



**ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ**  
**ΤΜΗΜΑ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗΣ**  
Τομέας Φαρμακευτικής Τεχνολογίας

ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΗ IN VIVO ΜΕΛΕΤΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΤΕΣΣΑΡΩΝ ΤΟΠΙΚΩΝ ΣΚΕΥΑΣΜΑΤΩΝ  
ΣΕ ΜΟΝΤΕΛΟ ΑΤΟΠΙΚΗΣ ΔΕΡΜΑΤΙΤΙΔΑΣ ΑΤΡΙΧΩΝ ΜΥΩΝ

Διπλωματική εργασία  
MSc Κοσμητολογία-Δερματοφαρμακολογία

**Μαρία-Χριστίνα Κεσεντέ, Χημικός Μηχανικός**

**ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ:**

**Δρακούλης Νικόλαος**, Επίκουρος Καθηγητής Τομέα Φαρμακευτικής  
Τεχνολογίας, Τμήμα Φαρμακευτικής, Εθνικό και Καποδιστριακό  
Πανεπιστήμιο Αθηνών

**Ράλλης Μιχαήλ**, Επίκουρος Καθηγητής Τομέα Φαρμακευτικής  
Τεχνολογίας, Τμήμα Φαρμακευτικής, Εθνικό και Καποδιστριακό  
Πανεπιστήμιο Αθηνών

**Σκαλτσά Ελένη**, Καθηγήτρια Τομέα Φαρμακογνωσίας και Χημείας  
Φυσικών Προϊόντων

# Περίληψη

Η πρώτη ιστορική αναφορά στην ατοπική δερματίτιδα φαίνεται να έγινε από τον Ρωμαίο Ιστορικό Γαίο Σουητώνιος (69-140 μΧ) στο βιβλίο του “Οι Δώδεκα Καίσαροι”. Εκεί περιγράφει με λεπτομέρεια την δερματική πάθηση του Αυτοκράτορα Αύγουστου ως ένα πλήθος από σκληρά και ξηρά σημεία στην έκταση του δέρματος που συνοδεύοντουσαν από κνησμό και εποχιακές ενοχλήσεις.<sup>1</sup> Παρόλα αυτά ο όρος “Ατοπική δερματίτιδα” εισήχθη από τους Wise και Sulzberger το 1935<sup>2</sup>, από την αρχαία ελληνική λέξη “άτοπος”, που σημαίνει αυτό που δεν βρίσκεται στη σωστή θέση ή το παράλογο. Παρά την μεγάλη ιστορία η ατοπική δερματίτιδα αποτελεί ακόμα μια πάθηση που δεν έχει γίνει πλήρως κατανοητή από την ιατρική κοινότητα.

Στην παρούσα εργασία με στόχο την in vivo μελέτη δραστηριότητας τεσσάρων τοπικών σκευασμάτων στο ατοπικό δέρμα, χρησιμοποιήθηκε το μοντέλο προσομοίωσης ατοπικής δερματίτιδας σε μύες με επαλείψεις απτενίων. Το απτένιο που χρησιμοποιήθηκε εν προκειμένω ήταν το 2,4-δινιτροχλωροβενζόλιο (DNCB).

Για την επιβεβαίωση της επιτυχίας προσομοίωσης της νόσου, καθώς και για την επιλογή του καταλληλότερου τύπου άτριχων μυών (SKH-1 ή SKH-2) πραγματοποιήθηκαν δυο πειραματικές δοκιμές, η 1<sup>η</sup> 43 ημερών με δυο περιόδους επαλείψεων και η 2<sup>η</sup> 8 ημερών με μια περίοδο επαλείψεων. Από τα πειράματα αυτά προέκυψε ότι όντως επετεύχθη η προσομοίωση της ατοπικής δερματίτιδας, με δερματικές εκδηλώσεις που χαρακτηρίζοντουσαν από ξηρότητα, απολέπιση, πάχυνση και έντονη φλεγμονή, και στους δύο τύπους μυών υπό εξέταση. Παρόλα αυτά τα SKH-1 είχαν μεγαλύτερη ένταση βλαβών βάσει της ιστοπαθολογικής αξιολόγησης, κλινικής εικόνας, και της στατιστικής ανάλυσης των μετρήσεων, με αποτέλεσμα να είναι οι μύες επιλογής.

Στην συνέχεια πραγματοποιήθηκε συγκριτική μελέτη αποτελεσματικότητας τεσσάρων τοπικών σκευασμάτων:

1. ένα γαλάκτωμα με ένα μίγμα εκχυλισμάτων, καλέντουλας (*Calendula officinalis* Extract), σημύδας (*Betula alba* Bark/Leaf Extract), ερυθρελάτης (*Picea abies* Extract), αλκάννας (*Alkanna tinctoria* Root Extract) και λεβάντας (*Lavandula angustifolia* Oil).
2. μια κρέμα με χλωροκρεσόλη, μια χλωριωμένη φαινόλη (C<sub>7</sub>H<sub>7</sub>ClO)
3. μια αλοιφή με ελαϊκό εκχύλισμα ισόποδου *Ceratothoa oestroides*
4. μια γέλη με ελαιοκανθάλη και ολεασίνη

Το σχήμα θεραπείας ήταν για 18 ημέρες, μια φορά την ημέρα σε όλη την ραχιαία περιοχή με δόση 5mg/cm<sup>2</sup>. Από την αξιολόγηση των αποτελεσμάτων, τα τοπικά σκευάσματα 2 [χλωροκρεσόλη], 3 [ισόποδο] και 4 [ελαιοκανθάλη & ολεασίνη] έδειξαν βελτίωση των βλαβών που προσομοιάζουν ΑΔ στους μύες. Το τοπικό σκεύασμα 3 [ισόποδο] κρίθηκε ότι έδωσε τα καλύτερα αποτελέσματα καθώς παρουσίασε ιστοπαθολογικά πλήρως εξυγιασμένες περιοχές.

Καθότι η ατοπική δερματίτιδα αποτελεί μια νόσο με έντονη ανοσολογική συμμετοχή έγινε και ποσοτικοποίηση της IL-6 στον ορό αίματος των μυών με την μέθοδο ELISA. Παρόλα αυτά για την αξιολόγηση των αποτελεσμάτων από μια ανοσολογική σκοπιά ενδεχομένως θα χρειαζόταν η μελέτη ανίχνευσης και άλλων ιντερλευκινών για να βγει κάποιο ασφαλές συμπέρασμα.

# Περιεχόμενα

<b>Κεφάλαιο 1<sup>ο</sup>: Εισαγωγή</b> .....	<b>1</b>
1.1 Βασικά στοιχεία της ατοπικής δερματίτιδας .....	1
1.1.1 Ορισμός .....	1
1.1.2 Κλινική εικόνα .....	1
1.1.3 Επιδημιολογία .....	4
1.2 Παθοφυσιολογία της ατοπικής δερματίτιδας .....	5
1.2.1 Δομή και λειτουργία του υγιούς δέρματος.....	5
1.2.2 Στοιχεία παθοφυσιολογίας .....	7
1.2.2.1 Ανοσολογικό προφίλ .....	7
1.2.2.1Α Συνοπτικά οι ανοσολογικές αποκρίσεις .....	7
Τ λεμφοκύτταρα .....	8
Βασικές υποκατηγορίες Th.....	9
Συνοπτικά Th & κυτοκίνες .....	11
1.2.2.1B Κυτοκίνες.....	11
Ορισμός και διάκριση των κυτοκινών .....	12
Οικογένειες IL .....	12
1.2.2.1Γ Η υπόθεση Th1/Th2.....	13
1.2.2.1Δ Κυτοκίνες και Th στην ανάπτυξη και εξέλιξη της Ατοπικής δερματίτιδας	14
Εγγενής ανοσία.....	14
Επίκτητη ανοσία .....	15
1.2.2.2 Δερματικός φραγμός.....	20
Φιλαγρίνη .....	20
Λιπίδια .....	21
1.2.2.3 Γενετικό υπόβαθρο .....	22
1.2.3 Υποθέσεις μηχανισμού παθογένεσης.....	24
1.2.3.1 Η υπόθεση της υγιεινής .....	24
1.2.3.2 Ενδογενής (intrinsic)/εξωγενής (extrinsic) ΑΔ .....	25
1.2.3.3 Υπόθεση outside-in/inside-out .....	25
1.3 Θεραπευτικά σχήματα και πιθανοί στόχοι.....	27
1.3.1 Προσωπική υγιεινή .....	27
1.3.2 Τοπικά σκευάσματα .....	28
1.3.2.1 Μαλακτικά.....	28
1.3.2.2 Κορτικοστεροειδή (CSs).....	28

1.3.2.3 Αναστολείς της καλσινευρίνης (CIs).....	29
1.3.3 Συστηματικά σκευάσματα.....	30
1.3.3.1 Κορτικοστεροειδή (CSs).....	30
1.3.3.2 Κυκλοσπορίνη .....	30
1.3.3.3 Αζαθειοπρίνη.....	30
1.3.4 Βιολογικά φάρμακα .....	31
1.4 Σκοπός .....	32
<b>Κεφάλαιο 2<sup>ο</sup>: Υλικά και Μέθοδοι .....</b>	<b>33</b>
2.1 Μύες.....	33
2.2 Λοιπά υλικά.....	33
2.2.1 Τοπικά σκευάσματα .....	33
2.2.1.1 Τοπικό Σκεύασμα 1 [μίγμα εκχυλισμάτων].....	33
2.2.1.2 Τοπικό Σκεύασμα 2 [χλωροκρεσόλη].....	33
2.2.1.3 Τοπικό Σκεύασμα 3 [ισόποδο] .....	34
2.2.1.4 Τοπικό Σκεύασμα 4 [ελαιοκανθάλη & ολεασίνη] .....	34
2.2.2 2,4-Δινιτροχλωροβενζόλιο (2,4-Dinitrochlorobenzene, DNCB).....	35
2.2.2.1 Αλλεργική δερματίτιδα εξ 'επαφής, υπερευαισθησία εξ' επαφής και ατοπική δερματίτιδα.....	37
2.3 Μέθοδοι .....	39
2.3.1 Μοντέλο Πρόκλησης Ατοπικής Δερματίτιδας.....	40
2.3.2 Συγκριτική μελέτη τοπικών σκευασμάτων .....	42
2.3.1 ELISA .....	44
2.3.2 Όργανα μετρήσεων .....	45
2.3.2.1 Soft plus, Callegari - pH .....	45
2.3.2.2 Tewameter TM 210, Courage + Khazaka - Άδηλη απώλεια νερού .....	45
2.3.2.3 Corneometer CM 820, Courage + Khazaka - Ενυδάτωση.....	45
2.3.2.4 Mexameter MX 18, Courage + Khazaka - Ερυθρότητα, Μελανίνη .....	45
<b>Κεφάλαιο 3<sup>ο</sup>: Αποτελέσματα.....</b>	<b>46</b>
3.1 Πείραμα 1 <sup>ο</sup> .....	46
3.1.1 Κλινική εικόνα .....	46
3.1.1.1 SKH-2 & SKH-1 [DNCB].....	46
3.1.1.2 Μάρτυρες [Acetone] SKH-2 & SKH-1.....	46
3.1.2 Ιστοπαθολογικά αποτελέσματα.....	53
3.1.2.1 SKH-2 .....	53
3.1.2.2 SKH-1 .....	54
3.1.3 pH .....	55

3.1.3.1 Στατιστική ανάλυση μετρήσεων pH.....	57
3.1.4 TEWL.....	59
3.1.4.1 Στατιστική ανάλυση αποτελεσμάτων TEWL .....	61
3.1.5 Ενυδάτωση .....	64
3.1.5.1 Στατιστική ανάλυση αποτελεσμάτων Ενυδάτωσης.....	66
3.1.6 Πάχος δέρματος .....	69
3.1.6.1 Στατιστική ανάλυση αποτελεσμάτων Πάχους δέρματος.....	71
3.1.7 Ερυθρότητα .....	74
3.1.7.1 Στατιστική ανάλυση αποτελεσμάτων Ερυθρότητας.....	76
3.1.8 Μελανίνη.....	79
3.1.8.1 Στατιστική ανάλυση αποτελεσμάτων Μελανίνης.....	80
3.1.9 Συγκεντρωτικά τα αποτελέσματα των στατιστικών συγκρίσεων .....	81
3.2 Πείραμα 2 <sup>ο</sup> .....	83
3.2.1 Κλινική εικόνα .....	83
3.2.2 Ιστοπαθολογικά αποτελέσματα.....	88
3.2.2.1 SKH-1 [DNCB].....	88
3.2.2.2 SKH-2 [DNCB].....	89
3.2.3 TEWL.....	90
3.3 Πείραμα 3 <sup>ο</sup> .....	91
3.3.1 Κλινική εικόνα .....	91
3.3.1.1 Ενδιάμεσα δείγματα 44 & 45.....	91
3.3.1.2 Γενικές παρατηρήσεις πριν την έναρξη τοπικών σκευασμάτων .....	91
3.3.1.3 Μάρτυρες [DNCB] .....	92
3.3.1.4 Τοπικό σκεύασμα 1 [μίγμα εκχυλισμάτων] .....	92
3.3.1.5 Τοπικό σκεύασμα 2 [χλωροκρεσόλη] .....	92
3.3.1.6 Τοπικό σκεύασμα 3 [ισόποδο].....	92
3.3.1.7 Τοπικό σκεύασμα 4 [ελαιοκανθάλη & ολεασίνη].....	92
3.3.2 Ιστοπαθολογικά αποτελέσματα.....	105
3.3.2.1 Μάρτυρες.....	105
3.3.2.2 Τοπικό σκεύασμα 1 [μίγμα εκχυλισμάτων] .....	106
3.3.2.3 Τοπικό σκεύασμα 2 [χλωροκρεσόλη] .....	107
3.3.2.4 Τοπικό σκεύασμα 3 [ισόποδο].....	108
3.3.2.5 Τοπικό σκεύασμα 4 [ελαιοκανθάλη & ολεασίνη].....	109
3.3.3 pH .....	110
3.3.3.1 Στατιστική ανάλυση μετρήσεων pH.....	112
3.3.4 TEWL.....	117

3.3.4.1 Στατιστική ανάλυση μετρήσεων TEWL .....	120
3.3.5 Ενυδάτωση .....	125
3.3.5.1 Στατιστική ανάλυση μετρήσεων Ενυδάτωσης .....	127
3.3.6 Πάχος δέρματος .....	134
3.3.6.1 Στατιστική ανάλυση μετρήσεων Πάχος δέρματος.....	136
3.3.7 Ερυθρότητα .....	142
3.3.7.1 Στατιστική ανάλυση μετρήσεων Ενυδάτωσης .....	144
3.3.8 Συγκεντρωτικά τα αποτελέσματα των στατιστικών συγκρίσεων-πείραμα 3 <sup>ο</sup> .....	151
3.4 ELISA IL-6 .....	154
3.4.1 Πείραμα 1 <sup>ο</sup> .....	156
3.4.1.1 SKH-2 [DNCB].....	156
3.4.1.2 SKH-2 Μάρτυρες [Acetone].....	156
3.4.1.3 SKH-1 [DNCB].....	156
3.4.1.4 SKH-1 Μάρτυρες [Acetone].....	157
3.4.2 Πείραμα 2 <sup>ο</sup> .....	157
3.2.1.1 SKH-1 [DNCB].....	157
3.2.1.2 SKH-2 [DNCB].....	157
3.4.3 Πείραμα 3 <sup>ο</sup> .....	158
3.4.3.1 Ενδιάμεσα δείγματα 44 & 45 .....	158
3.4.3.2 Μάρτυρες [DNCB] .....	158
3.4.3.3 Τοπικό σκεύασμα 1 [μίγμα εκχυλισμάτων] .....	158
3.4.3.4 Τοπικό σκεύασμα 2 [χλωροκρεσόλη] .....	159
3.4.3.5 Τοπικό σκεύασμα 3 [ισόποδο].....	159
3.4.3.6 Τοπικό σκεύασμα 4 [ελαιοκανθάλη & ολεασίνη].....	159
<b>Κεφάλαιο 4<sup>ο</sup>: Συζήτηση Αποτελεσμάτων .....</b>	<b>160</b>
4.1 Πειραματικοί περιορισμοί .....	160
4.2 Ανάλυση αποτελεσμάτων και συμπεράσματα .....	160
<b>Βιβλιογραφία .....</b>	<b>167</b>

# Κεφάλαιο 1<sup>ο</sup>: Εισαγωγή

## 1.1 Βασικά στοιχεία της ατοπικής δερματίτιδας

### 1.1.1 Ορισμός

Η ατοπική δερματίτιδα (ΑΔ) είναι μια χρόνια, υποτροπιάζουσα, φλεγμονώδης δερματική νόσος που χαρακτηρίζεται από περίπλοκη παθοφυσιολογία και ένα ευρύ φάσμα κλινικών φαινοτύπων.<sup>2,3</sup> Οι κλινικές εκδηλώσεις της απορρέουν από το συνδυασμό περιβαλλοντικών, ψυχολογικών και γενετικών επιδράσεων.<sup>4</sup>

Η πολυποίκιλη έκφραση της ΑΔ στην κλινική εικόνα των ασθενών έχει δημιουργήσει πολλά διαφορετικά κριτήρια διάγνωσης της, με αποτέλεσμα τα κύρια χαρακτηριστικά της νόσου να είναι ελαφρώς διαφοροποιημένα αναλόγως την σχολή κριτηρίων που ακολουθείται.<sup>5</sup>

### 1.1.2 Κλινική εικόνα

Οι Hanifin & Rajka το 1980, ήταν οι πρώτοι που έθεσαν τα ευρέως πλέον αποδεκτά διαγνωστικά κριτήρια της ΑΔ. Ως κύρια χαρακτηριστικά της κλινικής εικόνας του ατοπικού δέρματος όρισαν τον κνησμό, το υποτροπιάζον ή χρόνιο έκζεμα και την λειχηνοποίηση. Επιπλέον υπάρχουν άλλα 23 δευτερεύοντα χαρακτηριστικά που μπορεί να συνοδεύουν τα παραπάνω, που συνοψίζονται στον Πίνακα 1.<sup>6</sup>

Πίνακας 1: Δευτερεύοντα χαρακτηριστικά της ΑΔ σύμφωνα με το κριτήριο Hanifin & Rajka<sup>6</sup>

Ξηρότητα δέρματος
Ιχθύαση/ Παλμική υπερ-γραμμικότητα/ Θυλακική υπερκεράτωση
Αντίδραση υπερευαισθησίας τύπου I
Αυξημένα επίπεδα IgE στον ορό
Εμφάνιση σε μικρή ηλικία
Τάση εμφάνισης δερματικών λοιμώξεων /Ελαττωμένη κυτταρική ανοσία
Τάση εμφάνισης εκζέματος στα πόδια ή στα χέρια
Έκζεμα θηλής μαστού
Χειλίτιδα
Υποτροπιάζουσα επιπεφυκίτιδα
Σημείο Dennie-Morgan
Κερατόκωνος
Μαύροι κύκλοι στα κάτω βλέφαρα
Πρόσθιος υποκαψικός καταρράκτης
Ωχρότητα/ερύθημα προσώπου
Κνησμός κατά την εφίδρωση
Λευκή πιτυρίαση
Δυσανεξία σε μάλλινα υφάσματα και λιπιδιακούς διαλύτες
Δυσανεξία σε τροφές
Η πορεία της νόσου επηρεάζεται από περιβαλλοντικούς και συναισθηματικούς παράγοντες
Λευκός δερματογραφισμός



Καθώς δεν είναι δυνατή η ταυτοποίηση της ΑΔ μέσω εργαστηριακών ή ιστοπαθολογικών εξετάσεων, η διάγνωση βασίζεται στην κλινική εικόνα, η οποία είναι εξαιρετικά δυναμική στην πορεία του χρόνου. Η τυπική εικόνα της νόσου αλλάζει αναλόγως την ηλικιακή ομάδα του ασθενούς (βρεφική, παιδική και ενήλικη, Εικόνα 2)<sup>3,7</sup> και την πορεία της νόσου (οξεία, υποξεία, χρόνια και σε ύφεση, Εικόνα 1).<sup>8</sup>

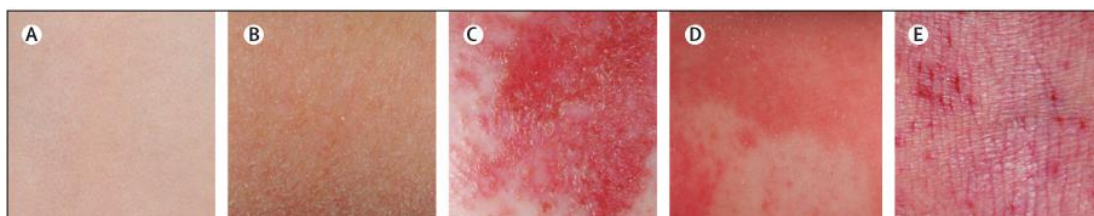
Οι αλλαγές στην τυπική εικόνα με την ηλικία αφορά κυρίως τον εντοπισμό της πάσχουσας περιοχής και της έντασης των εκδηλώσεων. Εκτός από τον κνησμό και τις εκζεματώδεις εκδηλώσεις που παραμένουν κοινά χαρακτηριστικά σε όλες τις ηλικιακές ομάδες<sup>3</sup>, συνοπτικά η τυπική εικόνα της ΑΔ ανάλογα με την ηλικιακή ομάδα διαμορφώνεται ως εξής:

Στην βρεφική ηλικία (2 μηνών-2 ετών) η περιοχή του προσώπου, πλην της μύτης, είναι η συνηθέστερη περιοχή για την οξεία εκδήλωση ερυθρηματώδων και εξιδρωματικών βλατίδων και πλακών. Στο υπόλοιπο σώμα παρατηρούνται κυρίως στο τριχωτό της κεφαλής, τον λαιμό, τον κορμό, την εξωτερική και ραχιαία επιφάνεια της κνήμης.<sup>3,4,7,9</sup>

Στην παιδική ηλικία (2-12 ετών) παρατηρούνται πολύμορφες εκδηλώσεις της ΑΔ σε διάφορα σημεία του σώματος<sup>3</sup>, με κύριες τις καμπτικές επιφάνειες των άνω και κάτω άκρων, αλλά και τις περιοχές γύρω από το στόμα και τα μάτια.<sup>4</sup> Οι πλειοψηφία των βλαβών είναι χρόνιες, δημιουργώντας παχιές πλάκες με ελαφριά λειχηνοποίηση, ενώ σε περιόδους έξαρσης οξύ ερύθημα και εξελκώσεις.<sup>4,7</sup>

Στην εφηβική ηλικία (12-18 ετών) και ενηλικίωση, η κύρια αλλοίωση που παρατηρείται είναι η ξηροδερμία, η φλεγμονή και λειχηνοποίηση καμπτικών περιοχών των άκρων, καρπών και της περιοχής γύρω από τα μάτια.<sup>4,7</sup> Πολύ χαρακτηριστική εικόνα ΑΔ στους ενήλικες είναι εκζεματώδεις εκδηλώσεις στα χέρια, στην περιοχή του αυχένα και του τριχωτού της κεφαλής.<sup>10,11</sup>

Η μορφολογία του ατοπικού δέρματος μεταβάλλεται συνεχώς ανάλογα με την ένταση της φλεγμονής και του σταδίου επούλωσης στο οποίο βρίσκεται. Οι υποξείες αλλοιώσεις μπορεί να σχηματίσουν λέπι και λειχηνοποίηση. Οι περιοχές με χρόνιες βλάβες είναι ξηρές, πεπαχυμένες, ινώδης και ορισμένες φορές εμφανίζουν οζίδια. Οι αλλοιώσεις που έχουν υποχωρήσει αφήνουν συχνά μεταφλεγμονώδης υπερμελανώσεις.<sup>7,8</sup>



Εικόνα 1: Κοντινές εικόνες από Α. υγιές δέρμα, Β. με αλλοιώσεις σε ύφεση, Γ. με οξείες αλλοιώσεις, Δ. με υποξείες αλλοιώσεις και Ε. χρόνιες αλλοιώσεις<sup>3</sup>



**Εικόνα 2:** Η τυπική κλινική εικόνα και οι συνήθεις περιοχές εκδήλωσης ατοπικής δερματίτιδας σε διαφορετικές ηλικίες <sup>3</sup>

A. Στη βρεφική ηλικία η ΑΔ είναι συνήθως οξεία και εκδηλώνεται στο πρόσωπο και στις εξωτερικές επιφάνειες των άκρων. Ο κορμός ενδέχεται να εμφανίσει αλλοιώσεις, αλλά η περιοχή της πάνας συνήθως δεν προσβάλλεται. Β. Μετά τα 2 χρόνια ηλικίας, οι εκδηλώσεις της ΑΔ αποκτούν πολυποίκιλη εικόνα και εντοπίζονται κυρίως στις καμπτικές επιφάνειες Γ. Οι έφηβοι και ενήλικες συχνά παρουσιάζουν λειχνοποιημένες και πλακώδεις αλλοιώσεις στις καμπτικές επιφάνειες, στα χέρια και τον αυχένα

Επιπλέον, σε αντίθεση με την ψωρίαση, όπου οι δερματικές περιοχές χωρίς αλλοιώσεις έχουν την ίδια λειτουργικότητα με το φυσιολογικό δέρμα, στην ΑΔ το φαινομενικά μη αλλοιωμένο δέρμα παρουσιάζει μη φυσιολογικό δερματικό φραγμό, παραποιημένο ανοσοποιητικό, μειωμένη ενυδάτωση και αύξηση της άδηλης απώλειας νερού.<sup>12</sup>

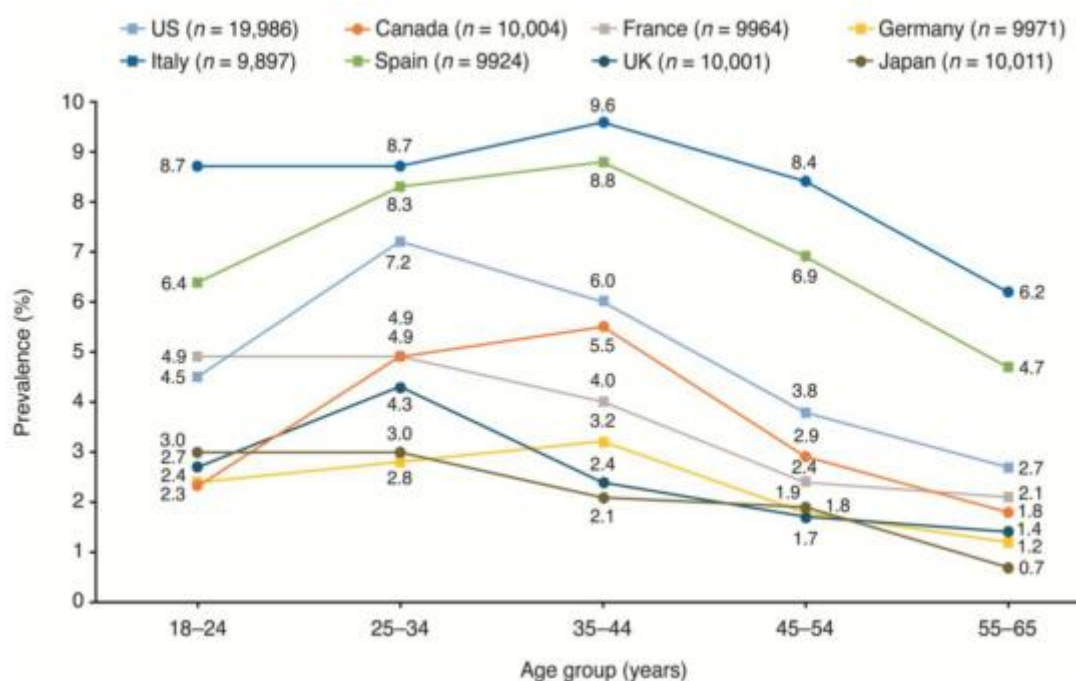
Ιστοπαθολογικά το ατοπικό δέρμα δεν διαφέρει από άλλες μορφές δερματίτιδας ή εκζέματος.<sup>7</sup> Στις οξείες αλλοιώσεις παρατηρείται ακάνθωση (*υπερπλασία της επιδερμίδας που οφείλεται σε πάχυνση της ακανθωτής στιβάδας*), παρακεράτωση (*κερατινοποίηση που χαρακτηρίζεται από διατήρηση των πυρήνων των κερατινοκυττάρων μέσα στην κεράτινη στιβάδα*), σπογγίωση (*μεσοκυττάριο οίδημα στην επιδερμίδα*), ενώ η δερμίδα παρουσιάζει

μια έντονη διήθηση μονοπύρηνων, μακροφάγων, δενδριτικών κυττάρων, μαστοκυττάρων και ηωσινόφιλων<sup>7,13</sup>. Στις χρόνιες λειηνοποιημένες αλλοιώσεις χαρακτηρίζονται από πάχυνση της δερμίδας, παρακεράτωση και ακάνθωση (ορισμένες φορές). Συνήθως η σπογγίωση απουσιάζει, και τα κύτταρα που κυριαρχούν είναι τα μακροφάγα. Ακόμη μπορεί να υπάρχουν T λεμφοκύτταρα, ηωσινόφιλα και μαστοκύτταρα.<sup>7</sup>

### 1.1.3 Επιδημιολογία

Η ΑΔ θεωρείται κυρίως παιδική νόσος, καθώς σε παγκόσμιο επίπεδο εκτιμάται ότι ο επιπολασμός της αγγίζει το 15-20% του παιδικού πληθυσμού.<sup>14</sup> Συνήθως εκδηλώνεται νωρίς στην βρεφική ηλικία, χαρακτηριστικά, το 50% των παιδιών που θα νοσήσει εκφράζει τα πρώτα συμπτώματα στο 1<sup>ο</sup> έτος, ενώ αντίστοιχα μέχρι τα 5 έτη το 95% αυτών.<sup>15,16</sup> Κατά την εφηβεία είθισται οι αλλοιώσεις να υποχωρούν και τις περισσότερες φορές να μην επανέρχονται κατά την ενηλικίωση. Υπολογίζεται ότι 1 στα 3 παιδιά με ΑΔ θα διατηρήσει τις αλλοιώσεις και στην ενήλικη ζωή<sup>17</sup>, ενώ ο παγκόσμιος επιπολασμός της ΑΔ στον ενήλικο πληθυσμό κυμαίνεται στο 1-3%.<sup>10,14,16</sup>

Παρόλα αυτά, τα επιδημιολογικά δεδομένα μεταβάλλονται σημαντικά ανάλογα με την χώρα μελέτης. Χαρακτηριστικά, σύμφωνα με δεδομένα του 2018<sup>18</sup> για ενήλικες 18-24 ετών ο επιπολασμός της ΑΔ στην Ιταλία ήταν 8,7%, ενώ στην Γερμανία 2,3% (Εικόνα 3).

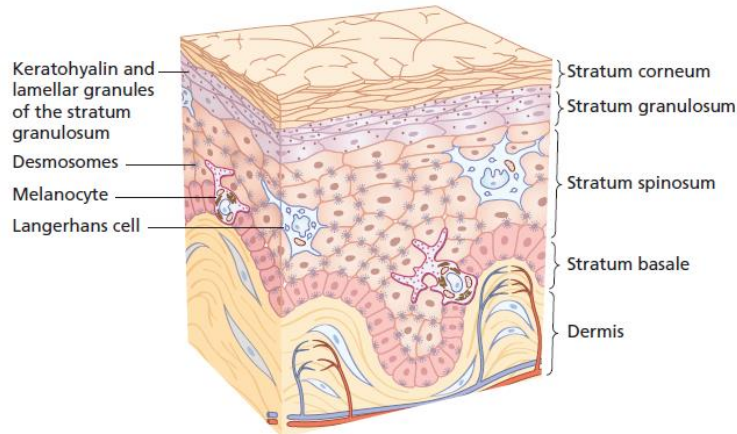


Εικόνα 3: Δεδομένα επιπολασμού της ατοπικής δερματίτιδας στον ενήλικο πληθυσμό για το 2018<sup>18</sup>

## 1.2 Παθοφυσιολογία της ατοπικής δερματίτιδας

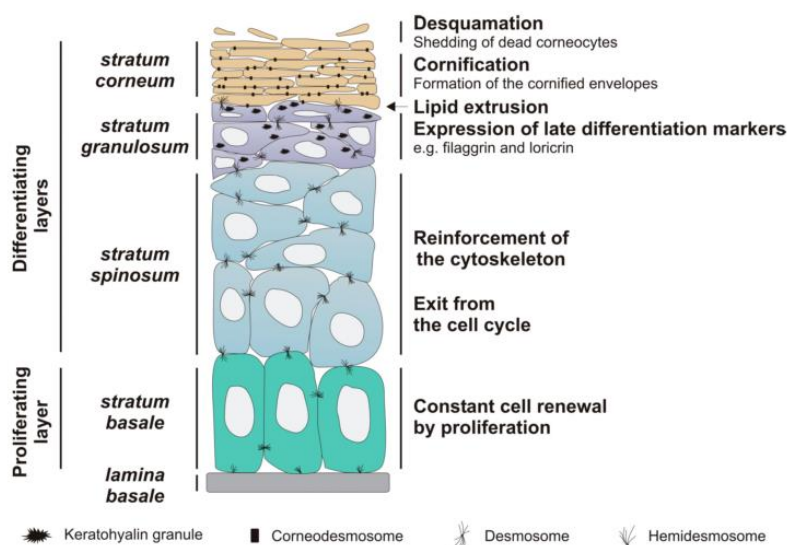
### 1.2.1 Δομή και λειτουργία του υγιούς δέρματος

Το δέρμα αποτελεί το μεγαλύτερο όργανο του ανθρώπου και ο βασικός του ρόλος είναι η λειτουργία του ως φραγμός έναντι εξωτερικών παραγόντων (π.χ. αλλεργιογόνα, μικροοργανισμοί, τοξίνες) καθώς και ως ρυθμιστής της άδηλης απώλειας νερού (TEWL) από τον οργανισμό.<sup>4,19-21</sup> Ο πρωταγωνιστής της ρυθμιστικής διαδερμικής διέλευσης είναι η ανώτερη στιβάδα της επιδερμίδας, η κεράτινη στιβάδα (Εικόνα 4).



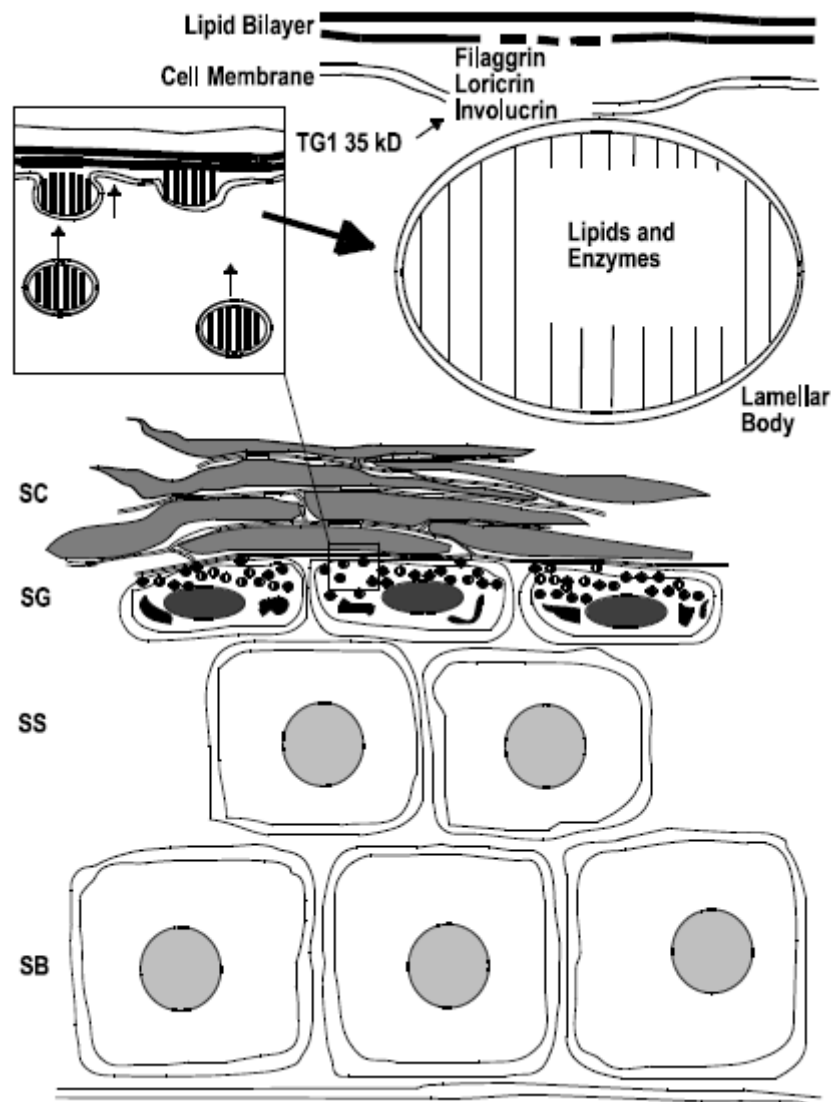
Εικόνα 4: Οι τέσσερις στιβάδες της επιδερμίδας, κεράτινη (stratum corneum), κοκκιώδης (stratum granulosum), ακανθώδης (stratum spinosum) & βασική (stratum basale) και άλλα δομικά στοιχεία του επιδερμικού φραγμού<sup>22</sup>

Η δημιουργία της κεράτινης στιβάδας είναι το τελικό αποτέλεσμα της κερατινοποίησης, δηλαδή της διαδικασίας διαφοροποίησης των κυττάρων της βασικής στιβάδας κατά την μετακίνηση τους προς τα ανώτερα στρώματα της επιδερμίδας μέχρι την τελική απόπτωση τους (Εικόνα 5).<sup>20</sup> Η κεράτινη στιβάδα διαμορφώνει μια δομή όμοια με ενός τοίχου από τούβλα και κονίαμα. Τον ρόλο των τούβλων διαδραματίζουν τα νεκρά, πεπλατυσμένα κερατινοκύτταρα και του κονιάματος ένας μεσοκυττάριος χώρος πλούσιος σε λιπίδια δημιουργώντας έτσι συνδυαστικά με αυτά ένα υδρόφοβο φράγμα ενάντια σε εξωτερικούς παράγοντες.<sup>4</sup>



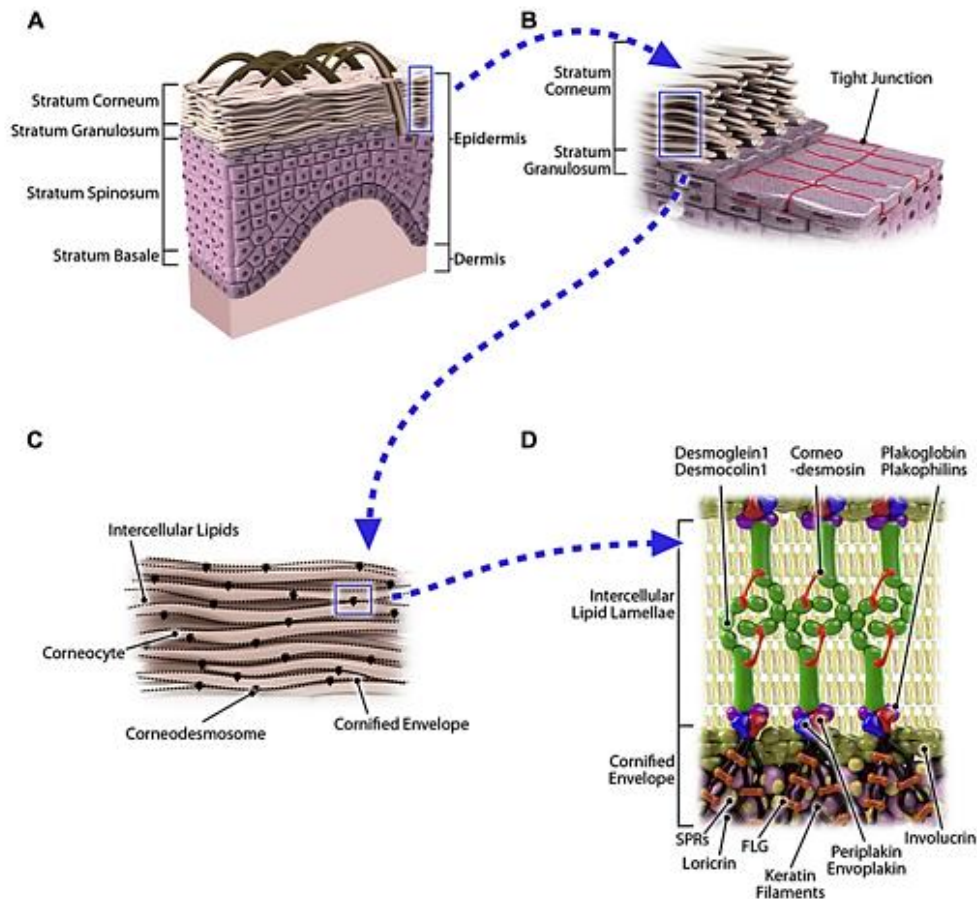
Εικόνα 5: Η διαδικασία της κερατινοποίησης σε κάθε στιβάδα της επιδερμίδας<sup>23</sup>

Ένα βήμα πριν τον σχηματισμό της κεράτινης στιβάδας, τα κερατινοκύτταρα είναι στην κοκκώδη στιβάδα, όπου στο εσωτερικό σχηματίζονται τα κοκκία κερατοϋαλίνης (keratohyalin granules) και μεμβρανώδη κοκκία (lamellar bodies). Τα κοκκία κερατοϋαλίνης περιέχουν τα ενδοκυτταρικά στοιχεία της κεράτινης στιβάδας, τις πρωτεΐνες φιλαγρίνη (FLG) και λορικρίνη, καθώς και ινίδια κερατίνης.<sup>23-26</sup> Αντίστοιχα, το περιεχόμενο των μεμβρανώδων κοκκίων αποτελείται από χοληστερόλη, φωσφολιπίδια, γλυκοζυλκεραμίδια και υδρολυτικά ένζυμα που μετατρέπουν τα παραπάνω σε ελεύθερα λιπαρά οξέα και κεραμίδια (Εικόνα 6, 7).<sup>26</sup>



Εικόνα 6: Η εξωκυττάρωση των μεμβρανώδων κοκκίων (lamellar bodies)<sup>7</sup>

Γύρω από τα νεκρά κερατινοκύτταρα της κεράτινης στιβάδας σχηματίζεται μια πρωτεϊνική δομή, γνωστή ως cornified envelope που λειτουργεί ως ικρίωμα για την σύνδεση μεταξύ των λιπιδίων του μεσοκυττάριου χώρου και των κυττάρων.<sup>24</sup> Επιπλέον τα κερατινοκύτταρα είναι σφικτά συνδεδεμένα αναμεταξύ τους από κερατινοποιημένα δεσμοσωμάτια (corneodesmosome), συνδυαστικά δημιουργούν έναν υγιή επιδερμικό φραγμό.<sup>20,24,27</sup>



**Εικόνα 7:** Τα δομικά στοιχεία του επιδερμικού φραγμού Α. Η δομή της επιδερμίδας Β. Η δομή της κεράτινης και κοκκώδους στιβάδας Γ. Η δομή της κεράτινης στοιβάδας Δ. Ο σκελετός σύνδεσης του επιδερμικού φραγμού, cornified envelope και κερατινοποιημένα δεσμοσωμάτια<sup>20</sup>

### 1.2.2 Στοιχεία παθοφυσιολογίας

Παρότι η ΑΔ αποτελεί αντικείμενο μελέτης πολλών κλινικών και πειραματικών μελετών, η παθοφυσιολογία της νόσου δεν έχει αποσαφηνιστεί. Η πιο πρόσφατη προσέγγιση της παθογένεσης της ΑΔ βασίζεται στην συμμετοχή πολλών παραγόντων: παραποιημένο ανοσολογικό σύστημα, προβληματικός δερματικός φραγμός (κυρίως λόγω φιλαγρίνης και κεραμιδίων), περιβαλλοντικοί παράγοντες και γενετική προδιάθεση. Όλοι οι παραπάνω παράγοντες διαδραματίζουν έναν καθοριστικό ρόλο στην ΑΔ, όμως η σειρά με την οποία προκαλούνται είναι ασαφής. Επιπλέον οι μεταξύ τους περίπλοκες αλληλεπιδράσεις συνθέτουν το μεγάλο εύρος κλινικών εικόνων και φάσεων της ΑΔ.<sup>28,29</sup>

#### 1.2.2.1 Ανοσολογικό προφίλ

##### 1.2.2.1Α Συνοπτικά οι ανοσολογικές αποκρίσεις

Ο οργανισμός για να ανταπεξέλθει έναντι πληθώρας παθογόνων, ανέπτυξε μια σειρά πολύπλοκων και αλληλένδετων ανοσολογικών αποκρίσεων, που μπορούν να διακριθούν σε δύο τύπους ανοσίας, την εγγενή και την επίκτητη.

1. **Εγγενής ή φυσική ανοσία (innate immune system):** αποτελεί την άμεση ανοσολογική απάντηση του οργανισμού έναντι κάποιου μικροοργανισμού. Ονομάζεται εγγενής καθώς δεν απαιτεί προηγούμενη έκθεση σε παθογόνο. Είναι μια πρώτη γραμμή άμυνας που δρα τις πρώτες ώρες ή μέρες της λοίμωξης, δίνοντας τον απαραίτητο χρόνο για την

ανάπτυξη της προσαρμοστικής ανοσολογικής απόκρισης. Επάγεται μέσω μακροφάγων και δενδριτικών κυττάρων.<sup>30</sup>

2. **Επίκτητη ή προσαρμοστική ανοσία (adaptive immune system):** αποτελεί την ειδική ανοσολογική απάντηση του οργανισμού. Χαρακτηρίζεται από ποικιλομορφία, την δημιουργία ανοσολογικής μνήμης και την ικανότητα αναγνώρισης εαυτού/μη εαυτού. Η εξειδίκευση βασίζεται στην αναγνώριση και δέσμευση αντιγόνων. Διακρίνεται σε δυο ανοσοαποκρίσεις:

- i. **Χυμική ανοσία**, επάγεται μέσω αντισωμάτων που παράγονται από τα Β λεμφοκύτταρα. Αποτελεί τον βασικό μηχανισμό άμυνας κατά εξωγενών αντιγόνων, όπως μικρόβια και οι μικροβιακές τοξίνες που βρίσκονται στην κυτταρική τους επιφάνεια.<sup>31,32</sup>
- ii. **Κυτταρική ανοσία ή κυτταρομεσολαβητική**, επάγεται από τα Τ λεμφοκύτταρα και είναι αποδοτικότερη για την εξάλειψη ενδογενών αντιγόνων, όπως φαγοκυτταρομένων μικρόβιων που συνεχίζουν να επιβιώνουν εντός των μακροφάγων, ή κυττάρων που έχουν μολυνθεί και αναπαράγουν ιούς. Δεν παράγουν αντισώματα, αλλά βασίζονται στη δημιουργία μεγάλου αριθμού κλώνων λεμφοκυττάρων με ιδικούς αντιγονικούς υποδοχείς.<sup>31-33</sup>

#### Τ λεμφοκύτταρα

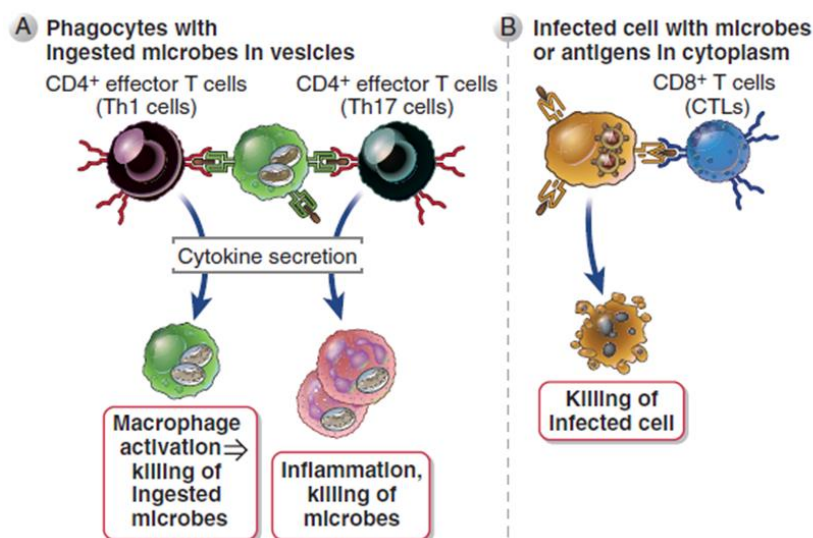
Τα Τ λεμφοκύτταρα αποτελούνται από δυο λειτουργικά διακριτούς πληθυσμούς τα CD4+ και CD8+, που δρουν με συμπληρωματικό τρόπο (Εικόνα 8).

##### i. CD8+

Αποτελούν τα κυτταροτοξικά Τ λεμφοκύτταρα (Cytotoxic T Lymphocytes, CTLs). Ρόλος τους είναι η εξουδετέρωση μολυσμένων κυττάρων που έχουν στο κυτόπλασμά τους μικρόβια που είναι αδύνατο να φαγοκυτταρωθούν αλλιώς. Επίσης, καταστρέφουν καρκινικά κύτταρα που διαθέτουν αντιγόνα που αναγνωρίζονται ως εξωγενή.

##### ii. CD4+

Τα CD4+ διαθέτουν ένα μεγάλο εύρος δράσεων που βασίζεται στην παραγωγή διαφορετικών κυτοκινών. Βάσει της δράσης των CD4+ έγινε η διάκριση σε δυο κύριες κατηγορίες των τελεστικών κυττάρων ή αλλιώς βοηθητικών Τ λεμφοκυττάρων (T helper cells, Th) και των ρυθμιστικών Τ λεμφοκυττάρων (Regulatory T cells, Treg).<sup>32</sup>



Εικόνα 8: Ο λειτουργικός ρόλος των Τ λεμφοκυττάρων, CD4+ και CD8+ <sup>32</sup>

## Βασικές υποκατηγορίες Th

Ο ρόλος των Th είναι η αντιμετώπιση πολυποίκιλων απειλών. Χαρακτηριστικά, ορισμένα μετακινούνται από την λέμφο στο σημείο της λοίμωξης, ενεργοποιούν λευκοκύτταρα και βοηθούν στην φαγοκυττάρωση μικροβίων. Άλλα βοηθούν τα Β λεμφοκύτταρα να παράγουν το αντίσωμα IgE και ηωσινόφιλα, για την εξάλειψη παρασίτων που είναι πολύ μεγάλα για να φαγοκυτταρωθούν. Άλλα παραμένουν στην λέμφο και διεγείρουν απαντήσεις Β λεμφοκυττάρων.<sup>32</sup>

Αναλόγως με τις κυτοκίνες που παράγονται από τα Th κατηγοριοποιούνται ως ακολούθως:

### i. Th1

**Χαρακτηριστική κυτοκίνη:** Ιντερφερόνη γ (IFN-γ)<sup>34</sup>

**Άλλες παραγόμενες κυτοκίνες:** Παράγοντας νέκρωσης όγκων (TNF-α), IL-2<sup>34</sup>

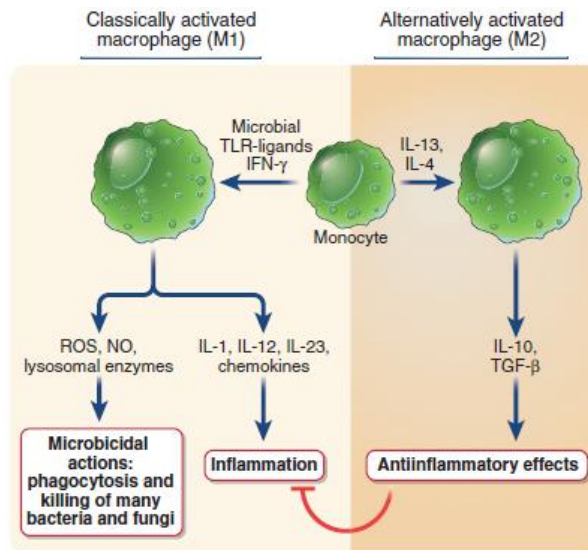
**Ρόλος:** Αποτελούν τους εκκινήτες της κλασικής ενεργοποίησης (M1) μακροφάγων μέσω της έκκρισης IFN-γ (Εικόνα 9). Τα M1 ενεργοποιημένα μακροφάγα αμύνονται κατά των παθογόνων (κυρίως ιών και βακτηρίων), με την παραγωγή ριζών ROS & NO\*, λυσοσωματικών ενζύμων, και με την διέγερση φλεγμονής μέσω της έκκρισης των κυτοκινών IL-1, IL-12 και IL-23. Η M1 ανοσοαπόκριση μπορεί παράπλευρα να τραυματίσει και υγιή ιστό.<sup>32,34,35</sup>

### ii. Th2

**Χαρακτηριστικές κυτοκίνες:** οι ιντερλευκίνες 4, 5 και 13 (IL-4, IL-5 & IL-13)<sup>34</sup>

**Άλλες παραγόμενες κυτοκίνες:** TNF-α, IL-9<sup>34,36</sup>

**Ρόλος:** Εκκινούν την εναλλακτική ενεργοποίηση (M2) μακροφάγων για την άμυνα έναντι παρασίτων και αλλεργιογόνων (Εικόνα 9). Παράλληλα, η έκκριση της IL-4 από μαστοκύτταρα και Th2, παίζει καθοριστικό ρόλο στην εκκίνηση των M2 και ενίσχυση της παραγωγής Th2 κυττάρων. Τα M2 ενεργοποιημένα μακροφάγα καθώς και τα Th2, παράγουν κυτοκίνες που τερματίζουν φλεγμονώδεις αντιδράσεις μέσω της καταστολής ενεργοποίησης των M1 μακροφάγων, και με την έκκριση IL-13 και TGF-β διεγείρουν την επιδιόρθωση τυχόν τραυματισμένων ιστών με την ενίσχυση των διαδικασιών παραγωγής κολλαγόνου, αιμοφόρων αγγείων και ινοβλαστών.<sup>32,34,35</sup>



Εικόνα: Η κλασική και η εναλλακτική ενεργοποίηση των μακροφάγων<sup>32</sup>



iii. Th17

**Χαρακτηριστικές κυτοκίνες:** οι IL-17 (ή αλλιώς IL-17A) & IL-22<sup>35,37</sup>

**Άλλες παραγόμενες κυτοκίνες:** IL-21, IL-25 (ή αλλιώς IL-17F)<sup>29,35,37</sup>

**Ρόλος:** Προσελκύουν ουδετερόφιλα και μονοκύτταρα σε σημεία λοίμωξης, ενώ η έκκριση της IL-17 και των άλλων κυτοκινών των Th17, εκκινούν και ενισχύουν τις φλεγμονώδεις δράσεις των λευκοκυττάρων. Η διαφοροποίηση των Th17 αναστέλλεται από την IFN-γ και την IL-4, συνεπώς ισχυρές ανοσοαποκρίσεις Th1 και Th2 καταστέλλουν την ανάπτυξη των Th17.<sup>32,34,35</sup>

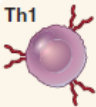

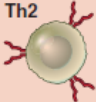



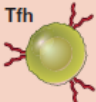

Όπως περιεγράφηκε, μεταξύ των υποκατηγοριών βρέθηκαν αλληλεπιδράσεις που είτε ενεργοποιούσαν την παραγωγή κάποιας άλλης υποκατηγορίας Th, είτε την κατέστειλαν. Για παράδειγμα η IFN-γ παραγόμενη από τα Th1 προωθεί την περαιτέρω διαφοροποίηση ουδέτερων Th (Th0) σε Th1 και αναστέλλοντας την παραγωγή Th2 και Th17.

Η ενίσχυση της έκφρασης κάποιου τύπου Th σε βάρος κάποιου άλλου, είναι ένα φαινόμενο που ονομάζεται πόλωση (polarization). Η πλεονάζουσα έκφραση κάποιου συγκεκριμένου τύπου Th είναι η αρχή για νοσογόνες εκδηλώσεις και νοσήματα. Η απλοποιημένη εικόνα είναι ότι η πόλωση σε Th1 και Th17 συσχετίζεται με φλεγμονώδεις αντιδράσεις, ενώ η πόλωση σε Th2 με αλλεργικές (Εικόνα 10).<sup>32</sup> Η πόλωση αποτελεί την βάση πολλών νόσων, μεταξύ αυτών και της ατοπικής δερματίτιδας, της οποίας η ανοσολογική εικόνα θα αναλυθεί παρακάτω.

Εκτός των Th1, Th2 και Th17 (Εικόνα 10), ανακαλύφθηκαν Th κύτταρα που παρήγαγαν κυτοκίνες που δεν ανήκαν στις τρεις προαναφερθείσες υποκατηγορίες. Οι κυτοκίνες που παρήγαγαν τα νέα Th ήταν:

- κυτοκίνες που δεν ήταν χαρακτηριστικές για καμία από τρεις κύριες υποκατηγορίες πχ. IL-9
- ορισμένες κυτοκίνες από μια συγκεκριμένη κύρια υποκατηγορία
- ή ένα μίγμα χαρακτηριστικών κυτοκινών των Th1, Th2 ή/και Th17 πχ. IFN-γ (χαρακτηριστική κυτοκίνη των Th1) και IL-17 (χαρακτηριστική κυτοκίνη των Th17)

Συνεπώς, ήταν αναγκαία η επέκταση της ονοματολογίας των Th περιλαμβάνοντας αυτούς τους νέους πληθυσμούς. Οπότε, υπάρχουν και άλλες υποκατηγορίες Th όπως Th9, Th22, Tfh κ.ά.<sup>32</sup>

Effector T cells	Defining cytokines	Principal target cells	Major immune reactions	Host defense	Role in disease
	IFN-γ	 Macrophages	Macrophage activation	Intracellular pathogens	Autoimmunity; chronic inflammation
	IL-4 IL-5 IL-13	 Eosinophils	Eosinophil and mast cell activation; alternative macrophage activation	Helminths	Allergy
	IL-17 IL-22	 Neutrophils	Neutrophil recruitment and activation	Extracellular bacteria and fungi	Autoimmunity; inflammation
	IL-21 (and IFN-γ or IL-4)	 B cells	Antibody production	Extracellular pathogens	Autoimmunity (autoantibodies)

Εικόνα 10: Ιδιότητες των κύριων υποκατηγοριών των T βοηθητικών λεμφοκυττάρων<sup>32</sup>

iv. Ρυθμιστικά Τ λεμφοκύτταρα, Treg

Όπως είναι λογικό ο οργανισμός για να αποφύγει φαινόμενα πώλωσης δεν βασίζεται απλά στην καταστολή κάποιας συγκεκριμένης υποκατηγορίας Th από κάποια ανταγωνιστική, αλλά διαθέτει Τ λεμφοκύτταρα που ρυθμίζουν την παραγωγή των Th. Ουσιαστικά λειτουργούν ως κύτταρα καταστολής ενεργοποίησης των Th μέσω:

- άμεσης επαφής κυττάρου-κυττάρου με σηματοδότηση επαφής
- κυτοτοξικών Τ λεμφοκυττάρων CTLA-4
- έκκρισης TGF-β, IL-10 και IL-35<sup>29</sup>

Τα Treg διακρίνονται σε δύο κατηγορίες βάση των κυτοκινών που εκκρίνουν. Η πρώτη είναι τα Treg τύπου 1 (Tr1), που εκκρίνουν υψηλά επίπεδα IL-10 και η δεύτερη είναι τα Th3, που εκκρίνουν υψηλά επίπεδα TGF-β.<sup>29,32</sup>

v. Th9

Τα Th9 αποτελούν μια καινούργια υποομάδα Th λεμφοκυττάρων που οι χαρακτηριστικές κυτοκίνες που παράγουν είναι οι IL-9 και IL-10. Έχει αποδειχθεί ότι τα Th2 παραμορφώνονται σε Th9 όταν βρεθούν σε ένα περιβάλλον πλούσιο σε TGF-β και IL-4. Τέλος, παρόλο που τα Th9 παράγουν IL-10, θεωρούνται προφλεγμονώδη κύτταρα.<sup>29</sup>

vi. Th22

Μέχρι πρόσφατα η παραγωγή της IL-22 ήταν συνδεδεμένη αποκλειστικά με τα Th17, όμως ανακαλύφθηκε νέα υποομάδα βοηθητικών Τ λεμφοκυττάρων που παράγουν IL-22 χωρίς την παρουσία IL-17, τα Th22.<sup>29,38</sup> Αν και η IL-22 είναι η κύρια κυτοκίνη που εκκρίνουν τα Th22, επιπροσθέτως παράγουν και IL-31.<sup>29</sup>

Ο ρόλος της IL-22 και κατ' επέκταση των Th22 είναι δύσκολο να γενικευθεί, καθώς δεν είναι αντιφλεγμονώδης αλλά ούτε και φλεγμονώδης. Στα κερατινοκύτταρα έχει την ιδιότητα να δρα προστατευτικά και ενάγει την αναγέννηση τραυματισμένων ιστών, όμως επίσης μπορεί να προκαλέσει την παραγωγή TNF-α και να συνεισφέρει στην δημιουργία φλεγμονών.<sup>39</sup>

Συνοπτικά Th & κυτοκίνες

Εν κατακλείδι, οι κύριες υποομάδες Τ βοηθητικών λεμφοκυττάρων, οι κυτοκίνες που παράγουν και η βασική λειτουργία τους συνοψίζονται στον παρακάτω πίνακα 2:

Πίνακας 2: Τ βοηθητικά λεμφοκύτταρα και παραγόμενες κυτοκίνες τους

Th υποομάδα	Κυτοκίνες	Βασική λειτουργία
Th1	INF-γ, TNF-α, IL-2	προφλεγμονώδη
Th2	IL-4, IL-5, IL-13, IL-31	αντιφλεγμονώδη
Th17	IL-17, IL-25, IL-21, IL-22	προφλεγμονώδη
Treg (Tr1, Th3)	TGF-β, IL-10, IL-35	ρυθμιστική
Th9	IL-9, IL-10	προφλεγμονώδη
Th22	IL-22, IL-31	προφλεγμονώδη και αντιφλεγμονώδη

1.2.2.1B Κυτοκίνες

Οι κυτοκίνες, και κυρίως οι ιντερλευκίνες, διαδραματίζουν καθοριστικό ρόλο στην ανάπτυξη και δράση των ανοσολογικών αποκρίσεων από τα Τ λεμφοκύτταρα και σε περιπτώσεις νοσημάτων που βασίζονται σε φαινόμενα πώλωσης αποτελούν σημαντικούς πειραματικούς δείκτες.<sup>40</sup>

### Ορισμός και διάκριση των κυτοκινών

Οι κυτοκίνες είναι μια μεγάλη ομάδα εκκρινόμενων πρωτεϊνών με ποικιλομορφία στην δομή και την δράση τους. Χαρακτηρίζονται και ως ορμονικοί αγγελιοφόροι, καθώς είναι υπεύθυνοι για τις περισσότερες βιολογικές ενέργειες του ανοσοποιητικού συστήματος.<sup>32,41</sup>

Οι κυτοκίνες διακρίνονται σε τρεις κατηγορίες βάσει την λειτουργία τους (αν και προκύπτει μια επικάλυψη):

#### i. *Ιντερλευκίνες (Interleukins)*

Ρυθμίζουν την ανάπτυξη, διαφοροποίηση και ενεργοποίηση των κυττάρων κατά την διάρκεια των ανοσολογικών αποκρίσεων.<sup>42</sup> Συμμετέχουν σε φλεγμονώδεις και αντιφλεγμονώδεις δράσεις.<sup>32</sup>

#### ii. *Χημειοκίνες (Chemokines)*

Έχουν την ιδιότητα να προκαλούν την μετανάστευση των κυττάρων σε κάποια κατεύθυνση, ένα φαινόμενο γνωστό ως χημειοταξία (chemotaxis).<sup>40</sup>

#### iii. *Ιντερφερόνες (Interferons)*

Κυρίως ενεργοποιούν την κυτταρική απάντηση έναντι ιικών λοιμώξεων.<sup>43,44</sup>

Οι ιντερλευκίνες όπως παρουσιάστηκε και στην ενότητα των Th, είναι οι πρωτεΐνες κλειδί για τον καθορισμό των τύπων T κυττάρων, άρα συνεπαγωγικά και των ανοσοαποκρίσεων που συμμετέχουν κυρίως στην δημιουργία νόσων όπως η ατοπική δερματίτιδα. Είναι σημαντικό, λοιπόν να ξεκαθαριστούν οι οικογένειες των IL για βαθύτερη κατανόηση των υποθέσεων μηχανισμού της ατοπικής δερματίτιδας.

### Οικογένειες IL

Συνολικά υπάρχουν 4 βασικές οικογένειες και μια επιπλέον κατηγορία IL που δεν μπορούν να ταξινομηθούν σε κάποια από αυτές, ή τις υπο-οικογένειές τους. Η ταξινόμηση σε οικογένειες βασίζεται σε κοινά δομικά μοτίβα που εμφανίζονται μεταξύ των IL.<sup>42</sup>

#### i. *Όμοιες της IL-1 (IL1-like)*

**Κοινό χαρακτηριστικό:** Μια πτυχή που αποτελείται από πολλά β-πτυχωτά φύλλα, γνωστή ως β-τριφυλλοειδές (β-trefoil)<sup>42</sup>

**Περιλαμβανόμενες IL:** IL-1α, IL-1β, IL-1RN, IL-1F5, IL-1F6, IL-1F7, IL-1F8, IL-1F9, IL-1F10, IL-18, IL-33<sup>42</sup>

#### ii. *Κλάσης I (Class I)*

**Κοινό χαρακτηριστικό:** Μια πτυχή αποτελούμενη από τέσσερις σφιχτά πακεταρισμένες α-έλικες με παράλληλο προσανατολισμό ανά ζεύγη, και αντιπαράλληλο μεταξύ τους (πάνω-πάνω & κάτω-κάτω). Η δομή αυτή είναι γνωστή και ως “δέσμη τεσσάρων ελίκων” (four-helix bundle).<sup>42</sup>

Η κλάση I βάσει του μεγέθους της αλυσίδας των ελίκων πυρήνα των κυτοκινών που περιλαμβάνει διακρίνεται σε δύο υποκατηγορίες, μικρής και μακράς αλυσίδας (short-, long-chain)

#### **Περιλαμβανόμενες IL:**

##### a. Μικρής αλυσίδας

**γ-αλυσίδας (γ-chain):** IL-2, IL-4, IL-7, IL-9, IL-15, IL-21

**Όμοιες της IL-4 (IL4-like):** IL-3, IL-4, IL-5, IL-13

##### b. Μακράς αλυσίδας

**Όμοιες των IL-6/IL-12 (IL6/IL12-like):** IL-6, IL-11, IL-12α, IL-23α, IL-27α, IL-31

iii. *Κλάσης II (Class II)*

**Κοινό χαρακτηριστικό:** Όμοια με την κλάση I διαθέτουν μια χαρακτηριστική δομή “δέσμης ελίκων”, μόνο που αντί για 4 έλικες αποτελούνται από 6 ή 7.

**Περιλαμβανόμενες IL:**

**Όμοιες της IL-10 (IL10-like):** IL-10, IL-19, IL-20, IL-22, IL-24, IL-26

**Όμοιες της IL-28 (IL28-like):** IL-28α, IL-28β, IL-29

iv. *Όμοιες της IL-17 (IL17-like)*

**Κοινό χαρακτηριστικό:** Περιέχουν δομές κυστεϊνικών κόμβων (cysteine-knot structures)

**Περιλαμβανόμενες IL:** IL-17α, IL-17β, IL-17C, IL-17D, IL-25 (ή IL-17E), IL-17F

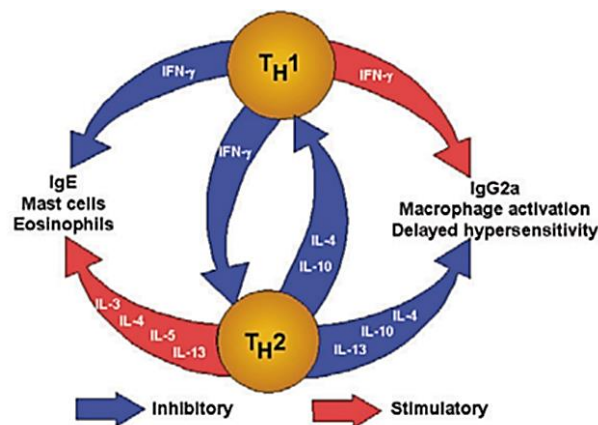
Οι **μη ταξινομημένες IL** είναι οι: IL-8, IL-14 (ή TXLNA), IL-16, IL-32, IL-34.<sup>42</sup>

### 1.2.2.1Γ Η υπόθεση Th1/Th2

Το 1986 οι Mosmann και Coffman διατύπωσαν μια υπόθεση διάκρισης των T βοηθητικών κυττάρων σε δύο ομάδες Th1 και Th2. Η βασική ιδέα ήταν πως κάθε μια από τις Th1, Th2 εκκρίνει διαφορετικά σύνολα κυτοκινών. Αντίστοιχα κάθε μια έχει την ικανότητα να ρυθμίζει και να διεγείρει μια σειρά αντιπαθογονικών αντιδράσεων, που παράλληλα ενισχύουν την παραγωγή περισσότερων Th κυττάρων του ίδιου είδους. Ταυτόχρονα με την ενίσχυση της παραγωγής και συνέχισης των ενεργειών του κυρίαρχου είδους Th, η παραγωγή του άλλου είδους Th καταστέλλεται. Ιδανικά, η διαφοροποίηση σε Th1/Th2 θα πρέπει να βρίσκεται σε μια ισορροπία βασιζόμενη στις ανοσολογικές ανάγκες, χωρίς κάποια καταχρηστική υπερίσχυση κάποιας από τις δυο κατευθύνσεις.<sup>45</sup>

Τα Th1 χαρακτηρίζονταν από την έκκριση IFN-γ (κυρίως), IL-2 και IL-12, ενώ τα Th2 από τις IL-4 (κυρίως) και IL-5. Η παρεμπόδιση παραγωγής της αντίθετης ανοσολογικής κατεύθυνσης γινόταν άμεσα, πχ. η IFN-γ κατέστρεψε την διαφοροποίηση σε Th2, αλλά και μέσω άλλων δευτερευόντων κυτοκινών που παρήγαγε η κάθε μια (Εικόνα 11).<sup>46</sup>

Άλλη μια σημαντική διαφοροποίηση των Th1/Th2 ήταν ότι η πρώτη ενεργοποιούσε τα μακροφάγα και την παραγωγή IgG2α, ενώ η δεύτερη ενεργοποιούσε μαστοκύτταρα, ηωσινόφιλα και την παραγωγή IgE.<sup>46,47</sup>



**Εικόνα 11:** Ο βασικός κανόνας αλληλεπίδρασης μεταξύ Th1/Th2 που περιεγράφηκε από τους Mosmann & Coffman. Οι IL-4 και IFN-γ δεν αναστέλλουν άμεσα τα διαφοροποιημένα κύτταρα Th1 ή Th2, αντίστοιχα. Αντίθετα, εμποδίζουν την διαφοροποίηση τα πρόδρομα Th0 σε κάποιο από τα δυο υποσύνολα. Η IL-13 δεν ήταν γνωστή ακόμα στην πρώτη διατύπωση της υπόθεσης<sup>47</sup>

Η υπόθεση αυτή είχε καθοριστική επίδραση στην ανοσολογία, όχι τόσο για τον ορισμό των Th1 και Th2, αλλά για την εισαγωγή της έννοιας της ύπαρξης δυο αντίθετων κατευθύνσεων ανοσοαποκρίσεων. Η ιδέα αυτή έθεσε τα θεμέλια για την ανάπτυξη νέων προσεγγίσεων για την ερμηνεία του μηχανισμού ανάπτυξης νοσημάτων που συσχετίζονται με το ανοσοποιητικό.

