



**ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ**

**ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ**

**ΤΜΗΜΑ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗΣ**

**Τομέας Φαρμακευτικής Τεχνολογίας**

**ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΔΙΠΛΩΜΑ ΕΙΔΙΚΕΥΣΗΣ**

**ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΚΗ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗ**

**ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ**

**ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΔΕΡΜΑΤΙΚΗΣ ΦΛΕΓΜΟΝΗΣ ΚΑΙ  
ΤΡΑΥΜΑΤΟΣ ΜΕ ΕΠΙΘΕΜΑΤΑ ΑΠΟ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑ  
*PINUS HALEPENSIS* ΚΑΙ ΠΡΟΠΟΛΗΣ**

**ΣΗΜΗΡΙΩΤΗ ΕΛΕΥΘΕΡΙΑ**

**ΑΘΗΝΑ 2019**

## **ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ**

**Ράλλης Μιχαήλ**

Επίκουρος Καθηγητής

Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Σχολή Επιστημών Υγείας

Τμήμα Φαρμακευτικής, Τομέας Φαρμακευτικής Τεχνολογίας

## **ΣΥΝΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ**

**Ρούσσης Βασίλειος**

Καθηγητής

Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Σχολή Επιστημών Υγείας

Τμήμα Φαρμακευτικής, Τομέας Φαρμακογνωσίας και Χημείας Φυσικών Προϊόντων

## **ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ**

**Ράλλης Μιχαήλ**

Επίκουρος Καθηγητής

Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Σχολή Επιστημών Υγείας

Τμήμα Φαρμακευτικής, Τομέας Φαρμακευτικής Τεχνολογίας

**Ρούσσης Βασίλειος**

Καθηγητής

Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Σχολή Επιστημών Υγείας

Τμήμα Φαρμακευτικής, Τομέας Φαρμακογνωσίας και Χημείας Φυσικών Προϊόντων

**Δάλλας Παρασκευάς**

Επίκουρος Καθηγητής,

Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Σχολή Επιστημών Υγείας

Τμήμα Φαρμακευτικής, Τομέας Φαρμακευτικής Τεχνολογίας

## ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η εργασία αυτή εκπονήθηκε στο εργαστήριο Φαρμακευτικής Τεχνολογίας του Τμήματος Φαρμακευτικής του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών. Θα ήθελα να ευχαριστήσω πλήθος ανθρώπων για τη συμβολή τους στην εκπόνηση της παρούσας διπλωματικής.

Θα ήθελα αρχικά να εκφράσω τις θερμές μου ευχαριστίες στους καθηγητές μου, τον Επίκουρο Καθηγητή Ράλλη Μιχαήλ του Τομέα Φαρμακευτικής Τεχνολογίας του Τμήματος Φαρμακευτικής, για την ανάθεση της παρούσας μελέτης, την εμπιστοσύνη που μου έδειξε και τις πολύτιμες συμβουλές και γνώσεις που μου πρόσφερε όλο αυτό το χρονικό διάστημα. Τον Καθηγητή Ρούσση Βασίλειο του Τομέα Φαρμακογνωσίας και Χημείας Φυσικών Προϊόντων, του Τμήματος Φαρμακευτικής, για τη βοήθεια και τη συνεχή καθοδήγησή του για την επιτυχή υλοποίηση της μελέτης. Τον Επίκουρο Καθηγητή Δάλλα Παρασκευά του Τομέα Φαρμακευτικής Τεχνολογίας για την ανάγνωση και αξιολόγηση της εργασίας τη ως μέλος της τριμελούς επιτροπής.

Ένα μεγάλο ευχαριστώ στο εργαστήριο Φαρμακογνωσίας και Χημείας Φυσικών Προϊόντων για την πραγματοποίηση των πειραμάτων και ιδιαίτερος στην Επίκουρη Καθηγήτρια Ιωάννου Ευσταθία, του Τομέα Φαρμακογνωσίας και Χημείας Φυσικών Προϊόντων και στο Μεταδιδακτορικό Επιστημονικό Ερευνητή Κικιώνη Στέφανο, για το σχεδιασμό των πειραμάτων, τις συμβουλές και τη διαρκή στήριξή τους σε όλη τη διάρκεια των πειραμάτων.

Ιδιαίτερες ευχαριστίες στον κύριο Σφηνιαδάκη Ιωάννη διευθυντή του Παθολογοανατομικού Τμήματος του Ναυτικού Νοσοκομείου Αθηνών (NNA) και στο υπόλοιπο ιατρικό προσωπικό, για την εξαιρετικά σημαντική συμβολή τους στην ιστοπαθολογική αξιολόγηση των αποτελεσμάτων.

Θα ήθελα ακόμα να ευχαριστήσω τον Καθηγητή Χαριζάνη Πασχάλη του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών για την παροχή του μίγματος πρόπολης.

Ευχαριστώ ολόψυχα όλα τα μέλη του Εργαστηρίου Μικρών Πειραματοζώων του Τομέα Φαρμακευτικής Τεχνολογίας για τη συνεργασία, τις ευχάριστες στιγμές και τη βοήθεια τους για την περάτωση των πειραμάτων. Ένα μεγάλο ευχαριστώ στην Τερεζάκη Ασημίνα για την εξαιρετική συνεργασία και στήριξη καθώς και τον υποψήφιο διδάκτορα Βίτσο Ανδρέα για την τεχνική στήριξη.

Τέλος, ένα μεγάλο ευχαριστώ οφείλω στην οικογένεια και στους φίλους μου για την κατανόηση και την ψυχολογική υποστήριξη που μου προσέφεραν σε όλη τη διάρκεια των σπουδών μου.

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η φλεγμονή του δέρματος αποτελεί ένα από τα κυριότερα συμπτώματα πολλών δερματικών παθήσεων και έναν από τους κύριους λόγους καθυστέρησης της επούλωσης. Η φλεγμονή από την επίδραση της υπερϊώδους ακτινοβολίας στο δέρμα αντιμετωπίζεται συνήθως με τη χρήση διαφόρων τοπικών σκευασμάτων όπως κρέμες και γέλες· αντικείμενο μελετών αποτελεί η θεραπεία της με εφαρμογή επιθέμάτων.

Βασιζόμενη σε προηγούμενη μελέτη, εξετάστηκε ως προς την αντιφλεγμονώδη δράση τους σε μύες πολυμερικό επίθεμα με υδατικό εκχύλισμα του φλοιού *Pinus halepensis* στη συγκέντρωση κορεσμού που ήταν δυνατή να παρασκευαστεί μέσω ηλεκτροστατικής ινοποίησης. Συντέθηκαν δυο επιθέματα ναοϊνών αποτελούμενα από Αλγινικό Νάτριο (SA), Οξική Κυτταρίνη (CA), Πολυαιθυλενοξειδίο (PEO) και εκχύλισμα *P. halepensis* σε ποσοστά 15,1% w/w και 26,2% w/w. Επιπλέον, παρασκευάστηκε ένα επίθεμα από SA, CA και PEO και ένα με CA και PEO. Ως μάρτυρας χρησιμοποιήθηκε αποστειρωμένη γάζα ίδιων διαστάσεων με τα πολυμερικά επιθέματα. Η αξιολόγηση της αντιφλεγμονώδους δράσης των επιθέμάτων έγινε σε άτριχους, θηλυκούς μύες, τύπου SKH-1 οι οποίοι χωρίστηκαν σε 5 ομάδες των 8 ζώων και ακτινοβολήθηκαν άπαξ με τρεις ελάχιστες ερυθματώδεις δόσεις (3 M.E.D.). Σε κάθε ομάδα γινόταν καθημερινή εφαρμογή του αντίστοιχου επιθέματος. Πριν την ακτινοβολήση, κατά τη διάρκεια του πειράματος και στο τέλος ελήφθησαν μετρήσεις πάχους δέρματος, άδηλης απώλειας ύδατος, ενυδάτωσης, σμήγματος, ερυθρότητας του δέρματος των μυών. Την 18<sup>η</sup> μέρα τα ζώα θυσιάστηκαν και ελήφθησαν τμήματα δέρματος από την ανατομική περιοχή της φλεγμονής για ιστοπαθολογική αξιολόγηση.

Τα αποτελέσματα επιβεβαίωσαν την αντιφλεγμονώδη δράση του υδατικού εκχυλίσματος φλοιού *P. halepensis*, καθώς η ομάδα στην οποία εφαρμόστηκε το επίθεμα με το μεγαλύτερο ποσοστό (26,2% w/w) παρουσίασε σημαντική δράση έναντι της φλεγμονής

Στη συνέχεια αντικείμενο μελέτης αποτέλεσε η επιβεβαίωση της επουλωτικής και αντιμικροβιακής δράσης της πρόπολης σε μορφή πολυμερικού επιθέματος και η εύρεση της βέλτιστης φαρμακοδυναμικής δόσης. Παρ' όλες τις ευεργετικές της δράσεις η χρήση της πρόπολης στη θεραπεία των πληγών εμποδίζεται λόγω της τοξικότητας της αιθανόλης που είναι ο συνήθης φορέας της. Το πρόβλημα αυτό αντιμετωπίστηκε με την εξάτμιση του διαλύτη μέσω της μεθόδου της ηλεκτροστατικής ινοποίησης. Αρχικά, συντέθηκαν 6 επιθέματα ναοϊνών αποτελούμενα από Πολυκαπρολακτόνη (PCL), Πολυβινυλοπυρρολιδόνη (PVP) και εκχύλισμα πρόπολης σε ποσοστά 0,1%, 0,4%, 0,7%, 1%, 15% και 30% w/w καθώς και ένα επίθεμα αποτελούμενο από τα πολυμερή PCL και PVP. Επίσης, χρησιμοποιήθηκε αποστειρωμένη γάζα ίδιων διαστάσεων με τα πολυμερικά

επιθέματα ως μάρτυρας. Η αξιολόγηση της επουλωτικής δράσης των επιθεμάτων έγινε σε άτριχους, αρσενικούς μύες, τύπου SKH-1 σε 2 φάσεις. Στην πρώτη φάση εξετάστηκαν τα επιθέματα με τις 3 υψηλές περιεκτικότητες σε πρόπολη σε ομάδες των 8 ζώων στα οποία είχε προκληθεί τραύμα εμβαδού 1 cm<sup>2</sup>. Σε κάθε ομάδα γινόταν καθημερινή εφαρμογή του αντίστοιχου επιθέματος. Πριν την πρόκληση της πληγής και στο τέλος του πειράματος ελήφθησαν μετρήσεις πάχους δέρματος, άδηλης απώλειας ύδατος, ενυδάτωσης, ερυθρότητας, και ελαστικότητας του δέρματος των μυών. Την 1<sup>η</sup> ημέρα και την 14<sup>η</sup> ημέρα του πειράματος έγινε λήψη φωτογραφιών με την εξειδικευμένη κάμερα Antera 3D. Στη δεύτερη φάση, η περιεκτικότητα σε πρόπολη των επιθεμάτων μειώθηκε λόγω εμφάνισης ερεθισμού στο πρώτο πείραμα. Τα επιθέματα εξετάστηκαν σε ομάδες των 8 ζώων και ελήφθησαν οι ίδιες μετρήσεις. Στο τέλος του κάθε πειράματος τα ζώα θυσιάστηκαν και ελήφθησαν τμήματα δέρματος από το σημείο του τραύματος για ιστοπαθολογική αξιολόγηση.

Η κλινική εικόνα, η φωτοτεκμηρίωση, η μείωση του εμβαδού της πληγής σε συνδυασμό με την ιστοπαθολογική αξιολόγηση έδειξαν ότι το επίθεμα με 0,7% w/w εκχυλίσματος πρόπολης προωθεί σημαντικά την επουλωτική διαδικασία.

Σε επόμενο στάδιο αξίζει να μελετηθεί η αντιμικροβιακή και επουλωτική δράση της πρόπολης *in vitro* και *in vivo*.

## ABSTRACT

Skin inflammation is one of the main symptoms of many skin disorders and one of the main causes of delayed healing. Inflammation caused by ultraviolet radiation is usually treated with various topical preparations such as creams and gels, while its treatment using patches has been the topic of many studies.

Based on a previous study, the anti-inflammatory effect of polymeric patches, loaded with aqueous bark extract of *Pinus halepensis* at a saturated concentration prepared by electrospinning, were investigated on mice. Two nanofibrous patches composed of Sodium Alginate (SA), Cellulose Acetate (CA), Polyethyleneoxide (PEO) and *P. halepensis* extract in 15.1% w/w and 26.2% w/w concentration were prepared. In addition, a patch with SA, CA and PEO and one with CA and PEO were prepared. Sterile gauze cut in the same dimensions as the polymeric patches was used as control group. The evaluation of the anti-inflammatory activity of the patches was performed on hairless, SKH-1 type female mice. After being divided into 5 groups of 8 animals each, they were once irradiated with 3 M.E.D. The patches were removed and replaced daily. Before irradiation, during the test and at the end, measurements of skin thickness, transepidermal water loss, hydration, sebum, redness of the skin of the mice were obtained. On day 18 the animals were sacrificed and skin sections were collected from the inflammation site for histopathological evaluation.

The results confirmed the anti-inflammatory activity of the aqueous bark extract of *P. halepensis*, considering that the group with the highest concentration (26.2% w/w) patch had the best anti-inflammatory activity.

Moving on, the aim of the study was confirming the healing and antimicrobial action of propolis formed into nanofibrous patches and its optimal pharmacodynamic action. Despite its beneficial effects, the use of propolis in the treatment of wounds is limited due to the toxicity of ethanol which is its usual carrier. This problem was resolved by evaporating the solvent through the electrospinning method. Initially, 6 nanofibrous patches were composed of Polycaprolactone (PCL), Polyvinylpyrrolidone (PVP) and propolis extract at 0.1%, 0.4%, 0.7%, 1%, 15% and 30% w/w concentrations, as well as a patch composed of PCL and PVP polymers. Sterile gauze cut in the same dimensions as the polymeric patches was used as control group. The assessment of the healing effect of patches was tested on hairless, SKH-1 type male mice, in two phases. In the first set, patches with the 3 highest concentrations of propolis were tested in groups of 8 animals each, on which 1cm<sup>2</sup> wounds were induced. The patches were removed and replaced daily. Before the ulcer was induced and at the end of the test measurements of skin thickness, transepidermal water loss, hydration,

elasticity and redness of the skin of the mice were obtained. On the 1<sup>st</sup> day and 14<sup>th</sup> day of the test, photographs were taken using Antera 3D camera. In the second set, the concentration of propolis in the patches was reduced due to the irritation observed in the first one. The patches were tested in groups of 8 and the same measurements were obtained. At the end of each experiment the mice were sacrificed and skin sections from the wound site were collected for histopathological evaluation.

Clinical assessment, photodocumentation, reduction in the size of the wound combined with the histopathological evaluation showed that the 0.7% w/w propolis extract patch significantly promotes the healing procedure.

As for the next step, studying the *in vitro* and *in vivo* antimicrobial and healing effect of propolis is considered worthwhile.

## ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ .....	3
ABSTRACT .....	5
ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ .....	13
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1 .....	14
Φυσιολογία και Ανατομία Δέρματος .....	14
1.1    Εισαγωγή .....	14
1.2    Δομή του δέρματος .....	14
1.2.1    Επιδερμίδα .....	15
1.2.2    Χόριο ή Δερμίδα .....	17
1.2.3    Υποδόριος ιστός ή Υπόδερμα .....	17
1.3    Αγγείωση .....	18
1.4    Νεύρωση .....	18
1.5    Εξαρτήματα δέρματος .....	18
1.5.1    Τρίχες .....	18
1.5.2    Σμηματογόνοι Αδένες .....	19
1.5.3    Ιδρωτοποιοί Αδένες .....	19
1.5.4    Όνυχες .....	19
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2 .....	20
Δερματική Φλεγμονή .....	20
2.1    Γενικά .....	20
2.2    Φλεγμονή και υπεριώδης ακτινοβολία .....	20
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3 .....	23
Επούλωση .....	23
3.1    Φυσιολογία Επούλωσης .....	23
3.2    Τρόποι Επούλωσης .....	23
3.2.1    Επούλωση κατά πρώτο σκοπό (Wound healing by first intention) .....	23



3.2.2	Καθυστερημένη επούλωση κατά πρώτο σκοπό (Delayed primary healing) ή επούλωση κατά τρίτο σκοπό (Wound healing by tertiary intention).....	23
3.2.3	Επούλωση κατά δεύτερο σκοπό (Wound healing by second intention).....	24
3.2.4	Επούλωση των μερικού πάχους τραυμάτων (Wound healing of partial thickness wounds) .....	24
3.3	Φάσεις επούλωσης .....	24
3.3.1	Φάση 1: Αιμόσταση .....	25
3.3.2	Φάση 2: Φλεγμονή.....	26
3.3.3	Φάση 3: Πολλαπλασιασμός .....	28
3.3.4	Φάση 4: Αναδιαμόρφωση .....	30
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4	.....	31
	Οξειδωτικό στρες .....	31
4.1	Γενικά.....	31
4.2	Ελεύθερες ρίζες, Αντιοξειδωτικά και Οξειδωτικό Στρες.....	31
4.3	Ρόλος των ελεύθερων ριζών.....	31
4.4	Οξειδωτικό Στρες και Καθυστερημένη Επούλωση .....	32
4.5	Αντιοξειδωτικά.....	33
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5	.....	35
	<i>Pinus halepensis</i> .....	35
5.1	Γενική περιγραφή.....	35
5.2	Θεραπευτική Χρήση .....	35
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6	.....	38
	Προϊόντα μέλισσας.....	38
6.1	Πρόπολη - Γενικά στοιχεία .....	38
6.2	Θεραπευτικές Χρήσεις .....	39
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7	.....	41
	Μέθοδος της Ηλεκτροστατικής Ινοποίησης .....	41
7.1	Γενικά Στοιχεία .....	41

7.2	Διάταξη Ηλεκτροστατικής Ινοποίησης .....	41
7.3	Αρχή Μεθόδου .....	42
7.4	Παράμετροι διεργασίας .....	43
7.4.1	Παράμετροι πολυμερικού διαλύματος .....	43
7.4.2	Συνθήκες διεργασίας .....	44
7.4.3	Συνθήκες περιβάλλοντος .....	46
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 8 .....		47
Βιοσυμβατά και Βιοαποικοδομήσιμα πολυμερή .....		47
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 9 .....		49
Μέθοδοι Αντιμετώπισης Φλεγμονής και Τραύματος .....		49
9.1	Ανοιχτή μέθοδος .....	49
9.2	Κλειστή μέθοδος .....	50
9.3	Επιθέματα .....	50
9.3.1	Πλεονεκτήματα επιθεμάτων μέσω ηλεκτροστατικής ινοποίησης .....	51
ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ .....		53
Εισαγωγή .....		54
Κεφάλαιο 10 .....		55
Υλικά και Μέθοδοι .....		55
10.1	Πείραμα Φλεγμονής .....	55
10.1.1	Πειραματόζωα .....	55
10.1.2	Υλικά .....	55
10.1.3	Παρασκευή πολυμερικών επιθεμάτων .....	55
10.1.4	Πρωτόκολλο πρόκλησης φλεγμονής με υπεριώδη ακτινοβολία .....	57
10.1.5	Εφαρμογή Επιθεμάτων .....	57
10.2	Πείραμα Επουλώσεως Πληγής .....	58
10.2.1	Πειραματόζωα .....	58
10.2.2	Υλικά .....	58

10.2.3	Παραλαβή εκχυλίσματος πρόπολης ( <i>Propolis</i> ) .....	59
10.2.4	Παρασκευή πολυμερικών επιθεμάτων.....	59
10.2.5	Πρωτόκολλο πρόκλησης πληγών .....	61
10.2.6	Εφαρμογή Επιθεμάτων .....	61
10.3	Αρχές Μεθόδων Μετρήσεων και Οργανολογία.....	62
10.3.1	Κλινική εικόνα – Λήψη φωτογραφιών .....	62
10.3.2	Αξιολόγηση Πάχους δέρματος .....	62
10.3.3	Αξιολόγηση Άδηλης Απώλειας Ύδατος.....	62
10.3.4	Αξιολόγηση Ενυδάτωσης .....	64
10.3.5	Αξιολόγηση Σμήγματος .....	64
10.3.6	Αξιολόγηση Ερυθρότητας .....	65
10.3.7	Αξιολόγηση Ελαστικότητας .....	66
10.3.8	Antera 3D.....	67
10.3.9	Λήψη strippings από το σημείο πρόκλησης της φλεγμονής και της πληγής .....	67
10.3.10	Λήψη δέρματος από το σημείο πρόκλησης της φλεγμονής και της πληγής .....	68
10.4	Ιστοπαθολογική Ανάλυση .....	68
10.5	Μέτρηση μεγέθους πληγής .....	68
10.6	Στατιστική Επεξεργασία αποτελεσμάτων .....	68
10.7	Συνοπτική περιγραφή πειραμάτων.....	69
10.7.1	Πείραμα Φλεγμονής.....	69
10.7.2	Πείραμα επουλώσεως πληγής.....	70
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....		72
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 11 .....		73
Πείραμα φλεγμονής.....		73
11.1	Φωτογραφικό υλικό .....	73
11.1.1	Αξιολόγηση του Πάχους δέρματος.....	76
11.1.2	Αξιολόγηση της Άδηλης Απώλειας Ύδατος (TEWL).....	77

11.1.3	Αξιολόγηση της Ενυδάτωσης .....	78
11.1.4	Αξιολόγηση της παραγωγής Σμήγματος.....	79
11.1.5	Αξιολόγηση του Ερυθήματος .....	80
11.1.6	Ιστοπαθολογική Αξιολόγηση.....	81
11.2	Συζήτηση.....	83
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 12 .....		85
Πείραμα επούλωσης πληγής .....		85
12.1	Πείραμα 1 <sup>ο</sup> .....	85
12.1.1	Φωτογραφικό υλικό .....	85
12.1.2	Αξιολόγηση του Πάχους δέρματος.....	87
12.1.3	Αξιολόγηση Άδηλης Απώλειας Ύδατος (TEWL) .....	89
12.1.4	Αξιολόγηση της Ενυδάτωσης .....	91
12.1.5	Αξιολόγηση Ερυθήματος.....	93
12.1.6	Αξιολόγηση με Antera 3D .....	95
12.1.7	Μέτρηση μεγέθους πληγής .....	101
12.1.8	Ιστοπαθολογική Αξιολόγηση.....	102
12.2	Συζήτηση.....	105
12.3	Πείραμα 2 <sup>ο</sup> .....	106
12.3.1	Φωτοτεκμηρίωση .....	106
12.3.2	Αξιολόγηση του Πάχους δέρματος.....	108
12.3.3	Αξιολόγηση Άδηλης Απώλειας Ύδατος (TEWL) .....	110
12.3.4	Αξιολόγηση της Ενυδάτωσης .....	112
12.3.5	Αξιολόγηση Ερυθήματος.....	114
12.3.6	Αξιολόγηση Ελαστικότητας .....	116
12.3.7	Μέτρηση μεγέθους πληγής .....	118
12.3.8	Ιστοπαθολογική Αξιολόγηση.....	119
12.4	Συζήτηση.....	122

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ .....	123
Πείραμα φλεγμονής .....	124
Πείραμα επουλώσεως πληγής.....	124
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ .....	126
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Ι.....	131
Πείραμα Φλεγμονής.....	131
Πείραμα Επούλωσης Πληγών.....	142
1 <sup>ο</sup> Πείραμα.....	142
2 <sup>ο</sup> Πείραμα.....	149

**ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ**

**ΜΕΡΟΣ**

# ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

## Φυσιολογία και Ανατομία Δέρματος

### 1.1 Εισαγωγή

Το δέρμα αποτελεί το μεγαλύτερο όργανο του ανθρώπινου σώματος και καλύπτει εξ ολοκλήρου την εξωτερική του επιφάνεια. Η έκταση του κυμαίνεται από 1,6 m<sup>2</sup>-1,8m<sup>2</sup>. Η δομή του διαφέρει ανάλογα την ανατομική περιοχή και τις λειτουργίες που επιτελεί. Εμβρυολογικά, προέρχεται από το μεσόδερμα (χόριο και υπόδερμα) και από το εξώδερμα (επιδερμίδα και εξαρτήματα). Η σημαντικότερη του λειτουργία είναι ότι αποτελεί φραγμό που παρεμβάλλεται μεταξύ του οργανισμού και του εξωτερικού περιβάλλοντος. (Kirszwmbaum et al., 2013, Κατσάμπας, 2015) Οι βασικές λειτουργίες του είναι ότι:

- Προστατεύει τον οργανισμό από τη θερμότητα, την υπερϊώδη ακτινοβολία και τους τραυματισμούς.
- Εμποδίζει την είσοδο μικροοργανισμών και τοξικών ουσιών στο εσωτερικό του οργανισμού.
- Διαθέτει αισθητήριους υποδοχείς που ανιχνεύουν τη θερμοκρασία, την αφή, την πίεση και τον πόνο.
- Ρυθμίζει τη θερμοκρασία του σώματος μέσω της αυξομείωσης του μεγέθους των αγγείων, της λειτουργίας των ιδρωτοποιών αδένων, των τριχών και του υποδόριου λίπους.
- Αποθηκεύει νερό και λίπος.
- Ελέγχει την απώλεια ύδατος και αποτρέπει την αφυδάτωση.
- Θεωρείται απεκκριτικό όργανο, αφού συμβάλλει στην αποβολή με τον ιδρώτα προϊόντων ανταλλαγής της ύλης.
- Συμβάλλει στη σύνθεση της Βιταμίνης D ώστε να διατηρούνται σταθερά τα επίπεδα ασβεστίου. (Αντωνίου, 2015)

Η ποιότητα του δέρματος και των εξαρτημάτων του επηρεάζουν σε ψυχολογικό και κοινωνικό επίπεδο το άτομο.

