος και υποθετικά μειωμένη επαγωγή βακτηριακής αντίστασης (Lio και Kaye, 2004)

1.6.11 Πολυμυξίνες

Οι πολυμυξίνες είναι αμφιπαθητικά μόρια λιποπεπτιδίων που προέρχονται από τα προϊόντα ζύμωσης των βακτηρίων *Paenibacillus polymyxa* (Stansly PG et al., 1947). Πέντε διαφορετικές πολυμυξίνες (A, B, C, D και E) απομονώθηκαν αρχικά, αλλά μόνο η πολυμυξίνη B και η πολυμυξίνη E (κολιστίνη) είναι διαθέσιμες για κλινική χρήση. (Kwa et al., 2007). Τόσο η πολυμυξίνη B όσο και η κολιστίνη είναι δραστικές έναντι αρκετών Gram αρνητικών βακτηρίων, συμπεριλαμβανομένων των *Acinetobacter* spp, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella* spp, *Enterobacter* spp, *Escherichia coli*, *Salmonella* spp, *Shigella* spp, *Yersinia* spp και *Citrobacter* spp.

Ωστόσο, όλα τα θετικά κατά Gram βακτήρια, τα αναερόβια και ορισμένα Gram αρνητικά (*Proteus* spp., *Providencia* spp, *Morganella morganii*, *Serratia* spp και *Burkholderia cepacia*) είναι εγγενώς ανθεκτικά στις πολυμυξίνες (Kwa et al., 2008). Σε πρόσφατες μελέτες, αποδείχθηκε ότι η πολυμυξίνη B έχει και αντιμυκητιασική δραστικότητα ευρέος φάσματος σε σχετικώς υψηλές συγκεντρώσεις και επιδεικνύει συνέργεια με την φλουκοναζόλη έναντι *Candida glabrata* και *Cryptococcus neoformans* (Zhai et al., 2010).

Μετά τη σύνδεση με λιποπολυσακχαρίτη (LPS) στην εξωτερική μεμβράνη Gramαρνητικών βακτηρίων, οι πολυμυξίνες διαταράσσουν τόσο την εξωτερική όσο και την εσωτερική

μεμβράνη. Η υδρόφοβη ουρά παίζει σημαντικό ρόλο για την πρόκληση βλάβης στη μεμβράνη, με δράση παρόμοια με αυτής των απολυμαντικών (Velkov T. et al., 2013).

1.6.12. Γενταμικίνη

Η γενταμικίνη αποτελεί ένα αντιβιοτικό ευρέος φάσματος που ανακαλύφθηκε το 1963, ανήκει στην κατηγορία των αμινογλυκοσιδών και προέρχεται από το βακτήριο *Micromonospora purpurea*. Χρησιμοποιείται σε πολλές περιπτώσεις όπως σε λοιμώξεις των οστών, ενδοκαρδίτιδα, πυελική φλεγμονώδη νόσο, μηνιγγίτιδα, πνευμονία, λοιμώξεις του ουροποιητικού συστήματος κ.α.. Μπορεί να χορηγηθεί ενδοφλέβια, ενδομυϊκά ή τοπικά. (Drugs.com, 2017). Η γενταμικίνη έχει βακτηριοκτόνο δράση και λειτουργεί με μη αντιστρεπτή δέσμευση της υπομονάδας 30S του βακτηριακού ριβοσώματος, διακόπτοντας τη σύνθεση πρωτεϊνών. Αυτός ο μηχανισμός δράσης είναι παρόμοιος και στις άλλες αμινογλυκοσίδες (Drugbank.ca, 2017).

1.6.13. Αργυρούχος σουλφαδιαζίνη

Η αργυρούχος σουλφαδιαζίνη αποτελεί ένα αντιβιοτικό που ανήκει στην ομάδα των σουλφοναμιδών, (Galinos.gr, 2017) με βακτηριοκτόνο δράση για πολλά Gram αρνητικά και Gram θετικά βακτήρια.

Ένας συγκεκριμένος μηχανισμός δράσης δεν έχει προσδιοριστεί, η αποτελεσματικότητα της αργυρούχου σουλφαδιαζίνης μπορεί να οφείλεται σε μια συνεργιστική αλληλεπίδραση ή στην επιμέρους δράση κάθε συστατικού. Ο άργυρος είναι ένα βιοκτόνο με ένα ευρύ φάσμα. Τα ιόντα αργύρου δεσμεύονται με νουκλεόφιλα αμινοξέα, καθώς και με σουλφυδρυλικές, ιμιδαζολικές, φωσφορικές και καρβοξυλικές ομάδες και αμινομάδες, σε πρωτεΐνες, προκαλώντας μετουσίωση των πρωτεϊνών και αναστολή ενζύμων. Η σουλφαδιαζίνη είναι ένας ανταγωνιστικός αναστολέας του βακτηριακού παρα-αμινοβενζοϊκού οξέος (PABA), ενός υποστρώματος της ενζυματικής dihydropteroate συνθετάσης, αναστέλλοντας την απαραίτητη αντίδραση για τη σύνθεση του φολικού οξέος (Drugbank.ca, 2017).

1.6.14. Σουκραλφάτη

Η σουκραλφάτη αποτελεί ένα βασικό άλας αλουμινίου οκτασουλφονικής σακχαρόζης που χρησιμοποιήθηκε από το στόμα για την πρόληψη και τη θεραπεία πολλών γαστρεντερικών ασθενειών περιλαμβανομένης της γαστροοισοφαγικής παλινδρόμησης, του γαστρικού και δωδεκαδακτυλικού έλκους. Η δράση της σουκραλφάτης είναι μη συστηματική καθώς το φάρμακο απορροφάται ελάχιστα από το γαστρεντερικό σωλήνα. Πρόσφατες μελέτες έχουν χρησιμοποιήσει sucralfate ως τοπικό φάρμακο για την επούλωση διάφορων τύπων επιθηλιακών τραυμάτων π.χ. έλκη, φλεγμονώδη δερματίτιδα, βλεννογονίτιδα και εγκαύματα. Η επιθηλιακή επούλωση τραυμάτων είναι μια καλά ενορχηστρωμένη διαδικασία που περιλαμβάνει αιμόσταση, φλεγμονώδη αντίδραση, πολλαπλασιασμό κυττάρων και

αναδιαμόρφωση ιστού που οδηγεί στην ανάπτυξη ιστού κοκκιώσεως και στην πλήρωση του χώρου του τραύματος. Αυτή η αναφορά θα αναθεωρήσει τις κλινικές ενδείξεις σχετικά με τη χρήση τοπικής σουκραλφάτης για τη διαχείριση των επιθηλιακών βλαβών και την αντιμετώπιση της τρέχουσας γνώσης σχετικά με τους μοριακούς μηχανισμούς δράσης αυτής της ένωσης προς την επιθηλιακή διαδικασία επούλωσης πληγών και θα συζητήσουν επίσης σχετικά διπλώματα ευρεσιτεχνίας (Masuelli L et al, 2010).

1.6.15. Αιμοστατικοί Παράγοντες

Παρά τις πιθανές επιπλοκές που παρουσιάζουν αρκετοί ευρέως διαδεδομένοι αιμοστατικοί παράγοντες στην χειρουργική, δεν φαίνεται να έχουν αλλάξει τα τελευταία 50 χρόνια. Ένα από τα πιο χρησιμοποιούμενα αιμοστατικά είναι το διάλυμα υποθειώδους σιδήρου ή διάλυμα Monsel. Αυτό το διάλυμα επιτυγχάνει αιμόσταση δρώντας τοπικά με πρόκληση μετουσίωσης των πρωτεϊνών του πλάσματος ακολουθούμενη από αγγειακή θρόμβωση. Με παρόμοιο τρόπο δρουν και άλλοι τέτοιου είδους παράγοντες, όπως διαλύματα χλωριούχου αργιλίου (Larson, 1988).

Το διάλυμα Monsel έχει αποδειχθεί ότι έχει μακροχρόνια κυτταροτοξική δράση, καθυστερεί την επούλωση και προκαλεί αισθητά μεγαλύτερες ουλές στα έλκη (Amazon et al., 1980; Epstein, 1986). Ως αιμοστατικοί παράγοντες χρησιμοποιούνται επίσης σκευάσματα περιέχοντα ζελατίνη, κολλαγόνο, ινώδες και θρομβίνη και εφαρμόζονται μέσω επιδέσμων στο τραύμα (Tomizawa, 2005).

1.6.16. Αυξητικοί παράγοντες

Η τοπική χορήγηση αυξητικών παραγόντων για την διέγερση των κυττάρων που εμπλέκονται στην επούλωση των έλκων, έχει εδώ και χρόνια προταθεί σαν ελκυστική θεραπευτική προσέγγιση. Οι αυξητικοί παράγοντες προερχόμενοι από τα αιμοπετάλια (PDGF) διεγείρουν την μετάβαση κυττάρων φλεγμονής στην τραυματική περιοχή, προάγοντας την αγγειογένεση και τον σχηματισμό κοκκιωματώδους ιστού. (Cross, 2007). Οι θεραπείες του αυξητικού παράγοντα με την ικανότητα να στοχεύουν για τοπική απελευθέρωση στο μικροπεριβάλλον του τραύματος είναι πολύ ελπιδοφόρες, ιδιαίτερα όταν ρυθμίζουν τις διαδικασίες στην πολλαπλασιαστική φάση της επούλωσης του τραύματος (Zielins ER et al, 2015).

1.7 Δραστικές ουσίες που εξετάστηκαν στη μελέτη

1.7.1 Διασπάση

Τα πρωτεολυτικά ένζυμα ή πρωτεάσες υδρολύουν τους πεπτιδικούς δεσμούς των πρωτεϊνών. Κρυσταλλογραφικές δομές τους δείχνουν ότι η ενεργός θέση βρίσκεται συνήθως σε ένα ‘‘αυλάκι’’ στην επιφάνεια του μορίου.

Η διασπάση αποτελεί μια ιδιαίτερα σταθερή Zn-μεταλλοενδοπεπτιδάση, που παράγεται από το βακτήριο *Paenibacillus polymyxa*. Συμμετέχει στη δημιουργία βητα- και αλφα- αμυλασών από την πρόδρομη αμυλάση. Όπως φαίνεται σε κυτταρικές καλλιέργειες σε σχέση με το ένζυμο που χρησιμοποιείται συνήθως τη θρυψίνη είναι λιγότερο τοξική για τα κύτταρα της καλλιέργειας (Alvarez et al. 2006).

Τη δεκαετία του 1950 η διασπάση κρυσταλλώθηκε και χαρακτηρίστηκε από το βακτήριο *Bacillus subtilis* και υποστηρίχθηκε ότι αποτελούσε εξωκυτταρικό προϊόν (Fukumoto and egoro 1951, Guntelburg 1954, Ottesen and Spector 1960). Τη δεκαετία του 1970 οι πρωτεάσες από τα *Bacillus thermoproteolyticus* (Keay et al. 1970), *Bacillus megaterium* (Millet et al. 1969), *Bacillus cereus* (Feder et al. 1971), *Streptomyces griseus* (Nomoto et al. 1959), *Aspergillus oryzae* (Misaki et al. 1970), και *Serratia* (Miyata 1971) μελετήθηκαν προκαταρκτικά. Έπειτα, οι Griffin και Fogarty μελέτησαν τα πρωτεολυτικά ένζυμα του *Bacillus polymyxa* και αναφέρθηκαν στις επιδράσεις διαφορετικών παραγόντων που επηρεάζουν τις πρωτεολυτικές ιδιότητες (Griffin and Fogarty 1971 and 1973). Έρευνες που έγιναν στις αρχές της δεκαετίας του 1980 μαρτυρούν τη χρήση της διασπάσης ως μέσο διαχωρισμού επιδερμικών κυττάρων (Kitano and Okada 1983). Τέλος το 1993 ο Ash έκανε σύγκριση μεταξύ των αλληλουχιών του 16S rRNA γονιδίου από διαφορετικά είδη *Bacillus* και προσδιόρισε ένα νέο γένος, που ονομάστηκε *Paenibacillus* στο οποίο το παλαιότερα *Bacillus polymyxa* τώρα χαρακτηριζόταν, ως *Paenibacillus polymyxa* (Ash et al. 1991 and 1993).

Η διασπάση είναι μία μη ειδική μεταλλοπρωτεάση. Διαχωρίζει τη φιμπρονεκτίνη, το κολλαγόνο τύπου IV και σε πολύ μικρότερο ποσοστό το τύπου I, αλλά παράλληλα δεν επηρεάζει το κολλαγόνο τύπου V και τη λαμίνη. Υδρολύει N-τελικούς πεπτιδικούς δεσμούς από υπολείμματα μη πολικών αμινοξέων και μπορεί να προσβάλλει μετουσιωμένες και διακυτταρικές πρωτεΐνες με εκτεθειμένα υδρόφιλα υπολείμματα αμινοξέων. Θεωρείται ότι δεσμεύει ένα ιόν ψευδαργύρου και τέσσερα ιόντα ασβεστίου ανά υπομονάδα. Η διασπάση είναι ειδική για τη διάσπαση των δεσμών λευκίνης-φαινυλαλανίνης. Σε αντίθεση με άλλα είδη *Bacillus*, που παράγουν ουδέτερες, αλκαλικές ή ένα μείγμα και των δύο ειδών πρωτεασών, το *Paenibacillus polymyxa* είναι ένα από τα τρία είδη, που παράγουν μόνο ουδέτερες πρωτεάσες (Fogarty and Griffin 1973). Η διασπάση χρησιμοποιείται για τη λήψη των κυττάρων από ιστούς και για τη παρεμπόδιση της ανεπιθύμητης συσσώρευσης τους. Επίσης στην προετοιμασία των κυττάρων για καλλιέργεια και για το διαχωρισμό της άθικτης επιδερμίδας από το χόριο και των επιθηλιακών κυττάρων της επιδερμίδας από το υπόστρωμα της καλλιέργειας (Kurt et al. 1989). Ακόμη για την παραλαβή και τη μεταφορά κανονικών ή διπλοειδών κυττάρων και κυτταρικών σειρών (Matsumura et. al 1975) και για απόσπαση επιδερμικών κυττάρων με ήπιο τρόπο (Kitano and Okada 1983).

Επίσης, η διασπάση έχει χρησιμοποιηθεί σε μια μελέτη για την εκτίμηση της επίδρασης της αμνιακής μεμβράνης στο μέγεθος της πληγής στα αρχικά στάδια της διαδικασίας επούλωσης. Η αμνιακή μεμβράνη αποτελεί ένα πολύ λεπτό στρώμα ιστού που λαμβάνεται από τον πλακούντα των εγκύων γυναικών και μετά από ειδική επεξεργασία μπορεί να χρησιμοποιηθεί στη θεραπεία πολλών παθήσεων της οφθαλμικής επιφάνειας. Η τεχνική της μεταμόσχευσης της αμνιακής μεμβράνης χρησιμοποιείται τα τελευταία 10 χρόνια στην οφθαλμολογία, καθώς μεταμοσχεύεται στην επιφάνεια του οφθαλμού για να ενισχυθεί η επούλωση (Wu, Chen, Scott and Tredget, 2007).

Έχει, ακόμη χρησιμοποιηθεί σε μια μελέτη για τη διερεύνηση ενός υποστρώματος με βάση τη διτυροσίνη για τον προσδιορισμό πρωτεάσης όπως και για την απομάκρυνση της επιδερμίδας κατά την απομόνωση των δερματικών ινοβλαστών από ποντίκια. (Chen, Tredget, Liu and Wu, 2009).

1.7.2 Οκτενιδίνη

Η διϋδροχλωρική οκτενιδίνη προορίζεται για χρήση ως αντισηπτική θεραπεία σε μικρής διάρκειας τραύματα σε περιεκτικότητα 0,1% υδατικού διαλύματος για δερματική χρήση. Σύμφωνα με τον EMA, έχει παρουσιάσει δοσοεξαρτώμενη αύξηση στον αυξητικό παράγοντα-AB (PDGF-AB), ο οποίος θα μπορούσε να σχετίζεται με θετική επίδραση στην επούλωση πληγών (European public MRL assessment report (EPMAR) Octenidine dihydrochloride, 2016). Ο παράγοντας PDGF είναι μια διμερής γλυκοπρωτεΐνη που αποτελείται από δύο αλυσίδες πολυπεπτιδίου σταθεροποιημένες με γέφυρα δισουλφιδίου, A και B, οι οποίες συναρμολογούνται ως ετεροδιμερή (PDGF-AB) ή ομοδιμερή (PDGF-AA και PDGF-BB) (Westermarck & Heldin, 2016).

Επίσης, αποτελεί ένα κατιονικό αντισηπτικό παράγοντα που ανήκει στην κατηγορία χημικών ουσιών δυπυριδίνης. Είναι δραστικό κατά Gram-θετικών και Gram-αρνητικών βακτηρίων και κάποιων μυκήτων. Εμφανίζει αποτελεσματικότητα στην στοματική υγιεινή, αποτρέποντας την πλάκα και την ουλίτιδα και για την απολύμανση του δέρματος των πρόωρων νεογνών βρεφών. Η οκτενιδίνη σε συγκεντρώσεις μικρότερες από 1,5 μM (0,94 $\mu\text{g} / \text{mL}$) έδειξε να μειώνει κάθε μικροβιακό πληθυσμό κατά περισσότερο από 99% εντός 15 λεπτών. Το *Staphylococcus epidermidis* είναι το πιο ευαίσθητο από τους υπό εξέταση μικροοργανισμούς, ενώ το *E. coli* και το *Candida albicans* ήταν τα λιγότερο ευαίσθητα. Τέλος, η οκτενιδίνη είναι πιο δραστική από τη χλωρεξιδίνη έναντι κάθε δοκιμαστικού στελέχους (Schuelke.com, 2010).

2. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

2.1 Σχεδιασμός μελέτης

Ανοιχτής ετικέτας, συγκριτική κλινική μελέτη παράλληλων ομάδων, για την αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας, της ασφάλειας και της ανοχής σκευάσματος περιέχοντος το δραστικό ένζυμο διασπάση σε σύγκριση με γνωστό επουλωτικό εμπορικό σκεύασμα, κατά τη θεραπεία ελκών προκαλούμενων με τη μέθοδο της κρυοχειρουργικής. Όλα τα υποχρεωτικά δικαιολογητικά κατατέθηκαν στην γραμματεία του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου και εκδόθηκαν οι απαραίτητες άδειες για την διεξαγωγή της μελέτης αυτής.

2.2. Χώρος

Η έρευνα πραγματοποιήθηκε στο Τμήμα Κρυοχειρουργικής επιθηλιωμάτων του Νοσοκομείου Αφροδισίων και Δερματικών Νόσων «Ανδρέας Συγγρός», υπό την έγκριση του δερματολόγου ιατρού, Διευθυντή Ε.Σ.Υ., Δρ. Παναγιωτόπουλου Αντώνιου και την επίβλεψη της δ/ντριας Ε.Σ.Υ δερματολόγου ιατρού Άννας Τάγκα.

2.3. Μέγεθος Δείγματος

Στην έρευνα εισήχθησαν συνολικά 16 ασθενείς. Από αυτούς συμπεριλήφθηκαν οι 12 στις στατιστικές συγκρίσεις καθώς είχαν ολοκληρώσει τις 21 μέρες παρακολούθησης. Στους μισούς χορηγήθηκε το φάρμακο αναφοράς και στους υπόλοιπους ασθενείς χορηγήθηκε το σκεύασμα που μελετάται, πήκτωμα με δραστικό συστατικό το ένζυμο διασπάση. Η μελέτη έλαβε χώρα στο Τμήμα Ειδικών Θεραπειών του Νοσοκομείου Αφροδισίων & Δερματικών Νόσων «Ανδρέας Συγγρός», ενώ οι μετρήσεις των ασθενών έγιναν στο Ακτινοθεραπευτικό τμήμα του νοσοκομείου.

2.4. Επιλογή ασθενών

Τα κριτήρια εισόδου στη μελέτη ήταν:

1. Ηλικία ≥ 18 ετών.
2. Κλινική διάγνωση ασθένειας που εφαρμόζεται τουλάχιστον 15 δετερόλεπτα κρυοχειρουργική x 2 κύκλους
3. Όγκοι έως 2cm
4. Όγκοι βρισκόμενοι σε περιοχές χαμηλού ρίσκου υποτροπής, επιφανειακώς επεκτεινόμενα καρινώματα
5. Περιπατητικοί ασθενείς
6. Συνεργάσιμοι και υπάκουοι στη μελέτη
7. Γραπτή συναίνεση των ασθενών, μετά από λεπτομερή ενημέρωση σχετικά με τη μελέτη.

Τα κριτήρια αποκλεισμού από τη μελέτη ήταν:

1. Βαρεία κατάσταση του ασθενούς
2. Έγκυες ή θηλάζουσες γυναίκες, ή γυναίκες που προγραμματίζουν εγκυμοσύνη κατά τη διάρκεια της μελέτης
3. Ταυτόχρονη ύπαρξη νόσου του μυοσκελετικού συστήματος, που επηρεάζει τη φυσική δραστηριότητα του ασθενή.
4. Λήψη ανοσοκατασταλτικής αγωγής ή κυτταροστατικών φαρμάκων.
5. Πιθανή οστεομυελίτιδα
6. Όγκοι διαμέτρου μεγαλύτερης των 2cm
7. Υποτροπιάζοντες όγκοι
8. Όγκοι των κάτω άκρων
9. Όγκοι με ιστολογική διάγνωση σκληροδερμοειδούς σκληρωτικού μεταυπικού ή μικτού τύπου

Διάρκεια Μελέτης: 8 μήνες

2.5. Μετρούμενα σημεία

Η αξιολόγηση πραγματοποιήθηκε με βάση την πρόοδο της επουλωτικής διαδικασίας (κοκκιωμάτωση, επιθηλιοποίηση κλπ.) και το ποσοστό μείωσης της επιφάνειας του έλκους. Για το σκοπό αυτό χρησιμοποιήθηκε ο δείκτης PUSH και μετρήσεις που αφορούν το ποσοστό βελτίωσης των βιοφυσικών παραμέτρων του νεοσχηματισθέντος ή γειτονικού του έλκους δέρματος (άδηλη απώλεια νερού, ενυδάτωση, μελανίνη, ερύθημα κτλ.), την οξυμετρία και την λήψη ειδικών φωτογραφιών που μελετάνε τα ποσοστά αιμογλοβίνης, την υφή του δέρματος το πάχος κτλ.

2.6. Διαδικασία

Παρακάτω γίνεται ανάφορά των επιμέρους τμημάτων του ερευνητικού πρωτοκόλλου που κατετέθη στο Νοσοκομείο πριν την έναρξη της μελέτης ώστε να ληφθεί η έγκριση του πειράματος.

Οι κλινικές μετρήσεις που προαναφέρθηκαν έγιναν τις ημέρες (1, 2, 7, 21, 60) του πειράματος. Η διαδικασία αναφέρεται αναλυτικά στο Έντυπο Ενημέρωσης Ασθενή (επισυνάπτεται). Τελικό σημείο της παρακολούθησης θεωρήθηκε η 8^η εβδομάδα μετά την έναρξη της. Σε περίπτωση τερματισμού της παρακολούθησης, είτε λόγω τέλους της μελέτης είτε οποιουδήποτε άλλου λόγου, θα συμπληρώνεται το Έντυπο Τέλους Μελέτης (επισυνάπτεται). Δεν υπήρξε καμία παρέμβαση στην θεραπευτική αγωγή που ακολουθούσε ήδη ο εκάστοτε ασθενής.

2.7. Ερευνητικό πρωτόκολλο

Εμπιστευτικότητα

Όλες οι πληροφορίες σε αυτό το πρωτόκολλο είναι εμπιστευτικές. Τα ονόματα των εθελοντών θα κρατηθούν απόρρητα και θα παραμείνουν απόρρητα στο μέλλον και σε οποιαδήποτε αναπαραγωγή των δεδομένων. Αμέσως μετά τη συλλογή των δεδομένων, τα ονόματα θα σβήνονται από το φύλλο εισαγωγής και θα αντικαθίστανται με έναν μοναδικό αριθμό. Οι αριθμοί θα δίνονται τυχαία, ώστε να μη μπορεί να γίνει ταυτοποίηση του ασθενή.

Οποιοσδήποτε ερευνητής, πλην του επιστημονικού υπευθύνου ιατρού, συμμετέχει άμεσα ή έμμεσα στην ανάλυση των στοιχείων της μελέτης θα πρέπει να υπογράφει δήλωση εμπιστευτικότητας προκειμένου να χειριστεί τα δεδομένα με τα ονόματα. Δήλωση εμπιστευτικότητας δε θα απαιτείται, σε όσους έχουν πρόσβαση στα κωδικοποιημένα δεδομένα.