Χαρακτηριστικά, τη δεκαετία του '90 διατυπώθηκε η "Th2 υπόθεση στην αλλεργία" (Th2 hypothesis in allergy), όπου υποστήριζε ότι η ατοπία προκαλείται από την πόλωση προς Th2 της ισορροπίας Th, λόγω γενετικών και περιβαλλοντικών παραγόντων.<sup>48</sup>

Η παρουσία υψηλών ποσοτήτων IgE στο αίμα των ατοπικών και η μεγαλύτερη παραγωγή IL-4, έδειχναν ότι τα Th2 ήταν οι αίτιοι για την πρόκληση των ατοπικών νοσημάτων.<sup>48</sup>

Η ερμηνεία της αρχικής διαταραχής της ισορροπίας των Th1/Th2 προς Th2, βασίστηκε στο ότι κατά την κύηση παρατηρείται μια υπέρσχυση προς Th2 από το μητρικό ανοσολογικό σύστημα, για την αποτροπή απόρριψης των εμβρύων. Επιπροσθέτως, η Th1/Th2 των παιδιών αυτών δεν γυρνάει σε ισορροπία όπως θα έπρεπε μετά τη γέννηση τους, καθώς λόγω της μειωμένης έκθεσης σε παθογόνους μικροοργανισμούς. Αυτή η θεωρία ενισχύθηκε και από την επιδημιολογία της ατοπίας, καθώς παρατηρήθηκαν υψηλά ποσοστά σε παιδιά μικρής ηλικίας και κυρίως σε βιομηχανοποιημένες περιοχές.<sup>41,46,48,49</sup>

Όμως η υπόθεση Th1/Th2, καθώς και οι διάφορες υποθέσεις που βασίστηκαν σε αυτή, είχαν κάποια κενά, όπως και κάποια κομμάτια που ανταποκρίνονται στην πραγματικότητα.

Βασικά ερωτήματα που εγέρθηκαν ήταν πως γίνεται η αρχική διαφοροποίηση των T κυττάρων σε Th1 ή Th2 και από τι εξαρτάται αυτή, ενώ με το πέρασμα των χρόνων ανακαλύφθηκαν επιπλέον κυτοκίνες και T λεμφοκύτταρα που δεν μπορούσαν να ακολουθήσουν την υπέρσχυση ταξινόμησης.

Σε γενικές γραμμές η υπόθεση Th1/Th2 ήταν απλοϊκή, αλλά και επαναστατική ταυτόχρονα. Έθεσε τα θεμέλια για έννοιες όπως η πόλωση και η κατηγοριοποίηση των Th, κυτοκινών και των δράσεων και αλληλεπιδράσεων τους.

#### 1.2.2.1Δ Κυτοκίνες και Th στην ανάπτυξη και εξέλιξη της Ατοπικής δερματίτιδας

Από ανοσολογική σκοπιά τόσο η εγγενής, όσο και η επίκτητη ανοσία, διαδραματίζουν καθοριστικό ρόλο στην ανάπτυξη, διατήρηση και έξαρση της ΑΔ. Από την πλευρά της εγγενούς ανοσίας τα κερατινοκύτταρα, τα αντιμικροβιακά πεπτίδια (antimicrobial peptides, AMPs) και οι υποδοχείς Toll-like (TLRs) είναι που κυρίως εμπλέκονται στην ΑΔ. Αντίστοιχα, η επίκτητη ανοσία συμμετέχει στην παθοφυσιολογία της ΑΔ μέσω των T λεμφοκυττάρων (Th1, Th2, Th17, Th22, Th9 και Treg) και των αντίστοιχων κυτοκινών τους. Η εικόνα του μηχανισμού της ΑΔ περιπλέκεται ακόμα περισσότερο από αλληλεπιδράσεις μεταξύ των κερατινοκυττάρων και των T κυττάρων.<sup>8,38,50,51</sup>

#### Εγγενής ανοσία

##### ί. Αντιμικροβιακά πεπτίδια

Καθώς η ΑΔ είναι μια δερματική νόσος τα κερατινοκύτταρα είναι το σημείο αναφοράς, σε αυτά εκδηλώνονται μια πληθώρα συμπτωμάτων, αλλά ταυτόχρονα συμμετέχουν και τα ίδια στον μηχανισμό της νόσου.<sup>50</sup>

Η κυριότερη συνεισφορά τους είναι μέσω της μη φυσιολογικής παραγωγής των AMPs, τα οποία λειτουργούν ως ενδογενή αντιβιοτικά και συμμετέχουν στην ενεργοποίηση και ρύθμιση της εγγενούς και επίκτητης ανοσίας.<sup>29</sup> Η μειωμένη ποσότητα των AMPs στο ατοπικό

δέρμα έχει μια σειρά προβληματικών συνεπειών. Αρχικά, αφήνει ευάλωτο το δέρμα σε παθογόνους μικροβιακούς αποικισμούς, π.χ. από *S. aureus*, herpes simplex virus και vaccinia virus.<sup>52</sup> Χαρακτηριστικά, πάνω από το 90% των ασθενών με ΑΔ έχουν μια μεγάλη αύξηση του αποικισμού του *S. aureus* (έως  $10^7$  CFU/cm<sup>2</sup>), ενώ η υπερίσχυση σε υγιή άτομα παρατηρείται μόλις στο 5%.<sup>53</sup>

Οι παθογόνοι μικροοργανισμοί παράγουν τοξίνες που εγείρουν Th2 ανοσοαπόκριση (αύξηση παραγωγής IL-4, IL-5, IL-13 & IL-31) που συνοδεύεται από αύξηση της δερματικής παρουσίας ηωσινοφίλων και ανοσοσφαιρινών, επιπλέον αναστολή παραγωγής AMPs<sup>38</sup>, προκαλώντας συνεπαγωγικά κνησμό, τραυματισμούς και δημιουργώντας έτσι ένα φαύλο κύκλο εκ νέου μολύνσεων και έξαρσης της ατοπίας.<sup>54,55</sup>

#### ii. Υποδοχείς Toll-like (TLRs)

Η ικανότητα του εγγενούς ανοσοποιητικού συστήματος να αναγνωρίζει την ύπαρξη μικροβίων βασίζεται σε ένα σύνολο πρωτεϊνών γνωστές ως υποδοχείς αναγνώρισης προτύπων (pattern recognition receptors, PRRs). Οι υποδοχείς TLRs ανήκουν στους PRRs<sup>55</sup>, αποτελούν διαμεμβρανικές πρωτεΐνες που αναγνωρίζουν ένα μεγάλο εύρος δομών που συσχετίζονται με παθογόνους μικροοργανισμούς (pathogen-associated molecular patterns, PAMPs) και πιθανών επικίνδυνων δομών (DAMPs).<sup>30,50</sup> Μια πιθανή μετάλλαξη στο γονίδιο έκφρασης των TLR καθιστά το ανοσοποιητικό αδύναμο έναντι στην αναγνώριση και συνεπώς και στην αντιμετώπιση παθογόνων. Χαρακτηριστικά ο TLR2 είναι ένας υποδοχέας κλειδί για την ΑΔ, καθώς αναγνωρίζει διάφορα παράγωγα του *S. aureus*. Δυο μεταλλάξεις του γονιδίου έκφρασής του έχουν αναγνωριστεί στην ΑΔ που οδηγούν στην υποέκφραση αυτού και στην χαρακτηριστική αυξημένη αποίκιση *S. aureus* στο ατοπικό δέρμα.<sup>50</sup>

#### Επίκτητη ανοσία

Η επίκτητη ανοσία λόγω της πληθώρας Τ κυττάρων και των κυτοκινών που εκκρίνονται, διαδραματίζει έναν πολύπλοκο ρόλο στην ΑΔ. Οι κυτοκίνες είναι που ενεργούν, αλλά επίσης δεν εκκρίνονται αυστηρά από μια ομάδα Τ κυττάρων. Παρακάτω αναλύεται η συνολική επίδραση των Τ λεμφοκυττάρων στην ΑΔ και έπειτα η επίδραση των εκκρινόμενων κυτοκινών.

##### 1. Τ λεμφοκύτταρα

###### ▪ Th1

Παρόλο που η υπερίσχυση των Th2 είναι η πιο συχνή αντιμετώπιση της ΑΔ, στην χρόνια ΑΔ γίνεται μια στροφή και προς Th1 φαινότυπο (Εικόνα 12).<sup>28,55,56</sup> Η έκκριση IFN-γ από τα Th1 συμβάλει στην αύξηση της φλεγμονής, επηρεάζει την διαδικασία κερατινοποίησης προκαλώντας απόπτωση των κερατινοκυττάρων και μακροπρόθεσμα συμβάλει στον ήδη εξασθενημένο δερματικό φραγμό.<sup>8,28</sup>



Μια πρόσφατη έρευνα συνέδεσε τα επίπεδα έκφρασης της IL-9 με την βαρύτητα της νόσου αξιολογούμενη βάσει του κριτηρίου SCORAD.<sup>60</sup>

- Th22

Τα Th22 και οι εκκρινόμενες κυτοκίνες του (κυρίως IL-22), είναι αυξημένες στην οξεία (acute) ΑΔ, ενώ αυξάνονται ακόμη περισσότερο στην χρόνια ΑΔ.<sup>28</sup> Ο εντοπισμός των Th22 στις περιοχές με φλεγμονώδη αλλοιώσεις και η υψηλή έκφραση της IL-22 στο δέρμα και τον ορό αίματος των ατόμων με ΑΔ, συνιστά τον κρίσιμο ρόλο των Th22 και της IL-22 με την παθοφυσιολογία της ατοπίας. Το γεγονός αυτό ενισχύεται από την θετική συσχέτιση της παρουσίας των Th22 και της βαρύτητας της ΑΔ βάσει του κριτηρίου SCORAD.<sup>37</sup>

- Treg

Σε ορισμένες μελέτες, τα Treg έχουν βρεθεί να αυξάνονται σημαντικά στην ΑΔ, όμως φαίνεται πως δεν είναι και λειτουργικά. Αν και κανονικά τα Treg ρυθμίζουν τις προφλεγμονώδη κυτοκίνες, στην ΑΔ παρατηρείται μια αμφιλεγόμενη συνεισφορά στην παθοφυσιολογία της. Αυτό μπορεί να προκαλείται από το εκκρινόμενο υπερ-αντιγόνο (Sag) του *Staphylococcus aureus* που βρίσκεται στο ατοπικό δέρμα και μάλλον είτε απενεργοποιεί τα Treg ή τα κάνει να μιμούνται την δράση των Th2.<sup>61</sup>

Μια άλλη εξήγηση για την ρευστότητα της λειτουργίας των Treg στην ΑΔ είναι ότι ενδεχομένως κατά την κυτταρική διαφοροποίηση μετατρέπονται σε Th17.<sup>37</sup> Σε γενικές γραμμές, ο ρόλος και η κατάσταση των Treg στην ΑΔ δεν είναι ξεκαθαρισμένες.

## 2. Ιντερλευκίνες

- IL-4

**Παράγεται από:** Th2<sup>62</sup>

**Οικογένεια IL:** γ-αλυσίδας (κλάση I)<sup>42</sup>

Η IL-4 αποτελεί μια πλειοτροπική κυτοκίνη που ελέγχει τις αλλεργικές αντιδράσεις και δρα προστατευτικά έναντι ελμινθών και άλλων εξωκυττάρων παρασίτων. Αποτελεί τον κύριο εκκινητή παραγωγής Th2 κυττάρων, ενώ καταστέλλει την παραγωγή Th1 κυττάρων.<sup>62</sup> Στην ΑΔ διαδραματίζει έναν πολυδιάστατο ρόλο, καθώς η υπερέκφραση της IL-4 στην επιδερμίδα αποτελεί την αρχή μιας αλλεργικής φλεγμονής η οποία εξελίσσεται στα χαρακτηριστικά κλινικά συμπτώματα της ΑΔ: κνησμός, ενδοεπιδερμικό οίδημα και αύξηση βακτηριακών λοιμώξεων.<sup>37</sup>

Η IL-4 αποτελεί τον ρυθμιστή της αλλεργικής Th2 ανοσοαπόκρισης στην ΑΔ δημιουργώντας έναν καταρράκτη αντιδράσεων που επηρεάζουν καταστροφικά τον δερματικό φραγμό. Χαρακτηριστικά, η πόλωση προς Th2 αυξάνει την IgE, προκαλώντας την έκκριση IFN-γ, η οποία διεγείρει την απόπτωση των κερατινοκυττάρων και την έκφραση της καλικρεΐνης που σπάει τους δεσμούς μεταξύ των κερατινοκυττάρων, δημιουργώντας με αυτόν τον τρόπο κενά στον δερματικό φραγμό και αυξάνοντας έτσι την TEWL. Επιπλέον, η IL-4 καταστέλλει την έκφραση του γονιδίου φιλαγρίνης που αποτελεί τον δομικό λίθο της δερματικής ακεραιότητας<sup>37</sup>, αλλά και αυτών που συμμετέχουν στην έκφραση AMPs αφήνοντας το δέρμα ευάλωτο στις βακτηριακές λοιμώξεις.<sup>28,29,37,38</sup>

- IL-5

**Παράγεται από:** Th2<sup>62</sup>

**Οικογένεια IL:** Όμοιες της IL-4 (μικρής αλυσίδας-κλάσης I)<sup>42</sup>



Η IL-5 διαδραματίζει έναν κρίσιμο ρόλο στην επαγωγή του πολλαπλασιασμού, της ενεργοποίησης και διαφοροποίησης των ηωσινόφιλων.<sup>62</sup> Η συνεισφορά της στην παθοφυσιολογία της ΑΔ δεν είναι ακόμη αποσαφηνισμένη. Σίγουρα η υψηλή παρουσία ηωσινόφιλων σε ατοπικούς ασθενείς δείχνει κάποια ανάμιξη της IL-5, αλλά δεν δείχνει την βαρύτητα συμμετοχής τους στην νόσο.<sup>37,54</sup> Το ενδιαφέρον είναι ότι αν και η IL-4 μειώνεται σε χρόνιες εκδηλώσεις ΑΔ, η IL-5 και IL-13 διατηρούν υψηλά επίπεδα.<sup>63</sup>

- IL-6

**Παράγεται από:** ενδοθηλιακά κύτταρα, ινοβλάστες, μακροφάγα<sup>62</sup>

**Οικογένεια IL:** Όμοιες των IL6/12 (Κλάση I)<sup>42</sup>

Η IL-6 αποτελεί μια προφλεγμονώδη κυτοκίνη<sup>64</sup> που εμπλέκεται στην διαφοροποίηση των Th0 σε Th17<sup>54</sup> και Th22.<sup>37</sup> Συσχετίζεται με αυτοάνοσα νοσήματα και χρόνια φλεγμονή.<sup>62</sup> Στους ασθενείς με ΑΔ η IL-6 παρουσιάζει υψηλά επίπεδα τόσο στο δέρμα, όσο και αίμα, όμως ο ρόλος της στην παθογένεση της νόσου είναι ακόμα ασαφής.<sup>65</sup>

- IL-9

**Παράγεται από:** Th9 (κυρίως) και Th2<sup>62</sup>

**Οικογένεια IL:** γ-αλυσίδας (Κλάση I)<sup>42</sup>

Η IL-9 λειτουργεί ως ρυθμιστής των αιμοποιητικών κυττάρων, ενώ στην ΑΔ δεν έχει ξεκαθαριστεί ο ρόλος της. Μια πιθανή συμβολή της στο ατοπικό δέρμα είναι στην αίσθηση κνησμού, καθώς η IL-9 ενεργοποιεί και προσελκύει μαστοκύτταρα.<sup>29</sup> Οι Ma et al.<sup>60</sup>, βρήκαν πως σε κερατινοκύτταρα η IL-9, διέγερσε την έκκριση αγγειακού ενδοθηλιακού αυξητικού παράγοντα (VEGF), που έχει συσχετιστεί με επιδερμικές αλλαγές που παρατηρούνται στην ΑΔ. Επιπλέον, βρήκαν αναλογική σχέση μεταξύ της ποσότητας της IL-9 και της βαρύτητας της ΑΔ αξιολογούμενα με τη μέθοδο SCORAD.

- IL-10

**Παράγεται από:** Tr1 (κυρίως) και Th9<sup>29,32</sup>

**Οικογένεια IL:** Όμοιες της IL-10 (Κλάση II)<sup>42</sup>

Η IL-10 είναι μια αντιφλεγμονώδης κυτοκίνη που συμμετέχει στην ρύθμιση των ανοσολογικών αποκρίσεων με στόχο τον περιορισμό βλαβών που προκαλούνται κατά την διάρκεια της φλεγμονής.<sup>29,54</sup> Αρχικά ανακαλύφθηκε ως ένας ανασταλτικός παράγοντας παραγωγής Th1 μέσω της ενεργοποίησης Treg κυττάρων.<sup>66</sup>

Στην ΑΔ ο ρόλος της IL-10 είναι αντιφατικός.<sup>29,54</sup> Τα επίπεδα της IL-10 στον ορό αίματος έχουν συσχετιστεί αντίστροφα με την βαρύτητα της νόσου, όμως άλλες μελέτες έχουν δείξει αυξημένα επίπεδα IL-10 σε περιοχές δέρματος που έχουν αλλοιώσεις.

Επιπλέον πολυμορφισμοί στο γονίδιο έκφρασης της IL-10 θεωρείται γενετικός δείκτης ΑΔ στην παιδική ηλικία.<sup>29</sup> Αντιθέτως, σε in vitro μελέτες δέρματος ασθενών με ΑΔ έχει παρατηρηθεί ότι η IL-10 επηρεάζει αρνητικά την παραγωγή AMPs.<sup>54</sup>

- IL-13

**Παράγεται από:** Th2<sup>67</sup>

**Οικογένεια IL:** όμοιες της IL-4 (μικρής αλυσίδας-Κλάση I)<sup>42</sup>

Η IL-13 ενεργοποιεί τα ίδια μονοπάτια με την IL-4, προάγει την παραγωγή IgE, ενεργοποιεί και ευνοεί την επιβίωση μαστοκυττάρων και ηωσινόφιλων.<sup>62</sup> Σημειακοί πολυμορφισμοί (SNPs) στους εκκινητές των IL-4 και IL-13 μεταβάλλουν την έκφραση κυτοκινών που συνδέονται σημαντικά με την εμφάνιση ΑΔ.<sup>54</sup>

Χαρακτηριστικά, η έκφραση της IL-13 είναι ανεβασμένη τόσο στον ορό αίματος, όσο και σε αλλοιωμένες δερματικές περιοχές ατόμων με ΑΔ. Ειδικά σε υποξείες και χρόνιες αλλοιώσεις παρατηρείται μια ακόμη πιο αυξημένη παρουσία. Επιπλέον, η IL-13 συνδέεται με την μειωμένη έκφραση των γονιδίων που ρυθμίζουν την διαφοροποίηση των κερατινοκυττάρων επάγοντας με αυτόν τον τρόπο την απολέπιση του δέρματος και αύξηση της TEWL. Τέλος η ιντερλευκίνη αυτή φαίνεται να συνεισφέρει στην ίνωση του ατοπικού δέρματος.<sup>37</sup>

- IL-17

**Παράγεται από:** Th17<sup>32</sup>

**Οικογένεια IL:** Όμοιες της IL-17<sup>42</sup>

Η IL-17 είναι μια προφλεγμονώδη κυτοκίνη και διαδραματίζει κεντρικό ρόλο στην άμυνα κατά παθογόνων, όπως επίσης και στην παθογένεση αυτοάνοσων νοσημάτων.<sup>62</sup> Στα κερατινοκύτταρα είναι ο κύριος ρυθμιστής παραγωγής των αντιμικροβιακών πεπτιδίων (AMPs).<sup>29</sup>

Στην ΑΔ παίζει καθοριστικό ρόλο καθώς εκκρίνεται σε υψηλές ποσότητες στην οξεία φάση της νόσου, ενώ στην χρόνια φάση μειώνεται δραματικά. Η υπερέκκριση της IL-17 τροποποιεί τα κερατινοκύτταρα και τα κάνει να παράγουν φλεγμονώδεις κυτοκίνες, ενώ καταστέλλουν τα γονίδια φιλαγρίνης και άλλων που συμμετέχουν στον δερματικό φραγμό. Αντίστοιχα στη χρόνια φάση της ΑΔ, η δραστική μείωση της IL-17 είναι που προκαλεί την μειωμένη παραγωγή αντιμικροβιακών πεπτιδίων, επιτρέπει την αλλαγή του δερματικού μικροβιώματος και αυξάνει τον κίνδυνο οξείων λοιμώξεων του δέρματος.<sup>28,29,56,68</sup>

- IL-21

**Παράγεται από:** Th17 (κυρίως), Tfh και Th2<sup>32</sup>

**Οικογένεια IL:** γ-αλυσίδας (Κλάση I)<sup>42</sup>

Η IL-21 είναι μια προφλεγμονώδης κυτοκίνη, με ισχυρή ανοσορυθμιστική δράση στην εγγενή και επίκτητη ανοσία. Προάγει την διαφοροποίηση των Th17 με αυτοκρινή τρόπο και μπορεί να αναστείλει την παραγωγή IgE.<sup>29,63,69</sup> Η μείωση των επιπέδων της IL-21 συσχετίζεται με την ανάπτυξη αλλεργικών και ανοσολογικών παθήσεων. Παρόλα αυτά στην ΑΔ παρατηρείται να αυξάνεται και ειδικά σε οξείες εξάρσεις της νόσου.<sup>70-72</sup>

- IL-22

**Παράγεται από:** Th22<sup>39</sup>

**Οικογένεια IL:** Όμοιες της IL-10 (Κλάση II)<sup>42</sup>

Η IL-22 εκφράζεται σε υψηλά επίπεδα στην ΑΔ και φαίνεται να συνδέεται με την βαρύτητα της νόσου.<sup>28</sup> Αν και προάγει την παραγωγή αντιμικροβιακών πεπτιδίων<sup>50</sup>, δεν μπορεί να αντισταθμίσει την κατασταλτική δράση των IL-17 και των κυτοκινών των Th2.<sup>56</sup> Επιπλέον, είναι υπεύθυνη για την ακάνθωση και επιδερμική υπερπλασία που παρατηρείται στην ΑΔ, και κυρίως στην περίπτωση της χρόνιας. Τέλος, στα κερατινοκύτταρα συμμετέχει στην καταστολή έκφρασης του γονιδίου φιλαγρίνης συμβάλλοντας στην περαιτέρω αλλοίωση του δερματικού φραγμού.<sup>38,56</sup>

- [IL-25 \(ή IL-17F\)](#)

**Παράγεται από:** Th17 (κυρίως), ηωσινόφιλα, δενδριτικά κύτταρα και βασεόφιλα<sup>62</sup>

**Οικογένεια IL:** Όμοιες της IL-17<sup>42</sup>

Παρόλο που παράγεται από Th17, η IL-25 διαδραματίζει έναν καθοριστικό ρόλο σε Th2-μεσολαβούμενες παθήσεις.<sup>29</sup> Στο ατοπικό δέρμα παρατηρείται υπερέκφραση της IL-25 και του υποδοχέα της (IL-25R). Η αυξημένη παρουσία της IL-25 ενισχύει τις Th2 αποκρίσεις και την παραγωγή περισσότερων Th2 κυττάρων.<sup>62,63</sup> Επιπλέον φαίνεται να υπάρχει συσχέτιση με την IL-25 και την μείωση της έκφρασης του γονιδίου της φιλαγρίνης στα κερατινοκύτταρα, έχοντας ως αποτέλεσμα την αλλοίωση του δερματικού φραγμού.<sup>54</sup>

- [IL-31](#)

**Παράγεται από:** Th2 (κυρίως), Th22 και πιθανόν από κάποια καινούργια μη αναγνωρισμένη T υποκατηγορία που εκκρίνει μόνο IL-31<sup>56</sup>

**Οικογένεια IL:** Όμοιες των IL6/12 (Κλάση I)<sup>42</sup>

Η IL-31 δρα κυρίως στα κερατινοκύτταρα, επιθηλιακά κύτταρα, ραχιαία ρίζα γαγγλίου, ηωσινόφιλα, βασεόφιλα και μονοκύτταρα. Εντοπίζεται αυξημένη σε βιοψίες ατοπικών ασθενών, ενώ συσχετίζεται και με άλλες κνησμώδεις δερματικές νόσους, όπως το μη-ατοπικό έκζεμα, την δερματίτιδα εξ' επαφής και την οζώδη κνήφη.<sup>62,73</sup>

Πειράματα σε ποντίκια συσχέτισαν την υπερέκφραση της IL-31 με δερματικές βλάβες που έμοιαζαν με ΑΔ και με έντονο κνησμό. Όμως, οι βιοψίες ανθρώπινου ιστού εκτός από την αύξηση της IL-31 δεν έχει επιτευχθεί ξεκάθαρη συσχέτιση με κνησμό.<sup>29,56,62,74</sup>

Στη περίπτωση της ΑΔ περιοχές με βλάβες<sup>29</sup> και δέρμα με βαριά χρόνια ατοπία παρουσίαζαν υψηλή παρουσία IL-31, υποδεικνύοντας κάποια συσχέτιση με την παθογένεση της νόσου, χωρίς ακόμα όμως επιβεβαιωθεί.<sup>56</sup>

- [IL-33](#)

**Παράγεται από:** μια πληθώρα κυττάρων, μεταξύ αυτών τα κερατινοκύτταρα, μαστοκύτταρα, μακροφάγα, δενδριτικά, και επιθηλιακά κύτταρα<sup>75,76</sup>

**Οικογένεια IL:** Όμοιες της IL-1<sup>42</sup>

Αν και ανήκει στην οικογένεια της IL-1 που συνήθως είναι προφλεγμονώδης κυτοκίνες, η IL-33 παρουσιάζει έναν διττό χαρακτήρα με αντιφλεγμονώδη και προφλεγμονώδη δράση.<sup>77,78</sup>

Στην ατοπική δερματίτιδα συναντάται σε αυξημένες ποσότητες και διαδραματίζει έναν καθοριστικό ρόλο στην ενίσχυση της πόλωσης προς Th2.<sup>29,75</sup> Για τον λόγο αυτό υποστηρίχθηκε ότι η υπερπαραγωγή της IL-33 αντιπροσωπεύει ένα από τους εναρκτήριους μηχανισμούς της ΑΔ.<sup>64,79</sup>

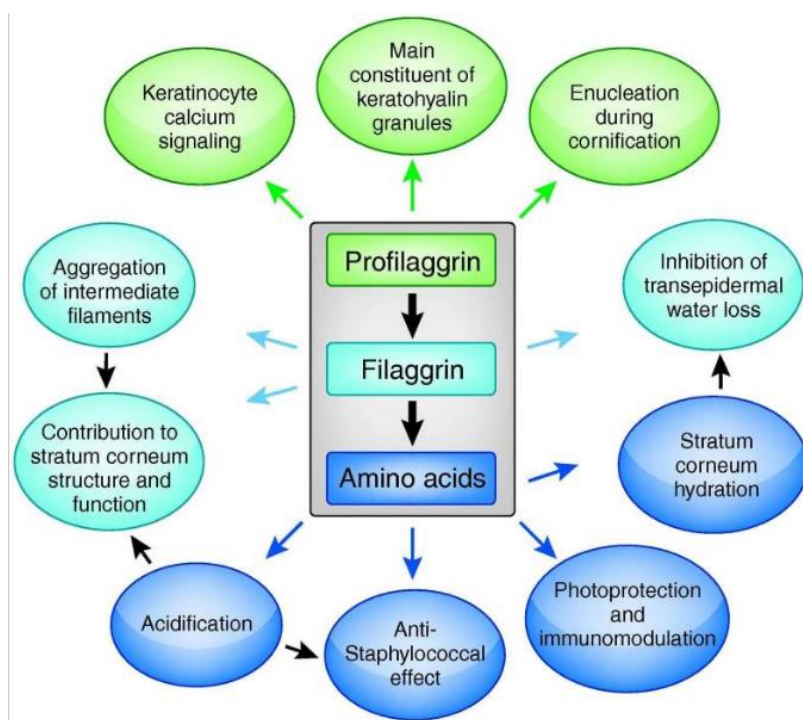
#### 1.2.2.2 Δερματικός φραγμός

Το ατοπικό δέρμα χαρακτηρίζεται από έναν αλλοιωμένο, μη λειτουργικό δερματικό φραγμό που βασίζεται κυρίως στην απορρύθμιση της παραγωγής και λειτουργικότητας των δομικών στοιχείων του φραγμού (κυρίως την φιλαγρίνη & τα λιπίδια). Πιο αναλυτικά:

#### Φιλαγρίνη

Όπως έχει αναφερθεί παραπάνω η φιλαγρίνη είναι μια από τις βασικές δομικές πρωτεΐνες της κεράτινης στιβάδας. Παράγεται από την πρόδρομη πρωτεΐνη προφιλαγρίνη, η οποία

κατά την μετάβαση των κερατινοκυττάρων από την κοκκιώδη στην κεράτινη στιβάδα, χάνει τα φωσφολίπια της και αποικοδομείται σε πολλά μονομερή φιλαγρίνης. Τελικά και η ίδια στην επιφάνεια του δέρματος αποδομείται σε αμινοξέα που συνθέτουν τους φυσικούς παράγοντες ενυδάτωσης της επιδερμίδας (natural moisturizing factor, NMF) τα οποία συνεισφέρουν στην ρύθμιση του όξινου pH της επιδερμίδας και τις προστασίες έναντι του *S. aureus* (Εικόνα 13).<sup>80,81</sup> Επιπλέον, η φιλαγρίνη συνδέεται με την κερατίνη και μαζί με τις υπόλοιπες δομικές πρωτεΐνες συνθέτουν την συνεκτικότητα της δομής μεταξύ των κερατινοκυττάρων.<sup>28</sup>

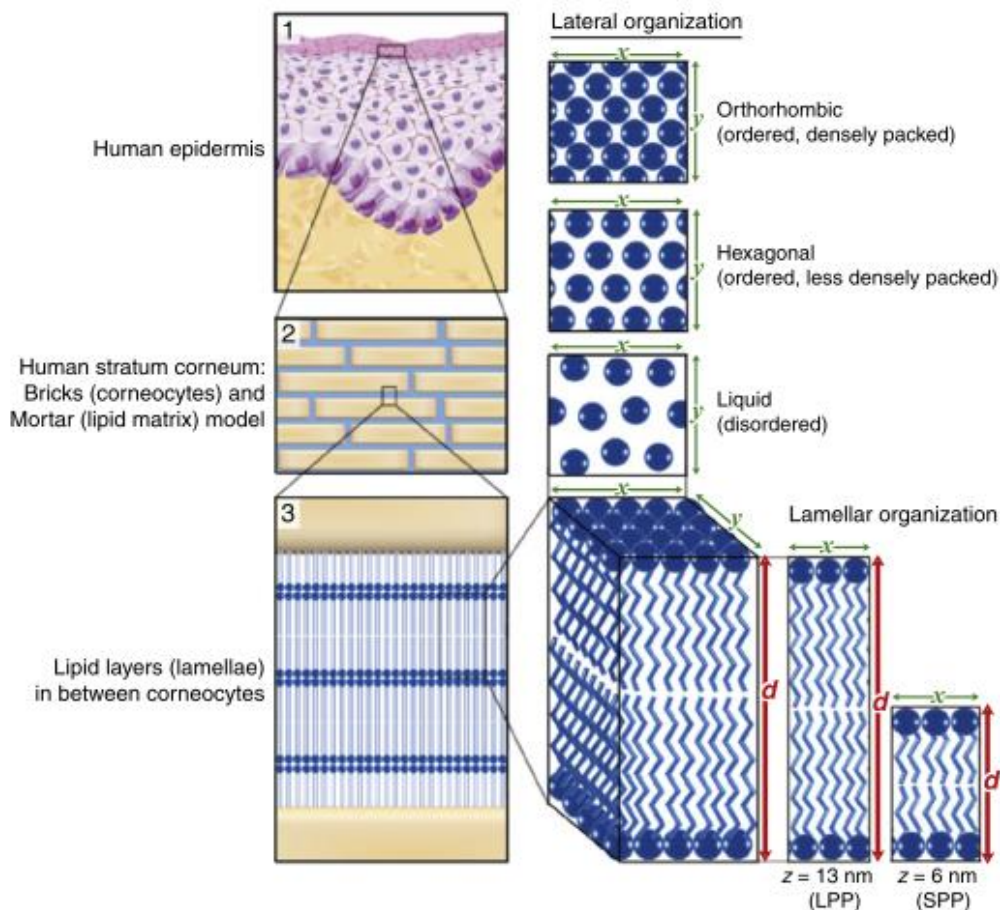


Εικόνα 13: Η παραγωγή και αποδόμηση της φιλαγρίνης. Τα στάδια και οι λειτουργίες του κάθε δομικού στοιχείου<sup>80</sup>

Στην ΑΔ η φιλαγρίνη παράγεται σε μικρότερες ποσότητες λόγω κάποιας γενετικής μετάλλαξης ή/και ανοσολογικής αλλοίωσης, η οποία έχει συσχετιστεί με την αύξηση της άδηλης απώλειας νερού<sup>17,28</sup> και τον αποικισμό παθογόνων μικροοργανισμών.<sup>29</sup>

### Λιπίδια

Τα λιπίδια στην κεράτινη στιβάδα (SC) οργανώνονται σε στιβάδες (Εικόνα 14) μεταξύ των νεκρών κερατινοκυττάρων δημιουργώντας έτσι έναν υδρόφοβο χώρο που ρυθμίζει την άδηλη απώλεια νερού (TEWL) και την εισροή παθογόνων και αλλεργιογόνων.<sup>82</sup> Η σύσταση των λιπιδικών στιβάδων αποτελείται κυρίως από κεραμίδια (CERs), ελεύθερα λιπαρά οξέα (FFAs) και χολεστερόλη (CHOL).<sup>83</sup> Η δομή των λιπιδικών στιβάδων αποτελείται από δύο φάσεις, την φάση μικρής περιοδικότητας ~6nm (short periodicity phase, SPP) και την φάση μακράς περιοδικότητας ~13nm (long periodicity phase, LPP). Κάποια αλλαγή στην οργάνωση ή την σύσταση των λιπιδικών στιβάδων προκαλεί αλλοιώσεις στον επιδερμικό φραγμό.<sup>84</sup>



Εικόνα 14: Η λιπιδική οργάνωση στην ανθρώπινη κεράτινη στιβάδα<sup>83</sup>

Στο ατοπικό δέρμα το συνολικό επίπεδο των λιπιδίων στην SC παρουσιάζει μείωση στις περιοχές του δέρματος με αλλοιώσεις, αλλά και στις περιοχές που φαινομενικά δεν παρουσιάζουν κάποια βλάβη.<sup>28,83</sup> Επιπλέον η σύσταση και η οργάνωση των λιπιδίων είναι διαφορετική στην ΑΔ, και κυρίως στα είδη κεραμιδίων.<sup>84,85</sup> Χαρακτηριστικά το κεραμίδιο 1 είναι το πιο σημαντικά μειωμένο στο ατοπικό δέρμα ανεξαρτήτου αλλοίωσης, ενώ τα κεραμίδια 2,3 και 4 είναι ελαττωμένα στις αλλοιωμένες δερματικές περιοχές.<sup>7</sup>

Το αποτέλεσμα τις λιπιδικής ανισορροπίας είναι η ξηρότητα, η αύξηση του pH και η διευκόλυνση της εισροής παθογόνων, τοξινών και αλλεργιογόνων που ενισχύουν την υπερέκφραση φλεγμονωδών κυτοκινών.<sup>12,28</sup>

#### 1.2.2.3 Γενετικό υπόβαθρο

Πολύ συνοπτικά, οι μελέτες συσχέτισης σε επίπεδο γονιδιώματος και σημειακών πολυμορφισμών (SNPs) έχουν εντοπίσει πολλές πιθανές μεταλλάξεις που συσχετίζονται με την ΑΔ. Όπως είναι λογικό, μεταλλάξεις που επηρεάζουν τον επιδερμικό φραγμό, την διαφοροποίηση των κερατινοκυττάρων, την εγγενή και επίκτητη ανοσία αυξάνουν τον κίνδυνο εμφάνισης ΑΔ.<sup>28,86</sup>

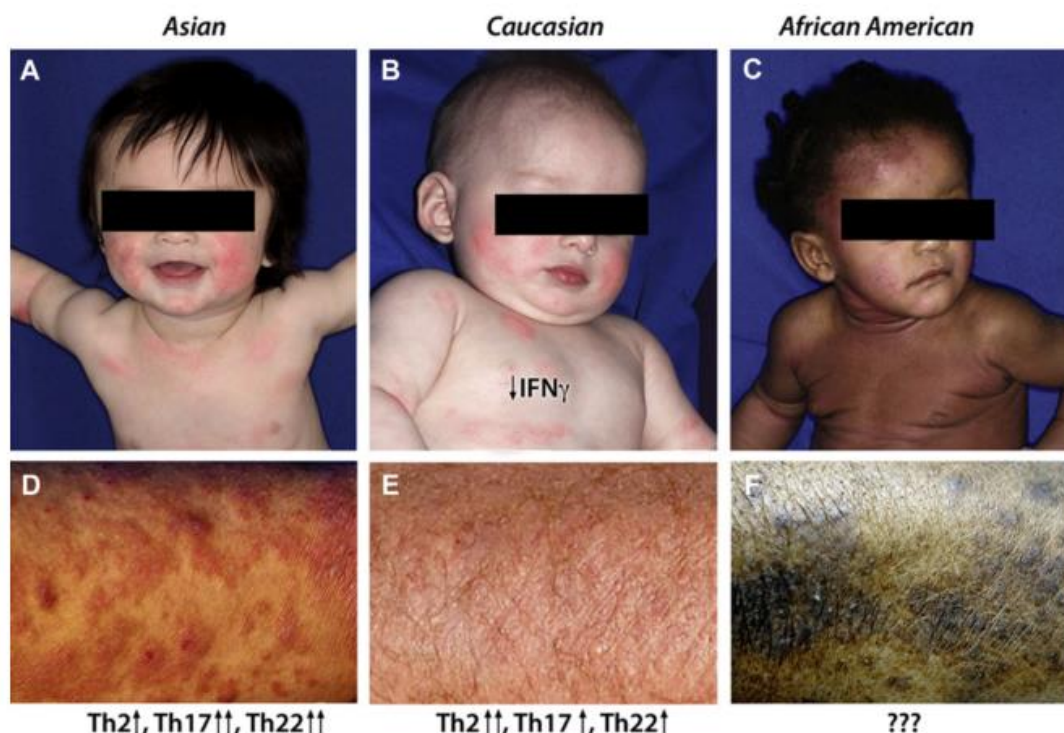
Οι μεταλλάξεις της FLG είναι οι πιο συχνά αναφερόμενες για την ΑΔ, παρόλα αυτά μόλις το 15-50% των ασθενών έχουν κάποια τέτοια μετάλλαξη, ενώ το 40% των ατόμων που φέρουν κάποια μετάλλαξη δεν θα αναπτύξουν ποτέ ΑΔ.<sup>28</sup> Οι δεύτερες σε σειρά σημαντικότητας κινδύνου συσχετιζόμενες μεταλλάξεις με την ΑΔ είναι τα γονίδια που συσχετίζονται με την

σηματοδότηση του Th2 μονοπατιού (Πίνακας 3).<sup>86</sup> Αναλυτικότερη αναφορά στα γονίδια και τους γενετικούς τόπους (loci) που συσχετίζονται με την ΑΔ προτείνονται τα: <sup>86,87</sup>

Πίνακας 3: Τα γονίδια του Th2 ανοσολογικού μονοπατιού που συσχετίζονται με την ΑΔ<sup>87</sup>

Γονίδιο ή γενετικός τόπος	Ο ρόλος της μετάλλαξης τους
IL-4, IL-5, IL-13, IL-4RA, IL-5RA, IL-13RA	Έχουν συσχετιστεί με αύξηση της πιθανότητας εμφάνισης ΑΔ σε διάφορους πληθυσμούς
STAT6	Ένας μεταγραφικός παράγοντας-κλειδί για την παραγωγή IL-4 και IL-13, έχει συσχετιστεί με αλλεργικές νόσους
IL-31	Συσχετίζεται με πολύ έντονο κνησμό και με τον τύπο ΑΔ που δεν συνοδεύεται από την παρουσία IgE (ενδογενής ΑΔ)
FCERIA	Έχει συσχετιστεί με την ΑΔ και/ή με υψηλή ποσότητα IgE στον ορό του αίματος

Κάτι που παρουσιάζει ιδιαίτερο ενδιαφέρον είναι οι διαφοροποιήσεις της ΑΔ αναλόγως την φυλή. Οι Ασιατικής καταγωγής ασθενείς παρουσιάζουν μια ιστοπαθολογική εικόνα που προσομοιάζει αυτή της ψωρίασης<sup>59</sup>, επιπλέον έχουν υψηλά επίπεδα IgE και κυτοκινών που συσχετίζονται κυρίως με τα Th22, Th17 και δευτερευόντως με τα Th2. Στον Καυκάσιο πληθυσμό ο άξονας που ενεργοποιείται κυρίως είναι Th2/Th22 και δευτερευόντως ο Th17, ενώ στον Αφροαμερικάνικο δεν έχει διερευνηθεί ακόμα (Εικόνα 15). Ακόμη, τόσο όσο οι Καυκάσιοι όσο και οι Αφροαμερικάνοι ασθενείς με ΑΔ παρουσιάζουν χαμηλή παραγωγή FLG, μόνο στους Καυκάσιους έχουν βρεθεί μεταλλάξεις στο γονίδιο της.<sup>88</sup>



Εικόνα 15: Η ΑΔ ανάλογα την φυλή. (A,D) Στον Ασιατικό πληθυσμό παρατηρούνται αλλοιώσεις πιο πλακώδεις και ερυθματώδεις, (B,E) Στον Καυκάσιο οι αλλοιώσεις δεν είναι τόσο καθαρά καθορισμένα τα όρια τους και λιγότερο ερυθματώδεις, επιπλέον τα βρέφη εμφανίζουν χαμηλά επίπεδα IFN-γ σε σχέση με τους ενήλικες, (D,F) Στον Αφροαμερικάνικο οι αλλοιώσεις παρουσιάζουν έντονη λειχηνοποίηση<sup>89</sup>

### 1.2.3 Υποθέσεις μηχανισμού παθογένεσης

Έχοντας δει ξεχωριστά τα στοιχεία που συνθέτουν την παθοφυσιολογία της ΑΔ η ερώτηση που εγείρεται είναι από πού γίνεται η έναρξη του φαύλου κύκλου, ποιο ή ποια είναι τα στοιχεία που ευθύνονται για δημιουργία αυτού του ντόμινο απορρυθμίσεων; Η απάντηση ακόμη δεν έχει δοθεί, όμως έχουν διατυπωθεί διάφορες υποθέσεις που προσπαθούν να ορίσουν το σημείο έναρξης της ΑΔ.

#### 1.2.3.1 Η υπόθεση της υγιεινής

Το 1989 ο επιδημιολόγος David Strachan αναλύοντας την επιδημιολογία της αλλεργικής ρινίτιδας σε ένα δείγμα 17.000 παιδιών από την Βρετανία, συσχέτισε αντιστρόφως τη νόσο υπό εξέταση με την ύπαρξη μεγαλύτερων αδερφών στην οικογένεια. Ομοίως, η ίδια συσχέτιση προέκυψε και για την περίπτωση εμφάνισης παιδικού εκζέματος, ή η γνωστή πλέον ορισμένη ως ατοπική δερματίτιδα. Το συμπέρασμα που έβγαλε από το σύνολο των συσχετίσεων που μελέτησε ήταν η πρόταση της υπόθεσης της υγιεινής. Ουσιαστικά θεώρησε ότι οι αλλαγές που επέφερε η βιομηχανοποίηση, και κυρίως στις συνήθειες υγιεινής, οδηγούν σε ένα παραποιημένο ανοσοποιητικό με τάση με αλλεργίες. Τα μεγαλύτερα αδέρφια όντας φορείς πολλών παθογόνων ενίσχυαν την άμυνα των μικρότερων αδελφών τους κατά των αλλεργιών.<sup>90</sup>

Τρία χρόνια πριν από τον Strachan, είχαν τεθεί οι πρώτες βάσεις για την ερμηνεία της λειτουργίας του ανοσοποιητικού συστήματος από τους Mosmann και Coffman. Όπου ουσιαστικά έθεσαν την ιδέα ότι το ανοσοποιητικό έχει διακριτές αντιπαθογονικές αντιδράσεις, που η μια ρυθμίζει την άλλη. Η ισορροπία αυτή αναφερόταν ως Th1/Th2 και η υπερίσχυση της Th2 συνδεόταν με αλλεργικές αντιδράσεις.<sup>45</sup>

Η θεωρία της υγιεινής απέκτησε ορισμένη αποδοχή καθώς ανοσολογικά φαινότα να έχει μια λογική βάση<sup>15,91</sup>, ενώ τα επιδημιολογικά δεδομένα έδειχναν ότι μέσα σε 3 δεκαετίες η συχνότητα εμφάνισης ΑΔ είχε πολλαπλασιαστεί κατά 2-3 φορές σε βιομηχανοποιημένες περιοχές και σε οικογένειες με υψηλότερη κοινωνικο-οικονομική κατάσταση.<sup>14</sup> Η καθολική αποδοχή θα είχε επέλθει εάν δεν προκύπταν κάποια παράδοξα.

Χαρακτηριστικά, η προσβολή από ενδοπάρασιτα προκαλούν έντονη Th2 αντίδραση του ανοσοποιητικού, άρα θα έπρεπε να ενισχύουν την εμφάνιση ατοπικής δερματίτιδας. Παραδόξως όμως παρατηρείται μια αντίστροφη συσχέτιση με ορισμένα ενδοπάρασιτα (πχ. το αγκυλόστομα, *Ascaris lumbricoides*, *Schistosoma haematobium*) και της ΑΔ.<sup>92,93</sup> Μάλιστα, οι αντιπαρασιτικές θεραπείες έχουν συνδεθεί με αύξηση στην πιθανότητα εμφάνισης ΑΔ.<sup>91,92</sup>

Έπειτα, σε μελέτες με παιδιά που μεγάλωσαν σε αγροτικό περιβάλλον δεν βρέθηκε κάποια συσχέτιση με την ΑΔ.<sup>92,93</sup> Ακόμη, μοντέλα ΑΔ σε ποντίκια που αναπτύσσουν έκζεμα αυθόρμητα (NC/Nga ποντίκια), όταν βρίσκονταν σε άσηπτο περιβάλλον δεν εκδήλωναν αλλοιώσεις όμοιες με ΑΔ, ενώ σε κανονικές συνθήκες εκδήλωναν.<sup>94</sup>

Τέλος, η υπόθεση της υγιεινής δημιούργησε μια εσφαλμένη αντίληψη στη κοινωνία που είχε αρνητική επίδραση στην δημόσια υγεία, καθώς άφησε να εννοηθεί ότι οι σύγχρονες συνήθειες προσωπικής υγιεινής, ακόμα και τα εμβόλια, ίσως ήταν εσφαλμένες και προκαλούσαν περισσότερο κακό από ότι καλό. Για το λόγο αυτό έχει προταθεί η επανεξέταση του όρου ως ο “μηχανισμός των παλαιών φίλων” (old friends mechanism, OF) από τον Rook το 2003. Ο επαναπροσδιορισμός αυτός δεν περιορίστηκε μόνο στην ονομασία αλλά και στη

βάση της θεωρίας, όπου πρότεινε ότι δεν είναι οι παιδικές αρρώστιες που διαμορφώνουν την άμυνα κατά των αλλεργικών νόσων και της ΑΔ, αλλά τα μικρόβια που ήδη είναι παρόντα από την εποχή που άνθρωπος ήταν ακόμα συλλέκτης. Έτσι οι “παλαιοί φίλοι” είναι μικροοργανισμοί όπως το αγκυλόστομα ή το *Helicobacter pylori*, που θα επέμεναν στις ομάδες των πρωτόγονων ανθρώπων και θα ρυθμιζονταν από τον ίδιο τον οργανισμό δημιουργώντας έτσι τον ανοσολογικό μηχανισμό. Ενδεχομένως το επόμενο βήμα για την υπόθεση υγιεινής είναι η παραδοχή ότι το σημαντικό σημείο είναι η ποικιλία στην μικροβιακή έκθεση σε αβλαβή βακτήρια κατά την βρεφική ηλικία, και όχι η έκθεση σε αρρώστιες όπως η ιλαρά.<sup>95</sup>

#### 1.2.3.2 Ενδογενής (intrinsic)/εξωγενής (extrinsic) ΑΔ

Το 1947 ο Rackerman όρισε δυο διακριτούς τύπους άσθματος, τον ενδογενή και τον εξωγενή. Βάσει του ορισμού αυτού, στα τέλη της δεκαετίας του '80 δημιουργήθηκε η αντίστοιχη ορολογία και για την ΑΔ. Σε αναλογία με το άσθμα, η ΑΔ διακρίθηκε σε: εξωγενή (ή αλλεργική ή κλασσική) ΑΔ και ενδογενή (ή μη αλλεργική) ΑΔ.<sup>96</sup>

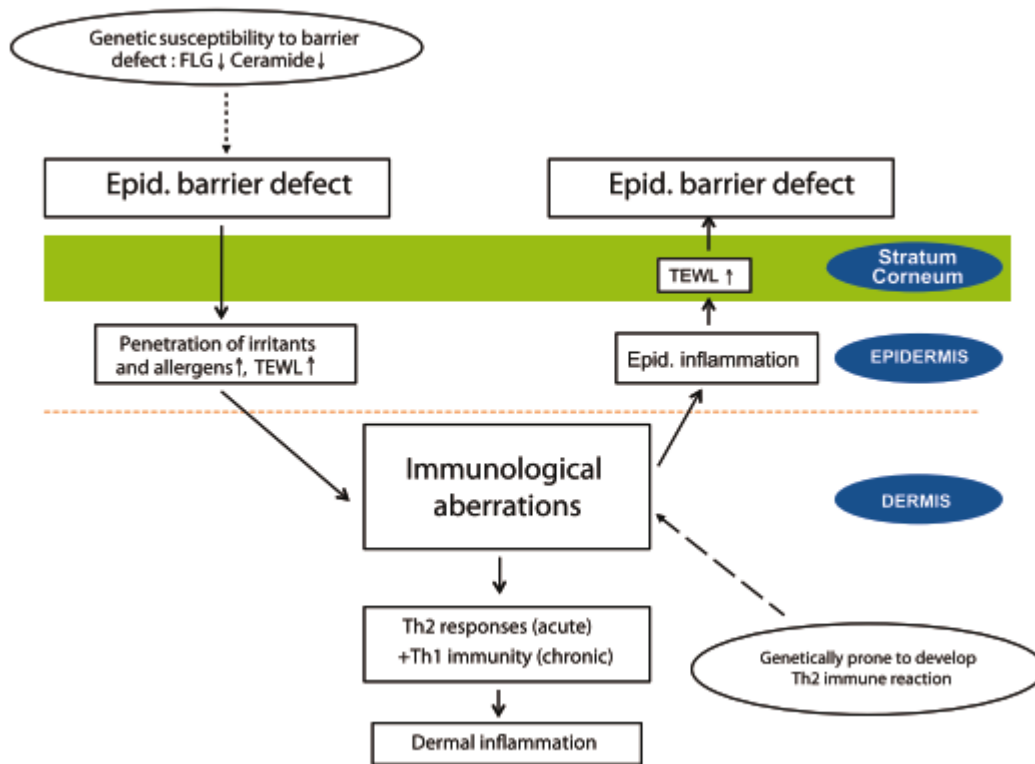
Η βάση της διάκρισης των δυο τύπων ήταν ότι συνήθως οι νοσούντες με ΑΔ παρουσίαζαν αυξημένα επίπεδα ανοσοσφαιρίνης Ε (IgE) στον ορό αίματος, που αποτελεί ένα αντίσωμα συνδεδεμένο με τις αλλεργικές αντιδράσεις. Όμως παρατηρήθηκε ότι υπήρχε μια δεύτερη ομάδα με ΑΔ που η IgE ήταν σε κανονικά επίπεδα.<sup>97,98</sup> Έτσι οι μεν που παρουσιάζουν υψηλά επίπεδα IgE εκφράζουν εξωγενή ΑΔ, και οι δε ενδογενή ΑΔ.<sup>99</sup> Η διάκριση των δυο ομάδων όμως δεν σταματάει εδώ.

Επιπλέον, ο ενδογενής (μη αλλεργικός) τύπος ΑΔ εμφανίζει μια υπερίσχυση στις γυναίκες<sup>98,100</sup>, ενώ θεωρείται ότι <20% των ασθενών έχουν τον τύπο αυτό. Οι ενδογενείς νοσούντες δεν εκφράζουν άλλες νόσους που συνδέονται με την ατοπία (ρινίτιδα και άσθμα), και παρουσιάζουν πιο ήπια συμπτώματα.<sup>100</sup> Ακόμη δεν παρουσιάζουν αλλεργική ευαισθητοποίηση σε αερογενείς παράγοντες ή τρόφιμα, και έχουν αρνητικό αποτέλεσμα στη δερματική δοκιμασία Prick.<sup>99</sup> Ακόμα και αν και οι δυο τύποι μοιράζονται τα ίδια κλινικά χαρακτηριστικά, στον ενδογενή τύπο έχει παρατηρηθεί πιο συχνά η εμφάνιση του σημείου Dennie-Morgan.<sup>96</sup> Και σ' αυτή την περίπτωση η ομαδοποίηση αυτή δεν είναι κοινά αποδεκτή.

#### 1.2.3.3 Υπόθεση outside-in/inside-out

Μια ακόμη υπόθεση για την παθογένεση της ΑΔ είναι το outside-in/inside-out. Ουσιαστικά αποτελεί δυο διαφορετικές προτάσεις του μηχανισμού παθογένεσης με την πρώτη να υποστηρίζει ότι η αρχή της ΑΔ ξεκινάει από το παραποιημένο ανοσοποιητικό που πολώνεται σε φλεγμονώδη απάντηση που οδηγεί σε αλλοίωση του δερματικού φραγμού και μετέπειτα σε έναν φαύλο κύκλο εισόδου αλλεργιογόνων, τοξινών που διαταράσσουν περαιτέρω το ανοσολογικό και τον δερματικό φραγμό προκαλώντας τις δερματικές αλλοιώσεις της ΑΔ (inside-out). Από την άλλη πλευρά, ο μηχανισμός outside-in θεωρεί ότι υπάρχει ήδη αλλοίωση στον δερματικό φραγμό (λόγω κάποιας γονιδιακής μετάλλαξης) η οποία επιτρέπει την εισροή αλλεργιογόνων και τοξινών που προκαλούν ανοσολογική απόκριση που απορυθμίζει περαιτέρω τον ήδη αλλοιωμένο δερματικό φραγμό (Εικόνα 16).<sup>13,101-103</sup>



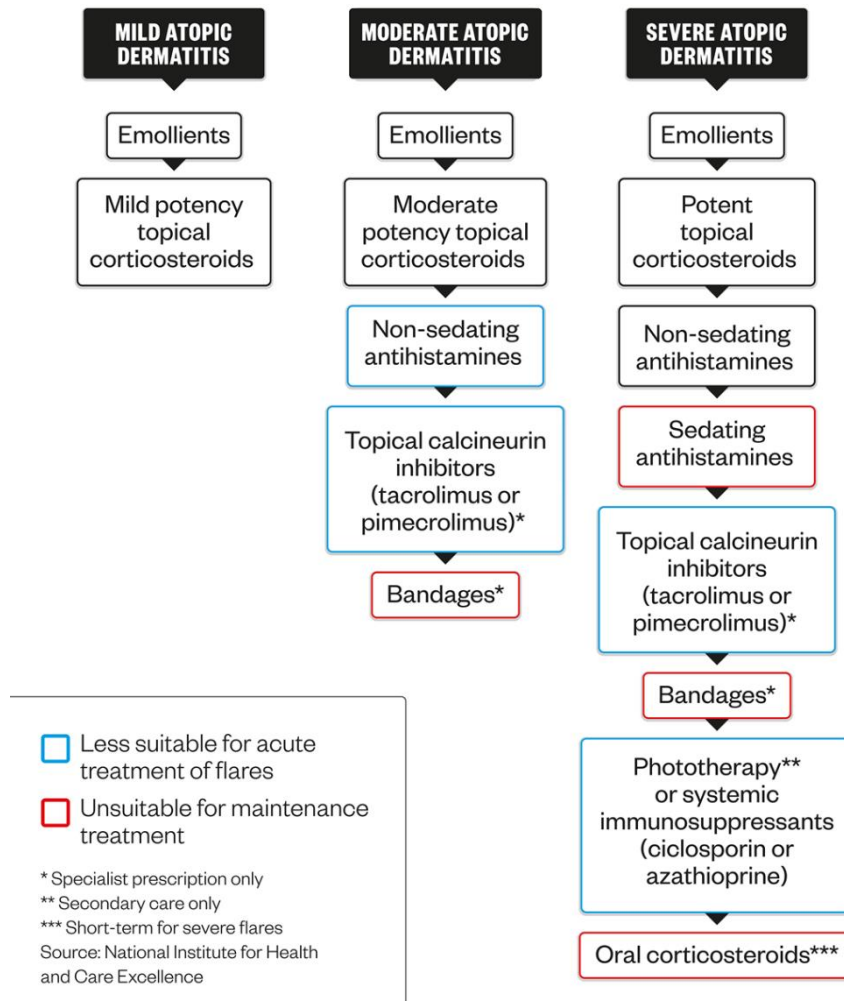


Εικόνα 16: Η υπόθεση των πιθανών μηχανισμών παθογένεσης της ΑΔ, outside in (αριστερά) & inside-out (δεξιά)<sup>101</sup>

### 1.3 Θεραπευτικά σχήματα και πιθανοί στόχοι

Δυστυχώς η ΑΔ αυτή τη στιγμή δεν έχει κάποιο τρόπο ίασης. Καθώς αποτελεί μια χρόνια νόσο που παρουσιάζει πολύ έντονες διακυμάνσεις στην βαρύτητα των δερματικών αλλοιώσεων που προκαλεί τα θεραπευτικά σχήματα που ακολουθούνται είναι ποικίλα και εναλλάσσονται αναλόγως τις ανάγκες του ασθενούς.

Συνοπτικά η διαχείριση της ΑΔ γίνεται κυρίως μέσω τοπικών σκευασμάτων, ενώ σε πιο σοβαρές περιπτώσεις χρησιμοποιούνται και συστηματικές θεραπείες (Εικόνα 17). Πιο σπάνια εφαρμόζονται φωτοθεραπείες ή ενέσιμα μονοκλωνικά αντισώματα.



**Εικόνα 17:** Θεραπευτικά σχήματα αναλόγως την βαρύτητα της ΑΔ, Ήπια ΑΔ (Mild AD): SCORAD<15, Μέτρια ΑΔ (Moderate AD): SCORAD 15-40 & Σοβαρή ΑΔ (Severe AD): SCORAD>40 <sup>104</sup>

#### 1.3.1 Προσωπική υγιεινή

Για την εξασφάλιση της υγιεινής του δέρματος είναι σημαντικό μετά το μπάνιο ή το ντουζ να ακολουθείται επάλειψη με ενυδατική κρέμα. Την περίοδο του καλοκαιριού ή των εξάρσεων της ΑΔ συνίσταται μπάνιο ακόμα και δυο φορές την ημέρα για την βελτίωση των εξανθημάτων. <sup>105,106</sup>

### 1.3.2 Τοπικά σκευάσματα

#### 1.3.2.1 Μαλακτικά

- **Μηχανισμός Δράσης:** Ενίσχυση του δερματικού φραγμού

Ο αλλοιωμένος δερματικός φραγμός είναι από τα κύρια χαρακτηριστικά του ατοπικού δέρματος. Η πρώτη γραμμή θεραπείας της ΑΔ είναι αδιαμφισβήτητα η χρήση απλών μαλακτικών σκευασμάτων όπως ο/w γαλακτωμάτων, που ενισχύουν τον φραγμό σε αλλοιωμένες και μη δερματικές περιοχές. Ακόμη και απλή βαζελίνη αποδεικνύεται αρκετή για την διατήρηση του φραγμού.<sup>106</sup> Σε περιπτώσεις που το δέρμα παρουσιάζει έντονη ξηρότητα μπορούν να χρησιμοποιηθούν γαλακτώματα ή αλοιφές, που να είναι ενισχυμένα με ουρία, κολλαγόνο ή υδρολυμένη ελαστίνη<sup>105</sup>, μια ή δυο φορές την ημέρα. Η συστηματική χρήση μαλακτικών τοπικών σκευασμάτων έχει αποδειχθεί ότι μειώνει την ανάγκη για την χρήση κορτικοστεροειδών.<sup>106</sup>

#### 1.3.2.2 Κορτικοστεροειδή (CSs)

- **Μηχανισμός Δράσης:** Ενεργοποιούν τους υποδοχείς γλυκοκορτικοστεροειδών και εμποδίζουν την έκφραση των κυτοκινών<sup>106</sup>

Τα τοπικά κορτικοστεροειδή χρησιμοποιούνται ως πρώτης γραμμής θεραπεία ενάντια στις οξείες αλλοιώσεις της ΑΔ. Πάνω από 30 κορτικοστεροειδή είναι διαθέσιμα, χαμηλής (Κλάσης 7) έως υψηλής (Κλάσης 1) δραστηριότητας (Εικόνα 18).<sup>106</sup>

Relative potency class*	Corticosteroid (%)	Preparation
1	Clobetasol propionate 0.05	Cream, ointment
	Halobetasol propionate 0.05	Cream, ointment
2	Betamethasone dipropionate 0.05	Ointment
	Desoximetasone 0.25	Cream, ointment
	Fluocinonide 0.05	Cream, ointment, gel, solution
3	Betamethasone dipropionate 0.05	Cream
	Betamethasone valerate 0.1	Ointment
	Fluticasone propionate 0.005	Ointment
4	Triamcinolone diacetate 0.5	Cream
	Hydrocortisone valerate 0.2	Ointment
	Mometasone furoate 0.1	Cream, ointment, lotion
	Triamcinolone acetonide 0.1	Ointment
5	Betamethasone valerate 0.1	Cream
	Fluticasone propionate 0.05	Cream
	Hydrocortisone butyrate 0.1	Cream, ointment, solution
	Hydrocortisone valerate 0.2	Cream
	Triamcinolone acetonide 0.025–0.1	Cream
6	Alclometasone dipropionate 0.05	Cream, ointment
	Desonide 0.05	Cream
	Fluocinolone acetonide 0.01	Cream, solution
7	Hydrocortisone 0.5–2.5	Cream, ointment, lotion

\*1 = strongest; 7 = weakest.

**Εικόνα 18:** Κορτικοστεροειδή που χρησιμοποιούνται τοπικά στην ΑΔ και η δραστηριότητα τους<sup>106</sup>

Οι πιθανές παρενέργειες περιλαμβάνουν ατροφία, ακμή, rosacea, υπερτρίχωση. Είναι κοινά αποδεκτό ότι οι παρενέργειες συσχετίζονται με τη διάρκεια της χρήσης και της δραστηριότητας του κορτικοστεροειδούς. Για την βέλτιστη δράση τα δραστικότερα κορτικοστεροειδή χρησιμοποιούνται για σύντομα χρονικά διαστήματα (1-2 εβδομάδες) έτσι ώστε να ελεγχθεί γρήγορα κάποια οξεία εκδήλωση της ΑΔ. Η ηλικία του ασθενούς διαδραματίζει εξαιρετικά σημαντικό ρόλο στην επιλογή του κορτικοστεροειδούς καθώς

υπάρχει ο κίνδυνος συστηματικής απορρόφησης. Χαρακτηριστικά πολύ δραστικά κορτικοστεροειδή δεν πρέπει να χορηγούνται σε παιδιά κάτω των 12 ετών, και σε ασθενείς με εξαιρετικά σοβαρές εξάρσεις ΑΔ χρησιμοποιούνται μόνο για 1-2 εβδομάδες. Η χρόνια χορήγηση κορτικοστεροειδών οποιασδήποτε κλάσης δεν συνιστάται σε περιοχές που παρουσιάζουν υψηλό κίνδυνο εμφάνισης παρενεργειών (πρόσωπο και παρατριμματικές περιοχές).<sup>16,106</sup>

#### 1.3.2.3 Αναστολείς της καλσινευρίνης (CIs)

- **Μηχανισμός Δράσης:** Εμποδίζουν την λειτουργία της φωσφατάσης της καλσινευρίνης και εμποδίζει την έκφραση των κυτοκινών<sup>106</sup>

Οι αναστολείς καλσινευρίνης είναι νεότερα φάρμακα, τα οποία έχουν αντιφλεγμονώδη δράση χωρίς τις παρενέργειες που έχουν τα κορτικοστεροειδή. Σε τοπικά σκευάσματα υπάρχουν αλοιφή με tacrolimus και κρέμα με pimecrolimus (Πίνακας 4). Για τον λόγο αυτό είναι εξαιρετικά χρήσιμες για την χρήση τους σε περιοχές που αποφεύγονται τα κορτικοστεροειδή (πρόσωπο, καμπτικές περιοχές).<sup>16</sup>

**Πίνακας 4:** Αναστολείς της καλσινευρίνης σε τοπικά σκευάσματα

Δραστική	Συγκέντρωση	Κατάλληλη για	Ένδειξη
<b>Tacrolimus (αλοιφή)</b>	0,03%	2+ χρονών	Μέτρια/σοβαρή ΑΔ
	0,1%	15+ χρονών	
<b>Pimecrolimus (κρέμα)</b>	1%	2+ χρονών	Ελαφριά/μέτρια ΑΔ

Οι συνήθεις παρενέργειες που παρουσιάζουν είναι αίσθηση καύσου, κνησμό, ερύθημα, πονοκέφαλο και δερματικές μολύνσεις.<sup>16</sup> Αν και όταν χρησιμοποιούνται τοπικά δεν απορροφούνται συστηματικά, υπάρχει μια ανησυχία σχετικά με την ασφάλεια χρήσης τους καθώς από το 2006 ο FDA έχει τοποθετήσει μια προειδοποίηση στα προϊόντα αυτά σχετικά με σπάνιες περιπτώσεις εμφάνισης καρκίνου και τον θεωρητικό κίνδυνο να προκαλούν κάποια κακοήθεια βάση του μηχανισμού δράσης τους. Μέχρι σήμερα δεν υπάρχουν δεδομένα που να συσχετίζουν την χρήση των CIs με αύξηση εμφάνισης λεμφοπολλαπλασιαστικής νόσου. Πιο συγκεκριμένα μια έρευνα έχει δείξει ότι η χρήση της αλοιφής tacrolimus 0,1%, δυο φορές την ημέρα σε πάσχουσες περιοχές, για συνεχόμενο διάστημα μέχρι και 4 χρόνια δεν έχει προκαλέσει κάποια σοβαρή παρενέργεια.<sup>16,106</sup>

### 1.3.3 Συστηματικά σκευάσματα

#### 1.3.3.1 Κορτικοστεροειδή (CSs)

- Μηχανισμός δράσης: Αναστέλλουν ευρέως τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και ρυθμίζουν την φλεγμονή

Τα συστηματικά CSs χορηγούνται σε σοβαρή, οξεία έξαρση ΑΔ για λίγες εβδομάδες. Αποφεύγονται για μακροχρόνια χρήση λόγω των παρενεργειών (π.χ. διαβήτης, υπέρταση, γαστρικά έλκη, οστεοπόρωση, σύνδρομο Cushing και επιβράδυνση της ανάπτυξης στα παιδιά)<sup>107</sup> και της τελικής επιδείνωσης της ΑΔ.<sup>73</sup>

#### 1.3.3.2 Κυκλοσπορίνη

- Μηχανισμός δράσης: εμποδίζει την ενεργοποίηση και τον πολλαπλασιασμό των Τ λεμφοκυττάρων

Η κυκλοσπορίνη δρα γρήγορα και για τον λόγο αυτό αποτελεί πρώτης γραμμής, σύντομης διάρκειας per os θεραπεία για ενήλικες που έχουν μέτρια-σοβαρή έξαρση ΑΔ και δεν μπορεί να ελεγχθεί με τοπικά σκευάσματα.<sup>73</sup> Δυο θεραπευτικά σχήματα προτείνονται με την κυκλοσπορίνη:

- a) Μικρής διάρκειας διακοπτόμενη θεραπεία, στην οποία μόλις επιτευχθεί η επιθυμητή βελτίωση διακόπτεται η κυκλοσπορίνη και σε περίπτωση έξαρσης η θεραπεία συνεχίζεται
- b) Μακροχρόνια θεραπεία σε ασθενείς με χρόνια, σοβαρή ΑΔ με συχνές εξάρσεις. Η δόση ρυθμίζεται στην ελάχιστη δόση και χορηγείται μέχρι 2 χρόνια

Λόγω πιθανών παρενεργειών ιδίως της νεφρικής τοξικότητας και υπέρτασης, η νεφρική λειτουργία και η αρτηριακή πίεση πρέπει να παρακολουθούνται τακτικά. Αν και οι παρενέργειες εκδηλώνονται συνήθως σε ασθενείς που παίρνουν μεγάλες δόσεις κυκλοσπορίνης, η θεραπεία αυτή δεν συνδυάζεται με φωτοθεραπεία λόγω αυξημένου κινδύνου εμφάνισης δερματικού καρκίνου.<sup>107</sup>

#### 1.3.3.3 Αζαθειοπρίνη

- Μηχανισμός δράσης: Αποτελεί πρόδρομο αναλόγου πουρίνης που ανταγωνίζεται τη σύνθεση DNA και αναστέλλει επιλεκτικά τα Τ λεμφοκύτταρα<sup>73</sup>

Συνίσταται μόνο off-label δεύτερης γραμμής θεραπεία μετά την κυκλοσπορίνη καθώς αργεί πολύ να δώσει αποτελέσματα. Δεδομένα για μακροχρόνια δραστηριότητα και ασφάλεια είναι λιγοστά. Σε ορισμένες περιπτώσεις σοβαρής έξαρσης σε παιδιά και εφήβους που χορηγήθηκε αζαθειοπρίνη, φάνηκε να είναι καλά ανεκτή αλλά με παρενέργειες όπως γαστρεντερικές διαταραχές, μυελοκαταστολή, ανωμαλίες του ηπατικού ενζύμου, ακόμα και κακοήθειες. Η χορήγηση της αζαθειοπρίνης θα πρέπει να συνοδεύεται με τακτική παρακολούθηση του αίματος και των ηπατικών ενζύμων.<sup>73,107</sup>

### 1.3.4 Βιολογικά φάρμακα

Τα τελευταία χρόνια γίνεται μια σημαντική προσπάθεια για την ανάπτυξη στοχευμένων θεραπειών με βιολογικά φάρμακα που θα εμποδίζουν κυτοκίνες ή μεσολαβητές τους που διαδραματίζουν πρωταγωνιστικό ρόλο στην παθογένεση της ΑΔ. Προς το παρόν μόνο η dupilumab έχει πάρει άδεια από τον FDA ως θεραπεία για μέτρια-σοβαρή ΑΔ σε ενήλικους ασθενείς. Τα βιολογικά φάρμακα (Εικόνα 19) είναι εξαιρετικά υποσχόμενα καθώς φαίνεται να απαιτούν λιγότερη παρακολούθηση από τις υπόλοιπες συστηματικές θεραπείες και να έχουν λιγότερες παρενέργειες (Πίνακας 5).<sup>108</sup>

**Πίνακας 5:** Ενδεικτικά κάποια βιολογικά φάρμακα ΑΔ (δεν έχουν πάρει έγκριση εκτός του πρώτου) και οι παρενέργειες τους<sup>108</sup>

Βιολογικό φάρμακο	Δόση	Παρενέργειες	Απαιτούμενη παρακολούθηση
<b>Dupilumab (anti-IL-4 receptor-α)</b>	300mg κάθε 1-3 εβδομάδες.	Αυξημένος κίνδυνος λοίμωξης, πονοκέφαλος, γαστρεντερικές ενοχλήσεις, αντιδράσεις στο σημείο της ένεσης	Αιματολογική και ενζυματική ηπατική παρακολούθηση
<b>Omalizumab (anti-IgE)</b>	150-600mg κάθε 2-4 εβδομάδες	Αυξημένος κίνδυνος λοίμωξης, αντιδράσεις στο σημείο της ένεσης, πονοκέφαλος	Αιματολογική, IgE και ενζυματική ηπατική παρακολούθηση
<b>Rituximab (anti-CD20)</b>	500-1000mg iv (2 κύκλοι έγχυσης με 2 εβδομάδες διαφορά)	Πονοκέφαλος, πυρετός, ναυτία, διάρροια, αδυναμία, έξαψη, πόνος στους μύς ή στις αρθρώσεις, αυξημένος κίνδυνος λοιμώξεων, αιματολογικές ανωμαλίες	Αιματολογική παρακολούθηση και μετρήσεις ανοσοσφαιρίνης

Table 1 Biologics in clinical trials for atopic dermatitis		
Category or Targeted Axis	Target	Trade Name and ClinicalTrials.gov Identifier
Th1/Th17	Anti-IL-12/23 (anti-p40) mAb Anti-IL-17 mAb	Stelara (ustekinumab)/NCT01806662 Secukinumab/NCT02594098
Th2	Anti-IL-4Rα mAb Anti-IL-13 mAb CRTH2 antagonist	Dupilumab/NCT02260986 NCT02340234 NCT02347176 NCT01785602 NCT02002208 NCT02590289
Th22	Anti-IL-22 mAb TSLP antagonist	ILV-094/NCT01941537 Tezepelumab/NCT02525094
PDE4 inhibitors		Otezla (Apremilast)/NCT02087943 NCT01856764 NCT01461941 NCT02094235 NCT02068352 NCT01993420 NCT01037881 Crisaborole/NCT02118792 NCT02118766
Antipruritic	Anti-IL-31 mAb Antitropomyosin receptor kinase A Antineurokinin Prostaglandin D2 receptor agonist Anti-TRPV1 channel Kappa-opioid receptor agonist	NCT01986933 NCT01614756 NCT01808157 NCT02004041 NCT01033097 NCT00914186 NCT02583022 NCT02475447 NCT02576093

**Εικόνα 19:** Τα βιολογικά φάρμακα για την ΑΔ και οι θεραπευτικοί τους στόχοι<sup>28</sup>

#### 1.4 Σκοπός

Ο σκοπός της παρούσας εργασίας είναι αρχικά η επιβεβαίωση του μοντέλου πρόκλησης ατοπικής δερματίτιδας σε άτριχους μύες και η επιλογή του καταλληλότερου είδους άτριχων μυών. Εν συνεχεία, θα πραγματοποιηθεί συγκριτική μελέτη αποτελεσματικότητας τεσσάρων τοπικών σκευασμάτων σε μύες που έχουν αναπτύξει βλάβες που προσομοιάζουν αυτές της ατοπικής δερματίτιδας. Τα τοπικά σκευάσματα υπό εξέταση είναι:

5. ένα γαλάκτωμα με ένα μίγμα εκχυλισμάτων
6. μια κρέμα με χλωροκρεσόλη
7. μια αλοιφή με ελαϊκό εκχύλισμα ισοπόδου *Ceratothoa oestroides*
8. μια γέλη με ελαιοκανθάλη και ολεασίνη

## Κεφάλαιο 2<sup>ο</sup>: Υλικά και Μέθοδοι

### 2.1 Μύες

Στην παρούσα εργασία χρησιμοποιήθηκαν άτριχοι, θηλυκοί μύες τύπου SKH-1 και SKH-2, ηλικίας 6-8 εβδομάδων. Συνολικά χρησιμοποιήθηκαν 87 μύες, εκ των οποίων οι 22 ήταν τύπου SKH-2 και οι 65 τύπου SKH-1. Οι μύες προήλθαν από το εργαστήριο Δερματοφαρμακολογίας και Κοσμητολογίας της Φαρμακευτικής Σχολής του Πανεπιστημίου Αθηνών.