### 1.2 Δομή του δέρματος

Το δέρμα αποτελείται από τρεις στιβάδες: την επιδερμίδα, το χόριο και τον υποδόριο ιστό. (Kirszwmbaum et al., 2013)

### 1.2.1 **Επιδερμίδα**

Η επιδερμίδα αποτελεί την κύρια προστατευτική στοιβάδα του δέρματος που βρίσκεται σε επαφή με το εξωτερικό περιβάλλον. Πρόκειται για πολύστιβο πλακώδες επιθήλιο που το πάχος του ποικίλει ανάμεσα σε 60-800μm ανάλογα την ανατομική περιοχή.

Η επιδερμίδα διαχωρίζεται από το υποκείμενο χόριο, με την κυματοειδή χοριοεπιδερμική συμβολή. Βασικό χαρακτηριστικό της επιδερμίδας είναι ότι στερείται αγγείων και για τη θρέψη της και την αποβολή των προϊόντων του μεταβολισμού εξαρτάται από τη λέμφο που διακινείται μέσω της χοριοεπιδερμικής συμβολής.

Περιλαμβάνει 5 οριζόντιες στοιβάδες που αποτελούνται κυρίως από κερατινοκύτταρα (95%). Κάθε μια στοιβάδα αντιπροσωπεύει ένα στάδιο της διαφοροποίησης των κερατινοκυττάρων, τα οποία ξεκινούν από τη βασική στοιβάδα και τελικά καταλήγουν στην κεράτινη στοιβάδα ως απύρηννα, αποπλατυσμένα πετάλια. Η διαδικασία αυτή ονομάζεται κερατινοποίηση, η οποία διαρκεί 28 ημέρες. Έτσι η επιδερμίδα ανανεώνεται πλήρως.

Οι 5 στοιβάδες της επιδερμίδας από έσω προς τα έξω είναι:

#### Βασική (βλαστική) στοιβάδα (Steves et Lowe, 2005)

Αποτελεί τη βαθύτερη στοιβάδα της επιδερμίδας από την οποία προέρχονται όλα τα κερατινοκύτταρα. Πρόκειται για τα βασικά κύτταρα, τα οποία διαιρούνται συνέχεια, δημιουργώντας νέα κερατινοκύτταρα, αντικαθιστώντας τα παλιά που έχουν απομακρυνθεί από την επιφάνεια του δέρματος. Ανάμεσα στα κύτταρα της βασικής στοιβάδας βρίσκονται και διάσπαρτα μη κερατινοκύτταρα όπως μελανοκύτταρα και κύτταρα Merkel.

#### Ακανθώδης στοιβάδα (Παπαϊωάννου, 2006, Seeley et al., 2008)

Τα κύτταρα της έχουν ακανθώδη εμφάνιση. Αποτελείται από 8-10 στρώματα κυττάρων και είναι η παχύτερη της επιδερμίδας. Σε αυτή τη στοιβάδα, τα κερατινοκύτταρα αρχίζουν να γίνονται πιο αποπλατυσμένα. Τα στενά διάκενα μεταξύ των ακανθωτών κυττάρων καταλαμβάνονται από τις προεκβολές των μελανοκυττάρων και των κυττάρων του Langerhans.

#### Κοκκιώδης στοιβάδα (Παπαϊωάννου, 2006, Seeley et al., 2008, Steves et Lowe, 2005)

Αποτελείται από 2-5 σειρές πλατιών πολυγωνικών κυττάρων με βασεόφιλα κοκκία (κοκκία κερατουλίνης ή φιλαγγρίνης) που περιέχουν προφιλαγγρίνη, η οποία, καθώς τα κύτταρα μεταπίπτουν σταδιακά στα κύτταρα της κεράτινης στοιβάδας, μετατρέπεται σε φιλαγγρίνη. Η φιλαγγρίνη κρατάει συνδεδεμένα τα μόρια κερατινών στα κατώτερα στρώματα της κεράτινης στοιβάδας. Οι κερατίνες είναι πρωτεΐνες των κερατινοκυττάρων. Αυτή η στοιβάδα απουσιάζει στους βλεννογόνους.

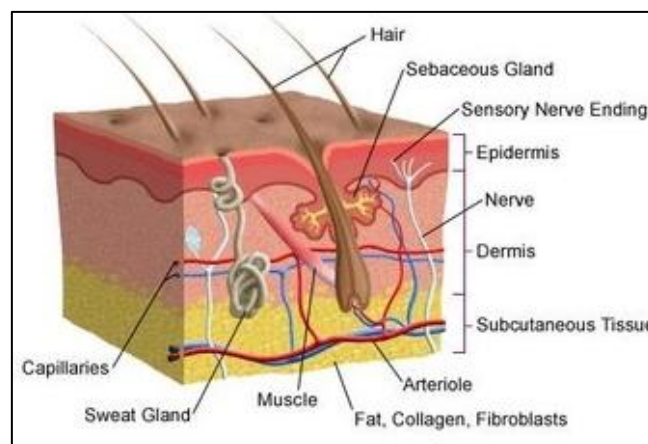


### Διαυγής στοιβάδα (Kirszwbaum et al., 2013)

Πρόκειται για μια υαλώδης, διαυγής στοιβάδα που καλύπτει την κοκκιώδη στις παλάμες και στα πόδια. Τα κύτταρα της είναι διάφανα, πεπλατυσμένα, πυκνά και γεμάτα με κερατίνη.

### Κεράτινη στοιβάδα (Kirszwbaum et al., 2013, Παπαϊωάννου, 2006)

Είναι το πιο επιφανειακό στρώμα της επιδερμίδας που έρχεται σε άμεση επαφή με το εξωτερικό περιβάλλον. Έχει πάχος έως και 25 σειρές νεκρών πεπλατυσμένων κυττάρων και αποτελείται από νεκρά πεπλατυσμένα κύτταρα. Στη στοιβάδα αυτή τα κύτταρα έχουν χάσει τους πυρήνες τους και σχεδόν όλα τα κυτταροπλασματικά όργανα και στοιχεία, όπως τα κοκκία κερατοϋαλίνης. Τα κύτταρα είναι επίπεδα και γεμάτα με κερατίνη, με τη μορφή δεσμίδων από ίνες. Στην κερατίνη οφείλεται η αντοχή και η σκληρότητα της στοιβάδας αυτής που είναι απαραίτητη για την προστασία από μηχανικά ερεθίσματα.



**Εικόνα 1 Δομή και Εξαρτήματα του δέρματος**

Τα μη κερατινοποιημένα κύτταρα της επιδερμίδας είναι :

Μελανοκύτταρα (Steves et Lowe, 2005, Kirszwbaum et al., 2013): Τα μελανοκύτταρα αποτελούν δενδριτικά κύτταρα. Εντοπίζονται στη βασική στοιβάδα της επιδερμίδας και στον τριχικό θύλακα και παράγουν μελανίνη ως απάντηση σε ενδογενείς και εξωγενείς παράγοντες. Η ουσία αυτή είναι υπεύθυνη για τη μείωση της ιστικής καταστροφής από την υπεριώδη ακτινοβολία και ως ένα βαθμό για το χρώμα του δέρματος μαζί με άλλους παράγοντες. Η μελανίνη μεταφέρεται σε γειτονικά κερατινοκύτταρα, τα οποία με τη σειρά τους φαγοκυτταρώνουν τις αποφυάδες των μελανοκυττάρων που περιέχουν τα κοκκία της μελανίνης, τα μελανοσώματα.

Κύτταρα Langerhans (Steves et Lowe, 2005, Kirszwbaum et al., 2013): Τα κύτταρα Langerhans είναι επίσης δενδριτικά κύτταρα που ανευρίσκονται σε όλες τις στοιβάδες της επιδερμίδας. Ανήκουν στο ανοσοποιητικό σύστημα και συμμετέχουν στην ανοσολογική απάντηση έναντι παθογόνων

ερεθισμάτων, με την αναγνώριση και παρουσίαση των αντιγόνων. Τα κύτταρα του Langerhans βρίσκονται σε μικρό αριθμό στο υγιές δέρμα αλλά σε πολλά χρόνια φλεγμονώδη νοσήματα αυξάνονται σε αριθμό, έκταση και πολυπλοκότητα όσον αφορά τις δενδριτικές τους αποφυάδες.

Κύτταρα Merkel (Steves et Lowe, 2005, Kirsznbaum et al., 2013): Τα κύτταρα Merkel είναι εξειδικευμένα στην αντίληψη της αφής. Ανευρίσκονται στη βασική στοιβάδα της επιδερμίδας σε αριθμό, που εξαρτάται την ανατομική περιοχή. Συνέχονται στενά με ελεύθερες νευρικές απολήξεις και αναπτύσσονται είτε μόνα τους είτε σε συμπλέγματα που ονομάζονται δίσκοι του Merkel ή τριχοειδείς δίσκοι.

### 1.2.2 Χόριο ή Δερμίδα

Το χόριο αποτελεί τον στηρικτικό ιστό της επιδερμίδας, μέσα στον οποίο βρίσκονται τα εξαρτήματα του δέρματος, τα νεύρα, τα αιμοφόρα και λεμφικά αγγεία. Το πάχος του χορίου ποικίλλει ανάλογα με την ανατομική περιοχή από 0,5 έως 4mm. Αποτελείται από δύο στοιβάδες, την ανώτερη ή θυλώδη στοιβάδα και την κατώτερη ή δικτυωτή στοιβάδα. Στο χόριο εντοπίζονται κυρίως ινοβλάστες και ιστιοκύτταρα ( μονοκύτταρα/μακροφάγα) και μαστοκύτταρα. (Steves et Lowe, 2005, Παπαϊωάννου, 2006)

Το θηλώδες χόριο εντοπίζεται κοντά στην δερμοεπιδερμική συμβολή, είναι λεπτό και αποτελείται από χαλαρό συνδετικό ιστό. Περιέχει λιγότερο ελαστίνη και κολλαγόνο αλλά περισσότερη θεμέλια ουσία σε σχέση με το δικτυωτό. Η θεμέλια ουσία αποτελείται από ένα μίγμα πολυσακχαριτών και πρωτεϊνών.

Το δικτυωτό χόριο αποτελείται από πυκνό συνδετικό ιστό και ειδικότερα από εμφανείς πυκνές δεσμίδες κολλαγόνων ινών με παρεμβαλλόμενες επιμήκεις ελαστικές ίνες.

### 1.2.3 Υποδόριος ιστός ή Υπόδερμα

Ο υποδόριος ιστός είναι το βαθύτερο στρώμα του δέρματος. Αποτελείται στο μεγαλύτερο ποσοστό από λιποκύτταρα που χωρίζονται από ινοκολλαγόνωδη διαφράγματα. Περιέχει τα κύρια αιμοφόρα αγγεία, νεύρα και κατώτερα τμήματα των εξαρτημάτων του δέρματος. Το πάχος του ποικίλλει από 2 - 30mm, ανάλογα με το φύλο, την ηλικία και την ανατομική περιοχή. Αυτός ο ιστός συμβάλλει στη διατήρηση της θερμότητας του σώματος, στην απορρόφηση των δονήσεων, στην αποθήκευση θρεπτικών ουσιών και ενέργειας.(Steves et Lowe, 2005, Kirsznbaum et al., 2013)

### 1.3 Αγγείωση

Η κυριότερη παροχή αίματος στο δέρμα εντοπίζεται στη δερμίδα και προέρχεται από τα μεγαλύτερα αγγεία του υποδόριου ιστού. Εντοπίζονται δύο χαρακτηριστικά πλέγματα: ένα βαθύ αγγειακό πλέγμα στην κατώτερη δικτυωτή δερμίδα, κοντά στο όριο με τον υποδόριο ιστό και ένα επιφανειακό αγγειακό πλέγμα στο άνω δικτυωτό χόριο, κοντά στην ένωση με το θηλώδες. Αγκύλες μικρών αγγείων από το επιφανειακό αγγειακό πλέγμα κατευθύνονται προς την θηλώδη δερμίδα, με μικρά τριχοειδικά αγγεία τοποθετημένα κοντά στη βασική μεμβράνη της επιδερμίδας. Τα αγγεία δεν διαπερνούν την επιδερμίδα. Η μεταβλητότητα της ροής του αίματος στη δερμίδα είναι σημαντική, όσο αφορά τη λειτουργία του δέρματος ως θερμορυθμιστικού οργάνου. Τα εξαρτήματα του δέρματος αιματώνονται από κλάδους των αγγείων, τα οποία συνδέουν τα βαθύτερα με τα επιφανειακότερα αγγειακά πλέγματα. (Steves et Lowe, 2005)

### 1.4 Νεύρωση

Το νευρικό δίκτυο του δέρματος βρίσκεται στη δερμίδα και αποτελείται από ένα πλούσιο δίκτυο, προερχόμενο από το νευρικό σύστημα, όπου βρίσκονται οι υποδοχείς της αίσθησης. Η αίσθηση οφείλεται σε ένα αριθμό εξειδικευμένων και μη νευρικών απολήξεων. Οι ελεύθερες νευρικές απολήξεις είναι άφθονες και αποτελούν τους υποδοχείς του πόνου και της θερμότητας. Τα σωματίδια Pacini αποτελούνται από νευρικές απολήξεις που περιβάλλονται από κάψα, έχουν μια χαρακτηριστική δομή και αποτελούν υποδοχείς της πίεσης και, πιθανόν της δόνησης. Είναι τοποθετημένες συνήθως βαθιά στη δερμίδα ή στο υποδόριο λίπος των παλαμών και των πελμάτων. Τα σωματίδια Meissner είναι νευρικές απολήξεις με χαρακτηριστική δομή, που βρίσκονται στη θηλώδη δερμίδα. Είναι πιο άφθονα στα πόδια και στα χέρια και αποτελούν υποδοχείς της αφής. Τα κύτταρα Merkel και οι νευρικές τους συνδέσεις αποτελούν υποδοχείς, οι οποίοι μετατρέπουν το αισθητικό ερέθισμα της αφής. (Steves et Lowe, 2005, Young et al., 2000)

### 1.5 Εξαρτήματα δέρματος

Τα εξαρτήματα του δέρματος είναι οι τρίχες, οι αδένες και οι όνυχες. (Αντωνίου 2015, Steves et Lowe, 2005)

#### 1.5.1 Τρίχες

Οι τρίχες είναι επιμήκεις, κερατινοποιημένες δομές που προβάλλουν στην επιφάνεια του δέρματος. Απαντώνται σε όλη την επιφάνεια του δέρματος εκτός από τα πέλματα, τις παλάμες, την πόσθη και

την ονυχοφόρο φάλαγγα των δακτύλων. Η μορφολογία και η κατανομή τους διαφέρει από άτομο σε άτομο και ανάλογα με το φύλο, την ηλικία και την ανατομική περιοχή του σώματος.

Η τρίχα αποτελείται από δύο κύρια τμήματα, τη ρίζα και το στέλεχος. Η ρίζα είναι το μη ορατό τμήμα της τρίχας το οποίο βρίσκεται στο εσωτερικό του τριχοθυλακίου. Στέλεχος ονομάζεται το τμήμα της τρίχας άνωθεν της εκβολής του σμηγματογόνου αδένου. Το στέλεχος της τρίχας περιβάλλεται από λεπτά και επίπεδα κύτταρα.

### **1.5.2 Σμηματογόνοι Αδένες**

Οι σμηματογόνοι αδένες βρίσκονται στο χόριο και απαντώνται στο μεγαλύτερο μέρος του σώματος εκτός από τις παλάμες και τα πέλματα. Αποτελούν μέρος της τριχοσμηματογόνου μονάδας. Είναι ολοκρινείς αδένες που αποτελούνται από το αδενικό σώμα και τον εκφορητικό πόρο. Ο πόρος είναι βραχύς και ευρύς και συνήθως καταλήγει στην άνω μοίρα ενός τριχοθυλακίου. Οι σμηματογόνοι αδένες αποτελούνται από επιθηλιακά κύτταρα τα οποία, καθώς πολλαπλασιάζονται, υφίστανται λιπώδη εκφύλιση. Στο τέλος τα κύτταρα αυτά διαρρηγνύονται και το προϊόν της διεργασίας αυτής είναι το σμήγμα. Ο ρόλος του σμήγματος είναι η λίπανση των τριχών, ώστε να διατηρείται η ελαστικότητά τους, η λίπανση του δέρματος για να προστατεύεται από τη τριβή καθώς και η αδιαβροχοποίησή του.

### **1.5.3 Ίδρωτοποιοί Αδένες**

Το δέρμα διαθέτει δύο τύπους ιδρωτοποιών αδένων, τους εκκρινείς και τους αποκρινείς. Ο αριθμός τους υπολογίζεται σε πάνω από δυο εκατομμύρια. Ανευρίσκονται σε όλη την επιφάνεια του δέρματος εκτός από το ερυθρό των χειλέων, τον έξω ακουστικό πόρο, την κοίτη των ονύχων, τα έσω χείλη του αιδοίου, τη βάλανο και την έσω επιφάνεια της ακροποσθίας. Η φυσιολογική λειτουργία των ιδρωτοποιών αδένων αφορά την παραγωγή του ιδρώτα ώστε να ελαττώνει τη θερμοκρασία του σώματος, μέσω της εξάτμισης

### **1.5.4 Όνυχες**

Τα νύχια είναι αποπλατυσμένες, ελαφρώς κυρτές, κερατινοποιημένες πλάκες που καλύπτουν το μεγαλύτερο τμήμα της ραχιαίας επιφάνειας της τελικής φάλαγγας των δακτύλων των χεριών και των ποδιών. Το νύχι αποτελείται από τη ρίζα, την ονυχιαία πλάκα και το ελεύθερο άκρο. Ο ρόλος τους είναι η προστασία των ευαίσθητων άκρων των δακτύλων και η συμμετοχή τους στην αίσθηση της αφής.

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

### Δερματική Φλεγμονή

#### 2.1 Γενικά

Η φλεγμονή είναι μια σύνθετη απόκριση του ξενιστή που προκαλείται είτε από την εισβολή ξένων παραγόντων είτε από δυσλειτουργίες του ίδιου του οργανισμού. Αίτια της φλεγμονής μπορεί να είναι φυσικοί παράγοντες (UV ακτινοβολία), τραυματισμοί, χημικοί παράγοντες (τοξίνες), βιολογικοί παράγοντες (βακτήρια, ιοί, μύκητες) και ανοσολογικές διαταραχές (αντιδράσεις υπερευαισθησίας, αυτοανοσία, ανοσοανεπάρκεια).

Οξεία φλεγμονή: Πρόκειται για μια μέτρια, επιφανειακή καταστροφή του δερματικού φραγμού. Πλήττεται συνήθως η επιδερμίδα και μέρος της δερμίδας. Η διαδικασία της επούλωσης διαρκεί μικρό χρονικό διάστημα. Όμως η διαδικασία μπορεί να σταματήσει και να οδηγηθεί σε χρόνια φλεγμονή.

Χρόνια φλεγμονή: Πρόκειται για επιμένουσα φλεγμονή η οποία μπορεί να σχετίζεται με διάφορες παθολογικές καταστάσεις όπως καρδιαγγειακές παθήσεις, διαβήτη, καρκίνο και διάφορα αυτοάνοσα νοσήματα. Παρατηρείται καταστροφή όλων των στρωμάτων του δέρματος. Οι μηχανισμοί βιοχημικής σηματοδότησης της διαδικασίας επούλωσης επηρεάζονται αρνητικά από τις συνυπάρχουσες νόσους.

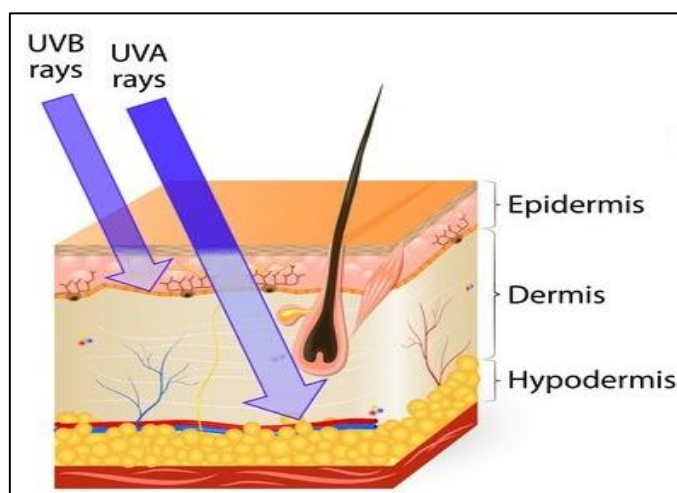
#### 2.2 Φλεγμονή και υπεριώδης ακτινοβολία

Η ηλιακή ακτινοβολία είναι υπεύθυνη για τη θερμότητα και το φως που είναι απαραίτητα για τη ζωή. Πρόκειται για ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία που αποτελείται κυρίως από υπεριώδη ακτινοβολία (200-400 nm), ορατό φάσμα (400-760 nm) και υπέρυθρη ακτινοβολία (760-3000 nm). Η υπέρυθρη ακτινοβολία IR γίνεται αντιληπτή απ' τους ανθρώπους ως θερμότητα, ενώ η ορατή ως φως. Η υπεριώδης ακτινοβολία (UV) δε γίνεται αντιληπτή αλλά είναι υπεύθυνη για ποικίλες δυσλειτουργίες στους οργανισμούς. (Brian, 2002, Παπαϊωάννου, 2006) Χωρίζεται σε 3 ζώνες:

UV-A ακτινοβολία (320-400 nm): διαπερνά την ατμόσφαιρά χωρίς να απορροφάται από αυτήν και διεισδύει στη δερμίδα. Είναι υπεύθυνη για την καταστροφή του συνδετικού ιστού και αυξάνει τη πιθανότητα εμφάνισης καρκίνου του δέρματος.