Πρόσβαση στα αρχεία και δεδομένα θα δίνεται, από τον κύριο ερευνητή της μελέτης, μόνο στις ελεγκτικές αρχές ή στο εξουσιοδοτημένο προσωπικό για λόγους επιστημονικής ανάλυσης.

Διατήρηση Δεδομένων

Όλα τα δεδομένα από τους εθελοντές θα καταγράφονται βάσει των αρχών της Ορθής Κλινικής Πρακτικής (Good Clinical Practice, GCP). Οι πληροφορίες οι οποίες θα εμφανίζονται σε αυτά τα έγγραφα θα θεωρηθούν ως πηγή πληροφοριών. Όλα τα αρχεία και τα έγγραφα θα είναι διαθέσιμα προς επιθεώρηση από τις αρχές. Θα πρέπει να φυλάσσονται για μια χρονική περίοδο τουλάχιστον 2 χρόνων από την αποπεράτωση της μελέτης.

Αναθεωρήσεις – Τροποποιήσεις στο Πρωτόκολλο

Δεν επιτρέπονται αναθεωρήσεις και/ή τροποποιήσεις του πρωτοκόλλου χωρίς την έγγραφη έγκριση του κύριου ερευνητή. Στην περίπτωση αναθεωρήσεων ή τροποποιήσεων στο πρωτόκολλο, θα πρέπει να κατατίθεται το τροποποιημένο πρωτόκολλο στην επιστημονική επιτροπή του νοσοκομείου «Ανδρέας Συγγρός».

Στην περίπτωση αμελητέων ή διοικητικών αλλαγών (πχ. αριθμός τηλεφώνου, τυπογραφικά λάθη), το τροποποιημένο πρωτόκολλο θα υποβληθεί στην επιστημονική επιτροπή για ενημερωτικούς σκοπούς μόνο και δεν θα απαιτείται ούτε θα ζητείται

καμία έγκριση. Ωστόσο, για μια σημαντική τροποποίηση, η οποία μπορεί να οδηγήσει σε αλλαγή στο σχεδιασμό της μελέτης το τροποποιημένο πρωτόκολλο θα πρέπει να λάβει νέα έγκριση.

Παρακολούθηση

Με σκοπό να λάβει γνώση, ο κύριος ερευνητής μπορεί να έχει πρόσβαση οποιαδήποτε στιγμή στα αρχεία και τα έγγραφα, καθώς και να παρακολουθήσει τις συνθήκες και την πρόοδο της μελέτης.

Τήρηση του Πρωτοκόλλου

Η μελέτη διεξήχθη σύμφωνα με τις συνθήκες και τις προϋποθέσεις που περιγράφονται στο πρωτόκολλο. Αποκλίσεις από το πρωτόκολλο θα καταγράφονται και θα τεκμηριώνονται. Εάν κριθούν αναγκαίες, αναθεωρήσεις και τροποποιήσεις, θα εφαρμόζονται σύμφωνα με τις διαδικασίες που παρατίθενται παραπάνω.

Τερματισμός της μελέτης

Ο επιστημονικός υπεύθυνος (κύριος ερευνητής) διατηρεί το δικαίωμα να διακόψει ή να αναστείλει τη μελέτη για οποιοδήποτε λόγο, οποιαδήποτε στιγμή. Ο κύριος ερευνητής θα ενημερώσει τις αρχές και τους εθελοντές. Όταν κριθεί αναγκαίο, κατάλληλη επακόλουθη θεραπεία θα προσφέρεται στους εθελοντές.

Δημοσιεύσεις

Είναι πιθανή δημοσίευση των αποτελεσμάτων αυτής της μελέτης για επιστημονικούς λόγους.

Τα αποτελέσματα και συμπεράσματα της μελέτης θα ανακοινωθούν σε συνέδρια και ημερίδες σχετικές με Θέματα Νοσηλευτικής, Ιατρικής και Δημόσιας Υγείας καθώς και σε Διεθνή περιοδικά που αποδελτιώνονται σε Διεθνείς βάσεις δεδομένων με δείκτη απήχησης.

Ηθικά θέματα

Το παρόν πρωτόκολλο θα εκτελεστεί σύμφωνα με τους κανόνες Ορθής Κλινικής Πρακτικής (GCP), την Οδηγία 2001/20/EC της Ευρωπαϊκής Ένωσης, τον Κώδικα Ομοσπονδιακών Κανονισμών των Η.Π.Α. (21 CFR Part 312), την Διεθνή Συνδιάσκεψη Εναρμόνισης (ICH), και τις αρχές που διέπουν την Διακήρυξη του Ελσίνκι (Directive 2001/83/EC; ICH Topic E9 1996; Directive 2001/20/EC; Directive 2002/98/EC; Directive 2003/63/EC; ICH E(6) R1; 21 CFR Part 312; WHO 2008).

Για την πλήρη διαφάνεια οι ασθενείς και το νοσηλευτικό προσωπικό θα ενημερωθούν επαρκώς:

- για τη φύση και το σκοπό της μελέτης
- τη διαδικασία συλλογής των δεδομένων
- τη διασφάλιση της ανωνυμίας
- τη χρήση των ευρημάτων της μελέτης και τα οφέλη, τα οποία θα προκύψουν από την έρευνα
- το δικαίωμα άρνησης να συμμετάσχουν στη μελέτη.

Κόστος

Η μελέτη δεν θα επιβαρύνει με επιπλέον έξοδα τον προϋπολογισμό του Νοσοκομείου Αφροδισίων & Δερματικών Νόσων «Ανδρέας Συγγρός». Περαιτέρω έξοδα, όπως η χορήγηση των θεραπευτικών σκευασμάτων, θα καλυφθούν από το Εργαστήριο Φαρμακευτικής Τεχνολογίας του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών.

Διακοπή

Σε περίπτωση που ο επιστημονικός υπεύθυνος της έρευνας ή ο υπεύθυνος ιατρός διαπιστώσει την ύπαρξη οποιουδήποτε προβλήματος κατά την διεξαγωγή της μελέτης μπορεί άμεσα να τη διακόψει.

2.8 Σκοπός

Η παρούσα μελέτη αποσκοπεί στη διερεύνηση της χρήσης ενζύμων στην επουλωτική διαδικασία. Πιο συγκεκριμένα η χρήση της διασπάσης, με την μορφή πηκτώματος, ενός ενζύμου που συμβάλλει στον ενζυματικό καθαρισμό του έλκους και στην νεαροποίηση πληγών καθώς φαίνεται να συμβάλλει στη διάσπαση και αποβολή του ιστικού ράκους, χωρίς ωστόσο να εμφανίζει τα μειονεκτήματα της χειρουργικής αφαίρεσης. Το συγκεκριμένο πηκτωμα χορηγήθηκε σε επαγόμενα έλκη με την μέθοδο της κρυοχειρουργικής. Με βάση την κλινική εικόνα - φωτοτεκμηρίωσης και τη βοήθεια των εμβιομηχανικών μετρήσεων εκτιμάται ο ρυθμός επούλωσης τραύματος με απώτερο σκοπό την εξατομίκευση της θεραπείας.

2.9. Οργανολογία και αρχές μεθόδων μετρήσεων

Πρωτόκολλο λήψης φωτογραφιών

Η πρώτη παράμετρος σύγκρισης των ομάδων ήταν το ποσοστό μείωσης του μεγέθους της πληγής, όπως αυτό προκύπτει από την επεξεργασία ψηφιακών εικόνων. Για την λήψη ψηφιακών εικόνων από την περιοχή ενδιαφέροντος του δέρματος χρησιμοποιήθηκε ψηφιακή μηχανή τηλεφώνου Samsung, η οποία βρισκόταν σε απόσταση 20 cm από το αντικείμενο φωτογράφισης. Ως κλίμακα και ρυθμιστικό μεγέθους χρησιμοποιήθηκε χάρακας. Φωτογραφίες ελήφθησαν:

- Την 1η, 2η, 7η, 21η, 60η ημέρα του πειράματος

Πρωτόκολλο εκτίμησης εμβαδού έλκους - Ποσοστό και ρυθμός επούλωσης

Με το πρόγραμμα Adobe Photoshop CC 2015 υπολογίστηκαν από τις φωτογραφίες των ασθενών τα pixels του έλκους και τα pixels του αντικειμένου βαθμονόμησης.

Με βάση την μέτρηση του εμβαδού των ελκών υπολογίστηκε και το ποσοστό επούλωσης δηλαδή η διαφορά του εμβαδού κάθε επίσκεψης από το αρχικό εμβαδό προς το αρχικό εμβαδό του έλκους εκφρασμένο σε ποσοστό $((\text{Εαρχ} - \text{Εν}/\text{Εαρχ}) * 100\%)$.

ANTERA 3D® CS (Miravex)

Η Antera 3D® είναι μία κάμερα που αναπτύχθηκε από την εταιρία Miravex Limited και επιτρέπει τη λήψη φωτογραφιών υψηλής ανάλυσης [Εικόνα]. Χρησιμοποιεί μία πρωτοποριακή οπτική μέθοδο και ένα περίπλοκο σύστημα μαθηματικών αλγορίθμων που δίνουν τη δυνατότητα στις φωτογραφίες να αποκτούν μία τρισδιάστατη μορφή. Με αυτό τον τρόπο, μπορούν να προκύψουν πληροφορίες από τις εικόνες που σχετίζονται με το τρισδιάστατο σχήμα του δέρματος και έτσι να ποσοτικοποιηθεί η αποτελεσματικότητα μίας θεραπείας και τυχόν αλλαγές στο δέρμα με την πάροδο του χρόνου



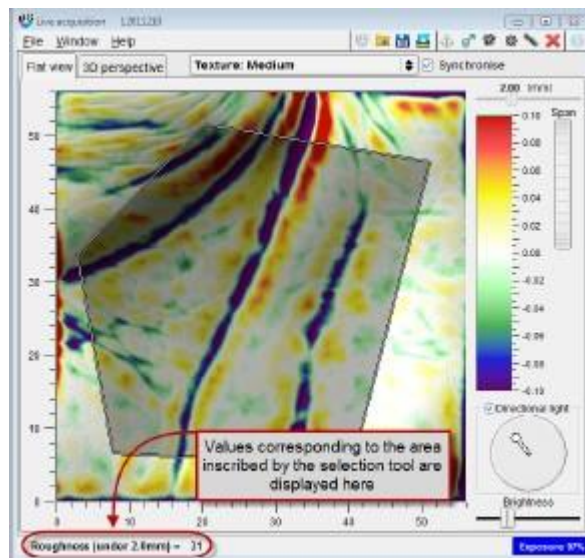
Εικόνα Antera 3D®

Με τη συγκεκριμένη κάμερα είναι δυνατόν ο υπολογισμός διαφόρων παραμέτρων. Για παράδειγμα, υπάρχει η δυνατότητα μέτρησης της υφής (texture) του δέρματος και των παραμέτρων elevations (επάρματα, κατάλληλο φίλτρο για μέτρηση ουλών), που αποκαλύπτει τυχόν ανυψώσεις στο δέρμα και depressions (ατροφίες, κατάλληλο φίλτρο για τις λεπτές γραμμές -fine lines- του δέρματος). Το λογισμικό επίσης της Antera επιτρέπει τη μέτρηση της αιμοσφαιρίνης (haemoglobin) και άρα τον υπολογισμό της ερυθρότητας του δέρματος.

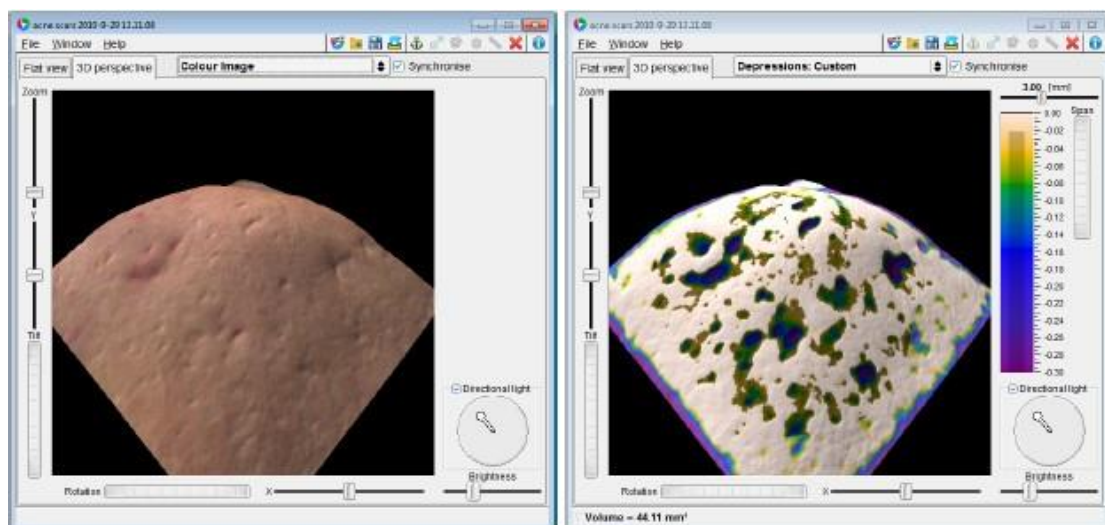
Παράγοντες αξιολόγησης για κάθε παράμετρο

Texture: Small (0.1-1 mm) ο Παράμετρος μέτρησης: Average Roughness R_a (λογισμικό antera), ποσοτικοποιείται από τις κάθετες αποκλίσεις της πραγματικής επιφάνειας ως προς την ιδανικής της μορφή. Ο τύπος υπολογισμού του R_a είναι ο εξής:

$$R_a = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n |y_i|$$

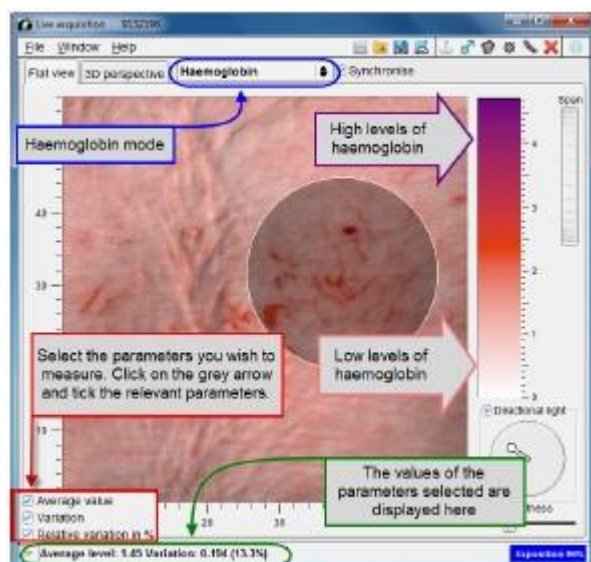


Elevations: (ανύψωση, κατάλληλη για μέτρηση ουλών): Small (0.1-1 mm) ο Παράμετρος μέτρησης: Volume (mm³) των elevations στην περιοχή ενδιαφέροντος.



Haemoglobin: Χαρτογραφείται η κατανομή της αιμογλοβίνης (ή αλλιώς αιμοσφαιρίνης) στην περιοχή ενδιαφέροντος και μετριέται η μέση συγκέντρωσή της (πιο σκούρο κόκκινο χρώμα φανερώνει πιο αυξημένη συγκέντρωση αιμογλοβίνης).

Παράμετρος μέτρησης: Average level (μέση συγκέντρωση αιμογλοβίνης στην περιοχή ενδιαφέροντος).



Άδηλη απώλεια ύδατος

Η άδηλη απώλεια ύδατος (Transepidermal water loss TEWL) ορίζεται ως η μέτρηση της ποσότητας του νερού που περνά από μέσα από το σώμα (ζώου ή φυτού) μέσω του επιδερμικού στρώματος (δέρμα) προς την περιβάλλουσα ατμόσφαιρα μέσω των διεργασιών διάχυσης και εξάτμισης. Η μέτρηση της TEWL μπορεί να είναι χρήσιμη για τον εντοπισμό βλάβης του δέρματος που προκαλείται από ορισμένες χημικές ουσίες, φυσικής προσβολής (όπως "stripping ταινία») ή παθολογικές καταστάσεις όπως έκζεμα, καθώς τα ποσοστά της άδηλης απώλειας ύδατος αυξάνονται σε αναλογία με το επίπεδο της βλάβης.

Ωστόσο, επηρεάζεται επίσης από περιβαλλοντικούς παράγοντες όπως η υγρασία, η θερμοκρασία, η εποχή του έτους και η περιεκτικότητα σε υγρασία του δέρματος (επίπεδο ενυδάτωσης)(Liao H ,2009).

TEWAMETER TM 210 – Αρχή μεθόδου

Η μέτρηση της άδηλης απώλειας ύδατος στο πείραμά μας έγινε με τη χρήση του ανιχνευτή Tewameter TM 210 (Courage-Khazaka, Germany). Το μέσο αυτό μετρά το ποσοστό σχετικής υγρασίας στην επιφάνεια του δέρματος, χρησιμοποιώντας ένα αισθητήριο ηλεκτρόδιο. Μείωση της TEWL είναι ένας δείκτης της υψηλής ακεραιότητας του δερματικού φραγμού.Ο ανιχνευτής Tewameter μετρά την κλίση της εξάτμισης νερού από το δέρμα έμμεσα μετρώντας τη θερμοκρασία και τη σχετική υγρασία από τα δύο ζεύγη των αισθητήρων στο

εσωτερικό του κοίλου κυλίνδρου. Η μέτρηση αυτή αποτελεί μέθοδο ανοιχτού θαλάμου και είναι η μόνη μέθοδος για τη συνεχή αξιολόγηση της TEWL χωρίς να επηρεάζεται το μικρόπεριβάλλον του δέρματος. Ένας μικροεπεξεργαστής αναλύει τα δεδομένα και εκφράζει το ρυθμό εξάτμισης σε $g / h / m^2$. Η όλη διαδικασία μέτρησης της άδηλης απώλειας ύδατος στηρίζεται

στο νόμο της διάχυσης ή νόμο του Fick:

$$J_s = (K_m * D * C_s) / h$$

Όπου:

J_s = h σταθερή ροή του νερού ($mg / cm^2 * s$)

K_m = ο συντελεστής κατανομής του νερού μεταξύ κεράτινης στοιβάδας και της επιδερμίδας.

D = σταθερά διάχυσης του νερού (cm^2 / s)

C_s = διαφορά συγκέντρωσης του νερού μεταξύ του κατώτερου και ανώτερου τμήματος της κεράτινης στοιβάδας (mg / cm^3)

TEWAMETER TM 210 - Πρωτόκολλο Μέτρησης Άδηλης Απώλειας Νερού

1. Προετοιμασία δωματίου: Οι ιδανικές συνθήκες για τις μετρήσεις είναι 20 °C και υγρασία 40-60%. Για ακριβή αποτελέσματα να μην γίνονται οι μετρήσεις κοντά σε λάμπα ή υπό το φως του ήλιου. Να γίνονται την ίδια περίπου ώρα κάθε φορά και να κρατούνται οι συνθήκες σταθερές.
2. Χρήση του probe heater: Σε φυσιολογικές συνθήκες δωματίου μια σταθερή μέτρηση μπορεί να ληφθεί μετά από 20 min.
3. Τρόπος χειρισμού του probe: Κρατήστε την probe ανάμεσα στα δάχτυλα από το τέλος της λαβής. Να τοποθετείται η κεφαλή της probe (από την σωστή πλευρά, που έχει τον αισθητήρα) πάνω στο δέρμα.
4. Να μην υφίσταται μεγάλη πίεση, υπάρχει περίπτωση έτσι να καταστραφεί ο αισθητήρας.
5. Μην υπάρχει λιγότερη πίεση από όσο χρειάζεται, διότι αν ο αισθητήρας δεν εφάπτεται πλήρως πάνω στο δέρμα μπορεί να εξατμιστεί νερό από τα διάκενα μεταξύ αυτού και δέρματος και να βγουν οι μετρήσεις λανθασμένες. Ο ανιχνευτής να κρατάται εντελώς ακίνητος κατά τη διάρκεια της μέτρησης.
6. Η ομιλία ή η αναπνοή κοντά στον ανιχνευτή κατά τη διάρκεια της μέτρησης δημιουργεί προβλήματα.

7. Να δίνεται ιδιαίτερη προσοχή στην κεφαλή και στο συρματάκι του αισθητήρα. Να προστατεύονται από βρωμίες, πτώσεις, ζημιές και προσοχή μην έρχεται σε επαφή το χέρι με το συρματάκι του.

Μέτρηση

Κάθε δευτερόλεπτο εμφανίζεται μια τιμή μέτρησης.

- Συστήνεται να σταματά η λήψη των διαδοχικών τιμές μετρήσεων μετά το πέρας των 30 sec ή όταν η τυπική απόκλιση φτάσει 0,2 (σταθερές μετρήσεις).
- Στο τέλος της διαδικασίας μέτρησης, εντοπίζεται αυτόματα η τιμή με τη μικρότερη τυπική απόκλιση.
- Η αντίστοιχη μέση τιμή των διαδοχικών μετρήσεων, αντιπροσωπεύει καλύτερα την πραγματική τιμή TEWL.
- Συνιστάται η παρακολούθηση παράλληλα των μέσων τιμών των μετρήσεων καθώς και της τυπικής απόκλισης πάνω στην καμπύλη.

Ενυδάτωση

Με τον όρο ενυδάτωση του δέρματος, δεν εννοούμε το δέρμα στο σύνολό του, αλλά τις ανώτερες στοιβάδες της επιδερμίδας: το κεράτινο υπόστρωμα ή την κεράτινη στοιβάδα.

Η κεράτινη στοιβάδα αποτελείται από τα κερατινοκύτταρα, επίπεδα επιδερμικά κύτταρα, που συνδέονται μέσω συγκεκριμένων λιπιδίων.

Αυτή η στοιβάδα του δέρματος έχει αξιοσημείωτες προστατευτικές και αμυντικές ιδιότητες έναντι των εξωτερικών επιθέσεων. Μόνο το 10% με 15% από αυτό είναι νερό. Η υγρασία αυτή προέρχεται από τη βασική στιβάδα, που περιέχει περίπου 70% νερό. Όταν η συγκέντρωσή του σε νερό είναι μικρότερη από 10%, το δέρμα είναι αφυδατωμένο.

Κάτω από την κεράτινη στοιβάδα, βρίσκεται ένα υδρολιπιδικό φιλμ που καλύπτει την επιφάνεια της επιδερμίδας. Αυτό είναι ένα γαλάκτωμα από νερό και λιπίδια που παράγεται από τους σμηγματογόνους αδένες. Αυτό το υδρολιπιδικό φιλμ σχηματίζει μια προστατευτική επικάλυψη για το δέρμα. Η υδρόφοβη σύνθεσή του (λιπίδια) βοηθά το δέρμα να διατηρεί την ελαστικότητά του, να βελτιώνει την προστασία του και να ρυθμίζει την περιεκτικότητα του νερού στον οργανισμό, εμποδίζοντας την απώλεια νερού από την επιδερμίδα. Το 20% του νερού του σώματός μας βρίσκεται στο δέρμα. Η ενυδάτωση του δέρματος είναι επομένως απαραίτητη δεδομένου ότι:

- Το καλά ενυδατωμένο δέρμα είναι ελαστικό και απαλό

- Το καλά ενυδατωμένο δέρμα έχει λαμπερό χρώμα
- Η κατάλληλη ενυδάτωση αποτρέπει το τράβηγμα και το αίσθημα κνησμού και προσφέρει καλή άνεση στο δέρμα

Ιδιαίτερη σημασία έχει η ενυδάτωση του δέρματος κατά τη διαδικασία επούλωσης πληγών. Η εξισορρόπηση του επιπέδου ενυδάτωσης του δέρματος είναι σημαντική, καθώς οποιαδήποτε διαταραχή στην ακεραιότητά του θα οδηγήσει σε διαταραχή της ισορροπίας της υγρασίας στο δέρμα. Κατάλληλα παρασκευάσματα που εφαρμόζονται σε πληγές δεν πρέπει μόνο να είναι σε θέση να απορροφήσουν το εξίδρωμα, αλλά και να διατηρούν αυτή την υγρασία μαζί με τις διαλυμένες πρωτεΐνες, ενώ ταυτόχρονα θα πρέπει να αποτρέπουν την ξήρανση. Αυτό είναι ιδιαίτερα σημαντικό στην περίπτωση των χρόνιων πληγών όπου ο φραγμός του δέρματος δεν έχει επανέλθει. Γίνεται λοιπόν αντιληπτή η σημασία των κατάλληλων επιπέδων ενυδάτωσης στο δέρμα για την αποτελεσματική θεραπεία.