Κατά τη διάρκεια παραμονής των ζώων στη Μονάδα Μικρών Ζωικών Προτύπων της Φαρμακευτικής Σχολής ΕΚΠΑ, τα ζώα διαβίωναν σε ειδικούς κλωβούς (Tecniplast) διαστάσεων συμφώνων με την κείμενη Νομοθεσία, εντός των οποίων υπήρχε κατάλληλη καθαρή στρωμή και απρόσκοπτη πρόσβαση σε καθαρό νερό και τροφή 24 ώρες το εικοσιτετράωρο. Η θερμοκρασία στον χώρο πειραματισμού ήταν ελεγχόμενη μεταξύ των 22-25°C και η υγρασία πάνω από 30% (Νομοθεσία EL 25 BIO 07).

### 2.2 Λοιπά υλικά

#### 2.2.1 Τοπικά σκευάσματα

Συνολικά χρησιμοποιήθηκαν 4 τοπικά σκευάσματα για την μελέτη της δράσης τους στο μοντέλο της ΑΔ.

##### 2.2.1.1 Τοπικό Σκεύασμα 1 [μίγμα εκχυλισμάτων]

Ένα γαλάκτωμα με εκχυλίσματα καλέντουλας (*Calendula officinalis* Extract), σημύδας (*Betula alba* Bark/Leaf Extract), ερυθρελάτης (*Picea abie* Extract), αλκάννας (*Alkanna tinctoria* Root Extract) και λεβάντας (*Lavandula angustifolia* Oil).

INCI: Aqua (water), Glycerine, Alcohol, Sorbitol, Cetearyl Alcohol, Polysorbate 60, Glycol Stearate, *Calendula officinalis* Extract, Phenoxyethanol, *Betula alba* Bark/Leaf Extract, *Picea abies* Extract, *Alkanna tinctoria* Root Extract, Sodium Hyaluronate, *Lavandula angustifolia* Oil

#### ΕΚΧΥΛΙΣΜΑ ΚΑΛΕΝΤΟΥΛΑΣ

Το εκχύλισμα καλέντουλας αποτελείται κυρίως από στεροειδή, τερπενοειδή, ελεύθερες και εστεροποιημένες αλκοόλες, φαινολικά οξέα, φλαβονοειδή (κερκετίνη, ρουτίνη κ.ά.).<sup>109</sup>

Φαρμακολογικές Δράσεις		
Κατά της δερματίτιδας εκ σπαργάνων	Κλινική μελέτη (τοπικά)	110
Αντιοξειδωτική	In vitro	109,111

##### 2.2.1.2 Τοπικό Σκεύασμα 2 [χλωροκρεσόλη]

Μια κρέμα που είχε ως δραστική χλωροκρεσόλη 0,1%.

INCI: Aqua (water), Petrolatum, Paraffinum Liquidum, Cetearyl Alcohol, Sodium Lauryl Sulfate, Chlorocresol

#### ΧΛΩΡΟΚΡΕΣΟΛΗ

Η χλωροκρεσόλη είναι μια χλωριωμένη φαινόλη (C<sub>7</sub>H<sub>7</sub>ClO) και χρησιμοποιείται ως αντιμικροβιακός και αντιμυκητιακός παράγοντας σε ένα ευρύ φάσμα προϊόντων.<sup>112</sup> Εμπεριέχεται σε καλλυντικά και τοπικά σκευάσματα ως συντηρητικό, ενώ έχουν αναφερθεί περιστατικά αλλεργικής δερματίτιδας εξ' επαφής<sup>113</sup> και ειδικά σε περιπτώσεις που η χρήση συσχετίζεται με τοπικά κορτικοστεροειδή.<sup>113,114</sup>



### 2.2.1.3 Τοπικό Σκεύασμα 3 [ισόποδο]

Μια αλοιφή με ελαϊκό εκχύλισμα ισόποδου 10% (το οποίο επίσης είναι 10% σε ελαιόλαδο), σκουαλένιο 10%, έλαιο καλέντουλας 5% και φυσικό κεριά μέλισσας 5%.

INCI: Petrolatum, Isopod Oleic Extract \*, Squalene, Cera Alba, *Calendula officinalis* Oil, Tocopheryl Acetate, Thiocctic Acid

\*δεν είναι επίσημο INCI name

#### ΕΛΑΪΚΟ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑ ΙΣΟΠΟΔΟΥ CERATOTHOA OESTROIDES

Το ισόποδο *Ceratothoa oestroides* είναι ένα θαλάσσιο παράσιτο που προσκολλάται συνήθως στην στοματική κοιλότητα των ψαριών, ειδικά σε αυτήν της τσιπούρας και του λαβρακιού<sup>115</sup>.

Φαρμακολογικές Δράσεις		
Επουλωτική	Κλινική μελέτη (τοπικά)	116
Διέγερση σχηματισμού κολλαγόνου	In vitro	
Διέγερση κυτταρικού πολλαπλασιασμού	In vitro	

#### ΣΚΟΥΑΛΕΝΙΟ

Το σκουαλένιο είναι ένας πολυακόρεστος υδρογανάνθρακας με χημικό τύπο C<sub>30</sub>H<sub>50</sub>. Χρησιμοποιείται σε καλλυντικά και τοπικά σκευάσματα λόγω των εξαιρετικών μαλακτικών ιδιοτήτων του αλλά και για την προστατευτική αντιοξειδωτική δράση έναντι των ακτίνων UV.<sup>117</sup>

#### ΚΕΡΙ ΜΕΛΙΣΣΑΣ

Αποτελείται από 300 συστατικά, Αποτελείται από 300 συστατικά, μεταξύ αυτών: υδατάνθρακες, ελεύθερα λιπαρά οξέα, εστέρες αυτών, λιπαρές αλκοόλες, διεστέρες και εξωγενείς παράγοντες.<sup>118</sup>

Φαρμακολογικές Δράσεις		
Αντιμικροβιακή	In vitro (εκχ.)	118
Βελτίωση ΑΔ & Ψωρίασης	Κλινική μελέτη (τοπικά, σε συνδυασμό με ελαιόλαδο και μέλι)	119

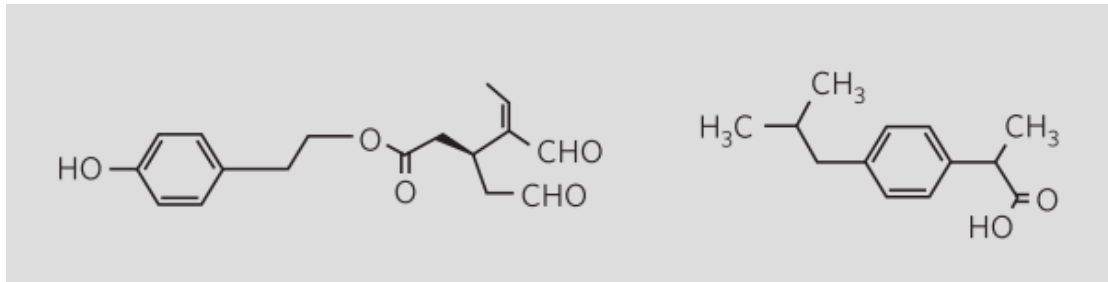
### 2.2.1.4 Τοπικό Σκεύασμα 4 [ελαιοκανθάλη & ολεασίνη]

Μια υδατική γέλη με 0,1% με εκχύλισμα ελαιόλαδου (2:1 ελαιοκανθάλη & ολεασίνη)

INCI: Aqua (water), Hydroxypropyl Methylcellulose, *Olea europaea* Oil Extract\*

#### ΕΛΑΙΟΚΑΝΘΑΛΗ

Η ελαιοκανθάλη (C<sub>17</sub>H<sub>20</sub>O<sub>5</sub>) μια φαινολική ένωση που βρίσκεται στο παρθένο ελαιόλαδο και έχει εξαιρετική αντιφλεγμονώδη δράση.<sup>120,121</sup> Αν και διαφέρει δομικά (Εικόνα 20), παρουσιάζει όμοια δράση με το μη στεροειδές αντιφλεγμονώδες φάρμακο ιβουπροφαίνη (ibuprofen).<sup>122</sup>



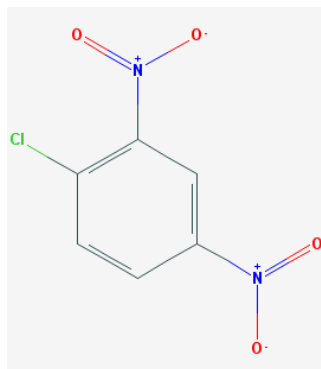
Εικόνα 20: Η δομή της ελαιοκανθάλης (αριστερά) και της ιβουπροφαίνης (δεξιά)

#### ΟΛΕΑΣΙΝΗ

Η ολεασίνη αποτελεί ένα γλυκοσιδικό σεκοϊριδοειδές του ελαιόλαδου.<sup>123</sup> Παρουσιάζει ισχυρή ανασταλτική δράση του μετατρεπτικού ενζύμου αγγειοτενσίνης (ACE), αντιοξειδωτική, αντιφλεγμονώδη και αντιμικροβιακή δράση.<sup>124</sup> Επίσης, φαίνεται να συνεισφέρει στην αντικαρκινική δράση των εκχυλισμάτων ελαιόλαδου κατά του καρκίνου του δέρματος (in vitro).<sup>125</sup>

#### 2.2.2 2,4-Δινιτροχλωροβενζόλιο (2,4-Dinitrochlorobenzene, DNCB)

Το 2,4-δινιτροχλωροβενζόλιο (DNCB) αποτελεί ένας αρωματικός υδρογονάνθρακας, με έναν δακτύλιο βενζολίου συνδεδεμένο με δυο νιτρο-ομάδες και ένα χλώριο (Εικόνα 21).<sup>126</sup> Ανήκει στην ομάδα των απτενίων (haptens), που χαρακτηρίζονται από μικρό μοριακό βάρος (τα περισσότερα <1 kDa) και την ικανότητα τους να συνδέονται ομοιοπολικά με πρωτεΐνες ή πεπτίδια.<sup>127</sup> Αυτή η ιδιότητά τους να άπτονται πάνω σε μακρομόρια είναι που τα καθιστά ικανά να επάγουν αντισωματική απάντηση.<sup>128</sup> Πιο συγκεκριμένα, ένας πρωτεϊνικός φορέας συνδέεται με πολλές απτενικές ομάδες, δημιουργώντας ένα σύμπλοκο που είναι αρκετά μεγάλο ώστε να συνδεθεί στους υποδοχείς Β-κυττάρων και να ενεργοποιήσουν την παραγωγή Τ λεμφοκυττάρων.<sup>129</sup>



Εικόνα 21: Δομή του DNCB <sup>126</sup>

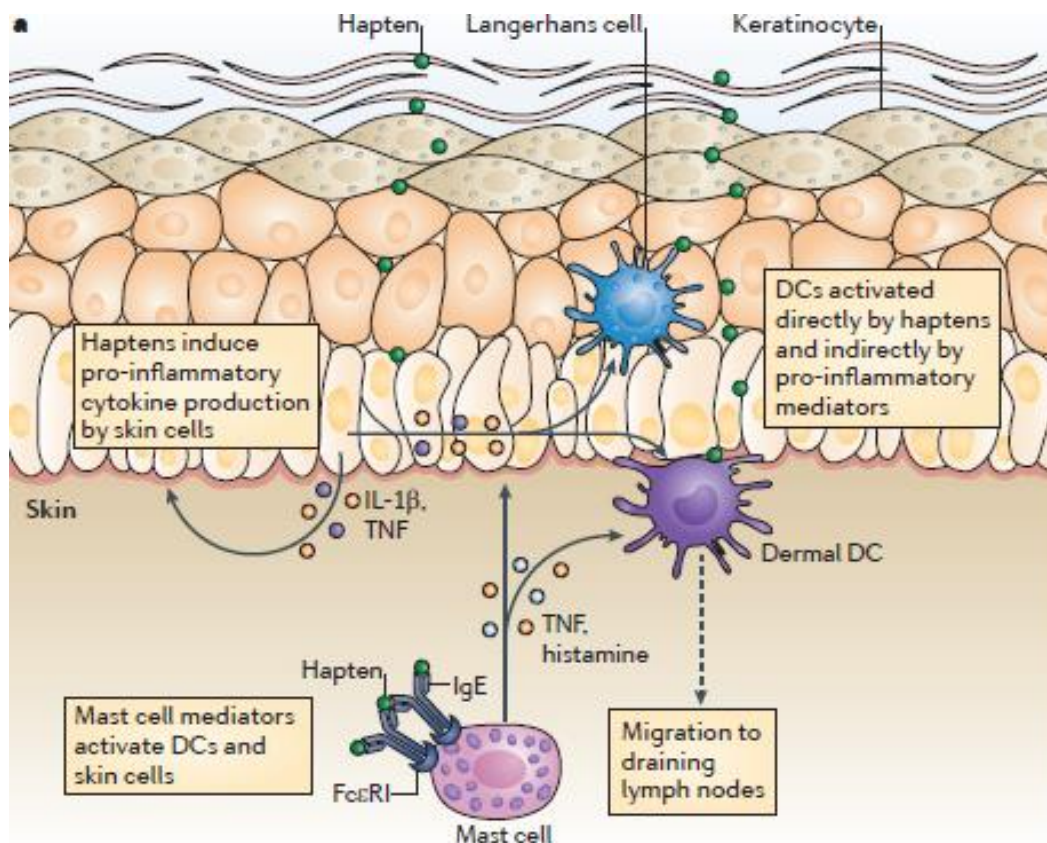
Το DNCB αποτελεί μια εξαιρετικά ερεθιστική ουσία για το δέρμα και τα μάτια.<sup>126</sup> Όταν εφαρμόζεται τοπικά μπορεί να προκαλέσει αντίδραση καθυστερημένης υπερευαισθησίας τύπου IV, ή αλλιώς γνωστή ως αλλεργική δερματίτιδα εξ' επαφής.<sup>127,130</sup> Ο μηχανισμός αντίδρασης στο DNCB, και στα απτένια γενικότερα, αν και δεν είναι απόλυτα γνωστός αποτελείται από δυο φάσεις, της ευαισθητοποίησης και της πρόκλησης.<sup>131</sup>

Πιο αναλυτικά:

- **1η φάση: Ευαισθητοποίηση**

Διάρκεια: Μπορεί να διαρκέσει από εβδομάδες μέχρι και μήνες επαναλαμβανόμενης έκθεσης.

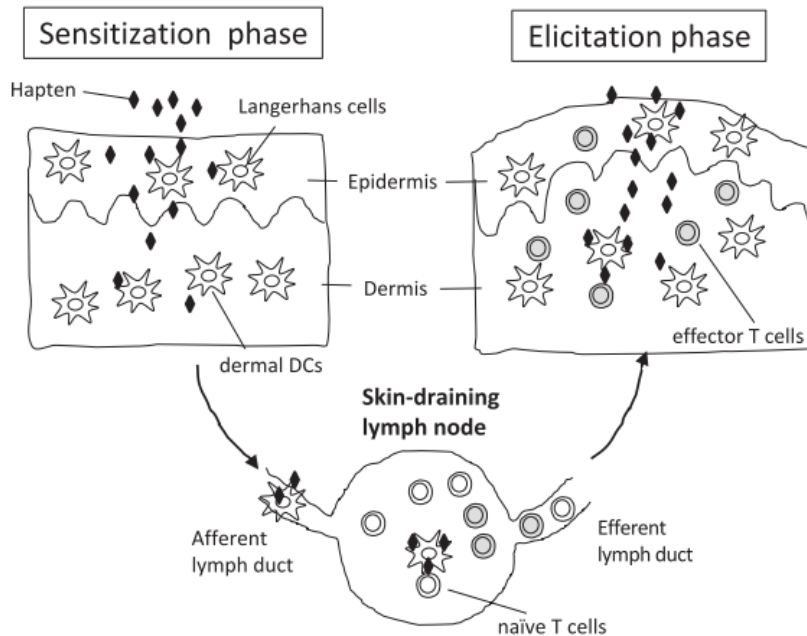
Το απτένιο δεσμεύεται πάνω σε πρωτεΐνες του δέρματος, δημιουργώντας απτενισμένα σύμπλοκα τα οποία προκαλούν φλεγμονώδη αντίδραση που οδηγεί στην ωρίμανση των δερματικών δενδριτικών κυττάρων. Τα δενδριτικά κύτταρα μεταναστεύουν και μεταφέρουν τις απτενισμένες πρωτεΐνες σε τοπικούς λεμφαδένες (Εικόνα 22). Οι λεμφαδένες παράγουν ουδέτερα CD4+ και CD8+ T λεμφοκύτταρα τα οποία διαφοροποιούνται σε Th1, Th17, Treg και κυτοτοξικά T λεμφοκύτταρα (cytotoxic T lymphocytes, CTLs). Τα διαφοροποιημένα κύτταρα ανεβαίνουν ξανά στο δέρμα, όπου τα CTLs προκαλούν την απόπτωση των κερατινοκυττάρων, τα Th1 & Th17 προκαλούν φλεγμονή στο δέρμα και τα Treg προσπαθούν να αντισταθμίσουν την φλεγμονή.<sup>132</sup>



Εικόνα 22: Κυτταρική απάντηση στην επιδερμική επαφή με απτένια<sup>132</sup>

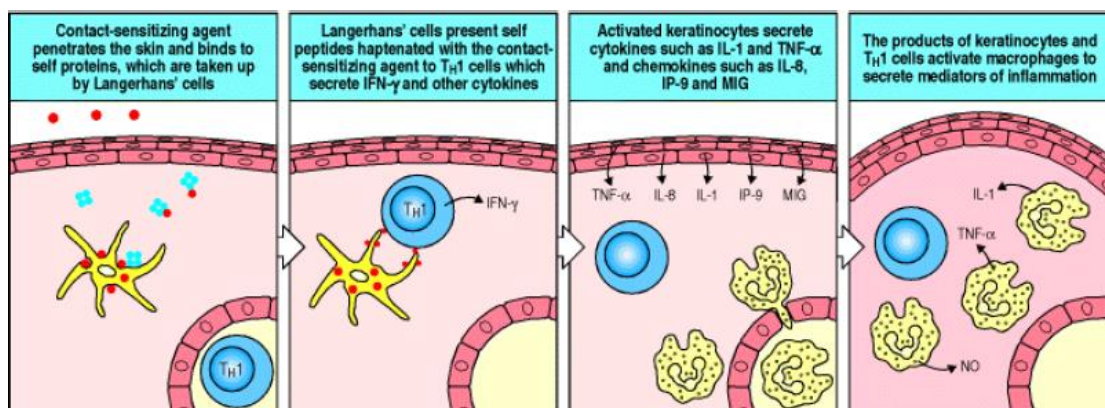
- **2η φάση: Εκδήλωση**

Στην φάση της εκδήλωσης ο οργανισμός πλέον έχει ευαισθητοποιηθεί στο σύμπλοκο πρωτεΐνης-απτενίου και τα δενδριτικά κύτταρα του δέρματος είναι έτοιμα μόλις έρθουν σε επαφή ξανά με αυτό να δώσουν σήμα ώστε τα ήδη διαφοροποιημένα Th να διεισδύσουν στο δέρμα (Εικόνα 23).<sup>131,133</sup>



Εικόνα 23: Σχηματική αναπαράσταση της ανοσολογικής απάντησης στα απτένια στις δυο διαφορετικές φάσεις. **Φάση ευαισθητοποίησης**, τα δενδριτικά κύτταρα που έχουν δεσμεύσει το σύμπλοκο απτενίων-πρωτεΐνης ταξιδεύουν στους λεμφαδένες και εκεί τα ουδέτερα T κύτταρα αναγνωρίζουν τα αντιγόνα. **Φάση εκδήλωσης**, τα ήδη ενεργοποιημένα T κύτταρα διεισδύουν στο δέρμα και αλληλεπιδρούν με τα δερματικά δενδριτικά κύτταρα.<sup>134</sup>

Τα κύρια Th που διεισδύουν το δέρμα αρχικά είναι τα προφλεγμονώδη Th1, τα οποία εκκρίνουν κυτοκίνες, όπως IFN- $\gamma$  και IL-1 και χυμοκίνες όπως IL-8 και IP-9 (Εικόνα 24).<sup>135</sup> Οι οποίες εντείνουν την φλεγμονή τοπικά, ενισχύοντας την μετακίνηση μονοκυττάρων στο δέρμα, την ωρίμανση μακροφάγων και την διαφοροποίηση CD4+ σε Th1/Th2/Th17 και Treg.<sup>131,134,136</sup>



Εικόνα 24: Η φάση εκδήλωσης της καθυστερημένης απάντησης υπερευαισθησίας στα απτένια<sup>131</sup>

#### 2.2.2.1 Αλλεργική δερματίτιδα εξ' επαφής, υπερευαισθησία εξ' επαφής και ατοπική δερματίτιδα

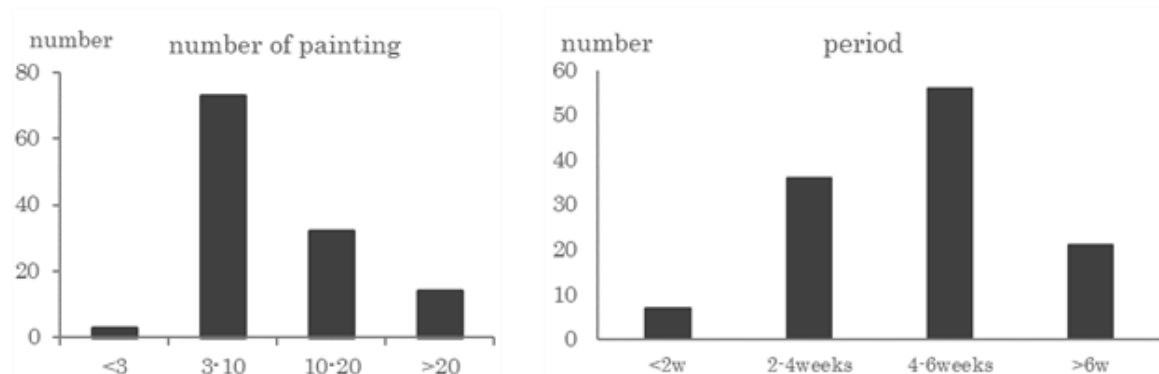
Σε αυτό το σημείο είναι εξαιρετικά σημαντικό να αποσαφηνιστούν κάποιες έννοιες. Η αλλεργική δερματίτιδα εξ' επαφής διαφέρει από την υπερευαισθησία εξ' επαφής. Η μεν αποτελεί έναν κλινικό όρο που περιγράφει μια φλεγμονώδη αντίδραση στο δέρμα, η οποία χαρακτηρίζεται από πληθώρα συμπτωμάτων με κύρια τον κνησμό, το οίδημα και το ερύθημα.

Πάνω από 2800 χημικές ουσίες είναι πιθανοί ευαισθητοποιητές για την εκδήλωση αλλεργικής δερματίτιδας εξ' επαφής.

Από την άλλη η υπερευαισθησία εξ' επαφής αναφέρεται στον πειραματικό μοντέλο της ανθρώπινης αλλεργικής δερματίτιδας εξ' επαφής σε ζωικά πρότυπα. Συνήθως προκαλείται σε ποντίκια με την τοπική εφαρμογή δραστικών λιπόφιλων ουσιών (πχ. το DNCB) διαλυμένα σε κάποιον οργανικό διαλύτη για 1 ή 2 ημέρες (προσομοίωση της φάσης ευαισθητοποίησης). Μετά από 5-7 ημέρες (φάση εκδήλωσης) εφαρμόζεται ξανά το ίδιο διάλυμα που έχει ως αποτέλεσμα την εκδήλωση συμπτωμάτων που προσομοιάζουν την αλλεργική δερματίτιδα εξ' επαφής.<sup>132</sup>

Όμως η ατοπική δερματίτιδα διαφέρει πολύ από μια αλλεργική αντίδραση, συνεπώς δημιουργείται το εύλογο ερώτημα του πως οι επαλείψεις με DNCB προσομοιάζουν ατοπικές δερματικές εκδηλώσεις.

Πράγματι στην δεκαετία του '90 παρατηρήθηκε ότι οι επαναλαμβανόμενες επαλείψεις απτενίων για μεγάλο χρονικό διάστημα (24-48 ημέρες) οδηγούσε σε αλλαγή της ανοσολογικής απάντησης από Th1 σε Th2.<sup>137-139</sup> Χαρακτηριστικά υπάρχουν πάνω από 130 επιστημονικές δημοσιεύσεις που περιγράφουν κάποιο πρωτόκολλο πρόκλησης ΑΔ σε μύες, χρησιμοποιώντας επαναλαμβανόμενες επαλείψεις με DNCB ή με DNFB (2,4-δινιτροφθοροβενζόλιο) για μεγάλα χρονικά διαστήματα (Εικόνα 25).<sup>140</sup>



Εικόνα 25: Ο αριθμός των επιστημονικών δημοσιεύσεων πρωτοκόλλων που προσομοιάζουν ΑΔ σε μύες χρησιμοποιώντας DNCB ή DNFB. **Αριστερά**, συνολικά οι φορές επαλείψεων **Δεξιά**, η χρονική περίοδος των επαλείψεων<sup>140</sup>

### 2.3 Μέθοδοι

Για την in vivo μελέτη της ΑΔ σε μύες υπάρχουν τρεις κύριες κατηγορίες πρωτοκόλλων:<sup>141</sup>

1. Πρόκληση ΑΔ με επιδερμικές επαλείψεις ευαισθητοποιητών (Ωολευκωματίνη, ή απτένια ή αλλεργιογόνο ακάρεων οικιακής σκόνης)<sup>142</sup>
2. Γενετικά τροποποιημένα ποντίκια (πχ. τύποι μυών που υπερεκφράζουν την IL-4, ή την IL-31 κ.ά)<sup>142,143</sup>
3. Είδη μυών που αναπτύσσουν αυθόρμητα ΑΔ (πχ. NC/NgA, NOA, DS-Ng, DS-Nh)<sup>143</sup>

Στην παρούσα εργασία επιλέχθηκε η πρόκληση ΑΔ με επιδερμικές επαλείψεις ευαισθητοποιητή (DNCB). Οι λόγοι που οδήγησαν σε αυτή την επιλογή ήταν γιατί αφενός δεν ήταν διαθέσιμα είδη μυών που να ήταν γενετικά τροποποιημένα ή να αναπτύσσουν αυθόρμητα ΑΔ, και αφετέρου σε σύγκριση με άλλες μεθόδους η χρήση απτενίων παρουσιάζει πολλά σημαντικά πλεονεκτήματα (Εικόνα 26). Αποτελεί μια οικονομική, αναπαραγωγίσιμη, συχνά χρησιμοποιούμενη μέθοδο πρόκλησης ΑΔ με ιστοπαθολογική, ανοσολογική και κλινική εικόνα όμοια της ΑΔ που παρατηρείται στους ανθρώπους. Επιπλέον το μοντέλο αυτό προσφέρει την δυνατότητα με την χρήση διαφορετικών συνδυασμών απτενίων και ειδών μυών να προσομοιάσει το μεγάλο εύρος της κλινικής εικόνας που παρουσιάζεται στους ασθενείς με ΑΔ. Επι παραδείγματι, αρχικά το μοντέλο αναπτύχθηκε σε μύες τύπου BALB/c με επαλείψεις TNCB που είχε ως αποτέλεσμα πόλωση σε Th2 ανοσολογική απάντηση. Όμως με επαλείψεις οξαζολόνης έδινε ίδια κλινική εικόνα, αλλά ανοσολογικά ήταν ένα μίγμα Th1/Th2. Παρόλα αυτά η μέθοδος αυτή παρουσιάζει τον πειραματικό περιορισμό ότι μπορεί το απτένιο να αλληλεπιδράσει με τους θεραπευτικούς παράγοντες που δοκιμάζονται.<sup>144</sup>

Variables	NC/Nga mouse model	Hapten-induced model	IL-18 Tg mouse model
Incidence of AD-like lesions	~50%	100%	(~0) <sup>a</sup> 100%
Need for additional treatment to develop AD-like lesions	Hapten application	No	Hapten application <sup>a</sup>
Age of onset months	8–17 weeks	Anytime 30 days after starting hapten application	6
Reproducibility	Poor–fair	Excellent	Fair
Need for particular conditions	Conventional conditions	No	No
Variations	Impossible	Possible by changing haptens or mouse strains employed	Impossible
Availability	Limited	Excellent	Limited

Εικόνα 26: Σύγκριση των μοντέλων in vivo πρόκλησης ΑΔ σε μύες<sup>144</sup>

Για την αξιολόγηση της κατάστασης της ανοσολογικής των μυών επιλέχθηκε η ποσοτικοποίηση της IL-6 με την μέθοδο ELISA. Η IL-6 όπως έχει αναφερθεί και παραπάνω είναι μια προφλεγμονώδη κυτοκίνη η οποία εμπλέκεται στην διαφοροποίηση των Th0 σε Th17 και Th22.<sup>37,54,64</sup> Στην ΑΔ είναι αυξημένη η παρουσία της στο δέρμα, χωρίς να έχει αποσαφηνιστεί ο ρόλος της.<sup>65</sup>

### 2.3.1 Μοντέλο Πρόκλησης Ατοπικής Δερματίτιδας

Σε αυτήν την πειραματική διαδικασία χρησιμοποιήθηκαν τα παρακάτω:

Αντιδραστήρια	0,5% δ/μα DNCB σε ακετόνη
	1% δ/μα DNCB σε ακετόνη
	Ακετόνη
Υλικά	Πιπέτα ακριβείας 20-200μl
	Tips

Η ακετόνη που χρησιμοποιήθηκε ήταν της Merch, Acetone 99,8% for analysis EMSURE© και το DNCB ήταν της ACROS ORGANICS, 1-Chloro-2,4-dinitrobenzene 99%.

Αρχικά έγινε μια δοκιμασία (**πείραμα 1**) σε 40 θηλυκούς μύες, 20 SKH-hr1 και 20 SKH-hr2 (μαύρα), ηλικίας 6-8 εβδομάδων. Τα ποντίκια χωρίστηκαν σε 4 ομάδες των 10 όπου:

**Ομάδα 1 – Ατοπικά:** 10 SKH-hr2 μύες που επαλείφθηκαν με DNCB.

**Ομάδα 2- Μάρτυρες:** 10 SKH-hr2 μύες που επαλείφθηκαν με ακετόνη.

**Ομάδα 3 – Ατοπικά:** 10 SKH-hr1 μύες που επαλείφθηκαν με DNCB.

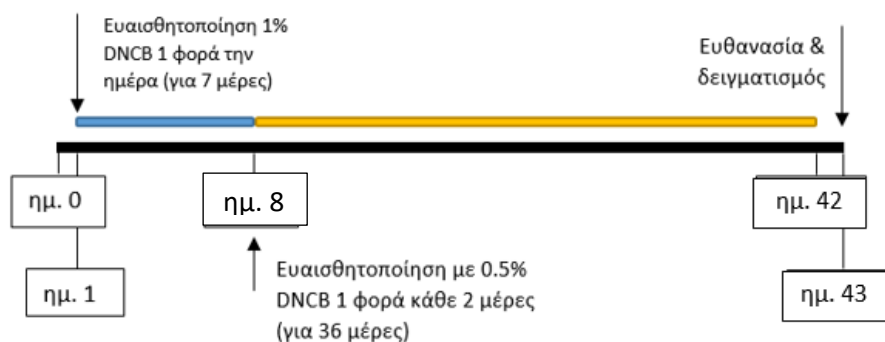
**Ομάδα 4 – Μάρτυρες:** 10 SKH-hr1 μύες που επαλείφθηκαν με ακετόνη.

Έπειτα, στο **πείραμα 2** χρησιμοποιήθηκαν 4 μύες, 2 SKH-hr1 και 2 SKH-hr2, ηλικίας 8 εβδομάδων. Τα ποντίκια χωρίστηκαν σε ομάδες των 2 ανάλογα το τύπο τους και επαλείφθηκαν με DNCB για μια εβδομάδα (ημ. 7). Την 8<sup>η</sup> ημέρα πειραματισμού τα ζώα θυσιάστηκαν ώστε να γίνει δειγματισμός δέρματος και αίματος για την ανάλυση τους μετά το πέρας της περιόδου ευαισθητοποίησης.

Το παρακάτω πρωτόκολλο αδειοδοτήθηκε από την Δν/ση Αγροτικής και Κτηνιατρικής Πολιτικής Τμήμα ΚΑΦΕ, Περιφέρειας Αττικής με αριθμό πρωτοκόλλου 5767.

#### Μεθοδολογία

1. **Εγκλιματισμός:** Τα ποντίκια ηλικίας 6-8 εβδομάδων, χωρίζονται σε ομάδες και τοποθετούνται στον χώρο πειραματισμού και αφήνονται να εγκλιματιστούν για 7 ημέρες (ημ. -6,0).
2. **Σήμανση μυών/Μετρήσεις Baseline:** Την ημ. 0 γίνεται η σήμανση των μυών με κόψιμο των αυτιών και μετρήθηκαν οι τιμές βάσης.
3. **Περίοδος 1<sup>η</sup> ευαισθητοποίηση (ημ.1-7):** Πραγματοποιούνται επαλείψεις σε όλη τη ράχη των μυών με 100μl 1% δ/μα DNCB, καθημερινά για 7 ημέρες (ημ. 1-7). Η ομάδα των μαρτύρων επαλείφονται με 100μl ακετόνη.
4. **Περίοδος 2<sup>η</sup> εκδήλωση (ημ. 8-42):** Από την ημ. 8 πραγματοποιούνται επαλείψεις με 100μl 0,5% δ/μα DNCB, 3 φορές την εβδομάδα (δηλ. με κενά 2 ημερών) μέχρι την ημ. 43. Η ομάδα των μαρτύρων επαλείφονται με 100μl ακετόνη.
5. **Θυσία και δειγματισμός:** την ημ. 43 πραγματοποιούνται αιμοληψίες, οι θυσίες των ζώων και ο δειγματισμός των δερματικών ιστών για ιστοπαθολογική ανάλυση.



### Σημεία προσοχής:

Τα διαλύματα DNCB θα πρέπει να παρασκευάζονται συχνά, καθώς είναι πολύ πτητικά και με αυτόν τον τρόπο εξασφαλίζεται ότι χρησιμοποιείται η σωστή συγκέντρωση.

Η παρασκευή και ο χειρισμός των διαλυμάτων DNCB πρέπει να γίνεται με γάντια και μάσκα, καθώς είναι εξαιρετικά ερεθιστική ουσία για το δέρμα και της αναπνευστικής οδού.

### Μετρήσεις

Οι μετρήσεις που πραγματοποιήθηκαν ήταν:

- Ερυθρότητα/Μελανίνη, με το Courage + Khazaka, Mexameter® MX 18
- Ενυδάτωση, με το Courage + Khazaka, Corneometer CM 820
- Άδηλη απώλεια νερού (TEWL), με το Tewameter TM 210
- pH, με το Callegari Soft Plus
- Πάχος δέρματος, με το ηλεκτρονικό παχύμετρο Casio

Επίσης λαμβανόταν φωτογραφίες για την παρακολούθηση της κλινικής εικόνας.



### 2.3.2 Συγκριτική μελέτη τοπικών σκευασμάτων

Σε αυτήν την πειραματική διαδικασία χρησιμοποιήθηκαν τα παρακάτω:

Αντιδραστήρια	0,5% δ/μα DNCB σε ακετόνη
	1% δ/μα DNCB σε ακετόνη
	Τοπικά σκευάσματα
Υλικά	Πιπέτα ακριβείας 20-200μl
	Tips
	Σπάτουλες

Η ακετόνη που χρησιμοποιήθηκε ήταν της Merch, Acetone 99,8% for analysis EMSURE® και το DNCB ήταν της ACROS ORGANICS, 1-Chloro-2,4-dinitrobenzene 99%.

Στο πείραμα (**πείραμα 3**) αυτό χρησιμοποιήθηκαν 43 θηλυκοί μύες, τύπου SKH-hr1, ηλικίας 6-8 εβδομάδων και χωρίστηκαν σε 5 ομάδες:

**Ομάδα 1 - Μάρτυρες:** 9 μύες με ατοπία, επαλείφθηκαν μόνο με DNCB.

**Ομάδα 2 – τοπικό σκεύασμα 1:** 10 μύες εκ των οποίων οι 2 θυσιάστηκαν την ημέρα 25 ώστε να γίνει δειγματισμός δέρματος και αίματος πριν την έναρξη των τοπικών σκευασμάτων. Κατά τα άλλα όλα επαλείφθηκαν με DNCB για την πρόκληση ατοπίας και στα 8 εφαρμόστηκε το τοπικό σκεύασμα 1.

**Ομάδα 3 – τοπικό σκεύασμα 2:** 8 μύες, επαλείφθηκαν με DNCB και το τοπικό σκεύασμα 2.

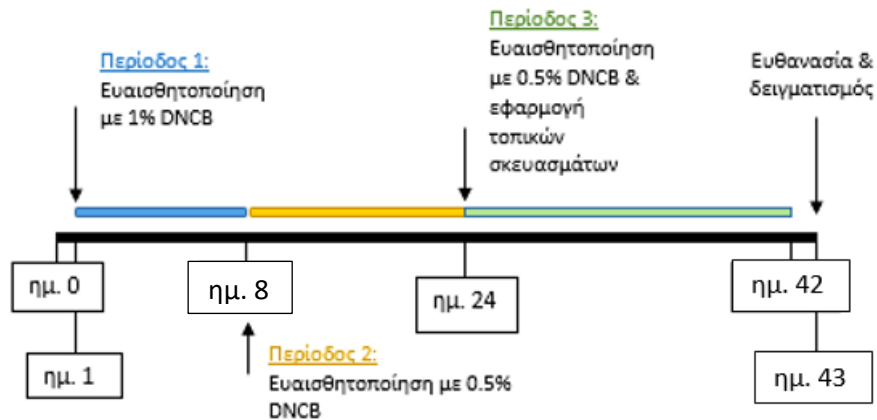
**Ομάδα 4 – τοπικό σκεύασμα 3:** 8 μύες, επαλείφθηκαν με DNCB και το τοπικό σκεύασμα 3.

**Ομάδα 5 – τοπικό σκεύασμα 4:** 8 μύες, επαλείφθηκαν με DNCB και το τοπικό σκεύασμα 4.

Το παρακάτω πρωτόκολλο αδειοδοτήθηκε από την Δν/ση Αγροτικής και Κτηνιατρικής Πολιτικής Τμήμα ΚΑΦΕ, Περιφέρειας Αττικής.

#### Μεθοδολογία<sup>145-147</sup>

1. **Εγκλιματισμός:** Τα ποντίκια ηλικίας 6-8 εβδομάδων, χωρίζονται σε ομάδες και τοποθετούνται στον χώρο πειραματισμού και αφήνονται να εγκλιματιστούν για 7 ημέρες (ημ. -6,0).
2. **Σήμανση μυών/Μετρήσεις Baseline:** Την ημ. 0 γίνεται η σήμανση των μυών με κόψιμο των αυτιών και μετρήθηκαν οι τιμές βάσης.
3. **Περίοδος 1<sup>η</sup>, ευαισθητοποίηση (ημ. 1-7):** Πραγματοποιούνται επαλείψεις σε όλη τη ράχη των μυών με 100μl 1% δ/μα DNCB, καθημερινά για 7 ημέρες (ημ. 1-7).
4. **Περίοδος 2<sup>η</sup>, εκδήλωση (ημ. 8-23):** Από την ημ. 8 πραγματοποιούνται επαλείψεις με 100μl 0,5% δ/μα DNCB, 3 φορές την εβδομάδα μέχρι την ημ. 43. Η ομάδα των μαρτύρων επαλείφονται με 100μl ακετόνη.
5. **Περίοδος 3<sup>η</sup>, θεραπεία & εκδήλωση (ημ. 24-42):** Από την ημέρα 24 καθημερινά, εφαρμόζεται τοπικό σκεύασμα σε όλη την ραχιαία περιοχή με δόση 5mg/cm<sup>2</sup> (δηλ. ~0.065g προϊόντος). Το πρόγραμμα των επαλείψεων με DNCB συνεχίζεται κανονικά όπως την περίοδο 2. Σε ημέρα που πρέπει να γίνει επάλειψη DNCB, πρώτα εφαρμόζεται το DNCB και μετά από 6 ώρες το σκεύασμα.
6. **Θυσία και δειγματισμός:** την ημ. 43 πραγματοποιούνται αιμοληψίες, οι θυσίες των ζώων και ο δειγματισμός των δερματικών ιστών για ιστοπαθολογική ανάλυση.



### Μετρήσεις

Οι μετρήσεις που πραγματοποιήθηκαν ήταν:

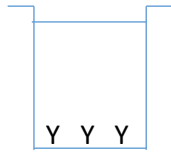
- Ερυθρότητα/Μελανίνη, με το Courage + Khazaka, Mexameter® MX 18
- Ενυδάτωση, με το Courage + Khazaka, Corneometer CM 820
- Άδηλη απώλεια νερού (TEWL), με το Courage + Khazaka, Tewameter TM 210
- pH, με το Callegari Soft Plus
- Πάχος δέρματος, με το ηλεκτρονικό παχύμετρο Casio

Επίσης λαμβανόταν φωτογραφίες για την παρακολούθηση της κλινικής εικόνας.

### 2.3.1 ELISA

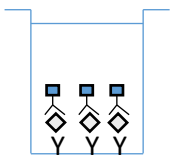
Σε αυτήν την πειραματική διαδικασία χρησιμοποιήθηκε το kit της affymetrix eBioscience, Mouse IL-6 Platinum ELISA (τύπου Ready-to-use Sandwich Elisa).

#### Αρχή της μεθόδου



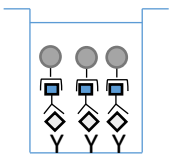
Y Αντίσωμα επίστρωσης

Η πλάκα της ELISA αποτελείται 96 (8x12) μικρά πηγαδάκια (Εικόνα). Τα πηγαδάκια αυτά είναι επικαλυμμένα με αντισώματα (Y) anti-mouse IL-6.



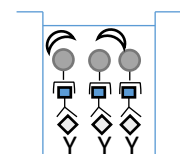
◇ Συζευγμένη βιοτίνη  
■ Το πρότυπο ή το δείγμα

**1<sup>η</sup> επώαση:** Η IL-6 του δείγματος ή του πρότυπου διαλύματος άπτεται στα αντισώματα που καλύπτουν τα πηγαδάκια. Σε αυτό το σημείο προστίθεται συζευγμένη βιοτίνη που δεσμεύεται πάνω στην IL-6.



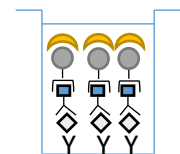
● Στρεπταβιδίνη-HRP

**2<sup>η</sup> επώαση:** Στο στάδιο αυτό η συζευγμένη βιοτίνη που δεν έχει συνδεθεί με κάποια IL-6 απομακρύνεται με το στάδιο της πλύσης. Μετά προστίθεται στρεπταβιδίνη-HRP η οποία προσδένεται πάνω από το σύμπλοκο συζευγμένης βιοτίνης/IL-6/αντίσωμα.



⤿ Υπόστρωμα

**3<sup>η</sup> επώαση:** Ομοίως, η μη δεσμευμένη στρεπταβιδίνη-HRP απομακρύνεται με έκπλυση και έπειτα προστίθεται ένα διάλυμα υποστρώματος που αντιδρά με το HRP.



☺ Υπόστρωμα που έχει αντιδράσει

Το υπόστρωμα που αντιδρά με το HRP χρωματίζεται επιτρέποντας έτσι την ποσοτικοποίηση της IL-6 που βρίσκεται στο δείγμα ή το πρότυπο. Η αντίδραση τερματίζεται με την προσθήκη οξέος και η απορρόφηση μετριέται στα 450nm. Για την ακριβή ποσοτικοποίηση της IL-6 στα δείγματα, στήνεται και χρησιμοποιείται μια καμπύλη αναφοράς των απορροφήσεων των 7 προτύπων διαλυμάτων IL-6.

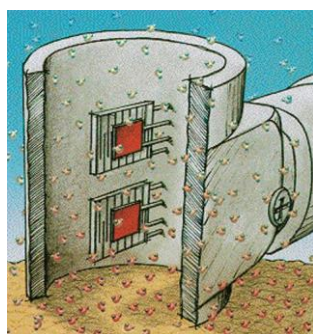
### 2.3.2 Όργανα μετρήσεων

#### 2.3.2.1 Soft plus, Callegari - pH

Το ηλεκτρόδιο του οργάνου είναι τύπου double cell, με ακρίβεια  $\pm 1\%$ . Η κλίμακα του pH είναι από 0 (όξινο)-14 (βασικό)<sup>148</sup>.

#### 2.3.2.2 Tewameter TM 210, Courage + Khazaka - Άδηλη απώλεια νερού

Η άδηλη απώλεια νερού (TEWL) αποτελεί μια φυσιολογική λειτουργία του δέρματος. Παρόλα αυτά σε περίπτωση που το δέρμα υποστεί έστω και μια μικρή βλάβη, η απώλεια αυξάνεται δίνοντας έτσι την δυνατότητα εκτίμησης της κατάστασης του δέρματος μέσω της μέτρησης της TEWL. Ο υπολογισμός της πυκνότητας εξάτμισης νερού γίνεται έμμεσα από τους δύο αισθητήρες που διαθέτει το Tewameter (Εικόνα 27), έναν για την θερμοκρασία και έναν για την σχετική υγρασία μέσα σε έναν κενό κύλινδρο. Η μονάδα μέτρησης των αποτελεσμάτων είναι  $g/h/m^2$ .



Εικόνα 27: Σχηματική απεικόνιση του αισθητήρα του Tewameter<sup>149</sup>

#### 2.3.2.3 Corneometer CM 820, Courage + Khazaka - Ενυδάτωση

Ο υπολογισμός της ενυδάτωσης με το Corneometer βασίζεται στην μεταβολή της διηλεκτρικής σταθεράς του δέρματος. Η μέτρηση της ενυδάτωσης αναφέρεται στα 10-20 $\mu m$  της ακανθωτής στιβάδας ώστε να μην επηρεαστεί από την αιματική κυκλοφορία<sup>150</sup>. Το εύρος αβεβαιότητας των μετρήσεων είναι  $\pm 3\%$ , οι μονάδες μέτρησης είναι αυθαίρετες και η κλίμακα είναι από 0 (καθόλου νερό) μέχρι 120.<sup>151</sup> Οι μετρήσεις που χρησιμοποιήθηκαν στα αποτελέσματα προέκυψαν από τον μέσο όρο τριών διαδοχικών μετρήσεων κοντινών περιοχών. Η μέτρηση του ίδιου ακριβώς σημείου θα οδηγούσε σε λανθασμένα αποτελέσματα λόγω εγκλεισμού.<sup>151</sup>

#### 2.3.2.4 Mexameter MX 18, Courage + Khazaka - Ερυθρότητα, Μελανίνη

Το όργανο Mexameter MX 18 βασίζεται στην αρχή της απορρόφησης και της διάθλασης. Ο αισθητήρας του οργάνου εκπέμπει 3 μήκη κύματος, ένας δέκτης μετράει πόσο φως διαθλάσθηκε από το δέρμα και μέσω αυτού υπολογίζει πόσο απορροφήθηκε από το δέρμα. Η μελανίνη υπολογίζεται από συγκεκριμένα μήκη κύματος προσεχτικά επιλεγμένα ώστε να ανταποκρίνονται στα διάφορα επίπεδα απορρόφησης των χρωστικών και η ερυθρότητα αντίστοιχα υπολογίζεται από το φάσμα μέγιστης απορρόφησης της αιμοσφαιρίνης ώστε να αποφευχθούν άλλες χρωματικές επιδράσεις. Το εύρος αβεβαιότητας των μετρήσεων είναι  $\pm 5\%$ , οι μονάδες μέτρησης είναι αυθαίρετες και η κλίμακα είναι από 0-999 για την μελανίνη και το ερύθημα.<sup>152</sup>

## Κεφάλαιο 3<sup>ο</sup>: Αποτελέσματα

Όλες οι στατιστικές αναλύσεις των αποτελεσμάτων έγιναν με μη παραμετρικό έλεγχο Mann-Whitney, στο πρόγραμμα SPSS με διάστημα εμπιστοσύνης 95%. Καθώς το πλήθος της ομάδας μετρήσεων (δηλ. το πλήθος μυών για κάθε ομάδα ελέγχου) ήταν μικρός στα διαγράμματα χρησιμοποιείται η διάμεση τιμή.

### 3.1 Πείραμα 1<sup>ο</sup>

Περληπτικά:

- 20♀ SKH-hr2 και 20♀ SKH-hr1
- 2 ομάδες ο κάθε τύπος: Ατοπικά (επαλείψεις DNCB), μάρτυρες (επαλείψεις με ακετόνη)
- **Στόχος:** Επίτευξη ΑΔ & επιλογή του καταλληλότερου τύπου μυών

#### 3.1.1 Κλινική εικόνα

##### 3.1.1.1 SKH-2 & SKH-1 [DNCB]

Αμέσως μετά και την πρώτη επάλειψη το δέρμα των μυών κοκκινίζει και τα πρώτα εμφανή σημάδια ξηροδερμίας και απολέπισης παρουσιάζονται την 3-4<sup>η</sup> ημέρα, συνοδευόμενα με έντονη ερυθρότητα κοντά στις περιοχές αυτές (Εικόνα 28, 29, 31, 32). Η εικόνα χειροτερεύει αισθητά μέχρι και την 7<sup>η</sup> ημέρα όπου οι βλάβες είναι εκδηλωμένες στο μέγιστο βαθμό. Παρατηρούνται και στις δυο ομάδες που επαλείφονται DNCB, έντονη και εκτεταμένη απολέπιση σε όλη την περιοχή της ράχης, έντονη πάχυνση και ερυθρότητα. Σε συνέχεια την 9<sup>η</sup> ημέρα (δεύτερη φάση επαλείψεων ημ. 8-42) οι απολεπίσεις έχουν απομακρυνθεί και παρατηρούνται μόνο κατά τόπους μικρές πληγές. Το δέρμα είναι ακόμα πεπαχυμένο, έντονα ξηρό και ερυθρό.

Κάτι που παρατηρήθηκε γενικά από την ημέρα 14<sup>η</sup> και μετά, είναι ότι η κατάσταση του δέρματος είναι βελτιωμένη την ημέρα της επάλειψης, γεγονός που υποδηλώνει αυτοϊαση των μυών. Επίσης, ενώ μέχρι τώρα η πορεία των SKH-2 και των SKH-1 είναι ίδια, τα SKH-2 αρχίσαν να παρουσιάζουν υπερμελανώσεις σε διάφορα σημεία της ράχης, οι οποίες με το πέρασμα των ημερών γίνονταν πιο έντονες (Εικόνα 28, 29 ημέρα 23-42).

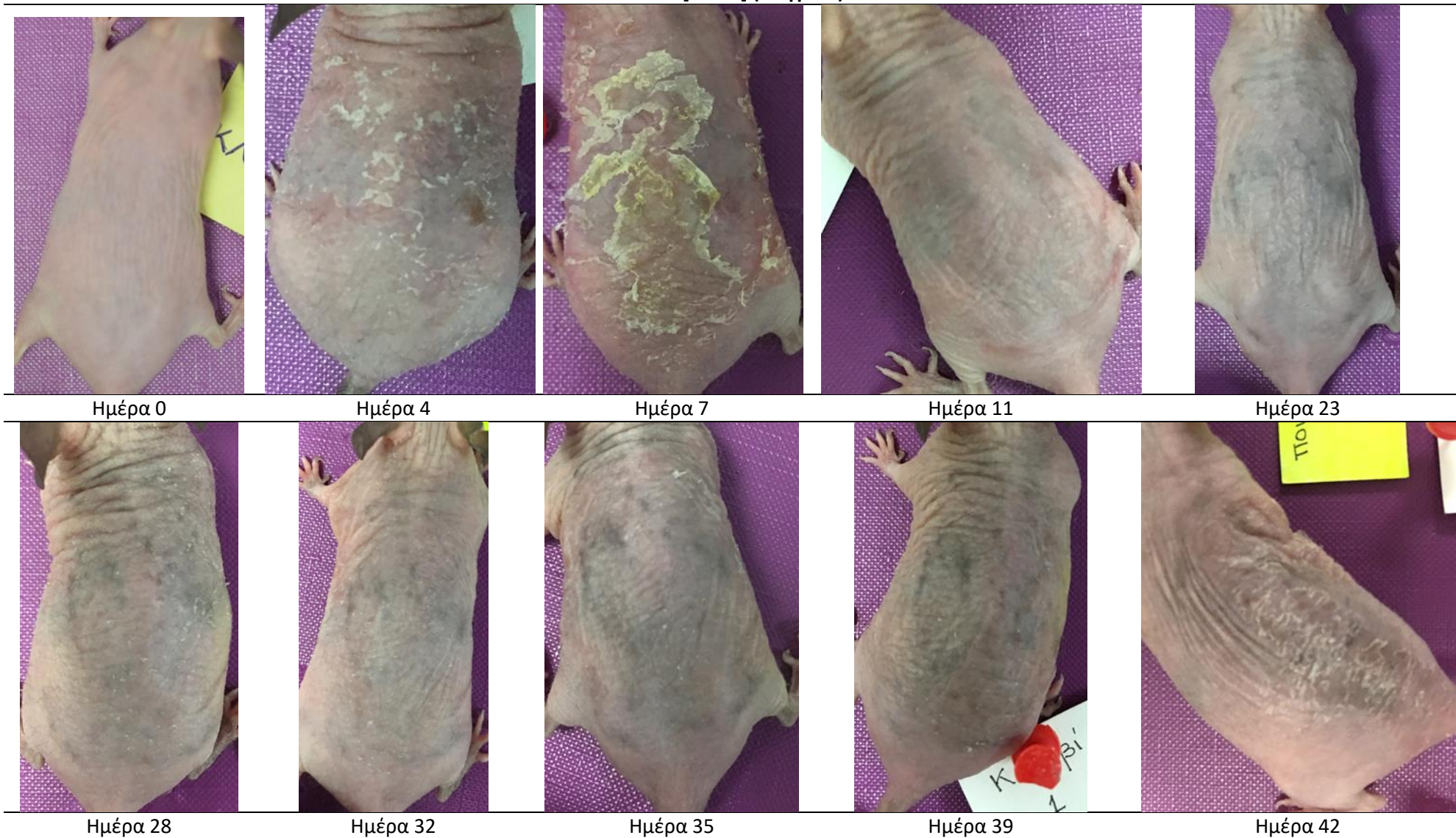
Την περίοδο 14<sup>η</sup>-26<sup>η</sup> ημέρα και οι δυο ομάδες παρουσίασαν μια ραγδαία καλυτέρευση, με μείωση της ερυθρότητας και της ξηρότητας του δέρματος. Από την 28<sup>η</sup> ημέρα άρχισε πάλι να εμφανίζονται πιο εντοπισμένες ξηροδερμίες και απολέπιση. Ειδικά τα SKH-1 είχαν πιο έντονες βλάβες που συνοδεύονταν με πληγές και λειχηνοποίηση. Την 39<sup>η</sup> μέρα στα SKH-1 παρατηρήθηκε έντονη ερυθρότητα, εκτεταμένες ξηροδερμίες, πάχυνση, πληγές, απολέπιση και λειχηνοποίηση. Τα SKH-2 επίσης παρουσίασαν χειρότερη εικόνα σε σύγκριση με τις προηγούμενες ημέρες, με ξηροδερμία, ερυθρότητα και πάχυνση άλλα δεν ήταν τόσο έντονες όσο των SKH-1. Επιπροσθέτως στην ομάδα των SKH-2 δεν παρατηρήθηκε λειχηνοποίηση.

Την τελική ημέρα οι δυο ομάδες συνεχίζουν να παρουσιάζουν διαφορά στην ένταση των βλαβών με τα SKH-1 να έχουν πιο έντονο οίδημα, ερυθρότητα, λειχηνοποίηση και απολέπιση.

##### 3.1.1.2 Μάρτυρες [Acetone] SKH-2 & SKH-1

Οι μάρτυρες και των δύο ομάδων καθόλη την διάρκεια του πειράματος δεν παρουσίασαν καμία αλλαγή στην κλινική εικόνα τους (Εικόνα 30 & 33).

SKH-2 [DNCB] (δείγμα 8)



Εικόνα 28: Η εξέλιξη της κλινικής εικόνας στο πείραμα 1<sup>ο</sup>-SKH-2 με DNCB (δείγμα 8)

SKH-2 [DNCB] (δείγμα 10)



Ημέρα 0

Ημέρα 4

Ημέρα 7

Ημέρα 11

Ημέρα 23



Ημέρα 28

Ημέρα 32

Ημέρα 35

Ημέρα 39

Ημέρα 42

Εικόνα 29: Η εξέλιξη της κλινικής εικόνας στο πείραμα 1<sup>ο</sup>-SKH-2 με DNCB (δείγμα 10)

SKH-2 Μάρτυρες [Acetone] (δείγμα 20)



Ημέρα 0

Ημέρα 4

Ημέρα 7

Ημέρα 11

Ημέρα 23



Ημέρα 28



Ημέρα 32



Ημέρα 35



Ημέρα 42

Εικόνα 30: Η εξέλιξη της κλινικής εικόνας στο πείραμα 1<sup>ο</sup>-SKH-2 μάρτυρες (δείγμα 20)



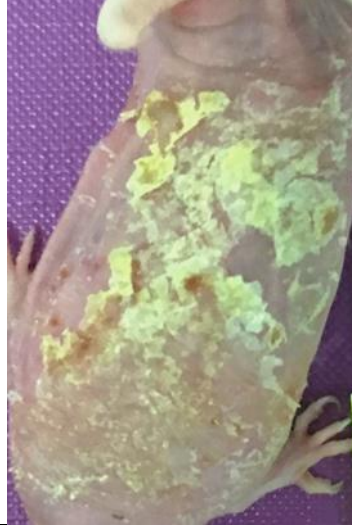
SKH-1 [DNCB] (δείγμα 29)



Ημέρα 0



Ημέρα 4



Ημέρα 7



Ημέρα 11



Ημέρα 23



Ημέρα 28



Ημέρα 32



Ημέρα 35



Ημέρα 39



Ημέρα 42

Εικόνα 31: Η εξέλιξη της κλινικής εικόνας στο πείραμα 1<sup>ο</sup>-SKH-1 με DNCB (δείγμα 29)

SKH-1 [DNCB] (δείγμα 32)



Ημέρα 0



Ημέρα 4



Ημέρα 7



Ημέρα 11



Ημέρα 23



Ημέρα 28



Ημέρα 32



Ημέρα 35



Ημέρα 39



Ημέρα 42

Εικόνα 32: Η εξέλιξη της κλινικής εικόνας στο πείραμα 1<sup>ο</sup>-SKH-1 με DNCB (δείγμα 32)

SKH-1 Μάρτυρες [Acetone] (δείγμα 35)



Ημέρα 0



Ημέρα 4



Ημέρα 7



Ημέρα 11



Ημέρα 23



Ημέρα 28



Ημέρα 32



Ημέρα 35



Ημέρα 42

Εικόνα 33: Η εξέλιξη της κλινικής εικόνας στο πείραμα 1<sup>ο</sup>-SKH-1 μάρτυρες (δείγμα 35)

### 3.1.2 Ιστοπαθολογικά αποτελέσματα

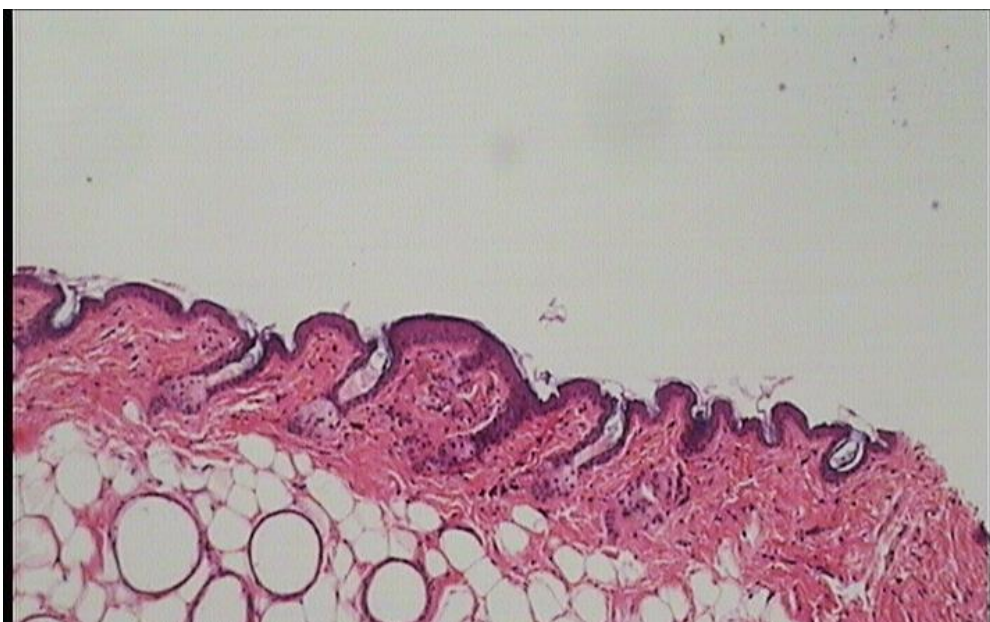
Παρακάτω, για την ευκολότερη περιγραφή της έντασης των παρατηρήσεων θα χρησιμοποιηθεί η κλίμακα 0-3, με 0 (καθόλου), 1 (ήπια), 2 (μέτρια) και 3 (πολύ έντονη).

#### 3.1.2.1 SKH-2



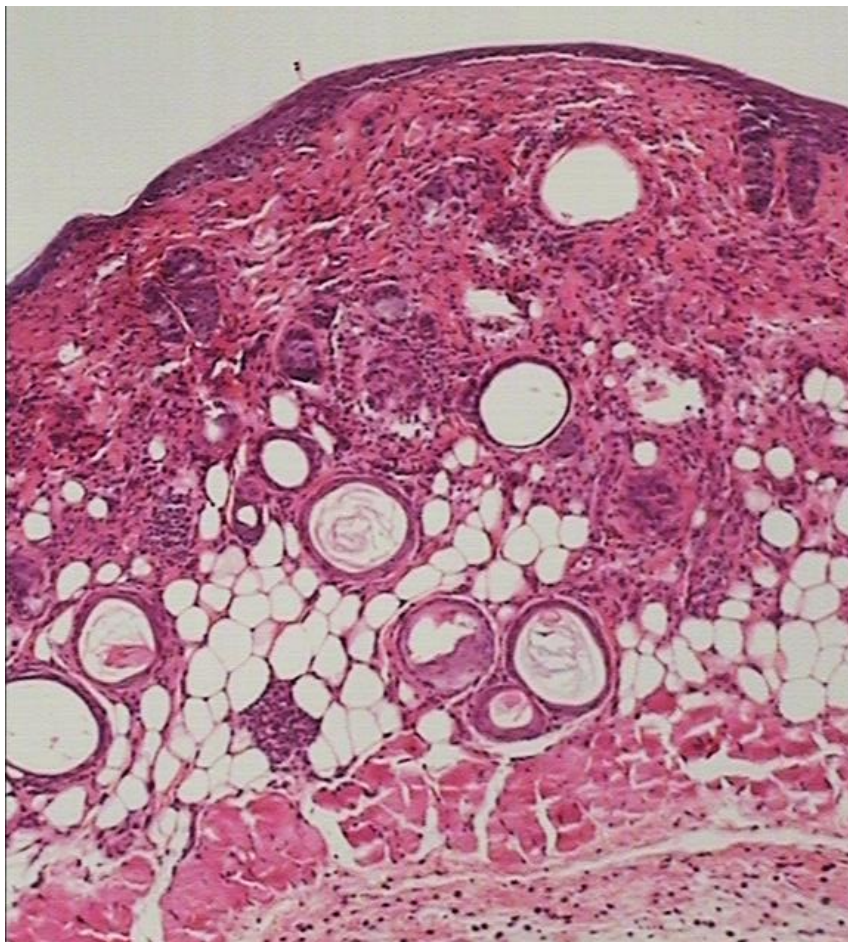
Εικόνα 34: Ιστοπαθολογική εικόνα (x100) στο πείραμα 1<sup>ο</sup>-SKH-2 [DNCB] (δείγμα 8)

Ιστοπαθολογικά τα SKH-2 με DNCB (Εικόνα 34) παρουσιάζουν έντονη, βαθιά και επιφανειακή φλεγμονή (2+) και ελαφριά υπερκεράτωση (0-1). Σε αντίθεση οι μάρτυρες των SKH-2 που επαλείφθηκαν με ακετόνη παρουσιάζουν μόνο μια ελαφριά φλεγμονή (0-1) (Εικόνα 35).