UV-B ακτινοβολία (290-320 nm): το μεγαλύτερο της μέρος απορροφάται από την επιδερμίδα. Προκαλεί έντονες βιολογικές αντιδράσεις καθώς προκαλεί καταστροφή του DNA, επηρεάζει την παραγωγή μελανίνης, των πρωτεϊνών και των λιπιδίων.

UV-C ακτινοβολία (200-290 nm): είναι η πιο επικίνδυνη καθώς είναι υπεύθυνη για τη δημιουργία μεταλλάξεων σε δοκιμασίες στο εργαστήριο. Στο περιβάλλον απορροφάται από το όζον της στρατόσφαιρας.



**Εικόνα 2 Διαπερατότητα της UV ακτινοβολία στις στοιβάδες του δέρματος**

Τα αποτελέσματα της επίδρασης της ακτινοβολίας εξαρτάται από την ποσότητα που απορροφάται από το δέρμα. Η δόση ακτινοβολίας που δέχεται ένας άνθρωπος κατά τη διάρκεια της ημέρας είναι αποτέλεσμα της έντασης της, πολλαπλασιαζόμενης με τη διάρκεια έκθεσης σε αυτή. Η ένταση της ακτινοβολίας εξαρτάται από αρκετούς παράγοντες όπως η θέση του ήλιου, η ανάκλαση από το έδαφος, το υψόμετρο και η παρουσία νέφους ή σωματιδίων στην ατμόσφαιρα. Η συχνότητα έκθεσης σε υπεριώδη ακτινοβολία διαφοροποιεί τις δερματικές βλάβες.

Η βραχυπρόθεσμη έκθεση προκαλεί ερύθημα, αύξηση της θερμοκρασίας, οίδημα, πόνο, κνησμό και ακολουθείται από πάχυνση του δέρματος και μελάγχρωση. Η χρόνια έκθεση προκαλεί φωτογήρανση, γενετικές μεταλλάξεις και καρκινογένεση.

Η αρχική απόκριση του δέρματος στην υπεριώδη ακτινοβολία είναι η εμφάνιση της φλεγμονής. Επάγεται η παραγωγή κυτοκινών, αγγειοδραστικών και νευροδραστικών μεσολαβητών στο δέρμα, που οδηγούν σε μια φλεγμονώδη απόκριση. Αρχικά παρατηρείται ερύθημα στην περιοχή που οφείλεται στην αγγειοδιαστολή των δερματικών αιμοφόρων αγγείων. Ακολουθούν προσαρμοστικές αλλαγές στο δέρμα μετά την έκθεση σε υπεριώδες φως όπως αυξημένη αγγειογένεση, υπερκερράτωση και μελανογένεση. Εάν η δόση της υπεριώδους ακτινοβολίας υπερβαίνει ένα συγκεκριμένο ποσοστό τα κερατινοκύτταρα οδηγούνται σε απόπτωση και πεθαίνουν. Ωστόσο,

αρκετές ώρες μετά την έκθεση στην υπεριώδη ακτινοβολία τα «σήματα απόκρισης βλαβών» μειώνονται και τα επιδερμικά κερατινοκύτταρα πολλαπλασιάζονται ταχέως, με τη μεσολάβηση μιας ποικιλίας επιδερμικών αυξητικών παραγόντων. Συνήθως, η μέγιστη αύξηση στον πολλαπλασιασμό των κερατινοκυττάρων παρατηρείται 48 ώρες μετά την ακτινοβολία.(Ichihashi et al., 2003, Dorazio et al., 2013) Οι υπερπλαστικές επιδράσεις μιας μόνο έκθεσης του δέρματος του ποντικιού μπορούν να διαρκέσουν μέχρι 2 εβδομάδες. σε μια συνολική μείωση της λειτουργίας φραγμού του δέρματος Η αυξημένη διαίρεση κερατινοκυττάρων μετά την έκθεση σε υπεριώδη ακτινοβολία, οδηγεί σε συσσώρευση επιδερμικών κερατινοκυττάρων που αυξάνει το επιδερμικό πάχος. Η επιδερμική υπερπλασία προστατεύει καλύτερα το δέρμα από τη διείσδυση της UV. Σε συνδυασμό με την επιδερμική υπερκεράτωση ενεργοποιείται και η σταδιακή παραγωγή μελανίνης. Έτσι παρέχεται αυξημένη προστασία από τις βλαβερές συνέπειες της έκθεσης σε υπεριώδη ακτινοβολία. (Παπαϊωάννου, 2006)

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3

### Επούλωση

#### 3.1 Φυσιολογία Επούλωσης

Τραύμα είναι η λύση της συνέχειας της επιφάνειας του δέρματος και μπορεί να συνοδεύεται από διαταραχή στην φυσιολογική ανατομία και λειτουργία του επιθηλίου ή και των υποκείμενων φυσιολογικών ιστών. (Schultz G.S., 1999)

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

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

Η διάρκεια και οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ των παραγόντων που συμμετέχουν στην διαδικασία της επούλωσης του τραύματος διαφέρουν για τα οξεία και χρόνια τραύματα, παρόλα αυτά οι βασικές φάσεις παραμένουν ίδιες.

#### 3.2 Τρόποι Επούλωσης

##### 3.2.1 Επούλωση κατά πρώτο σκοπό (Wound healing by first intention)

Αποκαλείται όταν η πληγή έχει κλείσει στο διάστημα 12 με 24 ωρών από την πρόκληση της (π.χ. χειρουργική τομή). Η προσέγγιση των χειλών του τραύματος μπορούν να γίνουν με χρήση ραμμάτων, κόλλας, ταινίας ή μηχανικής συσκευής. Η τομή προκαλεί μόνο επιφανειακή διακοπή της συνέχειας της επιθηλιακής βασικής μεμβράνης, και θάνατο σχετικά λίγων επιθηλιακών και υποκείμενων κύτταρων του συνδετικού ιστού. (Enoch et Leaper, 2007)

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

Συμβαίνει σε μία μολυσμένη ή με ανώμαλα χείλη πληγή που κλείνει μετά από λίγες μέρες έχοντας μείνει ανοιχτή με σκοπό οποιαδήποτε μόλυνση ή λοίμωξη ή νεκρός ιστός να απομακρυνθεί (π.χ. δήγματα). Τα χείλη του τραύματος τότε προσεγγίζονται και η επούλωση πλέον γίνεται κατά πρώτο σκοπό. (Enoch et Leaper, 2007)



### **3.2.3 Επούλωση κατά δεύτερο σκοπό (Wound healing by second intention)**

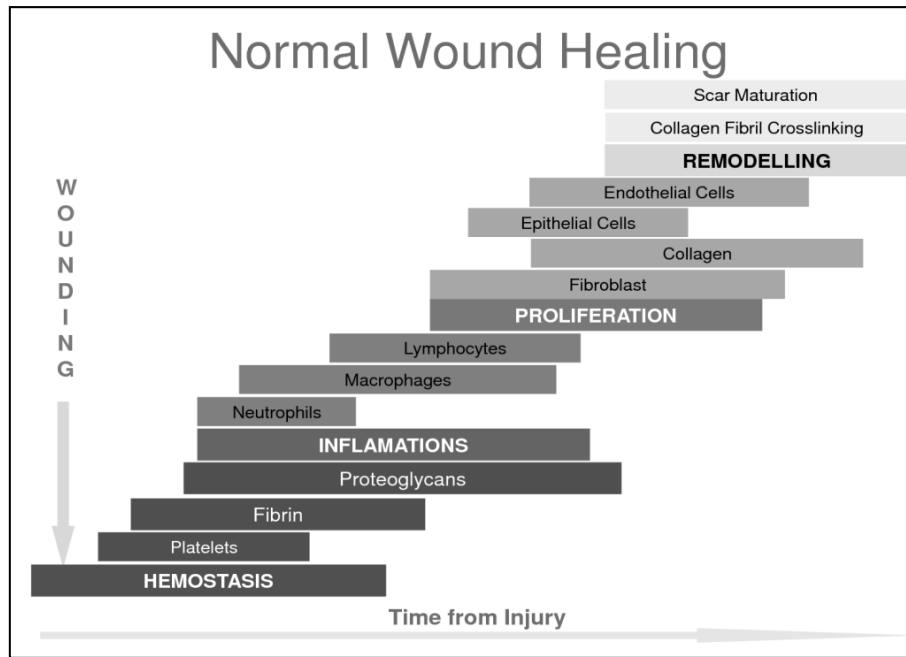
Πρόκειται για πληγή όπου τα άκρα της δεν μπορούν να προσεγγιστούν, όπως σε μεγάλα τραύματα, σοβαρά εγκαύματα και χειρουργικές επεμβάσεις. Η αναγέννηση των επιθηλιακών κυττάρων από μόνη της δεν αρκεί ώστε να αποκαταστήσει την αρχική δομή του δέρματος, έτσι απαιτείται η ανάπτυξη του κοκκιώδους ιστού από τα χείλη του τραύματος, και του συνδετικού ιστού του εξωκυττάρου υποστρώματος (extracellular matrix). Αυτές οι ολικού πάχους πληγές, κλείνουν μέσω της επιθηλιοποίησης και της ταυτόχρονης συστολής του τραύματος. (Enoch et Leaper, 2007)

### **3.2.4 Επούλωση των μερικού πάχους τραυμάτων (Wound healing of partial thickness wounds)**

Συμβαίνει σε τραυματισμούς, όπως επιφανειακά εγκαύματα ή εκδορές όπου η βλάβη εντοπίζεται στο επιθήλιο και το επιφανειακό (θηλώδες) μέρος του χορίου. Η βασική στιβάδα παραμένει άθικτη ενώ επιθηλιακά κύτταρα σε συνδυασμό με τα δερματικά εξαρτήματα όπως τους θύλακες των τριχών και των σμηγματογόνων αδένων πολλαπλασιάζονται ώστε να καλύψουν το εκτεθειμένο χόριο. Η επούλωση συμβαίνει μέσω επιθηλιοποίησης ενώ η ανατομική και η φυσιολογική αποκατάσταση της βλάβης είναι σχεδόν πλήρης. (Enoch et Leaper, 2007)

## **3.3 Φάσεις επούλωσης**

Η επούλωση του τραύματος κατά την Wound Healing Society (WHS) είναι μια πολλαγοντική, δυναμική διαδικασία που έχει ως αποτέλεσμα την αποκατάσταση της ανατομικής συνέχειας και λειτουργίας. Η φυσιολογική επούλωση πληγών περιλαμβάνει τέσσερις αλληλεπικαλυπτόμενες διεργασίες συμπεριλαμβανομένης οι οποίες απαιτούν τον συντονισμό μιας ποικιλίας κυτταρικών δραστηριοτήτων, όπως η φαγοκυττάρωση, η χημειοταξία, η μιτωτική διέγερση και η σύνθεση των συστατικών του εξωκυττάρου υποστρώματος. Αμέσως μετά τον τραυματισμό αρχίζει η φάση της αιμόστασης η οποία ακολουθείται από τη φάση της φλεγμονής η οποία μπορεί να διαρκέσει έως και μια εβδομάδα. Η διαδικασία συνεχίζει με τη φάση του πολλαπλασιασμού εντός 1-3 εβδομάδων και ολοκληρώνεται με τη φάση της αναδιαμόρφωσης της ουλής. Η παρέκκλιση από τη φυσιολογική διαδικασία της επούλωσης τραύματος όπως η υπερβολική επούλωση πληγών (υπερτροφική ουλή και χηλοειδής) ή η χρόνια πληγή (έλκος) εμποδίζει τη φυσιολογική λειτουργία του δέρματος. (Enoch et Leaper, 2007, Velnar et al., 2009)



Εικόνα 3 Φάσεις της επούλωσης (Menke και Diegelmann, 2006)

### 3.3.1 Φάση 1: Αιμόσταση

Κατά την πρόκληση του τραύματος συνήθως προκαλείται αιμορραγία. Ο ρόλος της αιμορραγίας είναι διττός: το ξέπλυμα της πληγής από μικροοργανισμούς και αντιγόνα και η ενεργοποίηση της αιμόστασης. Το πρώτο βήμα κατά τον τραυματισμό του δέρματος, είναι η πρόκληση αγγειοσυστολής για περιορισμό της απώλειας αίματος. Στη συνέχεια, τα αιμοπετάλια συγκολλούνται για να σφραγίσουν τη ρωγμή στο τοίχωμα του αιμοφόρου αγγείου, απελευθερώνοντας κυτταροκίνες, αυξητικούς παράγοντες και πολλούς προφλεγμονώδεις μεσολαβητές. Η συσσωμάτωση αυτή ενεργοποιεί τον καταρράκτη της πήξης που οδηγεί στο σχηματισμό του ινώδους. Τα αιμοπετάλια εγκλωβίζονται στον ιώδη θρόμβο αυξάνοντας τον όγκο του, σχηματίζοντας μια μεμβράνη στην οποία τα ανενεργά ένζυμα πήξεως ενεργοποιούνται και προωθείται περαιτέρω ο καταρράκτης πήξης. (Beldon, 2010) Έτσι αποκαθίσταται σταδιακά η ομοιόσταση και σχηματίζεται ένας φραγμός κατά της εισβολής μικροοργανισμών οργανώνοντας μια «προσωρινή» εξωκυττάρια μήτρα για τη μετανάστευση κυττάρων.

Η διαδικασία της αιμόστασης είναι υπεύθυνη για την προώθηση του επόμενου σταδίου της επούλωσης μέσω παραγόντων που απελευθερώνονται από τα άλφα κοκκία των αιμοπεταλίων. Τα ουδετερόφιλα και τα μονοκύτταρα ενεργοποιούνται από τους παράγοντες PDGF (αιμοπεταλιακό αυξητικό παράγοντα) και TGF-β (Transforming Growth Factor beta). Ο αυξητικός παράγοντας TGF-β προσελκύει μακροφάγα στην περιοχή του τραύματος και τα διεγείρει για να παράγουν επιπρόσθετες κυτταροκίνες, συμπεριλαμβανομένων των FGF (αυξητικός παράγοντας ινοβλαστών), PDGF, TNFα (Tumor Necrosis Factor alpha) και IL-1 (Ιντερλευκίνη 1). Τα ενδοθηλιακά κύτταρα

ενεργοποιούνται από τον αγγειακό ενδοθηλιακό αυξητικό παράγοντα (VEGF), τον τροποποιημένο αυξητικό παράγοντα άλφα (TGF- $\alpha$ ) και τον βασικό αυξητικό παράγοντα ινοβλαστών (bFGF). Οι ινοβλάστες ενεργοποιούνται από τον PDGF ώστε να αρχίσει η μετανάστευση προς την περιοχή του τραύματος και παράγουν κολλαγόνο και γλυκοζαμινογλυκάνες, διευκολύνοντας έτσι την κυτταρική μετανάστευση και τις αλληλεπιδράσεις με το κυτταρικό υπόστρωμα, παρέχοντας ένα πλαίσιο υποστήριξης. Εκτός από τους παράγοντες που απελευθερώνονται από τα αιμοπετάλια, απελευθερώνονται και πρωτεΐνες του συμπληρώματος. (Menke et Diegelmann, 2006)

### **3.3.2 Φάση 2: Φλεγμονή**

Η φλεγμονώδης φάση της επούλωσης ενεργοποιείται σταδιακά κατά τη διάρκεια της αιμόστασης και της θρόμβωσης. Είναι δυνατόν να διαιρεθεί σε μια πρώιμη φάση που συμμετέχουν τα ουδετερόφιλα και σε μια καθυστερημένη φάση με την εμφάνιση και τον μετασχηματισμό των μονοκυττάρων. Τα πιο συχνά συμπτώματα φάση της φλεγμονής είναι η ερυθρότητα, το οίδημα, η αύξηση της θερμοκρασίας και ο πόνος.

Οι χημικοί μεσολαβητές που εμπλέκονται στη φάση της αιμόστασης, προκαλούν επίσης αύξηση της διαπερατότητας των τοπικών τριχοειδών και φλεβιδίων, διευρύνοντας τις διακυτταρικές σχισμές ή πόρους δια των οποίων μπορούν να μετακινηθούν οι πρωτεΐνες. Η αγγειοδιαστολή και η αύξηση της διαπερατότητας των τριχοειδών και των φλεβιδίων αυξάνει την αιματική ροή στη φλεγμαίνουσα περιοχή με αποτέλεσμα παρουσία ερυθρότητας και αύξηση της θερμοκρασίας προάγοντας τη μεταφορά πρωτεϊνών και λευκοκυττάρων από το πλάσμα στο μεσοκυττάριο υγρό, όπου αυτές συμμετέχουν στη φλεγμονή. Παράλληλα προκαλείται διήθηση του πλάσματος προς το μεσοκυττάριο υγρό και σχηματισμό οιδήματος. (Boron et Boulpaep, 2006)

### **Πρωτογενής Φλεγμονώδης Φάση**

Η πρωτογενής φλεγμονώδης αντίδραση ξεκινά κατά τη διάρκεια της πήξης και έχει ποικίλες λειτουργίες. Κατά την ενεργοποίηση του καταρράκτη του συμπληρώματος, εκκινούν μοριακά μονοπάτια, που οδηγούν σε διείσδυση της περιοχής του τραύματος από τα ουδετερόφιλα. Τα ουδετερόφιλα περιβάλλουν τα ξένα σώματα και τα κατεστραμμένα κύτταρα και παράγουν υδρολυτικά ένζυμα, τα οποία αποδομούν τα κατεστραμμένα κύτταρα. Η φαγοκυτταρική δραστηριότητα είναι σημαντική για τη μετέπειτα πορεία των διαδικασιών, δεδομένου ότι πληγές που έχουν βακτηριακή μόλυνση δεν επουλώνονται. (Robson, 1997)

Με την έναρξη της φλεγμονής, τα κυκλοφορούντα ουδετερόφιλα αρχίζουν να μετακινούνται έξω από τα αιμοφόρα αγγεία προς τον προσβεβλημένο ιστό μέσω των μορίων προσκόλλησης τόσο των ενδοθηλιακών κυττάρων, όσο και των ουδετερόφιλων. Η μετακίνηση αυτή εξαρτάται από τα επίπεδα

διαφόρων χημειοτακτικών παραγόντων που παράγονται στην περιοχή που έχει υποστεί βλάβη από μικρόβια. Οι χημειοκίνες που εκκρίνονται από τα ενδοθηλιακά κύτταρα ενεργοποιούν ταχύτατα ένα ισχυρότερο σύστημα προσκόλλησης που αποτελείται από τις ιντεγκρίνες με αποτέλεσμα τη στενή σύνδεση ενδοθηλιακών και ουδετερόφιλων κυττάρων. Τα ενεργοποιημένα λευκοκύτταρα μεταναστεύουν από τα ενδοθηλιακά κύτταρα και κινούνται στην περιοχή του τραυματισμένου ιστού μέσω των υποδοχέων ιντεγκρίνης που συνδέονται με τα συστατικά του εξωκυττάρου υποστρώματος (ECM). Σε εκείνο το σημείο, τα φλεγμονώδη κύτταρα εκκρίνουν ελαστάση και κολλαγενάση προκειμένου να μετακινηθούν εντός της ECM. (Boron et Boulraep, 2006, Menke et Diegelmann, 2006)

Η κίνηση των λευκοκυττάρων από το αίμα προς την περιοχή που έχει υποστεί βλάβη δεν περιορίζεται στα ουδετερόφιλα. Τα μονοκύτταρα έπονται και μετατρέπονται σε μακροφάγα, όταν ο ιστός έχει υποστεί ανατομικές και λειτουργικές αλλαγές. Η δραστηριότητα των ουδετερόφιλων αλλάζει σταδιακά (σε διάστημα 2-3 ημερών), όταν όλα τα μολυσματικά βακτήρια έχουν καταστραφεί τα ουδετερόφιλα απομακρύνονται από την πληγή πριν από τη μετάβαση στην επόμενη φάση της επούλωσης. Απορρίπτονται με εξώθηση στην επιφάνεια του τραύματος και απόπτωση, επιτρέποντας την εξάλειψη του συνόλου του πληθυσμού των ουδετερόφιλων χωρίς την πρόκληση βλάβης στον ιστό ή κλιμάκωση της φλεγμονώδους ανταπόκρισης επιτρέποντας στα μονοκύτταρα να κυριαρχήσουν. Τα ουδετερόφιλα παράγουν και απελευθερώνουν φλεγμονώδεις μεσολαβητές, όπως TNF- $\alpha$  και IL-1, οι οποίοι ενεργοποιούν περισσότερα ουδετερόφιλα καθώς και ινοβλάστες αλλά και επιθηλιακά κύτταρα. (Menke et Diegelmann, 2006)

### **Δευτερογενής Φλεγμονώδης Φάση**

Κατά τη δευτερογενής φλεγμονώδης φάση (48-72 ώρες μετά τον τραυματισμό) τα μακροφάγα εμφανίζονται στην περιοχή της πληγής ώστε να ξεκινήσει η διαδικασία της φαγοκυττάρωσης. Έχουν μεγαλύτερη διάρκεια ζωής σε σχέση με τα ουδετερόφιλα και συνεχίζουν να δραστηριοποιούνται σε χαμηλότερο pH. Αυτά τα κύτταρα απελευθερώνουν πλήθος ισχυρών παραγόντων ανάπτυξης ιστών, όπως TGF- $\beta$ , TGF- $\alpha$ , ηπαρινικό δεσμευτικό επιδερμικό αυξητικό παράγοντα, αυξητικό παράγοντα ινοβλαστών (FGF) και κολλαγενάση. Επίσης, ενεργοποιούν κερατινοκύτταρα, ινοβλάστες και ενδοθηλιακά κύτταρα. Είναι σαφές ότι η εξάντληση των μονοκυττάρων και των μακροφάγων από το τραύμα προκαλεί σοβαρές διαταραχές της επούλωσης που οφείλονται στον κακό χειρουργικό καθαρισμό του τραύματος, με αποτέλεσμα την καθυστέρηση του πολλαπλασιασμού, της ωρίμανσης των ινοβλαστών και της αγγειογένεσης, ανεπαρκή σχηματισμό συνδετικού ιστού και ατελή επούλωση. Επιπλέον, οι ινοβλάστες συνθέτουν, αποθηκεύουν και οργανώνουν το προσωρινό ECM που σε συνδυασμό με την ικανότητα να μειώνουν τα πρωτεολυτικά κατάλοιπα, οδηγούν στην

έναρξη της πολλαπλασιαστικής φάσης. Καθώς ο αριθμός των μακροφάγων μειώνεται, ο αριθμός των ινοβλαστών αυξάνει και η επουλωτική διαδικασία αρχίζει να εισέρχεται στην φάση του πολλαπλασιασμού. (Menke et Diegelmann, 2006)