CORNEOMETER CM820 - Αρχή μεθόδου

Η μέτρηση της ενυδάτωσης στο πείραμα πραγματοποιήθηκε με τη χρήση του οργάνου CORNEOMETER CM 820. Το όργανο αυτό εδώ και 25 χρόνια αποτελεί την πιο συχνά χρησιμοποιούμενη μέθοδο παγκοσμίως για αναπαραγώγιμο και ακριβή προσδιορισμό του επιπέδου ενυδάτωσης της επιφάνειας του δέρματος (κεράτινη στιβάδα). Η ακρίβεια των άλλων οργάνων μέτρησης ενυδάτωσης στην αγορά αξιολογείται πάντα κατά το πρότυπο του Corneometer®.

Η μέτρηση βασίζεται στη μέτρηση χωρητικότητας ενός διηλεκτρικού μέσου. Το Corneometer® CM 820 μέτρα την αλλαγή στην διηλεκτρική σταθερά λόγω της ενυδάτωσης της επιφάνειας του δέρματος, αλλάζοντας την χωρητικότητα ενός πυκνωτή ακριβείας. Η μέτρηση μπορεί να ανιχνεύσει ακόμη και μικρές αλλαγές στο επίπεδο ενυδάτωσης.

Πρωτόκολλο μέτρησης της ενυδάτωσης του δέρματος.

1. Προετοιμασία δωματίου: Οι ιδανικές συνθήκες για τις μετρήσεις είναι 20°C και υγρασία 40-60%. Για ακριβή αποτελέσματα, να μην γίνονται οι μετρήσεις κοντά σε λάμπα ή υπό το φως του ήλιου. Να γίνονται την ίδια περίπου ώρα κάθε φορά και να κρατούνται οι συνθήκες σταθερές.
2. Να μην γίνονται μετρήσεις αμέσως μετά την επάλειψη με σκεύασμα γιατί τότε θα μετρηθεί η περιεκτικότητα νερού του σκευάσματος και όχι η ενυδάτωση το δέρματος.
3. Έλεγχοι για το πόσο διαρκεί η επιπλέον ενυδάτωση λόγω του σκευάσματος πρέπει να διεξάγονται κάθε ώρα ή συχνότερα.

Μέτρηση οξυμετρίας

Η μέτρηση οξυμετρίας πραγματοποιήθηκε με την χρήση οξύμετρου δακτύλου (1.1" OLED Screen SPO2 / Heart Rate Monitor Fingertip Pulse Oximeter).

Μέτρηση Μελανίνης/ Ερυθήματος

Η μέτρηση της μελανίνης πραγματοποιήθηκε με το όργανο MEXAMETER® MX 18 (Courage-Khazaka, Germany). Η αρχή λειτουργίας του οργάνου βασίζεται στην απορρόφηση/ σκέδαση της ακτινοβολίας από το δέρμα. Ο αισθητήρας εκπέμπει φωτεινή ακτινοβολία σε τρία διαφορετικά μήκη κύματος και στη συνέχεια μετρά την ένταση του φωτός το οποίο σκεδάστηκε από το δέρμα. Έτσι υπολογίζεται και η ένταση του φωτός το οποίο απορροήθηκε από το δέρμα ως η διαφορά του εκπεμπόμενου μείον του σκεδαζόμενου. Από την απορρόφηση στα διαφορετικά μήκη κύματος υπολογίζεται η απορρόφηση των χρωμοφόρων του δέρματος.

3. Υλικά και μέθοδοι

Σκευάσματα:

1) Φάρμακο αναφοράς

Συστατικά
Aqua purificata
Προπυλενογλυκόλη
Υδροξυαιθυλοκυτταρίνη
Διυδροχλωρική οκτενιδίνη

(www.Schulke.com)

2) Γέλη διασπάσης

Για την παρασκευή γέλης διασπάσης σε συγκέντρωση 5U/ml έτσι ώστε να γίνεται εφαρμογή στον ασθενή ανά 3 ημέρες ακολουθήθηκαν 3 συνταγές για να εξεταστεί το κατάλληλο ιξώδες του τελικού προϊόντος.

Η τελική συνταγή που ακολουθήθηκε είναι η παρακάτω:

- 5ml ρυθμιστικού διαλύματος DULBECCO'S PHOSPHATE BUFFERED SALINE 10X αραιωμένο 1:10 με Water for injection
- 7% Sepigel 305 (0.35g)
- 2,688 Mg dispase 1.86 U/mg

Η επιλογή του πρωτεολυτικού ενζύμου διασπάση, πραγματοποιήθηκε, καθώς σε προηγούμενες μελέτες, όπου εξετάστηκε η χρήση του ως μια μη επεμβατική μέθοδος νεαροποίησης πληγών, το συγκεκριμένο ένζυμο και στη συγκεκριμένη συγκέντρωση φάνηκε να συμβάλλει σημαντικά στην επούλωση χωρίς να εμφανίζει τοξικότητα στο δέρμα.

Η επιλογή του πηκτικού παράγοντα (SEPIGEL 305) έγινε βασιζόμενη σε προηγούμενες μελέτες του εργαστηρίου όπου και είχε διαπιστωθεί η απουσία πρόκλησης τοξικότητας επί του δέρματος, στο ποσοστό που χρησιμοποιήθηκε.

Η επιλογή των συριγγών ως περιέκτη που τοποθετήθηκε η γέλη έγινε βασιζόμενη στο ότι αποτελεί ένα μέσο αποστειρωμένο, διαφανές, με εύκολη στην ανάγνωση βαθμονομημένη κλίμακα. Οι σύριγγες που χρησιμοποιήθηκαν είναι μη τοξικές, ελεύθερες πυρετογόνων και

latex, ενώ διαθέτουν λάστιχο με τριπλή επαφή και αποσπώμενη βελόνα έτσι ώστε να γίνεται η επάλειψη του gel στην πληγή, χωρίς τη χρήση βελόνας.

Το ποσοστό του SEPIGEL 305 επιλέχθηκε έπειτα από παρασκευή τριών διαφορετικών συγκεντρώσεων (5, 6, 7 %) στο τελικό προϊόν ώστε να εξασφαλιστεί το πλέον κατάλληλο ιξώδες για την επάλειψη.

Παρασκευή πηκτώματος διασπάσης :

- Γίνεται αραιώση του ρυθμιστικού διαλύματος DULBECCO'S PHOSPHATE BUFFERED SALINE 10x με ορό, Water for Injection, σε αναλογία 1:10, ώστε να επιτευχθεί τελική συγκέντρωση 1x.
- Κάθε δραστικό συστατικό ζυγίζεται και προστίθεται στο αραιωμένο διάλυμα.
- Προστίθεται η εκάστοτε απαραίτητη ποσότητα SEPIGEL 305.
- Πραγματοποιείται ανάδευση με σπάτουλα και ομογενοποίηση μέχρι να σχηματιστεί γέλη. • Η γέλη μεταφέρεται ώστε να γίνει πλήρωση των συριγγών.

Το τελικό μας προϊόν διατηρείται στο ψυγείο, ενώ είναι σημαντική η αποφυγή θέρμανσης κατά την παραγωγή του ώστε να αποφευχθεί ενζυματική καταστροφή.

Πρωτόκολλο εισαγωγής ασθενών στη μελέτη:

Στη παρούσα μελέτη, ερευνήθηκε η επουλωτική διαδικασία του δέρματος σε ασθενείς που υπεβλήθησαν σε κρυοχειρουργική επιδερμικών όγκων. Η παρακολούθηση πραγματοποιείται (με τη χρήση εμβιομηχανικών μεθόδων) λήψη φωτογραφιών με την κάμερα Antera 3D όπως και κοινών φωτογραφιών. Παράλληλα με τη φυσική αποκατάσταση, μελετήθηκε η αποτελεσματικότητα και η ασφάλεια σκευάσματος που περιέχει ως δραστικά συστατικά διασπάση σε σύγκριση με εμπορικά διαθέσιμη γέλη για τραύματα.

Η διαδικασία που ακολουθήθηκε είναι η ακόλουθη:

Αρχικά, εάν ένας ασθενής πληρεί τα κριτήρια εισόδου στη μελέτη, ενημερώνεται αναλυτικά για το είδος, τον σκοπό, την διαδικασία, τα δικαιώματα και τις υποχρεώσεις του κατά τη διάρκεια της μελέτης.

Στη συνέχεια ακολουθεί έγγραφη συγκατάθεση του ασθενή και χορήγηση έντυπων φυλλαδίων που θα αναφέρουν τις λεπτομέρειες της μελέτης καθώς και αναλυτικές οδηγίες για την εφαρμογή των σκευασμάτων. Μετά την είσοδο ενός ασθενή στη μελέτη, ακολουθεί καταγραφή ενός ενδεικτικού ιατρικού ιστορικού (ηλικία, βάρος, ύψος, στοιχεία ασθενους συγχωρηγούμενες φαρμακευτικές αγωγές, συνυπάρχουσες νόσοι κτλ.) καθώς και υποβάλλεται σε εμβιομηχανικές μετρήσεις, λήψη με κάμερα όπως και μέτρηση οξυγόνου. Οι δύο θεραπείες για την σωστή και αξιόπιστη σύγκριση τους αποτελούν μονοθεραπεία, καθώς δεν χορηγούνται παράλληλα στον ασθενή αντιβιοτικές κρέμες. Οι επαλείψεις των σκευασμάτων είναι καθημερινές (δύο φορές την ημέρα) για τους ασθενείς που λαμβάνουν την θεραπεία του εμπορίου, ενώ 1 φορά ανα τρεις ημέρες για τους ασθενείς που λαμβάνουν τη γέλη διασπάσης που παρασκευάστηκε στο εργαστήριο.

Οι εμβιομηχανικές μετρήσεις μαζί με την κλινική αξιολόγηση γίνονται τις ημέρες 1,2,7,21 και 60. Τελικό σημείο της θεραπείας θεωρείται η 8η εβδομάδα μετά την έναρξη της θεραπείας. Για την αξιολόγηση της αποκατάστασης του δερματικού φραγμού χρησιμοποιήθηκαν, η φωτοτεκμηρίωση και οι εμβιομηχανικές μετρήσεις (μέτρηση άδηλης απώλειας νερού, ενυδάτωσης και ερυθρότητας και μελανίνης). Οι συγκεκριμένες μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν σε θερμοκρασία δωματίου 20-23° C και σε σχετική υγρασία 35-40%. Η συχνότητα των ανωτέρω μετρήσεων περιγράφεται στο παρακάτω διάγραμμα ροής:

Πίνακας 14 Διάγραμμα ροής πειραματικής διαδικασίας

Διαδικασία	D1	D2	D7	D21	D60
Διαλογή ασθενών	X				
Καταγραφή ιατρικού ιστορικού	X				
Εφαρμογή κρυοχειρουργικής θεραπείας	X				
Εμβιομηχανικές μετρήσεις	X	X	X	X	X
Λήψη από κάμερα Antera3D	X	X	X	X	X
Λήψη από κοινή κάμερα	X	X	X	X	X

Μέτρηση οξυγόνου	X				
------------------	---	--	--	--	--

Ερωτηματολόγιο

Στην ολοκλήρωση του πρωτοκόλλου δόθηκε σε κάθε ασθενή ένα ερωτηματολόγιο για την αξιολόγηση του σκευάσματος όσον αφορά τα μορφολογικά του χαρακτηριστικά (οσμή, υφή) την πρόκληση ερεθισμού, την ευκολία χρήσης και την εφαρμογή του σκευάσματος. Το ερωτηματολόγιο βασίστηκε σε αντίστοιχο του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας (Protocol for Evaluation and Comparison of Tolerability and Acceptability of Different Alcohol-based Handrubs: Method 2).

Στατιστική επεξεργασία

Η στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων έγινε σε Ηλεκτρονικό Υπολογιστή με χρήση του στατιστικού πακέτου SPSS Statistics 25.0 (IBM®).

Η κανονικότητα της κατανομής των αποτελεσμάτων ελέγχθηκε με το κριτήριο Shapiro – Wilk, που αποτελεί τη μέθοδο εκλογής σε δείγματα με μικρό μέγεθος. Για τα αποτελέσματα ανεξάρτητων δειγμάτων που εμφάνισαν κανονική κατανομή εφαρμόστηκε το Student t - test, ενώ για τα αποτελέσματα με μη κανονική κατανομή το Mann – Whitney test. Για τα εξαρτημένα δείγματα εφαρμόστηκε Paired Samples T test αν ακολουθούσαν κανονική κατανομή, ενώ Wilcoxon related samples test αν δεν ακολουθούσαν κανονική κατανομή.

Γραφήματα

Δημιουργήθηκαν μία σειρά από στατιστικά διαγράμματα για την παρουσίαση των αποτελεσμάτων που είτε αφορούσαν δεδομένα σε ονομαστική (πχ. ραβδογράμματα, στατιστικές πίτες), είτε σε συνεχή (πχ. ιστογράμματα, ραβδογράμματα) κλίμακα.

Περιγραφική στατιστική ανάλυση

Η στατιστική διερεύνηση περιελάμβανε τον υπολογισμό κριτηρίων κεντρικής θέσης (μέση τιμή, διάμεσος) καθώς και κριτηρίων διασποράς (εύρος, τυπική απόκλιση, μέγιστη και ελάχιστη τιμή).

Έλεγχοι ανεξάρτητων δειγμάτων t-test

Ο έλεγχος ισότητας δύο ανεξάρτητων δειγμάτων χρησιμοποιείται για να ελέγξουμε αν η μέση τιμή μίας μεταβλητής είναι ίδια σε δύο ανεξάρτητους πληθυσμούς παίρνοντας αντιπροσωπευτικά δείγματα από τους πληθυσμούς αυτούς. Για την υλοποίηση του ελέγχου λαμβάνονται υπόψη οι μέσες τιμές των δύο δειγμάτων, το μέγεθος των διασπορών των δύο δειγμάτων και το μέγεθος των δύο δειγμάτων. Το τελικό αποτέλεσμα προσδιορίζεται από την τιμή που θα έχει η πιθανότητα p να ισχύει η ισότητα των μέσων τιμών έχοντας παρατηρήσει τις δειγματικές τιμές. Η μηδενική και 86 εναλλακτική υπόθεση είναι:

- ❖ H_0 : οι μέσες τιμές των πληθυσμών είναι ίσες ($H_0: \mu_1 = \mu_2$)
- ❖ H_1 : οι μέσες τιμές των πληθυσμών δεν είναι ίσες, είναι σημαντικά διαφορετικές ($H_1: \mu_1 \neq \mu_2$).

Ωστόσο, βασική προϋπόθεση για την εφαρμογή του ελέγχου t-test είναι το γεγονός ότι η μεταβλητή πρέπει να ακολουθεί κανονική κατανομή και τα δύο υπό σύγκριση δείγματα να έχουν (σχεδόν) ίσες τιμές διασποράς.

Mann - Whitney

Ο έλεγχος των Mann - Whitney αποτελεί μία μη-παραμετρική μέθοδο ανάλυσης όπου ελέγχει αν δύο ανεξάρτητα δείγματα προέρχονται από πληθυσμούς που έχουν την ίδια τιμή της διαμέσου. Είναι το αντίστοιχο του ελέγχου t-test για τη μέση τιμή δύο ανεξάρτητων πληθυσμών. Ο στατιστικός έλεγχος βασίζεται στην διάταξη των παρατηρήσεων των δύο δειγμάτων. Βασική προϋπόθεση αποτελεί το γεγονός οι πληθυσμοί να έχουν την ίδια κατανομή, ωστόσο είναι ανθεκτικός και σε αποκλίσεις της κατανομής.

Wilcoxon

Ο έλεγχος Wilcoxon αποτελεί μία μη-παραμετρική μέθοδος ανάλυσης που ελέγχει αν τα ζεύγη παρατηρήσεων προέρχονται από πληθυσμούς που έχουν την ίδια τιμή διαμέσου. Είναι το αντίστοιχο του ελέγχου t-test για τη μέση τιμή σε ζεύγη παρατηρήσεων. Προϋποθέτει ότι οι δύο πληθυσμοί ακολουθούν την ίδια κατανομή. Ο έλεγχος Wilcoxon βασίζεται στην διάταξη των απολύτων τιμών των διαφορών στις τιμές στα ζεύγη παρατηρήσεων.

4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

4.1. Περιγραφική στατιστική των μεταβλητών

Στο κεφάλαιο αυτό παρατίθεται αναλυτικά η στατιστική επεξεργασία των δεδομένων και τα αποτελέσματα που προέκυψαν από την ανάλυση αυτή.

Για την ομάδα που λάμβανε το φάρμακο αναφοράς :

Statistics					
	Age	Height	Weight	BMI	Length x Width Ulcer (mm2)
Mean	66,33	1,7333	77,11	25,6500	179,922
Median	72,00	1,7400	74,00	25,8000	119,600
Std. Deviation	17,755	,06782	6,716	2,49178	149,6109
Range	60	,20	19	7,27	361,3
Minimum	23	1,65	69	22,50	34,4
Maximum	83	1,85	88	29,77	395,7

Statistics						
	Oximetry	TEXTURE 1	TEXTURE 2	TEXTURE 7	TEXTURE2 1	TEXTURE6 0
Mean	96,22	53943,40	70357,20	61510,75	81979,00	85354,75
Median	96,00	58190,00	71661,00	59193,50	65250,00	79217,00
Std. Deviation	1,302	11788,932	21848,602	14240,590	47335,199	49566,714
Range	4	29784	60050	30578	105766	110125

Minimum	95	34402	42938	48539	45825	36430
Maximum	99	64186	102988	79117	151591	146555

Statistics						
	Hydration Day 1	Hydration Day 2	Hydration Day 7	Hydration Day 21	Hydration Day 60	
Mean	104,44	114,88	79,00	84,00	88,20	
Median	95,00	110,00	62,00	75,00	74,00	
Std. Deviation	43,615	49,003	43,151	44,883	36,003	
Range	133	142	105	115	90	
Minimum	62	47	32	45	60	
Maximum	195	189	137	160	150	

Statistics					
	Melanin_ 1	Melanin_ 2	Melanin_ 7	Melanin_2 1	Melanin_6 0
Mean	472,78	534,29	529,00	515,60	474,80
Median	468,00	518,00	515,00	510,00	481,00
Std. Deviation	29,209	90,728	44,512	35,133	42,382

Range	90	276	129	88	115
Minimum	420	450	491	485	410
Maximum	510	726	620	573	525

Statistics					
	TEWL_ 1	TEWL_ 2	TEWL_ 7	TEWL_21	TEWL_60
Mean	15,0875	20,9857	25,6833	17,7167	11,9250
Median	15,0000	21,0000	25,2000	16,3500	11,6000
Std. Deviation	4,79060	5,56580	7,37629	4,87008	1,78396
Range	16,20	15,00	21,80	12,30	4,10
Minimum	6,80	15,00	16,20	14,00	10,20
Maximum	23,00	30,00	38,00	26,30	14,30

Statistics					
	Erythema1	Erythema2	Erythema7	Erythema21	Erythema60
Mean	576,875	622,286	647,83	602,33	590,00
Median	582,000	620,000	651,00	603,50	590,00
Std. Deviation	42,2727	41,4154	27,029	33,279	18,257
Range	120,0	138,0	70	91	40
Minimum	530,0	560,0	610	559	570
Maximum	650,0	698,0	680	650	610

Statistics					
------------	--	--	--	--	--

%	Wound healing7	Wound healing21	Wound healing60
Mean	26,08000	60,84000	100,00000
Median	16,30000	50,70000	100,00000
Std. Deviation	18,477337	23,659522	,000000
Range	45,300	59,500	,000
Minimum	10,500	40,500	100,000
Maximum	55,800	100,000	100,000

Statistics					
	Elevation 1	Elevation 2	Elevation 7	Elevation2 1	Elevation6 0
Mean	5,5040	8,586	7,2525	12,5425	5,1175
Median	5,4200	9,630	6,7400	4,4350	4,1500
Std. Deviation	2,51786	2,7220	4,68548	17,63461	3,57183
Range	6,51	6,2	10,55	36,46	8,17
Minimum	2,50	5,2	2,49	2,42	2,00
Maximum	9,01	11,4	13,04	38,88	10,17

Statistics					
	heamoglobin1	heamoglobin2	heamoglobin7	heamoglobin2 1	heamoglobin6 0
Mean	1980,80	2839,80	2619,00	1841,75	1569,25
Median	1853,00	2730,00	2623,00	1909,00	1676,00

Std. Deviation	412,576	360,061	78,604	402,870	336,708
Range	1099	925	188	851	755
Minimum	1577	2415	2521	1349	1085
Maximum	2676	3340	2709	2200	1840

Για την ομάδα της γέλης διασπάσης

Statistics					
	Age	Height	Weight	BMI	Length x Width (mm2)
Mean	75,00	1,7157	86,57	29,1886	174,157
Median	73,00	1,7300	83,00	27,7500	81,400
Std. Deviation	6,532	,08080	22,404	4,62635	161,7417
Range	17	,25	68	13,60	397,7
Minimum	66	1,62	67	25,00	23,5
Maximum	83	1,87	135	38,60	421,2

Statistics					
	Hydration Day 1	Hydration Day 2	Hydration Day 7	Hydration Day 21	Hydration Day 60
Mean	76,7143	71,14	55,86	54,17	97,50
Median	75,0000	82,00	48,00	58,50	97,50
Std. Deviation	31,70023	31,233	22,682	14,275	17,678

Range	95,00	83	59	38	25
Minimum	35,00	32	25	30	85
Maximum	130,00	115	84	68	110

Statistics						
	TEWL_ 1	TEWL_2	TEWL_ 7	TEWL_2 1	TEWL_60	
Mean	14,4571	26,2286	27,0714	20,7333	17,2000	
Median	13,2000	30,0000	25,0000	19,5000	15,3000	
Std. Deviation	4,83799	10,05348	7,82320	10,14429	4,18688	
Range	15,40	26,80	20,00	28,00	7,70	
Minimum	8,60	11,20	18,00	9,00	14,30	
Maximum	24,00	38,00	38,00	37,00	22,00	

Statistics					
	Melanin_ 1	Melanin_ 2	Melanin_ 7	Melanin_2 1	Melanin_60
Mean	467,43	526,00	573,57	524,50	467,00
Median	468,00	538,00	580,00	515,50	467,00
Std. Deviation	19,286	29,263	55,704	57,085	2,828
Range	58	75	155	133	4
Minimum	430	490	483	457	465
Maximum	488	565	638	590	469

Statistics					
	Erythema1	Erythema2	Erythema7	Erythema21	Erythema60
Mean	563,714	625,286	616,86	594,33	588,67
Median	565,000	627,000	630,00	594,50	597,00
Std. Deviation	28,4998	45,5840	31,835	13,648	15,308
Range	87,0	130,0	90	37	27
Minimum	510,0	566,0	570	576	571
Maximum	597,0	696,0	660	613	598

Statistics				
	woundhealing 7	woundhealing 21	woundhealing 560	
Mean	59,62857	95,15714	100,00000	
Median	67,00000	95,80000	100,00000	
Std. Deviation	29,663710	5,531081	,000000	

Range	94,500	12,500	,000
Minimum	,000	87,500	100,000
Maximum	94,500	100,000	100,000

Statistics					
	heamoglobin1	heamoglobin2	heamoglobin7	heamoglobin2 1	heamoglobin6 0
Mean	2134,71	2612,71	2288,33	2057,33	1358,00
Median	2069,00	2658,00	2394,00	1976,00	1229,00
Std. Deviation	605,917	576,183	348,369	288,087	388,892
Range	1740	1414	855	796	745
Minimum	1420	1790	1775	1783	1050
Maximum	3160	3204	2630	2579	1795

Statistics					
	Elevation 1	Elevation 2	Elevation 7	Elevation2 1	Elevation6 0
Mean	11,6257	13,284	11,8783	9,6250	8,6200
Median	12,0900	14,450	9,6550	10,0700	6,8400
Std. Deviation	4,97738	5,1970	7,30515	4,37932	3,47108

Range	15,18	14,0	19,61	10,62	6,22
Minimum	2,94	3,8	3,56	4,13	6,40
Maximum	18,12	17,7	23,17	14,75	12,62