Εικόνα 35: Ιστοπαθολογική εικόνα (x100) στο πείραμα 1<sup>ο</sup>-SKH-2 μάρτυρες [acetone] (δείγμα 20)

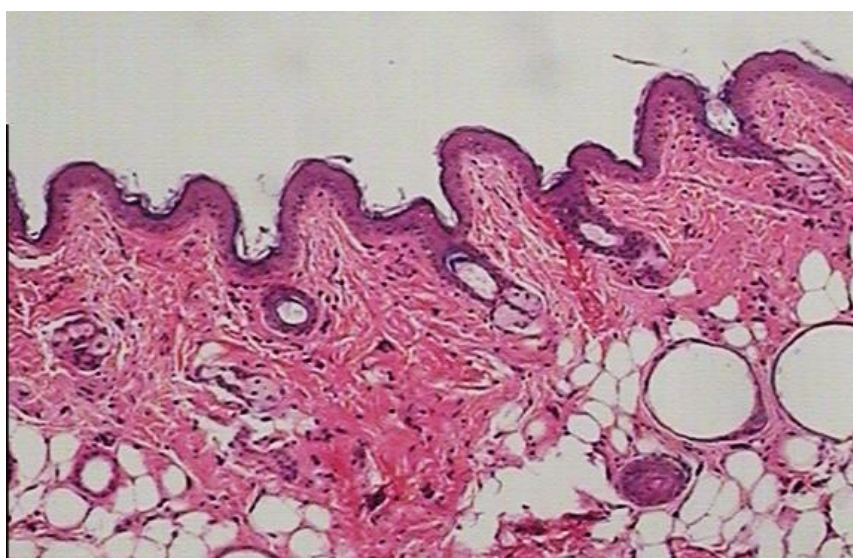
### 3.1.2.2 SKH-1



Εικόνα 36: Ιστοπαθολογική εικόνα (x100) στο πείραμα 1<sup>ο</sup>-SKH-1 [DNCB] (δείγμα 29)

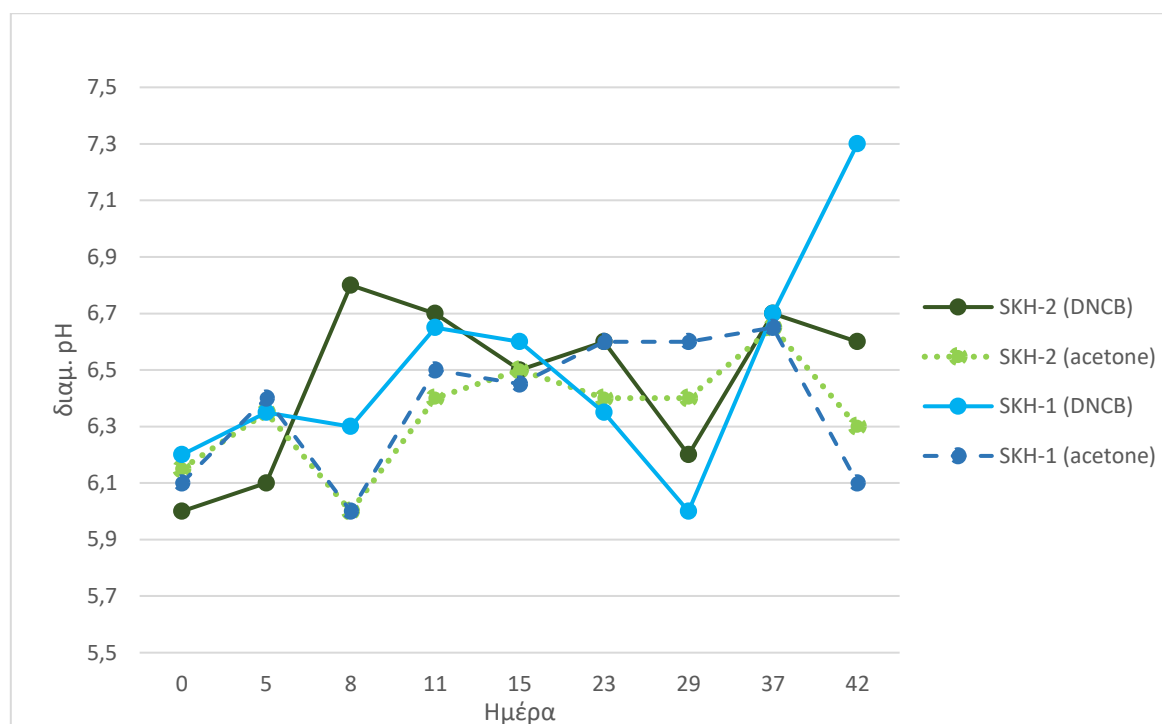
Στα SKH-1 με DNCB (Εικόνα 36) ιστοπαθολογικά παρατηρήθηκε έντονη ενεργή φλεγμονή επιφανειακά και στο χόριο (3+), υπερκεράτωση (1), πάχυνση (2), λειχηνοποίηση (2) και παρουσία λεμφοκυττάρων και πολυμορφοπύρηνων (2). Οι μάρτυρες των SKH-1 (Εικόνα 37) παρουσίασαν υγιή εικόνα.

Αξίζει να σημειωθεί ότι σε όλα τα δείγματα, SKH-1 & -2, δεν παρατηρήθηκαν ηωσινόφυλλα.



Εικόνα 37: Ιστοπαθολογική εικόνα (x100) στο πείραμα 1<sup>ο</sup>-SKH-1 μάρτυρες (δείγμα 35)

### 3.1.3 pH



Διάγραμμα 1: Οι διάμεσοι των μετρήσεων pH για το πείραμα 1<sup>ο</sup> (ημ. 0-42)

Κατά την έναρξη του πειράματος το pH κυμάνθηκε από 6-6,2 (Διάγραμμα 1). Την πρώτη περίοδο επαλείψεων (ημ. 1-7) παρατηρείται μια αύξηση του pH όμοια για της ομάδες SKH-1 με DNCB και μάρτυρες SKH-1 &-2, ενώ τα SKH-2 παρουσιάζουν αύξηση αλλά όχι τόσο γρήγορη όσο οι άλλες ομάδες.

Στην δεύτερη περίοδο επαλείψεων (ημ. 8-42) οι μάρτυρες ξεκίνησαν από την ίδια διάμεση τιμή (pH 6, ημ. 8) και στη συνέχεια παρουσίασαν μια παράλληλη πορεία αύξησης χωρίς να ξεπερνάνε pH 6,6.

Τα SKH-1 [DNCB] στην αρχή της 2<sup>ης</sup> περιόδου (ημ. 8) επαλείψεων είχαν πολύ μικρότερη διάμεση τιμή από αυτή των SKH-2 [DNCB], της μέχρι και την μέτρηση της 37<sup>ης</sup> ημέρας παρουσίασαν μια όμοια πορεία. Στην τελική μέτρηση της 42<sup>ης</sup> ημέρας τα SKH-1 παρουσίασαν την μεγαλύτερη διάμεση τιμή (pH 7,3) από όλες τις ομάδες και ημέρες. Γενικότερα οι διάμεσες τιμές του pH των μυών που επαλείφθηκαν με DNCB ήταν σχετικά μεγαλύτερες με εξαίρεση την ημέρα 29.

**Πίνακας 6:** Μετρήσεις pH για το πείραμα 1° SKH-2 (DNCB)

PH SKH-2 (DNCB)									
	Ημέρα πειραματισμού								
Δείγμα	0	5	8	11	15	23	29	37	42
5	5,6	6,7	6,9	6,7	6,3	6,2	6,2	6,9	6,2
6	6,2	6,4	7,2	6,8	6,7	7,1	6,8	7,4	6,5
7	6,3	6,1	7	6,7	6,4	7	5,8	6,6	6,6
8	5,8	5,9	6,8	6,4	6,5	6,9	6	6,9	6,6
9	5,4	6,6	6	5,7	6,5	6,6	6,5	6,8	6,2
10	6	5,9	6,6	7,1	6,2	6,7	6,1	6,7	6,8
11	6,5	6	7,4	6,5	6,9	6,4	6,9	6,7	7,1
12	6,1	6,4	6,6	6,4	6,5	5,6	5,5	6,4	6,7
13	6	6	6,7	6,8	6,3	6,1	6,6	6,7	6,2

**Πίνακας 7:** Μετρήσεις pH για το πείραμα 1° SKH-2 (Μάρτυρες/Acetone)

PH SKH-2 (Μάρτυρες/Acetone)									
	Ημέρα πειραματισμού								
Δείγμα	0	5	8	11	15	23	29	37	42
14	6,7	5,7	6	6	6,6	6,1	6,6	6,6	6,6
15	6,1	6,1	6,2	6,5	6,6	6,4	6,1	6,3	6,1
16	6,7	6,3	5,9	6,4	6,9	6,4	5,9	6,9	6,4
17	5,6	7,5	6,4	6,4	6,5	6,4	6,9	6,7	6,7
18	6,5	6,2	6	6,4	6,3	6,2	6,3	6,8	6,2
19	5,5	7,1	6	6,5	6	6,5	6,1	6,8	5,5
20	6,3	7,5	5,7	6,4	6,3	6,9	6,4	6,4	6,5
21	6,2	6,4	5,9	6,4	6,4	6,5	6,4	6,5	6,4
22	5,5	6,6	6,5	6,3	6,5	6,8	6,6	6,6	6,2
23	5,6	6,1	6,1	6,3	6,7	5,7	6,4	6,7	5,4

**Πίνακας 8:** Μετρήσεις pH για το πείραμα 1° SKH-1 (DNCB)

PH SKH-1 (DNCB)									
	Ημέρα πειραματισμού								
Δείγμα	0	5	8	11	15	23	29	37	42
24	6,5	7,5	6,2	6,7	7	6,3	7	6,8	7,3
25	6,7	6,4	7,2	6,4	6,6	7,9	5,6	6,5	7,8
26	6,2	7,5	6,3	6,6	6,9	6,5	7,1	6,5	7,3
27	6,2	6,1	6,3	6,2	6,2	6	5,7	6,3	7,5
28	6,1	7,1	5,9	7,9	6,6	6,1	5,7	7,4	7,2
29	6,5	6,1	5,9	7,4	6,7	6,4	6,2	7,1	6,3
30	5,3	6,3	7,1	6,6	6,2	7	5,7	7,5	7,3
31	6,6	6,2	6,4	6,6	6,6	6,1	6	7,3	7
32	5,4	6,6	6,8	6,8	6,7	6,3	7,1	6,6	6,4
33	5,6	5,7	6,1	6,9	6,2	6,5	6	6,5	7,6

Πίνακας 9: Μετρήσεις pH για το πείραμα 1° SKH-1 (Μάρτυρες/Acetone)

PH	SKH-1 (Μάρτυρες/Acetone)								
	Ημέρα πειραματισμού								
Δείγμα	0	5	8	11	15	23	29	37	42
34	6,3	6,8	6,5	6,7	6,4	6,6	6,9	7	6,3
35	5,9	6,8	6,3	6,7	6	6,8	6,5	7	6
36	5,5	6,3	6	6,4	6,4	6,9	6,7	6,6	5,4
37	5	7,3	5,9	6,5	6,6	6,7	6,5	6,6	5,8
38	5,8	6,4	5,8	6,9	6,9	6,6	6,5	7	6,2
39	6,7	6,1	6,2	6,4	6,2	5,7	5,6	6,9	6,1
40	6,8	5,9	5,7	6,5	6,4	6,4	6,8	6,4	6,1
41	5,4	6,4	6	6,2	6,8	6,9	7	6,5	6,5
42	6,8	6,8	6,1	6,6	6,5	6,4	6,7	6,5	6,4
43	7	6,1	5,8	6,3	6,6	6,3	6,3	6,7	6,1

### 3.1.3.1 Στατιστική ανάλυση μετρήσεων pH

#### SKH-2 [DNCB] Vs SKH-2 Μάρτυρες [Acetone]

Συγκρίνοντας στατιστικά τις ομάδες SKH-2 μάρτυρες και των μυών που επαλείφθηκαν με DNCB, παρουσιάστηκε στατιστικά σημαντική διαφορά σημαντική διαφορά μόνο τις ημέρες 8 και 11. Ειδικά την ημ. 8 παρουσιάστηκε στατιστικά πολύ σημαντική διαφορά με p-value <0,001 (Πίνακας 10). Με εξαίρεση τις δυο πρώτες διάμεσες μετρήσεις pH, οι τιμές ήταν μεγαλύτερες για την ομάδα των SKH-2 [DNCB].

Πίνακας 10: Στατιστική σύγκριση των ομάδων SKH-2 [DNCB] & SKH-2 Μάρτυρες [Acetone]-πείραμα 1°

Ημέρα	SKH-2 [DNCB]	SKH-2 [Acetone]	p-value
	Διαμ. pH	Διαμ. pH	
0	6,0	6,15	0,661
5	6,1	6,35	0,278
8	6,8	6,0	<0,001
11	6,7	6,4	0,043
15	6,5	6,5	0,780
23	6,6	6,4	0,497
29	6,2	6,4	0,661
37	6,7	6,65	0,211
42	6,6	6,3	0,095
Μεταβολή (ημ. 0-42)	10%	2,44%	

#### SKH-1 [DNCB] Vs SKH-1 Μάρτυρες [Acetone]

Αντίστοιχα στην στατιστική σύγκριση των δυο ομάδων μυών SKH-1 (Μάρτυρες και DNCB) παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά τις ημέρες 8 και 42. Ειδικά την ημ. 42 παρουσιάστηκε στατιστικά πολύ σημαντική διαφορά με p-value <0,001 (Πίνακας 11). Στην περίπτωση των SKH-1 οι μάρτυρες παρουσίασαν μεγαλύτερο pH από τα SKH-1 [DNCB] τις ημέρες 5, 23 και 29 χωρίς όμως στατιστικά σημαντικές διαφορές.



**Πίνακας 11:** Στατιστική σύγκριση των ομάδων SKH-1 [DNCB] & SKH-1 Μάρτυρες [Acetone]-πείραμα 1<sup>ο</sup>

Ημέρα	SKH-1 [DNCB]	SKH-1 [Acetone]	p-value
	Διαμ. pH	Διαμ. pH	
0	6,2	6,1	0,739
5	6,35	6,4	0,971
8	6,3	6,0	<b>0,043</b>
11	6,65	6,5	0,143
15	6,6	6,45	0,436
23	6,35	6,6	0,353
29	5,0	6,6	0,315
37	6,7	6,65	0,684
42	7,3	6,1	<b>&lt;0,001</b>
<b>Μεταβολή (ημ. 0-42)</b>	<b>17,4%</b>	<b>0%</b>	

### SKH-2 [DNCB] Vs SKH-1 [DNCB]

Συγκρίνοντας στατιστικά τις ομάδες SKH-2 [DNCB] και SKH-1 [DNCB] σημαντική διαφορά εντοπίστηκε μόνο στην τελική μέτρηση (ημ. 42), με τα SKH-1 να παρουσιάζουν μεγαλύτερο pH (Πίνακας 12).

**Πίνακας 12:** Στατιστική σύγκριση των ομάδων SKH-2 [DNCB] & SKH-1 [DNCB]-πείραμα 1<sup>ο</sup>

Ημέρα	SKH-2 [DNCB]	SKH-1 [DNCB]	p-value
	Διαμ. pH	Διαμ. pH	
0	6,0	6,2	0,400
5	6,1	6,35	0,278
8	6,8	6,3	0,095
11	6,7	6,65	0,549
15	6,5	6,6	0,447
23	6,6	6,35	0,607
29	6,2	5,0	0,720
37	6,7	6,7	0,905
42	6,6	7,3	<b>0,008</b>
<b>Μεταβολή (ημ. 0-42)</b>	<b>10%</b>	<b>27,74%</b>	

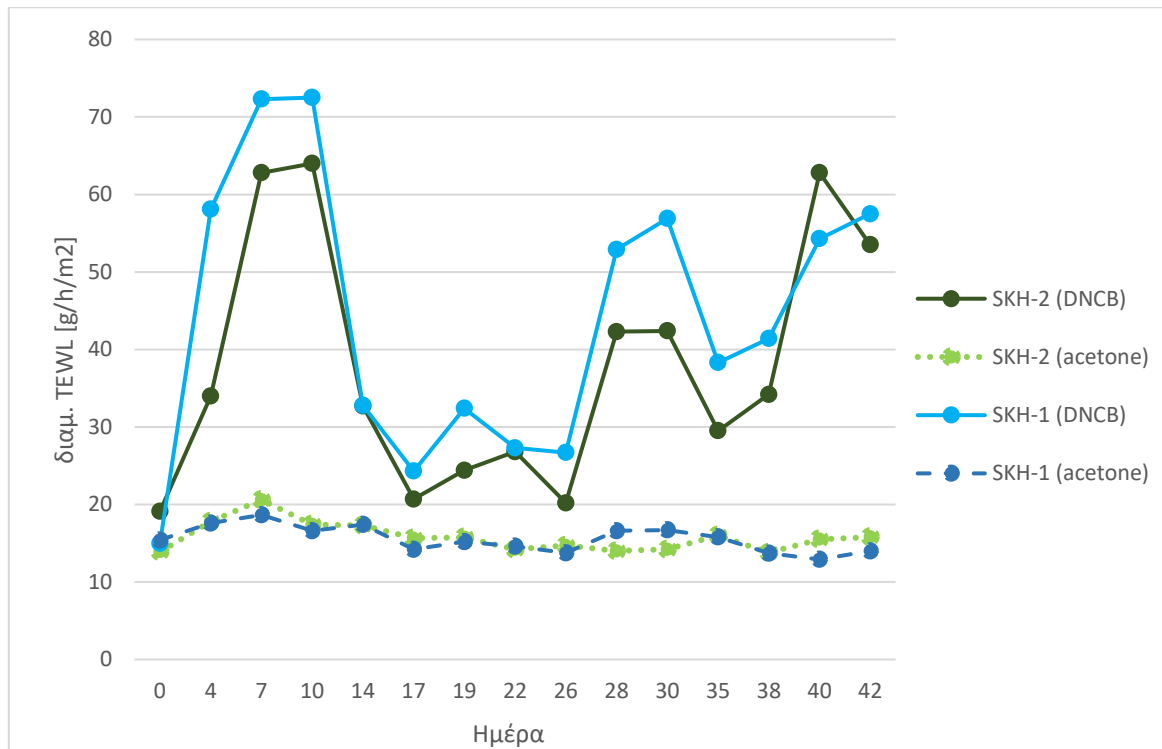
### SKH-2 Μάρτυρες [Acetone] Vs SKH-1 Μάρτυρες [Acetone]

Η στατιστική σύγκριση των δυο ομάδων μαρτύρων δεν παρουσίασε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ τους, όσον αφορά τις μετρήσεις pH (Πίνακας 13).

**Πίνακας 13:** Στατιστική σύγκριση των ομάδων SKH-1 [DNCB] & SKH-1 Μάρτυρες [Acetone]-πείραμα 1<sup>ο</sup>

Ημέρα	SKH-2 [Acetone]	SKH-1 [Acetone]	p-value
	Διαμ. pH	Διαμ. pH	
0	6,15	6,1	0,739
5	6,35	6,4	0,971
8	6,0	6,0	0,739
11	6,4	6,5	0,105
15	6,5	6,45	0,971
23	6,4	6,6	0,315
29	6,4	6,6	0,123
37	6,65	6,65	0,481
42	6,3	6,1	0,247
<b>Μεταβολή (ημ. 0-42)</b>	<b>2,44%</b>	<b>0%</b>	

### 3.1.4 TEWL



**Διάγραμμα 2:** Οι διαμέσοι των μετρήσεων της αόλης απώλειας νερού για το πείραμα 1° (ημ. 0-42)

Οι ομάδες ξεκίνησαν με κοντινές διαμέσες τιμές TEWL και για όλη την πορεία του πειράματος οι ομάδες που επαλειφόντουσαν με DNCB παρουσίασαν παράλληλη εξέλιξη, με τα SKH-1 να έχουν συνήθως μεγαλύτερες τιμές. Αντίστοιχα οι ομάδες μαρτύρων είχαν όμοια εξέλιξη, χωρίς να διαφοροποιούνται πολύ από τις αρχικές τους μετρήσεις.

Αξιοσημείωτο είναι ότι για τις μετρήσεις ημ. 17-26 παρατηρείται μια ραγδαία μείωση της TEWL για τις ομάδες SKH-1 & 2 [DNCB].

**Πίνακας 14:** Μετρήσεις TEWL για το πείραμα 1° SKH-2 (DNCB)

TEWL [g/h/m <sup>2</sup> ]	SKH-2 (DNCB)														
	Ημέρα πειραματισμού														
Δείγμα	0	4	7	10	14	17	19	22	26	28	30	35	38	40	42
5	22,2	40,8	67,8	77	32,7	19,2	25	23,4	20,3	35,6	30,2	37,9	37,1	74,3	39,3
6	15	34	46,5	75,5	63,3	25,5	39,2	27,3	18,9	40,1	52,2	34,1	49,3	68,1	33,1
7	18	25,7	62,8	58,6	19,1	18,5	20,1	21,2	20,2	42,3	62,9	26,1	28,3	51,9	68,1
8	20,2	37,8	51,5	63,4	32,7	26,7	18,7	38,5	25,4	75,6	30,8	28,9	41,7	66,2	57,3
9	21,8	28	76,5	63,3	37,6	20,4	26,6	20,2	21,3	46,3	42,4	29,6	32,5	62,8	26,2
10	23,2	49,8	88,2	64,7	43,8	20,7	22,8	29,7	28,3	41,1	44,3	10	23,9	57,4	59,4
11	15,3	32,7	45,7	74,5	27,8	18,2	18,6	22,2	19,6	38,3	41,1	28,5	36,7	52,8	53,5
12	14,5	33,2	70,4	46,5	31,2	20,7	31,5	31,3	17,5	60,4	48,2	29,5	26,6	52,8	37,9
13	23	52,7	50,6	73	23,6	22,7	24,4	26,8	20,1	53,4	38,1	31,7	34,2	73,1	65,6

**Πίνακας 15:** Μετρήσεις TEWL για το πείραμα 1° SKH-2 (Μάρτυρες/Acetone)

TEWL [g/h/m <sup>2</sup> ]		SKH-2 (Μάρτυρες/Acetone)													
		Ημέρα πειραματισμού													
Δείγμα	0	4	7	10	14	17	19	22	26	28	30	35	38	40	42
14	13,1	23,1	18,4	16,8	16,9	19,3	12,4	15,1	17,8	15,3	14,2	15,7	13,9	21,6	16,7
15	14,8	16,4	16,5	15,2	23,7	19,3	22,2	19	13,3	12,9	14,3	15,1	14,5	14,8	16,6
16	13,4	16,2	21,3	18	22,2	17,8	12,9	22,5	14,7	14,6	14,2	16,3	14,1	17,2	18,1
17	11,2	19,2	23,8	16,6	13,2	10,5	13	17	10,3	13,3	18,2	17,1	11,6	18,6	13,8
18	14,4	21,5	21,2	17,7	20,7	15,4	19,6	15,7	15,5	15,1	16,2	20,1	13,7	10,2	17,7
19	15,7	18,2	22,8	18	11,7	15	15,5	12,3	13,1	13,8	13,9	17,1	9,7	16,3	15,2
20	11,6	17,4	20	15,7	17,7	18,5	20,2	12,3	19,6	14,2	11,8	15,4	14,6	13,9	16,4
21	18,6	17,4	15,7	17,1	12,6	13,8	15,2	11,3	9,3	16,7	11,5	10,4	12	13,4	14,2
22	15,1	17,2	17,4	17,7	14,1	14,8	16	13,3	15,5	13,9	14,9	13,6	11,4	19,2	12,1
23	13,2	20,2	21,8	25,1	17,8	15,9	19,6	11	14,8	13,7	13,5	17,5	14,8	13,3	12,5

**Πίνακας 16:** Μετρήσεις TEWL για το πείραμα 1° SKH-1 (DNCB)

TEWL [g/h/m <sup>2</sup> ]		SKH-1 (DNCB)													
		Ημέρα πειραματισμού													
Δείγμα	0	4	7	10	14	17	19	22	26	28	30	35	38	40	42
24	13,2	46,6	91,3	72,3	53,7	20,7	37,7	27,5	26,8	60,5	56,9	57,5	36,9	57,7	84,3
25	13,2	71,6	-	74,2	40,8	22,8	27,5	27,1	22,8	40,3	56,9	28,3	45,7	46,6	71,6
26	15,9	68,8	56	27,3	33,3	23,7	51,7	37,7	26,6	36	38,2	25,7	37,1	42,1	49,8
27	14,8	49,8	55	74,2	32	24,8	26,1	16,4	22,5	47,5	49,5	38,5	29,6	73,4	55,8
28	23,2	41,9	51,9	70,5	45,5	46,1	32,7	22,1	22,3	51,3	95,3	36,1	57,7	31,2	49,7
29	15,3	59,6	87,2	52,5	26	23,8	32,1	35,5	29,5	54,4	69,1	43,2	37,5	58,1	57,7
30	12,6	54,4	85,1	59,5	25,7	19,5	24,4	26,6	24,8	51,4	53,6	73,6	56,3	66,8	78,2
31	18,2	61	72,3	72,8	32,3	25,2	27,7	28,8	34,6	73,4	117	38,1	32,7	41,3	51,4
32	14,1	64,4	34,4	75,6	43,5	39,9	34,2	25,1	35,3	64,4	54	37,1	45,3	54,3	63,5
33	15,2	56,7	75,3	79,6	30,9	29,5	33,9	43,7	27,9	57,1	82,6	50,1	46,5	54,3	57,8

Πίνακας 17: Μετρήσεις TEWL για το πείραμα 1° SKH-1 (Μάρτυρες/Acetone)

TEWL [g/h/m <sup>2</sup> ]	SKH-1 (Μάρτυρες/Acetone)														
	Ημέρα πειραματισμού														
Δείγμα	0	4	7	10	14	17	19	22	26	28	30	35	38	40	42
34	13,8	17,6	16,4	12,1	12,7	14,1	15,6	17,5	13,3	12,4	14	14,7	12,2	11,2	11,2
35	16,6	18,1	17	22,1	13,9	14,4	19,4	15,5	13,9	17,5	18,3	15,7	13,6	16,1	15,5
36	16,1	-	20,3	16,3	17,5	22	14,8	11,5	19,9	20,6	16,1	16	12,8	12,3	13
37	13,2	17,1	16,1	13,9	12,7	12,1	11,2	13,7	15,2	15,3	16,7	15,6	14,2	10,6	17,6
38	15,9	18,7	20,4	15	20,9	14,6	15,7	13,3	12,3	12,5	12,4	11,4	14,6	10,7	16,6
39	16,6	16,7	23,9	14,4	21,9	13,6	18,8	13,6	13,3	15,5	18	13,6	15,1	12,4	11,5
40	20,6	17,6	18,3	18,2	27,4	16,7	13,2	15,6	15	16,8	17,1	17,9	16,1	13,5	17,1
41	15	21,4	15,1	21,3	17,3	19,8	12,3	15,9	13,6	16,6	15,6	16,2	13,7	13,5	13,2
42	11,6	20,8	19	17	16,4	13,5	15,8	10,2	12,2	17,5	16,8	16,1	13,8	17,9	14,9
43	14,3	15,1	20,6	18,2	21,3	12,6	14,2	16,5	14,7	16,6	22,3	18,2	9,3	17	10,5

### 3.1.4.1 Στατιστική ανάλυση αποτελεσμάτων TEWL

#### SKH-2 [DNCB] Vs SKH-2 Μάρτυρες [Acetone]

Συγκρίνοντας στατιστικά τις ομάδες SKH-2 μάρτυρες και των μυών που επαλείφθηκαν με DNCB, παρουσιάστηκε στατιστικά σημαντική διαφορά σε όλες τις μετρήσεις. Ειδικά για τις ημέρες 4, 7, 10, 14, 17, 22, 26, 28, 30, 38, 40, 42 παρατηρήθηκε στατιστικά πολύ σημαντική διαφορά ( $p$ -value  $\leq 0,001$ ). Σε όλες τις μετρήσεις τα SKH-2 [DNCB] είχαν μεγαλύτερη TEWL από τους μάρτυρες (Πίνακας 18).

Πίνακας 18: Στατιστική σύγκριση των ομάδων SKH-2 [DNCB] & SKH-2 Μάρτυρες [Acetone] για TEWL- πείραμα 1°

Ημέρα	SKH-2 [DNCB]	SKH-2 [Acetone]	p-value
	Διαμ. TEWL	Διαμ. TEWL	
0	19,1	13,9	<b>0,002</b>
4	34,0	17,8	<b>&lt;0,001</b>
7	62,8	20,6	<b>&lt;0,001</b>
10	64,0	17,4	<b>&lt;0,001</b>
14	32,7	17,3	<b>&lt;0,001</b>
17	20,7	15,65	<b>0,001</b>
19	24,4	15,75	<b>0,003</b>
22	26,8	14,2	<b>&lt;0,001</b>
26	20,2	14,7	<b>&lt;0,001</b>
28	42,3	14,0	<b>&lt;0,001</b>
30	42,4	14,2	<b>&lt;0,001</b>
35	29,5	16,0	<b>0,003</b>
38	34,2	13,8	<b>&lt;0,001</b>
40	62,8	15,5	<b>&lt;0,001</b>
42	53,5	15,8	<b>&lt;0,001</b>
<b>Μεταβολή (ημ. 0-42)</b>	<b>180,10%</b>	<b>13,67%</b>	

### SKH-1 [DNCB] Vs SKH-1 Μάρτυρες [Acetone]

Αντίστοιχα τα SKH-1 [DNCB] παρουσίασαν στατιστικά πολύ σημαντικά μεγαλύτερη TEWL για τις μετρήσεις πλην της ημ. 0 από την ομάδα των μαρτύρων SKH-1 (Πίνακας 19).

Πίνακας 19: Στατιστική σύγκριση των ομάδων SKH-1 [DNCB] & SKH-1 Μάρτυρες [Acetone] για TEWL-πείραμα 1<sup>ο</sup>

Ημέρα	SKH-1 [DNCB]	SKH-1 [Acetone]	p-value
	Διαμ. TEWL	Διαμ. TEWL	
0	15	15,4	0,739
4	58,1	17,6	<0,001
7	72,3	18,65	<0,001
10	72,5	16,6	<0,001
14	32,8	17,4	<0,001
17	24,3	14,2	<0,001
19	32,4	15,2	<0,001
22	27,3	14,6	<0,001
26	26,7	13,75	<0,001
28	52,9	16,6	<0,001
30	56,9	16,7	<0,001
35	38,3	15,8	<0,001
38	41,4	13,7	<0,001
40	54,3	12,9	<0,001
42	57,5	14	<0,001
Μεταβολή (ημ. 0-42)	283,33%	-9,09%	

### SKH-2 [DNCB] Vs SKH-1 [DNCB]

Συγκρίνοντας στατιστικά τις ομάδες SKH-1 [DNCB] και SKH-2 [DNCB] παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στις (Πίνακας 20):

- Ημ. 0 με τα SKH-2 να παρουσιάζουν στατιστικά σημαντικά μεγαλύτερη TEWL από τα SKH-1
- Ημ. 4 με τα SKH-1 να παρουσιάζουν στατιστικά πολύ σημαντικά μεγαλύτερη TEWL από τα SKH-2
- Ημ. 17, 19, 26, 30, 35 με τα SKH-1 να παρουσιάζουν στατιστικά σημαντικά μεγαλύτερη TEWL από τα SKH-2

**Πίνακας 20:** Στατιστική σύγκριση των ομάδων SKH-2 [DNCB] & SKH-1 [DNCB] για TEWL-πείραμα 1°

Ημέρα	SKH-2 [DNCB]	SKH-1 [DNCB]	p-value
	Διαμ. TEWL	Διαμ. TEWL	
0	19,1	15	<b>0,043</b>
4	34,0	58,1	<b>&lt;0,001</b>
7	62,8	72,3	0,387
10	64,0	72,5	0,905
14	32,7	32,8	0,661
17	20,7	24,3	<b>0,043</b>
19	24,4	32,4	<b>0,017</b>
22	26,8	27,3	0,604
26	20,2	26,7	<b>0,004</b>
28	42,3	52,9	0,243
30	42,4	56,9	<b>0,006</b>
35	29,5	38,3	<b>0,022</b>
38	34,2	41,4	0,053
40	62,8	54,3	0,182
42	53,5	57,5	0,156
<b>Μεταβολή (ημ. 0-42)</b>	<b>180,10%</b>	<b>283,33%</b>	

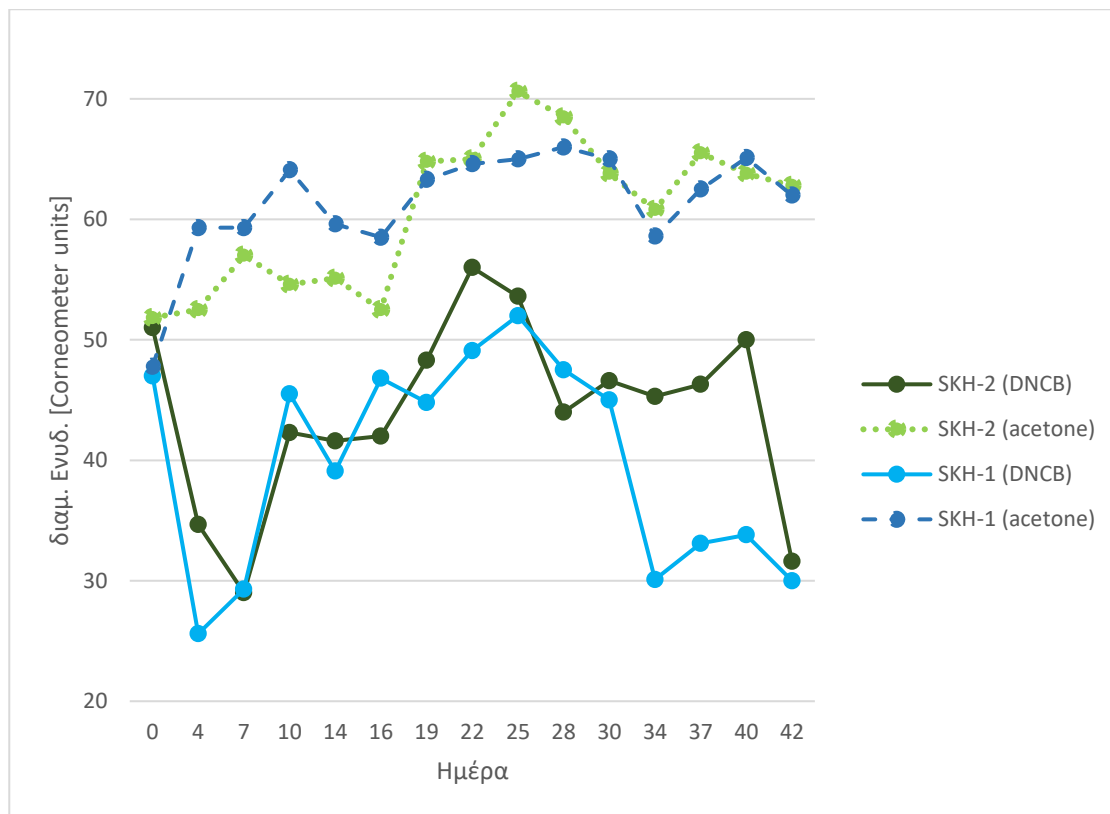
#### **SKH-2 Μάρτυρες [Acetone] Vs SKH-1 Μάρτυρες [Acetone]**

Από την στατική ανάλυση των ομάδων μαρτύρων προέκυψε ότι μόνο για την ημέρα 30 παρατηρείται στατιστικά σημαντική διαφορά με τα SKH-1 να παρουσιάζουν μεγαλύτερη TEWL από τα SKH-2 (Πίνακας 21).

**Πίνακας 21:** Στατιστική σύγκριση των ομάδων SKH-1 [DNCB] & SKH-1 Μάρτυρες [Acetone] για TEWL-πείραμα 1°

Ημέρα	SKH-2 [Acetone]	SKH-1 [Acetone]	p-value
	Διαμ. TEWL	Διαμ. TEWL	
0	13,9	15,4	0,190
4	17,8	17,6	0,780
7	20,6	18,65	0,315
10	17,4	16,6	0,579
14	17,3	17,4	0,739
17	15,65	14,2	0,315
19	15,75	15,2	0,315
22	14,2	14,6	1
26	14,7	13,75	0,739
28	14,0	16,6	0,052
30	14,2	16,7	<b>0,035</b>
35	16,0	15,8	0,769
38	13,8	13,7	0,631
40	15,5	12,9	0,123
42	15,8	14	0,280
<b>Μεταβολή (ημ. 0-42)</b>	<b>13,67%</b>	<b>-9,09%</b>	

### 3.1.5 Ενυδάτωση



Διάγραμμα 3: Οι διάμεσοι των μετρήσεων ενυδάτωσης για το πείραμα 1<sup>ο</sup> (ημ. 0-42)

Από το διάγραμμα 3 φαίνεται ότι η πορεία των μαρτύρων και αντίστοιχα των ομάδων του DNCB εξελίσσονται με όμοιο τρόπο. Οι ομάδες DNCB σημειώνουν μια μεγάλη μείωση ενυδάτωσης για την πρώτη περίοδο επαλείψεων (ημ. 1-7). Μετά παρατηρείται μια ανοδική τάση, αλλά πάντα σε μεγάλη απόσταση από τις αντίστοιχες ομάδες μαρτύρων. Την ημ. 34 ενώ τα SKH-2 [DNCB] παρουσιάζουν ένα πλατό στα επίπεδα ενυδάτωσης τα SKH-1 [DNCB] πέφτουν σε πολύ χαμηλά επίπεδα, όμοια με αυτά της πρώτης περιόδου. Παρόλα αυτά την ημέρα τελικής μέτρησης (ημ. 42) και τα SKH-2 [DNCB] παρουσιάζουν πολύ μειωμένη ενυδάτωση.

Οι ομάδες μαρτύρων παρουσίασαν ομοιότητες στην πορεία τους με τα SKH-1 [Acetone] να έχουν πιο υψηλά επίπεδα ενυδάτωσης από τα αντίστοιχα SKH-2 μέχρι την ημ. 19. Στην συνέχεια οι μετρήσεις τους ήταν πιο κοντινές και ήταν στα επίπεδα που είχαν τα SKH-1 [Acetone] την ημ. 19.

Η διαφορά των ομάδων DNCB και μαρτύρων ήταν σαφή σε όλες τις μετρήσεις. Την περίοδο ημ. 16-25 οι ομάδες DNCB παρουσίασαν βελτίωση με αυξημένες τιμές ενυδάτωσης όμοιας με των αρχικών μετρήσεων, σε σύγκριση με τους μάρτυρες πάλι ήταν πολύ χαμηλότερες αυτών.

Πίνακας 22: Μετρήσεις ενυδάτωσης για το πείραμα 1° SKH-2 (DNCB)

Ενυδ.	SKH-2 (DNCB)														
	Ημέρα πειραματισμού														
Δείγμα	0	4	7	10	14	16	19	22	25	28	30	34	37	40	42
5	46	33	31	42	42	56	48	56	54	42	51	36	40	44	27
6	56	29	25	41	42	37	37	55	48	47	44	46	44	50	42
7	59	38	41	42	46	46	60	59	50	50	56	36	46	50	36
8	56	32	29	37	38	41	42	49	48	43	34	41	41	53	23
9	46	35	22	50	36	36	55	59	56	41	43	45	34	40	32
10	52	26	46	47	47	42	48	56	62	44	55	53	53	55	33
11	55	41	12	56	41	56	45	55	51	40	53	40	55	52	31
12	50	35	17	53	45	49	69	59	77	46	44	47	56	46	26
13	47	36	29	42	44	40	46	61	59	49	47	48	57	45	35

Πίνακας 23: Μετρήσεις ενυδάτωσης για το πείραμα 1° SKH-2 (Μάρτυρες/Acetone)

Ενυδ.	SKH-2 (Μάρτυρες/Acetone)														
	Ημέρα πειραματισμού														
Δείγμα	0	4	7	10	14	16	19	22	25	28	30	34	37	40	42
14	44	52	60	55	56	51	72	72	74	73	69	60	58	64	66
15	50	52	55	45	50	48	55	69	75	72	49	69	65	61	66
16	52	59	57	56	61	53	64	55	67	59	69	62	65	64	64
17	42	48	61	47	52	56	75	60	70	80	54	63	66	64	61
18	56	55	53	47	43	52	64	72	65	69	59	52	66	61	62
19	58	51	57	60	64	56	66	61	76	65	67	57	68	60	62
20	52	55	58	54	60	48	57	59	63	59	53	60	65	65	59
21	57	56	64	59	55	58	77	73	68	65	63	56	62	69	58
22	52	50	56	60	55	56	55	79	82	75	79	73	75	57	73
23	59	53	55	48	49	46	78	57	71	68	64	65	72	71	63

Πίνακας 24: Μετρήσεις ενυδάτωσης για το πείραμα 1° SKH-1 (DNCB)

Ενυδ.	SKH-1 (DNCB)														
	Ημέρα πειραματισμού														
Δείγμα	0	4	7	10	14	16	19	22	25	28	30	34	37	40	42
24	51	34	26	26	37	53	51	64	45	36	50	37	40	30	22
25	55	26	13	35	41	45	36	43	48	45	16	45	31	36	33
26	47	31	43	47	33	45	45	46	58	53	50	50	48	45	35
27	46	18	24	44	34	35	45	49	54	46	40	32	35	37	22
28	26	19	23	37	41	46	36	50	55	55	22	39	35	33	30
29	47	26	43	53	37	48	47	62	45	57	28	24	36	39	40
30	39	25	38	57	63	52	74	50	57	48	54	27	32	23	34
31	45	28	33	50	45	49	47	44	55	49	56	27	32	35	18
32	54	23	17	40	34	35	41	43	36	35	23	29	13	31	21
33	51	32	45	53	44	48	40	53	50	47	64	26	29	26	30



**Πίνακας 25:** Μετρήσεις ενυδάτωσης για το πείραμα 1° SKH-1 (Μάρτυρες/Acetone)

Ενυδ.	SKH-1 (Μάρτυρες/Acetone)														
	Ημέρα πειραματισμού														
Δείγμα	0	4	7	10	14	16	19	22	25	28	30	34	37	40	42
34	42	47	61	50	60	58	70	82	90	66	67	49	57	82	60
35	48	59	62	67	60	58	64	59	74	74	53	58	73	72	67
36	54	64	62	66	60	61	63	55	92	64	75	84	61	65	60
37	50	69	62	74	79	64	69	69	68	75	69	65	66	77	72
38	43	54	58	69	67	54	73	68	83	60	67	76	74	74	72
39	48	60	50	70	59	50	62	52	56	69	45	72	62	65	61
40	51	53	52	53	49	59	60	64	58	64	63	53	76	62	61
41	49	52	48	58	54	60	65	66	62	61	56	59	62	57	63
42	44	61	64	54	65	72	63	52	60	68	55	56	63	61	56
43	39	63	55	63	58	52	61	65	52	66	78	56	59	63	65

### 3.1.5.1 Στατιστική ανάλυση αποτελεσμάτων Ενυδάτωσης

#### SKH-2 [DNCB] Vs SKH-2 Μάρτυρες [Acetone]

Συγκρίνοντας στατιστικά τις ομάδες SKH-2 μάρτυρες και των μυών που επαλείφθηκαν με DNCB, παρουσιάστηκε στατιστικά σημαντική διαφορά σε όλες τις μετρήσεις ενυδάτωσης πλην της ημ. 0. Ειδικά για τις ημέρες 4, 7, 14, 28, 30, 34, 37, 40, 42 παρατηρήθηκε πολύ στατιστικά πολύ σημαντική διαφορά ( $p\text{-value} \leq 0,001$ ). Σε όλες τις μετρήσεις τα SKH-2 [DNCB] είχαν μικρότερη τιμή ενυδάτωσης από τους μάρτυρες (Πίνακας 26).

**Πίνακας 26:** Στατιστική σύγκριση των ομάδων SKH-2 [DNCB] & SKH-2 Μάρτυρες [Acetone] για Ενυδάτωση-πείραμα 1°

Ημέρα	SKH-2 [DNCB]	SKH-2 [Acetone]	p-value
	Διαμ. Ενυδ.	Διαμ. Ενυδ.	
0	51	51,83	0,631
4	34,67	52,50	<0,001
7	29	57	<0,001
10	42,3	54,6	0,022
14	42,6	55,1	<0,001
16	42	52,5	0,028
19	48,3	64,8	0,002
22	56	65	0,013
25	53,6	70,6	0,002
28	44	68,5	<0,001
30	46,6	63,8	0,001
34	45,3	60,8	<0,001
37	46,0	65,5	<0,001
40	50	63,8	<0,001
42	31,6	62,8	<0,001
<b>Μεταβολή (ημ. 0-42)</b>	<b>-38,04%</b>	<b>21,17%</b>	

### SKH-1 [DNCB] Vs SKH-1 Μάρτυρες [Acetone]

Αντίστοιχα τα SKH-1 [DNCB] παρουσίασαν στατιστικά σημαντικά μικρότερη τιμή ενυδάτωσης για όλες τις μετρήσεις πλην της ημ. 0 από την ομάδα των μαρτύρων SKH-1 (Πίνακας 27). Ειδικά για τις ημέρες 4, 7, 10, 14, 16, 25, 28, 34, 37, 40, 42 παρατηρήθηκε στατιστικά πολύ σημαντική διαφορά (p-value  $\leq 0,001$ ).

Πίνακας 27: Στατιστική σύγκριση των ομάδων SKH-1 [DNCB] & SKH-1 Μάρτυρες [Acetone] για Ενυδάτωση-πείραμα 1<sup>ο</sup>

Ημέρα	SKH-1 [DNCB]	SKH-1 [Acetone]	p-value
	Διαμ. Ενυδ.	Διαμ. Ενυδ.	
0	47	47,8	0,853
4	25,6	59,3	<0,001
7	29,3	59,3	<0,001
10	45,5	64,1	<0,001
14	39,1	59,6	<0,001
16	46,8	58,6	<0,001
19	44,8	63,3	0,002
22	49,1	64,6	0,002
25	52	65	0,001
28	47,5	66	<0,001
30	45	65	0,004
34	30,1	58,6	<0,001
37	33,1	62,5	<0,001
40	33,8	65,1	<0,001
42	30	62	<0,001
Μεταβολή (ημ. 0-42)	-36,17%	29,71%	

### SKH-2 [DNCB] Vs SKH-1 [DNCB]

Συγκρίνοντας στατιστικά τις ομάδες SKH-1 [DNCB] και SKH-2 [DNCB] παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στις (Πίνακας 28):

- Ημ. 4, 34, 37 με τα SKH-1 να παρουσιάζουν στατιστικά σημαντικά μικρότερη τιμή ενυδάτωσης από τα SKH-2
- Ημ. 40 με τα SKH-1 να παρουσιάζουν στατιστικά πολύ σημαντικά μικρότερη τιμή από τα SKH-2

**Πίνακας 28:** Στατιστική σύγκριση των ομάδων SKH-2[DNCB] & SKH-1[DNCB] για Ενυδάτ.-πείραμα 1<sup>ο</sup>

Ημέρα	SKH-2 [DNCB]	SKH-1 [DNCB]	p-value
	Διαμ. Ενυδ.	Διαμ. Ενυδ.	
0	51	47	0,247
4	34,67	25,6	<b>0,003</b>
7	29	29,3	0,661
10	42,3	45,5	0,780
14	42,6	39,1	0,182
16	42	46,8	0,780
19	48,3	44,8	0,211
22	56	49,1	0,053
25	53,6	52	0,278
28	44	47,5	0,315
30	46,6	45	0,479
34	45,3	30,1	<b>0,017</b>
37	46,0	33,1	<b>0,002</b>
40	50	33,8	<b>&lt;0,001</b>
42	31,6	30	0,315
<b>Μεταβολή (ημ. 0-42)</b>	<b>-38,04%</b>	<b>-36,17%</b>	

#### **SKH-2 Μάρτυρες [Acetone] Vs SKH-1 Μάρτυρες [Acetone]**

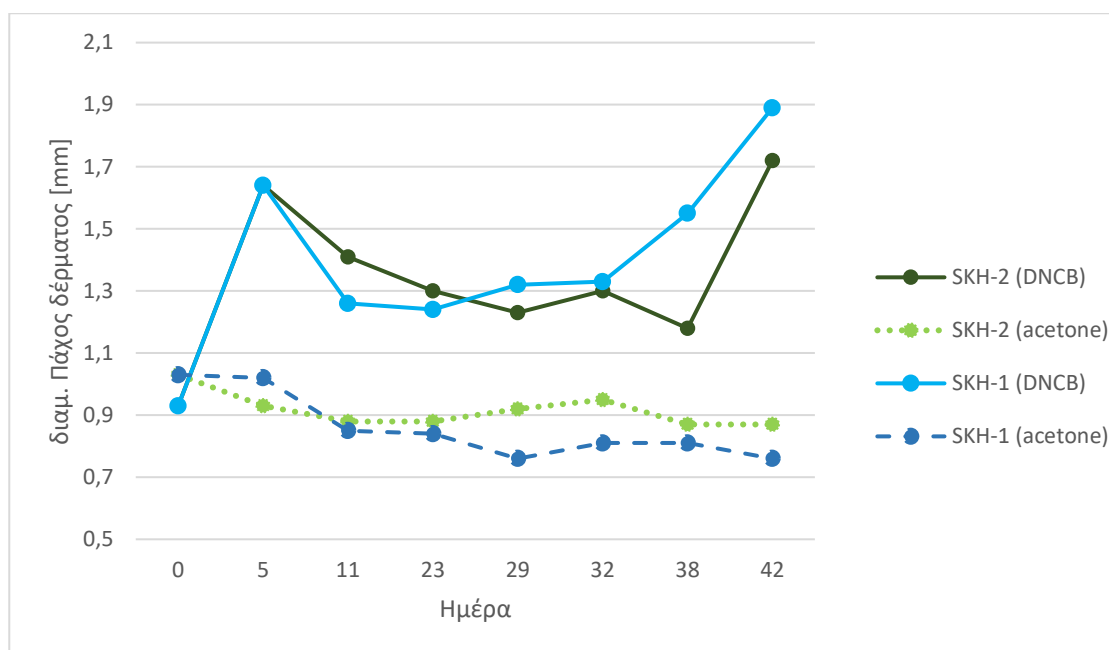
Συγκρίνοντας στατιστικά τις ομάδες των μαρτύρων παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στις (Πίνακας 29):

- Ημ. 0 & 16 με τα SKH-1 [Acetone] να παρουσιάζουν στατιστικά σημαντικά μικρότερη τιμή ενυδάτωσης από τα SKH-2 [Acetone]
- Ημ. 10 με τα SKH-2 [Acetone] να παρουσιάζουν στατιστικά σημαντικά μικρότερη τιμή ενυδάτωσης από τα SKH-1 [Acetone]

**Πίνακας 29:** Στατιστική σύγκριση των ομάδων SKH-2 [Acetone] & SKH-1 Μάρτυρες [Acetone] για Ενυδάτωση-πείραμα 1<sup>ο</sup>

Ημέρα	SKH-2 [Acetone]	SKH-1 [Acetone]	p-value
	Διαμ. Ενυδ.	Διαμ. Ενυδ.	
0	51,83	47,8	<b>0,029</b>
4	52,50	59,3	0,063
7	57	59,3	0,853
10	54,6	64,1	<b>0,023</b>
14	55,1	59,6	0,143
16	52,5	58,6	<b>0,015</b>
19	64,8	63,3	0,579
22	65	64,6	0,436
25	70,6	65	0,436
28	68,5	66	0,579
30	63,8	65	1
34	60,8	58,6	0,739
37	65,5	62,5	0,436
40	63,8	65,1	0,190
42	62,8	62	0,853
<b>Μεταβολή (ημ. 0-42)</b>	<b>21,17%</b>	<b>29,71%</b>	

### 3.1.6 Πάχος δέρματος



Διάγραμμα 4: Οι διάμεσοι των μετρήσεων πάχους δέρματος για το πείραμα 1<sup>ο</sup> (ημ. 0-42)

Για την πρώτη περίοδο επαλείψεων (ημ. 1-7) έγινε μέτρηση μόνο την ημ. 5 που παρατηρήθηκε ραγδαία αύξηση του πάχους δέρματος για τις ομάδες SKH-1 & 2 [DNCB]. Τις υπόλοιπες ημέρες της 1<sup>ης</sup> περιόδου δεν ήταν δυνατόν να ληφθούν παραπάνω μετρήσεις καθώς οι μύες είχαν πολύ έντονες δερματικές βλάβες και ήταν πολύ δύσκολα στον χειρισμό. Κατά την διάρκεια της δεύτερης περιόδου (ημ. 8-42) από την μέτρηση ημ. 11-32 σημειώθηκε μια ελάττωση του πάχους και για τις δυο ομάδες, με τα SKH-2 [DNCB] να βελτιώνονται με πιο μικρό ρυθμό. Την ημ. 38 τα SKH-2 [DNCB] συνέχισαν να βελτιώνονται ενώ τα SKH-1 [DNCB] παρουσίασαν εικόνα κοντινή με την πρώτη περίοδο επαλείψεων. Την ημέρα τελικής μέτρησης τα SKH-1 [DNCB] έχουν την χειρότερη εικόνα βάσει πάχους δέρματος, ενώ και τα SKH-2 [DNCB] παρουσιάζουν ραγδαία αύξηση, ξεπερνώντας και τα επίπεδα της πρώτης περιόδου επαλείψεων, αλλά όχι και των SKH-1 [DNCB].

Οι μετρήσεις των μαρτύρων σε γενικές γραμμές κινήθηκαν σε ίδια επίπεδα μέχρι και την ημ. 23. Από την ημ. 29 τα SKH-1 [Acetone] παρουσίασαν μια πτωτική πορεία σε σύγκριση με τα SKH-2 [Acetone].

Η διαφορά μεταξύ των μετρήσεων των μαρτύρων και των DNCB είναι σαφής για όλες τις μετρήσεις μετά την έναρξη των επαλείψεων. Ακόμα και την περίοδο βελτίωσης (ημ. 11-32) των DNCB μυών οι μετρήσεις ήταν αρκετά μεγαλύτερες από τις αντίστοιχες των μαρτύρων.

**Πίνακας 30:** Μετρήσεις πάχους δέρματος για το πείραμα 1<sup>ο</sup> SKH-2 (DNCB)

Πάχος [mm]		SKH-2 (Μάρτυρες/Acetone)						
		Ημέρα πειραματισμού						
Δείγμα	0	5	11	23	29	32	38	42
5	0,94	1,62	1,17	1,2	1,12	1,34	1,18	1,49
6	0,91	1,64	1,36	1,12	1,23	1,02	1,51	1,29
7	0,92	1,78	1,28	1,45	1,11	1,03	1,17	1,52
8	0,91	1,71	1,42	1,7	1,33	1,37	1,55	1,71
9	1,05	1,35	1,23	1,24	1,55	1,29	1,15	1,72
10	1,09	1,76	1,43	1,08	1,49	1,31	1,16	1,81
11	0,96	1,68	1,41	1,42	1,09	1,02	1,24	1,8
12	0,89	1,55	1,53	1,3	1,26	1,3	1,72	1,99
13	0,99	1,42	1,43	1,37	1,07	1,4	1	1,75

**Πίνακας 31:** Μετρήσεις του πάχους δέρματος για το πείραμα 1<sup>ο</sup> SKH-2 (Μάρτυρες/Acetone)

Πάχος		SKH-2 (Μάρτυρες/Acetone)						
		Ημέρα πειραματισμού						
Δείγμα	0	5	11	23	29	32	38	42
14	1,06	0,89	0,94	0,98	1,09	0,99	0,89	0,83
15	0,99	0,74	0,85	0,84	0,86	0,92	0,9	0,82
16	1,05	0,94	0,81	0,94	0,91	1,25	0,84	0,86
17	1,04	0,87	0,87	1,17	0,94	1,19	0,85	0,88
18	1,03	0,96	0,92	0,78	1,18	0,96	0,96	0,81
19	0,94	0,98	0,94	1,14	1,12	0,82	0,8	1,07
20	1,00	0,93	0,9	0,89	0,85	0,92	0,8	0,95
21	1,07	1,04	0,84	0,84	0,94	1,29	0,93	0,79
22	1,11	0,83	1,03	0,77	0,85	0,86	0,9	0,94
23	0,93	1,11	0,83	0,88	0,83	0,94	0,8	0,88

**Πίνακας 32:** Μετρήσεις πάχους δέρματος για το πείραμα 1<sup>ο</sup> SKH-1 (DNCB)

Πάχος		SKH-1 (DNCB)						
		Ημέρα πειραματισμού						
Δείγμα	0	5	11	23	29	32	38	42
24	0,96	1,32	1,53	1,2	1,43	1,86	1,39	1,96
25	0,91	1,67	1,28	1,76	1,45	1,64	1,96	2,15
26	0,99	2,06	1,17	1,4	1,34	1,47	1,66	1,71
27	1,05	1,97	1,51	1,31	1,16	1,22	1,25	1,96
28	1,09	1,89	1,4	1,64	1,5	1,1	1,53	1,91
29	0,91	2,26	1,17	1,27	1,31	1,4	1,58	1,53
30	0,89	1,61	1,39	0,95	0,99	1,17	1,41	1,87
31	0,84	1,5	1,13	1,19	1,15	1,32	1,7	1,94
32	0,92	1,41	1,23	1,21	1,36	1,28	1,55	1,39
33	0,94	1,46	1,25	1,09	1,27	1,35	1,56	1,32

**Πίνακας 33:** Μετρήσεις πάχους δέρματος για το πείραμα 1° SKH-1 (Μάρτυρες/Acetone)

Πάχος [mm]	SKH-1 (Μάρτυρες/Acetone)							
	Ημέρα πειραματισμού							
Δείγμα	0	5	11	23	29	32	38	42
34	0,93	0,82	0,93	0,84	0,77	0,71	0,79	0,73
35	0,99	1,15	1,05	0,86	0,73	0,88	0,9	0,82
36	1,03	1,03	0,8	0,86	0,8	0,8	0,81	0,85
37	1,05	0,91	0,75	0,85	0,76	0,82	0,83	0,83
38	1,06	1,02	0,77	0,78	0,64	0,75	0,81	0,75
39	0,94	0,95	0,92	0,74	0,73	0,84	0,85	0,78
40	1,07	1,11	0,89	0,79	0,86	0,93	0,82	0,75
41	1,04	0,96	0,82	0,76	0,65	0,88	0,72	0,82
42	1,11	1,09	1,02	0,86	0,84	0,69	0,8	0,69
43	1,00	1,07	0,75	0,88	0,76	0,7	0,8	0,7

### 3.1.6.1 Στατιστική ανάλυση αποτελεσμάτων Πάχους δέρματος

#### SKH-2 [DNCB] Vs SKH-2 Μάρτυρες [Acetone]

Συγκρίνοντας στατιστικά τις ομάδες SKH-2 μάρτυρες και των μυών που επαλείφθηκαν με DNCB, παρουσιάστηκε στατιστικά σημαντική διαφορά σημαντική διαφορά σε όλες τις μετρήσεις πάχους δέρματος. 0. Ειδικά για τις ημέρες 5, 11, 23, 38, 42 παρατηρήθηκε στατιστικά πολύ σημαντική διαφορά ( $p$ -value  $\leq 0,001$ ). Σε όλες τις μετρήσεις τα SKH-2 [DNCB] είχαν μεγαλύτερο πάχος δέρματος από τους μάρτυρες εκτός της αρχικής μέτρησης (ημ.0) (Πίνακας 34).

**Πίνακας 34:** Στατιστική σύγκριση των ομάδων SKH-2 [DNCB] & SKH-2 Μάρτυρες [Acetone] για Πάχος δέρματος-πείραμα 1°

Ημέρα	SKH-2 [DNCB]	SKH-2 [Acetone]	p-value
	Διαμ. Πάχος	Διαμ. Πάχος	
0	0,93	1,03	<b>0,023</b>
5	1,64	0,93	<b>&lt;0,001</b>
11	1,41	0,88	<b>&lt;0,001</b>
23	1,3	0,88	<b>&lt;0,001</b>
29	1,23	0,92	<b>0,002</b>
32	1,3	0,95	<b>0,002</b>
38	1,18	0,87	<b>&lt;0,001</b>
42	1,72	0,87	<b>&lt;0,001</b>
<b>Μεταβολή (ημ. 0-42)</b>	<b>84,95%</b>	<b>-15,53%</b>	

### SKH-1 [DNCB] Vs SKH-1 Μάρτυρες [Acetone]

Αντίστοιχα τα SKH-1 [DNCB] παρουσίασαν στατιστικά σημαντικά μεγαλύτερη τιμή πάχους δέρματος για όλες τις μετρήσεις από την ομάδα των μαρτύρων SKH-1 (Πίνακας 35). Ειδικά για τις ημέρες 5, 11, 23, 29, 32, 38, 42 παρατηρήθηκε στατιστικά πολύ σημαντική διαφορά (p-value  $\leq 0,001$ ).

Πίνακας 35: Στατιστική σύγκριση των ομάδων SKH-1 [DNCB] & SKH-1 Μάρτυρες [Acetone] για Πάχος δέρματος-πείραμα 1<sup>ο</sup>

Ημέρα	SKH-1 [DNCB]	SKH-1 [Acetone]	p-value
	Διαμ. Πάχος	Διαμ. Πάχος	
0	0,93	1,03	<b>0,023</b>
5	1,64	1,02	<b>&lt;0,001</b>
11	1,26	0,85	<b>&lt;0,001</b>
23	1,24	0,84	<b>&lt;0,001</b>
29	1,32	0,76	<b>&lt;0,001</b>
32	1,33	0,81	<b>&lt;0,001</b>
38	1,55	0,81	<b>&lt;0,001</b>
42	1,89	0,76	<b>&lt;0,001</b>
Μεταβολή (ημ. 0-42)	103,23%	-26,21%	

### SKH-2 [DNCB] Vs SKH-1 [DNCB]

Συγκρίνοντας στατιστικά τις ομάδες SKH-1 [DNCB] και SKH-2 [DNCB] παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά μόνο στην μέτρηση ημ. 38 με τα SKH-1 να παρουσιάζουν μεγαλύτερη τιμή πάχους δέρματος (Πίνακας 36).

Πίνακας 36: Στατιστική σύγκριση των ομάδων SKH-2 [DNCB] & SKH-1 [DNCB] για Πάχος δέρματος-πείραμα 1<sup>ο</sup>

Ημέρα	SKH-2 [DNCB]	SKH-1 [DNCB]	p-value
	Διαμ. Πάχος	Διαμ. Πάχος	
0	0,93	0,93	1
5	1,64	1,64	0,780
11	1,41	1,26	0,278
23	1,3	1,24	0,720
29	1,23	1,32	0,400
32	1,3	1,33	0,211
38	1,18	1,55	<b>0,017</b>
42	1,72	1,89	0,315
Μεταβολή (ημ.0-42)	84,95%	103,23%	

### SKH-2 Μάρτυρες [Acetone] Vs SKH-1 Μάρτυρες [Acetone]

Συγκρίνοντας στατιστικά της ομάδες των μαρτύρων παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στις (Πίνακας 37):

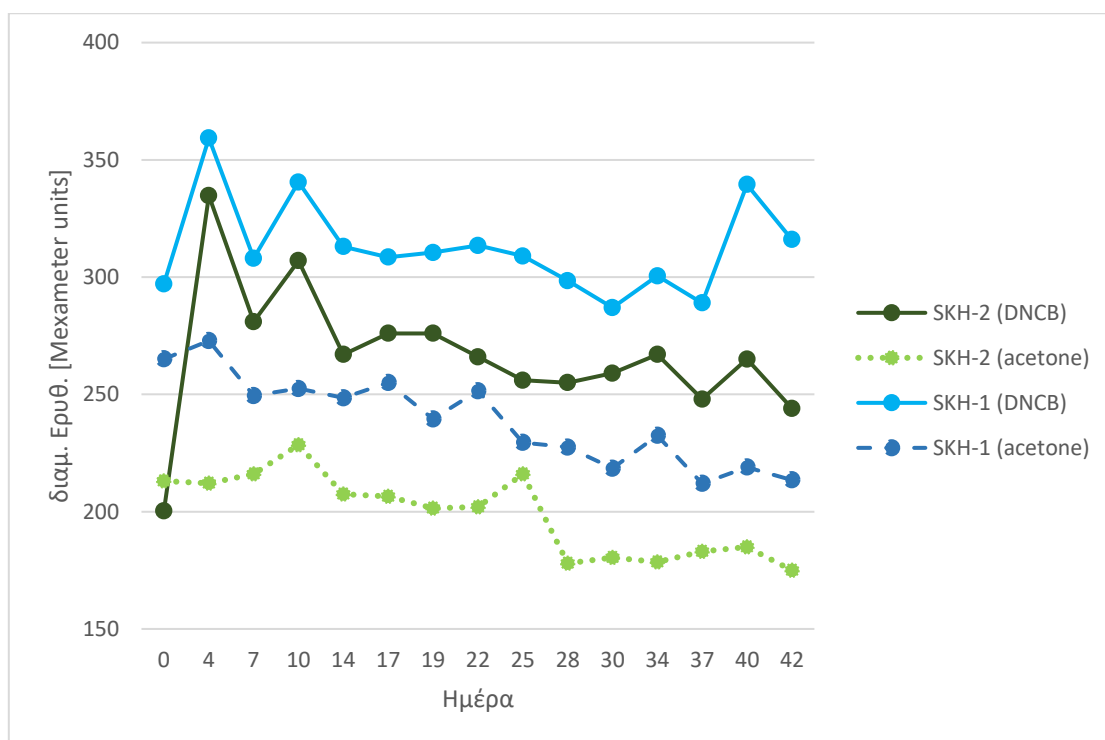
- Ημ. 0 & 16 παρατηρήθηκε στατιστικά πολύ σημαντική διαφορά (p-value  $\leq 0,001$ ) με τα SKH-2 [Acetone] να παρουσιάζουν μεγαλύτερη τιμή πάχους δέρματος.
- Ημ. 42 με τα SKH-2 [Acetone] να παρουσιάζουν στατιστικά σημαντικά μεγαλύτερη τιμή πάχους δέρματος από τα SKH-2 [Acetone]

**Πίνακας 37:** Στατιστική σύγκριση των ομάδων SKH-1 [DNCB] & SKH-1 Μάρτυρες [Acetone] για Πάχος δέρματος-πείραμα 1<sup>ο</sup>

Ημέρα	SKH-2 [Acetone]	SKH-1 [Acetone]	p-value
	Διαμ. Πάχος	Διαμ. Πάχος	
0	1,03	1,03	1
5	0,93	1,02	0,123
11	0,88	0,85	0,393
23	0,88	0,84	0,089
29	0,92	0,76	<b>&lt;0,001</b>
32	0,95	0,81	<b>0,001</b>
38	0,87	0,81	0,075
42	0,87	0,76	<b>0,003</b>
<b>Μεταβολή (ημ.0-42)</b>	<b>-15,53%</b>	<b>-26,21%</b>	



### 3.1.7 Ερυθρότητα



**Διάγραμμα 5:** Οι διάμεσοι των μετρήσεων ερυθρότητας για το πείραμα 1<sup>ο</sup> (ημ. 0-42)

Στις μετρήσεις ερυθρότητας υπάρχει σαφής διαφορά μεταξύ των SKH-1 και SKH-2 ανεξάρτητα από το εάν είναι μάρτυρες ή όχι. Τα SKH-1 παρουσιάζουν μεγαλύτερες τιμές ερυθρότητας από τις αντίστοιχες τιμές των ομάδων SKH-2.

Συγκρίνοντας τις ομάδες DNCB τα SKH-1 παρουσιάζουν μεγαλύτερες τιμές ερυθρότητας σε όλες τις μετρήσεις από τα αντίστοιχα SKH-2. Όμως η πορεία των μετρήσεων είναι εξαιρετικά όμοια. Τις ημέρες 14-37 παρουσιάζεται μια τάση ελάττωσης, ενώ την ημέρα 40 παρουσιάζεται μεγάλη αύξηση στην ερυθρότητα, ειδικά για τα SKH-1.

Αντίστοιχα στις ομάδες των μαρτύρων, τα SKH-1 παρουσιάζουν συνέχεια μεγαλύτερες τιμές από τα SKH-2, της και οι δυο ομάδες στο πέρας του πειράματος οι τιμές ελαττώνονται.

**Πίνακας 38:** Μετρήσεις ερυθρότητας για το πείραμα 1<sup>ο</sup> SKH-2 (DNCB)

Ερυθ.	SKH-2 (DNCB)														
	Ημέρα πειραματισμού														
Δείγμα	0	4	7	10	14	17	19	22	25	28	30	34	37	40	42
5	216	357	317	303	267	284	287	293	305	263	259	263	260	266	273
6	195	330	241	307	248	242	257	245	257	271	266	230	248	224	232
7	235	336	295	325	250	283	288	271	267	248	269	299	235	289	242
8	240	335	309	326	248	276	282	271	248	271	221	306	234	249	240
9	199	384	281	309	281	271	261	266	272	252	252	267	248	265	244
10	202	294	274	306	278	275	280	259	228	244	244	237	242	267	260
11	199	267	281	325	280	300	276	275	256	289	272	274	266	258	286
12	198	310	265	294	237	240	248	197	225	239	228	252	244	236	233
13	167	367	252	295	284	276	247	249	245	255	272	270	250	273	274

Πίνακας 39: Μετρήσεις ενυδάτωσης για το πείραμα 1° SKH-2 (Μάρτυρες/Acetone)

Ερυθ.		SKH-2 (Μάρτυρες/Acetone)													
		Ημέρα πειραματισμού													
Δείγμα	0	4	7	10	14	17	19	22	25	28	30	34	37	40	42
14	211	192	212	212	199	172	199	189	175	177	169	169	183	171	169
15	201	214	191	237	196	182	204	180	215	176	195	215	214	225	161
16	215	206	234	204	218	218	191	210	182	161	194	174	181	165	173
17	207	216	255	263	269	255	251	223	197	203	182	168	188	228	177
18	186	197	211	230	202	187	191	196	197	177	172	176	205	186	173
19	231	247	225	227	205	206	182	205	217	190	191	218	180	231	186
20	206	198	199	214	203	195	206	199	218	179	175	204	183	183	170
21	226	214	223	220	221	209	229	218	229	174	182	173	172	167	203
22	220	248	219	230	226	220	195	198	221	200	179	181	175	209	183
23	224	211	213	252	210	207	222	245	220	179	172	183	200	184	195

Πίνακας 40: Μετρήσεις ερυθρότητας για το πείραμα 1° SKH-1 (DNCB)

Ερυθ.		SKH-1 (DNCB)													
		Ημέρα πειραματισμού													
Δείγμα	0	4	7	10	14	17	19	22	25	28	30	34	37	40	42
24	279	395	308	361	309	305	352	289	318	294	263	310	303	355	342
25	317	346	331	334	324	281	307	327	286	318	204	260	276	309	350
26	337	390	308	336	351	306	316	314	315	267	332	298	275	359	362
27	292	376	407	353	299	325	314	308	349	298	273	303	312	390	276
28	279	318	267	333	301	286	270	282	303	299	272	274	270	309	312
29	342	387	296	345	313	335	316	316	287	284	305	283	268	342	320
30	307	335	402	310	329	361	337	319	336	326	332	313	318	337	311
31	290	319	291	297	310	311	306	320	293	300	301	347	318	374	327
32	302	354	305	380	313	300	274	306	320	254	256	273	265	319	307
33	273	364	378	374	343	325	299	313	299	320	314	332	302	302	292

Πίνακας 41: Μετρήσεις ερυθρότητας για το πείραμα 1° SKH-1 (Μάρτυρες/Acetone)

Ερυθ.		SKH-1 (Μάρτυρες/Acetone)													
		Ημέρα πειραματισμού													
Δείγμα	0	4	7	10	14	17	19	22	25	28	30	34	37	40	42
34	235	291	243	265	254	235	239	271	239	262	235	245	203	217	209
35	251	271	281	290	229	249	210	237	206	222	201	243	200	237	184
36	265	275	275	250	298	257	242	232	253	230	188	238	202	214	237
37	242	256	241	258	231	245	220	220	262	236	229	218	213	215	220
38	269	276	271	291	240	281	231	275	260	228	213	225	223	216	235
39	270	295	238	254	243	253	240	264	219	222	191	227	202	219	214
40	266	281	244	247	255	262	280	249	234	241	224	244	240	219	213
41	241	260	261	243	258	261	275	253	221	224	231	251	254	224	222
42	267	215	231	245	236	240	261	250	216	221	233	214	211	225	208
43	309	260	255	251	261	297	239	270	225	227	213	216	220	219	212

### 3.1.7.1 Στατιστική ανάλυση αποτελεσμάτων Ερυθρότητας

#### SKH-2 [DNCB] Vs SKH-2 Μάρτυρες [Acetone]

Συγκρίνοντας στατιστικά τις ομάδες SKH-2 μάρτυρες και των μυών που επαλείφθηκαν με DNCB, παρουσιάστηκε στατιστικά πολύ σημαντική διαφορά ( $p\text{-value}\leq 0,001$ ) σε όλες τις μετρήσεις ερυθρότητας πλην της ημ. 0. Όλες οι μετρήσεις των SKH-2 [DNCB] είναι μεγαλύτερες από αυτές των μαρτύρων (Πίνακας 42).