### **3.3.3 Φάση 3: Πολλαπλασιασμός**

Η πολλαπλασιαστική φάση ξεκινά την τρίτη ημέρα μετά τον τραυματισμό και διαρκεί έως και 3 εβδομάδες. Βασικά στάδια αυτής της φάσης είναι η μετανάστευση των ινοβλαστών, η σύνθεση του κολλαγόνου, η αγγειογένεση, ο σχηματισμός του κοκκιώδους ιστού και η επιθηλιοποίηση. (Velnar et al., 2009)

#### **Μετανάστευση των ινοβλαστών**

Μετά από τραυματισμό, οι ινοβλάστες πολλαπλασιάζονται στην περιοχή του τραύματος αμέσως μετά τη φάση της φλεγμονής, από την επίδραση αυξητικών παραγόντων που εκκρίνονται από τα αιμοπετάλια και τα μακροφάγα. Οι ινοβλάστες εμφανίζονται για πρώτη φορά στην πληγή την τρίτη ημέρα από τον τραυματισμό. Οι ινοβλάστες αποτελούν τα κύρια κύτταρα παραγωγής της θεμέλιας ουσίας. Εκτός από κολλαγόνο, παράγουν και άλλες ουσίες όπως: τενασίνη, ινωδονεκτίνη και πρωτεογλυκάνες. Μέχρι το τέλος της πρώτης εβδομάδας, παράγεται άφθονο εξωκυττάριο υπόστρωμα, το οποίο υποστηρίζει περαιτέρω τη μετανάστευση των κυττάρων και είναι απαραίτητο για την επιδιορθωτική διαδικασία. Στη συνέχεια, οι ινοβλάστες μετατρέπονται φαινοτυπικά σε μυοϊνοβλάστες που συνδυάζουν δομή και ιδιότητες ινοβλαστών αλλά και λείων μυϊκών κυττάρων. Η συστολή του τραύματος είναι σημαντική για την επιδιορθωτική διαδικασία που βοηθά στην προσέγγιση των άκρων της πληγής. Όταν ολοκληρωθεί αυτή η διαδικασία οι περιττοί ινοβλάστες αποβάλλονται με απόπτωση. (Ramasastry, 2005)

#### **Σύνθεση του Κολλαγόνου**

Η σύνθεση του κολλαγόνου είναι ιδιαίτερα σημαντική διαδικασία σε όλες τις φάσεις της επούλωσης του τραύματος. Η ανεπαρκής αιμάτωση του τραυματικού ιστού σε συνδυασμό με τις αυξημένες μεταβολικές ανάγκες του, οδηγούν σε τοπική μεταβολική οξέωση και συγκέντρωση γαλακτικού οξέος. Αυτό αποτελεί το έναυσμα για την παραγωγή κολλαγόνου από τους ινοβλάστες. (Lazarus et al., 1994) Το κολλαγόνο προσδίδει ακεραιότητα και αντοχή σε όλους τους ιστούς και διαδραματίζει καθοριστικό ρόλο ειδικά στην πολλαπλασιαστική φάση αλλά και στη φάση της αναδιαμόρφωσης καθώς λειτουργεί ως πηγή για τη δημιουργία του εξωκυττάριου υποστρώματος μεταξύ των κυττάρων της πληγής. Αρχικά το κολλαγόνο παράγεται ως ενδοκυττάρια μακρομοριακή πρωτεΐνη, το προ κολλαγόνο, το οποίο περιέχει προλίνη και λυσίνη. Ακολουθεί ενδοκυττάρια υδροξυλίωση της προλίνης και της λυσίνης με την καταλυτική δράση της βιταμίνης C και στη συνέχεια εξωκυττάρια

έκκριση κολλαγόνου. Στο τραύμα συντίθεται κυρίως ο τύπος ΙΙΙ κολλαγόνου. (Enquist et Adamson, 1965, Tanzer, 1973)

### **Αγγειογένεση και Σχηματισμός του Κοκκιώδους Ιστού**

Η διαμόρφωση και η δημιουργία νέων αιμοφόρων αγγείων είναι κρίσιμη στην επούλωση τραυμάτων και συμβαίνει σε όλες τις φάσεις της επιδιορθωτικής διαδικασίας. Η νεοαγγειογένεση είναι μια διαδικασία πολύπλοκη, κατά την οποία τα μακροφάγα εκκρίνουν αφενός χημειοτακτικούς παράγοντες που ενισχύουν την μετανάστευση μυοϊνοβλαστών στο τραύμα και αφετέρου αυξητικούς παράγοντες που προάγουν τη δημιουργία νεόπλαστων αγγείων, τα οποία στη συνέχεια διαφοροποιούνται σε αρτηρίδια και φλεβίδια. (Ruszczak et Schwartz, 2000, Gillitzer et Goebeler, 2001, Munster, 1984) Το πρώτο βήμα για το σχηματισμό νέων αγγείων είναι η σύνδεση των αυξητικών παραγόντων με υποδοχείς επί των ενδοθηλιακών κυττάρων των υφισταμένων αιμοφόρων αγγείων, με αποτέλεσμα την ενεργοποίηση ενδοκυττάρου καταρράκτη σηματοδότησης. Τα ενδοθηλιακά κύτταρα απελευθερώνουν μεγαλοπρωτεΐνες της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας προκαλώντας λύση του περιβάλλοντος ιστού ώστε να είναι εφικτός ο συνεχής πολλαπλασιασμός του ενδοθηλίου.

### **Επιθηλιοποίηση**

Με τον όρο επιθηλιοποίηση εννοούμε την αναγέννηση των στιβάδων του δέρματος. Αρχίζει από τα όρια του τραύματος και από τα επιθηλιακά στοιχεία των εξαρτημάτων του δέρματος στο χόριο. Μέσα σε λίγες ώρες από τον τραυματισμό, μια μονή ζώνη κυττάρων διαμορφώνεται επάνω από τη βλάβη και συνοδεύεται από μια σημαντική αύξηση της μιτωτικής δραστηριότητας των επιθηλιακών κυττάρων γύρω από τα χείλη του τραύματος. Η διαδικασία αυτή ενεργοποιείται μέσω οδών σηματοδότησης από τα επιθηλιακά και μη επιθηλιακά κύτταρα στα χείλη του τραύματος, τα οποία απελευθερώνουν ένα πλήθος διαφορετικών κυτταροκινών και αυξητικών παραγόντων. (Roh et Lyle, 2006) Η διαδικασία κατά την οποία τα ενεργοποιημένα κερατινοκύτταρα μεταναστεύουν στα υψηλότερα στρώματα του κοκκιώδους ιστού ονομάζεται αναδιάταξη των κερατινοκυττάρων. (Jacinto et al., 2001) Όταν τα προωθημένα επιθηλιακά κύτταρα γεμίσουν το ιστικό χάσμα που είχε προκληθεί, η μετανάστευση σταματά και η βασική μεμβράνη αρχίζει να διαμορφώνεται. (Roh et Lyle, 2006, Clark, 1993, Rowlatt, 1979) Η ένωση των απέναντι επιθηλίων πραγματοποιείται μέσω αποικοδόμησης των ινών ακτίνης οι οποίες αντικαθιστούν τις μεσοκυττάριας επαφές ώστε να κλείσει η πληγή. Σε περιπτώσεις που υπάρχει ιστικό έλλειμμα και έχει σχηματισθεί εσχάρα λόγω ξηρότητας του έλκους, τότε θα αναπτυχθεί επιθήλιο μόνο όπου οι τοπικές συνθήκες είναι ικανές να υποστηρίξουν και να θρέψουν τα επιθηλιακά κύτταρα, ενώ όταν το τραύμα διατηρείται σε συνθήκες

ελεγχόμενης υγρασίας και δεν είναι εκτεθειμένο, τότε τα επιθηλιακά κύτταρα καλύπτουν πλήρως και ανεμπόδιστα την τραυματική περιοχή και σε συντομότερο χρονικό διάστημα

### 3.3.4 Φάση 4: Αναδιαμόρφωση

Η αναδιαμορφωτική φάση αποτελεί την τελική φάση της επούλωσης και είναι υπεύθυνη για την ανάπτυξη του νέου επιθηλίου και του τελικού σχηματισμού της ουλής. Η σύνθεση του εξωκυττάριου υποστρώματος στην πολλαπλασιαστική και αναδιαμορφωτική φάση γίνεται ταυτόχρονα με τη δημιουργία του κοκκιώδους ιστού. Αυτή η φάση μπορεί να διαρκέσει μέχρι και 2 χρόνια, ή μερικές φορές ακόμη περισσότερο. (Witte et al., 2002, Samuels et Tan, 1999) Η αναδιαμόρφωση της πληγής είναι αυστηρά ελεγχόμενη από ρυθμιστικούς μηχανισμούς, με σκοπό τη διατήρηση ισορροπίας μεταξύ της καταστροφής και της σύνθεσης, στοχεύοντας στη φυσιολογική επούλωση. Ιδιαίτερα, εξαρτάται από την ενδοκυτταρική ωρίμανση του υποστρώματος, την αύξηση της διαμέτρου των δεσμών κολλαγόνου και την καταστροφή του υαλουρονικού οξέος και της φμπρονεκτίνης. (Hunt et al., 2000, Baum et Arpey, 2005) Η μηχανική αντοχή του τραύματος αυξάνει προοδευτικά με την εναπόθεση κολλαγόνου. (Baum et Arpey, 2005, Clark, 1993) Οι ίνες κολλαγόνου μπορούν να ανακτήσουν περίπου το 80% της αρχικής αντοχής σε σύγκριση με μη τραυματισμένο ιστό. (Robson et al., 1991) Η σύνθεση του κολλαγόνου όπως και η αναδιαμόρφωση του εξωκυττάριου υποστρώματος τείνουν να σταθεροποιηθούν περίπου 3 εβδομάδες μετά τον τραυματισμό. (Ennis et Meneses, 2000) Παρά το γεγονός ότι η αρχική εναπόθεση των δεσμών κολλαγόνου είναι εξαιρετικά αποδιοργανωμένη, η διαμόρφωση του νέου κολλαγόνου του υποστρώματος γίνεται όλο και πιο προσανατολισμένη και διασταυρούμενη με την πάροδο του χρόνου. (Velnar et al., 2009) Το κολλαγόνο τύπου III, το οποίο είχε παραχθεί στην πολλαπλασιαστική φάση, έχει πλέον αντικατασταθεί από το ισχυρότερο κολλαγόνο τύπου I. (Gurtner et Evans, 2000) Σε επόμενο στάδιο, οι μυοϊνοβλάστες προκαλούν συσπάσεις στην πληγή και πολλαπλές προσκολλήσεις στο κολλαγόνο, με αποτέλεσμα την μείωση της επιφάνειας της ουλής. (Tziotzios et al., 2012, Profyris et al., 2012) Δεδομένου ότι η πληγή επουλώνεται, η πυκνότητα των ινοβλαστών και των μακροφάγων μειώνεται σταδιακά ακόμη περισσότερο μέσω απόπτωσης. (Greenhalgh, 2005) Με την πάροδο του χρόνου, η ανάπτυξη των τριχοειδών σταματά, η ροή του αίματος στην περιοχή μειώνεται και η μεταβολική δραστηριότητα ελαττώνεται. (Clark, 1993) Ορισμένα δερματικά εξαρτήματα, όπως τριχοθυλάκια και ιδρωτοποιοί αδένες δεν θα ανακάμψουν ποτέ πλήρως μετά το κλείσιμο της πληγής καθώς δεν έχουν καμία δυνατότητα να θεραπευτούν ή να αναπτυχθούν ξανά μετά από σοβαρό τραυματισμό. Η επιδερμίδα της προκύπτουσας ουλής, μετά την επούλωση της πληγής παρουσιάζει διαφορές σε σχέση με τη φυσιολογική. (Robson et al., 2001).

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4

### Οξειδωτικό στρες

#### 4.1 Γενικά

Οι ελεύθερες ρίζες και το οξειδωτικό στρες συμβάλλουν στην πρόκληση και στην εξέλιξη πλήθος ασθενειών. Επομένως, συνδέονται άμεσα με τη θεραπεία της φλεγμονής και τη διαδικασία της επούλωσης. Οι οργανισμοί λόγω της συνεχής τους έκθεση στις βλαπτικές δράσεις των ελευθέρων ριζών έχουν αναπτύξει προστατευτικούς μηχανισμούς. Οι μηχανισμοί αυτοί πρόκειται για μηχανισμούς πρόληψης, μηχανισμούς επιδιόρθωσης και αντιοξειδωτικοί μηχανισμοί. (Γιαννακοπούλου, 2009)

#### 4.2 Ελεύθερες ρίζες, Αντιοξειδωτικά και Οξειδωτικό Στρες

Ως ελεύθερες ρίζες καλούνται τα μόρια ή τμήματα μορίων ή στοιχεία που φέρουν ένα ή περισσότερα μονήρη ασύζευκτα ηλεκτρόνια. Οι ελεύθερες ρίζες είναι ασταθείς-δραστικές ενώσεις και τείνουν να αποσπών ένα άτομο με ηλεκτρόνιο για τη δημιουργία ζεύγους.

Ως αντιοξειδωτικό χαρακτηρίζεται οποιαδήποτε ουσία, η οποία, όταν είναι παρούσα σε χαμηλές συγκεντρώσεις συγκριτικά με εκείνες των υποστρωμάτων που πρόκειται να οξειδωθούν, καθυστερεί ή αναστέλλει την οξείδωση αυτών των υποστρωμάτων. (Halliwell et Gutteridge, 1989)

Το οξειδωτικό στρες προκαλείται από την διαταραχή της ισορροπίας ανάμεσα στην παραγωγή ελευθέρων ριζών και της ικανότητας των βιολογικών συστημάτων να τις εξουδετερώνουν ή να επισκευάζουν τις βλάβες. (Palmer et Kichin, 2010) Ευρέως γνωστοί προ-οξειδωτικοί παράγοντες είναι οι ενεργές ενώσεις οξυγόνου (ROS Reactive Oxygen Species)

#### 4.3 Ρόλος των ελευθέρων ριζών

Οι ελεύθερες ρίζες που αποτελούν τα προϊόντα μεταβολισμού του φυσιολογικού κυττάρου έχουν ευεργετικό ή επιβλαβή ρόλο. Σε υψηλές συγκεντρώσεις, οι ελεύθερες ρίζες και οι δραστικές μορφές οξυγόνου και αζώτου είναι επικίνδυνες για τους ζωντανούς οργανισμούς και ευθύνονται για βλάβες των κυτταρικών συστατικών. Σε μέτριες και χαμηλές συγκεντρώσεις, οι ελεύθερες ρίζες ασκούν ευεργετικές δράσεις οι οποίες αφορούν την κυτταρική απόκριση στο stress, στη διαφοροποίηση του κυττάρου, στη δυνατότητα μεταγραφής γονιδίων, στον πολλαπλασιασμό των κυττάρων, στη διεργασία της φλεγμονής και στην απόπτωση. Σε μέτριες συγκεντρώσεις, επίσης, το μονοξειδίο του αζώτου (NO), το ανιόν υπεροξειδίου, καθώς και οι δραστικές μορφές οξυγόνου (ROS)



διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο ως διαμεσολαβητές σε ρυθμιστικές διεργασίες σηματοδότησης, μια διαδικασία που αποκαλείται οξειδοαναγωγική σηματοδότηση. Η υπερβολική ή /και παρατεταμένη αύξηση της παραγωγής ROS έχει εμπλακεί στην παθογένεια του σακχαρώδη διαβήτη, του καρκίνου, της αρτηριοσκλήρωσης, των νευροεκφυλιστικών ασθενειών, της ρευματοειδούς αρθρίτιδας, της ισχαιμίας και άλλων ασθενειών. Επιπλέον, οι ελεύθερες ρίζες έχουν εμπλακεί στο μηχανισμό της γήρανσης. (Dröge, 2001)

#### 4.4 Οξειδωτικό Στρες και Καθυστερημένη Επούλωση

Σύμφωνα με μελέτες η παρουσία ελευθέρων ριζών μπορούν να επηρεάσουν άμεσα ή έμμεσα την επουλωτική διαδικασία. (Niwa et al., 1987, 1988) Το μονοξείδιο του αζώτου διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην διαδικασία της επούλωσης. (Wlaschek et Scharffetter-Kochanek, 2005, Sen et Roy, 2008) Επιπλέον οι ROS απαιτούνται για την άμυνα κατά της εισβολής παθογόνων μικροοργανισμών (Clark, 1996) και τα χαμηλά επίπεδα των ROS είναι επίσης απαραίτητα δεδομένου ότι δρουν ως μεσολαβητές στην ενδοκυτταρική σηματοδότηση όπως το υπεροξειδίο του υδρογόνου το οποίο είναι σημαντικό για την αποτελεσματική αγγειογένεση του τραύματος. (Roy et al, 2006) Ωστόσο, υπερβολικές ποσότητες των ROS είναι δηλητηριώδεις λόγω της υψηλής δραστηριότητάς τους. (Schäfer et Werner, 2008) Κατά τον τραυματισμό και την φλεγμονή των ιστών μεγάλα ποσά ελευθέρων ριζών παράγονται μέσω της οξειδάσης του NADPH, ένα σύμπλοκο ένζυμο, το οποίο εκφράζεται σε ιδιαίτερα υψηλά επίπεδα από φλεγμονώδη κύτταρα. (Bedard et Krause, 2007) Κατά την ενεργοποίηση της οξειδάσης NADPH, παράγεται η δραστική ρίζα του υπεροξειδικού ανιόντος το οποίο μέσω της δισμουτάσης μετατρέπεται ταχέως σε υπεροξειδίο του υδρογόνου ( $H_2O_2$ ). (Schäfer et Werner, 2008) Παρόλο που το  $H_2O_2$  δεν είναι άμεση ελεύθερη ρίζα, μπορεί να προκαλέσει σοβαρές κυτταρικές βλάβες που οφείλονται στην παραγωγή ριζών υδροξυλίου παρουσία ιόντων σιδήρου ή χαλκού. Οι ρίζες υδροξυλίου οξειδώνουν τα κυτταρικά μακρομόρια. Ως εκ τούτου το  $H_2O_2$ , πρέπει να απενεργοποιηθεί και αυτό γίνεται με τις καταλάσες, διάφορες υπεροξειδάσες και άλλα αντιοξειδωτικά. (Schäfer et Werner, 2008) Αν ο μεταβολισμός των ROS είναι ανεπαρκής ή εάν παράγονται σε υπερβολικές ποσότητες, εμφανίζεται οξειδωτικό στρες, με αποτέλεσμα την πρόκληση σοβαρής βλάβης των κυττάρων, πρόωρη γήρανση ή ακόμη και εμφάνιση νεοπλασμάτων. (Sies, 1991) Η λειτουργία πολλών από τους αυξητικούς παράγοντες, όπως ο PDGF και ο VEGF και τις κυτοκίνες όπως ο TNF- $\alpha$  εξαρτάται από τις ελεύθερες ρίζες οξυγόνου (ROS). (Haddad et al, 2002)

Τα υψηλά επίπεδα των ROS έχουν σαφώς τη δυνατότητα να περιπλέξουν την αναγέννηση και την ανάπλαση των ιστών. Αρκετά χαμηλού μοριακού βάρους αντιοξειδωτικά έχουν προταθεί για τη ρύθμιση του οξειδοαναγωγικού περιβάλλοντος στην επούλωση των πληγών του δέρματος όπως η γλουταθειόνη, οι ουμπικινόνες, το ουρικό οξύ, το λιποϊκό οξύ, οι βιταμίνες E και C, καροτενοειδή και φαινολικές ενώσεις. (Schäfer et Werner, 2008. Μειωμένα επίπεδα αντιοξειδωτικών πιθανόν να σχετίζονται με την καθυστερημένη επούλωση. (Shukla et al., 1999)

## 4.5 Αντιοξειδωτικά

Ο φυσιολογικός ρόλος των αντιοξειδωτικών ουσιών είναι η αποφυγή της βλάβης των συστατικών των κυττάρων λόγω των ελευθέρων ριζών που προκύπτουν και η διατήρηση της οξειδοαναγωγικής ομοιόστασης.

Τα αντιοξειδωτικά μπορούν να δράσουν με τέσσερις διαφορετικούς τρόπους:

1. Αντιδράσεις σπασίματος αλυσίδας, π.χ. η α-τοκοφερόλη δρα στη λιπιδική φάση για να «παγιδεύσει» τις ελεύθερες ρίζες.
2. Μείωση της συγκέντρωσης των δραστικών μορφών οξυγόνου π.χ. η γλουταθειόνη.
3. Σάρωση των αρχικών ριζών π.χ. η υπεροξειδική δισμουτάση δρα στην υδατική φάση για να παγιδεύσει ελεύθερες υπεροξειδικές ρίζες.
4. Συμπλοκοποίηση των καταλυτών-μετάλλων μετάπτωσης: Μια ομάδα των ενώσεων εξυπηρετεί μια αντιοξειδωτική λειτουργία δεσμεύοντας τα μεταβατικά μέταλλα, που είναι καθιερωμένα ως προ-οξειδωτικά. Με τον τρόπο αυτό, η τρανσφερίνη, η λακτοφερρίνη, και η φερριτίνη λειτουργούν για να κρατήσουν υπό έλεγχο το οξειδωτικό στρες που προκαλείται από το σίδηρο και τη σερουλοπλασμίνη και την αλβουμίνη ως συμπλοκοποιητές χαλκού.

Τα αντιοξειδωτικά μπορούν να χωριστούν σε ενζυμικά και μη.

Τα ενζυμικά αντιοξειδωτικά περιλαμβάνουν την υπεροξειδική δισμουτάση του υπεροξειδίου (SOD), η οποία καταλύει τη μετατροπή της ρίζας του  $O_2$  σε  $H_2O_2$  και την καταλάση, η οποία απαντάται στα αερόβια βακτήρια, στους μύκητες και στα κύτταρα φυτών και ζώων. Καταλύει την μετατροπή υπεροξειδίου υδρογόνου σε ύδωρ και οξυγόνο σε 2 φάσεις. Τέλος, η υπεροξειδάση της γλουταθειόνης, μετατρέπει το  $H_2O_2$  σε  $H_2O$ . Στον ανθρώπινο οργανισμό υπάρχουν δύο μορφές του ενζύμου. Η μια εξαρτάται από την παρουσία σεληνίου και η άλλη είναι ανεξάρτητη της παρουσίας αυτής.

Τα μη ενζυμικά αντιοξειδωτικά περιλαμβάνουν λιποδιαλυτές βιταμίνες, όπως η βιταμίνη E και βιταμίνη A ή η προβιταμίνη A (β-καροτένιο), και η υδατοδιαλυτή βιταμίνη C και GSH.