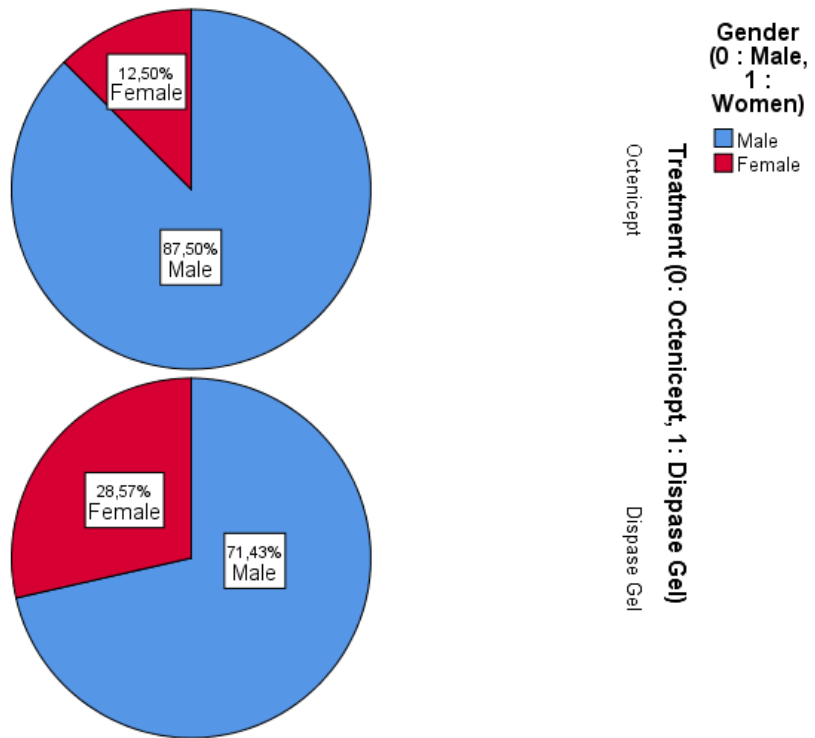
Statistics						
	oximetry	TEXTURE 1	TEXTURE 2	TEXTURE 7	TEXTURE2 1	TEXTURE6 0
Mean	95,71	102691,29	111250,43	111298,33	69043,50	53182,00
Median	96,00	77050,00	73204,00	96149,00	66089,50	32368,00
Std. Deviation	1,254	70668,746	85337,209	97188,047	34916,008	40456,556
Range	3	204043	243152	267714	92181	72438
Minimum	94	51159	41751	29595	34214	27370
Maximum	97	255202	284903	297309	126395	99808

Δημογραφικά στοιχεία

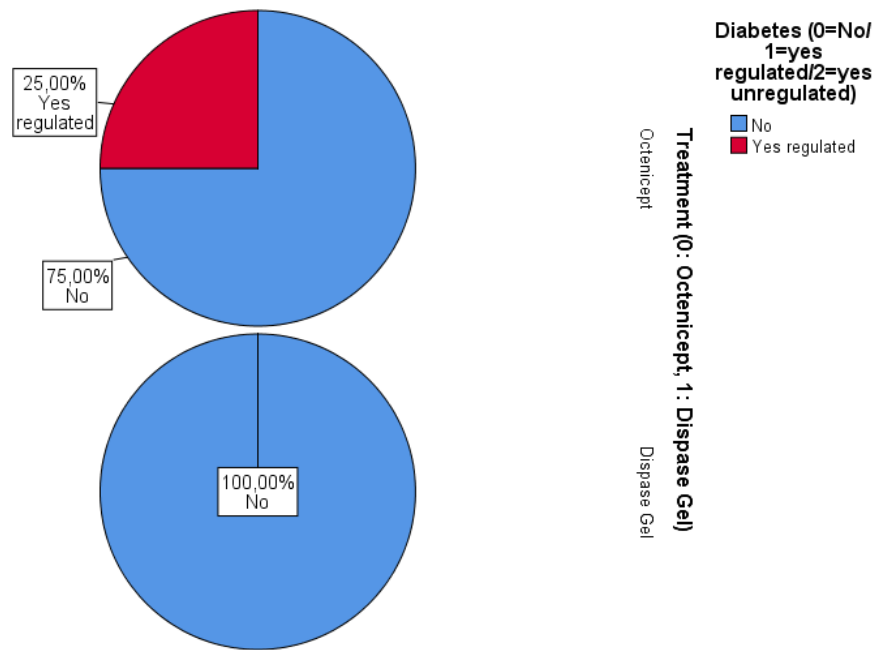
Στους πίνακες παραπάνω παρουσιάζονται τα κριτήρια κεντρικής θέσης (μέση τιμή, διάμεσος) καθώς και τα κριτήρια διασποράς (εύρος, διασπορά, τυπική απόκλιση, μέγιστη και ελάχιστη τιμή) για τις παρακάτω παραμέτρους: ηλικία, ύψος, βάρος και BMI ανά ομάδα θεραπείας.

Η κατάταξη των τιμών του Δείκτη Μάζας Σώματος (BMI) στην κατηγορία παχυσαρκος ή μη, έγινε σύμφωνα με τη διεθνή βιβλιογραφία. Για τις τιμές για τις οποίες ισχύει $\Delta\text{ΜΣ} \geq 30$ το άτομο θεωρείται παχύσαρκο.

➤ Φύλο

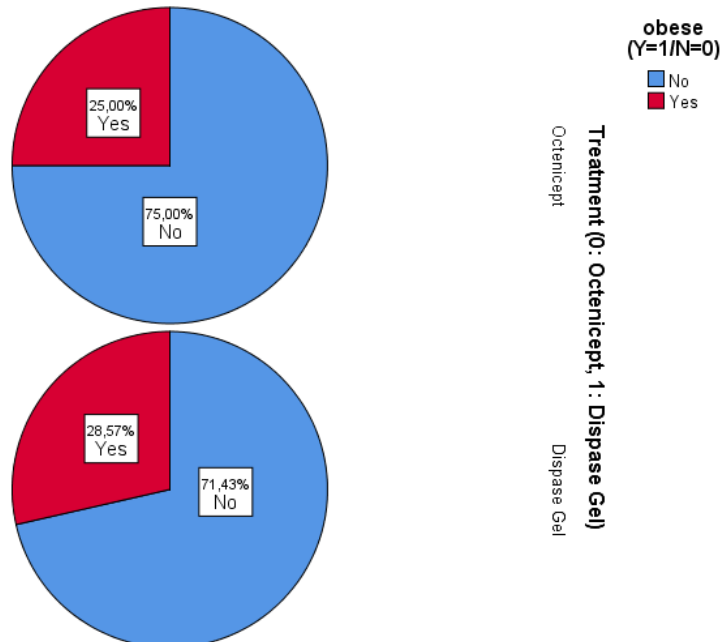


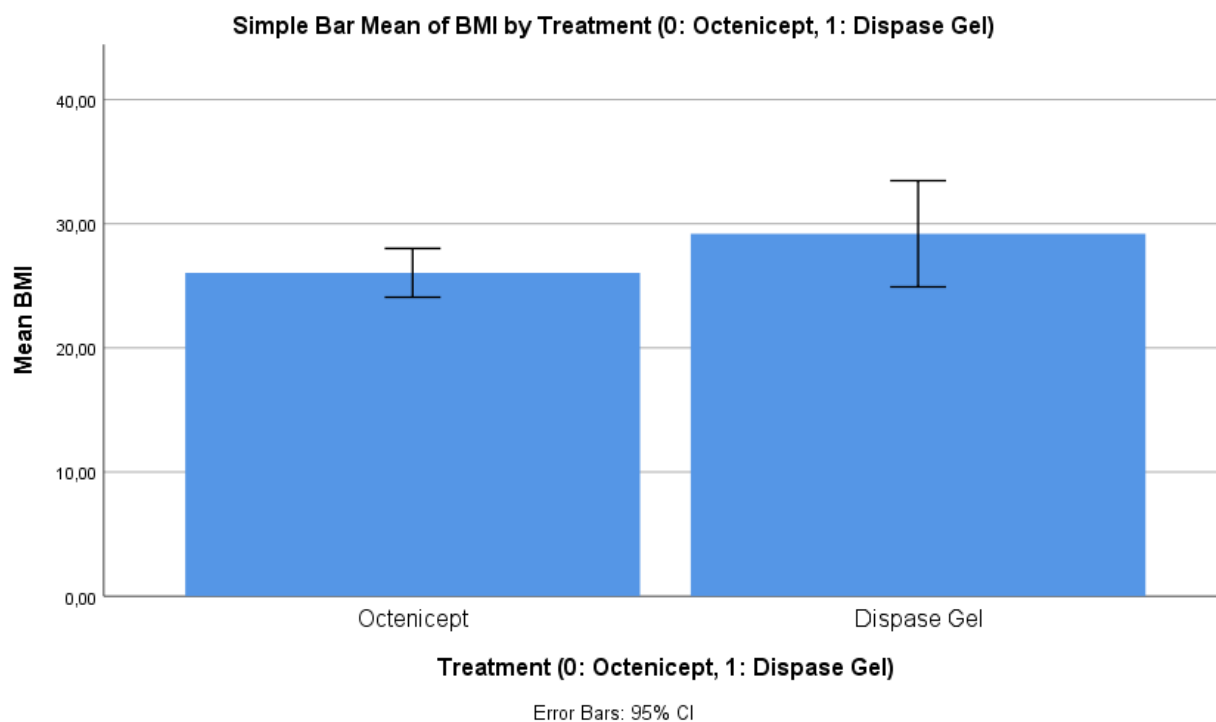
➤ Διαβήτης



Κατά την ανάλυση του δείγματος παρατηρήθηκε ότι το 75% των ασθενών που λάμβαναν το φάρμακο αναφοράς ήταν αρνητικοί στο διαβήτη, ενώ όλοι οι ασθενείς που λάμβαναν τη γέλη διασπάσης ήταν μη διαβητικοί.

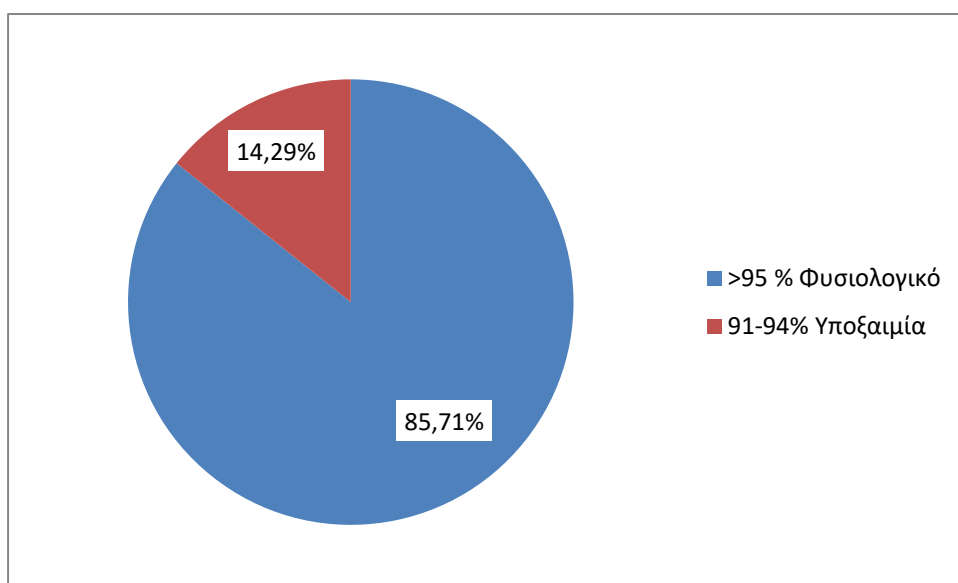
➤ Παχυσαρκία



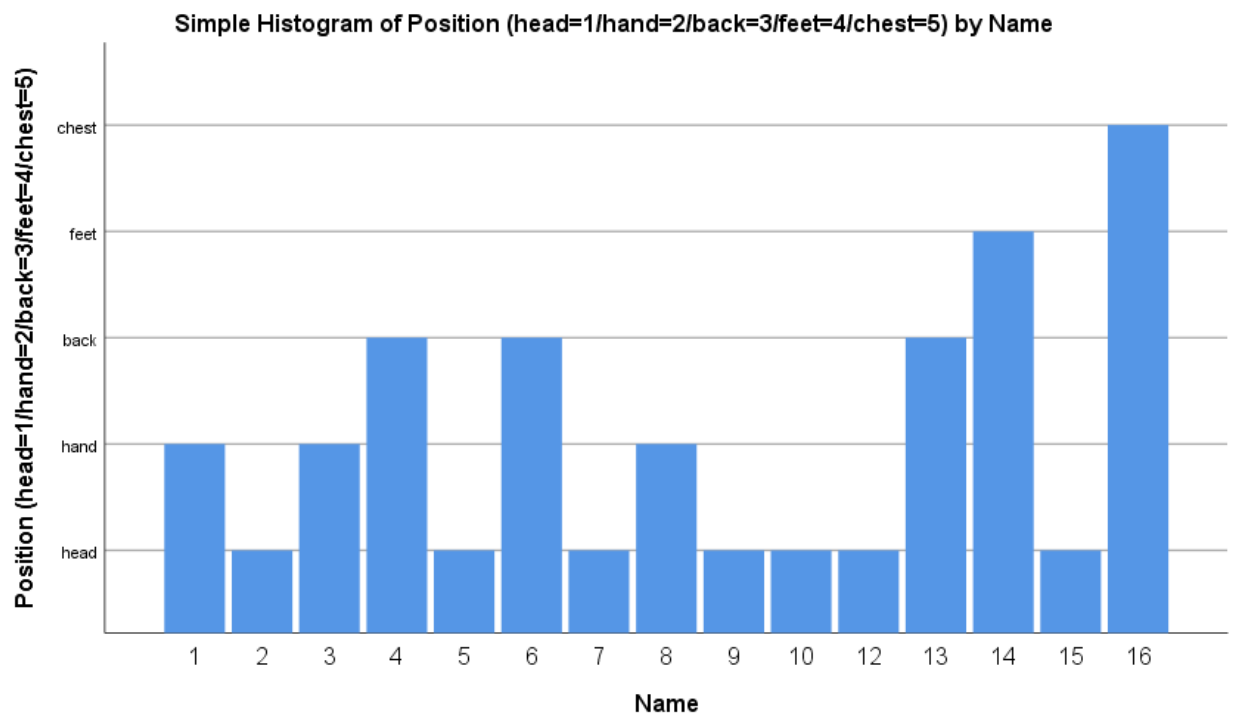


Κατά την ανάλυση των δειγμάτων παρατηρήθηκε ότι ο μέσος όρος των ασθενών και στις ομάδες ασθενών είναι μη παχύσαρκοι. Όπως φαίνεται στο διάγραμμα ωστόσο, στην ομάδα που λάμβανε γέλη διασπάσης υπήρχαν και ασθενείς που ήταν παχύσαρκοι (BMI>30).

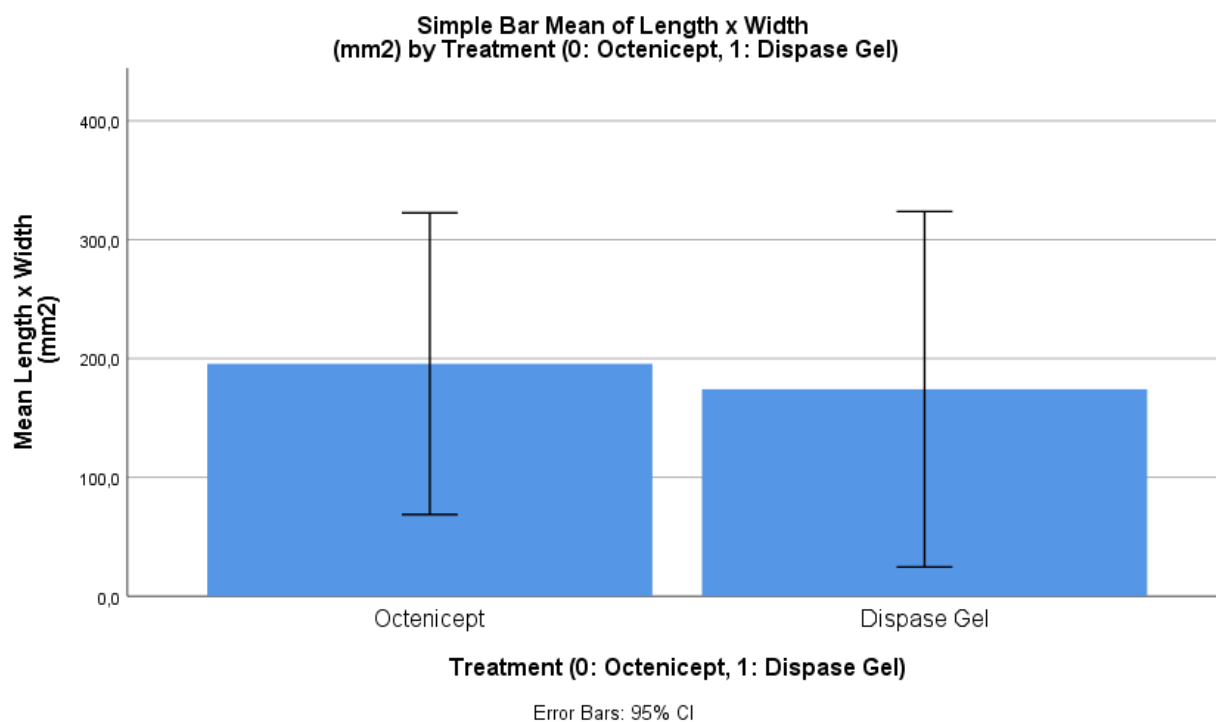
➤ Οξυμετρία



Από το παραπάνω σχήμα παρατηρήθηκε ότι 14,29% από το σύνολο των ασθενών εμφάνιζε υποξαιμία, ενώ οι υπόλοιποι 85,71% έχουν φυσιολογικές τιμές οξυμετρίας δηλαδή >95%.



Σύμφωνα με το διάγραμμα θέσης εντόπισης του BCC στο δείγμα παρατηρούμε ότι το συχνότερο σημείο εμφάνισης είναι το κεφάλι, ενώ έπεται το χέρι και η πλάτη.



Το εμβαδόν του έλκους που δημιουργήθηκε μεταξύ των δύο ομάδων ασθενων δεν εμφανίζει στατιστικά σημαντική διαφορά, για την εξέταση της ομοιομορφίας των προκαλούμενων ελκών από τη μέθοδο της κρυοχειρουργικής.

Φωτογραφικό υλικό ασθενών

Παρακάτω παρουσιάζονται ενδεικτικά παραδείγματα ασθενών από την ομάδα που λάμβανε το φάρμακο αναφοράς και την ομάδα που λάμβανε το γέλη διασπάσης.

Ασθενείς που λάμβαναν γέλη διασπάσης:

Κωδικός ασθενούς 009:

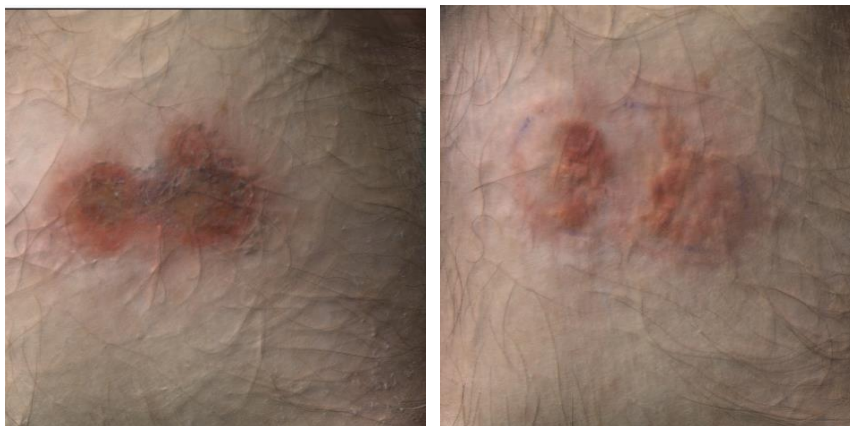


Ημέρα 1 και 2

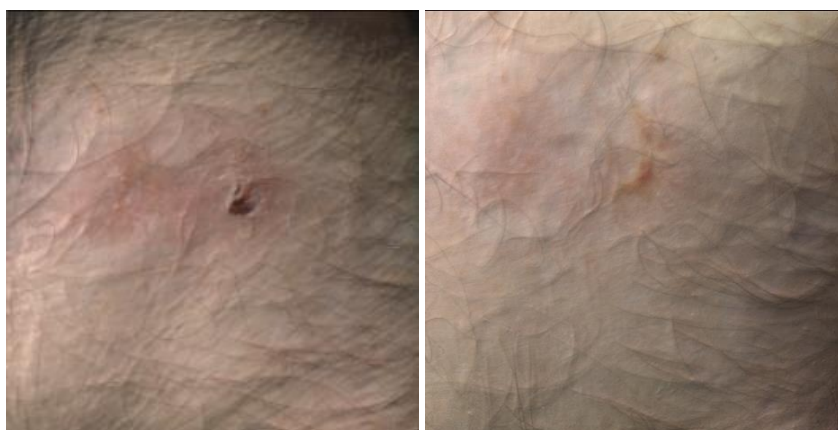


Ημέρα 7 και 21

Κωδικός ασθενούς 002:

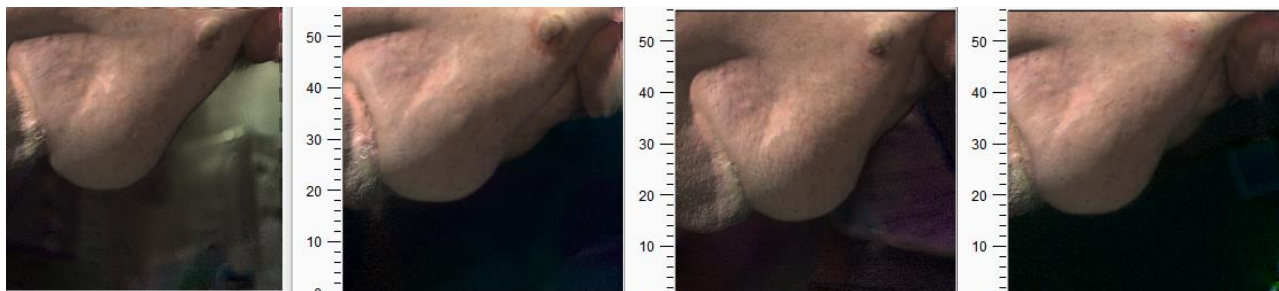


Ημέρα 2 και 7

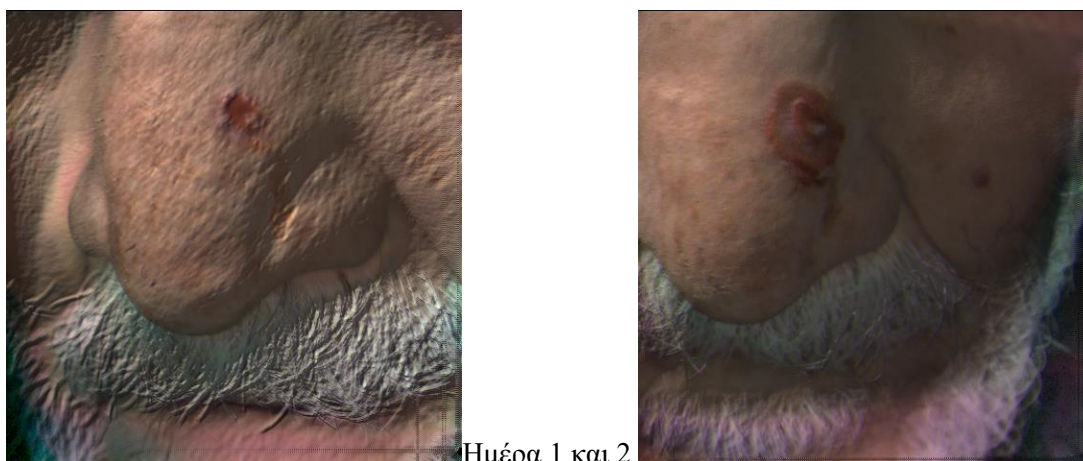


Ημέρα 21 και 60

Κωδικός ασθενούς 010:



Ασθενείς που λάμβαναν το φάρμακο αναφοράς:



Ημέρα 1 και 2



Ημέρα 7



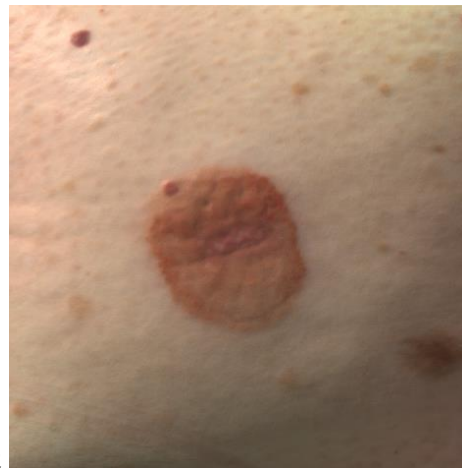
Ημέρα 21 και 60



Κωδικός ασθενούς 004:



Ημέρα 1 και 2





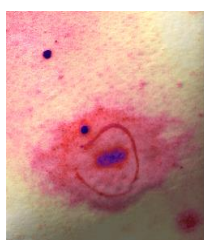
Ημέρα 7



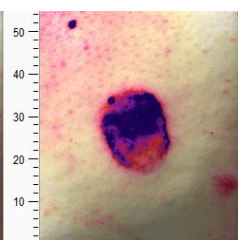
Ημέρα 21 και 60



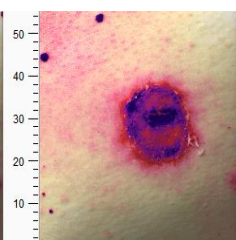
Αιμογλοβίνη για ασθενείς που λάμβαναν φάρμακο αναφοράς



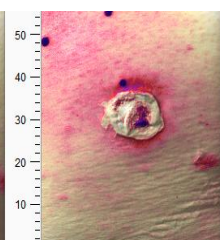
Ημέρα 1



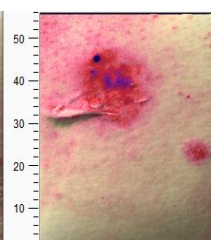
Ημέρα 2



Ημέρα 7

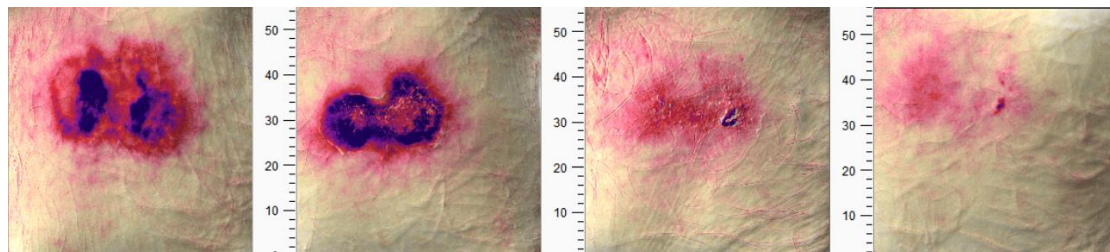


Ημέρα 21



Ημέρα 60

Αιμογλοβίνη για ασθενείς με γέλη διασπάσης



Ημέρα 2

7

21

60

Έλεγχος κατανομής για την ομάδα του φαρμάκου αναφοράς

Πραγματοποιήθηκε έλεγχος κανονικότητας των μεταβλητών που είναι σε συνεχή κλίμακα (όλες οι τιμές) σε σκοπό την διερεύνηση της μετέπειτα διαχείρισης των δεδομένων με παραμετρικές ή μη παραμετρικές μεθόδους ανάλυσης. Για το λόγο αυτό χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος των Shapiro-Wilk, μία μέθοδος κατάλληλη για μικρά δείγματα.