Πίνακας 42: Στατιστική σύγκριση των ομάδων SKH-2 [DNCB] & SKH-2 Μάρτυρες [Acetone] για Ερυθρότητα-πείραμα 1<sup>ο</sup>

Ημέρα	SKH-2 [DNCB]	SKH-2 [Acetone]	p-value
	Διαμ. Ερυθ.	Διαμ. Ερυθ.	
0	200,25	213,12	0,579
4	334,75	212,12	<0,001
7	281	216	<0,001
10	307	228,5	<0,001
14	267	207,5	<0,001
17	276	206,5	<0,001
19	276	201,5	<0,001
22	266	202	0,001
25	256	216	<0,001
28	255	178	<0,001
30	259	180,5	<0,001
34	267	178,5	<0,001
37	248	183	<0,001
40	265	185	<0,001
42	244	175	<0,001
Μεταβολή (ημ. 0-42)	21,85%	-17,89%	

#### SKH-1 [DNCB] Vs SKH-1 Μάρτυρες [Acetone]

Αντίστοιχα τα SKH-1 [DNCB] παρουσίασαν στατιστικά σημαντικά μεγαλύτερη τιμή ερυθρότητας από την ομάδα των μαρτύρων SKH-1 για τις μετρήσεις ημ. 4, 10, 14, 25, 28, 30, 34, και 40 (Πίνακας 43). Ειδικά για την ημ. 10 παρατηρήθηκε στατιστικά πολύ σημαντική διαφορά.

**Πίνακας 43:** Στατιστική σύγκριση των ομάδων SKH-1 [DNCB] & SKH-1 Μάρτυρες [Acetone] για Ερυθρότητα-πείραμα 1<sup>ο</sup>

Ημέρα	SKH-1 [DNCB]	SKH-1 [Acetone]	p-value
	Διαμ. Ερυθ.	Διαμ. Ερυθ.	
0	297,12	265,12	1
4	359,25	272,87	<b>0,005</b>
7	308	308	0,190
10	340,50	252,5	<b>&lt;0,001</b>
14	313	248,5	<b>0,002</b>
17	308,5	255	0,143
19	310,5	239,5	0,353
22	313,5	251,5	0,190
25	309	229,5	<b>0,004</b>
28	298,5	227,5	<b>0,005</b>
30	287	218,5	<b>0,023</b>
34	300,5	232,5	<b>0,002</b>
37	289	212	0,052
40	339,5	219	<b>0,023</b>
42	316	213,5	0,089
<b>Μεταβολή (ημ. 0-42)</b>	<b>6,35%</b>	<b>-19,47%</b>	

#### SKH-2 [DNCB] Vs SKH-1 [DNCB]

Συγκρίνοντας στατιστικά τις ομάδες SKH-1 [DNCB] και SKH-2 [DNCB] παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές σε όλες τις μετρήσεις εκτός της ημ. 4 (Πίνακας 44). Πιο αναλυτικά:

- Ημ. 0, 14, 17, 22, 25, 37, 40 & 42 τα SKH-1 να παρουσιάζουν στατιστικά πολύ σημαντικά μεγαλύτερη τιμή ερυθρότητας από τα SKH-2
- Ημ. 7, 10, 19, 28, 30 & 34 τα SKH-1 να παρουσιάζουν στατιστικά σημαντικά μεγαλύτερη τιμή από τα SKH-2

**Πίνακας 44:** Στατιστική σύγκριση των ομάδων SKH-2 [DNCB] & SKH-1 [DNCB] για Ερυθρότητα-πείραμα 1<sup>ο</sup>

Ημέρα	SKH-2 [DNCB]	SKH-1 [DNCB]	p-value
	Διαμ. Ερυθ.	Διαμ. Ερυθ.	
0	200,25	297,12	<b>&lt;0,001</b>
4	334,75	359,25	0,113
7	281	308	<b>0,022</b>
10	307	340,50	<b>0,003</b>
14	267	313	<b>&lt;0,001</b>
17	276	308,5	<b>&lt;0,001</b>
19	276	310,5	<b>0,003</b>
22	266	313,5	<b>&lt;0,001</b>
25	256	309	<b>&lt;0,001</b>
28	255	298,5	<b>0,002</b>
30	259	287	<b>0,002</b>
34	267	300,5	<b>0,017</b>
37	248	289	<b>&lt;0,001</b>
40	265	339,5	<b>&lt;0,001</b>
42	244	316	<b>&lt;0,001</b>
<b>Μεταβολή (ημ. 0-42)</b>	<b>21,85%</b>	<b>6,35%</b>	

## SKH-2 Μάρτυρες [Acetone] Vs SKH-1 Μάρτυρες [Acetone]

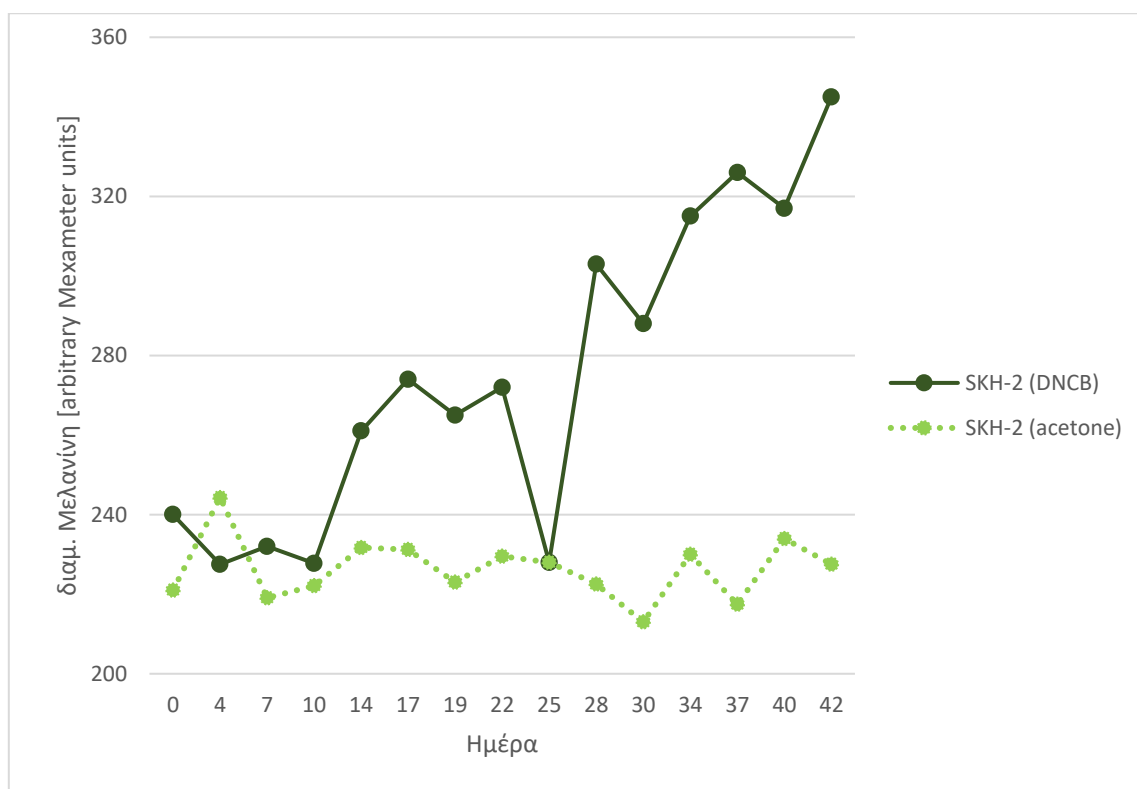
Συγκρίνοντας στατιστικά τις ομάδες των μαρτύρων παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές σε όλες τις μετρήσεις εκτός της ημ. 40 (Πίνακας 45). Πιο αναλυτικά:

- Ημ. 0, 4, 7, 14, 17, 22, 28, 30, 34 & 42 τα SKH-1 να παρουσιάζουν στατιστικά πολύ σημαντικά μεγαλύτερη τιμή ερυθρότητας από τα SKH-2
- Ημ. 10, 19, 22 & 37 τα SKH-1 να παρουσιάζουν στατιστικά σημαντικά μεγαλύτερη τιμή από τα SKH-2

Πίνακας 45: Στατιστική σύγκριση των ομάδων SKH-1 [DNCB] & SKH-1 Μάρτυρες [Acetone] για Ευδάτωση-πείραμα 1<sup>ο</sup>

Ημέρα	SKH-2 [Acetone]	SKH-1 [Acetone]	p-value
	Διαμ. Ερυθ.	Διαμ. Ερυθ.	
0	213,12	265,12	<0,001
4	212,12	272,87	<0,001
7	216	308	<0,001
10	228,5	252,5	0,003
14	207,5	248,5	0,001
17	206,5	255	<0,001
19	201,5	239,5	0,002
22	202	251,5	<0,001
25	216	229,5	0,009
28	178	227,5	<0,001
30	180,5	218,5	<0,001
34	178,5	232,5	<0,001
37	183	212	0,002
40	185	219	0,075
42	175	213,5	<0,001
Μεταβολή (ημ.0-42)	-17,89%	-19,47%	

### 3.1.8 Μελανίνη



**Διάγραμμα 6:** Οι διάμεσοι των μετρήσεων μελανίνης για το πείραμα 1° (ημ. 0-42)

Οι μετρήσεις μελανίνης είναι αδόκιμες για τα SKH-1 καθώς δεν έχουν μελανίνη. Οπότε παρατίθενται μόνο για τα SKH-2. Οι επαλείψεις με DNCB επέφεραν μια μεγάλη αύξηση στην μελανίνη των μυών από την ημ. 14-42 (μοναδική εξαίρεση η ημ. 25). Οι μάρτυρες παρουσίασαν μια μικρή διακύμανση.

**Πίνακας 46:** Μετρήσεις μελανίνης για το πείραμα 1° SKH-2 (DNCB)

Μελαν.	SKH-2 (DNCB)														
	Ημέρα πειραματισμού														
Δείγμα	0	4	7	10	14	17	19	22	25	28	30	34	37	40	42
5	236	223	222	209	263	260	258	281	224	306	313	351	305	312	353
6	254	219	229	206	272	270	266	270	338	302	322	404	382	407	398
7	234	228	233	200	258	266	265	239	307	263	279	315	327	299	262
8	240	213	226	228	261	275	308	303	313	303	268	337	329	343	393
9	256	253	235	248	235	275	261	293	270	318	324	331	359	363	349
10	240	256	247	238	286	284	268	296	285	338	304	297	326	317	345
11	256	232	232	184	257	230	235	251	326	294	277	271	277	295	304
12	222	238	229	228	259	274	265	247	280	247	288	314	315	333	282
13	260	221	248	257	274	280	289	272	309	303	264	303	259	233	314

Πίνακας 47: Μετρήσεις μελανίνης για το πείραμα 1° SKH-2 (Μάρτυρες/Acetone)

Μελαν.	SKH-2 (Μάρτυρες/Acetone)														
	Ημέρα πειραματισμού														
Δείγμα	0	4	7	10	14	17	19	22	25	28	30	34	37	40	42
14	226	241	203	216	226	215	240	254	227	219	235	221	229	255	216
15	235	258	214	269	235	235	237	253	248	251	250	269	238	253	251
16	242	239	219	208	227	252	223	223	226	226	237	223	220	231	232
17	214	258	217	227	264	233	218	226	233	211	230	222	213	249	222
18	212	243	219	229	216	249	204	207	220	210	229	243	240	237	214
19	201	229	232	204	244	216	188	228	226	219	231	261	205	248	217
20	217	239	226	235	228	229	208	211	235	240	231	217	213	225	249
21	185	260	210	208	226	227	230	231	230	215	230	245	208	213	232
22	229	246	232	218	245	242	223	252	222	228	229	215	222	226	223
23	271	267	230	232	239	216	230	235	229	240	248	237	215	218	257

### 3.1.8.1 Στατιστική ανάλυση αποτελεσμάτων Μελανίνης

#### SKH-2 [DNCB] Vs SKH-2 Μάρτυρες [Acetone]

Συγκρίνοντας στατιστικά τις ομάδες των μαρτύρων παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές σε όλες τις μετρήσεις εκτός της ημ. 10 (Πίνακας 48). Πιο αναλυτικά:

- Ημ. 0, 7, 14 & 22 τα SKH-2 [DNCB] να παρουσιάζουν στατιστικά σημαντικά μεγαλύτερη τιμή μελανίνης από τους μάρτυρες τους
- Ημ. 4, 14, 17, 19, 25, 28, 30, 34, 37, 40 & 42 τα SKH-2 [DNCB] να παρουσιάζουν στατιστικά πολύ σημαντικά μεγαλύτερη τιμή από τους μάρτυρες τους

Πίνακας 48: Στατιστική σύγκριση των ομάδων SKH-2 [DNCB] & SKH-2 Μάρτυρες [Acetone] για Μελανίνη-πείραμα 1°

Ημέρα	SKH-2 [DNCB]	SKH-2 [Acetone]	p-value
	Διαμ. Μελαν.	Διαμ. Μελαν.	
0	240	221	<b>0,043</b>
4	227,5	244,3	<b>&lt;0,001</b>
7	232	219,1	<b>0,010</b>
10	227,75	222,12	0,905
14	261	231,7	<b>0,003</b>
17	274	231,2	<b>&lt;0,001</b>
19	265	223	<b>&lt;0,001</b>
22	272	229,5	<b>0,002</b>
25	228	228	<b>0,001</b>
28	303	222,5	<b>&lt;0,001</b>
30	288	213	<b>&lt;0,001</b>
34	315	217,5	<b>&lt;0,001</b>
37	326	217,5	<b>&lt;0,001</b>
40	317	234	<b>&lt;0,001</b>
42	345	227,5	<b>&lt;0,001</b>
Μεταβολή (ημ. 0-42)	43,75%	2,94%	

### 3.1.9 Συγκεντρωτικά τα αποτελέσματα των στατιστικών συγκρίσεων

Υπενθυμίζοντας, η στατική ανάλυση έγινε με μη παραμετρικό έλεγχο Mann-Whitney, στο πρόγραμμα SPSS με διάστημα εμπιστοσύνης 95%.

Συγκεντρωτικά τα αποτελέσματα των συγκρίσεων αναφέρονται στους παρακάτω πίνακες:

Πίνακας 49: Στατιστική σύγκριση μεταξύ των SKH-2 [DNCB] και των μαρτύρων τους

SKH-2 [DNCB] Vs SKH-2 [Acetone]	
<b>pH</b>	Εκτός από την ημέρα 8 * & 11, δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές.
<b>TEWL</b>	Στατιστικά σημαντικές διαφορές (κάποιες και πολύ σημαντικές) σε όλες τις μετρήσεις.
<b>Ενυδάτωση</b>	Στατιστικά σημαντικές διαφορές (κάποιες και πολύ σημαντικές*) 4-42.
<b>Πάχος δέρματος</b>	Στατιστικά σημαντικές διαφορές (κάποιες και πολύ σημαντικές*) σε όλες τις μετρήσεις.
<b>Ερυθρότητα</b>	Στατιστικά πολύ σημαντικές διαφορές στις μετρήσεις 4*-42*.
<b>Μελανίνη</b>	Στατιστικά σημαντικές διαφορές (κάποιες και πολύ σημαντικές*) εκτός της 10.

Πίνακας 50: Στατιστική σύγκριση μεταξύ των SKH-1 [DNCB] και των μαρτύρων τους

SKH-1 [DNCB] Vs SKH-1 [Acetone]	
<b>pH</b>	Εκτός από την ημέρα 8 & 42*, δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικά διαφορές.
<b>TEWL</b>	Στατιστικά πολύ σημαντικές διαφορές ( $p < 0,001^*$ ) για τις μέρες 4-42.
<b>Ενυδάτωση</b>	Στατιστικά σημαντικές διαφορές (κάποιες και πολύ σημαντικές) 4-42.
<b>Πάχος δέρματος</b>	Στατιστικά σημαντικές διαφορές (5-42 πολύ σημαντικές*) σε όλες τις μετρήσεις.
<b>Ερυθρότητα</b>	Στατιστικά πολύ σημαντικές διαφορές στις μετρήσεις 0-42*.

Πίνακας 51: Στατιστική σύγκριση μεταξύ των SKH-2 [DNCB] και SKH-1 [DNCB]

SKH-2 [DNCB] Vs SKH-1 [DNCB]	
<b>pH</b>	Εκτός από την ημέρα 42*, δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικά διαφορές. (Τα SKH-1 είχαν μεγαλύτερη τιμή pH)
<b>TEWL</b>	Στατιστικά σημαντικές διαφορές τις ημέρες 0, 4*, 17, 19, 26*, 30*, 35. (Εκτός από την ημ. τα SKH-1 παρουσίασαν μεγαλύτερες τιμές)
<b>Ενυδάτωση</b>	Στατιστικά σημαντικές διαφορές τις ημέρες 4*, 34, 37*, 40*. (Τα SKH-1 παρουσίασαν μικρότερες τιμές)
<b>Πάχος δέρματος</b>	Στατιστικά σημαντική διαφορά μόνο στη μέρα 8. (Με τα SKH-1 να παρουσιάζουν μεγαλύτερη τιμή)
<b>Ερυθρότητα</b>	Στατιστικά πολύ σημαντικές διαφορές σε όλες τις μετρήσεις 0*-42*, η μόνη μη πολύ σημαντική μέτρηση η 4. (Τα SKH-1 παρουσίασαν μεγαλύτερες τιμές)



**Πίνακας 52:** Στατιστική σύγκριση μεταξύ των SKH-2 μάρτυρες [Acetone] και SKH-1 μάρτυρες [Acetone]

SKH-2 [Acetone] Vs SKH-1 [Acetone]	
<b>pH</b>	Δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές.
<b>TEWL</b>	Εκτός από την ημέρα 30, δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές (με τα SKH-1 να έχουν μεγαλύτερη τιμή)
<b>Ενυδάτωση</b>	Στατιστικά σημαντικές διαφορές τις ημέρες 0, 10, 16 (με τα SKH-1 να έχουν μικρότερη τιμή)
<b>Πάχος δέρματος</b>	Στατιστικά πολύ σημαντικές διαφορές τις ημέρες 29*, 32*, 42* (με τα SKH-1 να έχουν μεγαλύτερη τιμή)
<b>Ερυθρότητα</b>	Στατιστικά πολύ σημαντικές διαφορές στις μετρήσεις 0*-42*, πλην της 40 όπου δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά (με τα SKH-1 να έχουν μικρότερη τιμή)

## 3.2 Πείραμα 2<sup>ο</sup>

Περίληπτικά:

- 2♀ SKH-hr1 και 2♀ SKH-hr2
- Επαλείψεις με DNCB καθημερινά για 7 μέρες και στα 4 ποντίκια
- **Στόχος:** Δειγματοληψία αίματος και δέρματος μετά το πέρας της φάσης ευαισθητοποίησης

### 3.2.1 Κλινική εικόνα

Όπως και στο πείραμα 1<sup>ο</sup>, από την πρώτη εφαρμογή του DNCB το δέρμα των μυών κοκκινίζει και την 3<sup>η</sup> ημέρα εμφανίζονται οι πρώτες σοβαρές δερματικές βλάβες (πληγές, ερυθρότητα και ξηρότητα). Πιο συγκεκριμένα και οι δυο SKH-1 μύες (δείγμα 1 & 2) (Εικόνα 38 & 39) εμφάνισαν τις βλάβες αυτές, ενώ στα SKH-2 μόνο το δείγμα 3 τις εμφάνισε αλλά σε πιο ήπια ένταση. Το δείγμα 4 (Εικόνα 41) τα εμφανίζει την ημέρα 4<sup>η</sup>. Την 4<sup>η</sup> μέρα τα SKH-1 και το δείγμα 3 SKH-2 παρουσιάζουν επιπρόσθετα απολέπιση, η οποία τις επόμενες ημέρες επιδεινώνεται ραγδαία. Επιπρόσθετα παρατηρείται έντονη πάχυνση του δέρματος και στους τέσσερις μύες. Την 7<sup>η</sup> ημέρα, γύρω από τις περιοχές των βλαβών παρατηρείται στα SKH-2 η εμφάνιση υπερμελανώσεων. Τα SKH-1 παρουσιάζουν εξαιρετικά έντονες εξελκώσεις και απολέπιση που χαρακτηρίζεται από ένα έντονο κίτρινο χρώμα. Την ημέρα της θυσίας (ημ. 8<sup>η</sup>) όλοι οι μύες παρουσιάζουν έντονη πάχυνση, ερυθρότητα, εξελκώσεις και απολέπιση, με τα SKH-1 να έχουν πιο έντονες βλάβες από τα SKH-2.

SKH-1 DNCB (δείγμα 1)



Ημέρα 0



Ημέρα 3



Ημέρα 4



Ημέρα 5



Ημέρα 7



Ημέρα 8

Εικόνα 38: Η εξέλιξη της κλινικής εικόνας στο πείραμα 2<sup>ο</sup>-SKH-1 DNCB (δείγμα 1)

SKH-1 DNCB (δείγμα 2)



Ημέρα 0



Ημέρα 3



Ημέρα 4



Ημέρα 5



Ημέρα 7



Ημέρα 8

Εικόνα 39: Η εξέλιξη της κλινικής εικόνας στο πείραμα 2<sup>ο</sup>-SKH-1 (δείγμα 2)

SKH-2 DNCB (δείγμα 3)



Ημέρα 0



Ημέρα 3



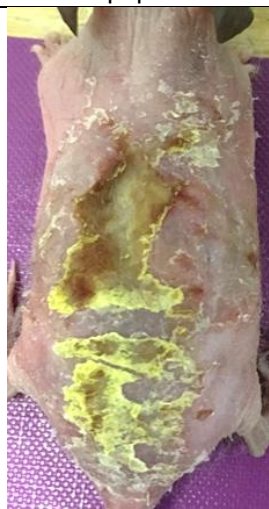
Ημέρα 4



Ημέρα 5



Ημέρα 7



Ημέρα 8

Εικόνα 40: Η εξέλιξη της κλινικής εικόνας στο πείραμα 2<sup>ο</sup>-SKH-2 (δείγμα 3)

SKH-2 DNCB (δείγμα 4)



Ημέρα 0



Ημέρα 3



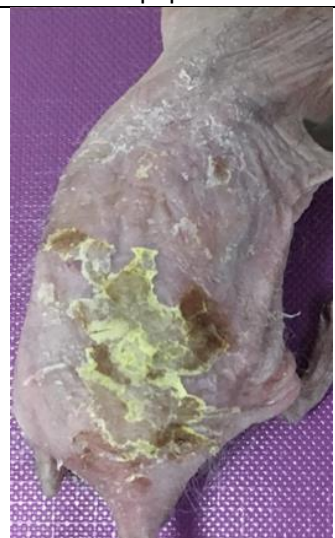
Ημέρα 4



Ημέρα 5



Ημέρα 7



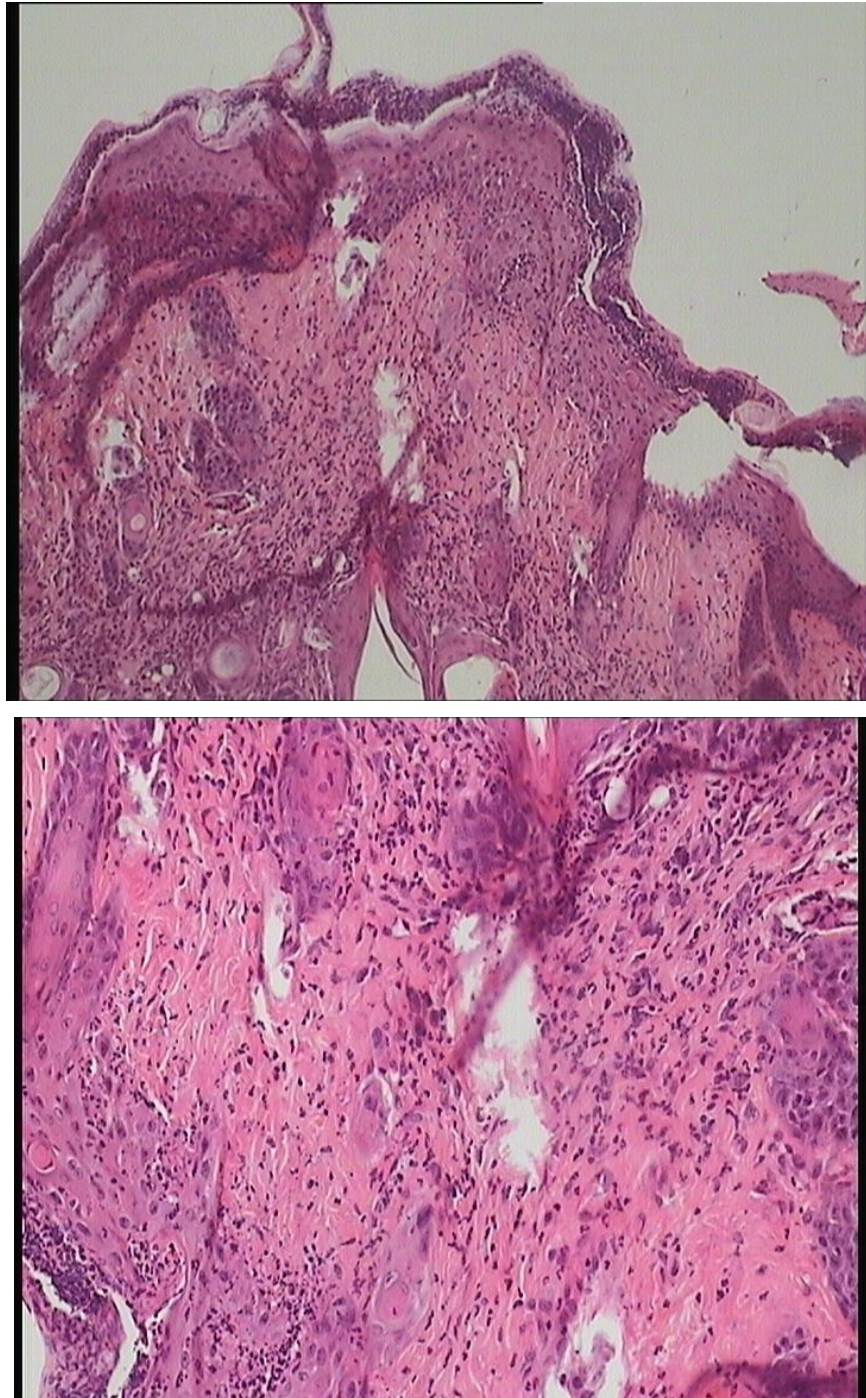
Ημέρα 8

Εικόνα 41: Η εξέλιξη της κλινικής εικόνας στο πείραμα 2<sup>ο</sup>-SKH-2 (δείγμα 4)

### 3.2.2 Ιστοπαθολογικά αποτελέσματα

Παρακάτω, για την ευκολότερη περιγραφή της έντασης των παρατηρήσεων θα χρησιμοποιηθεί η κλίμακα 0-3, με 0 (καθόλου), 1 (ήπια), 2 (μέτρια) και 3 (πολύ έντονη).

#### 3.2.2.1 SKH-1 [DNCB]



Εικόνα 42: Ιστοπαθολογική εικόνα (x100, πάνω) (x200, κάτω) στο πείραμα 2<sup>ο</sup>-SKH-1 (δείγμα 1)

Μετά από 7 ημέρες επαλείψεων με DNCB τα SKH-1 χαρακτηρίζονται από έντονη ενεργή φλεγμονή η οποία δεν παρουσιάζει ομοιομορφία της είναι επιφανειακή και εν τω βάθει (3+), εξέλκωση της επιδερμίδας και πάχυνση (2)

### 3.2.2.2 SKH-2 [DNCB]

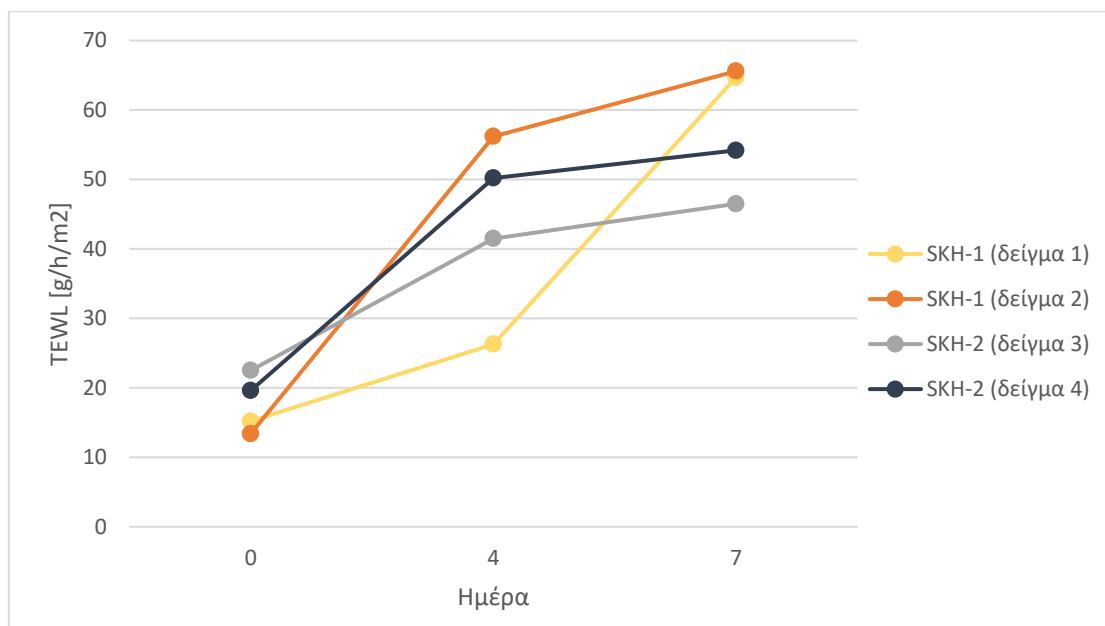


Εικόνα 43: Ιστοπαθολογική εικόνα (x100) στο πείραμα 2<sup>ο</sup>-SKH-2 (δείγμα 4)

Αντίστοιχα τα SKH-2 παρουσιάζουν ενεργή φλεγμονή (3), εξέλκωση της επιφανειακής επιδερμίδας και υπερκεράτωση (υπερπλασία της κεράτινης στιβάδα) (2).



### 3.2.3 TEWL



Διάγραμμα 7: Άδηλη απώλεια νερού των 4 μιών του πειράματος 2<sup>ου</sup>

Ο χειρισμός των μιών την πρώτη εβδομάδα επαλείψεων είναι εξαιρετικά δύσκολος, συνεπώς δεν πάρθηκαν όλες οι μετρήσεις. Από την TEWL ενδεικτικά βλέπουμε μια όμοια εξέλιξη των SKH-2, τα SKH-1 την ημ. 4 το δείγμα 1 παρουσίασε μικρή αύξηση ενώ το δείγμα 2 είχε την μεγαλύτερη τιμή από όλα τα δείγματα. Στην τελική μέτρηση τα SKH-1 είχαν σχεδόν ταυτόσημη τιμή και αρκετά μεγαλύτερη από τα SKH-2.

### 3.3 Πείραμα 3<sup>ο</sup>

Περληπτικά:

- 43♀ SKH-hr1 (εκ των οποίων 2 θυσιάστηκαν την ημέρα 25)
- 5 ομάδες:
  - Ομάδα 1 (δείγμα 54-62):** 9 μύες, επαλείφθηκαν μόνο με DNCB (μάρτυρες).
  - Ομάδα 2 (δείγμα 44-53):** 10 μύες εκ των οποίων οι 2 θυσιάστηκαν την ημέρα 25 (Δείγμα 44 & 45) ώστε να γίνει δειγματισμός δέρματος και αίματος πριν την έναρξη των τοπικών σκευασμάτων. Κατά τα άλλα όλα επαλείφθηκαν με DNCB για την πρόκληση ατοπίας και στα 8 εφαρμόστηκε το τοπικό σκεύασμα 1 [μίγμα εκχυλισμάτων] (δείγμα 46-53).
  - Ομάδα 3 (δείγμα 63-70):** 8 μύες, επαλείφθηκαν με DNCB και το τοπικό σκεύασμα 2 [χλωροκρεσόλη].
  - Ομάδα 4 (δείγμα 71-78):** 8 μύες, επαλείφθηκαν με DNCB και το τοπικό σκεύασμα 3 [ισόποδο].
  - Ομάδα 5 (δείγμα 79-86):** 8 μύες, επαλείφθηκαν με DNCB και το τοπικό σκεύασμα 4 [ελαιοκανθάλη & ολεασίνη].
- **Στόχος:** Συγκριτική μελέτη δραστηριότητας 4 τοπικών σκευασμάτων και η ενδιάμεση δειγματοληψία δέρματος και αίματος πριν την φάση των επαλείψεων με τοπικά σκευάσματα.

#### 3.3.1 Κλινική εικόνα

##### 3.3.1.1 Ενδιάμεσα δείγματα 44 & 45

Η πορεία της κλινικής εικόνας των δειγμάτων 44 & 45 ήταν όμοια με την πορεία που παρατηρήθηκε στο πείραμα 1<sup>ο</sup>. Μια διαφοροποίηση που παρατηρήθηκε ήταν ότι στην πρώτη περίοδο επαλείψεων την 8<sup>η</sup> ημέρα δεν εμφάνισαν τόσο έντονη απολέπιση και ούτε παρατηρήθηκαν βαθιές εξελκώσεις. Η ερυθρότητα ήταν έντονη, όπως και η ξηροδερμία. Την ημ. 11<sup>η</sup> (που ήταν μέρα επάλειψης) οι ξηροδερμίες ήταν ελάχιστες. Την ημ. 13<sup>η</sup> το δείγμα 44 παρουσίασε ελαφριά πάχυνση, διάσπαρτες ξηροδερμίες μέτριας έντασης σε όλη τη ράχη και ερυθρά σημεία ελαφρώς λειχνοποιημένα. Αντίστοιχα το δείγμα 45 εμφάνισε ξηροδερμίες στην περιοχή του πίσω δεξιά ποδιού και ερυθρές γραμμές ελαφρώς λειχνοποιημένες. Την 16<sup>η</sup> ημέρα και τα δύο δείγματα παρουσίασαν πολύ ελαφριές ξηροδερμίες και ελαφριά πάχυνση. Την 25<sup>η</sup> ημέρα οι μύες εμφάνιζαν ελαφριά απολέπιση, ξηροδερμίες και πάχυνση.

##### 3.3.1.2 Γενικές παρατηρήσεις πριν την έναρξη τοπικών σκευασμάτων

Η εικόνα όλων των ομάδων πριν την έναρξη επαλείψεων τοπικών σκευασμάτων ήταν όμοια. Την πρώτη περίοδο επαλείψεων εμφανίστηκε απολέπιση, ερυθρότητα, πάχυνση, μικρές πληγές και ξηροδερμία. Τα συμπτώματα αυτά ήταν σημαντικά ηπιότερα από το 1<sup>ο</sup> και 2<sup>ο</sup> πείραμα. Επίσης, παρατηρήθηκε μια διαφοροποίηση εσωτερικά των ομάδων, με τους νεότερους μύες να εκδηλώνουν λιγότερο έντονη εικόνα και να αυτοιάζονται γρηγορότερα. Την δεύτερη περίοδο επαλείψεων (μέχρι ημ. 25<sup>η</sup>) οι μύες εμφάνιζαν μια έντονα διαφοροποιούμενη εικόνα μέρα με την μέρα. Ειδικά τις ημέρες επάλειψης τα συμπτώματα ήταν εξαιρετικά ελαττωμένα και τις άλλες μέρες παρατηρήθηκαν ξηροδερμίες, ερυθρότητα, πάχυνση, λειχνοποίηση, απολέπιση, αλλά χωρίς να ξεπερνούν μέτριας έντασης εκδηλώσεις. Την ημέρα έναρξης των τοπικών σκευασμάτων όλες οι ομάδες παρουσιάζανε ελαφριά απολέπιση, ξηροδερμίες και πάχυνση.

#### 3.3.1.3 Μάρτυρες [DNCB]

Μέχρι την 37<sup>η</sup> ημέρα η κλινική εικόνα των μυών ήταν πολύ ήπια με ελαφριές ξηροδερμίες, ερυθρότητα και πάχυνση. Την 37<sup>η</sup> ημέρα παρατηρήθηκε έντονη ξηροδερμία, μέτριας βαρύτητας απολέπιση, λειχνοποίηση, ερυθρότητα και ορισμένες πληγές. Την 40<sup>η</sup> & 42<sup>η</sup> ημέρα τα συμπτώματα έγιναν πιο έντονα, ειδικά στα μεγαλύτερης ηλικίας ποντίκια που φαίνεται και στις εικόνες των δειγμάτων 55 & 62, με το τελευταίο να είναι το μεγαλύτερο.

#### 3.3.1.4 Τοπικό σκεύασμα 1 [μίγμα εκχυλισμάτων]

Όμοια μέχρι την ημέρα 37<sup>η</sup> η κλινική εικόνα των μυών του τοπικού σκευάσματος 1 [μίγμα εκχυλισμάτων] είχαν ελαφριές ξηροδερμίες, ερυθρότητα και πάχυνση. Την 37<sup>η</sup> ημέρα παρατηρήθηκαν εκτεταμένες ξηροδερμίες και απολέπιση, ερυθρότητα, λειχνοποίηση και ορισμένες πληγές. Τις 40<sup>η</sup> & 42<sup>η</sup> ημέρες η κλινική εικόνα παρέμεινε ίδια.

#### 3.3.1.5 Τοπικό σκεύασμα 2 [χλωροκρεσόλη]

Όμοια μέχρι την ημέρα 37<sup>η</sup> η κλινική των μυών του τοπικού σκευάσματος 2 [χλωροκρεσόλη] είχαν ελαφριές ξηροδερμίες, ερυθρότητα και πάχυνση. Την 37<sup>η</sup> ημέρα παρατηρήθηκε εξαιρετική βελτίωση της εικόνας τους με 4/8 (τα νεότερα) να έχουν πολύ ελαφριά ξηροδερμία και τα υπόλοιπα να έχουν ελαφριά ξηροδερμία. Την 40<sup>η</sup> ημέρα η εικόνα συνέχισε να είναι βελτιωμένη με ελαφριά απολέπιση και ξηροδερμία, όμως με λίγο πιο έντονη ερυθρότητα.

#### 3.3.1.6 Τοπικό σκεύασμα 3 [ισόποδο]

Όμοια μέχρι την ημέρα 37<sup>η</sup> η κλινική των μυών του τοπικού σκευάσματος 3 [ισόποδο] είχαν ελαφριές ξηροδερμίες, ερυθρότητα και πάχυνση. Την 37<sup>η</sup> ημέρα η εικόνα ήταν αρκετά διαφορετική μέσα στην ομάδα, 3/8 (2 νεότερα και ένα μεγαλύτερο σε ηλικία ποντίκια) παρουσίαζαν εξαιρετική εικόνα με πάρα πολύ ελαφριά απολέπιση, 4/8 με μέτρια απολέπιση, ελαφριά ξηροδερμία και λειχνοποίηση, ενώ ένα από τα μεγαλύτερα ζώα παρουσίασε πολύ έντονη απολέπιση. Την 40<sup>η</sup> και 42<sup>η</sup> ημέρα εκτός από δυο από τα οκτώ της ομάδας (ένα μικρό και ένα μεγάλο) που παρουσίασαν πιο εκτεταμένη και έντονη ξηροδερμία, τα υπόλοιπα ποντίκια είχαν ελαφριά ξηροδερμία και εντοπισμένη απολέπιση.

#### 3.3.1.7 Τοπικό σκεύασμα 4 [ελαιοκανθάλη & ολεασίνη]

Όμοια μέχρι την ημέρα 37<sup>η</sup> η κλινική των μυών του τοπικού σκευάσματος 4 [ελαιοκανθάλη & ολεασίνη] είχαν ελαφριές ξηροδερμίες, ερυθρότητα και πάχυνση. Την 37<sup>η</sup> ημέρα εκτός από ένα ποντίκι (μεγάλο) όλα τα άλλα παρουσίασαν λίγες ξηροδερμίες. Την 40<sup>η</sup> και 42<sup>η</sup> ημέρες η ξηροδερμία και η απολέπιση έγιναν πιο έντονες, ενώ παρατηρήθηκε και πάχυνση.

SKH-1 Ενδιάμεσο (Δείγμα 44)



Ημέρα 0



Ημέρα 5



Ημέρα 6



Ημέρα 11



Ημέρα 16



Ημέρα 25

Εικόνα 44: Η εξέλιξη της κλινικής εικόνας στο πείραμα 3<sup>ο</sup>-ενδιάμεσο (δείγμα 44)

SKH-1 Ενδιάμεσο (Δείγμα 45)



Ημέρα 0



Ημέρα 5



Ημέρα 6



Ημέρα 11



Ημέρα 16



Ημέρα 25

Εικόνα 45: Η εξέλιξη της κλινικής εικόνας στο πείραμα 3<sup>ο</sup>-ενδιάμεσο (δείγμα 45)

SKH-1 Μάρτυρες [DNCB] (Δείγμα 55)



Ημέρα 0



Ημέρα 6



Ημέρα 11



Ημέρα 16



Ημέρα 25



Ημέρα 27 (δερματοσκόπιο)



Ημέρα 40



Ημέρα 42

Εικόνα 46: Η εξέλιξη της κλινικής εικόνας στο πείραμα 3<sup>ο</sup>-μάρτυρες (δείγμα 55)

SKH-1 Μάρτυρες [DNCB] (Δείγμα 62)



Ημέρα 0



Ημέρα 6



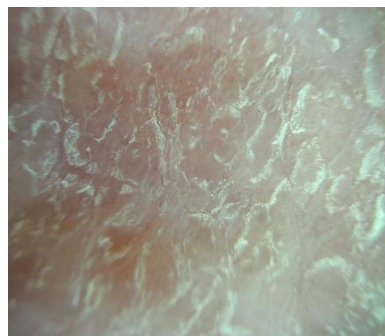
Ημέρα 11



Ημέρα 16



Ημέρα 25



Ημέρα 27 (δερματοσκόπιο)



Ημέρα 40



Ημέρα 42

Εικόνα 47: Η εξέλιξη της κλινικής εικόνας στο πείραμα 3<sup>ο</sup>-μάρτυρες (δείγμα 62)

SKH-1 Τοπικό σκεύασμα 1 [μίγμα εκχυλισμάτων] (Δείγμα 46)



Ημέρα 0



Ημέρα 6



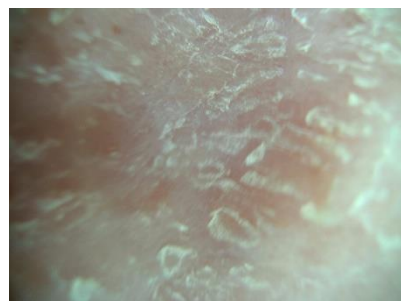
Ημέρα 11



Ημέρα 16



Ημέρα 25



Ημέρα 27 (δερματοσκόπιο)



Ημέρα 40

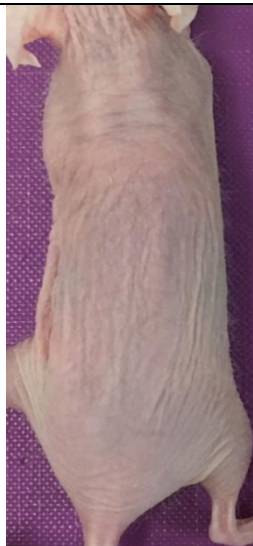


Ημέρα 42

Εικόνα 48: Η εξέλιξη της κλινικής εικόνας στο πείραμα 3<sup>ο</sup>-τοπικό σκεύασμα 1 [μίγμα εκχυλισμάτων] (δείγμα 46)



SKH-1 Τοπικό σκεύασμα 1 [μίγμα εκχυλισμάτων] (Δείγμα 52)



Ημέρα 0



Ημέρα 6



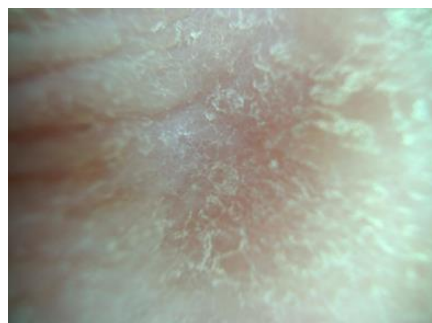
Ημέρα 11



Ημέρα 16



Ημέρα 25



Ημέρα 27 (δερματοσκόπιο)



Ημέρα 40



Ημέρα 42

Εικόνα 49: Η εξέλιξη της κλινικής εικόνας στο πείραμα 3<sup>ο</sup>-τοπικό σκεύασμα 1 [μίγμα εκχυλισμάτων] (δείγμα 52)

SKH-1 Τοπικό σκεύασμα 2 [χλωροκρεσόλη] (Δείγμα 63)



Ημέρα 0



Ημέρα 6



Ημέρα 11



Ημέρα 16



Ημέρα 25



Ημέρα 27 (δερματοσκόπιο)



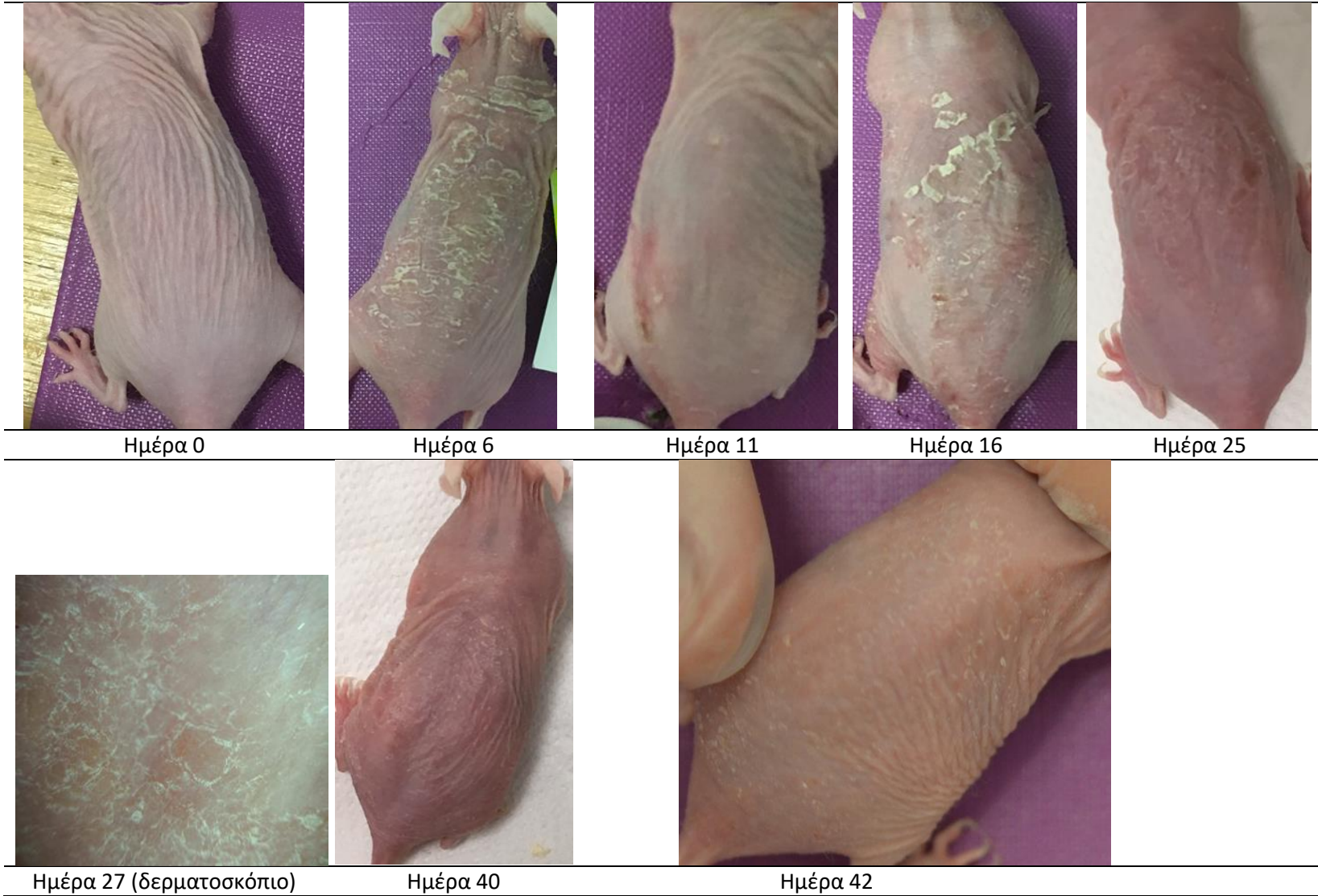
Ημέρα 40



Ημέρα 42

Εικόνα 50: Η εξέλιξη της κλινικής εικόνας στο πείραμα 3<sup>ο</sup>-τοπικό σκεύασμα 2 [χλωροκρεσόλη] (δείγμα 63)

SKH-1 Τοπικό σκεύασμα 2 [χλωροκρεσόλη] (Δείγμα 68)



Εικόνα 51: Η εξέλιξη της κλινικής εικόνας στο πείραμα 3<sup>ο</sup>-τοπικό σκεύασμα 2 [χλωροκρεσόλη] (δείγμα 68)

SKH-1 Τοπικό σκεύασμα 3 [ισόποδο] (Δείγμα 74)



Ημέρα 0



Ημέρα 6



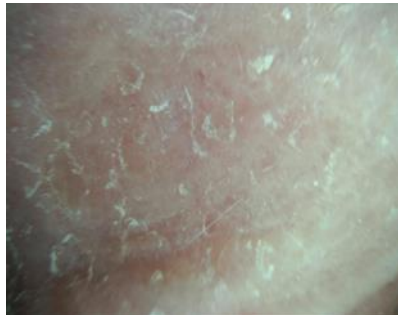
Ημέρα 11



Ημέρα 16



Ημέρα 25



Ημέρα 27 (δερματοσκόπιο)



Ημέρα 40



Ημέρα 42

Εικόνα 52: Η εξέλιξη της κλινικής εικόνας στο πείραμα 3<sup>ο</sup>-τοπικό σκεύασμα 3 [ισόποδο] (δείγμα 74)

SKH-1 Τοπικό σκεύασμα 3 [ισόποδο] (Δείγμα 78)



Εικόνα 53: Η εξέλιξη της κλινικής εικόνας στο πείραμα 3<sup>ο</sup>-τοπικό σκεύασμα 3 [ισόποδο] (δείγμα 78)

SKH-1 Τοπικό σκεύασμα 4 [ελαιοκανθάλη & ολεασίνη] (Δείγμα 80)



Ημέρα 0



Ημέρα 6



Ημέρα 11



Ημέρα 16



Ημέρα 25



Ημέρα 27 (δερματοσκόπιο)



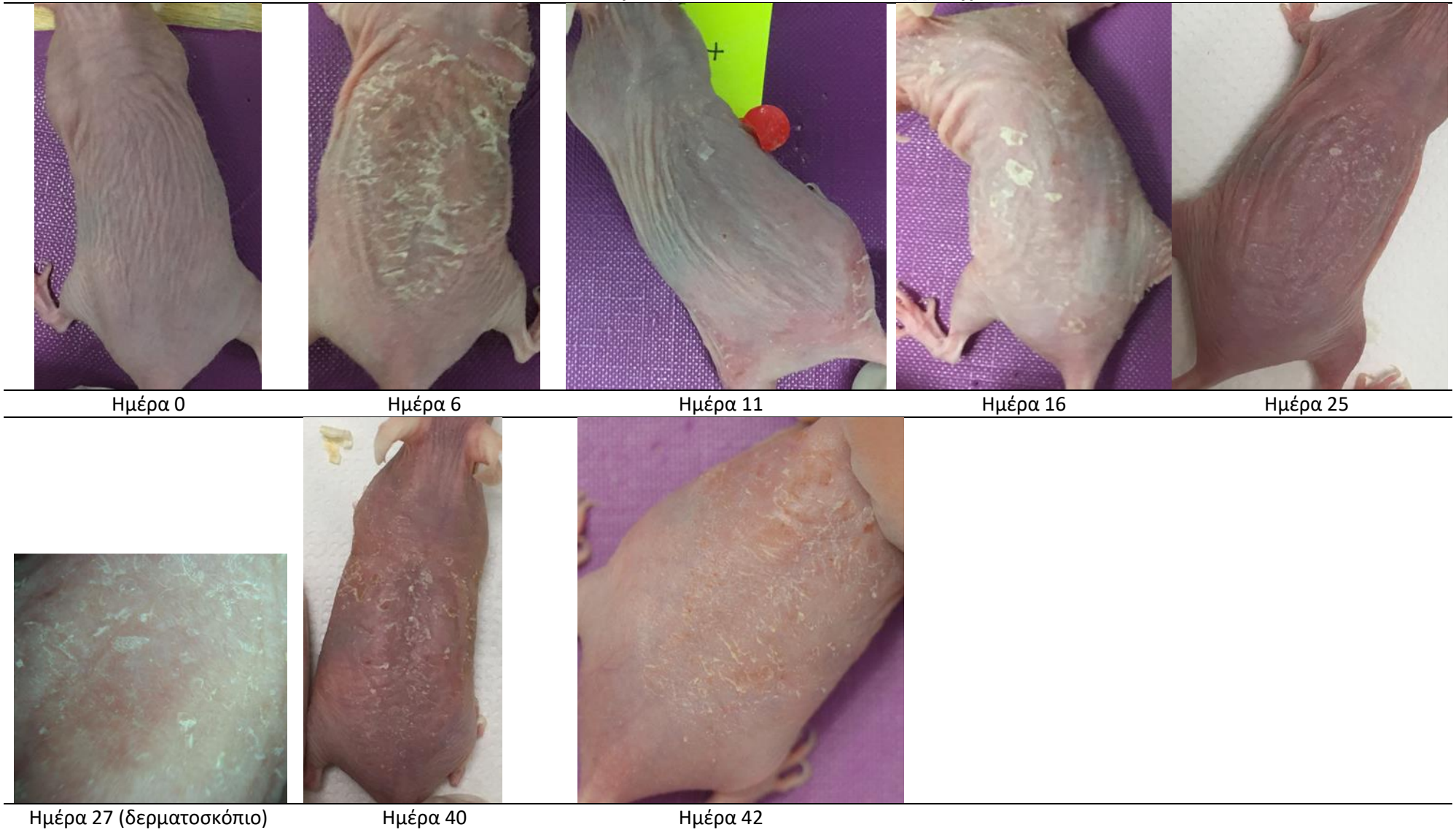
Ημέρα 40



Ημέρα 42

Εικόνα 54: Η εξέλιξη της κλινικής εικόνας στο πείραμα 3<sup>ο</sup>-τοπικό σκεύασμα 4 [ελαιοκανθάλη & ολεασίνη] (δείγμα 80)

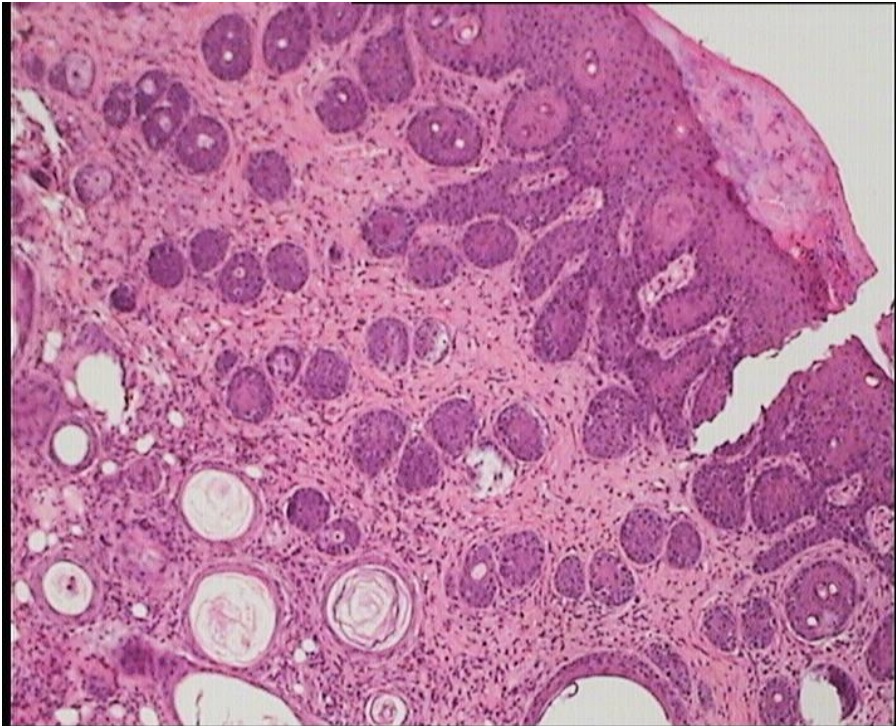
SKH-1 Τοπικό σκεύασμα 4 [ελαιοκανθάλη & ολεασίνη] (Δείγμα 85)



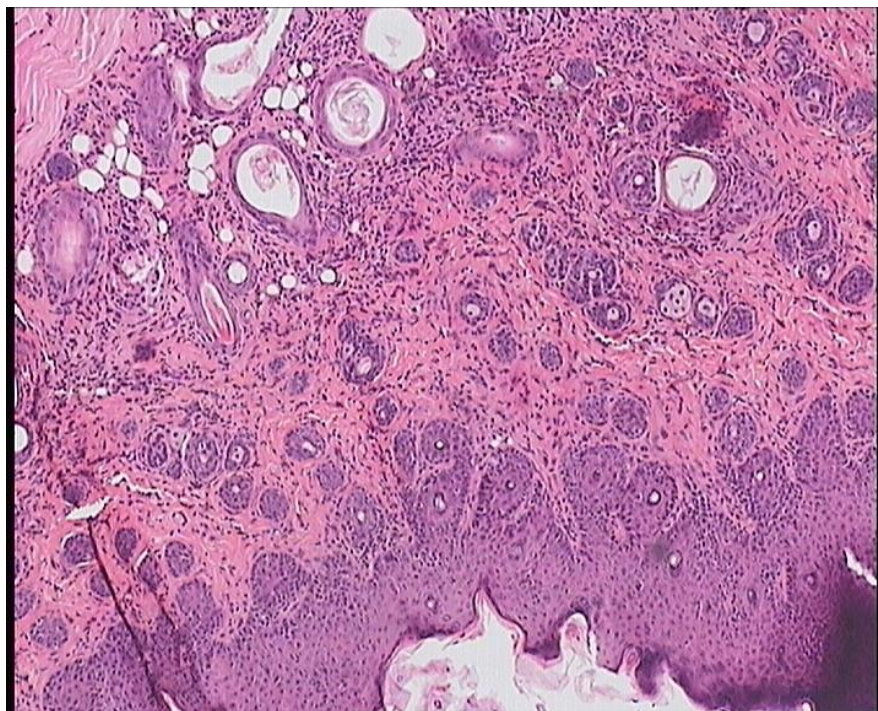
Εικόνα 55: Η εξέλιξη της κλινικής εικόνας στο πείραμα 3<sup>ο</sup>-τοπικό σκεύασμα 4 [ελαιοκανθάλη & ολεασίνη] (δείγμα 85)

### 3.3.2 Ιστοπαθολογικά αποτελέσματα

#### 3.3.2.1 Μάρτυρες



Εικόνα 56: Ιστοπαθολογική εικόνα (x100) στο πείραμα 3<sup>ο</sup>-Μάρτυρες [DNCB] (δείγμα 55)

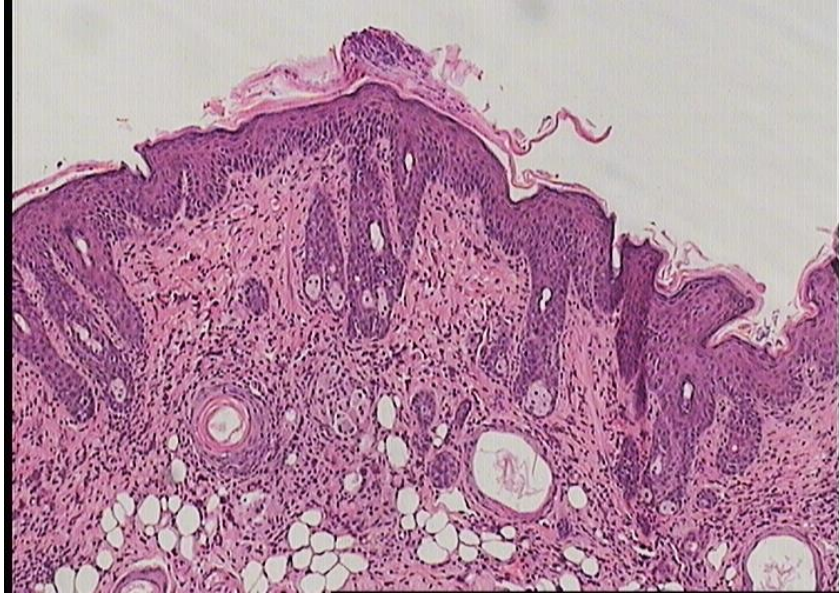


Εικόνα 57: Ιστοπαθολογική εικόνα (x100) στο πείραμα 3<sup>ο</sup>-Μάρτυρες [DNCB] (δείγμα 62)

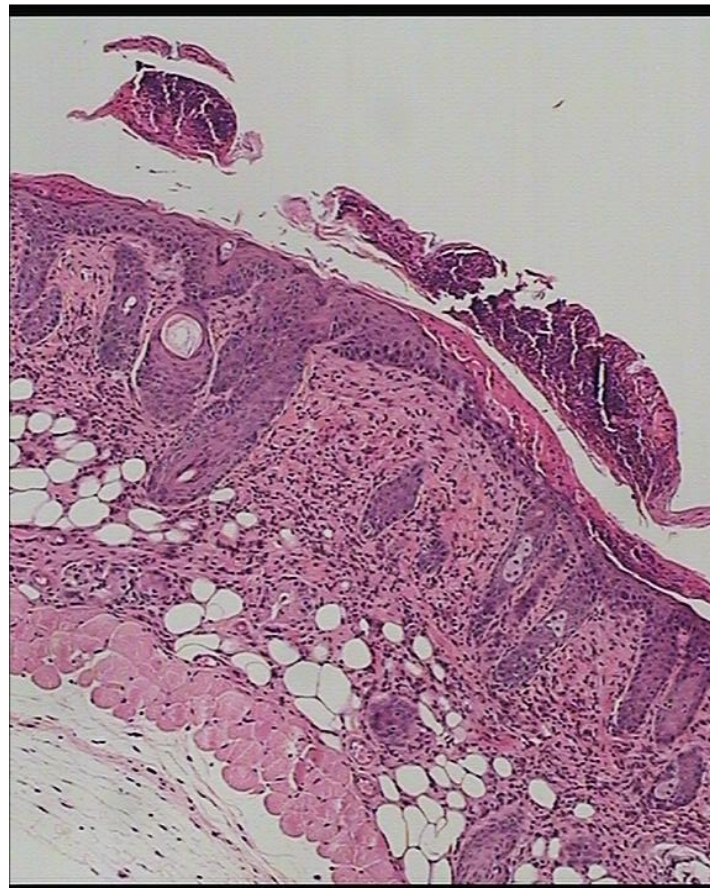
Ιστοπαθολογικά οι μάρτυρες του πειράματος 3<sup>ου</sup> παρουσίασαν ενεργή βαθιά και επιφανειακή φλεγμονή (3), εξελκώσεις, λειχηνοποίηση, υπερκεράτωση (3). Η παρουσία πολυμορφούρητων κυττάρων αποδεικνύει την ενεργότητα της φλεγμονής και τα λεμφοκύτταρα το ότι είναι χρόνια.



3.3.2.2 Τοπικό σκεύασμα 1 [μίγμα εκχυλισμάτων]



Εικόνα 58: Ιστοπαθολογική εικόνα (x100) στο πείραμα 3<sup>ο</sup>-Τοπικό σκεύασμα 1 [μίγμα εκχυλισμάτων] (δείγμα 46)



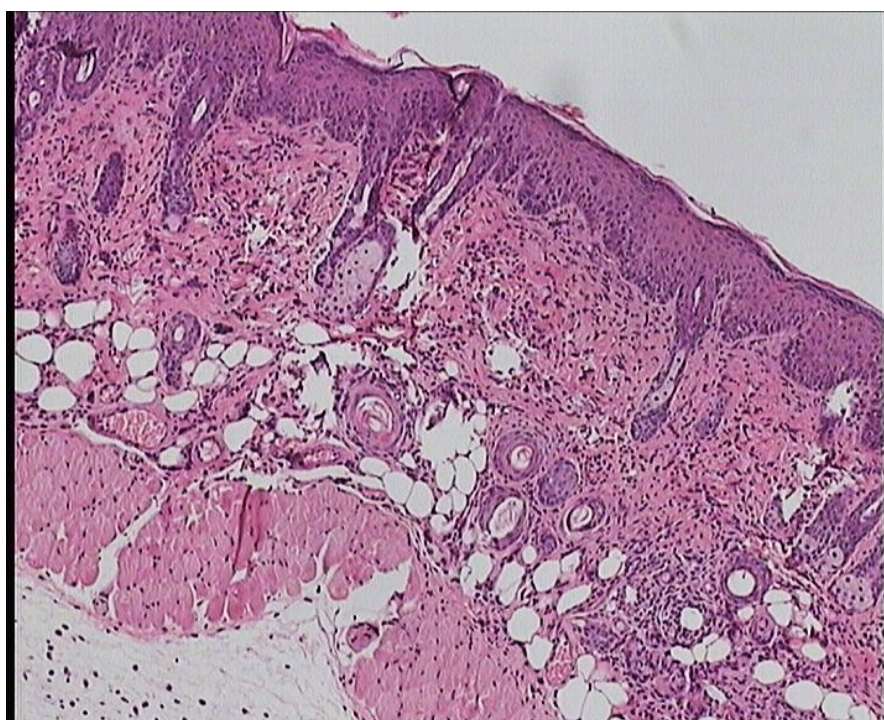
Εικόνα 59: Ιστοπαθολογική εικόνα (x100) στο πείραμα 3<sup>ο</sup>-Τοπικό σκεύασμα 1 [μίγμα εκχυλισμάτων] (δείγμα 52)

Τα δείγματα του τοπικού σκευάσματος 1 [μίγμα εκχυλισμάτων] είχαν ίδια αξιολόγηση με αυτά των μαρτύρων.

### 3.3.2.3 Τοπικό σκεύασμα 2 [χλωροκρεσόλη]



Εικόνα 60: Ιστοπαθολογική εικόνα (x100) στο πείραμα 3<sup>ο</sup>-Τοπικό σκεύασμα 2 [χλωροκρ.] (δείγμα 63)



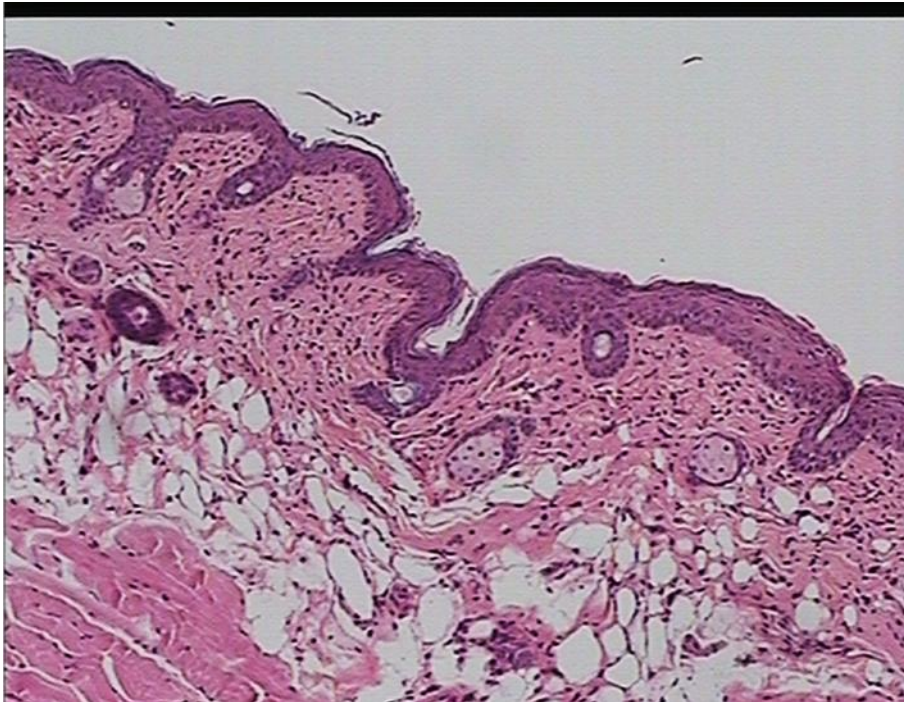
Εικόνα 61: Ιστοπαθολογική εικόνα (x100) στο πείραμα 3<sup>ο</sup>-Τοπικό σκεύασμα 2 [χλωροκρ.] (δείγμα 68)

Ιστοπαθολογικά τα δείγματα του τοπικού σκευάσματος 2 [χλωροκρεσόλη] έδωσαν ενθαρρυντικά αποτελέσματα. Πιο συγκεκριμένα, κανένα από τα 4 δείγματα (δείγμα 63, 65, 68 & 70) δεν είχε επιφανειακή φλεγμονή. Χαρακτηριστικά, τα δείγματα 63 & 68 (Εικόνα 60 & 61) είχαν ελάχιστα ενεργή φλεγμονή στο χόριο (1) και υπερκεράτωση (2).