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5

### *Pinus halepensis*

#### 5.1 Γενική περιγραφή

Το γένος *Pinus* ανήκει στην οικογένεια *Pinaceae* η οποία περιλαμβάνει περίπου 250 είδη. Είναι το μεγαλύτερο γένος κωνοφόρων που απαντώνται στο βόρειο ημισφαίριο, ιδίως στην περιοχή της Μεσογείου, της Καραϊβικής, στην Ασία, στην Ευρώπη, στη Βόρεια και την Κεντρική Αμερική. Σύμφωνα με τις συνθήκες του τόπου, μπορούν να ζήσουν μέχρι 200 χρόνια, μεγαλώνοντας μέχρι τα 25-30 μέτρα σε ύψος. Οι βέλτιστες κλιματολογικές συνθήκες για αυτό το είδος περιλαμβάνουν ετήσιες βροχοπτώσεις 350-700 mm και ελάχιστες θερμοκρασίες μεταξύ -2 και 10°C. (Schiller, 2014) Το *Pinus halepensis*, είναι κοινώς γνωστό ως χαλέπειος πεύκη. Στη βόρεια Μεσόγειο, το *P. halepensis* αποικίζει εγκαταλελειμμένες γεωργικές εκτάσεις, οι οποίες χαρακτηρίζονται από υψηλή βιοποικιλότητα. Το είδος αυτό είναι θερμοφιλό, ανθεκτικό σε υψηλές θερμοκρασίες και ξηρασία και αναπτύσσεται κυρίως σε ασβεστολιθικά εδάφη. Τα δέντρα του είδους είναι αειθαλή και ρητινώδη. Το ύψος τους κυμαίνεται από 3 έως 80 m και το φύλλωμά τους αποτελείται από γκρίζο-πράσινες βελόνες που αναπτύσσονται σε ζεύγη. (Fekih et al., 2014)



Εικόνα 4 *Pinus halepensis*

#### 5.2 Θεραπευτική Χρήση

Το *Pinus* είναι ένα από τα πιο δημοφιλή δένδρα λόγω των φαρμακευτικών και αρωματικών ιδιοτήτων που συνδέονται άμεσα με τη χημική του σύνθεση. Τα αιθέρια έλαια από είδη *Pinus* έχουν διάφορες θεραπευτικές ιδιότητες. (Suntar et al., 2012) Χρησιμοποιούνται επίσης ως πρόσθετα

γεύσης για τα τρόφιμα και τα ποτά, τα αρώματα στα καλλυντικά, τους παράγοντες αρωματισμού σε μια ποικιλία προϊόντων. (Fuentes et al., 2006, Kozan et al., 2006, Zoumpliou et al., 2014) Το εκχύλισμα φλοιού *P. halepensis* είναι ένα πλούσιο φυσικό προϊόν σε αντιοξειδωτικούς παράγοντες. (Guri et al., 2006, Petri et al., 2012) Ο φλοιός περιέχει πολυφαινόλες που αποτελούνται ουσιαστικά από προκυανιδίνες και φαινολικά οξέα. (Jerez et al., 2009, Zoumpliou et al., 2014)

Οι προκυανιδίνες είναι βιοπολυμερή της κατεχίνης και υπομονάδες της επικατεχίνης. Οι προκυανιδίνες είναι μέλη των προανθοκυανιδίων, που αποτελούν κατηγορία των φλαβονοειδών. Οι προανθοκυανιδίνες μπορεί να βρεθούν σε πολλά φυτά με κύρια αντιοξειδωτική δράση. Διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στη σταθεροποίηση του κολλαγόνου και της ελαστίνης - δύο κρίσιμες πρωτεΐνες του συνδετικού ιστού που υποστηρίζουν τα όργανα, τις αρθρώσεις, τα αιμοφόρα αγγεία, και τους μύες. Οι μελέτες δείχνουν ότι οι αντιοξειδωτικές δυνατότητες των προανθοκυανιδίων είναι 20 φορές πιο ισχυρές από τη βιταμίνη C και 50 φορές πιο ισχυρές από τη βιταμίνη E.

Τα φαινολικά οξέα είναι παράγωγα του βενζοϊκού και κινναμωμικού οξέος. Αποτελούν μεταβολίτες φυτών σε όλο το φυτικό βασίλειο. Το ενδιαφέρον για τα φαινολικά οξέα προέρχεται από το δυνητικά προστατευτικό τους ρόλο, μέσω της πρόσληψης φρούτων και λαχανικών, από νοσήματα που οφείλονται σε οξειδωτική βλάβη (στεφανιαία νόσο, εγκεφαλικό επεισόδιο και καρκίνο). Οι φαινολικές ενώσεις είναι απαραίτητες για την ανάπτυξη και την αναπαραγωγή των φυτών, καθώς παράγονται ως αντίδραση για την υπεράσπιση τραυματισμένων φυτών κατά των παθογόνων παραγόντων.

Από την αρχαιότητα έως σήμερα, οι θεραπευτικές χημικές ενώσεις (π.χ. τερεβινθέλαιο) που παράγονται από τη Χαλέπειο πεύκη, χρησιμοποιούνται για την αντιμετώπιση πολλών ασθενειών όπως περιγράφονται από τον Ιπποκράτη και τον Διοσκουρίδη. Χαρακτηριστικά παραδείγματα είναι η ρινική αποσυμφόρηση, ο λήθαργος, η κατάθλιψη, η πλευρίτιδα, οι εσωτερικές αιμορραγίες, η επούλωση εξωτερικών πληγών (χρήση ως αιμοστατικός παράγοντας). Ο Ιπποκράτης (370-460 π.Χ.) ανέφερε την αξία του τερεβινθέλαιου στην εμμηνόπαυση και στην αναστολή της ρινικής εκκρίσεως. Ο Έλληνας γιατρός Διοσκουρίδης χρησιμοποίησε το τερεβινθέλαιο ως αφροδισιακό παράγοντα ενώ οι Ρωμαίοι χρησιμοποίησαν αυτό το έλαιο σε μια μεγάλη ποικιλία εσωτερικών και εξωτερικών ασθενειών συμπεριλαμβανομένων των εγκεφαλικών επεισοδίων, των ρευματικών παθήσεων, των παθήσεων των νεφρών και της ουροδόχου κύστης. Είναι ακόμη γνωστό για την αντισηπτική, αντιμυκητιακή και αντιφλεγμονώδη δράση του σε ποικίλες δερματικές διαταραχές (πληγές, εγκαύματα κ.λπ.) καθώς και για την αντιβακτηριακή δράση του έναντι στελεχών *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* και *Bacillus cereus*. (Schiller, 2014)

Σήμερα, το πεύκο εξακολουθεί να χρησιμοποιείται ευρέως στην παραδοσιακή θεραπευτική πρακτική σε αρκετές περιοχές ανά τον κόσμο έχοντας παράλληλα και μεγάλη οικονομική σημασία. Χρησιμοποιούνται όλα τα φυτικά μέρη του πεύκου (ο φλοιός, η ρητίνη από το ξύλο, οι βελόνες και οι βλαστοί) και σε διάφορες μορφές όπως τα αιθέρια έλαια, τα αφεψήματα και τα εισπνεόμενα, ανάλογα με την πάθηση και την απαραίτητη θεραπεία. (Schiller, 2014)

Στην Ελλάδα το *P. halepensis* εμφανίζεται κυρίως στην Πελοπόννησο, την Αττική, την Εύβοια και τη Χαλκιδική. (Schiller, 2014)

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6

### Προϊόντα μέλισσας

Η μέλισσα (*Apis mellifica*) ανήκει στην κατηγορία των υμενόπτερων εντόμων που φέρουν κεντρί. Πλήθος φυσικών προϊόντων συλλέγονται ή παράγονται από τη μέλισσα με στόχο τη σωστή λειτουργία της κυψέλης. Μερικά από αυτά χρησιμοποιούνται για φαρμακευτικούς και άλλους σκοπούς από τον άνθρωπο.

- Μέλι
- Βασιλικός πολτός
- Κερί
- Κεντρί
- Πρόπολη

#### 6.1 Πρόπολη - Γενικά στοιχεία

Η λέξη πρόπολη ετυμολογικά σημαίνει «προ της πόλεως». Είναι μια φυσική ουσία η οποία παράγεται από τις μέλισσες. (Aminimoghadamfarouj and Nematollahi, 2017, Yumnam et al., 2017) Οι εργάτριες συλλέγουν φυτικές ρητίνες που εκκρίνονται από τους οφθαλμούς ορισμένων φυτών και το φλοιό ορισμένων δέντρων (λεύκες, κωνοφόρα και ιτέα) και τις αναμειγνύουν με τα ένζυμα της σιέλου τους. Στη συνέχεια μεταφέρουν την παραγόμενη πρόπολη μέσα στην κυψέλη και τη χρησιμοποιούν ως προστατευτικό φιλμ για να καλύψουν τις ρωγμές της κυψέλης. Έτσι περιορίζεται στο ελάχιστο δυνατό η είσοδος ψυχρού ή θερμού αέρα από το εξωτερικό περιβάλλον στην κυψέλη καθώς και η είσοδος δυνητικών εχθρών. Επιπλέον, χρησιμοποιείται από τις μέλισσες για την κάλυψη του πτώματος των εισβολέων αποτρέποντας την αποσύνθεσή του, την εμφάνιση δυσοσμίας και την ανάπτυξη βακτηριακής χλωρίδας. Έτσι θωρακίζεται η υγεία των μελισσών και η σωστή λειτουργία της αποικίας. (Syed et al., 2018)

Έχουν αναγνωριστεί πολλές και διαφορετικές ενώσεις στην πρόπολη όπως φαινολικές ενώσεις, αρωματικά οξέα, τερπενοειδή, αιθέρια έλαια, κεριά και αμινοξέα. Η ποιοτική και ποσοτική σύσταση της πρόπολης εξαρτάται από τη γεωγραφική θέση, την εποχή και τη φυλή της μέλισσας. Κατ' επέκταση τα βιολογικά χαρακτηριστικά της πρόπολης μπορεί να διαφοροποιηθούν αναλόγως τη χημική της σύνθεσης.

Εκχυλίζεται εμπορικά με κατάλληλους διαλύτες όπως αιθανόλη, μεθανόλη, χλωροφόρμιο και ακετόνη. Η καλύτερη επιλογή είναι η αιθανόλη. Η χρήση του συγκεκριμένου διαλύτη περιορίζει την ευρεία χρήση της καθώς και τη μετατροπή του σε άλλη μορφή. (Bankanova et al, 2002)



Εικόνα 5 Ακατέργαστη πρόπολη

## 6.2 Θεραπευτικές Χρήσεις

Από την αρχαιότητα υπάρχουν αναφορές ότι οι αρχαίοι Έλληνες, οι Αιγύπτιοι, οι Ρωμαίοι και οι Άραβες χρησιμοποιούσαν την πρόπολη για τις βιολογικές της ιδιότητες. Ο Ιπποκράτης συνιστούσε για την επούλωση επάλειψη των πληγών με πρόπολη. Στην Αίγυπτο, χρησιμοποιούνταν για την ταρίχευση πτωμάτων. Κατά τη διάρκεια της μάχης στους ρωμαϊκούς χρόνους και το Β΄ Παγκόσμιο Πόλεμο οι γιατροί συνιστούσαν τη χρήση πρόπολης για τη θεραπεία των τραυμάτων. Σήμερα, η χρήση της πρόπολης έχει πολλές εφαρμογές στον τομέα της ιατρικής. Χρησιμοποιείται ως αντιμικροβιακό, αντιμυκητιακό, αντικό, αντιοξειδωτικό, αντικαρκινικό και επουλωτικό. (Syed et al.,2018)

### Αντιμικροβιακή δράση

Τα κύρια συστατικά τα οποία εκδηλώνουν αντιμικροβιακές ιδιότητες είναι τα φλαβονοειδή, το κινναμικό οξύ, ορισμένα αρωματικά συστατικά και οι εστέρες φαινολικών οξέων. Η πρόπολη έχει ένα ευρύ αντιμικροβιακό φάσμα. Μπορεί να λειτουργήσει ως βακτηριοκτόνο καθώς αναστέλλει τη διαίρεση των βακτηριακών κυττάρων, καταστρέφει το κυτταρικό τοίχωμα και σταματάει την πρωτεϊνική σύνθεση. Σύμφωνα με μελέτες σε πρόπολη από ορισμένες γεωγραφικές περιοχές παρουσιάζουν δράση έναντι του *Staphylococcus auricularis*, *S. epidermidis*, *S. capitis*, *S. haemolyticus* *Streptococcus spp. artemillin C*, *Helicobacter pylori*. (AL-Waili et al., 2012, Kasiotis et



al., 2017, Kujumgiev et al., 1999, Kuropatnicki et al., 2013, Martin et Pileggi, 2004, Sforcin et al., 2000, Silici et Kutluca, 2005)

#### Αντιμυκητιακή δράση

Η πρόπολη έχει δραστικότητα έναντι αρκετών μυκήτων. Έχει παρατηρηθεί μείωση της συγκέντρωσης των μυκήτων του γένους *Candida* και *Microsporium*. (Acikelli et al., 2013, Aghel et al., 2014, AL-Waili et al., 2012, Alvareda et al., 2015, Franchin et al., 2016)

#### Αντιική δράση

Τα φλαβονοειδή καθώς και το καφεϊκό οξύ και οι εστέρες του που περιέχονται στην πρόπολη μπορούν να παρουσιάσουν και αντιική δράση μέσω του εγκλεισμού τους στο πρωτεϊνικό κάλυμμα των ιών που έχουν επιμολύνει το κύτταρο ξενιστή. Έτσι παρεμποδίζεται η μόλυνση και η καταστροφή του DNA/RNA του ιού. (Syed et al,2018)

#### Αντιοξειδωτική δράση

Η πρόπολη λόγω της υψηλής περιεκτικότητας σε φαινολικές ενώσεις όπως τα φλαβονοειδή εκδηλώνει σημαντικές αντιοξειδωτικές ιδιότητες. Έχει τη δυνατότητα να προστατέψει ή και να θεραπεύσει βλάβες που εμφανίζονται μέσω της επίδρασης των ελευθέρων ριζών. Ο μηχανισμός δράσης της οφείλεται στη δυνατότητα των φαινολικών ενώσεων να δίνουν ιόντα υδρογόνου στις ελεύθερες ρίζες για την προστασία των κυττάρων από αντιδράσεις οξείδωσης.

#### Αντικαρκινική δράση

Λόγω της αντιοξειδωτικής της δράσης η πρόπολη παρουσιάζει και αντικαρκινικές ιδιότητες. Μελέτες έχουν δείξει ότι τα φλαβονοειδή στην πρόπολη σταματούν τον καρκίνο του μαστού, πνεύμονα, στόματος οισοφάγου και δέρματος. (Martinotti et Ranzato, 2015) Σημαντικό είναι ότι το εκχύλισμα πρόπολης προκαλεί κυτταροτοξικότητα σε καρκινικά κύτταρα αλλά δεν δρα έναντι φυσιολογικών κυττάρων.

#### Επουλωτική δράση

Τα συστατικά της πρόπολης έχουν επίσης θεραπευτική ικανότητα στην αποκατάσταση του ιστού και στην αναγέννηση της βλάβης. Η παρουσία των φλαβονοειδών ασκούν αντιμικροβιακή και αντιοξειδωτική δράση με αποτέλεσμα να μειώνεται η πιθανότητα επιμόλυνσης καθώς και η ποσότητα των ελευθέρων ριζών στην περιοχή της βλάβης. Έτσι επιταχύνονται οι απαραίτητες διεργασίες για την αναγέννηση του ιστού (Syed et al,2018)

# ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7

## Μέθοδος της Ηλεκτροστατικής Ινοποίησης

### 7.1 Γενικά Στοιχεία

Η ηλεκτροστατική ινοποίηση είναι η κυριότερη τεχνική παραγωγής νάνο/μίκρο-ινών από πουλερή. Εφαρμόζοντας ηλεκτρικό πεδίο υψηλής τάσεως σε διαλύματα πολυμερών σχηματίζονται πολύ λεπτές ίνες. Η μέθοδος της ηλεκτροστατικής ινοποίησης είναι πολύ ευέλικτη και μπορεί να παρασκευάσει ίνες ποικίλων διαμέτρων οι οποίες κυμαίνονται από αρκετά νανόμετρα έως λίγα μικρόμετρα. Βρίσκει εφαρμογή σε ένα ευρύ φάσμα πολυμερών, είτε φυσικών είτε συνθετικών, σε πολυμερικά μίγματα και σε πολυμερή που φέρουν δραστικές ουσίες, χρωμοφόρα και νανοσωματίδια.

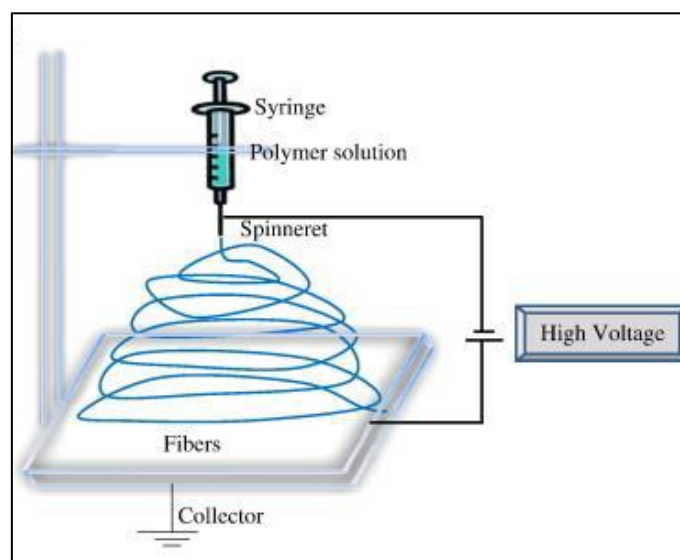
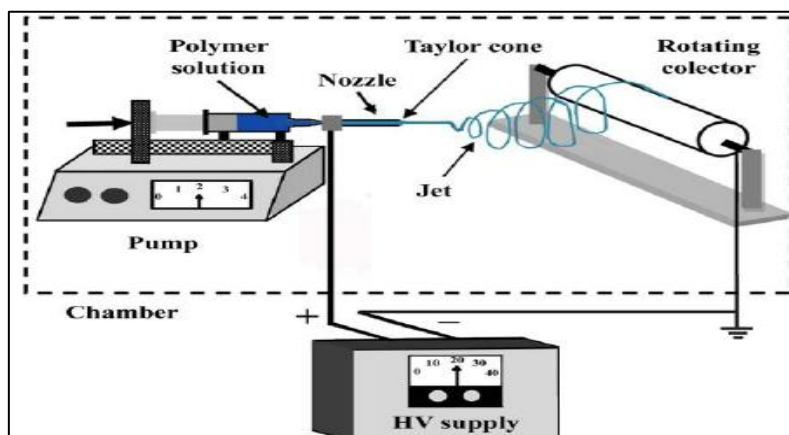
Η συγκεκριμένη τεχνική βρίσκει εφαρμογές σε πολλούς τομείς, λόγω της δυνατότητας της να παράγει ίνες κλίμακας νανο-μεγέθους με απλό τρόπο, χαμηλό κόστος και υψηλό λόγο επιφανείας προς όγκο. Η ηλεκτροστατική ινοποίηση, έχει χρησιμοποιηθεί στη βιομηχανία κλωστοϋφαντουργίας, στα φίλτρα καθαρισμού του αέρα καθώς και στον τομέα της ιατρικής, ως ικριώματα μηχανικής ιστών, φορείς χορήγησης φαρμάκων και επιθέματα για την επούλωση πληγών.

Ένα σημαντικό πλεονέκτημα της τεχνικής αυτής είναι η παραγωγή ινών με τυχαία εναπόθεση με αποτέλεσμα να ομοιάζουν με τη φυσική δομή της εξωκυττάριας μήτρας. Έτσι παράγονται ίνες που μιμούνται τη φυσική αρχιτεκτονική πολλών τύπων ιστών, όπως των νευρικών, των μυοσκελετικών, των δερματικών και των αγγειακών, στους οποίους η κατεύθυνση της ανάπτυξης του ιστού είναι σημαντική για τη φυσιολογική λειτουργία του οργάνου. (Beachley et al, 2010, Liam et al, 2013, Greiner et Wendorff, 2007)

### 7.2 Διάταξη Ηλεκτροστατικής Ινοποίησης

Οι πιο ευρέως χρησιμοποιούμενες διατάξεις ηλεκτροστατικής ινοποίησης είναι η κατακόρυφη και η οριζόντια που παρουσιάζονται στην **εικόνα 6**. Μια τυπική διάταξη ηλεκτροϊνοποίησης αποτελείται από μία γεννήτρια παροχής υψηλής τάσης, μία προγραμματιζόμενη αντλία πάνω στην οποία εφαρμόζεται η σύριγγα με το πολυμερικό διάλυμα και έναν γειωμένο συλλέκτη. Συνήθως χρησιμοποιείται γεννήτρια παροχής συνεχούς ρεύματος (DC), αν και μπορεί να χρησιμοποιηθεί και εναλλασσόμενου ρεύματος (AC). Ο συλλέκτης μπορεί να έχει οποιοδήποτε σχήμα ανάλογα με τις ανάγκες, όπως επίπεδη πλάκα ή περιστρεφόμενος κύλινδρος. Η εξέλιξη της επιστήμης έχει οδηγήσει στην εμφάνιση νέων τεχνικών

που αφορούν στη χρήση πιο πολύπλοκων διατάξεων όπως η παράλληλη ηλεκτροϊνοποίηση καθώς και διαφορετικών συνθηκών λειτουργίας με στόχο τη σύνθεση αποδοτικότερων και πιο σύνθετων ικριωμάτων. (Li et Xia, 2004)



Εικόνα 6 Διάταξη διαδικασίας ηλεκτροστατικής ινοποίησης

### 7.3 Αρχή Μεθόδου

Η ηλεκτροστατική ινοποίηση αποτελεί μια τεχνική με πολύπλοκο μηχανισμό δράσης. Αρχικά το πολυμερικό διάλυμα φορτώνεται σε μια σύριγγα και ωθείται με τη βοήθεια μιας αντλίας μέσω ενός λεπτού ακροφυσίου. Στο ακροφύσιο εφαρμόζεται υψηλή τάση ώστε να λειτουργεί ως ηλεκτρόδιο. Η σταγόνα του πολυμερικού διαλύματος ηλεκτρίζεται και τα επαγόμενα φορτία κατανέμονται ομοιόμορφα στην επιφάνεια. Η σταγόνα παραμορφώνεται σε μορφή κώνου (κώνος Taylor) λόγω των δυο ειδών ηλεκτροστατικών δυνάμεων. Από τη μια ασκείται ηλεκτροστατική άπωση μεταξύ των επιφανειακών φορτίων και από την υφίσταται τις δυνάμεις Coulomb από το εξωτερικό πεδίο.

Όταν η ισχύς του ηλεκτρικού πεδίου ξεπεράσει μια ορισμένη τιμή, οι ηλεκτροστατικές δυνάμεις υπερνικούν την επιφανειακή τάση του πολυμερικού διαλύματος με αποτέλεσμα την εκτόξευση ενός φορτισμένου πίδακα. Αυτός έχει κατεύθυνση προς ένα γειωμένο συλλέκτη (αντίθετο ηλεκτρόδιο), όπου συλλέγονται οι ίνες. Κατά την πορεία προς τον συλλέκτη, ο διαλύτης εξατμίζεται και αφήνει στερεές ίνες με διαμέτρους που κυμαίνονται από  $\mu\text{m}$  έως  $\text{nm}$ . (Greiner et Wendorff 2007, Li et Xia, 2004)

## 7.4 Παράμετροι διεργασίας

Παρότι η ηλεκτροϊονοποίηση είναι μία σχετικά εύκολη μέθοδος, υπάρχει μια σειρά παραμέτρων που μπορούν να επηρεάσουν σημαντικά τη δημιουργία και τη μορφολογία των ινών. Περιλαμβάνονται οι ιδιότητες του πολυμερικού διαλύματος, οι συνθήκες της διεργασίας και οι συνθήκες του περιβάλλοντος.

### 7.4.1 Παράμετροι πολυμερικού διαλύματος

Τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά του διαλύματος επηρεάζουν το σχηματισμό και τη δομή των ινών. Η συγκέντρωση του πολυμερούς, το μοριακό βάρος, το ιξώδες του διαλύματος, η πητικότητα του διαλύτη, η αγωγιμότητα και η επιφανειακή τάση του διαλύματος πρέπει να λαμβάνονται υπόψη πριν την έναρξη της διαδικασίας.