Παράγοντες	Tests of Normality (Shapiro-Wilk)
Age	0,946
Height	0,375
Weight	0,398
BMI	0,884
Length x Width (mm ²)	0,534
Hydration Day 1	0,968
Hydration sym Day 1	0,907
Hydration 2	0,780
Hydration 7	0,478
Hydration 21	0,612

Hydration 60	0,277
Melanin 1	0,867
Melanin 2	0,037
Melanin 7	0,285
Melanin 21	0,287
Melanin 60	0,830
Tewl 1	0,435
Tewl 2	0,298
Tewl 7	0,828
Tewl 21	0,000
Tewl 60	0,354
Erythema 1	0,900
Erythema 2	0,000
Erythema 7	0,831
Erythema 21	0,591
Erythema 60	0,463
Woundhealing 7	0,800
Woundhealing 21	0,637
Woundhealing 60	0,000
Heamoglobin 1	0,202
Heamoglobin 2	0,942
Heamoglobin 7	0,859
Heamoglobin 21	0,751

Heamoglobin 60	0,585
Elevation 1	0,708
Elevation 2	0,304
Elevation 7	0,796
Elevation 21	0,012
Elevation 60	0,429
Oximetry	0,683
Texture 1	0,090
Texture 2	0,743
Texture 7	0,506
Texture 21	0,105
Texture 60	0,717

Οι μεταβλητές που δεν ακολουθούν κανονική κατανομή ($\text{Sign} < 0,05$), είναι η μελανίνη και το ερύθημα την ημέρα 2, η άδηλη απώλεια την ημέρα 21, και ο δείκτης Elevation την ημέρα 21.

Έλεγχος κατανομής για την ομάδα που έλαβε Dispace Gel

Παράγοντες	Tests of Normality (Shapiro-Wilk)
Age	0,500
Height	0,293
Weight	0,009
BMI	0,087
Length x Width (mm ²)	0,117
Hydration Day 1	0,991
Hydration Day 2	0,510
Hydration 7	0,478
Hydration 21	0,385
Hydration 60	0,000
Melanin 1	0,908
Melanin 2	0,235
Melanin 7	0,146
Melanin 21	0,248
Melanin 60	0,154
Tewl 1	0,537
Tewl 2	0,500
Tewl 7	0,363
Tewl 21	0,796
Tewl 60	0,229

Erythema 1	0,554
Erythema 2	0,912
Erythema 7	0,735
Erythema 21	0,863
Erythema 60	0,062
Wound healing 7	0,215
Wound healing 21	0,051
Wound healing 60	-
Heamoglobin 1	0,670
Heamoglobin 2	0,309
Heamoglobin 7	0,328
Heamoglobin 21	0,250
Heamoglobin 60	0,444
Elevation 1	0,844
Elevation 2	0,116
Elevation 7	0,553
Elevation 21	0,502
Elevation 60	0,121
Oximetry	0,062
Texture 1	0,008
Texture 2	0,041
Texture 7	0,054
Texture21	0,404

Texture 60	0,118
------------	-------

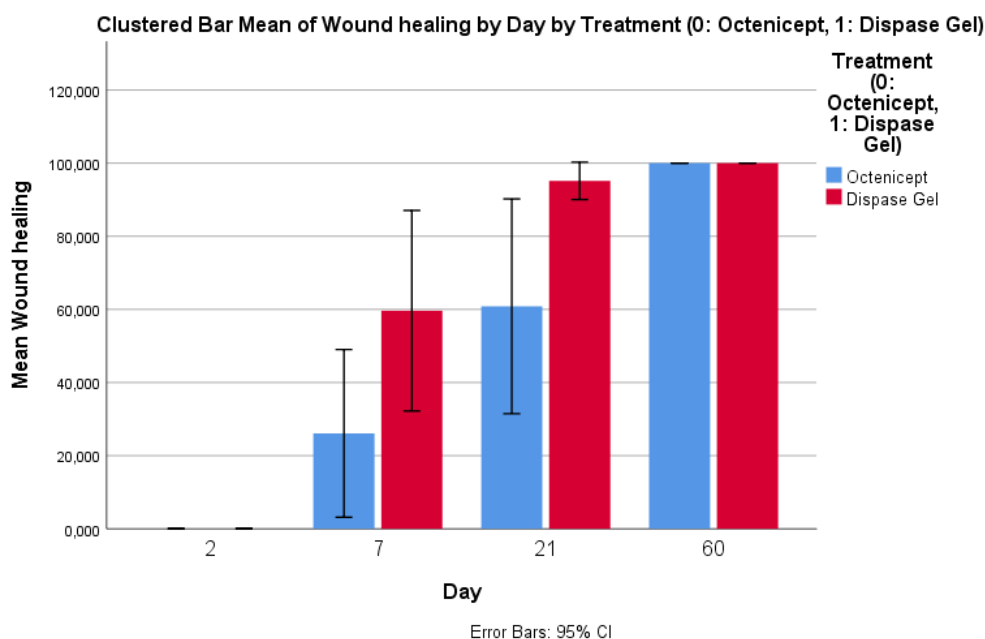
Μετά από έλεγχο κανονικότητας για της μεταβλητές της ομάδας ασθενών που λάμβανε γέλη διασπάσης διαπιστώθηκε ότι το βάρος, η ενυδάτωση την ημέρα 60 και ο δείκτης Texture (υφή) την ημέρα 1 και την ημέρα 2 δεν ακολουθούν κανονική κατανομή, ενώ όλες οι υπόλοιπες ακολουθούν (Sign > 0,05).

Διαφορές μεταξύ των δύο ομάδων

Παράγοντες	P - value	Methods
Age	0,396	Independent Sample T test
Height	0,722	Independent Sample T test
BMI	0,114	Independent Sample T test
Weight	0,336	Two Independent-Samples Mann Whitney U
Length x Width (mm ²)	0,795	Independent Sample T test
Hydration_1	0,355	Independent Sample T test
Hydration_2	0,212	Independent Sample T test
Hydration_7	0,033	Independent Sample T test
Hydration_21	0,080	Independent Sample T test
Hydration_60	0,393	Two Independent-Samples Mann Whitney U
Melanin_1	0,949	Independent Sample T test
Melanin_2	0,620	Two Independent-Samples Mann Whitney U
Melanin_7	0,176	Independent Sample T test
Melanin_21	0,769	Independent Sample T test
Melanin_60	0,819	Independent Sample T test
TEWL1	0,908	Two Independent-Samples Mann Whitney U
TEWL2	0,242	Two Independent-Samples Mann Whitney U
TEWL7	0,795	Independent Sample T test
TEWL21	0,662	Two Independent-Samples Mann Whitney U
TEWL60	0,069	Independent Sample T test
Erythema1	0,312	Independent Sample T test
Erythema2	1	Two Independent-Samples Mann Whitney U
Erythema7	0,074	Independent Sample T test
Erythema21	0,512	Independent Sample T test
Erythema60	0,923	Independent Sample T test

woundhealing7	0,050	Independent Sample T test
woundhealing21	0,004	Independent Sample T test
woundhealing60	-	Independent Sample T test
heamoglobin1	0,635	Independent Sample T test
heamoglobin2	0,457	Independent Sample T test
heamoglobin7	0,104	Independent Sample T test
heamoglobin21	0,349	Independent Sample T test
heamoglobin60	0,475	Independent Sample T test
Elevation1	0,031	Independent Sample T test
Elevation2	0,097	Independent Sample T test
Elevation7	0,299	Independent Sample T test
Elevation21	0,476	Two Independent-Samples Mann Whitney U
Elevation60	0,251	Independent Sample T test
Oximetry	0,772	Independent Sample T test
Texture 1	0,073	Two Independent-Samples Mann Whitney U
Texture2	0,639	Two Independent-Samples Mann Whitney U
Texture 7	0,348	Independent Sample T test
Texture 21	0,630	Independent Sample T test
Texture 60	0,403	Independent Sample T test

Παρακάτω ακολουθούν τα γραφήματα των μέσων όρων για κάθε παράμετρο ανα ομάδα θεραπείας σε σχέση με τις ημέρες μετρήσεων 1,2,7,21 και 60. Να σημειωθεί πως για την ημέρα 60 οι μέσοι όροι απεικονίζουν την υποομάδα ασθενών που ήρθε και την τελική ημέρα 60 για επανέλεγχο ($N_{60}=8$). Ο σχολιασμός των στατιστικά σημαντικών διαφορών για τις ίδιες ομάδες επικεντρώνεται στις ημέρες κλινικής σημασίας όπως και στην διαφορά μεταξύ των δύο ομάδων θεραπείας.



Σύμφωνα με το γράφημα και τη στατιστική επεξεργασία, προέκυψε ότι $p\text{-value} < \alpha = 5\%$, το οποίο πρακτικά σημαίνει ότι απορρίπτεται η μηδενική υπόθεση. Συνεπώς η διαφορά δεν είναι μηδέν. Άρα παρατηρείται στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των δύο ομάδων την ημέρα 7 και την ημέρα 21 σύμφωνα με το συγκεντρωτικό πίνακα παραπάνω, με την ομάδα διασπάσης να εμφανίζει σημαντική άύξηση στο ποσοστό επούλωσης του έλκους. Την ημέρα 60 έχουμε πλήρη επούλωση και για τις 2 ομάδες.

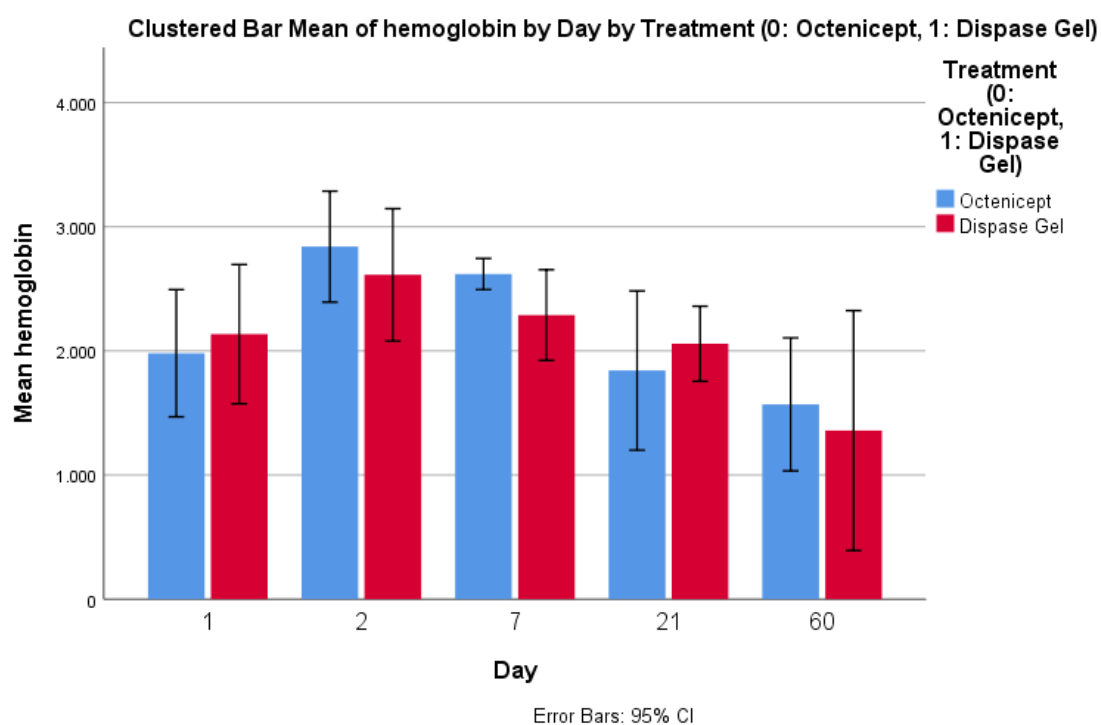
Ανάμεσα στις ίδιες ομάδες παρατηρείται στατιστικά σημαντική μείωση στο εμβαδόν του έλκους μεταξύ των ημερών 2 και 60 και για τις 2. Η γέλη διασπάσης εμφάνισε στατιστικά σημαντική μείωση του έλκους τις ημέρες 7 με 21, ενώ της διασπάσης όχι.

Διαφορές εντός ομάδας για την ομάδα που λαμβάνει το φάρμακο αναφοράς:

Ημέρα	P-Value	Method
2 με 60	0,046	2 related samples Wilcoxon test
7 με 60	0,068	2 related samples Wilcoxon test
21 με 60	0,109	2 related samples Wilcoxon test
2 με 21	0,005	Paired-samples T-test
2 με 7	0,034	Paired-samples T-test
7 με 21	0,001	Paired-samples T-test

Για την γέλη διασπάσης:

Ημέρα	P-Value	Method
2 με 7	0,002	Paired-samples T-test
7 με 21	0,026	Paired-samples T-test
21 με 60	0,056	Paired-samples T-test
7 με 60	0,004	Paired-samples T-test



Ανάμεσα στις ίδιες ομάδες παρατηρείται στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των ημερών 2 με 60 για τους ασθενείς που λαμβάνουν γέλη διασπάσης, ενώ τάση για στατιστικά σημαντική διαφορά στη μείωση της αιμογλοβίνης μεταξύ των ημερών 2 με 7.

Οι ασθενείς που λάμβαναν το φάρμακο αναφοράς εμφάνισαν στατιστική διαφορά τις ημέρες 2 με 60 και τις ημέρες 2 με 7.

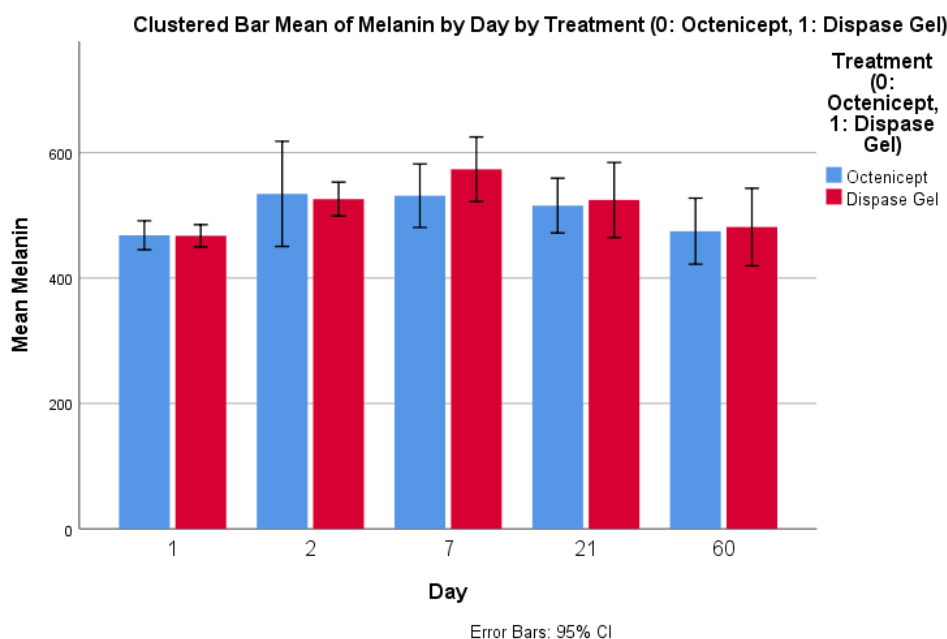
Για την ομάδα γέλης διασπάσης

Heamoglobin	Ημέρα	Sig. (2-tailed)	Method
	1 με 60	0,235	Paired-samples T-test
	2 με 60	0,013	Paired-samples T-test
	2 με 7	0,069	Paired-samples T-test

	7 με 21	0,299	Paired-samples T-test
	21 με 60	0,176	Paired-samples T-test
	7 με 60	0,139	Paired-samples T-test
	1 με 21	0,361	Paired-samples T-test

Για την ομάδα του φαρμάκου αναφοράς

Heamoglobin	Ημέρα	P-Value	Method
	1 με 60	0,218	Paired-samples T-test
	2 με 60	0,025	Paired-samples T-test
	7 με 60	0,012	Paired-samples T-test
	21 με 60	0,033	Paired-samples T-test
	2 με 21	0,068	Paired-samples T-test
	2 με 7	0,313	Paired-samples T-test
	7 με 21	0,037	Paired-samples T-test
	1 με 21	0,662	Paired-samples T-test



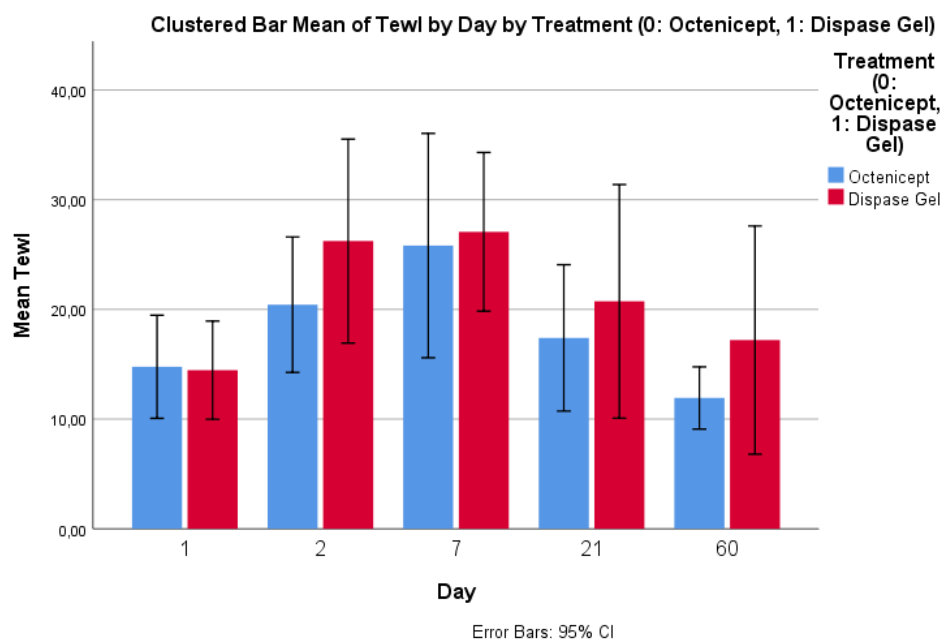
Σχετικά με τη μελανίνη δεν παρατήρηθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των 2 ομάδων θεραπείας. Την ημέρα 7 η ομάδα που λάμβανε διασπάση εμφάνισε υψηλότερες τιμές, ενώ με την ολοκλήρωση της θεραπείας την ημέρα 60 οι τιμές μεταξύ των 2 ομάδων ήταν σχεδόν ίσες. Έχει αναφερθεί στη βιβλιογραφία πως το σημείο γύρω απ' την βλάβη που έγιναν οι μετρήσεις μπορεί να εμφανίσει συχνά ως ανεπιθύμητη ενέργεια υπερμελάγχρωση. Οι μετρήσεις την ημέρα 21 και ημέρα 60 δείχνουν την τελική μείωση με επαναφορά του δέρματος σε σχεδόν ίσες τιμές με την ημέρα 1 που δεν έχουμε έλκος.

Melanin για την ομάδα του φαρμάκου αναφοράς

Ημέρα	P-Value	Method
1 με 60	0,439	Paired examples test
2 με 60	0,068	2 related samples Wilcoxon test
2 με 7	0,043	Paired examples test
7 με 21	0,100	Paired examples test
21 με 60	0,273	2 related samples Wilcoxon test
7 με 60	0,026	2 related samples Wilcoxon test
7 με 21	0,302	Paired examples test
1 με 21	0,065	Paired examples test

Melanin για την ομάδα γέλης διάσπασης

Ημέρα	P – value	Method
1 με 60	0,602	Paired examples test
2 με 60	0,385	Paired examples test
2 με 7	0,042	Paired examples test
7 με 21	0,148	Paired examples test
21 με 60	0,029	Paired examples test
7 με 60	0,134	Paired examples test
1 με 21	0,067	Paired examples test



Η άδηλη απώλεια εμφάνισε τάση για στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των 2 ομάδων την ημέρα 60, συνεπώς αυτό υποδηλώνει καλύτερη αποκατάσταση του φραγμού σε σχέση με

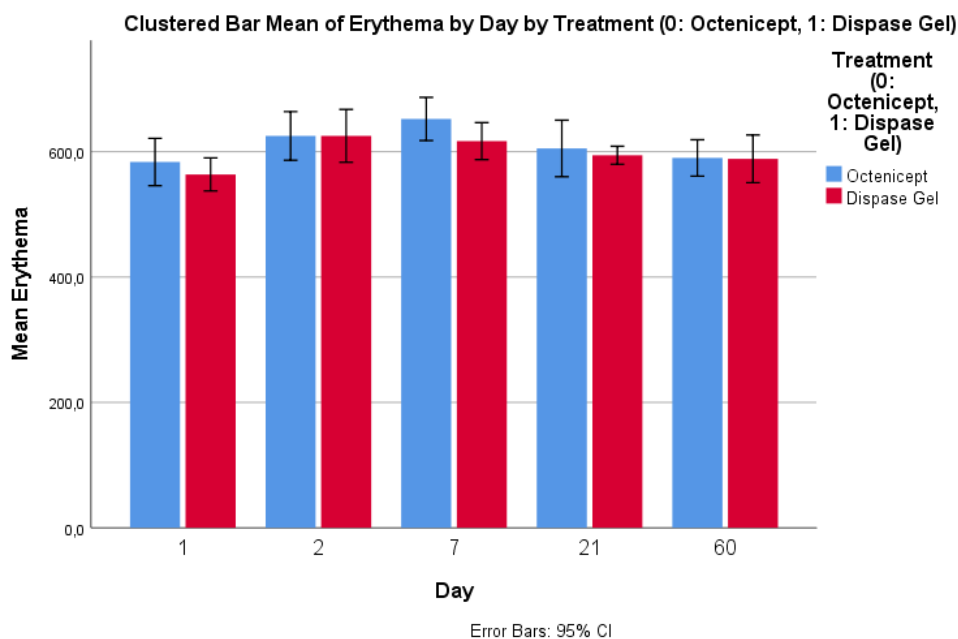
την ομάδα που λάμβανε γέλη διασπάσης. Μεταξύ των ημερών η ομάδα που λάμβανε Octenisept εμφάνισε στατιστικά σημαντική μείωση της άδηλης απώλειας μεταξύ των ημερών 2 με 60, ενώ η άλλη όχι. Αντίθετα η γέλη διασπάσης εμφάνισε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των ημερών 7 με 60.