#### 3.3.2.4 Τοπικό σκεύασμα 3 [ισόποδο]



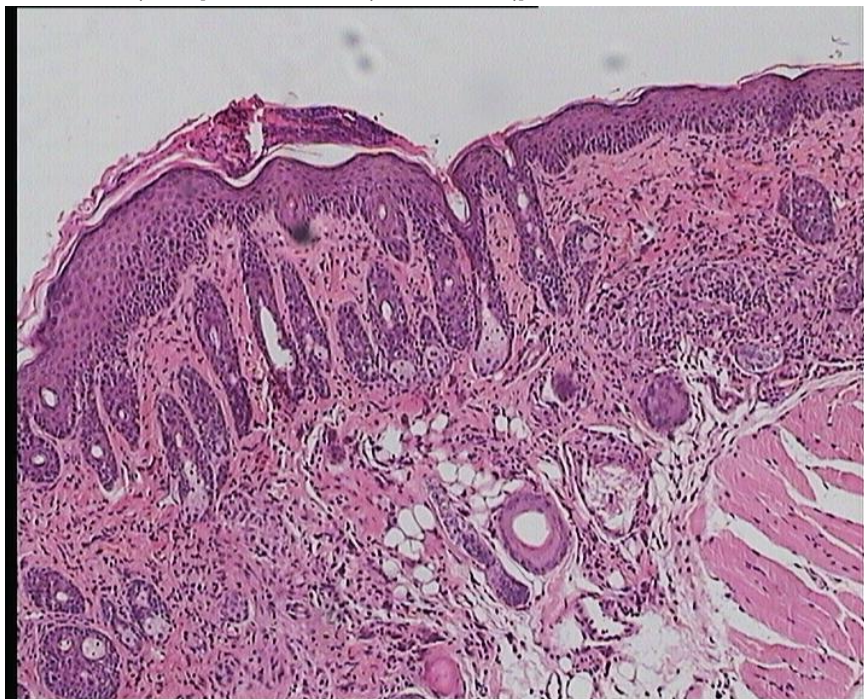
Εικόνα 62: Ιστοπαθολογική εικόνα (x100) στο πείραμα 3<sup>ο</sup>-Τοπικό σκεύασμα 3 [ισόποδο] (δείγμα 74)



Εικόνα 63: Ιστοπαθολογική εικόνα (x100) στο πείραμα 3<sup>ο</sup>-Τοπικό σκεύασμα 3 [ισόποδο] (δείγμα 78)

Όμοια και τα δείγματα του τοπικού σκευάσματος 3 [ισόποδο] (δείγμα 73, 74, 77, 78) έδειξαν βελτιωμένη εικόνα με καθόλου επιφανειακή φλεγμονή. Το δείγμα 74 είχε ενεργή φλεγμονή στο χόριο (1+), όμως υπήρχαν περιοχές που ήταν υγιείς, υπερκεράτωση (1). Το δείγμα 78 είχε ακόμη καλύτερη εικόνα με μεγάλα, υγιή τμήματα και μια περιοχή μόνο στο χόριο με ενεργή φλεγμονή (1-) και υπερκεράτωση (1).

### 3.3.2.5 Τοπικό σκεύασμα 4 [ελαιοκανθάλη & ολεασίνη]



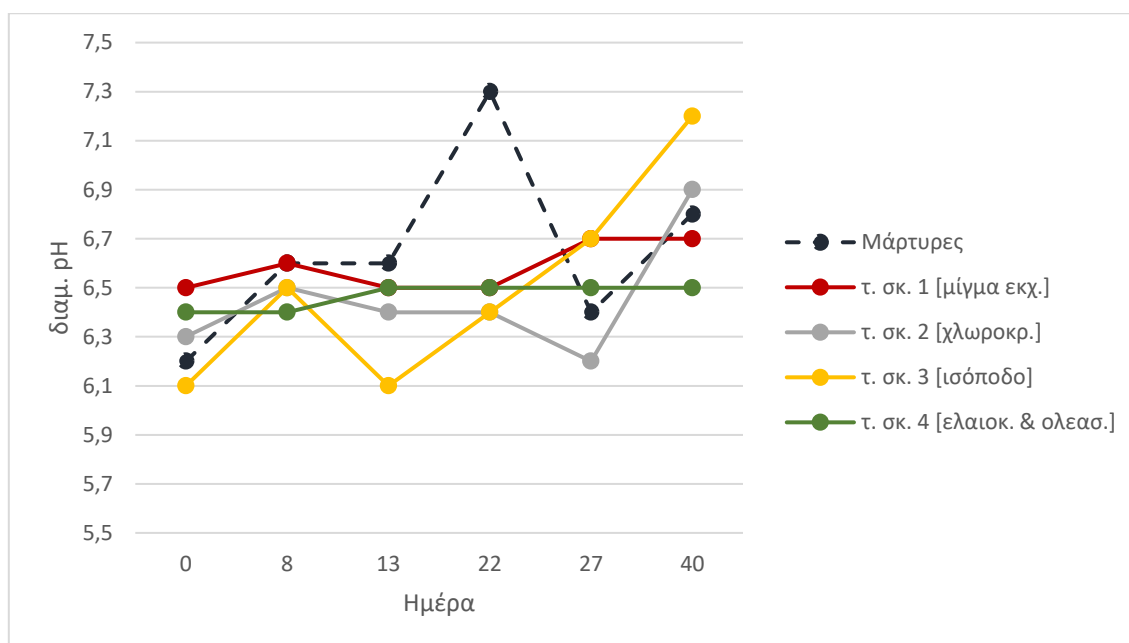
Εικόνα 64: Ιστοπαθολογική εικόνα (x100) στο πείραμα 3<sup>ο</sup>-Τοπικό σκεύασμα 4 [ελαιοκανθάλη & ολεασίνη] (δείγμα 80)



Εικόνα 65: Ιστοπαθολογική εικόνα (x100) στο πείραμα 3<sup>ο</sup>-Τοπικό σκεύασμα 4 [ελαιοκανθάλη & ολεασίνη] (δείγμα 85)

Τα δείγματα που ελέγχθηκαν ιστοπαθολογικά από την ομάδα αυτή ήταν τα 79, 80, 83 & 85. Στην ομάδα αυτή η φλεγμονή ήταν παρούσα και στην επιφάνεια σε 3/4 δείγματα. Χαρακτηριστικά το δείγμα 80 παρουσίασε λίγο ενεργή φλεγμονή στην επιφάνεια και παραπάνω στο χόριο (2+) και υπερκεράτωση (2). Το δείγμα 85 είχε ενεργή φλεγμονή στο χόριο (1+) και υπερκεράτωση (2).

### 3.3.3 pH



**Διάγραμμα 8:** Οι διάμεσοι των μετρήσεων pH για το πείραμα 3<sup>ο</sup> (ημ. 0-42)

Η εξέλιξη του pH μέχρι και την ημ. 13 κινήθηκε σε όμοια επίπεδα σε όλες τις ομάδες. Μετά οι μάρτυρες παρουσίασαν μια μεγάλη αύξηση την ημ. 22, ενώ οι υπόλοιπες ομάδες παρέμειναν στο ίδιο επίπεδο. Μετά την έναρξη των επαλείψεων το pH της ομάδας των τοπικών σκευασμάτων 1 [μίγμα εκχυλισμάτων] και του 3 [ισόποδο] έδειξαν αύξηση. Ενώ οι ομάδες των μαρτύρων, τοπ. σκ. 2 [χλωροκρεσόλη] και του τοπ. σκ. 4 [ελαιοκανθάλη & ολεασίνη] ήταν πιο κοντά. Στην τελική μέτρηση οι ομάδες του τοπ. σκ. 3 [ισόποδο] και τοπ. σκ. 2 [χλωροκρεσόλη] εμφάνισαν μεγαλύτερη διάμεση τιμή από τους μάρτυρες και τις ομάδες του τοπ. σκ. 1 [μίγματος εκχυλισμάτων] και τοπ. σκ. 4 [ελαιοκανθάλη & ολεασίνη].

**Πίνακας 53:** Μετρήσεις pH για το πείραμα 3<sup>ο</sup> Μάρτυρες [DNCB]

PH	Μάρτυρες [DNCB]					
	Ημέρα πειραματισμού					
Δείγμα	0	8	13	22	27	40
54	6,2	6,5	6,4	7,6	6,4	7,8
55	6,8	6,7	6,3	5,6	7,1	6,4
56	6,8	6,6	6,8	5,9	6,4	6,7
57	6,8	6,4	6,7	6	6,5	6,4
58	6	6,4	6,8	7	6,2	6,8
59	6,1	6,8	6,5	7,4	6,6	6,8
60	6,2	6,9	7,1	7,7	7,4	6,4
61	6,1	6,5	6,6	7,3	6,3	8,3
62	6,5	6,7	6,4	7,4	6,4	7,1

**Πίνακας 54:** Μετρήσεις pH για το πείραμα 3<sup>ο</sup> Τοπικό σκεύασμα 1 [μίγμα εκχυλισμάτων]

PH <i>Τοπικό σκεύασμα 1 [μίγμα εκχυλισμάτων]</i>						
	Ημέρα πειραματισμού					
Δείγμα	0	8	13	22	27	40
44	6,5	6,9	6,7	6,9	-	-
45	5,3	6,4	5,7	6,5	-	-
46	6,1	6,6	6,3	7,3	6,9	6,7
47	6,6	6,4	6,9	6,5	6,3	7,8
48	6,5	6,6	5,8	6,2	6,7	7,8
49	6,6	6,5	6,8	6,2	6,9	6,8
50	5,6	6,5	6,8	7,2	7	7,3
51	6,4	7,1	6	6,9	6,4	6,6
52	6,8	6,9	7	6,1	6,7	6,5
53	6,5	6,7	5,8	5,7	6,2	5

**Πίνακας 55:** Μετρήσεις pH για το πείραμα 3<sup>ο</sup> Τοπικό σκεύασμα 2 [χλωροκρεσόλη]

PH <i>Τοπικό σκεύασμα 2 [χλωροκρεσόλη]</i>						
	Ημέρα πειραματισμού					
Δείγμα	0	8	13	22	27	40
63	5,8	6,1	6,4	7	6,8	7,3
64	6,6	6,5	7	6,4	6,6	6,9
65	5,9	5,8	5,7	4,6	6,3	6,4
66	5,9	6,9	7,1	6	6,2	7,4
67	6,6	6,8	6,8	7,4	6,1	7
68	6,5	5,7	6,2	7,9	6,2	6,8
69	6,2	6,5	7,5	7	5,8	7,9
70	6,5	6,8	6,4	6	7	6,1

**Πίνακας 56:** Μετρήσεις pH για το πείραμα 3<sup>ο</sup> Τοπικό σκεύασμα 3 [ισόποδο]

PH <i>Τοπικό σκεύασμα 3 [ισόποδο]</i>						
	Ημέρα πειραματισμού					
Δείγμα	0	8	13	22	27	40
71	5,7	6,7	7,1	6,9	6,9	5,9
72	6,7	6,4	6,1	6,7	6,8	7,2
73	6,6	6,5	5,4	5,7	6,6	6,4
74	5,9	6,4	5,7	7,2	6,9	7,9
75	6,2	6,5	6,5	6,4	6,9	7,2
76	6	5,9	6,4	6,1	6,7	7,7
77	6,3	6,5	6,9	5,7	6,1	6,1
78	6	6,6	6,2	7	6,5	7,4

**Πίνακας 57:** Μετρήσεις pH για το πείραμα 3<sup>ο</sup> Τοπικό σκεύασμα 4 [ελαιοκανθάλη & ολεασίνη]

pH	Τοπικό σκεύασμα 4 [ελαιοκανθάλη & ολεασίνη]					
	Ημέρα πειραματισμού					
Δείγμα	0	8	13	22	27	40
71	5,7	6,7	7,1	6,9	6,9	5,9
72	6,7	6,4	6,1	6,7	6,8	7,2
73	6,6	6,5	5,4	5,7	6,6	6,4
74	5,9	6,4	5,7	7,2	6,9	7,9
75	6,2	6,5	6,5	6,4	6,9	7,2
76	6	5,9	6,4	6,1	6,7	7,7
77	6,3	6,5	6,9	5,7	6,1	6,1
78	6	6,6	6,2	7	6,5	7,4

### 3.3.3.1 Στατιστική ανάλυση μετρήσεων pH

#### - Σύγκριση τοπικών σκευασμάτων με τους μάρτυρες

#### **Τοπικό σκεύασμα 1 [μίγμα εκχύλισμα] Vs Μάρτυρες [DNCB]**

Συγκρίνοντας στατιστικά τις ομάδες του τοπικού σκευάσματος 1 [μίγμα εκχυλισμάτων] και των μαρτύρων [DNCB] δεν παρουσιάστηκε καμία στατιστικά σημαντική διαφορά στις μετρήσεις pH (Πίνακας 58).

**Πίνακας 58:** Στατιστική σύγκριση των ομάδων τοπικό σκεύασμα 1 [μίγμα εκχύλισμα] και μάρτυρες [DNCB] pH-πείραμα 3<sup>ο</sup>

Ημέρα	Τοπ. Σκ. 1	Μάρτυρες	p-value
	[μίγμα εκχ.]	[DNCB]	
	Διαμ. pH	Διαμ. pH	
0	6,5	6,2	0,905
8	6,6	6,6	0,78
13	6,5	6,6	0,497
22	6,5	7,3	0,243
27	6,7	6,4	0,673
40	6,7	6,8	0,963
<b>Μεταβολή (ημ.0-40)</b>	<b>3,08%</b>	<b>9,68%</b>	

#### **Τοπικό σκεύασμα 2 [χλωροκρεσόλη] Vs Μάρτυρες [DNCB]**

Συγκρίνοντας στατιστικά τις ομάδες του τοπικού σκευάσματος 2 [χλωροκρεσόλη] και των μαρτύρων [DNCB] δεν παρουσιάστηκε καμία στατιστικά σημαντική διαφορά στις μετρήσεις pH (Πίνακας 59).

**Πίνακας 59:** Στατιστική σύγκριση των ομάδων τοπικό σκεύασμα 2 [χλωροκρεσόλη] με μάρτυρες pH-πείραμα 3<sup>ο</sup>

Ημέρα	Τοπ. Σκ. 2 [χλωροκρ.]	Μάρτυρες [DNCB]	p-value
	Διαμ. pH	Διαμ. pH	
0	6,3	6,2	0,156
8	6,5	6,6	0,182
13	6,4	6,6	0,065
22	6,4	7,3	0,113
27	6,2	6,4	0,321
40	6,9	6,8	0,888
<b>Μεταβολή (ημ. 0-40)</b>	<b>9,52%</b>	<b>9,68%</b>	

### Τοπικό σκεύασμα 3 [ισόποδο] Vs Μάρτυρες [DNCB]

Συγκρίνοντας στατιστικά τις ομάδες του τοπικού σκευάσματος 3 [ισόποδο] και των μαρτύρων [DNCB] δεν παρουσιάστηκε καμία στατιστικά σημαντική διαφορά στις μετρήσεις pH (Πίνακας 60).

**Πίνακας 60:** Στατιστική σύγκριση των ομάδων τοπικό σκεύασμα 3 [ισόποδο] με μάρτυρες [DNCB] - πείραμα 3<sup>ο</sup>

Ημέρα	Τοπ. Σκ. 3 [ισόποδο]	Μάρτυρες [DNCB]	p-value
	Διαμ. pH	Διαμ. pH	
0	6,1	6,2	0,315
8	6,5	6,6	0,497
13	6,1	6,6	0,497
22	6,4	7,3	0,4
27	6,7	6,4	0,236
40	7,2	6,8	0,673
<b>Μεταβολή (ημ. 0-40)</b>	<b>18,03%</b>	<b>9,68%</b>	

### Τοπικό σκεύασμα 4 [ελαιοκανθάλη & ολεασίνη] Vs Μάρτυρες [DNCB]

Συγκρίνοντας στατιστικά τις ομάδες του τοπικού σκευάσματος 4 [ελαιοκανθάλη & ολεασίνη] και μαρτύρων, παρουσιάστηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στη μέτρηση ημ. 8<sup>η</sup>, με την ομάδα των μαρτύρων να έχει μεγαλύτερη τιμή pH (Πίνακας 61). Παρόλα αυτά αποτελεί μέτρηση πριν την έναρξη της θεραπείας.

**Πίνακας 61:** Στατιστική σύγκριση των ομάδων τοπικό σκεύασμα 4 [ελαιοκανθάλη & ολεασίνη] και μάρτυρες [DNCB]-πείραμα 3<sup>ο</sup>

Ημέρα	Τοπ. Σκ. 4 [ελαιοκ. & ολεας.]	Μάρτυρες [DNCB]	p-value
	Διαμ. pH	Διαμ. pH	
0	6,4	6,2	0,661
8	6,4	6,6	<b>0,017</b>
13	6,5	6,6	0,315
22	6,5	7,3	0,182
27	6,5	6,4	0,606
40	6,5	6,8	0,2
<b>Μεταβολή (ημ. 0-40)</b>	<b>1,56%</b>	<b>9,68%</b>	



- Σύγκριση τοπικών σκευασμάτων μεταξύ τους

**Τοπικό σκεύασμα 1 [μίγμα εκχύλισμα] Vs Τοπικό σκεύασμα 2 [χλωροκρεσόλη]**

Συγκρίνοντας στατιστικά τις ομάδες του τοπικού σκευάσματος 1 [μίγμα εκχυλισμάτων] και του τοπικού σκευάσματος 2 [χλωροκρεσόλη] δεν παρουσιάστηκε καμία στατιστικά σημαντική διαφορά στις μετρήσεις pH (Πίνακας 62).

Πίνακας 62: Στατιστική σύγκριση των ομάδων τοπικό σκεύασμα 1 [μίγμα εκχύλισμα] και τοπικό σκεύασμα 2 [χλωροκρεσόλη]-πείραμα 3<sup>ο</sup>

	Τοπ. Σκ. 1 [μίγμα εκχ.]	Τοπ. Σκ. 2 [χλωροκρ.]	
Ημέρα	Διαμ. pH	Διαμ. pH	p-value
0	6,5	6,3	0,762
8	6,6	6,5	0,315
13	6,5	6,4	0,36
22	6,5	6,4	0,897
27	6,7	6,2	0,161
40	6,7	6,9	0,721
<b>Μεταβολή (ημ. 0-40)</b>	<b>3,08%</b>	<b>9,52%</b>	

**Τοπικό σκεύασμα 1 [μίγμα εκχύλισμα] Vs Τοπικό σκεύασμα 3 [ισόποδο]**

Από την στατιστική σύγκριση των δυο ομάδων δεν βρέθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ τους.

Πίνακας 63: Στατιστική σύγκριση των ομάδων τοπικό σκεύασμα 1 [μίγμα εκχυλισμάτων] και τοπικό σκεύασμα 3 [ισόποδο]-πείραμα 3<sup>ο</sup>

	Τοπ. Σκ. 1 [μίγμα εκχ.]	Τοπ. Σκ. 3 [ισόποδο]	
Ημέρα	Διαμ. pH	Διαμ. pH	p-value
0	6,5	6,1	0,46
8	6,6	6,5	0,122
13	6,5	6,1	0,829
22	6,5	6,4	0,762
27	6,7	6,7	1
40	6,7	7,2	1
<b>Μεταβολή (ημ. 0-40)</b>	<b>3,08%</b>	<b>18,03%</b>	

**Τοπικό σκεύασμα 1 [μίγμα εκχύλισμα] Vs Τοπικό σκεύασμα 4 [ελαιοκανθάλη & ολεασίνη]**

Συγκρίνοντας στατιστικά τις ομάδες του τοπικού σκευάσματος 1 [μίγμα εκχυλισμάτων] και τοπικού σκευάσματος 4 [ελαιοκανθάλη & ολεασίνη] παρουσιάστηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στη μέτρηση ημ. 8<sup>η</sup>, με την ομάδα του τοπικού σκευάσματος 1 να έχει μεγαλύτερη τιμή pH (Πίνακας 64). Παρόλα αυτά αποτελεί μέτρηση πριν την έναρξη της θεραπείας.

**Πίνακας 64:** Στατιστική σύγκριση των τοπικό σκεύασμα 1 [μίγμα εκχυλισμάτων] και τοπικό σκεύασμα 4 [ελαιοκανθάλη & ολεασίνη] -πείραμα 3<sup>ο</sup>

Ημέρα	Τοπ. Σκ. 1 [μίγμα εκχ.]	Τοπ. Σκ. 4 [ελαιοκ. & ολεασ.]	p-value
	Διαμ. pH	Διαμ. pH	
0	6,5	6,4	0,408
8	6,6	6,4	<b>0,004</b>
13	6,5	6,5	0,897
22	6,5	6,5	0,829
27	6,7	6,5	0,645
40	6,7	6,5	0,195
<b>Μεταβολή (ημ. 0-40)</b>	<b>3,08%</b>	<b>1,56%</b>	

**Τοπικό σκεύασμα 2 [χλωροκρεσόλη] Vs Τοπικό σκεύασμα 3 [ισόποδο]**

Στην στατιστική σύγκριση των δυο ομάδων δεν βρέθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ τους (Πίνακας 65).

**Πίνακας 65:** Στατιστική σύγκριση των ομάδων τοπικό σκεύασμα 2 [χλωροκρεσόλη] και τοπικό σκεύασμα 3 [ισόποδο] -πείραμα 3<sup>ο</sup>

Ημέρα	Τοπ. Σκ. 2 [χλωροκρεσόλη]	Τοπ. Σκ. 3 [ισόποδο]	p-value
	Διαμ. pH	Διαμ. pH	
0	6,3	6,1	0,878
8	6,5	6,5	0,878
13	6,4	6,1	0,279
22	6,4	6,4	0,645
27	6,2	6,7	0,161
40	6,9	7,2	1
<b>Μεταβολή (ημ. 0-40)</b>	<b>9,52%</b>	<b>18,03%</b>	

**Τοπικό σκεύασμα 2 [χλωροκρεσόλη] Vs Τοπικό σκεύασμα 4 [ελαιοκανθάλη & ολεασίνη]**

Στην στατιστική σύγκριση των δυο ομάδων δεν βρέθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ τους (Πίνακας 66).

**Πίνακας 66:** Στατιστική σύγκριση των ομάδων τοπικό σκεύασμα 2 [χλωροκρεσόλη] και τοπικό σκεύασμα 4 [ελαιοκανθάλη & ολεασίνη] -πείραμα 3<sup>ο</sup>

Ημέρα	Τοπ. Σκ. 2 [χλωροκρεσόλη]	Τοπ. Σκ. 4 [ελαιοκ. & ολεασ.]	p-value
	Διαμ. pH	Διαμ. pH	
0	6,3	6,4	0,161
8	6,5	6,4	0,382
13	6,4	6,5	0,645
22	6,4	6,5	0,878
27	6,2	6,5	0,195
40	6,9	6,5	0,195
<b>Μεταβολή (ημ. 0-40)</b>	<b>9,52%</b>	<b>1,56%</b>	

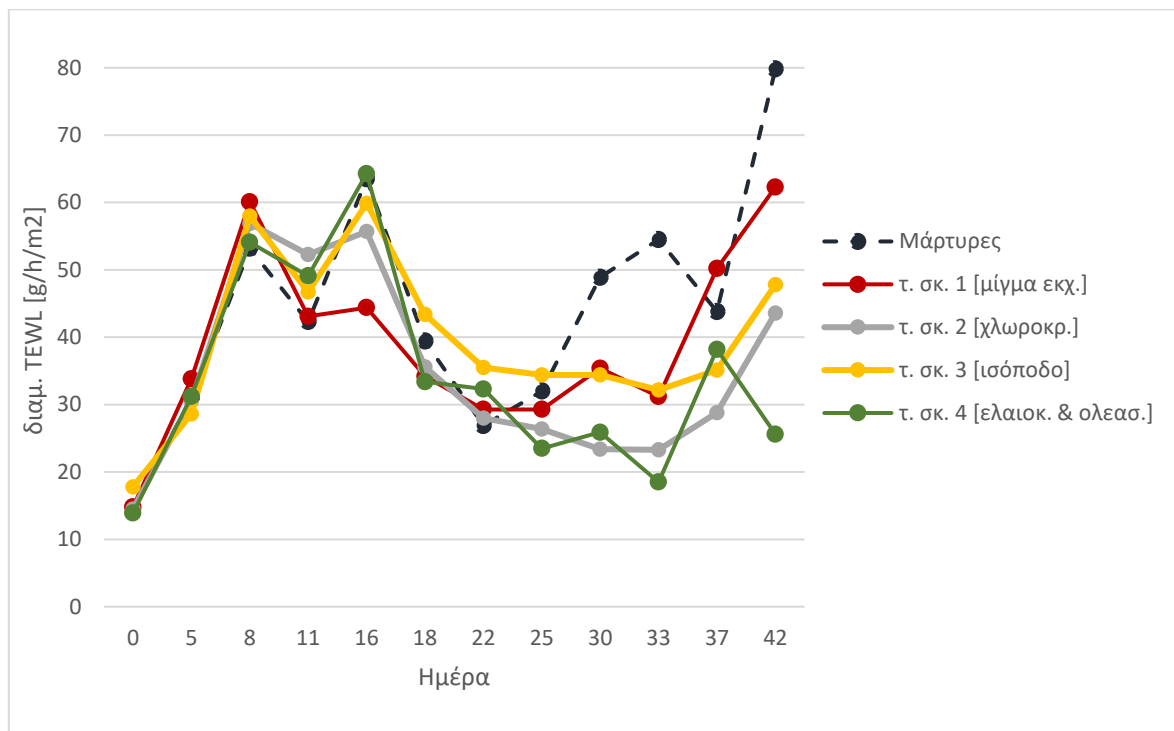
### Τοπικό σκεύασμα 3 [ισόποδο] Vs Τοπικό σκεύασμα 4 [ελαιοκανθάλη & ολεασίνη]

Συγκρίνοντας στατιστικά τις δυο ομάδες, τοπικό σκεύασμα 3 [ισόποδο] & τοπικό σκεύασμα 4 [ελαιοκανθάλη & ολεασίνη] βρέθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά μόνο στη μέτρηση ημ. 0 (Πίνακας 67), με την ομάδα του τοπ. σκ. 4 να έχει μεγαλύτερο pH.

Πίνακας 67: Στατιστική σύγκριση των ομάδων τοπικό σκεύασμα 2 [χλωροκρεσόλη] και τοπικό σκεύασμα 4 [ελαιοκανθάλη & ολεασίνη] -πείραμα 3<sup>ο</sup>

Ημέρα	Τοπ. Σκ. 3 [ισόποδο]	Τοπ. Σκ. 4 [ελαιοκ. & ολεας.]	p-value
	Διαμ. pH	Διαμ. pH	
0	6,1	6,4	<b>0,05</b>
8	6,5	6,4	0,105
13	6,1	6,5	0,442
22	6,4	6,5	0,721
27	6,7	6,5	0,234
40	7,2	6,5	0,279
Μεταβολή (ημ. 0-40)	18,03%	1,56%	

### 3.3.4 TEWL



Διάγραμμα 9: Οι διάμεσοι των μετρήσεων TEWL για το πείραμα 3<sup>ο</sup> (ημ. 0-42)

Μέχρι και την ημ. 25<sup>η</sup> όλες οι ομάδες εμφανίζουν σχεδόν ίδιες διάμεσες τιμές TEWL. Μετά την έναρξη των επαλείψεων οι μάρτυρες συνέχισαν την ανοδική τους πορεία ενώ οι ομάδες των τοπικών σκευασμάτων όχι. Ειδικά τα τοπ. σκ 2 [χλωροκρεσόλη] και τοπ. σκ. 4 [ελαιοκανθάλη & ολεασίνη] σημείωσαν κοινή πορεία και τις χαμηλότερες τιμές μέχρι και την ημ. 33<sup>η</sup>. Αντίστοιχα στο ίδιο διάστημα τα τοπ. σκ. 1 [μίγμα εκχυλισμάτων] και τοπ. σκ. 3 [ισόποδο] σημείωσαν κοινή πορεία και χαμηλότερες τιμές από αυτές των μαρτύρων, αλλά υψηλότερες από τα άλλα τοπικά σκευάσματα. Την 37<sup>η</sup> ημέρα παρατηρείται μια σύγκλιση μεταξύ όλων των ομάδων και το τοπικό σκεύασμα 1 [μίγμα εκχυλισμάτων] να ξεπερνάει ελαφρά τους μάρτυρες. Στο τέλος του πειράματος οι μάρτυρες αυξάνουν ραγδαία την TEWL τους, ενώ αμέσως μετά το τοπ. σκ. 1 [μίγμα εκχυλισμάτων] παρουσιάζει εξίσου μεγάλη αύξηση φτάνοντας στα επίπεδα της ημ. 8<sup>ης</sup>, τα τοπ. σκ. 2 [χλωροκρεσόλη] και τοπ. σκ. 3 [ισόποδο] συνέχισαν την ανοδική τους πορεία αλλά όχι τόσο κακή όσο το τοπ. σκ. 1 [μίγμα εκχυλισμάτων], και τέλος το τοπ. σκ. 4 [ελαιοκανθάλη & ολεασίνη] είχαν την καλύτερη εικόνα με μειωμένη TEWL.

Πίνακας 68: Μετρήσεις TEWL για το πείραμα 3<sup>ο</sup> Μάρτυρες [DNCB]

TEWL [g/h/m <sup>2</sup> ]	Μάρτυρες [DNCB]											
	Ημέρα πειραματισμού											
Δείγμα	0	5	8	11	16	18	22	25	30	33	37	42
54	11,8	31	50,5	47,3	81,5	31,3	17,5	22,2	25,9	59,6	37,5	82,7
55	13,2	31,4	53,2	40,2	35,1	24,7	20,8	20,7	43,4	37,3	43,8	45,9
56	14,7	30,6	51,3	33,6	46,6	31,8	26,9	23,9	48,9	22,3	41,3	66,4
57	15,7	26,3	63,8	42,3	63,5	50,8	12,8	35,2	26,2	31,1	25,4	48,9
58	14,8	42,9	56,5	53,4	67,1	39,4	32,6	31,2	79,1	68,2	50,4	96,1
59	16,4	32,1	61,2	65,5	68,5	42,7	33,1	35,3	42,6	22,1	50,8	72,6
60	14,6	28,6	51,8	41,3	54,4	49,4	42,6	37,8	62,3	81,2	74,5	87,3
61	14,2	38,1	52,2	40,4	25	31,4	38	50,1	62,9	54,5	51,5	91,6
62	10,6	26,3	61,4	71,4	65	42,4	23,5	32	64,3	55,3	40,6	79,8

Πίνακας 69: Μετρήσεις TEWL για το πείραμα 3<sup>ο</sup> Τοπικό σκεύασμα 1 [μίγμα εκχυλισμάτων]

TEWL [g/h/m <sup>2</sup> ]	Τοπικό σκεύασμα 1 [μίγμα εκχυλισμάτων]											
	Ημέρα πειραματισμού											
Δείγμα	0	5	8	11	16	18	22	25	30	33	37	42
44	16,2	21,7	66,3	36,5	62,5	34,5	14,7	28,8	-	-	-	-
45	19,6	26,9	65,6	37,1	32,3	38	37,5	42,2	-	-	-	-
46	14,3	34,4	59,7	44,6	42,5	27,5	53,8	22,6	37,1	31	47,8	45,6
47	14,5	38,2	60,3	41,1	69	67	40,4	73,3	65,3	60,3	49,3	76,2
48	18,1	36,6	55,7	51,4	59,4	33,9	36,9	39,3	33,7	31,5	56,9	74,6
49	15,1	47	65,6	44	16,4	31,5	28,3	29,8	55,9	27,9	50,6	80,3
50	16	28,4	57,9	67,1	45,8	83	25	45,7	63,3	45,6	94,3	86,1
51	13,7	33,2	48,7	38,5	43	29,7	30,3	22,2	31,7	33,4	61,8	50,1
52	10,6	35,8	60	48,5	64	39,8	25,7	20,7	33,2	24,7	49,8	49
53	13,2	27,6	67	42,3	38,3	28,9	20,2	22,6	14,1	23,6	37,8	47,1

Πίνακας 70: Μετρήσεις TEWL για το πείραμα 3<sup>ο</sup> Τοπικό σκεύασμα 2 [χλωροκρεσόλη]

TEWL [g/h/m <sup>2</sup> ]	Τοπικό σκεύασμα 2 [χλωροκρεσόλη]											
	Ημέρα πειραματισμού											
Δείγμα	0	5	8	11	16	18	22	25	30	33	37	42
63	14,4	24,3	56,7	50,5	64,4	43,8	20,6	24,1	29,5	35,2	26,3	43,8
64	13	29,8	55,2	48,2	73,2	28,6	32,4	26,1	22,5	16,1	19,8	21,5
65	9,5	32,5	50,9	37,8	42,7	30,6	33,5	24,4	23,5	19,9	38,2	22,6
66	14,7	22,8	56,2	54,2	42,3	60,7	21,6	26,8	31,1	52,9	43,8	53
67	17	37,3	57,1	62,9	49	54,9	25,7	38,6	16,9	21,4	26,6	48,8
68	12	37,3	58,6	68,3	71,8	79,5	41,6	28,1	18,7	25,3	30,7	63,4
69	17,2	34,8	48,2	62,3	48,3	36,7	40,3	54,5	28,2	17,3	26,9	43,4
70	15,6	31,2	66,2	60,6	73,5	29,7	30,3	19,5	23,4	35,2	34,2	35,5

Πίνακας 71: Μετρήσεις TEWL για το πείραμα 3<sup>ο</sup> Τοπικό σκεύασμα 3 [ισόποδο]

TEWL [g/h/m <sup>2</sup> ]		Τοπικό σκεύασμα 3 [ισόποδο]										
		Ημέρα πειραματισμού										
Δείγμα	0	5	8	11	16	18	22	25	30	33	37	42
71	15	22,7	65,8	35,9	64,6	44,1	18,7	30,7	28,7	32,2	24,4	25,6
72	19,2	27,3	53,6	43,9	57,6	44,9	26,4	37,9	39,3	67,1	34,7	49,1
73	17,3	27,4	35,6	34	62,2	31,7	32,2	30,9	22,6	32,2	26,8	46,6
74	16,2	37,4	51,4	67,7	46,3	42,8	23,1	26,8	26,4	18,9	35,5	36,6
75	18,6	29,8	64,7	71,3	54,8	37,8	51,8	46,3	42,4	38,4	31,2	73,8
76	18,3	37,1	73,3	49,5	68,4	71,5	38,9	47,9	57,7	79,4	62,7	75,1
77	19,2	37,3	62,5	68,4	49,3	55,6	39,2	39,8	67,9	30,2	35,5	64,4
78	14,6	24,6	44,1	34,4	67,3	23,5	41,1	26,2	29,5	14,1	41,6	41,3

Πίνακας 72: Μετρήσεις TEWL για το πείραμα 3<sup>ο</sup> Τοπικό σκεύασμα 4 [ελαιοκανθάλη & ολεασίνη]

TEWL [g/h/m <sup>2</sup> ]		Τοπικό σκεύασμα 4 [ολεασίνη & ελαιοκανθάλη]										
		Ημέρα πειραματισμού										
Δείγμα	0	5	8	11	16	18	22	25	30	33	37	42
79	13,6	29,4	74,5	84	65,3	26,2	24,1	33,1	16,9	14,2	34,4	32,8
80	14,2	27,8	54,5	39,3	75,2	35,4	41,3	21,9	30,6	22,8	29,2	25,9
81	10,3	44,8	48,2	61,6	49,3	34,5	25	22,6	14,3	12,9	26,4	20,8
82	12,1	41,2	44,8	37,2	68,2	26,3	21	23,5	21,3	12,8	26,6	22,7
83	16,2	34,1	53,6	27,3	51	29,3	21,2	37,3	14,5	10,6	42,1	25,3
84	18,1	33,1	56,1	50,3	63,4	32,3	47,2	36,2	44,1	36,4	58,8	60,1
85	15,2	22,2	60,4	59,7	59,2	47,6	40,8	23,6	37,2	26,5	49,7	50
86	13,1	28,2	53,7	47,9	69,5	47,8	39,7	17,3	52,1	74,9	64,4	22,7

### 3.3.4.1 Στατιστική ανάλυση μετρήσεων TEWL

- Σύγκριση τοπικών σκευασμάτων με τους μάρτυρες

#### Τοπικό σκεύασμα 1 [μίγμα εκχύλισμα] Vs Μάρτυρες [DNCB]

Συγκρίνοντας στατιστικά τις ομάδες του τοπικού σκευάσματος 1 [μίγμα εκχυλισμάτων] και των μαρτύρων [DNCB] δεν παρουσιάστηκε καμία στατιστικά σημαντική διαφορά στις μετρήσεις TEWL (Πίνακας 73).

Πίνακας 73: Στατιστική σύγκριση των ομάδων τοπικό σκεύασμα 1 [μίγμα εκχύλισμα] με μάρτυρες [DNCB] TEWL-πείραμα 3<sup>ο</sup>

Ημέρα	Τοπ. Σκ. 1 [μίγμα εκχ.]	Μάρτυρες [DNCB]	p-value
	Διαμ. TEWL	Διαμ. TEWL	
0	14,8	14,6	0,447
5	33,8	31	0,661
8	60,1	53,2	0,113
11	43,1	42,3	0,72
16	44,4	63,5	0,243
18	34,2	39,4	0,78
22	29,3	26,9	0,604
25	29,3	32	1
30	35,4	48,9	0,481
33	31,2	54,5	0,321
37	50,2	43,8	0,277
42	62,3	79,8	0,277
<b>Μεταβολή (ημ. 0-42)</b>	<b>320,95%</b>	<b>446,48%</b>	

#### Τοπικό σκεύασμα 2 [χλωροκρεσόλη] Vs Μάρτυρες [DNCB]

Συγκρίνοντας στατιστικά τις ομάδες του τοπικού σκευάσματος 2 [χλωροκρεσόλη] και των μαρτύρων [DNCB] παρουσιάστηκαν στατικά σημαντικές διαφορές για τις μετρήσεις ημ. 30-42, με τους μύες του τοπ. σκ. 2 [χλωροκρεσόλη] να έχουν μικρότερη τιμή TEWL (Πίνακας 74).

Πίνακας 74: Στατιστική σύγκριση των ομάδων τοπικό σκεύασμα 2 [χλωροκρεσόλη] με μάρτυρες [DNCB] TEWL-πείραμα 3<sup>ο</sup>

Ημέρα	Τοπ. Σκ. 2 [χλωροκρ.]	Μάρτυρες [DNCB]	p-value
	Διαμ. TEWL	Διαμ. TEWL	
0	14,5	14,6	0,78
5	30,5	31	0,604
8	56,9	53,2	0,4
11	52,3	42,3	0,447
16	55,7	63,5	1
18	35,6	39,4	1
22	28	26,9	1
25	26,4	32	0,549
30	23,4	48,9	<b>0,002</b>
33	23,3	54,5	<b>0,021</b>
37	28,8	43,8	<b>0,015</b>
42	43,6	79,8	<b>0,002</b>
<b>Μεταβολή (ημ. 0-42)</b>	<b>200,69%</b>	<b>446,58%</b>	

### Τοπικό σκεύασμα 3 [ισόποδο] Vs Μάρτυρες [DNCB]

Συγκρίνοντας στατιστικά τις ομάδες του τοπικού σκευάσματος 3 [ισόποδο] και των μαρτύρων [DNCB] παρουσιάστηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στις μετρήσεις ημ. 0 και 42. Την ημ. 0 οι μάρτυρες είχαν μικρότερη τιμή TEWL, ενώ στο τέλος του πειράματος μεγαλύτερη (Πίνακας 75).

Πίνακας 75: Στατιστική σύγκριση των ομάδων τοπικό σκεύασμα 3 [ισόποδο] με μάρτυρες [DNCB] TEWL -πείραμα 3<sup>ο</sup>

Ημέρα	Τοπ. Σκ. 3 [ισόποδο]	Μάρτυρες [DNCB]	p-value
	Διαμ. TEWL	Διαμ. TEWL	
0	17,8	14,6	<b>0,004</b>
5	28,6	31	0,481
8	58	53,2	0,606
11	46,7	42,3	0,888
16	59,9	63,5	1
18	43,4	39,4	0,37
22	35,5	26,9	0,321
25	34,4	32	0,481
30	34,4	48,9	0,236
33	32,2	54,5	0,423
37	35,1	43,8	0,074
42	47,8	79,8	<b>0,027</b>
Μεταβολή (ημ. 0-42)	168,54%	446,58%	

### Τοπικό σκεύασμα 4 [ελαιοκανθάλη & ολεασίνη] Vs Μάρτυρες [DNCB]

Συγκρίνοντας στατιστικά τις ομάδες του τοπικού σκευάσματος 4 [ελαιοκανθάλη & ολεασίνη] και μαρτύρων, παρουσιάστηκε στατικά σημαντικές διαφορές για τις μετρήσεις ημ. 30, 33 & 42, με τους μύες του τοπ. σκ. 4 να έχουν μικρότερη τιμή TEWL (Πίνακας 76).

Πίνακας 76: Στατιστική σύγκριση των ομάδων τοπικό σκεύασμα 4 [ελαιοκανθάλη & ολεασίνη] και μάρτυρες [DNCB] TEWL-πείραμα 3<sup>ο</sup>

Ημέρα	Τοπ. Σκ. 4 [ελαιοκ. & ολεας.]	Μάρτυρες [DNCB]	p-value
	Διαμ. TEWL	Διαμ. TEWL	
0	13,9	14,6	0,888
5	31,2	31	0,888
8	54,1	53,2	0,963
11	49,1	42,3	1
16	64,3	63,5	0,541
18	33,4	39,4	0,541
22	32,3	26,9	0,321
25	23,5	32	0,37
30	25,9	48,9	<b>0,027</b>
33	18,5	54,5	<b>0,046</b>
37	38,2	43,8	0,541
42	25,6	79,8	<b>0,001</b>
Μεταβολή (ημ. 0-42)	84,17%	446,58%	



- Σύγκριση τοπικών σκευασμάτων μεταξύ τους

**Τοπικό σκεύασμα 1 [μίγμα εκχύλισμα] Vs Τοπικό σκεύασμα 2 [χλωροκρεσόλη]**

Συγκρίνοντας στατιστικά τις ομάδες του τοπικού σκευάσματος 1 [μίγμα εκχυλισμάτων] και του τοπικού σκευάσματος 2 [χλωροκρεσόλη] παρουσιάστηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στις μετρήσεις ημ. 11, 30, 37 & 42 (Πίνακας 77). Στην ημ. 11 το τοπ. σκ. 2 παρουσίασε μεγαλύτερη TEWL, όμως αποτελεί ημέρα πειραματισμού πριν την έναρξη επαλείψεων με τα τοπικά σκευάσματα. Οι υπόλοιπες μέρες που παρατηρήθηκε διαφορά ήταν όλες με το τοπ. σκ. 2 να παρουσιάζει καλύτερη TEWL από το τοπ. σκ.1, ειδικά την 37<sup>η</sup> που η στατιστική διαφορά είναι πολύ σημαντική (p-value≤0,001).

Πίνακας 77: Στατιστική σύγκριση των ομάδων τοπικό σκεύασμα 1 [μίγμα εκχύλισμα] με τοπικό σκεύασμα 2 [χλωροκρεσόλη] TEWL-πείραμα 3<sup>ο</sup>

Ημέρα	Τοπ. Σκ. 1 [μίγμα εκχ.]	Τοπ. Σκ. 2 [χλωροκρ.]	p-value
	Διαμ. TEWL	Διαμ. TEWL	
0	14,8	14,5	0,573
5	33,8	30,5	0,762
8	60,1	56,9	0,068
11	43,1	52,3	<b>0,043</b>
16	44,4	55,7	0,122
18	34,2	35,6	0,633
22	29,3	28	0,897
25	29,3	26,4	0,696
30	35,4	23,4	<b>0,01</b>
33	31,2	23,3	0,279
37	50,2	28,8	<b>0,001</b>
42	62,3	43,6	<b>0,021</b>
<b>Μεταβολή (ημ. 0-42)</b>	<b>320,95%</b>	<b>200,69%</b>	

**Τοπικό σκεύασμα 1 [μίγμα εκχύλισμα] Vs Τοπικό σκεύασμα 3 [ισόποδο]**

Από την στατιστική σύγκριση των δυο ομάδων βρέθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά την ημ. 37<sup>η</sup>, με το τοπ. σκ. 3 [ισόποδο] να παρουσιάζει χαμηλότερη TEWL από το τοπ. σκ.1.

Πίνακας 78: Στατιστική σύγκριση των ομάδων τοπικό σκεύασμα 1 [μίγμα εκχυλισμάτων] με τοπικό σκεύασμα 3 [ισόποδο] TEWL-πείραμα 3<sup>ο</sup>

Ημέρα	Τοπ. Σκ. 1 [μίγμα εκχ.]	Τοπ. Σκ. 3 [ισόποδο]	p-value
	Διαμ. TEWL	Διαμ. TEWL	
0	14,8	17,8	0,055
5	33,8	28,6	0,633
8	60,1	58	0,515
11	43,1	46,7	0,829
16	44,4	59,9	0,122
18	34,2	43,4	0,36
22	29,3	35,5	0,573
25	29,3	34,4	0,36
30	35,4	34,4	0,721
33	31,2	32,2	0,798
37	50,2	35,1	<b>0,01</b>
42	62,3	47,8	0,13
<b>Μεταβολή (ημ. 0-42)</b>	<b>320,95%</b>	<b>168,54%</b>	

### Τοπικό σκεύασμα 1 [μίγμα εκχύλισμα] Vs Τοπικό σκεύασμα 4 [ελαιοκανθάλη & ολεασίνη]

Συγκρίνοντας στατιστικά τις ομάδες του τοπικού σκευάσματος 1 [μίγμα εκχυλισμάτων] και τοπικού σκευάσματος 4 [ελαιοκανθάλη & ολεασίνη] παρουσιάστηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στη μέτρηση ημ. 16<sup>η</sup> και 42<sup>η</sup>. Στην ημ. 16<sup>η</sup> το τοπ. σκ. 4 παρουσίασε μεγαλύτερη TEWL, όμως αποτελεί ημέρα πειραματισμού πριν την έναρξη επαλείψεων με τα τοπικά σκευάσματα. Στο τέλος του πειραματισμού, την 42<sup>η</sup> ημέρα παρουσίασε καλύτερη TEWL από το τοπ. σκ. 1 (Πίνακας 79).

Πίνακας 79: Στατιστική σύγκριση των τοπικό σκεύασμα 1 [μίγμα εκχυλισμάτων] με τοπικό σκεύασμα 4 [ελαιοκανθάλη & ολεασίνη] TEWL-πείραμα 3<sup>ο</sup>

Ημέρα	Τοπ. Σκ. 1 [μίγμα εκχ.]	Τοπ. Σκ. 4 [ελαιοκ. & ολεασ.]	p-value
	Διαμ. TEWL	Διαμ. TEWL	
0	14,8	13,9	0,36
5	33,8	31,2	0,897
8	60,1	54,1	0,101
11	43,1	49,1	0,515
16	44,4	64,3	<b>0,034</b>
18	34,2	33,4	0,573
22	29,3	32,3	0,762
25	29,3	23,5	0,408
30	35,4	25,9	0,234
33	31,2	18,5	0,105
37	50,2	38,2	0,13
42	62,3	25,6	<b>0,007</b>
Μεταβολή (ημ. 0-42)	320,95%	84,17%	

### Τοπικό σκεύασμα 2 [χλωροκρεσόλη] Vs Τοπικό σκεύασμα 3 [ισόποδο]

Συγκρίνοντας στατιστικά τις ομάδες του τοπικού σκευάσματος 2 [χλωροκρεσόλη] και τοπικού σκευάσματος 3 [ισόποδο] παρουσιάστηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στη μέτρηση ημ. 0 και 30. Στην ημ. 0 το τοπ. σκ. 2 παρουσίασε μεγαλύτερη TEWL, όμως αποτελεί ημέρα πειραματισμού πριν την έναρξη επαλείψεων με τα τοπικά σκευάσματα. Την 30 ημέρα, αφού είχε ξεκινήσει η θεραπεία, παρουσίασε καλύτερη TEWL από το τοπ. σκ.3 (Πίνακας 80).

Πίνακας 80: Στατιστική σύγκριση των ομάδων τοπικό σκεύασμα 2 [χλωροκρεσόλη] και τοπικό σκεύασμα 3 [ισόποδο] TEWL-πείραμα 3<sup>ο</sup>

Ημέρα	Τοπ. Σκ. 2 [χλωροκρεσόλη]	Τοπ. Σκ. 3 [ισόποδο]	p-value
	Διαμ. TEWL	Διαμ. TEWL	
0	14,5	17,8	<b>0,015</b>
5	30,5	28,6	0,798
8	56,9	58	1
11	52,3	46,7	0,574
16	55,7	59,9	1
18	35,6	43,4	0,878
22	28	35,5	0,721
25	26,4	34,4	0,105
30	23,4	34,4	<b>0,028</b>
33	23,3	32,2	0,442
37	28,8	35,1	0,328
42	43,6	47,8	0,279
Μεταβολή (ημ. 0-42)	200,69%	168,54%	

**Τοπικό σκεύασμα 2 [χλωροκρεσόλη] Vs Τοπικό σκεύασμα 4 [ελαιοκανθάλη & ολεασίνη]**  
 Στην στατιστική σύγκριση των δυο ομάδων δεν βρέθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ τους (Πίνακας 81).

Πίνακας 81: Στατιστική σύγκριση των ομάδων τοπικό σκεύασμα 2 [χλωροκρεσόλη] και τοπικό σκεύασμα 4 [ελαιοκανθάλη & ολεασίνη] TEWL-πείραμα 3<sup>ο</sup>

Ημέρα	Τοπ. Σκ. 2 [χλωροκρεσόλη]	Τοπ. Σκ. 4 [ελαιοκ. & ολεας.]	p-value
	Διαμ. TEWL	Διαμ. TEWL	
0	14,5	13,9	0,959
5	30,5	31,2	1
8	56,9	54,1	0,442
11	52,3	49,1	0,279
16	55,7	64,3	0,505
18	35,6	33,4	0,234
22	28	32,3	0,878
25	26,4	23,5	0,328
30	23,4	25,9	0,878
33	23,3	18,5	0,442
37	28,8	38,2	0,161
42	43,6	25,6	0,382
<b>Μεταβολή (ημ. 0-42)</b>	<b>200,69%</b>	<b>84,17%</b>	

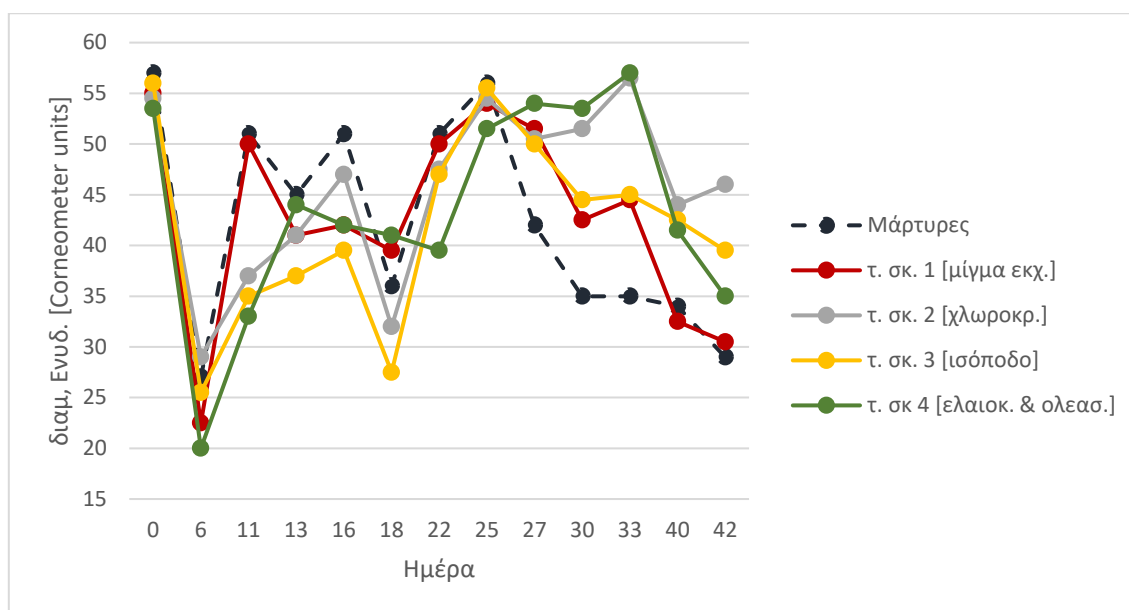
**Τοπικό σκεύασμα 3 [ισόποδο] Vs Τοπικό σκεύασμα 4 [ελαιοκανθάλη & ολεασίνη]**

Συγκρίνοντας στατιστικά τις δυο ομάδες, τοπικό σκεύασμα 3 [ισόποδο] & τοπικό σκεύασμα 4 [ελαιοκανθάλη & ολεασίνη] βρέθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στη μέτρηση ημ. 0, 25 και 42 (Πίνακας 82), με την ομάδα του τοπ. σκ. 4 να έχει μικρότερη TEWL.

Πίνακας 82: Στατιστική σύγκριση των ομάδων τοπικό σκεύασμα 2 [χλωροκρεσόλη] και τοπικό σκεύασμα 4 [ελαιοκανθάλη & ολεασίνη] TEWL-πείραμα 3<sup>ο</sup>

Ημέρα	Τοπ. Σκ. 3 [ισόποδο]	Τοπ. Σκ. 4 [ελαιοκ. & ολεας.]	p-value
	Διαμ. TEWL	Διαμ. TEWL	
0	17,8	13,9	<b>0,01</b>
5	28,6	31,2	0,574
8	58	54,1	0,959
11	46,7	49,1	1
16	59,9	64,3	0,328
18	43,4	33,4	0,279
22	35,5	32,3	1
25	34,4	23,5	<b>0,038</b>
30	34,4	25,9	0,234
33	32,2	18,5	0,13
37	35,1	38,2	0,721
42	47,8	25,6	<b>0,038</b>
<b>Μεταβολή (ημ.0-42)</b>	<b>168,54%</b>	<b>84,17%</b>	

### 3.3.5 Ενυδάτωση



**Διάγραμμα 10:** Οι διάμεσοι των μετρήσεων ενυδάτωσης για το πείραμα 3<sup>ο</sup> (ημ. 0-42)

Μέχρι και την ημέρα 25 που έγινε η έναρξη των θεραπειών όλες οι ομάδες είχαν μια παρόμοια πορεία, με εξαίρεση την ομάδα μαρτύρων και τοπ. σκ. 1 [μίγμα εκχ.] που διατήρησαν υψηλή ενυδάτωση και την 6<sup>η</sup> μέρα πειραματισμού. Την 27<sup>η</sup> ημέρα ενώ οι μάρτυρες σημείωσαν μεγάλη μείωση ενυδάτωσης, οι ομάδες τοπικών σκευασμάτων διατήρησαν τα υψηλά επίπεδα ενυδάτωσης της 25<sup>ης</sup> ημέρας. Τις 30<sup>η</sup> & 33<sup>η</sup> ημέρα οι ομάδες τοπικών σκευασμάτων 2 [χλωροκρεσόλη] και 4 [ελαιοκανθάλη & ολεασίνη] διατήρησαν τα ίδια επίπεδα, όμως τα τοπ. σκ. 1 [μίγμα εκχ.] και τοπ. σκ. 3 [ισόποδο] σημείωσαν μείωση ενυδάτωσης. Οι μάρτυρες σταθερά είχαν την χαμηλότερη τιμή. Την 40<sup>η</sup> ημέρα οι τιμές των τοπ. σκ. 2 & 4 μειώθηκαν και πλέον ήταν ίδια με αυτά του τοπ. σκ. 3. Το τοπ. σκ. 1 παρουσίασε μεγάλη μείωση και πήρε την θέση των μαρτύρων με την χαμηλότερη τιμή ενυδάτωση την ημέρα αυτή. Στην τελική μέτρηση υπήρχε μια διαφοροποίηση μεταξύ των τοπικών σκευασμάτων με το 2 να έχει την καλύτερη εικόνα και το 1 να είναι στα χαμηλά επίπεδα των μαρτύρων. Τα τοπ. σκ. 3 και 4 συνέχισαν να έχουν καθοδική πορεία σε σύγκριση με την ημέρα 40<sup>η</sup> αλλά συνέχισαν να είναι καλύτερα από τους μάρτυρες.

**Πίνακας 83:** Μετρήσεις ενυδάτωσης για το πείραμα 3<sup>ο</sup> Μάρτυρες [DNCB]

Ενυδ.	Μάρτυρες [DNCB]												
	Ημέρα πειραματισμού												
Δείγμα	0	6	11	13	16	18	22	25	27	30	33	40	42
54	65	32	57	45	53	43	66	72	45	44	41	46	27
55	61	23	51	42	42	43	63	67	54	34	42	48	35
56	65	30	60	48	58	34	52	70	43	32	44	41	34
57	62	34	42	39	49	29	55	61	42	36	48	15	31
58	56	27	51	40	41	36	51	45	24	19	30	34	29
59	55	22	31	49	61	36	42	39	42	35	35	57	26
60	47	44	40	40	38	29	29	43	46	39	35	33	33
61	57	21	46	48	54	54	47	44	32	36	33	18	26
62	55	25	55	46	51	25	47	56	36	23	28	24	26

**Πίνακας 84:** Μετρήσεις ενυδάτωσης για το πείραμα 3<sup>ο</sup> Τοπικό σκεύασμα 1 [μίγμα εκχυλισμάτων]

Ενυδ. Τοπικό σκεύασμα 1 [μίγμα εκχυλισμάτων]													
Ημέρα πειραματισμού													
Δείγμα	0	6	11	13	16	18	22	25	27	30	33	40	42
44	52	13	36	24	34	37	22	42	-	-	-	-	-
45	55	43	59	44	53	63	65	62	-	-	-	-	-
46	59	21	39	41	40	25	57	54	49	42	44	44	29
47	55	23	57	37	34	27	20	23	54	16	42	14	35
48	52	21	50	52	43	42	55	52	54	40	48	15	24
49	52	22	44	44	58	47	45	55	38	54	42	33	37
50	66	25	50	41	25	30	38	32	49	43	54	25	21
51	55	26	55	38	47	36	57	72	66	55	62	34	29
52	56	16	35	41	41	45	45	64	40	41	43	35	32
53	58	28	57	49	57	46	65	62	68	43	45	32	32

**Πίνακας 85:** Μετρήσεις ενυδάτωσης για το πείραμα 3<sup>ο</sup> Τοπικό σκεύασμα 2 [χλωροκρεσόλη]

Ενυδ. Τοπικό σκεύασμα 2 [χλωροκρεσόλη]													
Ημέρα πειραματισμού													
Δείγμα	0	6	11	13	16	18	22	25	27	30	33	40	42
63	62	27	37	39	43	25	45	44	53	53	66	45	46
64	60	36	37	42	45	33	64	62	67	53	53	45	51
65	47	28	38	51	49	13	59	46	44	42	59	37	55
66	63	38	12	41	57	24	44	55	56	51	40	35	30
67	55	30	27	41	60	31	60	64	53	52	65	42	43
68	48	26	36	38	21	36	44	40	43	48	51	43	38
69	54	24	57	42	41	44	50	60	48	53	54	55	46
70	50	35	46	30	51	38	44	54	43	41	62	53	55

**Πίνακας 86:** Μετρήσεις ενυδάτωσης για το πείραμα 3<sup>ο</sup> Τοπικό σκεύασμα 3 [ισόποδο]

Ενυδ. Τοπικό σκεύασμα 3 [ισόποδο]													
Ημέρα πειραματισμού													
Δείγμα	0	6	11	13	16	18	22	25	27	30	33	40	42
71	55	25	53	41	44	33	36	73	56	43	45	57	57
72	75	26	36	35	33	32	49	66	52	44	45	46	44
73	57	17	28	39	36	24	51	42	51	58	47	44	38
74	46	15	34	42	36	29	54	59	57	54	50	54	40
75	59	27	56	28	41	26	29	38	36	54	48	28	39
76	54	26	31	31	44	25	33	52	39	44	41	20	37
77	63	26	26	35	38	26	45	65	37	45	37	41	32
78	51	18	44	51	50	46	51	48	49	44	42	40	43

**Πίνακας 87:** Μετρήσεις ενυδάτωσης για το πείραμα 3<sup>ο</sup> Τοπικό σκεύασμα 4 [ελαιοκανθάλη & ολεασίνη]

Ενυδ.	Τοπικό σκεύασμα 4 [ελαιοκανθάλη & ολεασίνη]												
	Ημέρα πειραματισμού												
Δείγμα	0	6	11	13	16	18	22	25	27	30	33	40	42
79	78	26	28	55	44	36	38	54	56	52	52	58	33
80	50	16	53	54	42	37	44	58	59	55	56	40	41
81	63	22	24	44	64	45	41	48	54	65	58	43	37
82	59	22	38	54	39	32	44	54	65	58	61	64	35
83	54	18	25	37	56	55	43	49	47	66	68	46	35
84	49	14	22	34	33	46	28	45	54	42	47	13	28
85	53	18	40	44	41	26	26	34	38	40	64	33	28
86	49	29	44	35	42	45	36	56	53	33	36	24	35

### 3.3.5.1 Στατιστική ανάλυση μετρήσεων Ενυδάτωσης

- Σύγκριση τοπικών σκευασμάτων με τους μάρτυρες

#### Τοπικό σκεύασμα 1 [μίγμα εκχύλισμα] Vs Μάρτυρες [DNCB]

Συγκρίνοντας στατιστικά τις ομάδες του τοπικού σκευάσματος 1 [μίγμα εκχυλισμάτων] και των μαρτύρων [DNCB] παρουσιάστηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές τις ημέρες 27, 30 και 33 (Πίνακας 88). Και οι τρεις αυτές μετρήσεις ήταν μετά την έναρξη της θεραπείας με το τοπ. σκ. 1 να παρουσιάζει μεγαλύτερες τιμές ενυδάτωσης.

**Πίνακας 88:** Στατιστική σύγκριση των ομάδων τοπικό σκεύασμα 1 [μίγμα εκχύλισμα] με μάρτυρες [DNCB] Ενυδάτωση-πείραμα 3<sup>ο</sup>

Ημέρα	Τοπ. Σκ. 1 [μίγμα εκχ.]	Μάρτυρες [DNCB]	p-value
	Διαμ. Ενυδ.	Διαμ. Ενυδ.	
0	55	57	0,278
6	22,5	27	0,113
11	50	51	0,905
13	41	45	0,4
16	42	51	0,182
18	39,5	36	0,447
22	50	51	0,78
25	54	56	0,546
27	51,5	42	<b>0,046</b>
30	42,5	35	<b>0,036</b>
33	44,5	35	<b>0,011</b>
40	32,5	34	0,321
42	30,5	29	0,815
<b>Μεταβολή (ημ. 0-42)</b>	<b>-44,55%</b>	<b>-49,12%</b>	

#### Τοπικό σκεύασμα 2 [χλωροκρεσόλη] Vs Μάρτυρες [DNCB]

Συγκρίνοντας στατιστικά τις ομάδες τοπικού σκευάσματος 2 [χλωροκρεσόλη] και των μαρτύρων [DNCB] παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στις (Πίνακας 89):

- Ημ. 11 (μέτρηση πριν την θεραπεία) με τους μάρτυρες να παρουσιάζουν στατιστικά σημαντικά μεγαλύτερη ενυδάτωση από το τοπ. σκ. 2
- Ημ. 27 με το τοπ. σκ. 2 να παρουσιάζει στατιστικά σημαντικά μεγαλύτερη ενυδάτωση από τους μάρτυρες
- Ημ. 30, 33 & 42 με το τοπ. σκ. 2 να παρουσιάζει στατιστικά πολύ σημαντικά μεγαλύτερη ενυδάτωση από τους μάρτυρες

Πίνακας 89: Στατιστική σύγκριση των ομάδων τοπικό σκεύασμα 2 [χλωροκρεσόλη] με μάρτυρες [DNCB] Ενυδάτωση-πείραμα 3°

Ημέρα	Τοπ. Σκ. 2 [χλωροκρ.]	Μάρτυρες [DNCB]	p-value
	Διαμ. Ενυδ.	Διαμ. Ενυδ.	
0	54,5	57	0,277
6	29	27	0,37
11	37	51	<b>0,046</b>
13	41	45	0,2
16	47	51	0,606
18	32	36	0,321
22	47,5	51	0,888
25	54,5	56	0,743
27	50,5	42	<b>0,027</b>
30	51,5	35	<b>&lt;0,001</b>
33	56,5	35	<b>0,001</b>
40	44	34	0,2
42	46	29	<b>0,001</b>
<b>Μεταβολή (ημ. 0-42)</b>	<b>-15,60%</b>	<b>-49,12%</b>	

### Τοπικό σκεύασμα 3 [ισόποδο] Vs Μάρτυρες [DNCB]

Συγκρίνοντας στατιστικά τις ομάδες τοπικού σκευάσματος 3 [ισόποδο] και των μαρτύρων [DNCB] παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στις (Πίνακας 90):

- Ημ. 16 (μέτρηση πριν την θεραπεία) με τους μάρτυρες να παρουσιάζουν στατιστικά σημαντικά μεγαλύτερη ενυδάτωση από το τοπ. σκ. 3
- Ημ. 33 με το τοπ. σκ. 3 να παρουσιάζει στατιστικά σημαντικά μεγαλύτερη ενυδάτωση από τους μάρτυρες
- Ημ. 30 & 42 με το τοπ. σκ. 3 να παρουσιάζει στατιστικά πολύ σημαντικά μεγαλύτερη ενυδάτωση από τους μάρτυρες

**Πίνακας 90:** Στατιστική σύγκριση των ομάδων τοπικό σκεύασμα 3 [ισόποδο] με μάρτυρες [DNCB] Ενυδάτωση-πείραμα 3<sup>ο</sup>

Ημέρα	Τοπ. Σκ. 3 [ισόποδο]	Μάρτυρες [DNCB]	p-value
	Διαμ. Ενυδ.	Διαμ. Ενυδ.	
0	56	57	0,541
6	25,5	27	0,139
11	35	51	0,093
13	37	45	0,059
16	39,5	51	<b>0,021</b>
18	27,5	36	0,093
22	47	51	0,236
25	55,5	56	0,963
27	50	42	0,167
30	44,5	35	<b>&lt;0,001</b>
33	45	35	<b>0,027</b>
40	42,5	34	0,423
42	39,5	29	<b>0,001</b>
<b>Μεταβολή (ημ. 0-42)</b>	<b>-29,46%</b>	<b>-49,12%</b>	

**Τοπικό σκεύασμα 4 [ελαιοκανθάλη & ολεασίνη] Vs Μάρτυρες [DNCB]**

Συγκρίνοντας στατιστικά τις ομάδες του τοπικού σκευάσματος 4 [ελαιοκανθάλη & ολεασίνη] και μαρτύρων παρουσιάστηκαν στατικά σημαντικές διαφορές για τις μετρήσεις ημ. 22, 27 30, 33 & 42 με τους μύες του τοπ. σκ. 4 να έχουν μεγαλύτερη τιμή ενυδάτωσης (Πίνακας 91).

**Πίνακας 91:** Στατιστική σύγκριση των ομάδων τοπικό σκεύασμα 4 [ελαιοκανθάλη & ολεασίνη] και μάρτυρες [DNCB] Ενυδάτωση-πείραμα 3<sup>ο</sup>

Ημέρα	Τοπ. Σκ. 4 [ελαιοκ. & ολεας.]	Μάρτυρες [DNCB]	p-value
	Διαμ. Ενυδ.	Διαμ. Ενυδ.	
0	53,5	57	0,37
6	20	27	0,021
11	33	51	0,015
13	44	45	0,963
16	42	51	0,37
18	41	36	0,277
22	39,5	51	<b>0,008</b>
25	51,5	56	0,541
27	54	42	<b>0,008</b>
30	53,5	35	<b>0,006</b>
33	57	35	<b>0,002</b>
40	41,5	34	0,606
42	35	29	<b>0,036</b>
<b>Μεταβολή (ημ. 0-42)</b>	<b>-34,58%</b>	<b>-49,12%</b>	



- Σύγκριση τοπικών σκευασμάτων μεταξύ τους

**Τοπικό σκεύασμα 1 [μίγμα εκχύλισμα] Vs Τοπικό σκεύασμα 2 [χλωροκρεσόλη]**

Συγκρίνοντας στατιστικά την ομάδα του τοπ. σκ. 1 [μίγμα εκχυλισμάτων] και τοπ. σκ. 2 [χλωροκρεσόλη] βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές τις ημέρες 6, 40 και 42, με την ομάδα του τοπ. σκ. 2 να παρουσιάζει μεγαλύτερη τιμή ενυδάτωσης (Πίνακας 92).

Πίνακας 92: Στατιστική σύγκριση των ομάδων τοπικό σκεύασμα 1 [μίγμα εκχύλισμα] με τοπικό σκεύασμα 2 [χλωροκρεσόλη] Ενυδάτωση-πείραμα 3<sup>ο</sup>

Ημέρα	Τοπ. Σκ. 1 [μίγμα εκχ.]	Τοπ. Σκ. 2 [χλωροκρ.]	p-value
	Διαμ. Ενυδ.	Διαμ. Ενυδ.	
0	55	54,5	0,633
6	22,5	29	<b>0,021</b>
11	50	37	0,068
13	41	41	0,762
16	42	47	0,46
18	39,5	32	0,101
22	50	47,5	0,897
25	54	54,5	0,888
27	51,5	50,5	0,798
30	42,5	51,5	0,328
33	44,5	56,5	0,083
40	32,5	44	<b>0,002</b>
42	30,5	46	<b>0,002</b>
<b>Μεταβολή (ημ.0-42)</b>	<b>-44,55%</b>	<b>-15,60%</b>	

**Τοπικό σκεύασμα 1 [μίγμα εκχύλισμα] Vs Τοπικό σκεύασμα 3 [ισόποδο]**

Από την στατιστική σύγκριση των δυο ομάδων βρέθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά την ημ. 40<sup>η</sup> και 42<sup>η</sup>, με το τοπ. σκ. 3 [ισόποδο] να παρουσιάζει υψηλότερη τιμή ενυδάτωσης από το τοπ. σκ. 1 [μίγμα εκχ.]. Ειδικά την ημέρα 42<sup>η</sup> η διαφορά ήταν στατιστικά πολύ σημαντική ( $p \leq 0,001$ ).

Πίνακας 93: Στατιστική σύγκριση των ομάδων τοπικό σκεύασμα 1 [μίγμα εκχυλισμάτων] με τοπικό σκεύασμα 3 [ισόποδο] Ενυδάτωση-πείραμα 3<sup>ο</sup>

Ημέρα	Τοπ. Σκ. 1 [μίγμα εκχ.]	Τοπ. Σκ. 3 [ισόποδο]	p-value
	Διαμ. Ενυδ.	Διαμ. Ενυδ.	
0	55	56	0,897
6	22,5	25,5	0,897
11	50	35	0,055
13	41	37	0,237
16	42	39,5	0,573
18	39,5	27,5	0,055
22	50	47	0,408
25	54	55,5	0,606
27	51,5	50	0,442
30	42,5	44,5	0,065
33	44,5	45	0,574
40	32,5	42,5	<b>0,05</b>
42	30,5	39,5	<b>0,001</b>
<b>Μεταβολή (ημ. 0-42)</b>	<b>-44,55%</b>	<b>-29,46%</b>	

**Τοπικό σκεύασμα 1 [μίγμα εκχύλισμα] Vs Τοπικό σκεύασμα 4 [ελαιοκανθάλη & ολεασίνη]**  
 Συγκρίνοντας στατιστικά τις ομάδες του τοπικού σκευάσματος 1 [μίγμα εκχυλισμάτων] και τοπικού σκευάσματος 4 [ελαιοκανθάλη & ολεασίνη] παρουσιάστηκε στατιστικά σημαντική διαφορά μόνο στη μέτρηση ημ. 11<sup>η</sup> (πριν την έναρξη θεραπείας).