- Συγκέντρωση πολυμερούς

Η συγκέντρωση του πολυμερούς στο διάλυμα συχνά καθορίζει εάν αυτό μπορεί να υποστεί ηλεκτροστατική ιονοποίηση ή όχι, επηρεάζει και άλλες ιδιότητες του όπως το ιξώδες και η επιφανειακή τάση. Όταν η συγκέντρωση είναι μικρότερη από μια κρίσιμη τιμή, κατά την εκτόξευση του υγρού ο πίδακας σπάει σε σταγονίδια και δεν δημιουργείται η πολυμερική ίνα. Σε αντίθετη περίπτωση, όταν αυξάνεται πάνω από αυτήν την τιμή, η μέση διάμετρος της ίνας αυξάνεται καθώς δεν μπορούν να σχηματιστούν συνεχείς ίνες λόγω της δυσκολίας να διατηρηθεί η ροή του διαλύματος στην άκρη της βελόνας. (Valarezo 2013, Huang et al. 2011, Subbiah et al. 2005)

- Μοριακό Βάρος

Το μοριακό βάρος του πολυμερούς έχει σημαντική επίδραση στις ρεολογικές και ηλεκτρικές ιδιότητες του (ιξώδες, επιφανειακή τάση, αγωγιμότητα, διηλεκτρική δύναμη). Ακόμη, επηρεάζει την μορφολογία των παραγόμενων ινών. Διαλύματα με χαμηλό μοριακό βάρος τείνουν να σχηματίσουν πολυμερικές χάντρες αντί για ίνες, ενώ με υψηλό μοριακό βάρος δίνουν ίνες με μεγαλύτερη μέση

διάμετρο. Το μοριακό βάρος ενός πολυμερούς καθορίζει τον αριθμό των εμπλεκόμενων πολυμερικών αλυσίδων στο διάλυμα, άρα και το ιξώδες του. (Bhardwaj et Kundu, 2010)

#### Ιξώδες διαλύματος

Όταν το ιξώδες είναι υψηλό αποτρέπεται το σπάσιμο του πίδακα σε σταγονίδια και προκύπτουν ίνες με μεγαλύτερη διάμετρο και ομοιομορφία. Αντίθετα, τα πολύ αραιά διαλύματα (χαμηλό ιξώδες) συνήθως οδηγούν σε σπάσιμο του πίδακα σε σταγονίδια πριν εξατμιστεί ο διαλύτης. (Jun et al 2003)

- Πητικότητα διαλύτη

Η πλήρης εξαίτηση του διαλύτη από τον πίδακα που εκτοξεύεται και διαμορφώνει την πολυμερική ίνα, αποτελεί μια σημαντική παράμετρο. Εάν ο διαλύτης δεν εξατμιστεί πλήρως, οι ίνες παραμένουν υγρές οπότε μπορούν να ενωθούν μεταξύ τους και να σχηματίσουν μια πιο συμπαγή δομή. (Bhardwaj et Kundu, 2010)

- Αγωγιμότητα

Η αγωγιμότητα καθορίζεται από το πολυμερές, το διαλύτη και την διαθεσιμότητα σε άλατα. Τα πολυμερή είναι ως επί το πλείστον αγώγιμα. Τα υψηλής αγωγιμότητας διαλύματα είναι εξαιρετικά ασταθή παρουσία ισχυρού ηλεκτρικού πεδίου, καθώς παράγουν ίνες με μικρή διάμετρο. (Bhardwaj et Kundu, 2010, Li et Wang, 2013)

#### Επιφανειακή τάση

Η επιφανειακή τάση του διαλύματος εξαρτάται κυρίως από τον διαλύτη. Η υψηλή επιφανειακή τάση ενός διαλύματος εμποδίζει την ηλεκτροϊνοποίηση λόγω αστάθειας του πίδακα και δημιουργία σταγονιδίων. Μειώνοντας την μπορούν να ληφθούν ίνες χωρίς πολυμερικές χάντρες. Ακόμη, μείωση της συνεπάγεται ηλεκτροϊνοποίηση σε χαμηλότερο ηλεκτρικό πεδίο. (Bhardwaj et Kundu 2010)

### **7.4.2 Συνθήκες διεργασίας**

Η εφαρμοζόμενη τάση, η ταχύτητα ροής, η απόσταση ακροφυσίου από το συλλέκτη, η διάμετρος του ακροφυσίου και το είδος του συλλέκτη μπορούν να επηρεάσουν σε μεγάλο βαθμό το σχηματισμό των ινών.

#### Εφαρμοζόμενη τάση

Η εφαρμοζόμενη τάση αποτελεί πρωτεύουσα παράμετρο για την διεργασία της ηλεκτροϊνοποίησης. Όταν η εφαρμοζόμενη τάση είναι υψηλότερη από μία κρίσιμη τιμή, αρχίζει η εκτόξευση του πίδακα από τον κώνο του Taylor και σχηματίζονται οι ίνες. Η τιμή αυτή ποικίλλει ανάλογα με το πολυμερικό διάλυμα και υπάρχει ένα εύρος τιμών για συγκεκριμένο σύστημα πολυμερούς-διαλύτη

εντός του οποίου είναι δυνατός ο σχηματισμός ινών. Όταν το ηλεκτρικό πεδίο είναι ασθενέστερο ή ισχυρότερο από αυτό θα προκύψουν ίνες με θρόμβους ή μπορεί ακόμα και να παρεμποδιστεί ο σχηματισμός πίδακα. Γενικά ισχύει ότι η αύξηση της εφαρμοζόμενης τάσης οδηγεί αρχικά σε μείωση της διαμέτρου των ινών και μετά από ένα ορισμένο σημείο σε αύξηση. Η αρχική μείωση οφείλεται στην αύξηση της ηλεκτροστατικής απωστικής δύναμης στον πίδακα, η οποία τελικά οδηγεί στην λέπτυνση των ινών. Σε τιμές εφαρμοζόμενης τάσης πολύ μεγαλύτερες, ο κώνος του Taylor εξαφανίζεται και ο πίδακας φαίνεται να βγαίνει απευθείας από το ακροφύσιο. Έτσι παράγονται ίνες που έχουν μεγαλύτερη διάμετρο και εμφανίζουν θρόμβους. (Valarezo, 2013, Vacanti 2010)

### Ταχύτητα ροής

Η ταχύτητα ροής του πολυμερικού διαλύματος καθορίζει την ταχύτητα του πίδακα, καθώς και την ποσότητα του πολυμερικού διαλύματος που θα ηλεκτροϊονοποιηθεί. Σε χαμηλή ταχύτητα ροής, ο διαλύτης έχει τον απαραίτητο χρόνο να εξατμιστεί. Όταν η ταχύτητα ροής είναι πολύ υψηλή σχηματίζονται ίνες με θρόμβους ή με μεγάλη διάμετρο επειδή δεν προλαβαίνουν να στεγνώσουν πριν φτάσουν στον συλλέκτη. (Bhardwaj et Kundu 2010)

### Απόσταση ακροφυσίου – συλλέκτη

Η απόσταση ανάμεσα στο συλλέκτη και την άκρη της βελόνας μπορεί να επηρεάσει το μέγεθος και την μορφολογία των ινών. Απαιτείται μία ελάχιστη απόσταση ώστε οι ίνες να έχουν το χρόνο να στεγνώσουν πριν φτάσουν στον συλλέκτη, αλλιώς παράγονται υγρές ίνες με σταγόνες. Επομένως, τα υδατικά διαλύματα χρειάζονται μεγαλύτερη απόσταση συγκριτικά με τα διαλύματα πτητικών οργανικών διαλυτών. Στις ακραίες περιπτώσεις (πολύ μικρή ή μεγάλη απόσταση) παρατηρούνται ίνες με θρόμβους και ανομοιομορφία στο μέγεθος. (Bhardwaj et Kundu 2010, Li et Wang 2013)

### Συλλέκτης

Το είδος του συλλέκτη επηρεάζει σημαντικά τα μορφολογικά και φυσικά χαρακτηριστικά των παραγόμενων ινών. Ο συλλέκτης λειτουργεί ως ένα αγωγίμο υπόστρωμα όπου συλλέγονται οι φορτισμένες ίνες. Το είδος του συλλέκτη που θα επιλεγεί καθορίζει σε μεγάλο βαθμό την διάταξη και την πυκνότητα του πλέγματος των ινών. Η χρήση μεταλλικού και αγωγίμου συλλέκτη συμβάλλει στην διασπορά των φορτίων με αποτέλεσμα την αποφόρτιση των ινών και την μείωση της μεταξύ τους άπωσης. (Baji et al., 2010) Έχει παρατηρηθεί ότι όταν ο χώρος συλλογής είναι λιγότερο αγωγίμος παράγονται ίνες με χάντρες. Στις περισσότερες περιπτώσεις χρησιμοποιείται φύλλο αλουμινίου σε διάφορες μορφές, λόγω όμως της δυσκολίας σε ορισμένες περιπτώσεις να αποκολληθούν οι ίνες από αυτό και της ανάγκης για ευθυγραμμισμένες ίνες αναπτύχθηκαν και άλλα

είδη, όπως αγωγίμο χαρτί, αγωγίμο ύφασμα, συρματοπλέγμα, καρφίτσα, παράλληλη ράβδος, περιστρεφόμενη ράβδος, περιστρεφόμενος τροχός. (Bhardwaj et Kundu, 2010)

### 7.4.3 Συνθήκες περιβάλλοντος

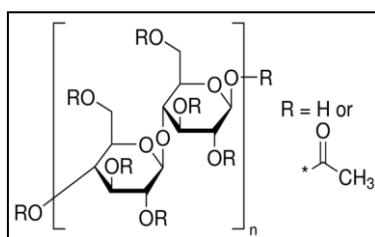
Οι συνθήκες του περιβάλλοντος όπου διεξάγεται η ηλεκτροϊνοποίηση (θερμοκρασία, υγρασία, κ.λπ.) μπορούν επίσης να επηρεάσουν την διάμετρο και την μορφολογία των ινών. Μελέτες έδειξαν ότι αύξηση της θερμοκρασίας επάγει την μείωση της διαμέτρου των παραγόμενων ινών πιθανόν λόγω της μείωσης του ιξώδους του πολυμερικού διαλύματος. Όσον αφορά την υγρασία, έχει βρεθεί πως επηρεάζει τα μορφολογικά χαρακτηριστικά των ινών. Με την αύξηση της, εμφανίζονται μικροί κυκλικοί πόροι στην επιφάνεια τους. Περαιτέρω αύξηση οδηγεί στην συνένωση των πόρων. Επιπλέον, η χαμηλή υγρασία αυξάνει την ταχύτητα εξάτμισης του διαλύτη. Όταν ο ρυθμός εξάτμισης είναι πολύ πιο γρήγορος συγκριτικά με την απομάκρυνση του διαλύτη από την άκρη της βελόνας, η ηλεκτροϊνοποίηση μπορεί να διεξαχθεί για πολύ λίγο προτού εμφράξει η βελόνα. Τέλος, έχει προταθεί ότι η υψηλή υγρασία συμβάλλει στην εκφόρτιση των ηλεκτροϊνοποιημένων ινών. (Bhardwaj et Kundu, 2010)

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 8

### Βιοσυμβατά και Βιοαποικοδομήσιμα πολυμερή

#### Οξική κυτταρίνη (CA)

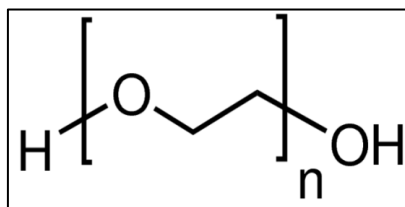
Η κυτταρίνη (**Εικ.7**) είναι το πιο άφθονο φυσικό πολυμερές, λόγω όμως της μειωμένης διαλυτότητας της σε οργανικούς διαλύτες καθίσταται δύσκολη η απευθείας χρήση της και γι' αυτό έχουν παρασκευαστεί διάφορα παράγωγα της. Η οξική κυτταρίνη διατηρεί όλα τα χαρακτηριστικά της κυτταρίνης (βιοαποικοδομήσιμη, μη τοξική, χημική και μηχανική αντοχή, χαμηλό κόστος), με την διαφορά ότι είναι διαλυτή σε οργανικούς διαλύτες. Χρησιμοποιείται ευρέως στην παραγωγή ηλεκτροϊονοποιημένων ινών για εφαρμογή ως ικρίωματα ιστομηχανικής και για τον εγκλεισμό διαφόρων φαρμακευτικών ουσιών με σκοπό τη διαδερμική χορήγηση τους ή ως σύστημα ελεγχόμενης αποδέσμευσης. (Kim et al., 2015)



Εικόνα 7 C.A.

#### Οξείδιο του πολυ(αιθυλενίου) (PEO)

Το οξείδιο του πολύ(αιθυλενίου) (**Εικ.8**) είναι ένα υδρόφιλο ημικρυσταλλικό, συνθετικό πολυμερές μη τοξικό. Έχει βρει εφαρμογές στον τομέα της ιατρικής και της βιοϊατρικής όπως η ελεγχόμενη αποδέσμευση φαρμάκων και η ιστομηχανική ως πλήρως βιοδιασπώμενο και βιοσυμβατό πολυμερές. (Wang et al., 2013)



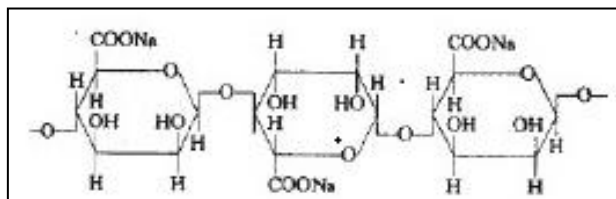
Εικόνα 8 PEO

#### Αλγινικό Νάτριο (SA)

Το αλγινικό νάτριο (**Εικ.9**) είναι ένας φυσικός υδρόφιλος, μη τοξικός πολυσακχαρίτης που απαντάται στη φύση και βρίσκεται σε όλα τα είδη καφέ φυκιών. Είναι ένα υδατοδιαλυτό,



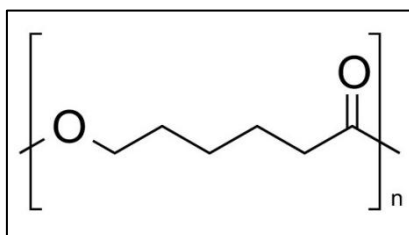
βιοαποικοδομήσιμο πολυμερές που χρησιμοποιείται στην ιατρική και στη φαρμακευτική βιομηχανία, ως φορέας φαρμακευτικών μορίων. (Fan et al 2013, Ionita et al 2013)



Εικόνα 9 Αλγινικό Νάτριο

### Πολυκαπρολακτόνη (PCL)

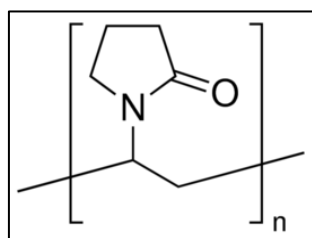
Η πολυκαπρολακτόνη (Εικ.10) είναι ένα συνθετικό, ημι-κρυσταλλικό πολυμερές, το οποίο διαλύεται σε οργανικούς διαλύτες. Πρόκειται για ένα ευρέως χρησιμοποιούμενο βιοσυμβατό πολυμερές ο οποίο ανήκει στην οικογένεια των αλειφατικών πολυεστέρων Βιοαποικοδομείται μέσω υδρόλυσης στο ανθρώπινο σώμα και έχει ελάχιστη ή καθόλου τοξικότητα. Χρησιμοποιείται σε πολλές βιοϊατρικές εφαρμογές, κυρίως για μεταφορά φαρμάκων και σε μακροχρόνια εμφυτεύματα λόγω του αργού ρυθμού βιοαποικοδόμησης του. (Nair et Laurencin, 2007)



Εικόνα 10 PCL

### Πολυ(βινυλοπυρρολιδόνη) (PVP)

Η πολυ(βινυλοπυρρολιδόνη) (Εικ.11) είναι ένα υδρόφιλο συνθετικό πολυμερές με πολύ καλή διαλυτότητα στους περισσότερους οργανικούς διαλύτες. Έχει χαμηλή τοξικότητα και καλή βιοσυμβατότητα και γι' αυτό χρησιμοποιείται ευρέως στα καλλυντικά και στην παραγωγή νανοϊνών. (Gökmeşe et al., 2013)



Εικόνα 11 PVP

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 9

### Μέθοδοι Αντιμετώπισης Φλεγμονής και Τραύματος

Η εξέλιξη της θεραπείας της δερματικής φλεγμονής και του τραύματος επηρεάζεται από το είδος των ουσιών και τον τρόπο εφαρμογής τους. Η επιλογή του θεραπευτικού παράγοντα πρέπει να βασίζεται στο γεγονός ότι η φλεγμένουςα περιοχή περιέχει μεγάλη ποικιλία κυττάρων όπως κερατινοκύτταρα, ινοβλάστες, μελανοκύτταρα, λεμφοκύτταρα και άλλους κυτταρικούς πληθυσμούς που είναι πολύ ευαίσθητα στις επιδράσεις των τοπικά εφαρμοζόμενων ουσιών. Επιπλέον, είναι γνωστό ότι στην πάσχουσα περιοχή έχει διαταραχθεί η ιδιότητα του φραγμού επομένως είναι πολύ ευαίσθητη στην εφαρμογή παραγόντων που θα μπορούσαν να θεωρηθούν αβλαβείς για το κανονικό δέρμα. Από την άλλη πλευρά, διευκολύνεται η διείσδυση τοπικών παραγόντων που έχουν τη δυνατότητα να δράσουν ευεργετικά στην περιοχή. (Cross, 2008) Όσον αφορά τον τρόπο εφαρμογής του υπάρχει η δυνατότητα της χρήσης ή όχι υλικού κάλυψης οπότε διακρίνεται σε ανοιχτή και κλειστή μέθοδο.

#### 9.1 Ανοιχτή μέθοδος

Η μέθοδος αυτή βασίζεται στην φροντίδα της περιοχής χωρίς τη χρήση επίδεσης. Οι επιφάνειες επαλείφονται με αντισηπτικές, αυτολυτικές, ή επουλωτικές ουσίες και αφήνονται εκτεθειμένες στον ατμοσφαιρικό αέρα. Με την επιλογή της ανοικτής μεθόδου εξασφαλίζονται τα παρακάτω πλεονεκτήματα:

- Μείωση επιμολύνσεων λόγω της ξήρανσης των εσχαρών
- Άμεσος, συνεχής έλεγχος της φλεγμαίνουσας περιοχής
- Δυνατότητα συνεχούς ελέγχου της κυκλοφορίας των άκρων και της αναπνοής
- Καλύτερη κινητοποίηση και φυσιοθεραπεία των άκρων

Η αποξήρανση των εσχαρών όμως, δυσχεραίνει την αποκόλληση και απόπτωση τους. (Κοτσαμπασάκης 2005)

## 9.2 Κλειστή μέθοδος

Η κλειστή μέθοδος βασίζεται στην επίδεση των προσβεβλημένων επιφανειών με κατάλληλο επιδεσμικό υλικό (επιθέματα - γάζες). Για να είναι αποτελεσματική η επίδεση, πρέπει να εξασφαλίζει:

- Διατήρηση υγρού περιβάλλοντος
- Προφύλαξη των επιφανειών από επιμολύνσεις
- Ανεμπόδιση ανταλλαγή των αερίων
- Διαχείριση της περίσσειας των εκκρίσεων
- Ελαστικότητα και προσαρμοστικότητα
- Απουσία τοξικότητας

Με την επιλογή της ανοικτής μεθόδου εξασφαλίζεται:

- Μείωση της πιθανότητας επιμόλυνσης
- Μείωση της απώλειας υγρών
- Ελάττωση των απωλειών θερμότητας
- Επιτάχυνση της αυτόλυσης και απόπτωσης των νεκρωμάτων λόγω εξασφάλισης υγρού περιβάλλοντος

Η εφαρμογή της όμως, σε μεγάλες επιφάνειες στο κορμό παρουσιάζει πρακτικές δυσκολίες ενώ γενικά ο κίνδυνος ανάπτυξης μόλυνσης – φλεγμονής είναι αυξημένος.

Με βάση το υλικό κατασκευής τους οι επιδέσεις κατατάσσονται σε: συμβατικές, συνθετικές, βιολογικές.

Τόσο η κλειστή όσο και η ανοικτή μέθοδος εμφανίζουν πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα, γι' αυτό η σωστή επιλογή είναι σημαντική. (Κοτσαμπασάκης 2005)

## 9.3 Επιθέματα

Η κύρια ταξινόμηση των επιδέσεων τραυμάτων γίνεται με βάση το υλικό κατασκευής τους.

Οι συμβατικές επιδέσεις είναι συνηθισμένα επιθέματα όπως γάζα ή δικτυωτή γάζα που απλώς δρουν ως κάλυψη σε μια πληγή από το εξωτερικό περιβάλλον ώστε εκείνη να μπορεί να αποκατασταθεί.

Οι συνθετικές επιδέσεις περιλαμβάνουν πολυμερή φιλμ ή αφρούς. Αυτού του τύπου επιθέματα είναι διαπερατά σε υδρατμούς και οξυγόνο. Σε αυτή την κατηγορία συναντάμε φιλμ με επίστρωση υαλουρονικού οξέος ή σιλικόνης, υδρογέλες και αφρώδη καλύμματα τα οποία αποτελούν εμπόδια για τη διείσδυση μικροβίων στην περιοχή του τραύματος.

Στα βιοδραστικά υλικά επίδεσης ανήκουν τα υδροκολλοειδή, αλγινικά, κολλαγόνο και χιτοζάνη. Ένα από τα κύρια πλεονεκτήματα της χρήσης βιοενεργών υλικών επίδεσης είναι το τροποποιημένο χημικό περιβάλλον που δημιουργούν για την ταχύτερη αντιμετώπιση των συνθηκών που επικρατούν στην περιοχή. Επιπλέον, απαιτούνται μεγαλύτεροι περίοδοι για την αλλαγή τους. (Κοτσαμπασάκης 2005)

Πρόσφατα, συνδυασμός βιοπολυμερών με δραστικά συστατικά, όπως τα αντιμικροβιακά και αντιβιοτικά, χρησιμοποιήθηκαν σε υλικά επίδεσης τραυμάτων για την αντιμετώπιση των μολύνσεων. Ακόμα έχουν χρησιμοποιηθεί συστατικά για την επιτάχυνση του σταδίου φλεγμονής μιας πληγής σε νέα υλικά επίδεσης τραυμάτων όπως αυξητικοί παράγοντες, βιταμίνες A, C, ψευδάργυρο και χαλκό. (Zahedi et al, 2010)

### 9.3.1 Πλεονεκτήματα επιθεμάτων μέσω ηλεκτροστατικής ινοποίησης

Τα πολυμερικά επιθέματα που παρασκευάζονται μέσω ηλεκτροστατικής ινοποίησης παρουσιάζουν αρκετά πλεονεκτήματα στη χρήση τους για την επούλωση πληγών και θεραπεία της φλεγμονής, χάρη σε κάποιες σημαντικές ιδιότητες των νανοϊνών που τα αποτελούν.