Tewl για την ομάδα Octenisept

Ημέρα	P-Value	Method
1 με 60	0,542	Paired examples test
2 με 60	0,02	Paired examples test
7 με 60	0,078	Paired examples test
21 με 60	0,068	2 related samples Wilcoxon test
2 με 21	0,357	2 related samples Wilcoxon test
2 με 7	0,192	Paired examples test
7 με 21	0,042	2 related samples Wilcoxon test
1 με 21	0,500	2 related samples Wilcoxon test

Tewl για την ομάδα γέλης διάσπασης

Ημέρα	Sig. (2-tailed)	Method
1 με 60	0,059	Paired examples test
2 με 60	0,346	Paired examples test
2 με 7	0,860	Paired examples test
7 με 21	0,059	Paired examples test
21 με 60	0,075	Paired examples test
7 με 60	0,019	Paired examples test
1 με 21	0,293	Paired examples test



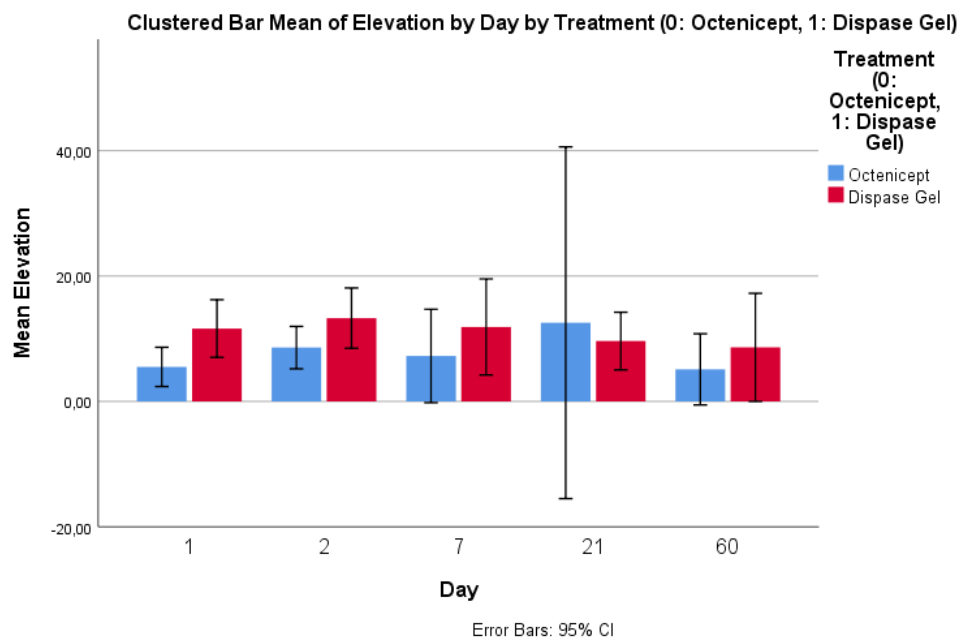
Το ερύθημα μεταξύ των δύο ομάδων δεν εμφάνισε στατιστικά σημαντική διαφορά για τις 2 θεραπείες. Όμως παρατηρούμε τάση για στατιστικά σημαντική διαφορά την ημέρα 7 με την ομάδα του φαρμάκου αναφοράς να εμφανίζει υψηλότερες τιμές ερυθήματος.

Erythema για την ομάδα του φαρμάκου αναφοράς

Ημέρα	P-Value	Method
1 με 60	0,878	Paired examples test
2 με 60	0,109	2 related samples Wilcoxon test
7 με 60	0,059	Paired examples test
21 με 60	0,818	Paired examples test
2 με 21	0,068	2 related samples Wilcoxon test
2 με 7	0,854	2 related samples Wilcoxon test
7 με 21	0,950	Paired examples test
1 με 21	0,948	Paired examples test

Erythema για το γκρούπ διάσπασης

Ημέρα	Sig. (2-tailed)	Method
1 με 60	0,329	Paired-samples T-test
2 με 60	0,429	Paired-samples T-test
2 με 7	0,662	Paired-samples T-test
7 με 21	0,269	Paired-samples T-test
21 με 60	0,955	Paired-samples T-test
7 με 60	0,472	Paired-samples T-test
1 με 21	0,041	Paired-samples T-test



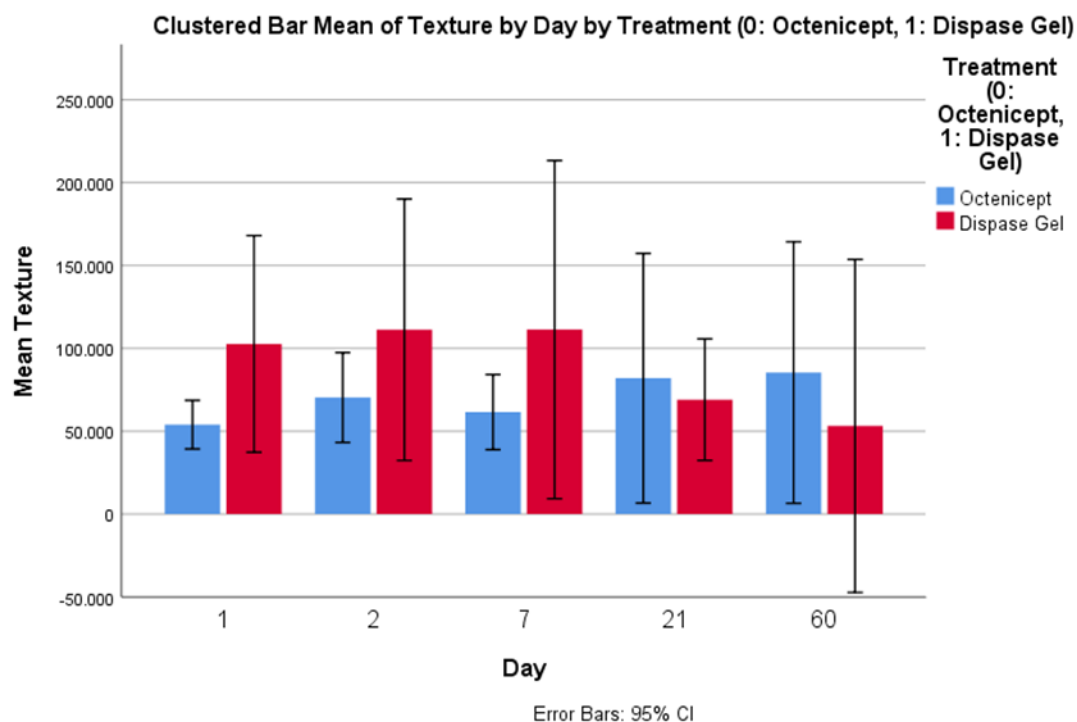
Ο δείκτης Elevation εμφάνισε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των ασθενών την ημέρα 1. Αυτό δεν είναι επιθυμητό καθώς φανερώνει ότι τα δείγματα από τις 2 ομάδες ασθενών δεν ήταν παρόμοια πριν ξεκινήσει η θεραπεία με τις 2 γέλες. Μεταξύ των ημερών ανά ομάδα δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικά αποτελέσματα.

Elevation για την ομάδα του φαρμάκου αναφοράς

Ημέρα	P-Value	Method
1 με 60	0,965	Paired-samples T-test
2 με 60	0,05	Paired-samples T-test
7 με 60	0,400	2 related samples Wilcoxon test
21 με 60	1	2 related samples Wilcoxon test
2 με 21	0,715	Paired-samples T-test
2 με 7	0,450	2 related samples Wilcoxon test
7 με 21	0,715	2 related samples Wilcoxon test
1 με 21	0,465	2 related samples Wilcoxon test

Elevation για το γκρούπ διάσπασης

Ημέρα	Sig. (2-tailed)	Method
1 με 60	0,207	Paired-samples T-test
2 με 60	0,140	Paired-samples T-test
2 με 7	0,737	Paired-samples T-test
7 με 21	0,510	2 related samples Wilcoxon test
21 με 60	0,082	Paired-samples T-test
7 με 60	0,447	Paired-samples T-test
1 με 21	0,539	Paired-samples T-test



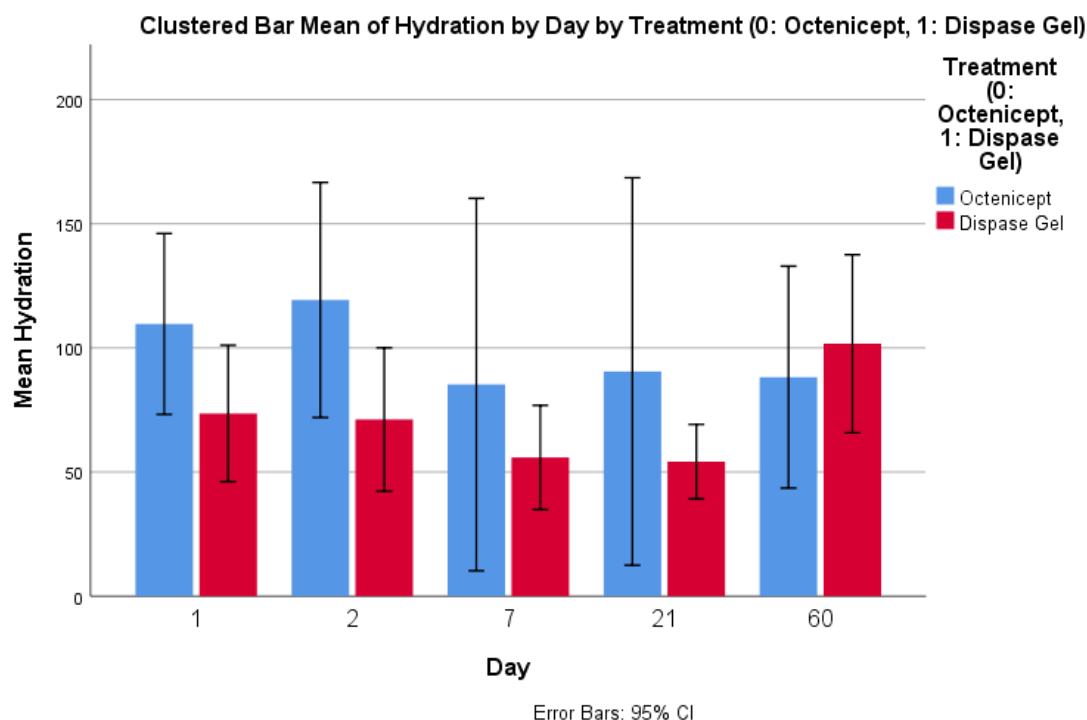
Ο δείκτης της υφής δεν εμφάνισε στατιστικά σημαντικές διαφορές ως προς την σύγκριση μεταξύ των δύο ομάδων. Επίσης δεν υπήρχαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ως προς τις ημέρες σύγκρισης ανά ομάδα. Αξίζει όμως να αναφερθεί πως παρατηρείται έντονη μείωση του δείκτη την ημέρα 7 με την ημέρα 21, πράγμα που υποδηλώνει μείωση της τραχύτητας του δέρματος για την ομάδα που λάμβανε γέλη διασπάσης.

Texture για την ομάδα του φαρμάκου αναφοράς

Ημέρα	P-Value	Method
1 με 60	0,229	Paired-samples T-test
2 με 60	0,589	Paired-samples T-test
7 με 60	0,414	Paired-samples T-test
21 με 60	0,945	Paired-samples T-test
2 με 21	0,715	2 related samples Wilcoxon test
2 με 7	0,198	Paired-samples T-test
7 με 21	0,512	Paired-samples T-test
1 με 21	429	Paired-samples T-test

Texture για την ομάδα διάσπασης

Ημέρες	P - value	Method
1 με 60	0,593	2 related samples Wilcoxon test
2 με 60	0,593	2 related samples Wilcoxon test
2 με 7	0,753	2 related samples Wilcoxon test
7 με 21	0,318	Paired-samples T-test
21 με 60	0,757	Paired-samples T-test
7 με 60	0,123	2 related samples Wilcoxon test
1 με 21	0,249	2 related samples Wilcoxon test



Ο δείκτης ενυδάτωσης εμφάνισε στατιστικά σημαντική διαφορά την ημέρα 7 μεταξύ των δύο ομάδων θεραπείας με τους ασθενείς που λάμβαναν το φάρμακο αναφοράς να έχουν πιο ενυδατωμένο δέρμα. Για τις ίδιες ομάδες μεταξύ των ημερών δεν είχαμε στατιστικά σημαντικές διαφορές. Όμως αυτό δεν μπορεί να εξηγηθεί με ασφάλεια καθώς από πριν την εφαρμογή των δύο φαρμάκων οι ασθενείς της συγκεκριμένης ομάδας είχαν αρκετά υψηλότερες τιμές. Αξίζει να σημειωθεί πως οι ασθενείς που λάμβαναν γέλη διασπάσης την τελική ημέρα έδειξαν μεγάλη βελτίωση στις τιμές ενυδάτωσης, η οποία αποτελεί δείκτη υγιούς δέρματος. Λόγω του μικρού δείγματος ασθενών όμως, θα ήταν μη ασφαλής η εξαγωγή συμπεράσματος σχετικά με την ενυδάτωση.

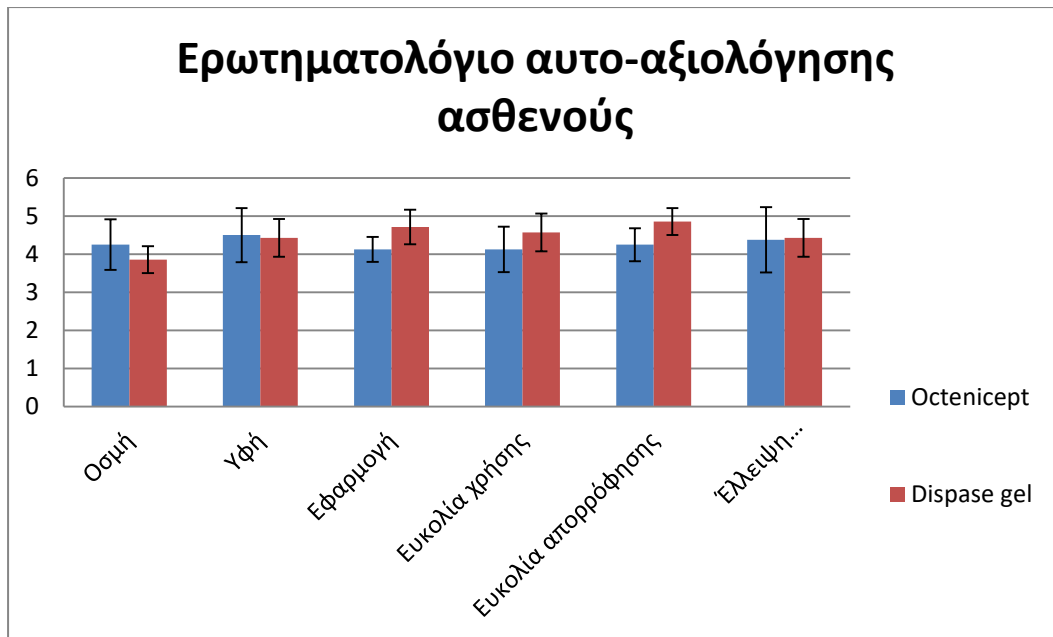
Hydration για το φάρμακο αναφοράς

Ημέρα	P-Value	Method
1 με 60	0,281	Paired-samples T-test
7 με 60	0,640	Paired-samples T-test
21 με 60	0,733	Paired-samples T-test
2 με 21	0,852	Paired-samples T-test
2 με 7	0,668	Paired-samples T-test
7 με 21	0,675	Paired-samples T-test

1 με 21	0,543	Paired-samples T-test
---------	-------	-----------------------

Hydration για την ομάδα διασπάσης

Ημέρες	P –value	Method
1 με 60	0,285	2 related samples Wilcoxon test
2 με 60	0,109	2 related samples Wilcoxon test
2 με 7	0,165	Paired-samples T-test
7 με 21	0,797	Paired-samples T-test
21 με 60	0,109	2 related samples Wilcoxon test
1 με 21	0,213	Paired-samples T-test



Στατιστικά, δεν προκύπτουν σημαντικές διαφορές στα δύο σκευάσματα κατά την αξιολόγηση αυτών από τους ασθενείς.

Παράγοντας	P – value	Method
Οσμή	0,212	Two Independent-Samples Mann Whitney U
Υφή	0,108	Two Independent-Samples Mann Whitney U
Ευκολία χρήσης	0,170	Two Independent-Samples Mann Whitney U
Ευκολία απορρόφησης	0,675	Two Independent-Samples Mann Whitney U
Έλλειψη ερεθιστικότητας	0,594	Two Independent-Samples Mann Whitney U

5. Συζήτηση

Η επιλογή του ενζύμου έγινε διότι σε πειράματα καλλιέργειας κερατινοκυττάρων φάνηκε τόσο η αποτελεσματική του πρωτεολυτική δράση όσο και η μικρή τοξικότητα στο δέρμα. Επιπλέον, βασίστηκε σε δύο προηγούμενες μελέτες που εξετάσθηκε η χρήση τους ως μία μη επεμβατική μέθοδος νεαροποίησης πληγών. Στη συγκεκριμένη συγκέντρωση 5U φάνηκε να συμβάλλει σημαντικά και να υπερτερεί έναντι των συγκεντρώσεων 1U. Επίσης, η πιο γρήγορη επούλωση είχε επιτευχθεί με συχνότητα χορήγησης μία φορά ανα τρεις ημέρες. Μετά τη μορφοποίηση της διασπάσης σε πήκτωμα έγινε εφαρμογή της μία φορά ανα τρεις ημέρες ώστε να διερευνηθεί η πιθανή προληπτική της δράση ως προς το σχηματισμό νεκρωτικού ιστού. Το γεγονός αυτό, έχει επιβεβαιωθεί *in vivo* σε πείραμα που έχει γίνει στο εργαστήριο συγκρίνοντας την διασπάση με το ένζυμο ακιουτάση και με μάρτυρες εκδόχου. Εκεί παρατηρήθηκε ότι στα ποντίκια που χορηγούνταν διασπάση γινόταν πιο εύκολα η απομακρυνή του νεκρωτικού ιστού.

Στην κλινική μελέτη η θεραπεία με τη γέλη διασπάσης εμφάνισε στατιστικά σημαντική διαφορά σε σχέση με το φάρμακο αναφοράς για την μείωση του ποσοστού του έλκους ην ημέρα 7 και την ημέρα 21.

Όσον αφορά την ενυδάτωση παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα στις δύο ομάδες για τις ημέρες 7 και τάση για στατιστικά σημαντική διαφορά την ημέρα 21 με την ομάδα που λάμβανε το φάρμακο αναφοράς να έχει αυξημένη ενυδάτωση. Η προπυλενογλυκόλη που περιέχει το φάρμακο αναφοράς έχει ενυδατική δράση. Επίσης, οι ασθενείς που λάμβαναν το φάρμακο αναφοράς εμφάνιζαν αυξημένες τιμές ενυδάτωσης από πριν τη δημιουργία του έλκους, δηλαδή την ημέρα 1. Ένα πλεονέκτημα της κρυοχειρουργικής θεραπείας αποτελεί η αντίσταση των κολλαγόνων ινών στη βλάβη από την ψύξη, η οποία βοηθά στην ενυδάτωση και διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην αναπλαστική πορεία. Από τις κολλαγόνες ίνες εξαρτάται η καλή επούλωση. Η σύγκριση της επούλωσης των τραυμάτων του δέρματος από το έγκαυμα των βλαβών από την ψύξη δείχνει την αντίσταση του κολλαγόνου στις διαταραχές από την ψύξη. Σε αντίθεση με το τραύμα από έγκαυμα, στην ψύξη δεν παρατηρείται συρρίκνωση των κολλαγόνων ινών (Shepherd, 1984).

Η άδηλη απώλεια ύδατος εμφάνισε στατιστική σημαντικότητα την ημέρα 60 με την ομάδα που λάμβανε γέλη του φαρμάκου αναφοράς να εμφανίζει χαμηλότερες τιμές. Αυτό φαίνεται να συνεπάγεται καλύτερη αποκατάσταση του φραγμού του δέρματος. Αντίθετα, η μελανίνη, δεν εμφάνισε στατιστικά σημαντικές διαφορές ανάμεσα στις δύο ομάδες με αύξηση τις πρώτες μέρες της θεραπείας. Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, οι διαταραχές της μελάγχρωσης παρατηρούνται συχνότερα σε μελαχρινά άτομα. Η μεταφλεγμονώδης υπέρχρωση είναι συχνή μετά από μικρής διάρκειας θεραπεία. Ωστόσο, μία ασυνήθης μελάγχρωση είναι η

μεταφλεγμονώδης μελάγχρωση που εμφανίζεται ως δαχτυλίδι γύρω από μία υπόχρωμη περιοχή μετά από θεραπεία ενός καρκινώματος (Παναγιωτόπουλος, 2004). Επί της βλάβης δύναται να παρουσιαστεί υποχρωμία.

Το ερύθημα δεν εμφάνισε στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των ομάδων ενώ παρουσίασε αντίστοιχη καμπύλη τιμών όπως η αιμογλοβίνη δείχνοντας την πορεία της φλεγμονής να εξελίσσεται από την 2η ημέρα και να απεικονίζει τοπικό μέγιστο την ημέρα 7. Αυτό είναι σύμφωνο με την βιβλιογραφία καθώς η πρώτη φάση της φλεγμονής οδηγεί σε επαναγγείωση της τραυματικής επιφάνειας και αιμόσταση. (Carrico et al., 1984; Wahl et al., 1974). Με την κρυοχειρουργική προκαλείται διάχυση των ερυθρών αιμοσφαιρίων το οποίο γίνεται αντιληπτό και στις τιμές της αιμοσφαιρίνης. Οι τιμές της αιμογλοβίνης φαίνεται να αποκαθίσταται την ημέρα 21.

Ο δείκτης Elevation αντίστοιχα ακολουθεί την πορεία της φλεγμονής όμως εμφάνισε στατιστικά σημαντική διαφορά την ημέρα 1 συνεπώς οι δύο ομάδες ασθενών που συγκρίθηκαν δεν είχαν ομοιόμορφη υφή δέρματος. Τέλος, ο δείκτης Texture δεν εμφάνισε στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των δύο ομάδων. Αναφορικά με αυτούς τους δύο δείκτες δεν υπάρχουν βιβλιογραφικά δεδομένα για έλκη που επάγονται με τη διαδικασία της κρυοχειρουργικής.