Πίνακας 94: Στατιστική σύγκριση των τοπικό σκεύασμα 1 [μίγμα εκχυλισμάτων] με τοπικό σκεύασμα 4 [ελαιοκανθάλη & ολεασίνη] Ενυδάτωση-πείραμα 3<sup>ο</sup>

Ημέρα	Τοπ. Σκ. 1 [μίγμα εκχ.]	Τοπ. Σκ. 4 [ελαιοκ. & ολεασ.]	p-value
	Διαμ. Ενυδ.	Διαμ. Ενυδ.	
0	55	53,5	0,573
6	22,5	20	0,515
11	50	33	<b>0,021</b>
13	41	44	0,515
16	42	42	0,829
18	39,5	41	0,897
22	50	39,5	0,083
25	54	51,5	0,743
27	51,5	54	0,798
30	42,5	53,5	0,234
33	44,5	57	0,105
40	32,5	41,5	0,195
42	30,5	35	0,195
<b>Μεταβολή (ημ. 0-42)</b>	<b>-44,55%</b>	<b>-34,58%</b>	

**Τοπικό σκεύασμα 2 [χλωροκρεσόλη] Vs Τοπικό σκεύασμα 3 [ισόποδο]**

Συγκρίνοντας στατιστικά τις ομάδες του τοπικού σκευάσματος 2 [χλωροκρεσόλη] και τοπικού σκευάσματος 3 [ισόποδο] παρουσιάστηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στη μέτρηση ημ. 6 και 33. Και στις περιπτώσεις το τοπ. σκ. 2 είχε μεγαλύτερη τιμή ενυδάτωσης (Πίνακας 95).

Πίνακας 95: Στατιστική σύγκριση των ομάδων τοπικό σκεύασμα 2 [χλωροκρεσόλη] και τοπικό σκεύασμα 3 [ισόποδο] Ενυδάτωση-πείραμα 3<sup>ο</sup>

Ημέρα	Τοπ. Σκ. 2 [χλωροκρεσόλη]	Τοπ. Σκ. 3 [ισόποδο]	p-value
	Διαμ. Ενυδ.	Διαμ. Ενυδ.	
0	54,5	56	0,645
6	29	25,5	<b>0,01</b>
11	37	35	0,798
13	41	37	0,382
16	47	39,5	0,105
18	32	27,5	0,798
22	47,5	47	0,328
25	54,5	55,5	0,721
27	50,5	50	0,505
30	51,5	44,5	0,878
33	56,5	45	<b>0,007</b>
40	44	42,5	0,798
42	46	39,5	0,279
<b>Μεταβολή (ημ. 0-42)</b>	<b>-15,60%</b>	<b>-29,46%</b>	

### Τοπικό σκεύασμα 2 [χλωροκρεσόλη] Vs Τοπικό σκεύασμα 4 [ελαιοκανθάλη & ολεασίνη]

Συγκρίνοντας στατιστικά τις ομάδες τοπικού σκευάσματος 2 [χλωροκρεσόλη] και τοπικού σκευάσματος 4 [ελαιοκανθάλη & ολεασίνη] παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στις (Πίνακας 96):

- Ημ. 6 (μέτρηση πριν την θεραπεία) με το τοπ. σκ. 2 να παρουσιάζει στατιστικά σημαντικά μεγαλύτερη ενυδάτωση από το τοπ. σκ. 4
- Ημ. 18 (μέτρηση πριν την θεραπεία) με το τοπ. σκ. 4 να παρουσιάζει στατιστικά σημαντικά μεγαλύτερη ενυδάτωση από το τοπ. σκ. 2
- Ημ. 22 με το τοπ. σκ. 2 να παρουσιάζει στατιστικά πολύ σημαντικά μεγαλύτερη ενυδάτωση από το τοπ. σκ. 4
- Ημ. 42 με το τοπ. σκ. 2 να παρουσιάζει στατιστικά σημαντικά μεγαλύτερη ενυδάτωση από το τοπ. σκ. 4

Πίνακας 96: Στατιστική σύγκριση των ομάδων τοπικό σκεύασμα 2 [χλωροκρεσόλη] και τοπικό σκεύασμα 4 [ελαιοκανθάλη & ολεασίνη] Ενυδάτωση-πείραμα 3<sup>ο</sup>

Ημέρα	Τοπ. Σκ. 2 [χλωροκρεσόλη]	Τοπ. Σκ. 4 [ελαιοκ. & ολεας.]	p-value
	Διαμ. Ενυδ.	Διαμ. Ενυδ.	
0	54,5	53,5	0,878
6	29	20	<b>0,003</b>
11	37	33	0,798
13	41	44	0,382
16	47	42	0,442
18	32	41	<b>0,05</b>
22	47,5	39,5	<b>0,001</b>
25	54,5	51,5	0,505
27	50,5	54	0,382
30	51,5	53,5	0,574
33	56,5	57	0,878
40	44	41,5	0,645
42	46	35	<b>0,007</b>
Μεταβολή (ημ. 0-42)	-15,60%	-34,58%	

### Τοπικό σκεύασμα 3 [ισόποδο] Vs Τοπικό σκεύασμα 4 [ελαιοκανθάλη & ολεασίνη]

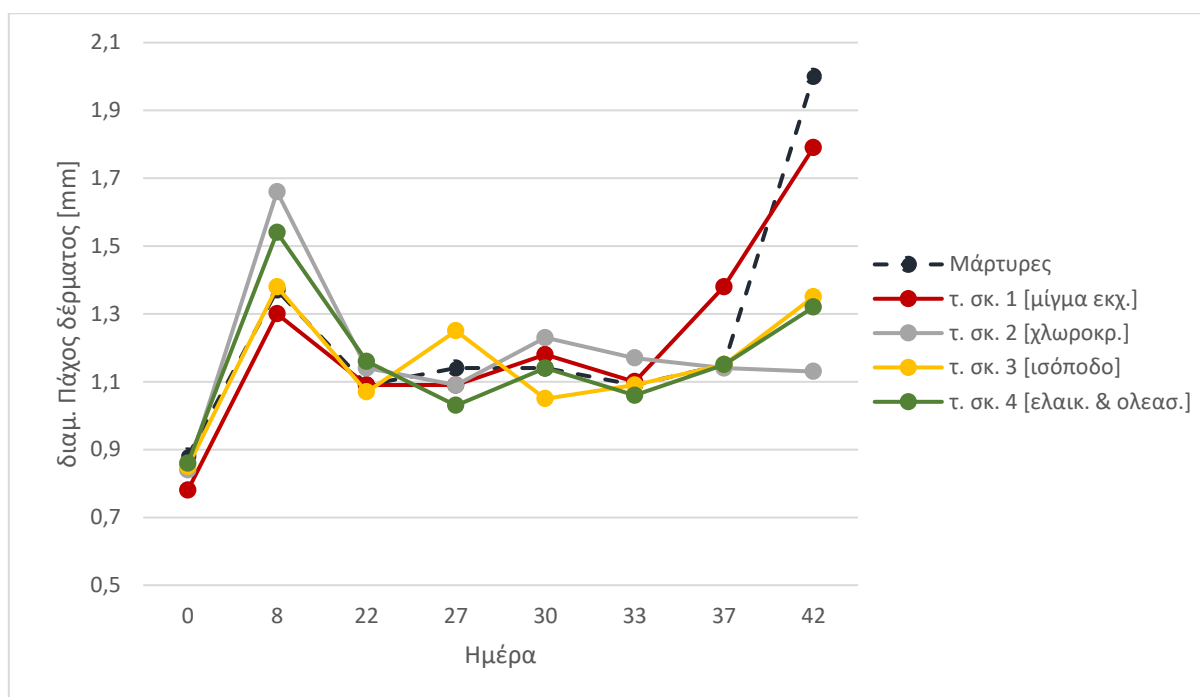
Συγκρίνοντας στατιστικά τις ομάδες τοπικό σκεύασμα 3 [ισόποδο] & τοπικό σκεύασμα 4 [ελαιοκανθάλη & ολεασίνη] παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στις (Πίνακας 97):

- Ημ. 18 (μέτρηση πριν την θεραπεία) με το τοπ. σκ. 4 να παρουσιάζει στατιστικά σημαντικά μεγαλύτερη ενυδάτωση από το τοπ. σκ. 3
- Ημ. 33 με το τοπ. σκ. 4 να παρουσιάζει στατιστικά σημαντικά μεγαλύτερη ενυδάτωση από το τοπ. σκ. 3
- Ημ. 42 με το τοπ. σκ. 3 να παρουσιάζει στατιστικά σημαντικά μεγαλύτερη ενυδάτωση από το τοπ. σκ. 4

**Πίνακας 97:** Στατιστική σύγκριση των ομάδων τοπικό σκεύασμα 2 [χλωροκρεσόλη] και τοπικό σκεύασμα 4 [ελαιοκανθάλη & ολεασίνη] Ενυδάτωση-πείραμα 3<sup>ο</sup>

Ημέρα	Τοπ. Σκ. 3 [ισόποδο]	Τοπ. Σκ. 4 [ελαιοκ. & ολεας.]	p-value
	Διαμ. Ενυδ.	Διαμ. Ενυδ.	
0	56	53,5	0,645
6	25,5	20	0,505
11	35	33	0,382
13	37	44	0,13
16	39,5	42	0,382
18	27,5	41	<b>0,038</b>
22	47	39,5	0,13
25	55,5	51,5	0,382
27	50	54	0,161
30	44,5	53,5	0,721
33	45	57	<b>0,021</b>
40	42,5	41,5	0,959
42	39,5	35	<b>0,021</b>
<b>Μεταβολή (ημ. 0-42)</b>	<b>-29,46%</b>	<b>-34,58%</b>	

### 3.3.6 Πάχος δέρματος



**Διάγραμμα 11:** Οι διάμεσοι των μετρήσεων πάχους δέρματος για το πείραμα 3<sup>ο</sup> (ημ. 0-42)

Μέχρι και την ημέρα 33<sup>η</sup> τα επίπεδα πάχους όλων των ομάδων ήταν όμοια και σχετικά σταθερά από την ημ. 22<sup>η</sup>. Την 37<sup>η</sup> ημέρα παρατηρήθηκε ότι τα τοπ. σκ. 2,3 και 4 και οι μάρτυρες διατήρησαν σταθερό το πάχος στα επίπεδα που ήταν το προηγούμενο διάστημα, ενώ το τοπ. σκ. 1 σημείωσε αύξηση. Την 42<sup>η</sup> ημέρα την καλύτερη εικόνα είχε το τοπ. σκ. 3 και την χειρότερη το τοπ. σκ. 1. Τα τοπ. σκ. 3 & 4 παρουσίασαν αύξηση αλλά διατήρησαν μια μεγάλη διαφορά από τους μάρτυρες.

**Πίνακας 98:** Μετρήσεις πάχους δέρματος για το πείραμα 3<sup>ο</sup> Μάρτυρες [DNCB]

Πάχος [mm.]	Μάρτυρες [DNCB]							
	Ημέρα πειραματισμού							
Δείγμα	0	8	22	27	30	33	37	42
54	0,95	1,07	0,88	1,12	1	1,05	1,15	2
55	0,85	1,43	1,17	1,1	1,02	1,05	1,24	1,84
56	0,82	1,37	0,97	0,9	1,14	1,04	1,08	1,65
57	0,95	1,41	1	1,11	0,94	1,04	0,92	1,77
58	0,8	1,56	1,09	1,58	1,06	1,2	1,05	2,2
59	0,96	1,1	1,13	1,14	1,35	1,09	1	1,9
60	0,88	1,33	1,27	2,2	1,18	1,63	1,87	2,4
61	0,81	1,32	1,6	1,54	1,32	1,28	2,01	2,35
62	0,92	1,52	0,94	1,52	1,25	1,31	1,58	2,4

**Πίνακας 99:** Μετρήσεις πάχους δέρματος για το πείραμα 3<sup>ο</sup> Τοπικό σκεύασμα 1 [μίγμα εκχυλισμάτων]

Πάχος [mm.]	Τοπικό σκεύασμα 1 [μίγμα εκχυλισμάτων]								
	Ημέρα πειραματισμού								
Δείγμα	0	8	22	25	27	30	33	37	42
44	0,75	1,34	0,75	1,18	-	-	-	-	-
45	0,92	1,54	1,17	1,76	-	-	-	-	-
46	0,76	1,35	0,87	-	1,12	1,2	1,04	1,1	1,65
47	0,73	1,17	1,36	-	1,39	1,53	1,58	1,52	1,81
48	0,81	1,34	0,92	-	1,1	1,05	1,12	1,2	1,79
49	0,8	1,17	0,73	-	1,07	1,12	1,1	1,54	2,17
50	0,94	1,66	1,2	-	1,58	1,81	1,27	1,64	2,18
51	0,68	1,27	1,02	-	1,08	1,11	1,1	1,24	1,8
52	0,77	1,24	1,38	-	1,08	1,16	0,98	1,73	1,75

**Πίνακας 100:** Μετρήσεις πάχους δέρματος για το πείραμα 3<sup>ο</sup> Τοπικό σκεύασμα 2 [χλωροκρεσόλη]

Πάχος [mm.]	Τοπικό σκεύασμα 2 [χλωροκρεσόλη]							
	Ημέρα πειραματισμού							
Δείγμα	0	8	22	27	30	33	37	42
63	0,97	1,76	1,13	1,14	1,49	1,2	1,58	1,53
64	0,74	2,01	0,98	1,09	1,24	1,14	1,03	1,3
65	0,6	1,61	0,9	1,06	1,1	1,1	1,05	1,4
66	0,8	1,81	1,15	1,07	1,32	1,65	1,42	1,48
67	0,81	1,71	1,2	1,05	1,02	0,93	1,12	1,2
68	0,95	1,58	1,29	1,18	1,23	1,34	1,26	1,4
69	0,87	1,62	1,26	1,25	1,12	0,97	1,05	1,2
70	0,87	1,58	0,95	1,1	1,3	1,2	1,17	1,15

**Πίνακας 101:** Μετρήσεις πάχους δέρματος για το πείραμα 3<sup>ο</sup> Τοπικό σκεύασμα 3 [ισόποδο]

Πάχος [mm.]	Τοπικό σκεύασμα 3 [ισόποδο]							
	Ημέρα πειραματισμού							
Δείγμα	0	8	22	27	30	33	37	42
71	0,77	1,48	0,93	0,97	0,96	1,05	0,97	1,1
72	0,87	1	0,95	1,27	1,09	1,11	1,26	1,3
73	0,78	1,48	0,98	0,97	0,91	1,08	1,1	1,25
74	0,85	-	1,17	0,93	1,26	1	1,25	1,3
75	0,89	-	1,75	1,43	1,44	1	1,46	1,5
76	0,83	1,26	1,28	1,37	1,29	1,27	1,36	1,4
77	0,88	1,29	1,34	1,41	1,31	1,32	1,15	1,5
78	0,95	1,71	1,17	1,24	1,02	0,96	1,16	1,4

**Πίνακας 102:** Μετρήσεις πάχους δέρματος για το πείραμα 3<sup>ο</sup> Τοπικό σκεύασμα 4 [ελαιοκανθάλη & ολεασίνη]

Πάχος [mm.]	Τοπικό σκεύασμα 4 [ελαιοκανθάλη & ολεασίνη]							
	Ημέρα πειραματισμού							
Δείγμα	0	8	22	27	30	33	37	42
79	0,84	1,54	0,92	1,09	1,09	1,11	1,36	1,5
80	0,88	1,68	1,2	1,03	1,3	0,96	1,13	1,3
81	0,95	1,51	1,08	0,85	0,9	0,98	0,9	1,32
82	0,8	1,2	1,05	1	1,2	1,06	1	1,13
83	0,89	2,24	1,16	1	0,93	0,92	1,15	1,3
84	0,86	1,1	1,26	1,1	1,14	1,15	1,5	1,7
85	0,79	2,27	1,2	1,26	1,49	1,33	1,72	1,83
86	0,87	-	1,47	1,13	1,53	1,71	1,61	1,66

### 3.3.6.1 Στατιστική ανάλυση μετρήσεων Πάχους δέρματος

#### - Σύγκριση τοπικών σκευασμάτων με τους μάρτυρες

#### **Τοπικό σκεύασμα 1 [μίγμα εκχύλισμα] Vs Μάρτυρες [DNCB]**

Συγκρίνοντας στατιστικά τις ομάδες του τοπικού σκευάσματος 1 [μίγμα εκχυλισμάτων] και των μαρτύρων [DNCB] παρουσιάστηκαν στατιστικά σημαντική διαφορά μόνο την ημέρα 0 (Πίνακας 103).

**Πίνακας 103:** Στατιστική σύγκριση των ομάδων τοπικό σκεύασμα 1 [μίγμα εκχύλισμα] με μάρτυρες [DNCB] Πάχος δέρματος-πείραμα 3<sup>ο</sup>

Ημέρα	Τοπ. Σκ. 1	Μάρτυρες	p-value
	[μίγμα εκχ.]	[DNCB]	
	Διαμ. Πάχος	Διαμ. Πάχος	
0	0,78	0,88	<b>0,008</b>
8	1,3	1,37	0,604
22	1,09	1,09	0,4
27	1,09	1,14	0,139
30	1,18	1,14	0,321
33	1,1	1,09	0,606
37	1,38	1,15	0,423
42	1,79	2	0,093
<b>Μεταβολή (ημ. 0-42)</b>	<b>129,49%</b>	<b>127,27%</b>	

#### **Τοπικό σκεύασμα 2 [χλωροκρεσόλη] Vs Μάρτυρες [DNCB]**

Συγκρίνοντας στατιστικά τις ομάδες τοπικού σκευάσματος 2 [χλωροκρεσόλη] και των μαρτύρων [DNCB] παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στις (Πίνακας 104):

- Ημ. 8 (μέτρηση πριν την θεραπεία) με τους μάρτυρες να παρουσιάζουν στατιστικά πολύ σημαντικά μικρότερη τιμή πάχους δέρματος από το τοπ. σκ. 2 ( $p < 0,001$ )
- Ημ. 42 με το τοπ. σκ. 2 να παρουσιάζει στατιστικά πολύ σημαντικά μικρότερη τιμή πάχους δέρματος από τους μάρτυρες ( $p < 0,001$ )

**Πίνακας 104:** Στατιστική σύγκριση των ομάδων τοπικό σκεύασμα 2 [χλωροκρεσόλη] με μάρτυρες [DNCB] Πάχος δέρματος-πείραμα 3<sup>ο</sup>

Ημέρα	Τοπ. Σκ. 2 [χλωροκρ.]	Μάρτυρες [DNCB]	p-value
	Διαμ. Πάχος	Διαμ. Πάχος	
0	0,84	0,88	0,37
8	1,66	1,37	<0,001
22	1,14	1,09	0,743
27	1,09	1,14	0,139
30	1,23	1,14	0,37
33	1,17	1,09	0,888
37	1,14	1,15	0,888
42	1,13	2	<0,001
<b>Μεταβολή (η. 0-42)</b>	<b>34,52%</b>	<b>127,27%</b>	

### Τοπικό σκεύασμα 3 [ισόποδο] Vs Μάρτυρες [DNCB]

Συγκρίνοντας στατιστικά τις ομάδες τοπικού σκευάσματος 3 [ισόποδο] και των μαρτύρων [DNCB] παρατηρήθηκε στατιστικά πολύ σημαντική διαφορά την 42<sup>η</sup> ημέρα, με το τοπ. σκ. 3 να έχει μικρότερη τιμή πάχους από τους μάρτυρες (Πίνακας 105).

**Πίνακας 105:** Στατιστική σύγκριση των ομάδων τοπικό σκεύασμα 3 [ισόποδο] με μάρτυρες [DNCB] Πάχος δέρματος-πείραμα 3<sup>ο</sup>

Ημέρα	Τοπ. Σκ. 3 [ισόποδο]	Μάρτυρες [DNCB]	p-value
	Διαμ. Πάχος	Διαμ. Πάχος	
0	0,85	0,88	0,423
8	1,38	1,37	1
22	1,07	1,09	0,481
27	1,25	1,14	0,481
30	1,05	1,14	0,888
33	1,09	1,09	0,37
37	1,15	1,15	0,815
42	1,35	2	<0,001
<b>Μεταβολή (ημ. 0-42)</b>	<b>58,82%</b>	<b>127,27%</b>	

### Τοπικό σκεύασμα 4 [ελαιοκανθάλη & ολεασίνη] Vs Μάρτυρες [DNCB]

Συγκρίνοντας στατιστικά τις ομάδες 4 [ελαιοκανθάλη & ολεασίνη] και μαρτύρων [DNCB] παρατηρήθηκε στατιστικά πολύ σημαντική διαφορά την 42<sup>η</sup> ημέρα, με το τοπ. σκ. 4 να έχει μικρότερη τιμή πάχους από τους μάρτυρες (Πίνακας 106).



**Πίνακας 106:** Στατιστική σύγκριση των ομάδων τοπικό σκεύασμα 4 [ελαιοκανθάλη & ολεασίνη] και μάρτυρες [DNCB] Πάχος δέρματος-πείραμα 3<sup>ο</sup>

Ημέρα	Τοπ. Σκ. 4 [ελαιοκ. & ολεας.]	Μάρτυρες [DNCB]	p-value
	Διαμ. Πάχος	Διαμ. Πάχος	
0	0,86	0,88	0,481
8	1,54	1,37	1
22	1,16	1,09	0,142
27	1,03	1,14	0,036
30	1,14	1,14	0,743
33	1,06	1,09	0,673
37	1,15	1,15	1
42	1,32	2	<b>0,001</b>
<b>Μεταβολή (ημ. 0-42)</b>	<b>53,49%</b>	<b>127,27%</b>	

- Σύγκριση τοπικών σκευασμάτων μεταξύ τους

#### **Τοπικό σκεύασμα 1 [μίγμα εκχύλισμα] Vs Τοπικό σκεύασμα 2 [χλωροκρεσόλη]**

Συγκρίνοντας στατιστικά τις ομάδες τοπ. σκ. 1 [μίγμα εκχυλισμάτων] και τοπ. σκ. 2 [χλωροκρεσόλη] παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στις (Πίνακας 107):

- Ημ. 8 (μέτρηση πριν την θεραπεία) με το τοπ. σκ. 2 να παρουσιάζει στατιστικά πολύ σημαντικά μικρότερη τιμή πάχους δέρματος από το τοπ. σκ. 1 ( $p \leq 0,001$ )
- Ημ. 42 με το τοπ. σκ. 2 να παρουσιάζει στατιστικά πολύ σημαντικά μικρότερη τιμή πάχους δέρματος από το τοπ. σκ. 1 ( $p < 0,001$ )

**Πίνακας 107:** Στατιστική σύγκριση των ομάδων τοπικό σκεύασμα 1 [μίγμα εκχύλισμα] με τοπικό σκεύασμα 2 [χλωροκρεσόλη] Πάχος δέρματος-πείραμα 3<sup>ο</sup>

Ημέρα	Τοπ. Σκ. 1 [μίγμα εκχ.]	Τοπ. Σκ. 2 [χλωροκρ.]	p-value
	Διαμ. Πάχος	Διαμ. Πάχος	
0	0,78	0,84	0,315
8	1,3	1,66	<b>0,001</b>
22	1,09	1,14	0,408
27	1,09	1,09	0,878
30	1,18	1,23	0,959
33	1,1	1,17	0,505
37	1,38	1,14	0,161
42	1,79	1,13	<b>&lt;0,001</b>
<b>Μεταβολή (ημ. 0-42)</b>	<b>129,49%</b>	<b>34,52%</b>	

#### **Τοπικό σκεύασμα 1 [μίγμα εκχύλισμα] Vs Τοπικό σκεύασμα 3 [ισόποδο]**

Από την στατιστική σύγκριση των δυο ομάδων βρέθηκε στατιστικά πολύ σημαντική διαφορά την ημ. 42<sup>η</sup>, με το τοπ. σκ. 3 [ισόποδο] να παρουσιάζει μικρότερη τιμή πάχους από το τοπ. σκ. 1 [μίγμα εκχ.].

**Πίνακας 108:** Στατιστική σύγκριση των ομάδων τοπικό σκεύασμα 1 [μίγμα εκχυλισμάτων] με τοπικό σκεύασμα 3 [ισόποδο] Πάχος δέρματος-πείραμα 3<sup>ο</sup>

Ημέρα	Τοπ. Σκ. 1 [μίγμα εκχ.]	Τοπ. Σκ. 3 [ισόποδο]	p-value
	Διαμ. Πάχος	Διαμ. Πάχος	
0	0,78	0,85	0,055
8	1,3	1,38	0,635
22	1,09	1,07	0,273
27	1,09	1,25	0,798
30	1,18	1,05	0,442
33	1,1	1,09	0,798
37	1,38	1,15	0,279
42	1,79	1,35	<b>&lt;0,001</b>
<b>Μεταβολή (ημ. 0-42)</b>	<b>129,49%</b>	<b>58,82%</b>	

**Τοπικό σκεύασμα 1 [μίγμα εκχύλισμα] Vs Τοπικό σκεύασμα 4 [ελαιοκανθάλη & ολεασίνη]**

Συγκρίνοντας στατιστικά τις ομάδες τοπικού σκευάσματος 1 [μίγμα εκχυλισμάτων] και τοπικού σκευάσματος 4 [ελαιοκανθάλη & ολεασίνη] παρατηρήθηκε στατιστικά πολύ σημαντική διαφορά την 42<sup>η</sup> ημέρα, με το τοπ. σκ. 4 να έχει μικρότερη τιμή πάχους από το τοπ. σκ. 1 (Πίνακας 110).

**Πίνακας 110:** Στατιστική σύγκριση των τοπικό σκεύασμα 1 [μίγμα εκχυλισμάτων] με τοπικό σκεύασμα 4 [ελαιοκανθάλη & ολεασίνη] Πάχος δέρματος-πείραμα 3<sup>ο</sup>

Ημέρα	Τοπ. Σκ. 1 [μίγμα εκχ.]	Τοπ. Σκ. 4 [ελαιοκ. & ολεασ.]	p-value
	Διαμ. Πάχος	Διαμ. Πάχος	
0	0,78	0,86	0,043
8	1,3	1,54	0,161
22	1,09	1,16	0,173
27	1,09	1,03	0,442
30	1,18	1,14	0,645
33	1,1	1,06	1
37	1,38	1,15	0,505
42	1,79	1,32	<b>0,01</b>
<b>Μεταβολή (ημ. 0-42)</b>	<b>129,49%</b>	<b>53,49%</b>	

**Τοπικό σκεύασμα 2 [χλωροκρεσόλη] Vs Τοπικό σκεύασμα 3 [ισόποδο]**

Συγκρίνοντας στατιστικά τις ομάδες του τοπικού σκευάσματος 2 [χλωροκρεσόλη] και τοπικού σκευάσματος 3 [ισόποδο] παρουσιάστηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στη μέτρηση ημ. 8, αλλά είναι μέτρηση πριν την έναρξη των θεραπειών (Πίνακας 111).

**Πίνακας 111:** Στατιστική σύγκριση των ομάδων τοπικό σκεύασμα 2 [χλωροκρεσόλη] και τοπικό σκεύασμα 3 [ισόποδο] Πάχος δέρματος-πείραμα 3<sup>ο</sup>

Ημέρα	Τοπ. Σκ. 2 [χλωροκρεσόλη]	Τοπ. Σκ. 3 [ισόποδο]	p-value
	Διαμ. Πάχος	Διαμ. Πάχος	
0	0,84	0,85	0,721
8	1,66	1,38	<b>0,008</b>
22	1,14	1,07	0,574
27	1,09	1,25	0,505
30	1,23	1,05	0,442
33	1,17	1,09	0,442
37	1,14	1,15	0,798
42	1,13	1,35	0,878
<b>Μεταβολή (ημ. 0-42)</b>	<b>34,52%</b>	<b>58,82%</b>	

**Τοπικό σκεύασμα 2 [χλωροκρεσόλη] Vs Τοπικό σκεύασμα 4 [ελαιοκανθάλη & ολεασίνη]**

Συγκρίνοντας στατιστικά τις ομάδες τοπικού σκευάσματος 2 [χλωροκρεσόλη] και τοπικού σκευάσματος 4 [ελαιοκανθάλη & ολεασίνη] δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στις (Πίνακας 112).

**Πίνακας 112:** Στατιστική σύγκριση των ομάδων τοπικό σκεύασμα 2 [χλωροκρεσόλη] και τοπικό σκεύασμα 4 [ελαιοκανθάλη & ολεασίνη] Ενυδάτωση-πείραμα 3<sup>ο</sup>

Ημέρα	Τοπ. Σκ. 2 [χλωροκρεσόλη]	Τοπ. Σκ. 4 [ελαιοκ. & ολεασ.]	p-value
	Διαμ. Πάχος	Διαμ. Πάχος	
0	0,84	0,86	0,721
8	1,66	1,54	0,397
22	1,14	1,16	0,574
27	1,09	1,03	0,279
30	1,23	1,14	0,721
33	1,17	1,06	0,574
37	1,14	1,15	0,645
42	1,13	1,32	0,328
<b>Μεταβολή (ημ. 0-42)</b>	<b>34,52%</b>	<b>53,49%</b>	

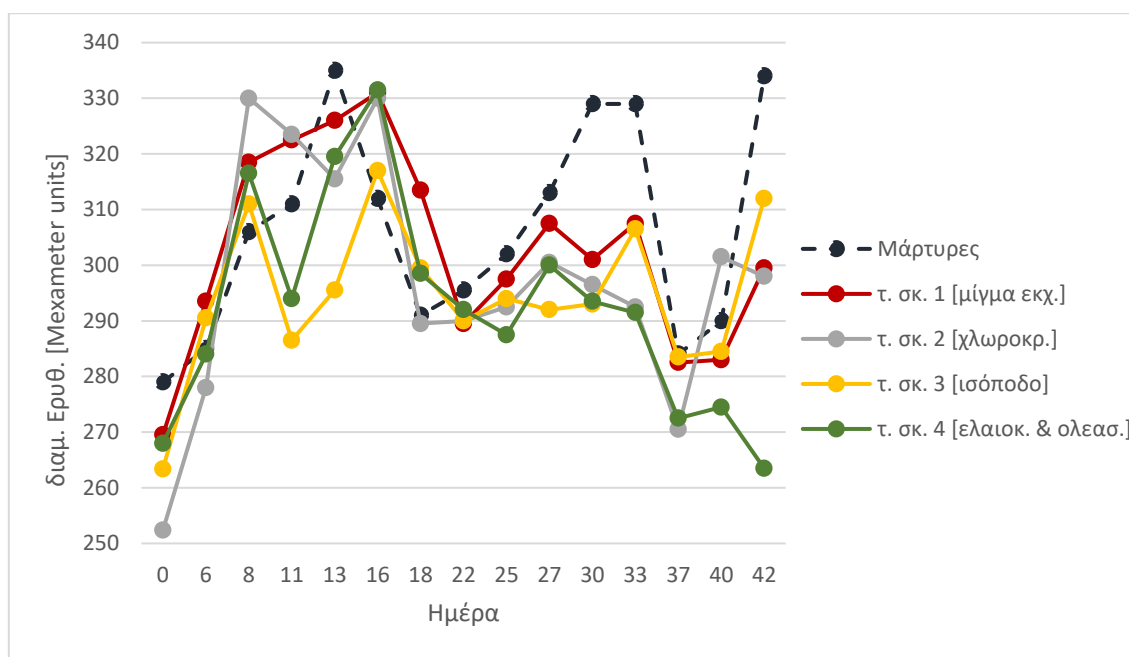
### Τοπικό σκεύασμα 3 [ισόποδο] Vs Τοπικό σκεύασμα 4 [ελαιοκανθάλη & ολεασίνη]

Συγκρίνοντας στατιστικά τις ομάδες τοπικό σκεύασμα 3 [ισόποδο] & τοπικό σκεύασμα 4 [ελαιοκανθάλη & ολεασίνη] δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στις (Πίνακας 113).

Πίνακας 113: Στατιστική σύγκριση των ομάδων τοπικό σκεύασμα 2 [χλωροκρεσόλη] και τοπικό σκεύασμα 4 [ελαιοκανθάλη & ολεασίνη] Ενυδάτωση-πείραμα 3<sup>ο</sup>

Ημέρα	Τοπ. Σκ. 3 [ισόποδο]	Τοπ. Σκ. 4 [ελαιοκ. & ολεας.]	p-value
	Διαμ. Πάχος	Διαμ. Πάχος	
0	0,85	0,86	0,798
8	1,38	1,54	0,295
22	1,07	1,16	0,959
27	1,25	1,03	0,328
30	1,05	1,14	0,798
33	1,09	1,06	1
37	1,15	1,15	0,721
42	1,35	1,32	0,328
Μεταβολή (ημ. 0-42)	58,82%	53,49%	

### 3.3.7 Ερυθρότητα



**Διάγραμμα 12:** Οι διάμεσοι των μετρήσεων ερυθρότητας για το πείραμα 3<sup>ο</sup> (ημ. 0-42)

Η ερυθρότητα όλων των ομάδων μέχρι και την ημέρα έναρξης θεραπείας είχαν όμοια πορεία, με εξαιρετική αύξηση της ερυθρότητας το διάστημα ημ. 6-16<sup>η</sup>. Την 27<sup>η</sup> ημέρα έχει αρχίσει να παρουσιάζεται μια ελαφριά διαφοροποίηση μεταξύ των ομάδων με τους μάρτυρες να έχουν την χειρότερη εικόνα και το τοπ. σκ. 3 την καλύτερη. Την 30<sup>η</sup> ημέρα η διαφοροποίηση μεταξύ των τοπικών σκευασμάτων δεν είναι μεγάλη αλλά σε σχέση με τους μάρτυρες υπάρχει σαφής διαφορά. Την 33<sup>η</sup> ημέρα τα τοπ. σκ. 2 και 4 σημειώνουν επιπλέον μείωση, ενώ τα τοπ. σκ. 1 και 3 σημειώνουν μια αύξηση. Οι μάρτυρες σταθερά έχουν πολύ μεγαλύτερη τιμή ερυθρότητας. Την 37<sup>η</sup> ημέρα παρουσιάζεται μια ραγδαία μείωση όλων των ομάδων. Την 40<sup>η</sup> ημέρα το τοπ. σκ. 4 παρουσιάζει την χαμηλότερη τιμή ερυθρότητας ενώ το τοπ. σκ. 2 την μεγαλύτερη, ακόμα και από τους μάρτυρες. Στο τέλος του πειράματος οι μάρτυρες χειροτερεύουν ραγδαία, το τοπ. σκ. 4 παρουσιάζει εξαιρετικά χαμηλή τιμή ερυθρότητας, σε επίπεδα της ημ. 0 και τα υπόλοιπα τοπικά σκευάσματα παρουσιάζουν μια αυξημένη ερυθρότητα αλλά όχι τόσο οι μάρτυρες.

**Πίνακας 114:** Μετρήσεις ερυθρότητας για το πείραμα 3<sup>ο</sup> Μάρτυρες [DNCB]

Ερυθ.	Μάρτυρες [DNCB]														
	Ημέρα πειραματισμού														
Δείγμα	0	6	8	11	13	16	18	22	25	27	30	33	37	40	42
54	247	383	309	311	296	383	293	293	323	313	298	320	274	300	341
55	287	279	291	312	339	311	318	303	275	338	302	301	285	290	272
56	307	285	318	324	335	343	285	280	293	307	351	353	297	334	344
57	279	293	285	314	346	296	322	311	312	325	319	318	284	305	335
58	269	274	333	299	328	340	279	307	310	283	284	345	268	263	309
59	300	278	376	328	338	373	291	283	294	339	293	351	286	282	336
60	279	291	259	288	306	297	261	295	309	272	312	352	284	285	334
61	263	280	306	291	303	312	314	349	302	336	309	316	275	282	267
62	277	298	279	248	337	302	257	286	285	306	339	329	263	303	333

**Πίνακας 115:** Μετρήσεις ερυθρότητας για το πείραμα 3<sup>ο</sup> Τοπικό σκεύασμα 1 [μίγμα εκχυλισμάτων]

Ερυθ.	Τοπικό σκεύασμα 1 [μίγμα εκχυλισμάτων]														
	Ημέρα πειραματισμού														
Δείγμα	0	6	8	11	13	16	18	22	25	27	30	33	37	40	42
44	278	347	306	314	327	325	265	273	240	-	-	-	-	-	-
45	263	325	340	343	324	272	246	263	249	-	-	-	-	-	-
46	301	269	262	320	342	332	343	294	305	293	312	311	285	261	285
47	255	338	267	325	330	288	287	287	290	305	250	303	273	274	331
48	257	275	325	327	313	352	304	297	299	310	321	343	292	300	307
49	225	251	291	317	323	331	313	285	281	285	284	284	259	306	300
50	286	274	312	298	293	309	322	302	296	296	296	304	289	277	299
51	291	328	351	296	328	333	314	271	309	343	307	319	296	151	293
52	276	310	326	330	336	367	314	292	299	329	306	350	273	289	269
53	304	281	275	330	371	307	320	296	300	311	278	299	280	297	302

**Πίνακας 116:** Μετρήσεις ερυθρότητας για το πείραμα 3<sup>ο</sup> Τοπικό σκεύασμα 2 [χλωροκρεσόλη]

Ερυθ.	Τοπικό σκεύασμα 2 [χλωροκρεσόλη]														
	Ημέρα πειραματισμού														
Δείγμα	0	6	8	11	13	16	18	22	25	27	30	33	37	40	42
63	206	276	336	331	300	340	279	283	299	258	319	311	275	307	254
64	283	274	315	324	339	340	318	312	303	317	298	300	297	296	220
65	337	224	344	345	268	302	286	296	279	278	299	268	238	318	301
66	252	272	300	323	310	336	284	281	139	333	291	292	267	267	324
67	266	384	366	333	321	285	294	303	145	338	295	280	274	312	300
68	253	321	320	321	335	324	295	284	288	290	270	293	262	295	331
69	237	280	327	272	292	313	275	276	297	281	266	291	245	261	296
70	212	314	333	299	339	354	293	341	304	311	348	293	296	324	281

**Πίνακας 117:** Μετρήσεις ερυθρότητας για το πείραμα 3<sup>ο</sup> Τοπικό σκεύασμα 3 [ισόποδο]

Ερυθ.	Τοπικό σκεύασμα 3 [ισόποδο]														
	Ημέρα πειραματισμού														
Δείγμα	0	6	8	11	13	16	18	22	25	27	30	33	37	40	42
71	285	254	324	281	286	358	350	316	289	290	294	292	261	263	288
72	263	317	296	292	286	358	328	327	209	346	315	329	283	274	379
73	264	266	302	360	291	318	317	261	288	283	276	251	260	271	263
74	228	247	261	268	338	316	288	291	329	306	240	299	293	307	292
75	274	338	302	326	332	357	275	265	302	271	301	324	253	308	311
76	279	342	320	260	286	294	260	299	306	306	321	321	284	282	377
77	247	271	320	270	300	288	281	276	280	294	189	295	308	287	313
78	221	310	349	332	328	299	311	289	299	283	292	314	289	356	369

**Πίνακας 118:** Μετρήσεις ερυθρότητας για το πείραμα 3<sup>ο</sup> Τοπικό σκεύασμα 4 [ελαιοκανθάλη & ολεασίνη]

Ερυθ.	Τοπικό σκεύασμα 3 [ισόποδο]														
	Ημέρα πειραματισμού														
Δείγμα	0	6	8	11	13	16	18	22	25	27	30	33	37	40	42
79	278	243	305	293	350	335	299	269	297	261	298	278	275	271	262
80	230	263	317	281	334	318	284	308	268	295	306	305	264	280	292
81	305	329	285	311	320	337	313	294	306	302	326	263	309	288	260
82	255	291	340	295	306	328	314	300	249	306	271	266	242	249	265
83	258	277	316	304	356	327	298	295	315	287	287	279	293	276	235
84	230	277	315	279	298	351	288	275	319	311	285	304	258	246	258
85	293	300	345	236	319	307	250	262	278	298	289	317	270	284	324
86	308	296	349	308	309	341	324	290	269	337	314	336	278	273	349

### 3.3.7.1 Στατιστική ανάλυση μετρήσεων Ενουδάτωσης

- [Σύγκριση τοπικών σκευασμάτων με τους μάρτυρες](#)

#### Τοπικό σκεύασμα 1 [μίγμα εκχύλισμα] Vs Μάρτυρες [DNCB]

Συγκρίνοντας στατιστικά τις ομάδες του τοπικού σκευάσματος 1 [μίγμα εκχυλισμάτων] και των μαρτύρων [DNCB] παρουσιάστηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές τις ημέρες 11 (πριν την έναρξη θεραπείας), 30 και 33 (Πίνακας 119). Στις ημέρες 30<sup>η</sup> και 33<sup>η</sup> το τοπ. σκ. 1 είχε στατιστικά σημαντικά μικρότερη τιμή ερυθρότητα από τους μάρτυρες.

**Πίνακας 119:** Στατιστική σύγκριση των ομάδων τοπικό σκεύασμα 1 [μίγμα εκχύλισμα] με μάρτυρες [DNCB] Ερυθρότητα-πείραμα 3<sup>ο</sup>

Ημέρα	Τοπ. Σκ. 1	Μάρτυρες	p-value
	[μίγμα εκχ.]	[DNCB]	
	Διαμ. Ερυθρ.	Διαμ. Ερυθρ.	
0	269,5	279	0,661
6	293,5	285	0,968
8	318,5	306	0,905
11	322,5	311	<b>0,043</b>
13	326	335	0,78
16	331	312	0,72
18	313,5	291	0,356
22	289,5	295,5	0,156
25	297,5	302	0,211
27	307,5	313	0,673
30	301	329	<b>0,036</b>
33	307,5	329	<b>0,011</b>
37	282,5	284	0,236
40	283	290	0,277
42	299,5	334	0,059
<b>Μεταβολή (ημ. 0-42)</b>	<b>11,13%</b>	<b>19,71%</b>	

### Τοπικό σκεύασμα 2 [χλωροκρεσόλη] Vs Μάρτυρες [DNCB]

Συγκρίνοντας στατιστικά τις ομάδες τοπικού σκευάσματος 2 [χλωροκρεσόλη] και των μαρτύρων [DNCB] παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στις (Πίνακας 120):

- Ημ. 33 με το τοπ. σκ. 2 να παρουσιάζει στατιστικά πολύ σημαντικά μικρότερη τιμή ερυθρότητας από τους μάρτυρες
- Ημ. 42 με το τοπ. σκ. 2 να παρουσιάζει στατιστικά σημαντικά μικρότερη τιμή ερυθρότητας από τους μάρτυρες

Πίνακας 120: Στατιστική σύγκριση των ομάδων τοπικό σκεύασμα 2 [χλωροκρεσόλη] με μάρτυρες [DNCB] Ερυθρότητα-πείραμα 3<sup>ο</sup>

Ημέρα	Τοπ. Σκ. 2 [χλωροκρ.]	Μάρτυρες [DNCB]	p-value
	Διαμ. Ερυθρ.	Διαμ. Ερυθρ.	
0	252,4	279	0,114
6	278	285	0,606
8	330	306	0,059
11	323,5	311	0,114
13	315,5	335	0,37
16	330	312	0,963
18	289,5	291	1
22	290	295,5	0,673
25	292,5	302	0,167
27	300,5	313	0,37
30	296,5	329	0,236
33	292,5	329	<b>&lt;0,001</b>
37	270,5	284	0,236
40	301,5	290	0,541
42	298	334	<b>0,036</b>
Μεταβολή (ημ. 0-42)	18,07%	19,71%	

### Τοπικό σκεύασμα 3 [ισόποδο] Vs Μάρτυρες [DNCB]

Συγκρίνοντας στατιστικά τις ομάδες τοπικού σκευάσματος 3 [ισόποδο] και των μαρτύρων [DNCB] παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στις (Πίνακας 121):

- Ημ. 13 (μέτρηση πριν την θεραπεία) με το τοπ. σκ. 3 να παρουσιάζει στατιστικά σημαντικά μικρότερη τιμή ερυθρότητας από τους μάρτυρες
- Ημ. 33 με το τοπ. σκ. 3 να παρουσιάζει στατιστικά σημαντικά μικρότερη τιμή ερυθρότητας από τους μάρτυρες



**Πίνακας 121:** Στατιστική σύγκριση των ομάδων τοπικό σκεύασμα 3 [ισόποδο] με μάρτυρες [DNCB] Ερυθρότητα-πείραμα 3<sup>ο</sup>

Ημέρα	Τοπ. Σκ. 3 [ισόποδο]	Μάρτυρες [DNCB]	p-value
	Διαμ. Ερυθρ.	Διαμ. Ερυθρ.	
0	263,4	279	0,093
6	290,5	285	0,743
8	311	306	0,606
11	286,5	311	0,815
13	295,5	335	<b>0,046</b>
16	317	312	0,815
18	299,5	291	0,673
22	290	295,5	0,423
25	294	302	0,423
27	292	313	0,167
30	293	329	0,144
33	306,5	329	<b>0,027</b>
37	283,5	284	0,888
40	284,5	290	0,815
42	312	334	1
<b>Μεταβολή (ημ. 0-42)</b>	<b>18,45%</b>	<b>19,71%</b>	

**Τοπικό σκεύασμα 4 [ελαιοκανθάλη & ολεασίνη] Vs Μάρτυρες [DNCB]**

Συγκρίνοντας στατιστικά τις ομάδες του τοπικού σκευάσματος 4 [ελαιοκανθάλη & ολεασίνη] και μαρτύρων παρουσιάστηκαν στατικά σημαντικές διαφορές για τις μετρήσεις ημ. 33, 40 & 42 με τους μύες του τοπ. σκ. 4 να έχουν μικρότερη τιμή ερυθρότητας (Πίνακας 122).

**Πίνακας 122:** Στατιστική σύγκριση των ομάδων τοπικό σκεύασμα 4 [ελαιοκανθάλη & ολεασίνη] και μάρτυρες [DNCB] Ερυθρότητα-πείραμα 3<sup>ο</sup>

Ημέρα	Τοπ. Σκ. 4 [ελαιοκ. & ολεας.]	Μάρτυρες [DNCB]	p-value
	Διαμ. Ερυθρ.	Διαμ. Ερυθρ.	
0	268	279	0,606
6	284	285	0,606
8	316,5	306	0,236
11	294	311	0,139
13	319,5	335	0,888
16	331,5	312	0,673
18	298,5	291	0,673
22	292	295,5	0,236
25	287,5	302	0,37
27	300	313	0,167
30	293,5	329	0,2
33	291,5	329	<b>0,008</b>
37	272,5	284	0,423
40	274,5	290	<b>0,015</b>
42	263,5	334	<b>0,036</b>
<b>Μεταβολή (ημ. 0-42)</b>	<b>-1,68%</b>	<b>19,71%</b>	

- Σύγκριση τοπικών σκευασμάτων μεταξύ τους

**Τοπικό σκεύασμα 1 [μίγμα εκχύλισμα] Vs Τοπικό σκεύασμα 2 [χλωροκρεσόλη]**

Συγκρίνοντας στατιστικά την ομάδα του τοπ. σκ. 1 [μίγμα εκχυλισμάτων] και του τοπ. σκ. 2 [χλωροκρεσόλη] βρέθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά μόνο την ημέρα 33 με το τοπ. σκ. 2 να έχει μικρότερη τιμή ερυθρότητας (Πίνακας 123).

Πίνακας 123: Στατιστική σύγκριση των ομάδων τοπικό σκεύασμα 1 [μίγμα εκχύλισμα] με τοπικό σκεύασμα 2 [χλωροκρεσόλη] Ερυθρότητα-πείραμα 3<sup>ο</sup>

Ημέρα	Τοπ. Σκ. 1 [μίγμα εκχ.]	Τοπ. Σκ. 2 [χλωροκρ.]	p-value
	Διαμ. Ερυθρ.	Διαμ. Ερυθρ.	
0	269,5	252,4	0,146
6	293,5	278	0,633
8	318,5	330	0,101
11	322,5	323,5	0,696
13	326	315,5	0,274
16	331	330	0,762
18	313,5	289,5	0,173
22	289,5	290	0,408
25	297,5	292,5	0,515
27	307,5	300,5	0,574
30	301	296,5	0,959
33	307,5	292,5	<b>0,021</b>
37	282,5	270,5	0,382
40	283	301,5	0,161
42	299,5	298	0,721
<b>Μεταβολή (ημ. 0-42)</b>	<b>11,13%</b>	<b>18,07%</b>	

**Τοπικό σκεύασμα 1 [μίγμα εκχύλισμα] Vs Τοπικό σκεύασμα 3 [ισόποδο]**

Από την στατιστική σύγκριση των δυο ομάδων δεν βρέθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά.

Πίνακας 124: Στατιστική σύγκριση των ομάδων τοπικό σκεύασμα 1 [μίγμα εκχυλισμάτων] με τοπικό σκεύασμα 3 [ισόποδο] Ερυθρότητα-πείραμα 3<sup>ο</sup>

Ημέρα	Τοπ. Σκ. 1 [μίγμα εκχ.]	Τοπ. Σκ. 3 [ισόποδο]	p-value
	Διαμ. Ερυθρ.	Διαμ. Ερυθρ.	
0	269,5	263,4	0,203
6	293,5	290,5	0,573
8	318,5	311	0,965
11	322,5	286,5	0,203
13	326	295,5	0,101
16	331	317	1
18	313,5	299,5	0,97
22	289,5	290	0,829
25	297,5	294	1
27	307,5	292	0,195
30	301	293	0,505
33	307,5	306,5	0,574
37	282,5	283,5	0,878
40	283	284,5	0,505
42	299,5	312	0,328
<b>Μεταβολή (ημ. 0-42)</b>	<b>11,13%</b>	<b>-1,68%</b>	

### Τοπικό σκεύασμα 1 [μίγμα εκχύλισμα] Vs Τοπικό σκεύασμα 4 [ελαιοκανθάλη & ολεασίνη]

Συγκρίνοντας στατιστικά τις ομάδες του τοπικού σκευάσματος 1 [μίγμα εκχυλισμάτων] και τοπικού σκευάσματος 4 [ελαιοκανθάλη & ολεασίνη] παρουσιάστηκε στατιστικά πολύ σημαντική διαφορά μόνο στη μέτρηση ημ. 11<sup>η</sup> (πριν την έναρξη θεραπείας).

Πίνακας 125: Στατιστική σύγκριση των τοπικό σκεύασμα 1 [μίγμα εκχυλισμάτων] με τοπικό σκεύασμα 4 [ελαιοκανθάλη & ολεασίνη] Ερυθρότητα-πείραμα 3<sup>ο</sup>

Ημέρα	Τοπ. Σκ. 1 [μίγμα εκχ.]	Τοπ. Σκ. 4 [ελαιοκ. & ολεασ.]	p-value
	Διαμ. Ερυθρ.	Διαμ. Ερυθρ.	
0	269,5	268	1
6	293,5	284	0,515
8	318,5	316,5	0,315
11	322,5	294	<b>0,001</b>
13	326	319,5	0,515
16	331	331,5	0,46
18	313,5	298,5	0,46
22	289,5	292	0,897
25	297,5	287,5	0,897
27	307,5	300	0,505
30	301	293,5	0,878
33	307,5	291,5	0,161
37	282,5	272,5	0,382
40	283	274,5	0,279
42	299,5	263,5	0,13
Μεταβολή (ημ. 0-42)	11,13%	-1,68%	

### Τοπικό σκεύασμα 2 [χλωροκρεσόλη] Vs Τοπικό σκεύασμα 3 [ισόποδο]

Συγκρίνοντας στατιστικά τις ομάδες του τοπικού σκευάσματος 2 [χλωροκρεσόλη] και τοπικού σκευάσματος 3 [ισόποδο] δεν παρουσιάστηκε στατιστικά σημαντική διαφορά.

Πίνακας 126: Στατιστική σύγκριση των ομάδων τοπικό σκεύασμα 2 [χλωροκρεσόλη] και τοπικό σκεύασμα 3 [ισόποδο] Ερυθρότητα-πείραμα 3<sup>ο</sup>

Ημέρα	Τοπ. Σκ. 2 [χλωροκρεσόλη]	Τοπ. Σκ. 3 [ισόποδο]	p-value
	Διαμ. Ερυθρ.	Διαμ. Ερυθρ.	
0	252,4	263,4	0,721
6	278	290,5	0,798
8	330	311	0,13
11	323,5	286,5	0,279
13	315,5	295,5	0,328
16	330	317	1
18	289,5	299,5	0,645
22	290	290	0,645
25	292,5	294	0,442
27	300,5	292	0,878
30	296,5	293	0,645
33	292,5	306,5	0,105
37	270,5	283,5	0,574
40	301,5	284,5	0,574
42	298	312	0,234
Μεταβολή (ημ. 0-42)	18,07%	18,45%	

### Τοπικό σκεύασμα 2 [χλωροκρεσόλη] Vs Τοπικό σκεύασμα 4 [ελαιοκανθάλη & ολεασίνη]

Συγκρίνοντας στατιστικά τις ομάδες τοπικού σκευάσματος 2 [χλωροκρεσόλη] και τοπικού σκευάσματος 4 [ελαιοκανθάλη & ολεασίνη] παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στις (Πίνακας 127):

- Ημ. 11 (μέτρηση πριν την θεραπεία) με το τοπ. σκ. 4 να παρουσιάζει στατιστικά μικρότερη τιμή ερυθρότητας από το τοπ. σκ. 2
- Ημ. 40 με το τοπ. σκ. 4 να παρουσιάζει στατιστικά σημαντικά μικρότερη τιμή ερυθρότητας από το τοπ. σκ. 2

**Πίνακας 127:** Στατιστική σύγκριση των ομάδων τοπικό σκεύασμα 2 [χλωροκρεσόλη] και τοπικό σκεύασμα 4 [ελαιοκανθάλη & ολεασίνη] Ερυθρότητα-πείραμα 3<sup>ο</sup>

Ημέρα	Τοπ. Σκ. 2	Τοπ. Σκ. 4	p-value
	[χλωροκρεσόλη]	[ελαιοκ. & ολεας.]	
0	252,4	268	0,382
6	278	284	1
8	330	316,5	0,574
11	323,5	294	<b>0,021</b>
13	315,5	319,5	0,645
16	330	331,5	0,721
18	289,5	298,5	0,279
22	290	292	0,382
25	292,5	287,5	0,645
27	300,5	300	0,959
30	296,5	293,5	0,959
33	292,5	291,5	1
37	270,5	272,5	0,721
40	301,5	274,5	<b>0,038</b>
42	298	263,5	0,574
Μεταβολή (ημ. 0-42)	18,07%	-1,68%	

### Τοπικό σκεύασμα 3 [ισόποδο] Vs Τοπικό σκεύασμα 4 [ελαιοκανθάλη & ολεασίνη]

Συγκρίνοντας στατιστικά τις ομάδες τοπικό σκεύασμα 3 [ισόποδο] & τοπικό σκεύασμα 4 [ελαιοκανθάλη & ολεασίνη] παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά την ημ. 42<sup>η</sup> με το τοπ. σκ. 4 να παρουσιάζει μικρότερη τιμή ερυθρότητας (Πίνακας 128).

**Πίνακας 128:** Στατιστική σύγκριση των ομάδων τοπικό σκεύασμα 2 [χλωροκρεσόλη] και τοπικό σκεύασμα 4 [ελαιοκανθάλη & ολεασίνη] Ερυθρότητα-πείραμα 3<sup>ο</sup>

Ημέρα	Τοπ. Σκ. 3 [ισόποδο]	Τοπ. Σκ. 4 [ελαιοκ. & ολεασ.]	p-value
	Διαμ. Ερυθρ.	Διαμ. Ερυθρ.	
0	263,4	268	0,442
6	290,5	284	0,721
8	311	316,5	0,505
11	286,5	294	0,959
13	295,5	319,5	0,13
16	317	331,5	0,574
18	299,5	298,5	0,878
22	290	292	0,959
25	294	287,5	0,721
27	292	300	0,574
30	293	293,5	0,721
33	306,5	291,5	0,505
37	283,5	272,5	0,645
40	284,5	274,5	0,161
42	312	263,5	<b>0,05</b>
<b>Μεταβολή (ημ. 0-42)</b>	<b>18,45%</b>	<b>-1,68%</b>	

### 3.3.8 Συγκεντρωτικά τα αποτελέσματα των στατιστικών συγκρίσεων-πείραμα 3<sup>ο</sup>

Υπενθυμίζοντας, η στατική ανάλυση έγινε με μη παραμετρικό έλεγχο Mann-Whitney, στο πρόγραμμα SPSS με διάστημα εμπιστοσύνης 95%.

Συγκεντρωτικά τα αποτελέσματα των συγκρίσεων μετά την έναρξη εφαρμογής των τοπικών σκευασμάτων (25<sup>η</sup>-42<sup>η</sup> ημέρα) αναφέρονται στους παρακάτω πίνακες:

– Σύγκριση τοπικών σκευασμάτων με τους μάρτυρες

(\*πολύ σημαντική διαφορά,  $p \leq 0,001$ )

Πίνακας 129: Στατιστική σύγκριση μεταξύ των ομάδων τοπικό σκεύασμα 1 [μίγμα εκχυλισμάτων] και μάρτυρες [DNCB]

	Τοπ. σκ. 1 [μίγμα εκχ.] Vs Μάρτυρες [DNCB]
<b>pH</b>	Δεν παρουσιάστηκε στατιστικά σημαντική διαφορά
<b>TEWL</b>	Δεν παρουσιάστηκε στατιστικά σημαντική διαφορά
<b>Ενυδάτωση</b>	Στατιστικά σημαντικές διαφορές για τις μετρήσεις ημ. 27, 30 & 33 (το τοπ. σκ.1 μεγαλύτερη τιμή)
<b>Πάχος δέρματος</b>	Δεν παρουσιάστηκε στατιστικά σημαντική διαφορά
<b>Ερυθρότητα</b>	Στατιστικά σημαντικές διαφορές για τις μετρήσεις ημ. 30 & 33 (τοπ. σκ.1 μικρότερη τιμή)

Πίνακας 130: Στατιστική σύγκριση μεταξύ των ομάδων τοπικό σκεύασμα 2 [χλωροκρεσόλη] και μάρτυρες [DNCB]

	Τοπ. σκ. 2 [χλωροκρ.] Vs Μάρτυρες [DNCB]
<b>pH</b>	Δεν παρουσιάστηκε στατιστικά σημαντική διαφορά
<b>TEWL</b>	Στατιστικά σημαντικές διαφορές για τις μετρήσεις ημ. 30-42 (τοπ. σκ.2 μικρότερη τιμή)
<b>Ενυδάτωση</b>	Στατιστικά σημαντικές διαφορές για τις μετρήσεις ημ. 27, 30*, 33* & 42* (το τοπ. σκ.2 μεγαλύτερη τιμή)
<b>Πάχος δέρματος</b>	Στατιστικά πολύ σημαντική διαφορά την ημ. 42* (τοπ. σκ. 2 μικρότερη τιμή)
<b>Ερυθρότητα</b>	Στατιστικά σημαντικές διαφορές για τις μετρήσεις ημ. 33* & 42 (το τοπ. σκ.2 μικρότερη τιμή)

Πίνακας 131: Στατιστική σύγκριση μεταξύ των ομάδων τοπικό σκεύασμα 3 [ισόποδο] και μάρτυρες [DNCB]

	Τοπ. σκ. 3 [ισόποδο] Vs Μάρτυρες [DNCB]
<b>pH</b>	Δεν παρουσιάστηκε στατιστικά σημαντική διαφορά
<b>TEWL</b>	Στατιστικά σημαντική διαφορά την ημ. 42 (τοπ. σκ. 3 μικρότερη τιμή)
<b>Ενυδάτωση</b>	Στατιστικά σημαντικές διαφορές για τις μετρήσεις 30*, 33 & 42* (το τοπ. σκ.3 μεγαλύτερη τιμή)
<b>Πάχος δέρματος</b>	Στατιστικά πολύ σημαντική διαφορά την ημ. 42* (τοπ. σκ. 3 μικρότερη τιμή)
<b>Ερυθρότητα</b>	Στατιστικά σημαντική διαφορά την ημ. 33 (τοπ. σκ. 3 μικρότερη τιμή)

Πίνακας 132: Στατιστική σύγκριση μεταξύ των ομάδων τοπικό σκεύασμα 4 [ελαιοκανθάλη & ολεασίνη] και μάρτυρες [DNCB]

	Τοπ. σκ. 4 [ελαιοκ. & ολεας.] Vs Μάρτυρες [DNCB]
<b>pH</b>	Δεν παρουσιάστηκε στατιστικά σημαντική διαφορά
<b>TEWL</b>	Στατιστικά σημαντικές διαφορές για τις μετρήσεις ημ. 30, 33 & 42* (τοπ. σκ.4 μικρότερη τιμή)
<b>Ενυδάτωση</b>	Στατιστικά σημαντικές διαφορές για τις μετρήσεις 27, 30, 33 & 42 (το τοπ. σκ.4 μεγαλύτερη τιμή)
<b>Πάχος δέρματος</b>	Στατιστικά πολύ σημαντική διαφορά την ημ. 42* (τοπ. σκ. 4 μικρότερη τιμή)
<b>Ερυθρότητα</b>	Στατιστικά σημαντικές διαφορές για τις μετρήσεις 33, 40 & 42 (το τοπ. σκ.4 μικρότερη τιμή)

- Σύγκριση τοπικών σκευασμάτων μεταξύ τους

Πίνακας 133: Στατιστική σύγκριση μεταξύ των ομάδων τοπικό σκεύασμα 1 [μίγμα εκχυλισμάτων] και τοπικό σκεύασμα 2 [χλωροκρεσόλη]

	Τοπ. σκ. 1 [μίγμα εκχ.] Vs Τοπ. Σκ. 2 [χλωροκρ.]
<b>pH</b>	Δεν παρουσιάστηκε στατιστικά σημαντική διαφορά
<b>TEWL</b>	Στατιστικά σημαντικές διαφορές για τις μετρήσεις ημ. 30, 37* & 42 (τοπ. σκ.1 μικρότερη τιμή)
<b>Ενυδάτωση</b>	Στατιστικά σημαντικές διαφορές για τις μετρήσεις ημ. 40 & 42 (τοπ. σκ. 2 μεγαλύτερη τιμή)
<b>Πάχος δέρματος</b>	Στατιστικά πολύ σημαντική διαφορά την ημ. 42* (τοπ. σκ. 2 μικρότερη τιμή)
<b>Ερυθρότητα</b>	Στατιστικά σημαντική διαφορά την ημ. 33 (τοπ. σκ. 2 μικρότερη τιμή)

Πίνακας 134: Στατιστική σύγκριση μεταξύ των ομάδων τοπικό σκεύασμα 1 [μίγμα εκχυλισμάτων] και τοπικό σκεύασμα 3 [ισόποδο]

	Τοπ. σκ. 1 [μίγμα εκχ.] Vs Τοπ. σκ. 3 [ισόποδο]
<b>pH</b>	Δεν παρουσιάστηκε στατιστικά σημαντική διαφορά
<b>TEWL</b>	Στατιστικά σημαντική διαφορά για τη μέτρηση ημ. 37 (τοπ. σκ.3 μικρότερη τιμή)
<b>Ενυδάτωση</b>	Στατιστικά σημαντικές διαφορές για τις μετρήσεις ημ. 40 & 42* (τοπ. σκ. 3 μεγαλύτερη τιμή)
<b>Πάχος δέρματος</b>	Στατιστικά πολύ σημαντική διαφορά την ημ. 42* (τοπ. σκ. 3 μικρότερη τιμή)
<b>Ερυθρότητα</b>	Δεν παρουσιάστηκε στατιστικά σημαντική διαφορά

Πίνακας 135: Στατιστική σύγκριση μεταξύ των τοπικό σκεύασμα 1 [μίγμα εκχυλισμάτων] και τοπικό σκεύασμα 4 [ελαιοκανθάλη & ολεασίνη]

	Τοπ. σκ. 1 [μίγμα εκχ.] Vs Τοπ. σκ. 4 [ελαιοκ. & ολεασ.]
<b>pH</b>	Δεν παρουσιάστηκε στατιστικά σημαντική διαφορά
<b>TEWL</b>	Στατιστικά σημαντική διαφορά για τη μέτρηση ημ. 42 (τοπ. σκ. 4 μικρότερη τιμή)
<b>Ενυδάτωση</b>	Δεν παρουσιάστηκε στατιστικά σημαντική διαφορά
<b>Πάχος δέρματος</b>	Στατιστικά σημαντική διαφορά την ημ. 42 (τοπ. σκ. 4 μικρότερη τιμή)
<b>Ερυθρότητα</b>	Δεν παρουσιάστηκε στατιστικά σημαντική διαφορά

**Πίνακας 136:** Στατιστική σύγκριση μεταξύ των ομάδων τοπικό σκεύασμα 2 [χλωροκρεσόλη] και τοπικό σκεύασμα 3 [ισόποδο]

	Τοπ. σκ. 2 [χλωροκρ.] Vs Τοπ. σκ. 3 [ισόποδο]
<b>pH</b>	Δεν παρουσιάστηκε στατιστικά σημαντική διαφορά
<b>TEWL</b>	Στατιστικά σημαντική διαφορά για τη μέτρηση ημ. 30 (τοπ. σκ. 2 μικρότερη τιμή)
<b>Ενυδάτωση</b>	Στατιστικά σημαντική διαφορά για τη μέτρηση ημ. 33 (τοπ. σκ. 2 μεγαλύτερη τιμή)
<b>Πάχος δέρματος</b>	Δεν παρουσιάστηκε στατιστικά σημαντική διαφορά
<b>Ερυθρότητα</b>	Δεν παρουσιάστηκε στατιστικά σημαντική διαφορά

**Πίνακας 37:** Στατιστική σύγκριση μεταξύ των ομάδων τοπικό σκεύασμα 2 [χλωροκρεσόλη] και τοπικό σκεύασμα 4 [ελαιοκανθάλη & ολεασίνη]

	Τοπ. σκ. 2 [χλωροκρ.] Vs Τοπ. σκ. 4 [ελαιοκ. & ολεασ.]
<b>pH</b>	Δεν παρουσιάστηκε στατιστικά σημαντική διαφορά
<b>TEWL</b>	Δεν παρουσιάστηκε στατιστικά σημαντική διαφορά
<b>Ενυδάτωση</b>	Στατιστικά πολύ σημαντική διαφορά για την ημ. 42*
<b>Πάχος δέρματος</b>	Δεν παρουσιάστηκε στατιστικά σημαντική διαφορά
<b>Ερυθρότητα</b>	Στατιστικά σημαντική διαφορά για την ημ. 40 (τοπ. σκ.4 μικρότερη τιμή)

**Πίνακας 138:** Στατιστική σύγκριση μεταξύ των ομάδων τοπικό σκεύασμα 3 [ισόποδο] και τοπικό σκεύασμα 4 [ελαιοκανθάλη & ολεασίνη]

	Τοπ. σκ. 3 [ισόποδο] Vs Τοπ. σκ. 4 [ελαιοκ. & ολεασ.]
<b>pH</b>	Δεν παρουσιάστηκε στατιστικά σημαντική διαφορά
<b>TEWL</b>	Στατιστικά σημαντική διαφορά στις 25 <sup>η</sup> & 42 <sup>η</sup> (τοπ. σκ. 4 μικρότερη τιμή)
<b>Ενυδάτωση</b>	Στατιστικά σημαντικές διαφορές στις 33 (τοπ. σκ. 4 μεγαλύτερη τιμή) & 42 (τοπ. σκ. 3 μεγαλύτερη τιμή)
<b>Πάχος δέρματος</b>	Δεν παρουσιάστηκε στατιστικά σημαντική διαφορά
<b>Ερυθρότητα</b>	Στατιστικά σημαντική διαφορά για την ημ. 40 (τοπ. σκ.4 μικρότερη τιμή)

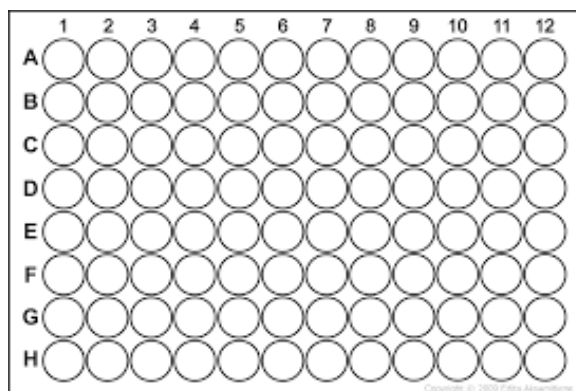


### 3.4 ELISA IL-6

Είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι κανονικά η απαιτούμενη ποσότητα ορού για κάθε δείγμα είναι 50μl. Αρκετά δείγματα είχαν όγκο μικρότερο του απαιτούμενου. Σε όλα αυτά τα δείγματα προστέθηκε παραπάνω ποσότητα Sample diluent μέχρι να φτάσουν τα 50μl. Στα αποτελέσματα που προέκυψε ανίχνευση IL-6 η ποσότητα που αναγράφεται είναι υπολογισμένη και η πιθανή επιπλέον αραιώση του δείγματος.

Επίσης, κανονικά κάθε δείγμα θα έπρεπε να μπει εις διπλούν, ενώ οι δυο πρώτες στήλες της πλακέτας είναι θέσεις για τα δείγματα της καμπύλης αναφοράς και των blanks. Συνεπώς, από τις 96 θέσεις-πηγαδάκια της ELISA μένουν διαθέσιμα για μέτρηση δειγμάτων 80 θέσεις. Συνολικά από τα τρία πειράματα είχαν συλλεχθεί 86 δείγματα, οπότε επιλέχθηκε τα δείγματα να μην μπουνε εις διπλούν και 6 δείγματα να μην μετρηθούν. Απορρίφθηκαν δείγματα με εξαιρετικά μικρό όγκο ή που ήταν πολύ αιμολυμένα.

Τέλος, βάσει πρωτοκόλλου σε κάθε θέση προστίθενται 50μl συζευγμένη βιοτίνη (Biotin-Conjugate), η οποία θα συνδεθεί πάνω στην IL-6 (βλ. 2.3.1 ELISA-Μέθοδοι). Στις στήλες 10, 11 και 12 η συζευγμένη βιοτίνη προστέθηκε αραιωμένη βιοτίνη καθώς η ποσότητα δεν ήταν επαρκής.