- Διάμετρο της τάξης μερικών νανομέτρων έως 1μm (τυπικά 50-500nm)
- Εξαιρετικά μεγάλη επιφάνεια ανά μονάδα μάζας (για παράδειγμα, νανοΐνες με διάμετρο 100 nm έχουν ειδική επιφάνεια ~ 1000 m<sup>2</sup> / g)
- Υψηλό πορώδες (60-90%)
- Διασυνδεδεμένο νανο-πορώδες δίκτυο
- Εξαιρετικές δομικές και μηχανικές ιδιότητες
- Υψηλή αντοχή σε συνδυασμό με ευελιξία
- Χαμηλό βάρος βάσης
- Χαμηλό κόστος (σε σχέση με άλλες μεθόδους παραγωγής επιθεμάτων και άλλα υλικά)
- Ομοιότητα με το φυσικό δέρμα (μιμούνται τη δομή της εξωκυττάριας μήτρας)
- Κυτταρική αναπνοή
- Προώθηση αιμόστασης
- Διαπερατότητα από αέρα
- Πρόληψη αφυδάτωσης τραύματος
- Πρόληψη από τη μικροβιακή διήθηση

Επιπλέον, είναι δυνατή η τροποποίηση της μορφολογίας τους, του όγκου τους (του περιεχομένου τους), της επιφανειακής τους δομής καθώς και η ενσωμάτωση χημικών και βιολογικών μορίων κατά τη διαδικασία ηλεκτροϊνοποίησης. (Yu et al. 2009, Weng et al)

### Επιθέματα πρόπολης

Έχουν γίνει προσπάθειες παρασκευής επιθεμάτων μέσω της μεθόδου ηλεκτροστατικής ινοποίησης με πρόπολη σε συνδυασμό με άλλα υλικά όπως μέλι, κεντρί της μέλισσας, βακτηριοφάγους, νανοσωματίδια αργύρου σε διαφορετικές συγκεντρώσεις. Παράλληλα έχει γίνει μόνο in vitro έλεγχος της αντιμικροβιακής του δράσης τους και της επίδρασης του στη βιωσιμότητα των κυττάρων. (Sutjarittangtham et al 2015, Jeong et al 2014, Sarhan et Azzazy 2017)

**ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ**

**ΜΕΡΟΣ**

## Εισαγωγή

Η φλεγμονή είναι συνήθης αντίδραση του δέρματος σε πολλές δερματικές παθήσεις, τραυματισμούς ή άλλες βλάβες. Ένας συχνός παράγοντας ο οποίος προκαλεί φλεγμονώδη αντίδραση στο δέρμα είναι η υπεριώδης ακτινοβολία. Σε συνέχεια προηγούμενης μελέτης εξετάστηκε η αντιφλεγμονώδης δράση του επιθέματος με υδατικό εκχύλισμα του φλοιού *P. halepensis* το οποίο παρασκευάστηκε μέσω ηλεκτροστατικής ινοποίησης στη συγκέντρωση κορεσμού.

Επιπλέον, δοκιμάστηκαν διαφορετικές δόσεις εκχυλίσματος πρόπολης για την εύρεση της δόσης που προάγει την επούλωση. Παρόλο των αποδεδειγμένων αντιμικροβιακών ιδιοτήτων της, η πρόπολη δεν χρησιμοποιείται στην κλινική πράξη λόγω της χρήσης αιθανόλης για την παραλαβή του εκχυλίσματος. Το πρόβλημα αυτό επιλύθηκε με την εξάτμιση της αιθανόλης κατά την παρασκευή επιθεμάτων με τη μέθοδο της ηλεκτροστατικής ινοποίησης.

Παράλληλα, εξετάστηκαν διαφορετικοί τρόποι περίδεσης για την εφαρμογή των επιθεμάτων ώστε να επιλεγεί ο βέλτιστος. Βασικά κριτήρια ήταν η συγκράτηση του επιθέματος για περίπου 24 ώρες στη ράχη του ζώου, η εύκολη διαδικασία αφαίρεσης του και η απουσία περίσσειας υγρών στην περιοχή του τραύματος ή φλεγμονής.

# Κεφάλαιο 10

## Υλικά και Μέθοδοι

### 10.1 Πείραμα Φλεγμονής

#### 10.1.1 Πειραματόζωα

Χρησιμοποιήθηκαν 40 άτριχοι θηλυκοί μύες τύπο SKH-1 ηλικίας 2-7 μηνών που προέρχονταν από τα ο εργαστήριο Μικρών Πειραματόζωων της Φαρμακευτικής Σχολής του Πανεπιστημίου Αθηνών. Κατά τη διάρκεια των πειραμάτων τα ζώα είχαν ελεύθερη πρόσβαση σε κατάλληλη τροφή για μύες και σε νερό δικτύου. Η θερμοκρασία στο χώρο πειραματισμού ήταν ελεγχόμενη και σταθερή 22°C-25°C, τα επίπεδα υγρασίας ήταν 30%-50% και οι κύκλοι φωτός είχαν δώδεκα ώρες διάρκεια (Κωδικός Πειραματικής Μονάδας: 25 BIO 07, Αριθμός Αδείας Πειράματος: 3278/27-06-2018)

Πριν την έναρξη του πειράματος υπήρξε μία περίοδος εγκλιματισμού στον θάλαμο πειραματισμού, των πειραματόζωων που χρησιμοποιήθηκαν, η οποία είχε διάρκεια 7 ημέρες.

#### 10.1.2 Υλικά

- ❖ Εκχύλισμα του φλοιού *Pinus halepensis* (Εργαστήριο Φαρμακογνωσίας και Χημείας Φυσικών Προϊόντων, Φαρμακευτική Σχολή, ΕΚΠΑ)
- ❖ Αλγινικό Νάτριο (S.A) MW:216,121 (CELLCO CHEMICALS SA)
- ❖ Οξική Κυτταρίνη (C.A.) MW:50000 (SIGMA-ALDRICH)
- ❖ Πολυαιθυλενοξείδιο (PEO) MW: 7.000.000 (SIGMA-ALDRICH)
- ❖ Φορμαλδεΰδη (Gurr®, BDH Prolabo)
- ❖ Acetone
- ❖ Νερό HPLC
- ❖ Αποστειρωμένες Γάζες (Asepta Gauze®, ASEPTA)
- ❖ Αυτοκόλλητο διαφανές επίθεμα (Tegaderm, 3M)
- ❖ Ταινία λήψης strippings (3M, Invisible)
- ❖ Eppendorf
- ❖ Αλουμινόχαρτο
- ❖ Χειρουργικό ψαλίδι, Λαβίδες

#### 10.1.3 Παρασκευή πολυμερικών επιθεμάτων

Για τη σύνθεση των πολυμερικών επιθεμάτων χρησιμοποιήθηκε διάταξη ηλεκτροστατικής ινοποίησης με περιστροφικό συλλέκτη-τύμπανο RC-6000 (NaBond Technologies), δύο αντλίες ροής (Harvard PHD 200 programmable και Graseby 3100 Syringe pump, USA) και μια γεννήτρια υψηλής



τάσης ρεύματος (Gamma Hight Voltage Research, Ormond Beach, FL, USA), του εργαστηρίου Φαρμακογνωσίας και Χημείας Φυσικών Προϊόντων, της Φαρμακευτικής Σχολής. Αρχικά, παρασκευάστηκαν τα πολυμερικά διαλύματα προς ηλεκτροϊνοποίηση, των αντίστοιχων επιθεμάτων που επρόκειτο να συντεθούν. Στη συνέχεια, ποσότητες αυτών εισήχθησαν στις σύριγγες των δυο αντλιών ροής, τα δύο διαλύματα έρεαν αντιπαράλληλα, από τις δύο διαφορετικές αντλίες, με συγκεκριμένη ταχύτητα και απόσταση από τον περιστροφικό συλλέκτη το καθένα. Ο συλλέκτης περιστρεφόταν σε ορισμένες στροφές υπό την εφαρμογή υψηλής τάσης ρεύματος. Έτσι ο διαλύτης εξατμιζόταν και οι πολυμερικές νανοϊνες συλλέγονταν στον περιστροφικό συλλέκτη σχηματίζοντας σταδιακά το επίθεμα. Η ηλεκτροϊνοποίηση πραγματοποιήθηκε σε οριζόντια διάταξη.

Για την σύνθεση των επιθεμάτων αρχικά παρασκευάστηκαν τα εξής πολυμερικά διαλύματα (για συνολικό όγκο διαλύματος 10ml)

1. 4% w/v PEO (0,4 g) σε H<sub>2</sub>O
2. 10% w/v CA (1 g) σε Acetone (Ace)
3. 3% w/v SA (0,3 g) / 1,5% w/v PEO (0,15 g) σε H<sub>2</sub>O
4. 9% w/v CA (0.9 g) / 2% w/v *P.halepensis* (0.2 g) σε μίγμα διαλυτών Ace : H<sub>2</sub>O (9:1) (μέγιστη δόση που είχε χρησιμοποιηθεί σε προηγούμενη μελέτη)
5. 9% w/v CA (0.9 g) / 4% w/v *P.halepensis* (0.4 g) σε μίγμα διαλυτών Ace : H<sub>2</sub>O (9:1) (συγκέντρωση κορεσμού για το συγκεκριμένο διάλυμα)

Στη συνέχεια, τα διαλύματα αυτά ηλεκτροϊνοποιήθηκαν και παρασκευάστηκαν τα εξής επιθέματα:

**Επιθέματα SA/PEO/CA/P.halepensis ( 15,1% w/w, 26,2% w/w)**

#### **Συνθήκες Ινοποίησης**

- Απόσταση μεταλλικού ακροφυσίου ροής SA/PEO από συλλέκτη: **20 cm**
- Απόσταση μεταλλικού ακροφυσίου ροής CA/*P. halepensis* από συλλέκτη: **10 cm**
- Ταχύτητα ροής SA/PEO: **0,5 ml/hr**
- Ταχύτητα ροής CA/*P. halepensis*: **15 ml/hr**
- Διάμετρος μεταλλικού ακροφυσίου (βελόνας): **23 G**
- Τάση ρεύματος: **25 kV**
- Στροφές: **~400 rpm**

Η παρασκευή των επιθεμάτων έγινε με τέτοιο τρόπο έτσι ώστε για κάθε ένα μέρος διαλύματος CA/*P.halepensis* χρειάστηκε μισό μέρος όγκου διαλύματος SA/PEO. Οπότε με την αναγωγή, υπολογίστηκε το ποσοστό του εκχυλίσματος *P.halepensis* που περιεχόταν σε κάθε ένα από τα επιθέματα.

### Επίθεμα SA/PEO/CA

#### Συνθήκες Ινοποίησης

- Απόσταση μεταλλικού ακροφυσίου ροής SA/PEO από συλλέκτη: **20 cm**
- Απόσταση μεταλλικού ακροφυσίου ροής CA από συλλέκτη: **10 cm**
- Ταχύτητα ροής SA/PEO: **0,5 ml/hr**
- Ταχύτητα ροής CA: **15 ml/hr**
- Διάμετρος μεταλλικού ακροφυσίου (βελόνας): **23 G**
- Τάση ρεύματος: **25 kV**
- Στροφές: **~400 rpm**

### Επίθεμα PEO/CA

#### Συνθήκες Ινοποίησης

- Απόσταση μεταλλικού ακροφυσίου ροής PEO από συλλέκτη: **20 cm**
- Απόσταση μεταλλικού ακροφυσίου ροής CA από συλλέκτη: **10 cm**
- Ταχύτητα ροής PEO: **0,5 ml/hr**
- Ταχύτητα ροής CA: **15 ml/hr**
- Διάμετρος μεταλλικού ακροφυσίου (βελόνας): **23 G**
- Τάση ρεύματος: **25 kV**
- Στροφές: **~400 rpm**

#### **10.1.4 Πρωτόκολλο πρόκλησης φλεγμονής με υπεριώδη ακτινοβολία**

Η πρόκληση μικρής έντασης φλεγμονής στους μύες έγινε ακτινοβολία της ράχης τους. Χρησιμοποιήθηκε λάμπα **Xenon lamp Oriel® (400-1000 Watts, USA)** καθώς και μετρητές UVA και UVB για τη μέτρηση της έντασης κάθε ακτινοβολίας κατά τη διάρκεια της ακτινοβολίας. Η ράχη των μυών ακτινοβολήθηκε άπαξ με τρεις ελάχιστες ερυθρηματόδεις δόσεις (3 M.E.D), για 15 δευτερόλεπτα. Η συγκεκριμένη περιοχή οριοθετήθηκε με την επικόλληση επιθεμάτων (Pharmafix®, Cureplast), διαστάσεων 3cm×4cm και οπής διαμέτρου 2cm στο σημείο ακτινοβολίας.

Η λάμπα Xenon ήταν τοποθετημένη σε κατάλληλη διάταξη στήριξης, ψύξης και τροφοδοσίας. Η ακτινοβολία UVA ήταν ίση με 118 mJ και η UVB ίση με 163.5 mJ.

#### **10.1.5 Εφαρμογή Επιθεμάτων**

Η εφαρμογή των επιθεμάτων σε κάθε ομάδα μυών γινόταν άπαξ ημερησίως καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος (18 ημέρες). Αρχικά, τα πολυμερικά επιθέματα και η αποστειρωμένη γάζα κόπηκαν σε διαστάσεις 2 cm × 2 cm και στη συνέχεια τοποθετήθηκαν σε αυτοκόλλητο διαφανές επίθεμα

(Tegaderm, 3M), διαστάσεων 2.5 cm × 2.5 cm. Ο συνδυασμός αυτός εφαρμόστηκε στο σημείο της φλεγμονής στη ράχη κάθε μύς. Η εφαρμογή των επιθεμάτων γινόταν πάντα σε στεγνή και καθαρή επιφάνεια.

## 10.2 Πείραμα Επουλώσεως Πληγής

### 10.2.1 Πειραματόζωα

Χρησιμοποιήθηκαν 80 άτριχοι αρσενικοί μύες τύπο SKH-1 ηλικίας 2-7 μηνών που προέρχονταν από τα ο εργαστήριο Μικρών Πειραματόζωων της Φαρμακευτικής Σχολής του Πανεπιστημίου Αθηνών. Κατά τη διάρκεια των πειραμάτων τα ζώα είχαν ελεύθερη πρόσβαση σε κατάλληλη τροφή για μύες και σε νερό δικτύου. Η θερμοκρασία στο χώρο πειραματισμού ήταν ελεγχόμενη και σταθερή 22°C-25°C, τα επίπεδα υγρασίας ήταν 30%-50% και οι κύκλοι φωτός είχαν δώδεκα ώρες διάρκεια (Κωδικός Πειραματικής Μονάδας: 25 BIO 07, Αριθμός Αδείας Πειράματος: 6899/12-12-2018 και 141335/24-04-2019).

Πριν την έναρξη του πειράματος υπήρξε μία περίοδος εγκλιματισμού στον θάλαμο πειραματισμού, των πειραματόζωων που χρησιμοποιήθηκαν, η οποία είχε διάρκεια 7 ημέρες.

### 10.2.2 Υλικά

- ❖ Μίγμα Πρόπολης που συλλέχθηκε από τις εξής περιοχές: Βοτανικός Κήπος Διομήδους, Γεράνια Όρη Αττικής και περιοχή Μεθώνη στην Καλαμάτα (Παροχή από τον Καθηγητή Χαριζάνη Π. του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών)
- ❖ Polycaprolactone PCL (MW 80,000, SIGMA-ALDRICH)
- ❖ Polyvinylpyrrolidone PVP (MW 1300,000 SIGMA-ALDRICH)
- ❖ Αιθανόλη 99,8% (EtOH)
- ❖ Διχλωρομεθάνιο (DCM)
- ❖ Φορμαλδεΰδη (Gurr®, BDH Prolabo)
- ❖ Αποστειρωμένες Γάζες (Asepta Gauze®, ASEPTA)
- ❖ Αυτοκόλλητη γάζα (Aseptafix®, ASEPTA)
- ❖ Αυτοκόλλητο διαφανές επίθεμα (Opsite flexigrid)
- ❖ Αυτοκόλλητη ταινία περιδέσης (Fixomull, BSN)
- ❖ Ταινία λήψης strippings (3M, Invisible)
- ❖ Eppendorf
- ❖ Αλουμινόχαρτο
- ❖ Χειρουργικό ψαλίδι, Λαβίδες

- ❖ Τετράγωνη σφραγίδα 1cm x 1cm
- ❖ Xylapan (20mg/ml υδροχλωρική ξυλαζίνη)
- ❖ Ketamidor (100 mg/mL υδροχλωρική κεταμίνη)
- ❖ Σύριγγες 0,5ml

### 10.2.3 Παραλαβή εκχυλίσματος πρόπολης (*Propolis*)

Μίγμα πρόπολης με ίση ποσότητα από τις τρεις περιοχές αναμείχθηκε με την απαιτούμενη ποσότητα απόλυτης αιθανόλης ώστε να προκύψει εκχύλισμα 10%w/v πρόπολης. Το μίγμα παρέμεινε επί 48 ώρες σε συνεχή ανάδευση σε θερμοκρασία δωματίου και περιοδικά γινόταν ανάδευση στο λουτρό υπερήχων. Μετά τις 2 ημέρες είχε γίνει πλήρης διάλυση της πρόπολης και ακολούθησε διήθηση από ηθμό Buchner. Το διήθημα που προέκυψε φυγοκεντρήθηκε 2 φορές στις 5000 στροφές για 15 λεπτά. Στη συνέχεια το υπερκείμενο συμπυκνώνεται υπό κενό και το τελικό κολλώδες υπόλειμμα ξηράνθηκε σε λυοφιλοποιητή.

### 10.2.4 Παρασκευή πολυμερικών επιθεμάτων

Για τη σύνθεση των πολυμερικών επιθεμάτων χρησιμοποιήθηκε διάταξη ηλεκτροστατικής ινοποίησης με περιστροφικό συλλέκτη-τύμπανο RC-6000 (NaBond Technologies), μια αντλία ροής (Harvard PHD 200 programmable) και μια γεννήτρια υψηλής τάσης ρεύματος (Gamma High Voltage Research, Ormond Beach, FL, USA), του εργαστηρίου της Φαρμακογνωσίας και Χημείας Φυσικών Προϊόντων, της Φαρμακευτικής Σχολής του ΕΚΠΑ. Αρχικά, παρασκευάστηκαν τα πολυμερικά διαλύματα προς ηλεκτροϊνοποίηση, των αντίστοιχων επιθεμάτων που επρόκειτο να συντεθούν. Στη συνέχεια, ποσότητες αυτών εισήχθησαν στη σύριγγα της αντλίας ροής, όπου το διάλυμα έρεε με συγκεκριμένη ταχύτητα σε ορισμένη απόσταση από τον περιστροφικό συλλέκτη ο οποίος περιστρεφόταν σε ορισμένες στροφές υπό την εφαρμογή υψηλής τάσης ρεύματος. Έτσι ο διαλύτης εξατμιζόταν και οι πολυμερικές νανοΐνες συλλέγονταν στον περιστροφικό συλλέκτη σχηματίζοντας σταδιακά το επίθεμα. Η ηλεκτροϊνοποίηση πραγματοποιήθηκε σε οριζόντια διάταξη ηλεκτροστατικής ινοποίησης

Για την σύνθεση των επιθεμάτων (0,5 g) αρχικά παρασκευάστηκαν τα εξής πολυμερικά διαλύματα:

1. 6% w/v PCL (0,25 g) και 6% w/v PVP (0,25 g) σε μίγμα διαλυτών DCM : EtOH (7:3) 4,15 ml
2. 6% w/v PCL (0,2498 g) και 6% w/v PVP (0,2498 g) / 0.012% w/v *propolis* (0,0005 g) σε μίγμα διαλυτών DCM : EtOH (7:3) 4,15 ml
3. 6% w/v PCL (0,249 g) και 6% w/v PVP (0,249 g) / 0.048% w/v *propolis* (0,002 g) σε μίγμα διαλυτών DCM : EtOH (7:3) 4,15 ml

4. 6% w/v PCL (0.2483 g) και 6% w/v PVP (0.2483 g) / 0.085% w/v *propolis* (0.0035 g) σε μίγμα διαλυτών DCM : EtOH (7:3) 4,15 ml
5. 6% w/v PCL (0.2475 g) και 6% w/v PVP (0.2475 g) / 0.12% w/v *propolis* (0.005 g) σε μίγμα διαλυτών DCM : EtOH (7:3) 4,1 ml
6. 6% w/v PCL (0.2125 g) και 6% w/v PVP (0.2125 g) / 2,12% w/v *propolis* (0.075 g) σε μίγμα διαλυτών DCM : EtOH (7:3) 3,5 ml
7. 6% w/v PCL (0,175 g) και 6% w/v PVP (0,175 g) / 5.15% w/v *propolis* (0.150 g) σε μίγμα διαλυτών DCM : EtOH (7:3) 2,9 ml

Στη συνέχεια, τα διαλύματα αυτά ηλεκτροϊνοποιήθηκαν και παρασκευάστηκαν τα εξής επιθέματα:

### **Επιθέματα PCL/PVP**

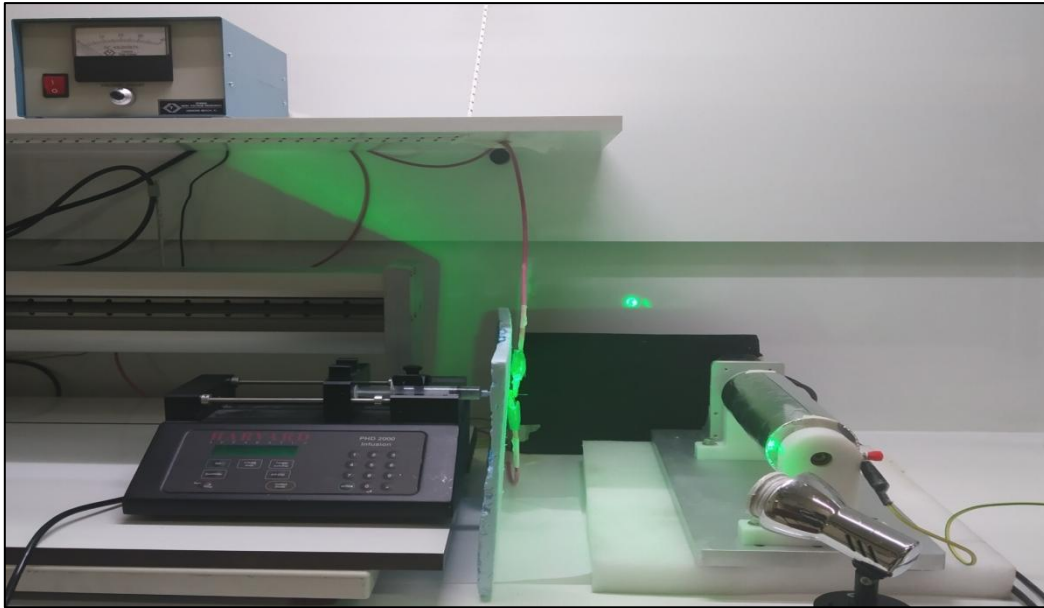
#### **Συνθήκες ινοποίησης**

- Απόσταση μεταλλικού ακροφυσίου ροής PCL/PVP από συλλέκτη: **20 cm**
- Ταχύτητα ροής: **0,5 ml/hr**
- Διάμετρος μεταλλικού ακροφυσίου (βελόνας): **23 G**
- Τάση ρεύματος: **25 kV**
- Στροφές: **~400 rpm**

### **Επιθέματα PCL/PVP/Propolis (0.1% w/w, 0.4% w/w, 0.7% w/w, 1% w/w, 15% w/w, 30% w/w)**

#### **Συνθήκες Ινοποίησης**

- Απόσταση μεταλλικού ακροφυσίου ροής PCL/PVP/*propolis* από συλλέκτη: **20 cm**
- Ταχύτητα ροής: **0,5 ml/hr**
- Διάμετρος μεταλλικού ακροφυσίου (βελόνας): **23 G**
- Τάση ρεύματος: **20 kV** (για 15% w/w *propolis*, 30% w/w *propolis*) και **25kV** (για 1% w/w, 0.4% w/w, 0.7% w/w, 1% w/w *propolis*)
- Στροφές: **~400 rpm**



Εικόνα 12 Εργαστηριακή διάταξη ηλεκτροστατικής ινοποίησης

### 10.2.5 Πρωτόκολλο πρόκλησης πληγών

- Αναισθησία πειραματόζωων με μίγμα αναισθητικών: Xylapan (20mg/ml υδροχλωρική ξυλαζίνη) 10 μl/ζώο και Ketamidor (100 mg/mL υδροχλωρική κεταμίνη) 30 μL/ζώο. Η αναισθησία επέρχεται μετά από ενδοπεριτοναϊκή ένεση 0,03-0,05 ml του μίγματος με σύριγγα 0,5 ml ανάλογα με το βάρος του μυ.
- Τοποθέτηση σφραγίδας με επιφάνεια 1 cm x 1 cm και σχεδίαση της περιοχής του τραύματος ράχης του μυός σε απόσταση περίπου 2 cm από το ύψος του αυχένα.
- Το τμήμα του δέρματος εντός της σχεδιασμένης περιοχής κόβεται και αφαιρείται με χρήση χειρουργικού ψαλιδιού και λαβίδας.
- Καθαρισμός της περιοχής με χρήση φυσιολογικού ορού.