6. Συμπεράσματα

- Η γέλη διασπάσης σε δόση 5U/ml με εφαρμογή 1 φορά ανά τρεις ημέρες βελτίωσε την ταχύτητα επούλωσης των ελκών σε δόση 5U/ml σε σύγκριση με το φάρμακο αναφοράς
- Η ενυδάτωση ήταν υψηλότερη στην ομάδα που έλαβε το φάρμακο αναφοράς για τις πρώτες 21 μέρες παρακολούθησης
- Η άδηλη απώλεια ύδατος ήταν χαμηλότερη για την ομάδα του φαρμάκου αναφοράς καθ' όλη την διάρκεια της επούλωσης
- Η ποσότητα της αιμογλοβίνης ήταν χαμηλότερη στην ομάδα που έλαβε γέλη διασπάσης
- Σημαντικές ανεπιθύμητες ενέργειες δεν παρουσιάστηκαν σε ασθενείς του πρωτοκόλλου, ανεξαρτήτως σκευάσματος
- Η παρούσα μελέτη αποτέλεσε μία πρώτη ένδειξη της εφαρμογής του πηκτώματος σε ομάδα ασθενών συνεπώς χρειάζεται περαιτέρω διερεύνηση με μεγαλύτερο πληθυσμό δείγματος

7. Επόμενα βήματα

- Διερεύνηση επουλωτικής διαδικασίας σε ομάδα ασθενών μαρτύρων εκδόχου
- Επανάληψη της συγκριτικής κλινικής μελέτης σε μεγαλύτερη κλίμακα δείγματος ασθενών για την εξαγωγή ασφαλέστερων συμπερασμάτων
- Προσθήκη αντιμικροβιακού και ενυδατικού παράγοντα στην παρασκευή της γέλης διασπάσης
- Αποτελεσματικότητα διασπάσης στην επούλωση πληγών παρουσία μικροβιακού φορτίου
- Διερεύνηση της σταθερότητας της γέλης σε σχέση με τον χρόνο

Βιβλιογραφία

- Ahn C, Mulligan P, Salcido RS. Smoking the bane of wound healing: biomedical interventions and social influences. *Adv Skin Wound Care* 21:227-238 (2008)
- Allman RM: Pressure ulcers among the elderly, *N Engl J Med*, 320: 850–853, 1989.
- Alvares AP, Bickers DR, Kappas A. Induction of drug-metabolizing enzymes and arylhydrocarbon hydroxylase by microscope immersion oil. *Life Sci* 14:853–60 (1974)
- Amazon K., Robinson M.J., Rywlin A, Ferragination caused by Monsel's solution, *Am. J. Dermatopath.* 2(3):197-205, (1980)
- Amin N, Doupis J. Diabetic foot disease: From the evaluation of the "foot at risk" to the novel diabetic ulcertreatment modalities. *World Diabetes.* 7(7):153-64 (2016)
- Amstad P, Peskin A, Shah G, Mirault ME, Moret R, Zbinden I. The balance between Cu, Znsuperoxide dismutase and catalase affects the sensitivity of mouse epidermal cells to oxidative stress. *Biochemistry* 30:9305–13 (1991)
- Anaya DA, Dellinger EP. The obese surgical patient: a susceptible host for infection. *Surg Infect (Larchmt)* 7:473-480 (2006)
- Aoi N. , Yoshimura K. , Kadono T. , Nakagami G. , Iizuka S. , Higashino T. , Araki J., Koshima I. , Sanada H. Ultrasound assessment of deep tissue injury in pressure ulcers: possible prediction of pressure ulcer progression. *Plast. Reconstr. Surg.* 124 : 540-550 (2009),
- Arnold M, Barbul A. Nutrition and wound healing. *Plast Reconstr Surg* 117(7 Suppl):42S-58S (2006)
- Artuc M, Hermes B, Steckelings UM, Grutzkau A, Henz BM: Mast cells and their mediators in cutaneous wound healing-active participants or innocent bystanders *Exp Dermatol* 8(1):1-16 (1999)
- Athar M. Oxidative stress and experimental carcinogenesis. *Indian J Exp Biol.* 40:656–67 (2002)
- Atkin L.Understanding methods of wound debridement.*Br J Nurs.* 23(12):S10-2, S14-5 (2014)
- Baum, C.L., Arpey, C.J. Normal cutaneous wound healing: clinical correlation with cellular and molecular events. *Dermatol Surg.* 31: 674-686 (2005)
- Beldon P., Basic science of wound healing, *Surgery*, 28: 9:409-412 (2010)
- Bello YM, Phillips TJ. Management of venous ulcers. *J Cutan Med Surg.* 3: 6–12 (1998)

- Bennett, L., Rosenblum, R., Perlov, C., Davidson, J., Barton, R. and Nanney L. An in Vivo Comparison of Topical Agents on Wound Repair. *Plastic and Reconstructive Surgery*, 108(3), pp.675-683 (2001)
- Bergan JJ, Schmid-Schonbein GW, Coleridge Smith PD et al. Mechanisms of disease: chronic venous disease. *N Eng J Med*. 355: 288–98 (2006) 152
- Berke C.T. Pathology and clinical presentation of friction injuries: case series and literature review. *J. Wound Ostomy Cont. Nurs.*, 42 . 47-6: (2015)
- Berlowitz D.R. , Brienza D.M. Are all pressure ulcers the result of deep tissue injury? A review of the literature. *Ostomy Wound Manage*, 53: 34-38 (2007)
- Bickers DR, Athar M. Novel approaches to chemoprevention of skin cancer. *J Dermatol*. 27:691–5 (2000)
- Bickers DR, Dutta-Choudhury T, Mukhtar H. Epidermis: a site of drug metabolism in neonatal rat skin. Studies on cytochrome P-450 content and mixed-function oxidase and epoxide hydrolase activity. *Mol Pharmacol* 21:239–47 (1982)
- Bishop A. Role of oxygen in wound healing. *J Wound Care* 17:399-402 (2008)
- Bjarnsholt T, Kirketerp-Moller K, Jensen P, Kit M, Krogh K, Phipps R. Why chronic wounds won't heal: a novel hypothesis. *Wound Repair Regen* 1:2-10 (2008)
- Black HS. Reassessment of a free radical theory of cancer with emphasis on ultraviolet carcinogenesis. *Integr Cancer Ther* 3:279–93 (2004a)
- Boulton AJ. Pressure and the diabetic foot: clinical science and off loading techniques. *Am J Surg*. 187: 17S–24S (2004)
- Boyapati L, Wang HL. The role of stress in periodontal disease and wound healing. *Periodontol* 2000 44:195-210 (2007)
- Brown C.D., Zitelli, J.A., A review of topical agents for wounds and methods of wounding. Guidelines for wound management. *J Dermatol Surg Oncol*. 19(8):732-737 (1993)
- Brown EJ. Phagocytosis. *Bioessays*. 17:109-17 (1995)
- Bunte, MC, Jacob, J, Nudelman, B, Shishehbor, MH. Validation of the relationship between ankle– brachial and toe–brachial indices and infragenicular arterial patency in critical limb ischemia. *Vasc Med* 20: 23–29 (2015)
- Burgess C. Topical vitamins. *J Drugs Dermatol* 7 (7 Suppl):s2-s6 (2008)
- Burns DA, Breathnach SM, Cox N, Griffiths CE, eds. *Rook's Textbook of Dermatology*. 8th edn. Wiley- Blackwell, New York
- Calabro P, Yeh ET. Obesity, inflammation, and vascular disease: the role of the adipose tissue as an endocrine organ. *Subcell Biochem* 42:63-91 (2007)

- Campos AC, Groth AK, Branco AB. Assessment and nutritional aspects of wound healing. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 11:281-288 (2008)
- Carrico TJ, Mehrhof Al Jr, Cohen IK. Biology of wound healing. *Surg Clin North Am* 64:721-725 (1984)
- Cavanagh PR, Lipsky BA, Bradbury AW, Botek G. Treatment for diabetic foot ulcers. *Lancet*; 366: 1725–35 (2005) 153
- Cerutti P, Shah G, Peskin A, Amstad P. Oxidant carcinogenesis and antioxidant defense. *Ann NY Acad Sci.* 663:158–66 (1992)
- Chen C.P. , Hwang R.L. , Chang S.Y. , Lu Y.T. Effects of temperature steps on human skin physiology and thermal sensation response. *Build. Environ.*, 46: 2387-2397 (2011) • Clark RAF, ed. *The molecular and cellular biology of wound repair.* 2nd ed. New York: Plenum Press (1996)
- Chen, L., Tredget, E., Liu, C. and Wu, Y., 2009. Analysis of Allogenicity of Mesenchymal Stem Cells in Engraftment and Wound Healing in Mice. *PLoS ONE*, 4(9), p.e7119.
- Clark, R.A. Regulation of fibroplasia in cutaneous wound repair. *Am J Med Sci.* 306: 42 – 48. (1993)
- Coleman S., Gorecki C. , Nelson E.A. , Closs S.J. , Defloor T. , Halfens R., Farrin A., Brown J. , L. Schoonhoven, J. Nixon. Patient risk factors for pressure ulcer development: systematic review. *Int. J. Nurs. Stud.* 50 : 974-1003 (2013)
- Cornwall JV, Dore CJ, Lewis JD. Leg ulcers: epidemiology and aetiology. *Br J Surg.* 73: 693–6 (1986)
- Cravello B. , Ferri A. Relationships between skin properties and environmental parameters. *Skin Res. Technol.*, 14: 180-186 (2008)
- Cross S.E. Topical agents used in wound care, in book Roderts M.S.: *Dermatologic, Cosmeceutic and Cosmetic Development Therapeutic and Novel Approaches*, p267-268. Informa Healthcare, New York, London, (2007)
- Davis SC, Ricotti C, Cazzaniga A, Welsh E, Eaglstein WH, Mertz PM. Microscopic and physiologic evidence for biofilm-associated wound colonization in vivo. *Wound Repair Regen* 16:23-29 (2008)
- Dawber RPR, Colver G, Jackson A. *Cutaneous Cryosurgery Principles and Clinical Practice.* Myrtin Dunitz Ltd, London 1992
- Dawber RRP. The use of cryosurgery in Dermatology. In N. Koplan, ed: *Basics of cryosurgery.* Springer, Wien 2001, pp. 47-87 2007;25(1):9-18

- Deveci M., Gilmont R.R., Dunham W.R., Mudge B.P., Smith D.J., Marcelo C.L. Glutathione enhances fibroblast collagen contraction and protects keratinocytes from apoptosis in hyperglycaemic culture. *Br. J. Dermatol.* 152(2):217-24. (2005)
- Dhar A, Young MR, Colburn NH. The role of AP-1, NF-kappaB and ROS/NOS in skin carcinogenesis: the JB6 model is predictive. *Mol Cell Biochem* 234–235:185–93 (2002)
- Diegelmann, R.F., Evans, M.C. Wound healing: an overview of acute, fibrotic and delayed healing. *FrontBiosci.* 1: 283 – 289 (2004)
- Dizdaroglu, M., Jaruga, P., Birincioglu, M., Rodriguez, H.. Free radical-induced damage to DNA: mechanisms and measurement. *Free Radic. Biol. Med.* 32, 1102-1115. (2002)
- Doglietti M. Skin disorders in the Bantu: a survey of 2000 cases from Baragwanath Hospital. *S Afr Med J* 44: 670–2 (1970)
- Dong Y-L, Fleming RYD, Yan TZ, Herndon DN, Waymack JP. Effect of ibuprofen on the inflammatory response to surgical wounds. *J Trauma* 35:340-343 (1993)
- Druno B. Anatomy and physiology of skin and cutaneous annexes *Ann Dermatol Venereol* 2009; 6:S247-51
- Dunnill C, Patton T, Brennan J, Barrett J, Dryden M, Cooke J, Leaper D, Georgopoulos NT. Reactive oxygen species (ROS) and wound healing: the functional role of ROS and emerging ROS- 154 modulating technologies for augmentation of the healing process. *Int Wound J.* 14 (1):89- 96. (2017)
- Dvivedi S, Tiwari SM, Sharma A. Effect of ibuprofen and diclofenac sodium on experimental wound healing. *Indian J Exp Biol* 35:1243-1245 (1997)
- Edmonds M. Diabetic foot ulcers: practical treatment recommendations. *Drugs.* 66: 913–29 (2006)
- Edwards R, Harding KG. Bacteria and wound healing. *Curr Opin Infect Dis* 17:91-96. (2004)
- Elliot IMZ. A short history of surgical dressings Pharmaceutical Press. London (1964)
- Ema.europa.eu. 2016. European Public MRL Assessment Report (EPMAR) Octenidine Dihydrochloride. [online] Available at: <https://www.ema.europa.eu/en/documents/mrl-report/octenidine-dihydrochloride-european-public-mrl-assessment-report-epmar-committee-medicinal-products_en.pdf> [Accessed 9 September 2020].

- Emery CF, Kiecolt-Glaser JK, Glaser R, Malarkey WB, Frid DJ. Exercise accelerates wound healing among healthy older adults: a preliminary investigation. *J Gerontol Med Sci.* 60 (A):1432-1436 (2005)
- Engebretsen K.A. , Johansen J.D. , Kezic S. , Linneberg A. , Thyssen J.P. The effect of environmental humidity and temperature on skin barrier function and dermatitis. *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.* 30: 223-249 (2016)
- Ennis, W.J., Meneses, P. Wound healing at the local level: the stunned wound. *Ostomy Wound Manage.* 46(1A suppl): 39S – 48S (2000)
- Enoch, S., John Leaper, D. Basic science of wound healing. *Surgery (Oxford).* 23:37–42 (2005)
- Enquist IF, Adamson RJ: Collagen synthesis and lysis in healing wounds. *Minn Med* 46:1695-1704 (1965)
- Epstein E., Effects of tissue destructive techniques on wound healing. *J Am Acad Dermatol.* 14(6): 1098-1099 (1986)
- Falanga, V. Wound healing and chronic wounds. *J Cutan Med Surg.* 3 (suppl 1): 1S – 5S. (1998)
- Farrant J, Moris GI. Thermal shock and dilution shock as the causes of freezing injury. *Cryobiol* 1973, 10:134-140
- Feliciani C, Gupta AK, Sauder DN: Keratinocytes and cytokine/growth factors. *Crit Rev Oral Biol Med.* 7(4):300-318 (1996)
- Fletcher, J. Differences between acute and chronic wounds and the role of wound bed preparation. *Nursing Standard,* 22(24), 62 – 68 (2008)
- Fontana L, Eagon JC, Colonna M, Klein S. Impaired mononuclear cell immune function in extreme obesity is corrected by weight loss. *Rejuvenation Res* 10:41-46 (2007)
- Franz MG, Steed DL, Robson MC. Optimizing healing of the acute wound by minimizing complications. *Curr Probl Surg* 44:691-763 (2007)
- Fraser J, Gill W. Observations on ultra-frozen tissue *Brit J of Surgery* 1967, 54:770-776
- Galinos.gr. (2017). Γαληνός - Δραστική ουσία - Σουλφαδιαζίνη. [online] Available at: <http://www.galinos.gr/web/drugs/main/substances/sulfadiazine> (2017)
- Gallico GG 3rd, O'Connor NE, Compton CC, Kehinde O, Green H: Permanent coverage of large burn wounds with autologous cultured human epithelium, *N Engl J Med,* 311: 448–451, (1984)
- Ganong WF. Ιατρική Φυσιολογία. Επιμέλεια- Μετάφραση Ι Χατζημήνας, Επιστημονικές Εκδόσεις Γ. Παρισσιανός, Αθήνα 1975

- Ganz T. Macrophage function. *New Horiz.* 1: 23 – 27 (1993) 155
- Garcia-Fernandez F.P. , Soldevilla Agreda J.J. , Pancorbo-Hidalgo P.L. , Verdu-Soriano J. , Lopez Casanova P. , Rodriguez-Palma M. Classification of dependent related skin lesions: a new proposal. *J. Wound Care*, 25: 28-32 (2016)
- Gillitzer R, Goebeler M: Chemokines in cutaneous wound healing. *J Leukoc Biol.* 69(4):513-521 (2001)
- Gilliver SC, Ashworth JJ, Ashcroft GS. The hormonal regulation of cutaneous wound healing. *Clin Dermatol* 25:56-62 (2007)
- Givol O1,2, Kornhaber R2,3, Visentin D3 , Cleary M3 , Haik J2,4,5, Harats M2,6. A systematic review of *Calendula officinalis* extract for wound healing. *Wound Repair Regen.* (2019)
- Glaser R, Kiecolt-Glaser JK. Stress-induced immune dysfunction: implications for health. *Nat Rev Immunol* 5:243-251 (2005)
- Godbout JP, Glaser R. Stress-induced immune dysregulation: implications for wound healing, infectious disease and cancer. *J Neuroimmune Pharmacol* 1:421-427 (2006) • Gogia PP. Physiology of wound healing. In: *Clinical wound management*. Gogia PP, editor. Thorofare, NJ: Slack Incorporated, pp 8-12 (1995)
- Golberg L, Martin LE, Batchelor. A Biochemical changes in the tissues of animals injected with iron. Lipid peroxidation. *Biochem J.* 83:291 (1962)
- Gosain A, DiPietro LA. Aging and wound healing. *World J Surg* 28:321-326 (2004)
- Gottrup F. A specialized wound-healing center concept: importance of a multidisciplinary department structure and surgical treatment facilities in the treatment of chronic wounds. *Am J Surg.* 187(5):S38–S43 (2004)
- Gottrup, F., Apelqvist, J., Bjansholt, T., Cooper, R., Moore, Z., Peters, E. and Probst, S.. EWMA. Document: Antimicrobials and Non-healing Wounds: Evidence, controversies and suggestions. *Journal of Wound Care*, 22(Sup5), pp.S1-S89 (2013)
- Granick MS, Gamelli RL. *Surgical wound healing and management*. New York: Informa Healthcare. (2007)
- Greco JA 3rd, Castaldo ET, Nanney LB, Wendel JJ, Summitt JB, Kelly KJ. The effect of weight loss surgery and body mass index on wound complications after abdominal contouring operations. *Ann Plast Surg* 61:235-242 (2008)
- Greenhalgh, D.G. The role of apoptosis in wound healing. *Int J Biochem Cell Biol.* 30: 1019 – 1030 (1998)
- Grey JE, Harding KG, Enoch S. Venous and arterial leg ulcers. *BMJ* . 332: 347–350 (2006)

- Guo S., Di Pietro L.A. Factors affecting wound healing. *J Dent Res.* 89(3): 219–229. (2010) 156 • Guo, S. and Di Pietro, L. Factors Affecting Wound Healing. *Journal of Dental Research*, 89(3), pp.219-229 (2010) • Gurtner, G.C., Evans, G.R.D. Advances in head and neck reconstruction. *Plast Reconstr Surg.* 106: 672–682 (2000) • Gutha Y1 , Pathak JL2 , Zhang W3 , Zhang Y3 , Jiao X4 .Antibacterial and wound healing properties of chitosan/poly(vinyl alcohol)/zinc oxide beads (CS/PVA/ZnO). *Int J Biol Macromol.*103:234-241. (2017) • Hahnel E. , Lichterfeld A. , Blume-Peytavi U. , Kottner J. The epidemiology of skin conditions in the aged: a systematic review. *J. Tissue Viability*, 26: 20-28 (2017) • Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C. In: *Free Radical in Biology and Medicine*. Clarendon Press, Oxford University Press, Oxford, pp. 160–165 (1989)
- Hamiowitz JE, Margolis DJ, Krasner D, Jane D. *Chronic Wound Care: A Clinical Source Book for Healthcare Professionals*. Health Management Publications. (1997)
- Hanson KM, Simon JD. Epidermal transurocanic acid and the UV-A-induced photoaging of the skin. *Proc Natl Acad Sci USA.* 95:10576–8 (1998)
- Hardman MJ, Ashcroft GS. Estrogen, not intrinsic aging, is the major regulator of delayed human wound healing in the elderly. *Genome Biol* 9:R80 (2008)
- Heldin C-H, Westermark B. Role of platelet-derived growth factor in vivo. In: Clark RAF, ed. *The molecular and cellular biology of wound repair*. 2nd ed. New York: Plenum Press, 249-73 (1996)
- Heyman H, Van De Looverbosch DE, Meijer EP, Schols JM. Benefits of an oral nutritional supplement on pressure ulcer healing in long-term care residents. *J Wound Care* 17:476-478, 480 (2008)
- Hofman D, Moore K, Cooper R, Eagle M, Cooper S. Use of topical corticosteroids on chronic leg ulcers. *J Wound Care* 16:227-230 (2007)
- Horton T, Okamura B. Cymothoid isopod parasites in aquaculture: a review and case study of a Turkish sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and sea bream (*Sparus auratus*) farm. *Dis Aquat Org* 46:181–188 (2001)
- Howell-Jones RS, Price PE, Howard AJ, Thomas DW. Antibiotic prescribing for chronic skin wounds in primary care. *Wound Repair Regen* 14(4):387-393 (2006)
- Hunt, T.K. The physiology of wound healing. *Ann Emerg Med.* 17: 1265 – 1273 (1998)
- Jacinto A, Martinez-Arias A, Martin P: Mechanisms of epithelial fusion and repair. *Nat Cell Biol.* 3(5):117-123 (2001)

- Jacobi J, Jang JJ, Sundram U, Dayoub H, Fajardo LF, Cooke JP. Nicotine accelerates angiogenesis and wound healing in genetically diabetic mice. *Am J Pathol* 161:97-104. (2002) 157
- Jan; Alavi A1 , Sibbald RG2 , Mayer D3 , Goodman L4 , Botros M5 , Armstrong DG6 , Woo K7 , Boeni T8 , Ayello EA9 , Kirsner RS10. Diabetic foot ulcers: Part I. Pathophysiology and prevention. *J Am Acad Dermatol.* 70(1):1.e1-18; quiz 19-20 (2014)
- Jaroslav J, Valentine N, Fernanda C, James JE, Jandova J. Modulation of ROS levels in fibroblasts by altering mitochondria regulates the process of wound healing. *Arch Dermatol Res.* 308(4):239- 48 (2016)
- Jensen JA, Goodson WH, Hopf HW, Hunt TK. Cigarette smoking decreases tissue oxygen. *Arch Surg* 126:1131-1134 (1991)
- Jiaravuthisan M,Sasseville D, Vender R, et al. Psoriasis of the nail: Anatomy, pathology, clinical presentation and a review of the literature on therapy. *J Am Acad Dermatol* 2007; 57:1-27
- Jones MK, Wang H, Peskar BM, Levin E, Itani RM, Sarfeh IJ. Inhibition of angiogenesis by nonsteroidal anti-inflammatory drugs: insight into mechanisms and implications for cancer growth and ulcer healing. *Nat Med.* 5:1418-1423 (1999)
- Juge-Aubry CE, Henrichot E, Meier CA. Adipose tissue: a regulator of inflammation. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 19:547-566 (2005)
- Junker JP, Lee CC, Samaan S, Hackl F, Kiwanuka E, Minasian RA, Tsai DM, Tracy LE, Onderdonk AB, Eriksson E, Caterson EJ. Topical delivery of ultrahigh concentrations of gentamicin is highly effective in reducing bacterial levels in infected porcine full-thickness wounds. *Plast Reconstr Surg.*135(1):151-9 (2015)
- Kanitakis J. Anatomy, histology and immunochemistry of normal human skin. *Eur J Dermatol.* 2002; 12:390-9
- Kanj LF, Wilking SV, Phillips TJ: Pressure ulcers, *J Am Acad Dermatol*, 38: 517–536 (1998)
- Keylock KT, Vieira VJ, Wallig MA, DiPietro LA, Schrementi M, Woods JA. Exercise accelerates cutaneous wound healing and decreases wound inflammation in aged mice. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 294 :R179-R184 (2008)
- Khoosal D, Goldman RD. Vitamin E for treating children’s scars. Does it help reduce scarring? *Can Fam Physician* 52:855-856 (2006)
- Kiecolt-Glaser JK, Marucha PT, Malarkey WB, Mercado AM, Glaser R. Slowing of wound healing by psychological stress. *Lancet* 346:1194-1196 (1995)

- Kloth L. The roles of physical therapists in wound management, part II: patient and wound evaluation. *J Am Col Certif Wound Spec.* 1(2): 49–50 (2009)
- Knighton DR: Oxygen tension regulates the expression of angiogenesis factor by macrophages. *Science.* 221:1283-1285 (1983)
- Knighton DR: Role of platelets and fibrin in the healing sequence. *Ann Surg* 196:379-383, (1982)
- Kohen, R., Fanberstein, D., Tirosh, O. Reducing equivalents in the aging process. *Arch. Gerontol. Geriatr.* 24:103-123. (1997)
- Kolarsick P.A.J., Kolarsick M., Goodwin C., Anatomy and physiology of skin
- Kong, H. Skin microbiome: genomics-based insights into the diversity and role of skin microbes. *Trends in Molecular Medicine*, 17(6), pp.320-328 (2011) 158
- Kottner J. , Dassen T. , Lahmann N. Prevalence of deep tissue injuries in hospitals and nursing homes: two cross-sectional studies. *Int. J. Nurs. Stud.*, 47 : 665-670 (2010)
- Kottner J., Wilborn D. , Dassen T. Frequency of pressure ulcers in the paediatric population: a literature review and new empirical data. *Int. J. Nurs. Stud.*, 47 : 1330-1340 (2010)
- Kottner Jan, Black Joyce, Call Evan, Gefen Amit, Santamaria Nick. Microclimate: A critical review in the context of pressure ulcer prevention. *Clin Biomech* .59: 62-70.(2018)
- Krischak GD, Augat P, Claes L, Kinzl L, Beck A. The effects of nonsteroidal anti-inflammatory drug application on incisional wound healing in rats. *J Wound Care.* 16:76- 78. (2007)
- Kwa A, Kasiakou SK, Tam VH, Falagas ME. Polymyxin B: similarities to and differences from colistin (polymyxin E). *Expert Rev Anti Infect Ther.* 5(5): 811-21 (2007)
- Kwa AL, Tam VH, Falagas ME. Polymyxins: a review of the current status including recent developments. *Ann Acad Med Singapore.* 37(10):870-83 (2008)
- Kwan M.P., Tam E.W. , Lo S.C. , Leung M.C. , Lau R.Y. The time effect of pressure on tissue viability: investigation using an experimental rat model. *Exp. Biol. Med.* (Maywood), 232: 481-487 (2007)
- Larson P., Topical hemostatic agents for dermatologic surgery. *J. Dermatol Surg Oncol.* 14(6): 623- 632 (1988)
- Lauerman CJ. Surgical patient education related to smoking. *AORN J* 87:599-609 (2008)