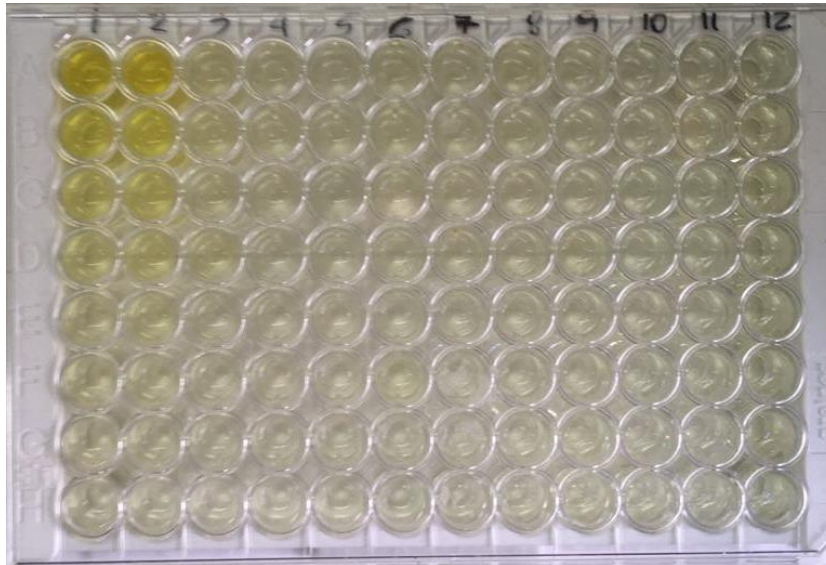


Εικόνα 66: Οι θέσεις της πλάκας ELISA

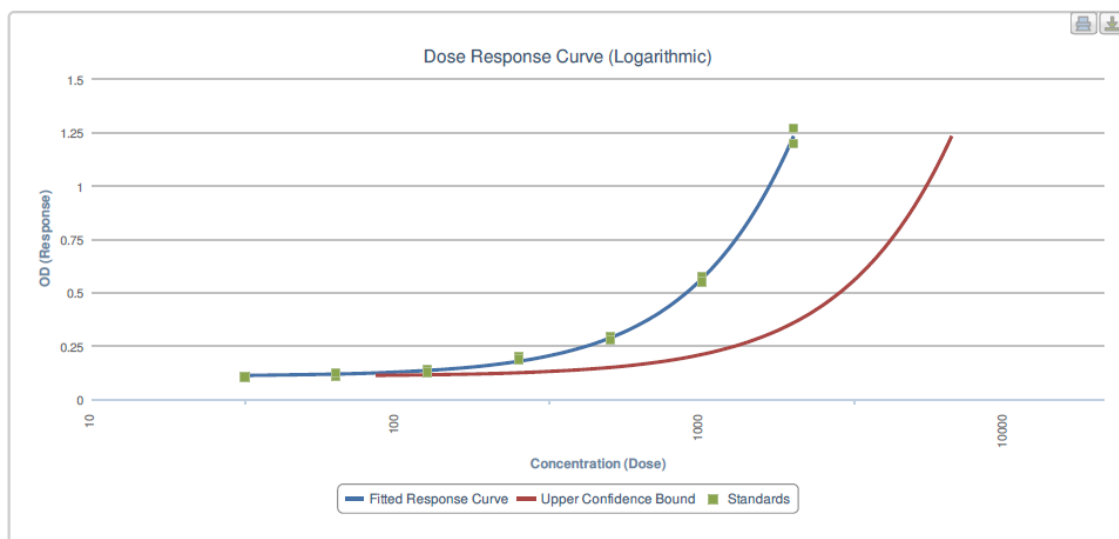
Τα δ/ματα αναφοράς είχαν συγκεντρώσεις: **S1:** 2000,0 pg/ml **S2:** 1000,0 pg/ml **S3:** 500,0 pg/ml **S4:** 250,0 pg/ml **S5:** 125,0 pg/ml **S6:** 62,5 pg/ml **S7:** 31,3 pg/ml

Πίνακας 139: Οι θέσεις των δειγμάτων προς ανάλυση και οι όγκοι τους. (\*αιμολυμένο δείγμα)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	S1 (50μl)	S1 (50μl)	1 (15μl)	11 (<20μl)	21* (50μl)	29 (50μl)	38* (40μl)	47 (35μl)	55 (50μl)	63 (50μl)	71* (40μl)	79 (50μl)
B	S2 (50μl)	S2 (50μl)	2 (40μl)	12 (<20μl)	22* (27μl)	31 (40μl)	39 (50μl)	48 (25μl)	56 (50μl)	64 (50μl)	72* (25μl)	80 (20μl)
C	S3 (50μl)	S3 (50μl)	3 (50μl)	13 (<20μl)	23 (20μl)	32 (40μl)	40 (20μl)	49 (30μl)	57 (50μl)	65* (30μl)	73 (35μl)	81 (30μl)
D	S4 (50μl)	S4 (50μl)	4 (50μl)	15 (40μl)	24* (40μl)	33* (20μl)	41* (50μl)	50 (25μl)	58 (50μl)	66* (30μl)	74 (20μl)	82* (24μl)
E	S5 (50μl)	S5 (50μl)	6 (50μl)	16* (<20μl)	25* (30μl)	34* (34μl)	42 (30μl)	51 (30μl)	59 (45μl)	67* (30μl)	75 (20μl)	83 (24μl)
F	S6 (50μl)	S6 (50μl)	7 (30μl)	18 (<20μl)	26* (50μl)	35 (<20μl)	44 (40μl)	52 (30μl)	60 (50μl)	68 (50μl)	76 (<20μl)	84 (24μl)
G	S7 (50μl)	S7 (50μl)	8 (50μl)	19* (<20μl)	27* (30μl)	36* (50μl)	45* (50μl)	53 (20μl)	61* (50μl)	69 (24μl)	77 (50μl)	85 (20μl)
H	BLK	BLK	10 (50μl)	20* (50μl)	28* (45μl)	37* (50μl)	46 (50μl)	54 (30μl)	62 (20μl)	70* (24μl)	78* (20μl)	86 (<20μl)



Εικόνα 67: Η πλάκα της ELISA μετά το πείραμα



Εικόνα 68: Η καμπύλη αναφοράς για τον υπολογισμό της IL-6,  $R^2=0,998$

### 3.4.1 Πείραμα 1<sup>ο</sup>

#### 3.4.1.1 SKH-2 [DNCB]

Δεν ανιχνεύθηκε ποσότητα IL-6 στον ορό αίματος στα δείγματα των SKH-2 [DNCB].

Πίνακας 140: Συγκέντρωση IL-6 στον ορό αίματος, ομάδα SKH-2 [DNCB]-πείραμα 1<sup>ο</sup>

Πηγαδάκι	Δείγμα	V [μl]	Απορρόφηση	C <sub>IL-6</sub> [pg/ml]
E3	6	50	0,0826	0
F3	7	30	0,0882	0
G3	8	50	0,0894	0
H3	10	50	0,0849	0
A4	11	20	0,0916	0
B4	12	20	0,0975	0
C4	13	20	0,0918	0

#### 3.4.1.2 SKH-2 Μάρτυρες [Acetone]

Δεν ανιχνεύθηκε ποσότητα IL-6 στον ορό αίματος στα δείγματα των SKH-2 μαρτύρων.

Πίνακας 141: Συγκέντρωση IL-6 στον ορό αίματος, ομάδα SKH-2 Μάρτυρες [Acetone]-πείραμα 1<sup>ο</sup>

Πηγαδάκι	Δείγμα	V [μl]	Απορρόφηση	C <sub>IL-6</sub> [pg/ml]
D4	15	40	0,0788	0
E4	16	20	0,0841	0
F4	18	20	0,0848	0
G4	19	20	0,0843	0
H4	20	50	0,0868	0
A5	21	50	0,0782	0
B5	22	27	0,0853	0
C5	23	20	0,0836	0

#### 3.4.1.3 SKH-1 [DNCB]

Μόνο στο δείγμα 31 της ομάδας των SKH-1 [DNCB] ανιχνεύθηκε ποσότητα IL-6 (47,446 pg/ml).

Πίνακας 142: Συγκέντρωση IL-6 στον ορό αίματος, ομάδα SKH-1 [DNCB]-πείραμα 1<sup>ο</sup>

Πηγαδάκι	Δείγμα	V [μl]	Απορρόφηση	C <sub>IL-6</sub> [pg/ml]
D5	24	40	0,083	0
E5	25	30	0,0838	0
F5	26	50	0,0794	0
G5	27	30	0,083	0
H5	28	45	0,0907	0
A6	29	50	0,093	0
B6	31	40	0,1108	47,446
C6	32	40	0,1012	0
D6	33	20	0,103	0

#### 3.4.1.4 SKH-1 Μάρτυρες [Acetone]

Μόνο στο δείγμα 35 της ομάδας των SKH-1 μαρτύρων ανιχνεύθηκε ποσότητα IL-6 (174,750 pg/ml).

**Πίνακας 143:** Συγκέντρωση IL-6 στον ορό αίματος, ομάδα SKH-1 [DNCB]-πείραμα 1<sup>ο</sup>

Πηγαδάκι	Δείγμα	V [μl]	Απορρόφηση	C <sub>IL-6</sub> [pg/ml]
E6	34	30	0,082	0
F6	35	20	0,1176	174,750
G6	36	50	0,0802	0
H6	37	50	0,0831	0
A7	38	40	0,0792	0
B7	39	50	0,0869	0
C7	40	20	0,0882	0
D7	41	50	0,0964	0
E7	42	30	0,08	0

#### 3.4.2 Πείραμα 2<sup>ο</sup>

##### 3.2.1.1 SKH-1 [DNCB]

Και στα δύο δείγματα ανιχνεύθηκε ποσότητα IL-6 στον ορό αίματος.

**Πίνακας 144:** Συγκέντρωση IL-6 στον ορό αίματος, ομάδα SKH-1 [DNCB]-πείραμα 2<sup>ο</sup>

Πηγαδάκι	Δείγμα	V [μl]	Απορρόφηση	C <sub>IL-6</sub> [pg/ml]
A3	1	15	0,1186	246,630
B3	2	40	0,1322	152,003

##### 3.2.1.2 SKH-2 [DNCB]

Και στα δύο δείγματα ανιχνεύθηκε ποσότητα IL-6 στον ορό αίματος.

**Πίνακας 145:** Συγκέντρωση IL-6 στον ορό αίματος, ομάδα SKH-2 [DNCB]-πείραμα 2<sup>ο</sup>

Πηγαδάκι	Δείγμα	V [μl]	Απορρόφηση	C <sub>IL-6</sub> [pg/ml]
C3	3	50	0,1109	37,957
D3	4	50	0,1454	163,057

### 3.4.3 Πείραμα 3<sup>ο</sup>

#### 3.4.3.1 Ενδιάμεσα δείγματα 44 & 45

Δεν ανιχνεύθηκε ποσότητα IL-6 στον ορό αίματος των ενδιάμεσων δειγμάτων.

Πίνακας 146: Συγκέντρωση IL-6 στον ορό αίματος, ομάδα ενδιάμεσων δειγμάτων-πείραμα 3<sup>ο</sup>

Πηγαδάκι	Δείγμα	V [μl]	Απορρόφηση	C <sub>IL-6</sub> [pg/ml]
<b>F7</b>	44	40	0,0822	0
<b>G7</b>	45	50	0,0789	0

#### 3.4.3.2 Μάρτυρες [DNFB]

Δεν ανιχνεύθηκε ποσότητα IL-6 στον ορό αίματος των μαρτύρων του πειράματος 3.

Πίνακας 147: Συγκέντρωση IL-6 στον ορό αίματος, ομάδα Μάρτυρες [DNFB]-πείραμα 3<sup>ο</sup>

Πηγαδάκι	Δείγμα	V [μl]	Απορρόφηση	C <sub>IL-6</sub> [pg/ml]
<b>H8</b>	54	30	0,0826	0
<b>A9</b>	55	50	0,08	0
<b>B9</b>	56	50	0,0822	0
<b>C9</b>	57	50	0,0773	0
<b>D9</b>	58	50	0,1049	0
<b>E9</b>	59	49	0,0888	0
<b>F9</b>	60	50	0,0888	0
<b>G9</b>	61	50	0,1017	0
<b>H9</b>	62	20	0,0915	0

#### 3.4.3.3 Τοπικό σκεύασμα 1 [μίγμα εκχυλισμάτων]

Μόνο στο δείγμα 47 της ομάδας του τοπικού σκευάσματος 1 [μίγμα εκχυλισμάτων] ανιχνεύθηκε ποσότητα IL-6 (29,763 pg/ml).

Πίνακας 148: Συγκέντρωση IL-6 στον ορό αίματος, ομάδα Τοπικό σκεύασμα 1 [μίγμα εκχυλισμάτων]-πείραμα 3<sup>ο</sup>

Πηγαδάκι	Δείγμα	V [μl]	Απορρόφηση	C <sub>IL-6</sub> [pg/ml]
<b>H7</b>	46	50	0,0836	0
<b>A8</b>	47	35	0,1084	29,763
<b>B8</b>	48	25	0,0902	0
<b>C8</b>	49	30	0,0929	0
<b>D8</b>	50	25	0,0852	0
<b>E8</b>	51	30	0,0881	0
<b>F8</b>	52	30	0,0898	0
<b>G8</b>	53	20	0,086	0

#### 3.4.3.4 Τοπικό σκεύασμα 2 [χλωροκρεσόλη]

Δεν ανιχνεύθηκε ποσότητα IL-6 στον ορό αίματος του τοπικού σκευάσματος 2 [χλωροκρεσόλη].

Πίνακας 149: Συγκέντρωση IL-6 στον ορό αίματος, ομάδα Τοπικό σκεύασμα 2 [χλωροκρεσόλη]-πείραμα 3<sup>ο</sup>

Πηγαδάκι	Δείγμα	V [μl]	Απορρόφηση	C <sub>IL-6</sub> [pg/ml]
A10	63	50	0,0706	0
B10	64	50	0,0742	0
C10	65	30	0,0841	0
D10	66	30	0,0744	0
E10	67	30	0,0801	0
F10	68	50	0,082	0
G10	69	24	0,0793	0
H10	70	24	0,0862	0

#### 3.4.3.5 Τοπικό σκεύασμα 3 [ισόποδο]

Δεν ανιχνεύθηκε ποσότητα IL-6 στον ορό αίματος του τοπικού σκευάσματος 3 [ισόποδο].

Πίνακας 150: Συγκέντρωση IL-6 στον ορό αίματος, ομάδα Τοπικό σκεύασμα 3 [ισόποδο]-πείραμα 3<sup>ο</sup>

Πηγαδάκι	Δείγμα	V [μl]	Απορρόφηση	C <sub>IL-6</sub> [pg/ml]
A11	71	40	0,0731	0
B11	72	25	0,0765	0
C11	73	35	0,0795	0
D11	74	20	0,0795	0
E11	75	20	0,0784	0
F11	76	20	0,0851	0
G11	77	50	0,076	0
H11	78	20	0,0889	0

#### 3.4.3.6 Τοπικό σκεύασμα 4 [ελαιοκανθάλη & ολεασίνη]

Στα δείγματα 81, 84 & 85 ανιχνεύθηκε ποσότητα IL-6.

Πίνακας 151: Συγκέντρωση IL-6 στον ορό αίματος, ομάδα Τοπικό σκεύασμα 4 [ελαιοκανθάλη & ολεασίνη]-πείραμα 3<sup>ο</sup>

Πηγαδάκι	Δείγμα	V [μl]	Απορρόφηση	C <sub>IL-6</sub> [pg/ml]
A12	79	50	0,0895	0
B12	80	20	0,1012	0
C12	81	30	0,1194	123,315
D12	82	24	0,0982	0
E12	83	24	0,1023	0
F12	84	24	0,1061	10,898
G12	85	20	0,116	153,600
H12	86	20	0,1044	0

## Κεφάλαιο 4<sup>ο</sup>: Συζήτηση Αποτελεσμάτων

### 4.1 Πειραματικοί περιορισμοί

- Καθώς οι μύες προέρχονται από το εργαστήριο Δερματοφαρμακολογίας και Κοσμητολογίας της Φαρμακευτικής Σχολής του Πανεπιστημίου Αθηνών, δεν ήταν δυνατό όλοι οι μύες να έχουν ακριβώς την ίδια ηλικία.
- Λόγω των επαλείψεων του DNCB δεν ήταν δυνατή η εις διπλούν επάλειψη με τα τοπικά σκευάσματα ώστε να προσομοιάζει καλύτερα ένα θεραπευτικό σχήμα που θα ακολουθούσε ένας ασθενής.
- Οι αιμοληψίες που πραγματοποιήθηκαν δεν ήταν τόσο αποτελεσματικές καθώς δεν απομονώθηκε αρκετή ποσότητα ορού για την ELISA και αρκετά δείγματα ήταν αιμολυμένα.

### 4.2 Ανάλυση αποτελεσμάτων και συμπεράσματα

- ✓ **Επιτεύχθηκε το μοντέλο προσομοίωσης Ατοπικής Δερματίτιδας στους μύες.**

Τα πρωτόκολλα προσομοίωσης Ατοπικής Δερματίτιδας με DNCB είναι μια μέθοδος που χρησιμοποιείται συχνά στην ακαδημαϊκή κοινότητα με διάφορες διαφοροποιήσεις (βλ. 2.2.2 2,4 –Δινιτροχλωροβενζόλιο-Υλικά και Μέθοδοι). Στην παρούσα εργασία το πρωτόκολλο που ακολουθήθηκε δοκιμάστηκε σε δυο τύπους μυών SKH-1 (αλμπίνο) και SKH-2 (μαύρα). Και στους δυο τύπους παρατηρήθηκαν χαρακτηριστικά της ΑΔ με περιοδική εμφάνιση. Πιο συγκεκριμένα παρουσίασαν ξηρότητα, απολέπιση, ερυθρότητα και πάχυνση. Τα SKH-1 επιπροσθέτως παρουσίασαν λειχηνοποίηση, ενώ τα SKH-2 υπερμελανώσεις.

Οι μετρήσεις με τα όργανα συνηγόρησαν με τις μακροσκοπικές παρατηρήσεις, δείχνοντας έναν προβληματικό δερματικό φραγμό, αύξηση της ερυθρότητας, του πάχους δέρματος και μείωση της ενυδάτωσης, χαρακτηριστικά του ατοπικού δέρματος.

Η ιστοπαθολογική εξέταση των δειγμάτων στο τέλος των 42 ημερών έδειξε ενεργή φλεγμονή επιφανειακά και στο χόριο, υπερκεράτωση, πάχυνση, λειχηνοποίηση (στα SKH-1), με απουσία ηωσινόφιλων.

Στους ίδιους ελέγχους οι μάρτυρες που επαλείφθηκαν με τον φορέα του DNCB (ακετόνη) είχαν υγιή εικόνα.

Όλα τα παραπάνω δείχνουν ότι πράγματι επιτεύχθηκε η προσομοίωση της ΑΔ στους μύες και μάλιστα η λειχηνοποίηση (SKH-1) και οι υπερμελανώσεις (SKH-2) σε συνδυασμό με την πάχυνση και την ξηρότητα μακροσκοπικά και η ιστοπαθολογική εικόνα δείχνουν ότι προς το τέλος του πρωτοκόλλου (~37-42<sup>η</sup>) η κατάσταση των μυών προσομοιάζει την χρόνια φάση ΑΔ.

- ✓ **Τα SKH-1 είχαν εντονότερη εκδήλωση βλαβών και ήταν οι μύες επιλογής.**

Η κλινική εικόνα των SKH-1 ήταν χειρότερη από αυτή των SKH-2, με τα πρώτα να εμφανίζουν εντονότερο οίδημα, ερυθρότητα, λειχηνοποίηση και απολέπιση.

Επιπροσθέτως στην ιστοπαθολογική αξιολόγηση στην 42<sup>η</sup> ημέρα τα SKH-1 παρουσίασαν εντονότερη φλεγμονή και πάχυνση από τα SKH-2. Η ενδιάμεση ιστοπαθολογική αξιολόγηση την 8<sup>η</sup> ημέρα δεν έδειξε μεγάλη διαφορά μεταξύ των δυο τύπων.

Η στατιστική ανάλυση των μετρήσεων που έγιναν και στους δυο τύπους κάθολη την διάρκεια των 42 έδειξε στατιστικά πολύ σημαντικές διαφορές στο πάχος δέρματος και στην ερυθρότητα

και ορισμένες στατιστικά σημαντικές διαφορές στην ενυδάτωση. Σε όλες τις περιπτώσεις αυτές οι διάμεσες μετρήσεις των SKH-1 ήταν χειρότερες από αυτές των SKH-2.

Τέλος, οι μάρτυρες των SKH-1 έδειξαν να μην επηρεάζονται καθόλου από την εφαρμογή της ακετόνης, του φορέα διάλυσης του DNCB ενώ τα SKH-2 ιστοπαθολογικά είχαν μια ελαφριά φλεγμονή και οι μετρήσεις τους ήταν χειρότερες από τους αντίστοιχους SKH-1 μάρτυρες.

Συνεπώς επιλέχθηκαν οι SKH-1 μύες για την δοκιμή θεραπευτικών σχημάτων.

- ✓ Τα τοπικά σκευάσματα 2 [χλωροκρεσόλη], 3 [ισόποδο] και 4 [ελαιοκανθάλη & ολεασίνη] έδειξαν βελτίωση των βλαβών που προσομοιάζουν ΑΔ στους μύες. Το τοπικό σκεύασμα 3 αξιολογείται ότι έδωσε τα καλύτερα αποτελέσματα.

#### Τοπικό σκεύασμα 1 [μίγμα εκχυλισμάτων]

Το τοπικό σκεύασμα 1 [μίγμα εκχυλισμάτων] παρουσίασε μια κλινική εικόνα πολύ κοντινή με αυτή των μαρτύρων, με εκτεταμένες ξηροδερμίες, απολέπιση, ερυθρότητα και λιχνηνοποίηση. Η ιστοπαθολογική ανάλυση συνηγόρησε με τα παραπάνω δείχνοντας εικόνα ίδια με τους μάρτυρες.

Από πλευράς της στατιστικής ανάλυσης των μετρήσεων μετά την έναρξη των επαλείψεων:

Πίνακας 152: Συγκεντρικά η στατιστική ανάλυση των μετρήσεων του τοπικού σκευάσματος 1 [μίγμα εκχυλισμάτων] με όλες τις υπόλοιπες ομάδες

Τοπ. Σκ. 1 Vs	Μάρτυρες	Τοπ. σκ. 2 [χλωροκρεσόλη]	Τοπ. σκ. 3 [ισόποδο]	Τοπ. σκ. 4 [ελαιοκ. & ολεασίνη]
pH	Δεν παρουσιάστηκε στατιστικά σημαντική διαφορά	Δεν παρουσιάστηκε στατιστικά σημαντική διαφορά	Δεν παρουσιάστηκε στατιστικά σημαντική διαφορά	Δεν παρουσιάστηκε στατιστικά σημαντική διαφορά
TEWL	Δεν παρουσιάστηκε στατιστικά σημαντική διαφορά	Στατιστικά σημαντική διαφορά στις ημ. 30, 37* & 42 με <b>χειρότερες τιμές</b>	Στατιστικά σημαντική διαφορά στην ημ. 37 με <b>χειρότερες τιμές</b>	Στατιστικά σημαντική διαφορά στην ημ. 42* με <b>χειρότερες τιμές</b>
Ενυδάτωση	Στατιστικά σημαντική διαφορά στις ημ. 27, 30 & 33 με <b>καλύτερες τιμές</b>	Στατιστικά σημαντική διαφορά στις ημ. 40* & 42* με <b>χειρότερες τιμές</b>	Στατιστικά σημαντική διαφορά στις ημ. 40, 42* με <b>χειρότερες τιμές</b>	Δεν παρουσιάστηκε στατιστικά σημαντική διαφορά
Πάχος δέρματος	Δεν παρουσιάστηκε στατιστικά σημαντική διαφορά	Στατιστικά σημαντική διαφορά στην ημ. 42* με <b>χειρότερες τιμές</b>	Στατιστικά σημαντική διαφορά στην ημ. 42* με <b>χειρότερες τιμές</b>	Στατιστικά σημαντική διαφορά στην ημ. 42 με <b>χειρότερες τιμές</b>
Ερυθρότητα	Στατιστικά σημαντική διαφορά στις ημ. 30 & 33 με <b>καλύτερες τιμές</b>	Στατιστικά σημαντική διαφορά στην ημ. 33 με <b>χειρότερες τιμές</b>	Δεν παρουσιάστηκε στατιστικά σημαντική διαφορά	Δεν παρουσιάστηκε στατιστικά σημαντική διαφορά



Ακόμη από πλευράς της IL-6 μόνο σε ένα δείγμα ανιχνεύθηκε ποσότητα της ιντερλευκίνης (29,763pg/ml), όμως στους μάρτυρες δεν ανιχνεύθηκε.

Συνεπώς το σκεύασμα 1 [μίγμα εκχυλισμάτων] κρίνεται ότι δεν κατάφερε να βελτιώσει τους μύες του μοντέλου ΑΔ και ότι εκδήλωσαν βλάβες που προσομοιάζουν την χρόνια ΑΔ.

#### Τοπικό σκεύασμα 2 [χλωροκρεσόλη]

Το τοπικό σκεύασμα 2 [χλωροκρεσόλη] παρουσίασε μια βελτιωμένη κλινική εικόνα σε σύγκριση με τους μάρτυρες, με ελαφριά απολέπιση και ξηροδερμία, και μέτρια ερυθρότητα. Στην ιστοπαθολογική ανάλυση ήταν εντυπωσιακό ότι η φλεγμονή είχε υποχωρήσει σημαντικά τόσο σε ένταση όσο και σε έκταση. Επιφανειακά δεν υπήρχε καθόλου φλεγμονή και στο χόριο είχε ελαφριάς έντασης φλεγμονή. Επίσης η υπερκεράτωση ήταν μέτριας έντασης και μειωμένη σε σύγκριση με τους μάρτυρες τόσο ιστοπαθολογικά, όσο και στην τελική μέτρηση πάχους δέρματος (Πίνακας 153).

Από πλευράς της στατιστικής ανάλυσης των μετρήσεων μετά την έναρξη των επαλείψεων:

Πίνακας 153: Συγκεντρωτικά η στατιστική ανάλυση των μετρήσεων του τοπικού σκευάσματος 2 [χλωροκρεσόλη] με όλες τις υπόλοιπες ομάδες

Τοπ. Σκ. 2 Vs	Μάρτυρες	Τοπ. σκ. 1 [μίγμα εκχ.]	Τοπ. σκ. 3 [ισόποδο]	Τοπ. σκ. 4 [ελαιοκ. & ολεασίνη]
pH	Δεν παρουσιάστηκε στατιστικά σημαντική διαφορά	Δεν παρουσιάστηκε στατιστικά σημαντική διαφορά	Δεν παρουσιάστηκε στατιστικά σημαντική διαφορά	Δεν παρουσιάστηκε στατιστικά σημαντική διαφορά
TEWL	Στατιστικά σημαντική διαφορά στις ημ. 30-42 με <b>καλύτερες τιμές</b>	Στατιστικά σημαντική διαφορά στις ημ. 30, 37* & 42 με <b>καλύτερες τιμές</b>	Στατιστικά σημαντική διαφορά στην ημ. 30 με <b>καλύτερες τιμές</b>	Δεν παρουσιάστηκε στατιστικά σημαντική διαφορά
Ενυδάτωση	Στατιστικά σημαντική διαφορά στις ημ. 27, 30*, 33* & 42* με <b>καλύτερες τιμές</b>	Στατιστικά σημαντική διαφορά στις ημ. 40* & 42* με <b>καλύτερες τιμές</b>	Στατιστικά σημαντική διαφορά στην ημ. 33 με <b>καλύτερη τιμή</b>	Στατιστικά σημαντική διαφορά στην ημ. 42 με <b>καλύτερη τιμή</b>
Πάχος δέρματος	Στατιστικά σημαντική διαφορά στην ημ. 42* με <b>καλύτερη τιμή</b>	Στατιστικά σημαντική διαφορά στην ημ. 42* με <b>καλύτερη τιμή</b>	Δεν παρουσιάστηκε στατιστικά σημαντική διαφορά	Δεν παρουσιάστηκε στατιστικά σημαντική διαφορά
Ερυθρότητα	Στατιστικά σημαντική διαφορά στις ημ. 33* & 42 με <b>καλύτερες τιμές</b>	Στατιστικά σημαντική διαφορά στην ημ. 33 με <b>καλύτερη τιμή</b>	Δεν παρουσιάστηκε στατιστικά σημαντική διαφορά	Στατιστικά σημαντική διαφορά στην ημ. 40 με <b>χειρότερη τιμή</b>

Από πλευράς των ευρημάτων της ELISA δεν ανιχνεύθηκε ποσότητα IL-6.

Συνεπώς το τοπικό σκεύασμα 2 [χλωροκρεσόλη] φαίνεται να βελτιώνει την εικόνα των μυών του μοντέλου ΑΔ και να μην επιτρέπει οι βλάβες να γίνουν χρόνιες. Ενδεχομένως για να υποχωρήσουν οι εν τω βάθει φλεγμονές να χρειαζόταν μεγαλύτερο διάστημα επαλείψεων.

#### Τοπικό σκεύασμα 3 [ισόποδο]

Σε συνέχεια, το τοπικό σκεύασμα 3 [ισόποδο] έδειξε να βελτιώνει την κλινική εικόνα των μυών μειώνοντας αισθητά την ξηροδερμία και την απολέπιση. Στην ιστοπαθολογική ανάλυση ήταν εξαιρετικά εντυπωσιακό ότι υπήρχαν περιοχές που ήταν υγιείς, και σε περιοχές που υπήρχε φλεγμονή ήταν μόνο στο χόριο ελαφριάς έντασης. Επίσης η υπερκεράτωση ήταν ελαφριάς έντασης και μειωμένη σε σύγκριση με τους μάρτυρες τόσο ιστοπαθολογικά, όσο και στην τελική μέτρηση πάχους δέρματος (Πίνακας 154).

Από πλευράς της στατιστικής ανάλυσης των μετρήσεων μετά την έναρξη των επαλείψεων:

Πίνακας 154: Συγκεντρωτικά η στατιστική ανάλυση των μετρήσεων του τοπικού σκευάσματος 3 [ισόποδο] με όλες τις υπόλοιπες ομάδες

Τοπ. Σκ. 3 Vs	Μάρτυρες	Τοπ. σκ. 1 [μίγμα εκχ.]	Τοπ. σκ. 2 [χλωροκρεσόλη]	Τοπ. σκ. 4 [ελαϊοκ. & ολεασίνη]
ρΗ	Δεν παρουσιάστηκε στατιστικά σημαντική διαφορά	Δεν παρουσιάστηκε στατιστικά σημαντική διαφορά	Δεν παρουσιάστηκε στατιστικά σημαντική διαφορά	Δεν παρουσιάστηκε στατιστικά σημαντική διαφορά
TEWL	Στατιστικά σημαντική διαφορά στην ημ. 42* με <b>καλύτερη τιμή</b>	Στατιστικά σημαντική διαφορά στην ημ. 37 με <b>καλύτερη τιμή</b>	Στατιστικά σημαντική διαφορά στην ημ. 30 με <b>χειρότερη τιμή</b>	Στατιστικά σημαντική διαφορά στις ημ. 25 & 42 με <b>χειρότερες τιμές</b>
Ενυδάτωση	Στατιστικά σημαντική διαφορά στις ημ. 30*, 33 & 42* με <b>καλύτερες τιμές</b>	Στατιστικά σημαντική διαφορά στις ημ. 40, 42* με <b>καλύτερες τιμές</b>	Στατιστικά σημαντική διαφορά στην ημ. 33 με <b>χειρότερη τιμή</b>	Στατιστικά σημαντική διαφορά στην ημ. 33 με <b>χειρότερη τιμή</b> και την ημ. 42 με <b>καλύτερη τιμή</b>
Πάχος δέρματος	Στατιστικά σημαντική διαφορά στην ημ. 42* με <b>καλύτερη τιμή</b>	Στατιστικά σημαντική διαφορά στην ημ. 42* με <b>καλύτερη τιμή</b>	Δεν παρουσιάστηκε στατιστικά σημαντική διαφορά	Δεν παρουσιάστηκε στατιστικά σημαντική διαφορά
Ερυθρότητα	Στατιστικά σημαντική διαφορά στην ημ. 33 με <b>καλύτερη τιμή</b>	Δεν παρουσιάστηκε στατιστικά σημαντική διαφορά	Δεν παρουσιάστηκε στατιστικά σημαντική διαφορά	Στατιστικά σημαντική διαφορά στην ημ. 40 με <b>χειρότερη τιμή</b>

Από πλευράς των ευρημάτων της ELISA δεν ανιχνεύθηκε ποσότητα IL-6.

Συνεπώς το τοπικό σκεύασμα 2 [χλωροκρεσόλη] φαίνεται να βελτιώνει την εικόνα των μυών του μοντέλου ΑΔ και σε ορισμένες περιοχές να τις θεραπεύει πλήρως. Ενδεχομένως με μεγαλύτερο ή συχνότερο θεραπευτικό σχήμα να θεραπευόταν πλήρως όλες οι περιοχές.

#### Τοπικό σκεύασμα 4 [ελαιοκανθάλη & ολεασίνη]

Η κλινική εικόνα του σκευάσματος 4 στο τέλος του πειράματος ήταν με μέτρια προς έντονη ξηροδερμία και απολέπιση, ενώ παρατηρήθηκε και μέτρια πάχυνση. Ιστοπαθολογικά έδειξαν μια όχι τόσο βελτιωμένη εικόνα όσο τα σκευάσματα 2 & 3, με ελαφριά επιφανειακή και μέτρια εν τω βάθει φλεγμονή. Επίσης η υπερκεράτωση ήταν μέτριας έντασης και μειωμένη σε σύγκριση με τους μάρτυρες τόσο ιστοπαθολογικά, όσο και στην τελική μέτρηση πάχους δέρματος (Πίνακας 155).

Από πλευράς της στατιστικής ανάλυσης των μετρήσεων μετά την έναρξη των επαλείψεων:

**Πίνακας 155:** Συγκεντρωτικά η στατιστική ανάλυση των μετρήσεων του τοπικού σκευάσματος 4 [ελαιοκανθάλη & ολεασίνη] με όλες τις υπόλοιπες ομάδες

Τοπ. Σκ. 4 Vs	Μάρτυρες	Τοπ. σκ. 1 [μίγμα εκχ.]	Τοπ. σκ. 2 [χλωροκρεσόλη]	Τοπ. σκ. 3 [ισόποδο]
pH	Δεν παρουσιάστηκε στατιστικά σημαντική διαφορά	Δεν παρουσιάστηκε στατιστικά σημαντική διαφορά	Δεν παρουσιάστηκε στατιστικά σημαντική διαφορά	Δεν παρουσιάστηκε στατιστικά σημαντική διαφορά
TEWL	Στατιστικά σημαντική διαφορά στις ημ. 30, 33 & 42* με <b>καλύτερες τιμές</b>	Στατιστικά σημαντική διαφορά στην ημ. 42* με <b>καλύτερη τιμή</b>	Δεν παρουσιάστηκε στατιστικά σημαντική διαφορά	Στατιστικά σημαντική διαφορά στις ημ. 25 & 42 με <b>καλύτερες τιμές</b>
Ενυδάτωση	Στατιστικά σημαντική διαφορά στις ημ. 27, 30, 33 & 42 με <b>καλύτερες τιμές</b>	Δεν παρουσιάστηκε στατιστικά σημαντική διαφορά	Στατιστικά σημαντική διαφορά στην ημ. 42 με <b>χειρότερη τιμή</b>	Στατιστικά σημαντική διαφορά στην ημ. 33 με χειρότερη τιμή και την ημ. 42 με <b>χειρότερη τιμή</b>
Πάχος δέρματος	Στατιστικά σημαντική διαφορά στην ημ. 42* με <b>καλύτερη τιμή</b>	Στατιστικά σημαντική διαφορά στην ημ. 42 με <b>καλύτερη τιμή</b>	Δεν παρουσιάστηκε στατιστικά σημαντική διαφορά	Δεν παρουσιάστηκε στατιστικά σημαντική διαφορά
Ερυθρότητα	Στατιστικά σημαντική διαφορά στις ημ. 33, 40 & 42 με <b>καλύτερες τιμές</b>	Δεν παρουσιάστηκε στατιστικά σημαντική διαφορά	Στατιστικά σημαντική διαφορά στην ημ. 40 με <b>καλύτερη τιμή</b>	Στατιστικά σημαντική διαφορά στην ημ. 40 με <b>καλύτερη τιμή</b>

Το παράδοξο είναι ότι από πλευράς της στατιστικής ανάλυσης των μετρήσεων TEWL έδειξαν να έχουν την καλύτερη τελική μέτρηση, όπως επίσης και από πλευράς ερυθρότητας ήταν στατιστικά καλύτερη η εικόνα τους από τα τοπικά σκευάσματα 2 & 3 για την ημέρα 40. Τα αποτελέσματα αυτά όμως δεν συνάδουν με την ιστοπαθολογική ανάλυση των δειγμάτων και την κλινική εικόνα. Μια αιτιολόγηση που πιθανόν να αιτιολογεί την βελτιωμένη TEWL είναι η δημιουργία φιλμ από τον φορέα Hydroxypropyl Methylcellulose.<sup>153</sup>

Επίσης από πλευράς των ευρημάτων της ELISA βρέθηκαν 3/8 δείγματα με ανιχνεύσιμη ποσότητα IL-6 (123,315/10,898/153,600 pg/ml), ενώ στους μάρτυρες όχι. Μάλιστα τα επίπεδα ήταν κοντινά με τις τιμές που των δειγμάτων που θυσιάστηκαν την 8<sup>η</sup> ημέρα πειραματισμού που είχαν εξαιρετικά έντονες βλάβες. Η IL-6 εμπλέκεται στην παραγωγή Th17 κυττάρων που συνήθως είναι παρόντα στην οξεία φάση της ΑΔ, χωρίς όμως ιστοπαθολογικά να παρουσιάζουν έντονη διήθηση μονοπύρηνων και μακροφάγων ή παρακεράτωση .

Συνεπώς το τοπικό σκεύασμα 4 [ελαιοκανθάλη & ολεασίνη] φαίνεται να βελτιώνει την εικόνα των μυών του μοντέλου ΑΔ όμως όχι τόσο όσο τα τοπικά σκευάσματα 2 & 3. Βέβαια τα σκευάσματα 2 & 3 έχουν μια ποικιλία συστατικών ως φορείς που προσφέρουν μαλακτική και ενυδατική δράση που συνεισφέρει πολύ στην δράση τους, οπότε η σύγκριση είναι άνιση.

#### Σύγκριση όλων των τοπικών μεταξύ τους

Συμπερασματικά την χειρότερη απόδοση είχε το τοπικό σκεύασμα 1 [μίγμα εκχυλισμάτων], ενώ λόγω των υγιών περιοχών που παρατηρήθηκαν ιστοπαθολογικά το τοπικό σκεύασμα 3 [ισόποδο] κρίνεται ότι είχε συγκριτικά την καλύτερη απόδοση. Μετά στη σειρά απόδοσης είναι το τοπικό σκεύασμα 2 [χλωροκρεσόλη] λόγω του ότι δεν είχε καθόλου επιφανειακή φλεγμονή και μετά το τοπικό σκεύασμα 4 [ελαιοκανθάλη & ολεασίνη].

#### ✓ **Αξιολόγηση των αποτελεσμάτων της ELISA**

Στον πίνακα συνοψίζονται τα δείγματα που παρουσίασαν ποσότητα IL-6 σε μειούμενη σειρά. Παρατηρείται μια έντονη παρουσία της IL-6 το πρώτο διάστημα επαλείψεων με DNCB που οι μύες παρουσιάζουν και την πιο έντονη εικόνα κλινικά και ιστοπαθολογικά. Το αποτέλεσμα αυτό είναι λογικό καθώς η IL-6 συσχετίζεται με την παραγωγή Th17 και την οξεία φάση της φλεγμονής στην ΑΔ.

Μετά το πέρας των 42 ημερών τα δείγματα με DNCB βάσει των ιστοπαθολογικών δεδομένων φαίνονται να είναι όμοια με την χρόνια φάση ΑΔ όπου η ανοσολογική απάντηση δεν χαρακτηρίζεται από την παρουσία Th17, οπότε η IL-6 θα ήταν αναμενόμενο να μην ανιχνευόταν. Παρόλα αυτά υπήρξαν δείγματα που ανιχνεύθηκε ποσότητα της ιντερλευκίνης υπό εξέταση μετά και από το πέρα 42 ημερών και μάλιστα κάποια επαλειφόντουσαν και τοπικά σκευάσματα.

Ειδικά το τοπικό σκεύασμα 4 [ελαιοκανθάλη & ολεασίνη] τρείς στους 8 μύες είχαν ανιχνεύσιμη ποσότητα IL-6, ενώ οι μάρτυρές τους όχι. Η ιστοπαθολογική αξιολόγηση όμως των δειγμάτων αυτών δεν έδειξε μια οξεία εικόνα, οπότε ενδεχομένως θα χρειαζόταν η μελέτη ανίχνευσης και άλλων ιντερλευκινών για να βγει κάποιο συμπέρασμα.

Πίνακας 156: Τα δείγματα που ανιχνεύθηκε IL-6 και η ποσότητα της

Δείγμα	Πείραμα	Τύπος Μυός	Επάλειψη	Ημέρα δειγματοτισμού	IL-6 (pg/ml)
1	2	SKH-1	DNCB	8	246,630
35	1	SKH-1	Acetone	42	174,750
4	2	SKH-2	DNCB	8	163,057
85	3	SKH-1	Τοπ. σκ. 4	42	153,600
2	2	SKH-1	DNCB	8	152,003
81	3	SKH-1	Τοπ. σκ. 4	42	123,315
31	1	SKH-1	DNCB	42	47,446
3	2	SKH-2	DNCB	8	37,957
47	3	SKH-1	Τοπ. σκ. 1	42	29,763
84	3	SKH-1	Τοπ. σκ. 4	42	10,898

✓ **Παρατηρήσεις σχετικά με το πρωτόκολλο, σημεία προσοχής για μελλοντικές μελέτες**

Η ηλικία των μυών φαίνεται να επηρεάζει σημαντικά την κλινική εικόνα κατά την διάρκεια του πρωτοκόλλου, με τα νεότερα να ιάζονται πιο γρήγορα μεταξύ των επαλείψεων. Στη βιβλιογραφία οι περισσότεροι αναφέρουν την χρήση μικρών σε ηλικία μυών (6 εβδομάδων), πράγμα το οποίο μπορεί να βασίζεται στο ότι ενδεχομένως λόγω του νεαρού της ηλικίας τους να επηρεάζονται καλύτερα οι ανοσολογικές αποκρίσεις ώστε να προσομοιάζουν την ΑΔ, που άλλωστε αποτελεί μια παιδική κυρίως ασθένεια. Σίγουρα αυτό που μπορεί να εξαχθεί ως συμπέρασμα από τις παρατηρήσεις αυτής της μελέτης είναι ότι είναι εξαιρετικά σημαντικό ο πληθυσμός που συμμετέχει στο πρωτόκολλο να είναι όσο πιο κοντινός ηλικιακά. Επίσης τις ημέρες επαλείψεων DNCB στην δεύτερη και τρίτη περίοδο του πρωτοκόλλου, οι βλάβες υποχωρούν σημαντικά και οι μετρήσεις δεν είναι αντιπροσωπευτικές.

## Βιβλιογραφία

1. Kramer, O. N., Strom, M. A., Ladizinski, B. & Lio, P. A. The history of atopic dermatitis. *Clin. Dermatol.* **35**, 344–348 (2017).
2. Bieber, T. How to Define Atopic Dermatitis? *Dermatol. Clin.* **35**, 275–281 (2017).
3. Weidinger, S. & Novak, N. Atopic dermatitis. *Lancet* **387**, 1109–1122 (2016).
4. Αντωνίου, Χ. & Κατσάμπας, Α. *Δερματολογία, Αφροδισιολογία*. (Broken Hills Publishers LTD, 2015).
5. Andersen, R. M., Thyssen, J. P. & Maibach, H. I. Qualitative vs. quantitative atopic dermatitis criteria - In historical and present perspectives. *J. Eur. Acad. Dermatology Venereol.* **30**, 604–618 (2016).
6. Hanifin, J. & Rajka, G. Diagnostic Features of Atopic Dermatitis. *Acta Dermatovener (Stockholm)* **92**, 44–47 (1980).
7. Ring, J., Przybilla, B., Ruzicka, T. *Handbook of Atopic Eczema*. (Springer, 2006). doi:10.1007/3-540-29856-8
8. Bieber, T. Atopic dermatitis. *Ann. Dermatol.* **22**, 125–137 (2010).
9. Silverberg, N. B. Typical and atypical clinical appearance of atopic dermatitis. *Clin. Dermatol.* **35**, 354–359 (2017).
10. Katsarou, A. & Armenaka, M. C. Atopic dermatitis in older patients: Particular points. *J. Eur. Acad. Dermatology Venereol.* **25**, 12–18 (2011).
11. Hanifin, J. M. Adult-onset atopic dermatitis. *Dermatol. Clin.* **35**, 299–302 (2017).
12. Czarnowicki, T., Krueger, J. G. & Guttman-Yassky, E. Skin barrier and immune dysregulation in atopic dermatitis: An evolving story with important clinical implications. *J. Allergy Clin. Immunol. Pract.* **2**, 371–379 (2014).
13. Oyoshi, M. K., He, R., Kumar, L., Yoon, J. & Geha, R. S. *Chapter 3 Cellular and Molecular Mechanisms in Atopic Dermatitis. Advances in Immunology* **102**, (Elsevier Inc., 2009).
14. Nutten, S. Atopic dermatitis: Global epidemiology and risk factors. *Ann. Nutr. Metab.* **66**, 8–16 (2015).
15. Thomsen, S. F. Epidemiology and natural history of atopic diseases. *Eur. Clin. Respir. J.* **2**, 24642 (2015).
16. Mayba, J. N. & Gooderham, M. J. Review of Atopic Dermatitis and Topical Therapies. *J. Cutan. Med. Surg.* 120347541668507 (2016). doi:10.1177/1203475416685077
17. Silverberg, N. B. A practical overview of pediatric atopic dermatitis, part 1: epidemiology and pathogenesis. *Cutis* **97**, 267–271 (2016).
18. Barbarot, S., Auziere, S., Gadkari, A., Girolomoni, G., Puig, L., Simpson, E. L., Margolis, D. J., de Bruin-Weller, M., Eckert, L. Epidemiology of atopic dermatitis in adults: results from an international survey. *Allergy* **10**, 1–10 (2018).
19. Wolter, S. & Price, H. N. Atopic Dermatitis. *Pediatr. Clin. North Am.* **61**, 241–260 (2014).
20. Egawa, G. & Kabashima, K. Multifactorial skin barrier deficiency and atopic dermatitis: Essential topics to prevent the atopic march. *J. Allergy Clin. Immunol.* **138**, 350–358.e1 (2016).

21. Kezic, S. & Jakasa, I. Filaggrin and Skin Barrier Function. *Curr. Probl. Dermatol.* **49**, 1–7 (2016).
22. Draelos, Z. *Cosmetic dermatology, Products and Procedures.* Wiley Blackwell (Wiley Blackwell, 2016).
23. Denecker, G., Ovaere, P., Vandenabeele, P. & Declercq, W. Caspase-14 reveals its secrets. *J. Cell Biol.* **180**, 451–458 (2008).
24. Candi, E., Schmidt, R. & Melino, G. The cornified envelope: A model of cell death in the skin. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **6**, 328–340 (2005).
25. Schmitt, N. & Ueno, H. Regulation of human helper T cell subset differentiation by cytokines. *Curr. Opin. Immunol.* **34**, 130–136 (2015).
26. Κατσαρού-Κατσαρή, Α. Επιδερμικός φραγμός. *Ελληνική επιθεώρηση δερματολογίας αφροδισιολογίας* **18**, 33–38 (2007).
27. Ishida-Yamamoto, A. & Igawa, S. The biology and regulation of corneodesmosomes. *Cell Tissue Res.* **360**, 477–482 (2015).
28. Malik, K., Heitmiller, K. D. & Czarnowicki, T. An Update on the Pathophysiology of Atopic Dermatitis. *Dermatol. Clin.* **35**, 317–326 (2017).
29. Auriemma, M., Vianale, G., Amerio, P. & Reale, M. Cytokines and T cells in atopic dermatitis. *Eur. Cytokine Netw.* **24**, 37–44 (2013).
30. Medzhitov, R. Toll-like receptors and innate immunity. *Nat. Rev. Immunol.* **1**, 135–145 (2001).
31. Sun, B. & Zhang, Y. *Overview of orchestration of CD4+ T cell subsets in immune responses.* Springer (2014). doi:10.1007/978-94-017-9487-9\_1
32. Abbas, A., Lichtman, A. & Pillai, S. *Cellular and Molecular Immunology.* Elsevier **9th ed.**, (Elsevier, 2018).
33. Pennock, N. D. *et al.* T cell responses: naive to memory and everything in between. *AJP Adv. Physiol. Educ.* **37**, 273–283 (2013).
34. Zhu, J., Yamane, H. & Paul, W. Differentiation of effector CD4 T cell populations. *Annu Rev Immunol.* **28**, 445–489 (2010).
35. Zhu, J. & Paul, W. E. CD4 T cells : fates , functions , and faults ASH 50th anniversary review CD4 T cells : fates , functions , and faults. *Immunobiology* **112**, 1557–1569 (2009).
36. Goswami, R. & Kaplan, M. H. A Brief History of IL-9. *J. Immunol.* **186**, 3283–3288 (2011).
37. Wang, A. X. & Xu Landén, N. New insights into T cells and their signature cytokines in atopic dermatitis. *IUBMB Life* **67**, 601–610 (2015).
38. Biedermann, T., Skabytska, Y., Kaesler, S. & Volz, T. Regulation of T cell immunity in atopic dermatitis by microbes: The Yin and Yang of cutaneous inflammation. *Front. Immunol.* **6**, 1–9 (2015).
39. Eyerich, S. *et al.* Th22 cells represent a distinct human T cell subset involved in epidermal immunity and remodeling. *J. Clin. Invest.* **119**, 3573–3585 (2009).
40. Borish, L. C. & Steinke, J. W. 2. Cytokines and chemokines. *J. Allergy Clin. Immunol.* **111**,

- S460–S475 (2003).
41. Berger, A. Science commentary: Th1 and Th2 responses: what are they? *Br. Med. J.* **321**, 424–424 (2000).
  42. Brocker, C., Thompson, D., Matsumoto, A., Nebert, D. W. & Vasiliou, V. Evolutionary divergence and functions of the human interleukin (IL) gene family. *Hum. Genomics* **5**, 30–55 (2010).
  43. Thomas, H., Foster, G. & Platis, D. Mechanisms of action of interferon and nucleoside analogues. *J. Hepatol.* **39 Suppl 1**, S93-8 (2003).
  44. Metz, D. H. The mechanism of action of interferon. *Cell* **6**, 429–439 (1975).
  45. Mosmann, T. & Coffman, R. Two Types of Mouse Helper T Cell Clone. *Immunol. Today* **8**, 223–227 (1987).
  46. Kidd, P. Th1/Th2 balance: The hypothesis, its limitations, and implications for health and disease. *Altern. Med. Rev.* **8**, 223–246 (2003).
  47. Coffman, R. L. Origins of the TH1-TH2 model: a personal perspective. *Nat. Immunol.* **7**, 539–541 (2006).
  48. Romagnani, S. The Th1/Th2 paradigm. *Immunol. Today* **18**, 263–266 (1997).
  49. Romagnani, S. The Th1/Th2 paradigm and allergic disorders. **53**, 12–15 (1998).
  50. Wang, D. & Beck, L. A. Immunologic Targets in Atopic Dermatitis and Emerging Therapies: An Update. *Am. J. Clin. Dermatol.* **17**, 425–443 (2016).
  51. Niebuhr, M. & Werfel, T. Innate immunity, allergy and atopic dermatitis. *Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol.* **10**, 463–468 (2010).
  52. Plotz, S. G. & Ring, J. What's new in atopic eczema? *Expert Opin. Emerg. Drugs* **15**, 249–267 (2010).
  53. Roll, A., Cozzio, A., Fischer, B. & Schmid-Grendelmeier, P. Microbial colonization and atopic dermatitis. *Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol.* **4**, 373–378 (2004).
  54. Brandt, E. & Sivaprasad, U. Th2 Cytokines and Atopic Dermatitis. *J. Clin. Cell. Immunol.* **2**, 110 (2011).
  55. De Benedetto, A., Agnihotri, R., McGirt, L. Y., Bankova, L. G. & Beck, L. A. Atopic dermatitis: a disease caused by innate immune defects? *J. Invest. Dermatol.* **129**, 14–30 (2009).
  56. Szegedi, K. *et al.* Increased frequencies of IL-31-producing T cells are found in chronic atopic dermatitis skin. *Exp. Dermatol.* **21**, 431–436 (2012).
  57. Souwer, Y., Szegedi, K., Kapsenberg, M. L. & De Jong, E. C. IL-17 and IL-22 in atopic allergic disease. *Curr. Opin. Immunol.* **22**, 821–826 (2010).
  58. van Beelen, A. J., Teunissen, M. B. M., Kapsenberg, M. L. & de Jong, E. C. Interleukin-17 in inflammatory skin disorders. *Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol.* **7**, 374–381 (2007).
  59. Noda, S. *et al.* The Asian atopic dermatitis phenotype combines features of atopic dermatitis and psoriasis with increased TH17 polarization. *J. Allergy Clin. Immunol.* **136**, 1254–1264 (2015).
  60. Ma, L. *et al.* Possible pathogenic role of T helper type 9 cells and interleukin (IL)-9 in



- atopic dermatitis. *Clin. Exp. Immunol.* **175**, 25–31 (2014).
61. Agrawal, R., Wisniewski, J. & Woodfolk, J. A. The Role of Regulatory T cells in Atopic Dermatitis. *Curr. Probl. Dermatol.* **41**, 112–124 (2011).
  62. Akdis, M. *et al.* Interleukins, from 1 to 37, and interferon- $\gamma$ : Receptors, functions, and roles in diseases. *J. Allergy Clin. Immunol.* **127**, 701–721 (2011).
  63. Akdis, C. A. & Akdis, M. Immunological differences between intrinsic and extrinsic types of atopic dermatitis. *Clin. Exp. Allergy* **33**, 1618–1621 (2003).
  64. Saluja, R., Khan, M., Church, M. K. & Maurer, M. The role of IL-33 and mast cells in allergy and inflammation. *Clin. Transl. Allergy* **5**, 33 (2015).
  65. Brunner, P. M., Leung, D. Y. M. & Guttman-Yassky, E. Immunologic, microbial, and epithelial interactions in atopic dermatitis. *Ann. Allergy, Asthma Immunol.* **120**, 34–41 (2018).
  66. Fickenscher, H. *et al.* The interleukin-10 family of cytokines. *Trends Immunol.* **23**, 89–96 (2002).
  67. Mizutani, H. Cytokines in Atopic Dermatitis (Eczema). *Handb. Atopic Eczema* 613 (2006). doi:10.1007/3-540-29856-8
  68. Malajian, D. & Guttman-Yassky, E. New pathogenic and therapeutic paradigms in atopic dermatitis. *Cytokine* **73**, 311–318 (2015).
  69. Spolski, R. & Leonard, W. J. Interleukin-21: Basic Biology and Implications for Cancer and Autoimmunity. *Annu. Rev. Immunol.* **26**, 57–79 (2008).
  70. Gong, F., Su, Q., Hong Pan, Y., Huang, X. & Shen, W. H. The emerging role of interleukin-21 in allergic diseases (Review). *Biomed. Reports* **1**, 837–839 (2013).
  71. Lee, H. J. *et al.* Topical acidic cream prevents the development of atopic dermatitis- and asthma-like lesions in murine model. *Exp. Dermatol.* (2014). doi:10.1111/exd.12525
  72. Mizutani, H., Tamagawa-Mineoka, R., Nakamura, N., Masuda, K. & Katoh, N. Serum IL-21 levels are elevated in atopic dermatitis patients with acute skin lesions. *Allergol. Int.* **66**, 440–444 (2017).
  73. Malik, K. & Guttman-Yassky, E. Systemic Therapy of Atopic Dermatitis: When, How, for How Long? *Curr. Dermatol. Rep.* **6**, 149–160 (2017).
  74. Kido-Nakahara, M., Furue, M., Ulzii, D. & Nakahara, T. Itch in Atopic Dermatitis. *Immunol. Allergy Clin. North Am.* **37**, 113–122 (2017).
  75. Mirchandani, A. S., Salmond, R. J. & Liew, F. Y. Interleukin-33 and the function of innate lymphoid cells. *Trends Immunol.* **33**, 389–396 (2012).
  76. Miller, A. M. Role of IL-33 in inflammation and disease. *J. Inflamm.* **8**, 22 (2011).
  77. Martin, N. T. & Martin, M. U. Interleukin 33 is a guardian of barriers and a local alarmin. *Nat. Immunol.* **17**, 122–131 (2016).
  78. Liew, F. Y. IL-33: a Janus cytokine: Table 1. *Ann. Rheum. Dis.* **71**, i101–i104 (2012).
  79. Cevikbas, Ferda; Steinhoff, M. IL-33: A Novel Danger Signal System in Atopic Dermatitis. *J. Invest. Dermatol.* **70**, 646–656 (2013).
  80. Brown, S. J. & Mclean, W. H. I. One remarkable molecule: Filaggrin. *J. Invest. Dermatol.*

- 132**, 751–762 (2012).
81. Sandilands, A., Sutherland, C., Irvine, A. D. & McLean, W. H. I. Filaggrin in the frontline: role in skin barrier function and disease. *J. Cell Sci.* **122**, 1285–1294 (2009).
  82. Thyssen, J. P. & Kezic, S. Causes of epidermal filaggrin reduction and their role in the pathogenesis of atopic dermatitis. *J. Allergy Clin. Immunol.* **134**, 792–799 (2014).
  83. Smeden, J. Van, Janssens, M., Gooris, G. S. & Bouwstra, J. A. The important role of stratum corneum lipids for the cutaneous barrier function ☆. *BBA - Mol. Cell Biol. Lipids* **1841**, 295–313 (2014).
  84. Janssens, M. *et al.* Lamellar Lipid Organization and Ceramide Composition in the Stratum Corneum of Patients with Atopic Eczema. *J. Invest. Dermatol.* **131**, 2136–2138 (2011).
  85. Meckfessel, M. H. & Brandt, S. The structure, function, and importance of ceramides in skin and their use as therapeutic agents in skin-care products. *J. Am. Dermatology* **71**, 177–184 (2014).
  86. Bin, L. & Leung, D. Y. M. Genetic and epigenetic studies of atopic dermatitis. *Allergy, Asthma Clin. Immunol.* **12**, 1–14 (2016).
  87. Liang, Y., Chang, C. & Lu, Q. The Genetics and Epigenetics of Atopic Dermatitis—Filaggrin and Other Polymorphisms. *Clin. Rev. Allergy Immunol.* **51**, 315–328 (2016).
  88. Leung, D. Y. M. Atopic dermatitis: Age and race do matter! *J. Allergy Clin. Immunol.* **136**, 1265–1267 (2015).
  89. Boguniewicz, M. & Leung, D. Y. Atopic Dermatitis: A Disease of Altered Skin Barrier and Immune Dysregulation. *Immunol Rev* **242**, 233–246 (2011).
  90. Strachan, D. P. Hay fever, hygiene, and household size. *BMJ Br. Med. J.* **299**, 1259–1260 (1989).
  91. Okada, H., Kuhn, C., Feillet, H. & Bach, J. F. The ‘hygiene hypothesis’ for autoimmune and allergic diseases: An update. *Clin. Exp. Immunol.* **160**, 1–9 (2010).
  92. Flohr, C., Pascoe, D. & Williams, H. C. Atopic dermatitis and the ‘hygiene hypothesis’: Too clean to be true? *Br. J. Dermatol.* **152**, 202–216 (2005).
  93. Elston, D. M. The hygiene hypothesis and atopy: Bring back the parasites? *J. Am. Acad. Dermatol.* **54**, 172–179 (2006).
  94. Ring, J., Kramer, U. & Behrendt, H. Chapter 2. A critical approach to the hygiene hypothesis. *Clin. Exp. Allergy Rev.* **4**, 40–44 (2004).
  95. Bloomfield, S. F. *et al.* Time to abandon the hygiene hypothesis: New perspectives on allergic disease, the human microbiome, infectious disease prevention and the role of targeted hygiene. *Perspect. Public Health* **136**, 213–224 (2016).
  96. Tokura, Y. Extrinsic and intrinsic types of atopic dermatitis. *J. Dermatol. Sci.* **58**, 1–7 (2010).
  97. Egawa, G. & Weninger, W. Pathogenesis of atopic dermatitis: A short review. *Cogent Biol.* **1**, 1–10 (2015).
  98. Roguedas-Contios, A. M. & Misery, L. What is intrinsic atopic dermatitis? *Clin. Rev. Allergy Immunol.* **41**, 233–236 (2011).

99. Schmid(-Grendelmeier) P, Simon D, Simon H-U, Akdis C.A, W. Thrich B. Epidemiology, clinical features, and immunology of the 'intrinsic' (non- IgE- mediated) type of atopic dermatitis (constitutional dermatitis). *Allergy* **56**, 841–849 (2001).
100. Mori, T. *et al.* Comparison of Skin Barrier Function and Sensory Nerve Electric Current Perception Threshold between IgE-High Extrinsic and IgE-Normal Intrinsic Types of Atopic Dermatitis. *Br. J. Dermatol.* **162**, 83–90 (2010).
101. Silverberg, N. B. & Silverberg, J. I. Inside out or outside in: Does atopic dermatitis disrupt barrier function or does disruption of barrier function trigger atopic dermatitis? *Cutis* **96**, 359–361 (2015).
102. Kim, K. H. Overview of atopic dermatitis. *Asia Pac. Allergy* **3**, 79 (2013).
103. Sullivan, M. & Silverberg, N. B. Current and emerging concepts in atopic dermatitis pathogenesis. *Clin. Dermatol.* **35**, 349–353 (2017).
104. Dawn, C. Atopic dermatitis: emerging and current treatments. *Pharm. J.* **298**, 1–4 (2017).
105. Katayama, I. *et al.* Japanese guidelines for atopic dermatitis 2017. *Allergol. Int.* **66**, 230–247 (2017).
106. Simpson, E. L. Atopic dermatitis: a review of topical treatment options. *Curr. Med. Res. Opin.* **26**, 633–640 (2010).
107. Simon, D. Systemic therapy of atopic dermatitis in children and adults. *Pathog. Manag. Atopic Dermat.* **41**, 156–164 (2011).
108. Megna, M. *et al.* Systemic Treatment of Adult Atopic Dermatitis: A Review. *Dermatol. Ther. (Heidelb).* **7**, 1–23 (2017).
109. Maria, Y. *et al.* Protective effect of Calendula officinalis extract against UVB-induced oxidative stress in skin : Evaluation of reduced glutathione levels and matrix metalloproteinase secretion. *J. Ethnopharmacol.* **127**, 596–601 (2010).
110. Panahi, Y. *et al.* A Randomized Comparative Trial on the Therapeutic Efficacy of Topical Aloe vera and Calendula officinalis on Diaper Dermatitis in Children. *Sci. World J.* **2012**, 1–5 (2012).
111. Alnuqaydan, A. M., Lenehan, C. E., Hughes, R. R. & Sanderson, B. J. Extracts from Calendula officinalis Offer in Vitro Protection Against H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Induced Oxidative Stress Cell Killing of Human Skin Cells. *Phyther. Reseach* (2014). doi:10.1002/ptr.5236 Extracts
112. National Center for Biotechnology Information. Chlorocresol. *PubChem Compound Database; CID=1732* (2018). Available at: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/1732#section=Top>. (Accessed: 22nd May 2018)
113. Gomez de la Fuente, E. *et al.* Allergic Contact Dermatitis due to Chlorocresol In Topical Corticosteroids. *Actas Dermosifigr* **104**, 90–92 (2013).
114. Archer, C. B. & MacDonald, D. M. Chlorocresol sensitivity induced by treatment of allergic contact dermatitis with steroid creams. *Contact Dermatitis* **11**, 144–145 (1984).
115. Mladineo, I. Life cycle of Ceratothoa oestroides, a cymothoid isopod parasite from sea bass Dicentrarchus labrax and sea bream Sparus aurata. *Dis. Aqatic Org.* **57**, 97–101 (2003).

116. Grigoropoulos, A. *et al.* Effect of anti-inflammatory/antioxidant agent on diabetic hairless mouse skin. *Free Radic. Biol. Med.* **108**, S67 (2017).
117. Kim, S. & Karadeniz, F. Biological Importance and Applications of Squalene and Squalane. in *Advances in Food and Nutrition Research* **65**, 223–233 (Elsevier Inc., 2012).
118. Fratini, F., Cilia, G., Turchi, B. & Felicioli, A. Beeswax : A minireview of its antimicrobial activity and its application in medicine. *Asian Pac. J. Trop. Med.* **9**, 839–843 (2016).
119. Al-Waili, N. S. Topical application of natural honey , beeswax and olive oil mixture for atopic dermatitis or psoriasis : partially study. *Complement. Ther. Med.* **2299**, 226–234 (2003).
120. Parkinson, L. & Keast, R. Oleocanthal, a Phenolic Derived from Virgin Olive Oil: A Review of the Beneficial Effects on Inflammatory Disease. *Int. J. Mol. Sci.* **15**, 12323–12334 (2014).
121. Parthibane, V., Rajakumari, S., Venkateshwari, V., Iyappan, R. & Rajasekharan, R. Oleosin is bifunctional enzyme that has both monoacylglycerol acyltransferase and phospholipase activities. *J. Biol. Chem.* **287**, 1946–1954 (2012).
122. Beauchamp, G. K. *et al.* Ibuprofen-like activity in extra-virgin olive oil. *Nature* **437**, 45–46 (2005).
123. Hansen, K. *et al.* Isolation of an angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitor from *Olea europaea* and *Olea lancea*. *Phytomedicine* **2**, 319–325 (1996).
124. Naruszewicz, M., Czerwinska, M. & Kiss, A. Oleacein. Translation from Mediterranean Diet to Potential Antiatherosclerotic Drug. *Curr. Pharm. Des.* **21**, 1205–1212 (2015).
125. Polini, B. *et al.* Toxicology in Vitro Oleocanthal and oleacein contribute to the in vitro therapeutic potential of extra virgin oil-derived extracts in non-melanoma skin cancer. *Toxicol. Vitro.* **52**, 243–250 (2018).
126. National Center for Biotechnology Information. 1-Chloro-2,4-dinitrobenzene. *PubChem Compound Database; CID=6* (2018). Available at: [https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/1-chloro-2\\_4-dinitrobenzene#section=Top](https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/1-chloro-2_4-dinitrobenzene#section=Top). (Accessed: 22nd May 2018)
127. Schnyder, B. & Pichler, W. J. Mechanisms of drug-induced allergy. *Mayo Clin. Proc.* **84**, 268–272 (2009).
128. Mak, T. W. & Saunders, M. E. Ch 6 The Nature of antigen-Antibody Interaction. in *The Immune Response* (eds. Mak, T. W. & Saunders, M. E.) 121–146 (Academic Press, 2006). doi:10.1016/B978-012088451-3.50008-9
129. Gefen, T. *et al.* The effect of haptens on protein-carrier immunogenicity. *Immunology* **144**, 116–126 (2015).
130. McFadden, J. P., White, J. M. L., Basketter, D. A. & Kimber, I. Does hapten exposure predispose to atopic disease? The hapten-atopy hypothesis. *Trends Immunol.* **30**, 67–74 (2009).
131. Janeway, C., Travers, P. & Walport, M. Allergy and Hypersensitivity. in *Immunobiology: The Immune system in Health and Disease* (eds. Janeway, C., Travers, P., Walport, M. & Shlomchik, M.) 471–500 (Taylor & Francis, 2001).
132. Kaplan, D. H., Igyártó, B. Z. & Gaspari, A. A. Early immune events in the induction of

- allergic contact dermatitis. *Nat. Rev. Immunol.* **12**, 114–124 (2012).
133. Peiser, M. Role of Th17 Cells in Skin Inflammation of Allergic Contact Dermatitis. *Clin. Dev. Immunol.* **2013**, 1–10 (2013).
  134. Egawa, G. & Kabashima, K. Visualization of the T Cell Response in Contact Hypersensitivity. in *Inflammation: Methods in Molecular Biology* (eds. Clausen, B. E. & Laman, J. D.) **1559**, 53–62 (Humana Press, 2017).
  135. Janeway, C., Travers, P., Walport, M. & Shlomchik, M. *Immunobiology: The Immune System in Health and Disease*. (Taylor & Francis, 2001).
  136. Tran, L. S. Mechanisms of 2,4-Dinitrochlorobenzene-induced acute inflammation in Human Papillomavirus type 16 E7 oncoprotein expressing skin. (University of Queensland, 2014).
  137. Kitagaki, H., Fujisawa, S., Watanabe, K., Hayakawa, K. & Shiohara, T. Immediate-Type Hypersensitivity Response Followed by a Late Reaction Is Induced by Repeated Epicutaneous application of Contact Sensitizing Agents in Mice. *J. Invest. Dermatol.* **105**, 749–755 (1995).
  138. Kitagaki, H. *et al.* Distinct In Vivo and In Vitro Cytokine Profiles of Draining Lymph Node Cells in Acute and Chronic Phases of Contact Hypersensitivity: Importance of a Type 2 Cytokine-Rich Cutaneous Milieu for the Development of an Early-Type Response in the Chronic Phase. *J. Immunol.* 1265–1273 (1999).
  139. Kitagaki, H. *et al.* Repeated elicitation of contact hypersensitivity induces a shift in cutaneous cytokine milieu from a T helper cell type 1 to a T helper cell type 2 profile. *J. Immunol.* **159**, 2484 LP-2491 (1997).
  140. Kitamura, A., Takata, R., Aizawa, S., Watanabe, H. & Wada, T. A murine model of atopic dermatitis can be generated by painting the dorsal skin with hapten twice 14 days apart. *Sci. Rep.* 1–9 (2018). doi:10.1038/s41598-018-24363-6
  141. Kim, J., Lee, J., Shin, S., Cho, A. & Heo, Y. Molecular Mechanism of Atopic Dermatitis Induction Following Sensitization and Challenge with 2,4-Dinitrochlorobenzene in Mouse Skin Tissue. *Toxicol. Res.* **34**, 7–12 (2018).
  142. Jin, H., He, R., Oyoshi, M. & Geha, R. S. Animal Models of Atopic Dermatitis. *J. Invest. Dermatol.* **129**, 31–40 (2009).
  143. Gutermuth, J., Ollert, M., Ring, J., Behrendt, H. & Jakob, T. Mouse models of atopic eczema critically evaluated. *Int. Arch. Allergy Immunol.* **135**, 262–276 (2004).
  144. Shiohara, T., Hayakawa, J. & Mizukawa, Y. Animal models for atopic dermatitis: Are they relevant to human disease? *J. Dermatol. Sci.* **36**, 1–9 (2004).
  145. Qi, X. F. *et al.* Effects of Bambusae caulis in Liquamen on the development of atopic dermatitis-like skin lesions in hairless mice. *J. Ethnopharmacol.* **123**, 195–200 (2009).
  146. Kang, G. J., Han, S. C., Yi, E. J., Kang, H. K. & Yoo, E. S. The inhibitory effect of premature citrus unshiu extract on atopic dermatitis in vitro and in vivo. *Toxicol. Res.* **27**, 173–180 (2011).
  147. Sohn, E. H. *et al.* Effects of Korean red ginseng extract for the treatment of atopic dermatitis-like skin lesions in mice. *J. Ginseng Res.* **35**, 479–486 (2011).
  148. Rel. 1.1.5 Soft Plus-User manual. 1–71 (2012).

149. Courage + Khazaka Tewameter. Available at: <https://www.courage-khazaka.de/index.php/en/component/content/article/59-english/products/scientific/139-tewameter>. (Accessed: 11th June 2018)
150. Courage + Khazaka Corneometer. Available at: <https://www.courage-khazaka.de/index.php/en/products/scientific/55-corneometer>. (Accessed: 11th June 2018)
151. Courage +Khazaka FAQ Corneometer. Available at: <https://www.courage-khazaka.de/index.php/en/faq-en/faq-scientific-devices/61-corneometer>. (Accessed: 11th June 2018)
152. Courage & Khazaka Mexameter. Available at: <https://www.courage-khazaka.de/index.php/en/products/scientific/130-mexameter>. (Accessed: 11th June 2018)
153. Al-Saidan, S. M. *et al.* Formulation of an HPMC gel drug reservoir system with ethanol-water as a solvent system and limonene as a penetration enhancer for enhancing in vitro transdermal delivery of nicorandil. *Skin Pharmacol. Physiol.* **17**, 310–320 (2004).