- Lawrence WT, Talbot TL, Norton JA. Preoperative or postoperative doxorubicin hydrochloride (adriamycin): which is better for wound healing? *Surgery* 100:9-13 (1986)
- Lazarus, G.S., Cooper, D.M., Knighton, D.R. Definitions and guidelines for assessment of wounds and evaluation of healing. *Arch Dermatol.* 130:489–493 (1994)
- Lee JL, Mukhtar H, Bickers DR, Kopelovich L, Athar M. Cyclooxygenases in the skin: pharmacological and toxicological implications. *Toxicol Appl Pharmacol.* 192:294–306 (2003)
- Leeuwenburgh, C., Hansen, P.A. Holloszy, J.O., Heinecke, J.W. Hydroxyl radical generation during exercise increases mitochondrial protein oxidation and levels of urinary dityrosine. *Free Radic. Biol. Med.* 27, 186-192. (1999).
- Leibovich SJ, Ross R. The role of the macrophage in wound repair: a study with hydrocortisone and antimacrophage serum. *Am J Pathol.* 78:71-100 (1975)
- Li J, Chen J, Kirsner R. Pathophysiology of acute wound healing. *Clin Dermatol.*
- Lio P.A., Kaye E.T., Topical antibacterial agents. *Infect Dis Clin N Am.* 18(3): 717-733, 2004.
- Loots MAM, Lamme EN, Zeegelaar JE et al. Differences in cellular infiltrate and extracellular matrix of chronic diabetic and venous ulcers versus acute wounds. *J Invest Dermatol.* 111: 850–7 (1998)
- Lord JT, Ziboh VA, Cagle WD: Prostaglandins in wound healing: possible regulation of 159 granulation. In Samuelson B, Ramwell PW, Paolette R(eds): *Advances in prostaglandin and thromboxane research VII*:865-879. Raven Press. New York. (1980)
- Lubritz RR, Smolewski SA. Cryosurgery cure rate of actinic keratoses. *J Am Acad Dermatol* 1982; 7:631-632.
- Lumbers M. Moisture-associated skin damage: cause, risk and management. *Br J Nurs.* 27 (Sup12): S6-S14(2018)
- Mahoney M., Rozenboom B., Doughty D. Challenges in classification of gluteal cleft and buttocks wounds: consensus session reports. *J. Wound Ostomy Cont. Nurs.* 40: 239-245 (2013)
- Marucha PT, Kiecolt-Glaser JK, Favagehi M. Mucosal wound healing is impaired by examination stress. *Psychosom Med* 60:362-365 (1998)
- Masuelli L, Tumino G, Turriziani M, Modesti A, Bei R. Topical use of sucralfate in epithelial wound healing: clinical evidences and molecular mechanisms of action. *Recent Pat Inflamm Allergy Drug Discov.* 4(1):25-36 (2010)

- McDaniel JC, Belury M, Ahijevych K, Blakely W. Omega-3 fatty acids effect on wound healing. *Wound Repair Regen* 16:337-345 (2008)
- McGuckin, M., Goldman, R., Bolton, L., & Salcido, R. The clinical relevance of microbiology in acute and chronic wounds. *Advances in Skin & Wound Care*, 16(1), 12 – 23 (2003)
- McMaster SK, Paul-Clark MJ, Walters M, Fleet M, Anandarajah J, Sriskandan S. Cigarette smoke inhibits macrophage sensing of Gram-negative bacteria and lipopolysaccharide: relative roles of nicotine and oxidant stress. *Br J Pharmacol* 153:536- 543 (2008)
- Mello VD, Kolehmainen M, Schwab U, Mager U, Laaksonen DE, Pulkkinen L. Effect of weight loss on cytokine messenger RNA expression in peripheral blood mononuclear cells of obese subjects with the metabolic syndrome. *Metabolism* 57:192- 199(2008)
- Mendez M.V., Raffetto J.D., Phillips T., Menzoian J.O., Park H.Y. The proliferative capacity of neonatal skin fibroblasts is reduced after exposure to venous ulcer wound fluid: A potential mechanism for senescence in venous ulcer. *J. Vasc. Surg.* 30(4):734-43. (1999)
- Menke N.B., Diegelmann R.F, Biochemical Pathways of Wound Healing: Implications for Development of Disease- Specific Diagnostics. *Dvan Clin Chem*, 41:167-187 (2006)
- Menke NB, Ward KR, Witten TM, Bonchev DG, Diegelmann RF. Impaired wound healing. *Clin Dermatol.* 25:19-25 (2007)
- Merymann HT. Mechanisms of freezing in living cells and tissue. *Science* 1956, 124:515-521
- Miller SH, Rudolph R: Healing in the irradiated wound, *Clin Plast Surg*, 17: 503–508 (1990)
- Mladineo, I. Life cycle of *Ceratothoa oestroides*, a cymothoid isopod parasite from sea bass *Dicentrarchus labrax* and sea bream *Sparus aurata*. *Diseases of Aquatic Organisms*, 57, pp.97-101 (2003)
- Montagnani S, Postiglione L, Giordano-Lanza G, Meglio FD, Castaldo C, Sciorio S, Montuori N, Spigna GD, Ladogana P, Oriente A, Rossi G: Granulocyte macrophage colony 160
- Morimoto N, Takemoto S, Kawazoe T, Suzuki S. Nicotine at a low concentration promotes wound healing. *J Surg Res* 145:199-204 (2008)

- Moseley R., Hilton J.R., Waddington R.J., Harding K.G., Stephens P., Thomas D.W. Comparison of oxidative stress biomarker profiles between acute and chronic wound environments. *Wound Repair Regen.* 12(4):419-29 (2004)
- Mulder, G.D., Vande Berg, J.S. Cellular senescence and matrix metalloproteinase activity in chronic wounds. Relevance to debridement and new technologies. *J Am Podiatric Med Assoc.* 92: 34 – 37 (2002)
- Munster AM. Immunologic response of trauma and burns: An overview. *Am J Med.* 76:1412-149 (1984)
- Nasim Hedayati, John G Carson, Yung-Wei Chi, Daniel Link. Management of mixed arterial venous lower extremity ulceration: A review. *Vascular Medicine.* Vol 20 (Issue 5): 401-08 (2015)
- National Pressure Ulcer Advisory Panel, European Pressure Ulcer Advisory Panel, Alliance, P.P.P. Prevention and Treatment of Pressure Ulcers: Clinical Practice Guideline. Cambridge Media, Osborne Park, Western Australia (2014)
- Nelzen O, Bergquist D, Lindhagen A. Venous and non-venous leg ulcers: clinical history and appearance in a population study. *Br J Surg.* 81: 182–7 (1994)
- Neuman MG1 , Nanau RM, Oruña-Sánchez L, Coto G. Hyaluronic acid and wound healing. *J Pharm Pharm Sci.* 18(1):53-60 (2015)
- Nieman DC, Henson DA, Nehlsen-Cannarella SL, Ekkens M, Utter AC, Butterworth DE. Influence of obesity on immune function. *J Am Diet Assoc* 99:294-299 (1999)
- O'Connor NE, Mulliken JB, Banks-Schlegel S, et al: Grafting of burns with cultured epithelium prepared from autologous epidermal cells, *Lancet*, 1 (8211): 75–78 (1981)
- Ogurtan Z, Hatipoglu F, Ceylan C. The effect of *Alkanna tinctoria* Tausch on burn wound healing in rabbits. *Dtsch Tierarztl Wochenschr.* 109(11):481-485 (2002)
- Oomens C.W. , Bader D.L., S. Loerakker, F. Baaijens. Pressure induced deep tissue injury explained. *Ann. Biomed. Eng.*, 43: 297-305 (2015)
- Palmieri B1 , Magri M. A new formulation of collagenase ointment (iruxol((r)) mono) in the treatment of ulcers of the lower extremities: a randomised, placebo-controlled, double-blind study. *Clin Drug Investig.* 15(5):381-7 (1998)
- Papageorgiou VP. Wound healing properties of naphthaquinone pigments from *Alkanna tinctoria*. *Experientia.* 34 (11):1499-501 (1978)
- Phillips TJ, Dover JS. Leg ulcers. *J Am Acad Dermatol.* 25:965-87 (1991)
- Pieringer H, Stuby U, Biesenbach G. Patients with rheumatoid arthritis undergoing surgery: how should we deal with antirheumatic treatment? *Semin Arthritis Rheum* 36:278-286 (2007)

- Price P, Fogh K, Glynn C, Krasner DL, Osterbrink J, Sibbald RG. Why combine a foam dressing with ibuprofen for wound pain and moist wound healing? *Int Wound J* 4 (Suppl 1):1-3 (2007)
- Profyris, C., Tziotziou, C., Do Vale, I. Cutaneous scarring: pathophysiology, molecular mechanisms, and scar reduction therapeutics. *J Am Acad Dermatol.* 66: 1–10 (2012)
- Prost-Squarcioni C. Histology of skin and hair follicle. *Med Sci (Paris).* 2006; 22:131-7
- Ramundo, J.Gray,M.Collagenase for enzymatic debridement: a systematic review. *J Wound Ostomy Continence Nurs.* 36: 4–11 (2009)
- Rao N, Lipsky BA. Optimising antimicrobial therapy in diabetic foot infections. *Drugs.* 67: 195– 214. (2007)
- Rappolee DA, Mark D, Banda MJ, Werb Z. Wound macrophages express TGF- α and other growth factors in vivo: analysis by mRNA phenotyping. *Science.* 241:708-12 (1988)
- Reinke, J.M., Sorg, H. Wound repair and regeneration., *EurSurg Res.* 49(1):35-43 (2012)
- Riches DWH. Macrophage involvement in wound repair, remodeling, and fibrosis. In: Clark RAF. *The molecular and cellular biology of wound repair.* 2nd ed. New York: Plenum Press, 5-141 (1996)
- Rigo, A., Stevanato, R., Finazzi-Agro, A., Rotilio, G. An attempt to evaluate the rate of the Haber– Weiss reaction by using OH radical scavengers. *FEBS Lett.* 80, 130–132 (1977)
- Rippon MG1, Ousey K1, Cutting KF2. Wound healing and hyper-hydration: a counterintuitive model. *J Wound Care.* 25(2):68, 70-5. (2016)
- Robson, M.C., Steed, D.L., Franz, M.G. Wound healing: biologic features and approaches to maximize healing trajectories. *Curr Probl Surg.* 38: 72–140 (2001)
- Rodriguez PG, Felix FN, Woodley DT, Shim EK. The role of oxygen in wound healing: a review of the literature. *Dermatol Surg* 34:1159-1169 (2008)
- Ruszczak Z., Schwartz RA: Modern aspects of wound healing: An update. *Dermatol Surg* 26(3):219-229 (2000)
- Ryssel, H., Kloeters, O., Germann, G., Schäfer, T., Wiedemann, G. and Oehlbauer, M. The antimicrobial effect of acetic acid—An alternative to common local antiseptics?. *Burns*, 35(5), pp.695-700. (2009)
- Saarialho-Kere U: Matrix metalloproteinase in skin. *Exp Dermatol* 6(5):199-213 (1997)

- Saghaleini SH1 , Dehghan K2 , Shadvar K1 , Sanaie S3 , Mahmoodpoor A1 , Ostadi Z. Pressure Ulcer and Nutrition. *Indian J Crit Care Med.* 22(4):283-289 (2018)
- Samuels, P., Tan, A.K. Fetal scarless wound healing. *J Otolaryngol.* 28: 296-302 (1999)
- Sander CS, Chang H, Hamm F, Elsner P, Thiele JJ. Role of oxidative stress and the antioxidant network in cutaneous carcinogenesis. *Int J Dermatol* 43:326–35(2004) 162
- Sander CS, Chang H, Hamm F, Elsner P, Thiele JJ. Role of oxidative stress and the antioxidant network in cutaneous carcinogenesis. *Int J Dermatol.* 43:326–35 (2004)
- Sauer's manual of skin diseases, John C. Hall
- Schäfer M., Werner S. «Oxidative stress in normal and impaired wound repair». *Pharmacol.* 58(2):165-71 (2008)
- Scheel-Sailer, A. Frotzler, G. Mueller, S. Annaheim, R.M. Rossi, S. Derler. Biophysical skin properties of grade 1 pressure ulcers and unaffected skin in spinal cord injured and able-bodied persons in the unloaded sacral region. *J. Tissue Viability.* 26 : 89-94 (2017)
- Schuelke.com. 2020. [online] Available at: <<https://www.schuelke.com/sg-en/products/wounds-mucosa-product-info/Product-information-octenisept-wound-gel.pdf>> [Accessed 9 September 2020].
- Schulz EJ, Findlay GH, Scott FP. Skin disease in the Bantu: a survey of 4000 cases from the Transvaal and Orange Free State. *S Afr Med J* 1962; 36: 199–202.
- Seeley, R.R., Trend, D., Stephens, T.D., Tate, P. *Anatomy and Physiology*, eighth edition. (2008)
- Sen CK, Gordillo GM, Roy S, Kirsner R, Lambert L, Hunt TK. Human skin wounds: a major and snowballing threat to public health and the economy. *Wound Repair Regen.* (2009)
- Serri F, Bartoli GM, Seccia A, Borrello S, Galeotti T. Age-related mitochondrial lipoperoxidation in human skin. *J Invest Dermatol.* 73:123–5 (1979)
- Seventh Generation. Material Safety Data Sheets. Available at: <http://www.seventhgeneration.com/material-safety-data-sheets>. Accessed August 17, (2015).
- Shapira, E., Giladi, A., Neiman, Z. Use of water insoluble papain for debridement of burn eschar and necrotic tissue. *Plast Reconstr Surg.* 52: 279 (2005)
- Shepherd AA. Nutrition for optimum wound healing. *Nurs Stand* 18:55-58 (2003)

- Shingel KI, Faure MP, Azoulay L, Roberge C, Deckelbaum RJ. Solid emulsion gel as a vehicle for delivery of polyunsaturated fatty acids: implications for tissue repair, dermal angiogenesis and wound healing. *J Tissue Eng Regen Med* 2:383-393 (2008)
- Shoham N. , Gefen A. Deformations, mechanical strains and stresses across the different hierarchical scales in weight-bearing soft tissues. *J. Tissue Viability*, 21 : 39-46 (2012)
- Shrank AB, Harman RRM. The incidence of skin disease in a Nigerian teaching hospital dermatological clinic. *Br J Dermatol.* 78: 235–41 (1966)
- Siana JE, Rex S, Gottrup F. The effect of cigarette smoking on wound healing. *Scand J Plast Reconstr Surg Hand Surg.* 23:207-209 (1989)
- Singer AJ, Clark RAF. Cutaneous wound healing. *N Engl J Med.* 341: 738–46 (1999)
- Slomka N., Gefen A. Relationship between strain levels and permeability of the plasma membrane in statically stretched myoblasts. *Ann. Biomed. Eng.*, 40: 606-618 (2012)
- Smith R.G., A critical discussion of the use of antiseptics in acute traumatic wounds. *J AmPodiatr MedAssoc.* 95(2):148-153 (2005)
- Snowden JM, Kennedy DF, Cliff WJ: The contractile properties of wound granulation tissue, *J Surg Res.* 36:108-111 (1984) 163
- Soneja A., Drews M., Malinski T. Role of nitric oxide, nitroxidative and oxidative stress in wound healing. *Pharmacol.* 57 Suppl:108-19 (2005)
- Sørensen LT, Jørgensen S, Petersen LJ, Hemmingsen U, Bülow J, Loft S, Acute effects of nicotine and smoking on blood flow, tissue oxygen, and aerobic metabolism of the skin and subcutis. *J Surg Res* 152:224-230 (2009)
- Sorensen LT, Karlsmark T, Gottrup F. Abstinence from smoking reduces incisional wound infection: a randomized controlled trial. *Ann Surg* 238:1-5 (2003)
- Stadtman, E.R., Levine, R.L. Protein oxidation. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 899, 191- 208 (2000)
- Stansly PG, Shepherd RG, White HJ. Polymyxin: a new chemotherapeutic agent. *Bull Johns Hopkins Hosp.* 81(1):43-54 (1947)
- Sternberg EM. Neural regulation of innate immunity: a coordinated nonspecific host response to pathogens. *Nat Rev Immunol* 6:318-328 (2006)
- Steves A., Lowe J. Ιστολογία. Ιατρικές Εκδόσεις Πασχαλίδης, Αθήνα (1997)
- stimulating factor (GM-CSF) biological actions on human derl fibroblasts. *Eur J Histochem* 45(3):219-228 (2001).
- Swift ME, Kleinman HK, Di Pietro LA. Impaired wound repair and delayed angiogenesis in aged mice. *Lab Invest* 79:1479-1487 (1999)

- Szycher, M., Lee, S.J., Modern wound dressings: a systematic approach to wound healing. *J Biomater Appl.* 7: 142 – 213 (1992)
- Tandara AA, Mustoe TA. Oxygen in wound healing—more than a nutrient. *World J Surg* 28:294- 300 (2004)
- Tantall F.M., Leigh I.M., Gibson J.R., Comparative study of antiseptic cytotoxicity on basal keratinocytes, transformed human keratinocytes and fibroblasts. *Skin Pharmacol.* 3(3):157-163 (1990)
- Tanzer ML: Crosslinking of collagen. *Science* 180:561-569 (1973)
- Tomizawa Y., Clinical benefits and risk analysis of topical hemostats: a review. *J Artif Organs.* 8(3):137-142, (2005)
- Tong BC, Barbul A. Cellular and physiological effects of arginine. *Mini Rev Med Chem* 4:823-832 (2004)
- Toussaint O., Medrano E.E., Zglinicki T. Cellular and molecular mechanisms of stress-induced premature senescence (SIPS) of human diploid fibroblasts and melanocytes. *Exp. Gerontol.* 35(8):927-45 (2000)
- Toy, L.W. Matrix metalloproteinases: their function in tissue repair. *J Wound Care.* 14: 20 – 22 164 (2005)
- Treiman GS, Copland S, McNamara, RM, Yellin, AE, Schneider, PA, Treiman, RL. Factors influencing ulcer healing in patients with combined arterial and venous insufficiency. *J Vasc Surg.* 33: 1158–1164 (2001)
- Tsubery, H., Ofek, I., Cohen S., Fridkin M. Structure Activity Relationship Study of Polymyxin B Nonapeptide. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, pp.219-222. (2000)
- Tziotziou, C., Profyris, C., Sterling, J. Cutaneous scarring: pathophysiology, molecular mechanisms, and scar reduction therapeutics. *J Am Acad Dermatol.* 66: 13–24 (2012)
- Valencia IC, Falabella A, Kirsner RS et al. Chronic venous insufficiency and venous leg ulceration. *J Am Acad Dermatol.* 44: 401–21 (2001)
- Valencia IC, Falabella A, Kirsner RS, Eaglstein WH. Chronic venous insufficiency and venous leg ulceration. *J Am Acad Dermatol* 44: 401–421 quiz 422–424 (2001)
- Velkov, T., Roberts, K., Nation, R., Thompson, P. and Li, J. Pharmacology of polymyxins: new insights into an ‘old’ class of antibiotics. *Future Microbiology*, 8(6), pp.711-724 (2013)
- Velnar, T., Bailey, T., Smrkolj, V. The Wound Healing Process: an Overview of the Cellular and Molecular Mechanisms. 37: 1528 – 1542 37(5) 12 (2009)

- Vowden K, Vowden P. Managing leg ulcers: a review of the clinical guidelines. *Nurs Times*. 96: 19–20 (2000)
- Wagner AE, Huck G, Stiehl DP, Jelkmann W, Hellwig-Bürgel T. Dexamethasone impairs hypoxia-inducible factor-1 function. *Biochem Biophys Res Commun* 372:336-340 (2008)
- Wahl SM, Arend WP, Ross R.: The effect of complement depletion on wound healing, *AM J Pathol* 74:73-80 (1974)
- Waldron DR, Zimmerman-Pope N. Superficial skin wounds. In: *Textbook of small animal surgery*. Slatter DH, editor. NY: Saunders, pp 260-271 (2003)
- Werner, S., Antsiferova, M. and Smola, H. Skin Wound Healing. *Pathobiology of Human Disease*, pp.550-557 (2014)
- Wicke C, Bachinger A, Coerper S, Beckert S, Witte MB, Königsrainer A. Aging influences wound healing in patients with chronic lower extremity wounds treated in a specialized Wound Care Center. *Wound Repair Regen*. (2009)
- Wilson J.R., Mills J.G., Prather I.D., et al., A toxicity index of skin and wound cleansers used on in vitro fibroblasts and keratinocytes. *Adv Skin Wound Care*. 18(7): 373-378 (2005)
- Wilson JA, Clark JJ. Obesity: impediment to postsurgical wound healing. *Adv Skin Wound Care* 17:426-435 (2004)
- Witte, M.B., Barbul, A. General principles of wound healing. *Surg Clin North Am*. 77: 509-528 165 (1997)
- Wozniak SE, Gee LL, Wachtel MS, Frezza EE. Adipose tissue: the new endocrine organ? A review article. *Dig Dis Sci* 54:1847-1856 (2009)
- Wu, Y., Chen, L., Scott, P. and Tredget, E., 2007. Mesenchymal Stem Cells Enhance Wound Healing Through Differentiation and Angiogenesis. *Stem Cells*, 25(10), pp.2648-2659.
- Wutschert R, Bounameaux H. Predicting healing of arterial leg ulcers by means of segmental systolic pressure measurements. *Vasa* 27: 224–8. (1998)
- Wyatt G. Payne, M., 2008. Enzymatic Debriding Agents Are Safe In Wounds With High Bacterial Bioburdens And Stimulate Healing. [online] PubMed Central (PMC). Available at: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2311452/>> [Accessed 13 September 2020].
- Yamaguchi Y, Yoshikawa K: Cutaneous wound healing: an update. *J Dermatol*. 28(10):521-534, (2001)
- Zhai B, Zhou H, Yang L, et al. Polymyxin B, in combination with fluconazole, exerts a potent fungicidal effect. *J Antimicrob Chemother*. 65(5):931-8 (2010)

- Zielins ER1 , Brett EA, Luan A, Hu MS, Walmsley GG, Paik K, Senarath-Yapa K, Atashroo DA, Wearda T, Lorenz HP, Wan DC, Longaker MT . Emerging drugs for the treatment of wound healing. Expert Opin Emerg Drugs.20(2):235-46 (2015)
- Zouboulis C. Principles of Cutaneous Cryosurgery: an update Dermatology 1999, 198:111-117
- Αντωνίου Χ. & Κατσάμπας Α., Δερματολογία Αφροδισιολογία. Αθήνα: Π.Χ. Πασχαλίδης. (2015)
- Αντωνίου, Χ. and Κατσάμπας, Α., 2015. Δερματολογία Αφροδισιολογία. 2nd ed. nicosia: broken hills publisher, pp.28-35.
- Κατσάμπας Δ. Ανδρέας, Μαθήματα Δερματολογίας - Αφροδισιολογίας, Αθήνα: Π.Χ. Πασχαλίδης (2001)
- Mazur P. Freezing of living cells and tissue. AM J Physiol 1984, 124:515-521
- Μπασούκας Ι, Δριμούρα Γ, Hundeiker M. Η θέση της κρυοχειρουργικής στη Δερματολογία. Ελλ. Επιθ. Δερμ. Αφρ. 2000, 11:178-191.
- Ν.Γ. Σταυριανέας ,Σύγχρονη Δερματική ογκολογία εκδ. Π.Χ Πασχαλίδης, 2001.
- Παναγιωτόπουλος Α, Κωστάκης Π. Κρυοχειρουργική θεραπεία δερματικών καρκινωμάτων. Ελλ Επιθ Δερμ Αφρ 2001, 12:33-37.
- Παναγιωτόπουλος Α, Πετρίδης Α, Γαϊτάνης Γ. Βασικές αρχές κρυοβιολογίας. Ελλ. Επιθ Δερμ Αφρ 2001, 12:12-14
- Παπαϊωάννου Θ.Γεώργιος.Κοσμητολογία, Συστατικά-Παρασκευή-Χρήση Καλλυντικών . Δ' Έκδοση, Αθήνα, Εκδόσεις Γ. Γκελμπέσης. (2006)