### 10.2.6 Εφαρμογή Επιθεμάτων

Η εφαρμογή των επιθεμάτων σε κάθε ομάδα μυών γινόταν άπαξ ημερησίως καθ'όλη τη διάρκεια του πειράματος (20 ημέρες για το 1<sup>ο</sup> πείραμα και 18 ημέρες για το 2<sup>ο</sup> πείραμα). Αρχικά, τα πολυμερικά επιθέματα και η αποστειρωμένη γάζα κολλήθηκαν σε αυτοκόλλητη γάζα για λόγους διευκόλυνσης χειρισμού και κόπηκαν σε διαστάσεις 2cm×2cm και τέλος τοποθετήθηκαν σε αυτοκόλλητο διαφανές επίθεμα (Opsite flexigrid), διαστάσεων 2.5cm×7cm (1<sup>ο</sup> πείραμα) ή σε αυτοκόλλητη ταινία περιδέσης (Fixomull, BSN) διαστάσεων 2.5cm×3cm (2<sup>ο</sup> πείραμα). Ο κάθε συνδυασμός εφαρμόστηκε στη ράχη των μυών στο σημείο πρόκλησης της πληγής. Η εφαρμογή των επιθεμάτων γινόταν πάντα σε στεγνή και καθαρή επιφάνεια.

## 10.3 Αρχές Μεθόδων Μετρήσεων και Οργανολογία

### 10.3.1 Κλινική εικόνα – Λήψη φωτογραφιών

Η μελέτη της φλεγμονής και της επούλωσης πληγής στη ράχη των μυών έγινε με καθημερινή παρατήρηση και λήψη φωτογραφιών ανά δυο μέρες με τη χρήση φωτογραφικής μηχανής Nikon D5100, με προσαρμοσμένο φακό AF-S Micro Nikkor 60 mm f/2.8 G ED, SWMED IF Aspherical, USA, η οποία βρισκόταν σε σταθερή απόσταση 30cm κάθετα από το αντικείμενο φωτογράφισης. Σαν υπόστρωμα τοποθέτησης των μυών χρησιμοποιήθηκε πλαστικοποιημένο χαρτόνι μωβ απόχρωσης, οπότε και ελαχιστοποιήθηκαν οι αντανακλάσεις.

Στα πειράματα επουλώσεως πληγής, τοποθετήθηκε στο ίδιο επίπεδο με αυτό του τραύματος χαρτί αναφοράς εμβαδού 1 cm<sup>2</sup>.

### 10.3.2 Αξιολόγηση Πάχους δέρματος

Η μέτρηση του πάχους του δέρματος είναι σημαντική παράμετρος για την αξιολόγηση της θεραπείας καθώς προκαλείται πάχυνση της επιδερμίδας. Στα πειράματα, το πάχος του δέρματος μετρήθηκε με τη χρήση ψηφιακού παχύμετρου **Powerfix Electronic digital Caliper 150 mm**. Η ένδειξη του οργάνου είναι σε χιλιοστά (mm).



Εικόνα 13: Ψηφιακό παχύμετρο

### 10.3.3 Αξιολόγηση Άδηλης Απώλειας Ύδατος

Ως άδηλη απώλεια νερού (Transepidermal water loss TWL ή TEWL) ορίζεται η συνεχής μετακίνηση νερού από τις κατώτερες προς τις ανώτερες στιβάδες του δέρματος. Συγκεκριμένα, περιγράφει το συνολικό ποσό ύδατος που αποβάλλεται από το δέρμα προς την περιβάλλουσα ατμόσφαιρα μέσω των διεργασιών διάχυσης και εξάτμισης.

Η μέτρηση της TEWL μπορεί να είναι χρήσιμη για τον εντοπισμό βλάβης του δέρματος που προκαλείται από χημικές ουσίες ή παθολογικές καταστάσεις όπως έκζεμα, καθώς τα ποσοστά της άδηλης απώλειας ύδατος αυξάνονται ανάλογα με τη σοβαρότητα της βλάβης. Ωστόσο, επηρεάζεται επίσης από περιβαλλοντικούς παράγοντες όπως η υγρασία, η θερμοκρασία και η περιεκτικότητα σε υγρασία του δέρματος (επίπεδο ενυδάτωσης).

Στο πείραμα, η αξιολόγηση της άδηλης απώλειας νερού (TEWL) πραγματοποιήθηκε με τη χρήση του οργάνου **Tewameter® TM 240 (Courage-Khazaka, Germany)**. Το όργανο αυτό διαθέτει έναν ανιχνευτή ο οποίος μετρά την κλίση της εξάτμισης νερού από το δέρμα έμμεσα μετρώντας τη θερμοκρασία και τη σχετική υγρασία από τα δυο ζεύγη των αισθητήρων στο εσωτερικό του κοίλου κυλίνδρου. Ένας μικροεπεξεργαστής εκφράζει την απώλεια αυτή σε ποσότητα ύδατος σε σχέση με το χρόνο και την επιφάνεια (g/h/m<sup>2</sup>). Με τη συγκεκριμένη παράμετρο αξιολογείται η λειτουργία του δερματικού φραγμού. Ακόμα και η μικρότερη βλάβη, όπου δεν μπορεί να γίνει ορατή με γυμνό μάτι, προκαλεί αλλαγές στην απώλεια ύδατος και μπορεί να προσδιοριστεί. Όταν ο φραγμός του δέρματος είναι φυσιολογικός, η απώλεια του νερού είναι καθορισμένη. Όταν υποστεί έστω και ελαφρά βλάβη η κεράτινη στιβάδα του δέρματος, τότε η τιμή της άδηλης απώλειας ύδατος αυξάνεται.

Γενικά, η μέτρηση της άδηλης απώλειας ύδατος στηρίζεται στην αρχή της διάχυσης σε ανοικτό θάλαμο:

$$\frac{dm}{dt} = D * A * \frac{dp}{dx}$$

όπου: A = επιφάνεια (m<sup>2</sup>), m = νερό που εξατμίζεται (g), t = χρόνος (h), D = σταθερά διάχυσης (= 0,0877g / (m\*h\*(mmHg)), P = ατμοσφαιρική πίεση (mmHg), x = απόσταση της επιφάνειας του δέρματος από το σημείο μέτρησης (m)



**Εικόνα 14** Όργανο μέτρησης άδηλης απώλειας νερού (Tewameter® TM 240).

Οι ιδανικές συνθήκες για τις μετρήσεις είναι 20°C, υγρασία 40-60%, όχι κοντά σε λάμπα ή υπό το φως του ήλιου. Το μηχάνημα πρέπει να είναι σε λειτουργία για τουλάχιστον 15 λεπτά πριν την έναρξη των μετρήσεων σε φυσιολογικές συνθήκες δωματίου. Κατά τη διάρκεια των μετρήσεων σε μύες αποφεύγεται η πρόκληση στρες με οποιονδήποτε τρόπο και η κεφαλή τοποθετείται από την πλευρά που έχει τον αισθητήρα πάνω στο δέρμα με την εφαρμογή της κατάλληλης πίεσης. Η μέτρηση διαρκεί 60sec και η τιμή η οποία λαμβάνεται είναι η μέση τιμή που εμφανίζει το μηχάνημα



το 60<sup>o</sup>sec. (Έλεγχος και Αξιολόγηση Καλλυντικών Προϊόντων», Εργαστηριακές Ασκήσεις, Εργαστήριο Δερματοφαρμακολογίας – Κοσμητολογίας, Φαρμακευτική Σχολή, ΕΚΠΑ)

#### 10.3.4 Αξιολόγηση Ενυδάτωσης

Η ενυδάτωση του δέρματος αφορά στην περιεκτικότητα της κεράτινης στιβάδας σε νερό. Φυσιολογικά ενυδατωμένο δέρμα θεωρείται όταν η υγρασία της κεράτινης στιβάδας βρίσκεται σε ποσοστό 10%-16%. Η μείωση του νερού σε ποσοστό μικρότερο του 10% συνοδεύεται από ξηρότητα, τραχύτητα, ευθραυστότητα. Αντίθετα, η αύξηση του νερού σε ποσοστό μεγαλύτερο του 16% προκαλεί υπερενυδάτωση με αποτέλεσμα την απώλεια της συμπαγούς δομής της κεράτινης στιβάδας. Το νερό αυτό προέρχεται από τη βασική στοιβάδα και μεταφέρεται με μια ορισμένη ταχύτητα στην κεράτινη στοιβάδα (ταχύτητα ενυδάτωσης). Μερική ποσότητα του νερού διαχέεται στο περιβάλλον με μια ορισμένη ταχύτητα (ταχύτητα αφυδάτωσης). Σε κανονικά δέρματα υπάρχει μια ισορροπία μεταξύ των δυο αυτών διεργασιών ώστε να διατηρείται στα φυσιολογικά επίπεδα η ενυδάτωση της επιδερμίδας.

Στο πείραμα, η αξιολόγηση της ενυδάτωσης, πραγματοποιήθηκε με το όργανο **Corneometer® CM 820 (Courage-Khazaka, Germany)** το οποίο μετρά σε αυθαίρετες μονάδες από 0 (μηδενική ποσότητα νερού) - 120 (υψηλή ποσότητα νερού). Οι μονάδες μέτρησης έχουν καθιερωθεί ως “μονάδες Corneometer”. Η μέτρηση βασίζεται στη μέτρηση χωρητικότητας ενός διηλεκτρικού μέσου. Κατά τη μέτρηση η αλλαγή στη διηλεκτρική σταθερά λόγω ενυδάτωσης της επιφάνειας του δέρματος αλλάζει τη χωρητικότητα ενός πυκνωτή ακριβείας. Το βάθος διείσδυσης του ηλεκτρικού πεδίου σκέδασης είναι αποδεδειγμένα πολύ μικρό, έτσι ώστε μόνο η υγρασία στην επιφάνεια του δέρματος να μετριέται. Η χρονική διάρκεια της μέτρησης είναι πολύ σύντομη (1 δευτερόλεπτο) και έτσι αποτρέπει τη δημιουργία απόφραξης που επηρεάζει το αποτέλεσμα. Η μικρή κεφαλή μέτρησης επιτρέπει μετρήσεις σε όλα τα σημεία του σώματος.

Οι ιδανικές συνθήκες για τις μετρήσεις είναι 20°C, υγρασία 40-60%, όχι κοντά σε λάμπα ή υπό το φως του ήλιου. Για κάθε μν λαμβάνονται 3 μετρήσεις στην περιοχή πρόκλησης της πληγής. (Έλεγχος και Αξιολόγηση Καλλυντικών Προϊόντων», Εργαστηριακές Ασκήσεις, Εργαστήριο Δερματοφαρμακολογίας – Κοσμητολογίας, Φαρμακευτική Σχολή, ΕΚΠΑ).

#### 10.3.5 Αξιολόγηση Σμήγματος

Το σμήγμα είναι μια ελαφρώς κίτρινη, λιπαρή ουσία που εκκρίνεται από τους σμηγματογόνους αδένες. Ο κύριος ρόλος του είναι η διατήρηση της ενυδάτωσης του δέρματος και των μαλλιών. Το σμήγμα αποτελείται κυρίως από τριγλυκερίδια, ελεύθερα λιπαρά οξέα, σκουαλένιο και

χοληστερόλη. Στην περίπτωση της φλεγμονής παρατηρείται οξείδωση των λιπιδίων του σμήγματος γεγονός το οποίο επηρεάζει την εξέλιξη της φλεγμονής.

Η ποσότητα του σμήγματος μετρήθηκε με το σμηγματόμετρο **Sebumeter® SM 810 (Courage-Khazaka, Germany)** μέσω της ειδικής ταινίας που αντιδρά μόνο με το σμήγμα, ανεξαρτήτως της περιεκτικότητας σε νερό. Κατά τη μέτρηση, η ταινία εφάπτεται στην ακτινοβολημένη περιοχή για 30 δευτερόλεπτα και στη συνέχεια το δείγμα εισέρχεται στο φωτόμετρο όπου αξιολογείται φωτομετρικά η διαπερατότητα του φωτός (Έλεγχος και Αξιολόγηση Καλλυντικών Προϊόντων, Εργαστηριακές Ασκήσεις, Εργαστήριο Δερματοφαρμακολογίας – Κοσμητολογίας, Φαρμακευτική Σχολή, ΕΚΠΑ).



Εικόνα 15 Όργανο μέτρησης ενυδάτωσης και σμήγματος (Corneometer® CM 820, Sebumeter® SM 810)

### 10.3.6 Αξιολόγηση Ερυθρότητας

Το ερύθημα αποτελεί ένδειξη φλεγμονής. Στο πείραμα, η μέτρηση του ερυθήματος γίνεται με την χρήση του φωτόμετρου **Mexameter® MX 18 (Courage-Khazaka, Germany)**. Η αρχή λειτουργίας του οργάνου στηρίζεται στην απορρόφηση και στην αντανάκλαση της ακτινοβολίας. Ο ανιχνευτής εκπέμπει σε 3 μήκη κύματος και ένας ειδικός υποδοχέας μετρά την ακτινοβολία που ανακλάται από την επιδερμίδα. Εφόσον, η ποσότητα της εκπεμπόμενης ακτινοβολίας είναι καθορισμένη, υπολογίζεται από το όργανο η ποσότητα που έχει απορροφηθεί από το δέρμα. Για τη μέτρηση του ερυθήματος επιλέγονται τα μήκη κύματος που αντιστοιχούν στη μέγιστη απορρόφηση της αιμοσφαιρίνης.



Εικόνα 16 Όργανο μέτρησης ερυθρότητας (Mexameter® MX 18).

Για κάθε μυ λαμβάνονται 3 διαδοχικές μετρήσεις στο σημείο πρόκλησης της πληγής με στιγμιαία επαφή του αισθητήρα στο σημείο. (Έλεγχος και Αξιολόγηση Καλλυντικών Προϊόντων», Εργαστηριακές Ασκήσεις, Εργαστήριο Δερματοφαρμακολογίας – Κοσμητολογίας, Φαρμακευτική Σχολή, ΕΚΠΑ).

#### 10.3.7 Αξιολόγηση Ελαστικότητας

Το δέρμα, ως ένας εκ των σημαντικότερων ιστών που απαρτίζουν και προστατεύουν έναν οργανισμό, πρέπει εκτός από ανθεκτικό να είναι και ελαστικό, έτσι ώστε να αντέχει στις μηχανικές πιέσεις που του ασκούνται. Στο πείραμα, η αξιολόγηση της ελαστικότητας έγινε με τη χρήση του **Cutometer® MPA 580 (Courage-Khazaka, Germany)** όπου με τη χρήση αρνητικής πίεσης, το δέρμα υφίστατο μηχανική παραμόρφωση. Η μέτρηση αυτή βασίζεται στη μέθοδο αναρρόφησης/επιμήκυνσης. Συγκεκριμένα ο αισθητήρας μέτρησης φέρει ελατήριο και μια οπή, ο οποίος όταν τοποθετείται κάθετα στην επιφάνεια του δέρματος μέσω μιας αντλίας κενού, εφαρμόζεται από το μηχάνημα υποπίεση, για μερικά δευτερόλεπτα. Η υποπίεση διακόπτεται και ακολουθεί ένα διάστημα αποκατάστασης. Η κάθετη επιμήκυνση του δέρματος κατά την αναρρόφηση ανιχνεύεται μέσω οπτικού σήματος. Το οπτικό σύστημα μετρήσεων αποτελείται από μια πηγή φωτός και έναν ελαφρύ δέκτη, καθώς και δύο αντικριστά πρίσματα, τα οποία πρόβαλλαν το φως από τον πομπό προς τον υποδοχέα. Η ένταση του φωτός διαφέρει λόγω του βάθους διείσδυσης του δέρματος. Με την αντίσταση του δέρματος στην αρνητική πίεση (σταθερότητα) και την ικανότητά του να επιστρέφει στην αρχική του θέση (ελαστικότητα) μετρείται το βάθος διείσδυσης της κεφαλής μέτρησης του αισθητήρα σε mm/ώρα. Το λογισμικό του Cutometer® MPA 580 επιτρέπει τον υπολογισμό διάφορων παραμέτρων από τα διαφορετικά τμήματα της καμπύλης μέτρησης. Συγκεκριμένα, λαμβάνεται υπόψη η παράμετρος R2 (Gross elasticity) με την οποία εκτιμάται η αντίσταση έναντι της ικανότητας επιστροφής. Όσο πιο

κοντά στο 1 (100%) είναι η τιμή, τόσο πιο ελαστικό είναι το δέρμα. (Έλεγχος και Αξιολόγηση Καλλυντικών Προϊόντων», Εργαστηριακές Ασκήσεις, Εργαστήριο Δερματοφαρμακολογίας – Κοσμητολογίας, Φαρμακευτική Σχολή, ΕΚΠΑ).



Εικόνα 17 Όργανο μέτρησης ελαστικότητας (Cutometer® MPA 580).

### 10.3.8 Antera 3D

Η Antera 3D είναι μια κάμερα που επιτρέπει την καταγραφή εικόνων υψηλής ανάλυσης με σκοπό την αξιολόγηση θεραπειών και διαδικασιών. Η Antera χρησιμοποιεί μια καινοτόμο οπτική μέθοδο σε συνδυασμό με ένα περίπλοκο αλγόριθμο για τη λήψη εικόνων σε τρεις διαστάσεις. Έτσι επιτρέπεται η συλλογή δεδομένων που αφορούν παραμέτρους όπως η υφή του δέρματος, το πλήθος και το μέγεθος των πόρων, η ποσότητα αιμογλοβίνης και μελανίνης σε μια ορισμένη περιοχή καθώς και το μέγεθος των ρυτίδων. Έτσι αξιολογείται η αποτελεσματικότητα της θεραπείας και καταγράφονται οι αλλαγές σε παραμέτρους του δέρματος με την πάροδο του χρόνου.



Εικόνα 18 Antera 3D

### 10.3.9 Λήψη strippings από το σημείο πρόκλησης της φλεγμονής και της πληγής

Την πρώτη και τελευταία μέρα του πειράματος, πραγματοποιούταν λήψη stripping (λήψη κυττάρων από την κεράτινη στιβάδα της υπό εξέταση περιοχής) από τους μύες. Συγκεκριμένα, με χειρουργική λαβίδα και ψαλίδι κόβεται τμήμα της κολλητικής ταινίας (Invisible, 3M) σε διαστάσεις 2cm × 2cm.

Το κομμάτι αυτό αρχικά ζυγίζεται, ακολούθως πιέζεται στη ράχη των μυών 2 φορές, αφαιρείται με δύναμη και ζυγίζεται εκ νέου. Αυτή η διαδικασία ακολουθείται δύο φορές για κάθε ζώο. Τέλος, τα strippingς τοποθετούνται σε κατάλληλα tubes και φυλάσσονται στους  $-80^{\circ}\text{C}$ .

#### **10.3.10 Λήψη δέρματος από το σημείο πρόκλησης της φλεγμονής και της πληγής**

Στο τέλος του πειράματος, λαμβάνονται από τους μύες τμήμα του δέρματος από το σημείο της πληγής στη ράχη τους. Τα κομμάτια του δέρματος τοποθετούνται σε αλουμινόχαρτο και φυλάσσονται στους  $-80^{\circ}\text{C}$ . Από μερικά ζώα μέρος του δέρματος φυλάσσεται σε φορμόλη και αποστέλλεται για ιστοπαθολογική μελέτη

### **10.4 Ιστοπαθολογική Ανάλυση**

Η ιστοπαθολογική μελέτη των δερμάτων των μυών πραγματοποιήθηκε στο παθολογοανατομικό εργαστήριο του Ναυτικού Νοσοκομείου Αθηνών. Σε τομές δερμάτων έγινε χρώση αιματοξυλίνης-ηωσίνης και στη συνέχεια βγήκαν συμπεράσματα σχετικά με την ύπαρξη - απουσία φλεγμονής, τη δημιουργία ουλής – επούλωση της πληγής, την υπερκεράτωση και τον ερεθισμό του δέρματος.

### **10.5 Μέτρηση μεγέθους πληγής**

Με το πρόγραμμα Adobe Photoshop CC 2015 υπολογίστηκαν από τις φωτογραφίες των μυών τα pixels του τραύματος και τα pixels του αντικειμένου βαθμονόμησης. Γνωρίζοντας το εμβαδόν του χαρτιού βαθμονόμησης ( $1\text{ cm}^2$ ) υπολογίστηκε ανά περίπτωση το εμβαδό της πληγής.

### **10.6 Στατιστική Επεξεργασία αποτελεσμάτων**

Στην παρούσα εργασία έγινε παρουσίαση των περιγραφικών μεγεθών των δεδομένων και χρησιμοποιήθηκαν παραμετρικές μέθοδοι ανάλυσης. Για την εύρεση του μέσου όρου, της τυπικής απόκλισης και τη δημιουργία των διαγραμμάτων χρησιμοποιήθηκε το Excel<sup>®</sup> (Microsoft Office 2007). Η στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων έγινε μέσω του στατιστικού λογισμικού SPSS ver 20.

#### **❖ Έλεγχος κανονικότητας**

Αρχικά πραγματοποιήθηκε έλεγχος κανονικότητας των δεδομένων προκειμένου να επιλεγούν παραμετρικές ή μη παραμετρικές μέθοδοι ανάλυσης. Για το σκοπό αυτό χρησιμοποιήθηκαν τα κριτήρια Kolmogorov-Smirnov και Shapiro-Wilk. Τα κριτήρια αυτά ελέγχουν αν η κατανομή του

πληθυσμού, από τον οποίο προήρθε το τυχαίο δείγμα, ακολουθεί μία συγκεκριμένη κατανομή πιθανότητας (πχ. κανονική). Σε όλες τις περιπτώσεις, προέκυψε ότι τα δεδομένα ακολουθούν κανονική κατανομή ( $p > 0,05$ ) γεγονός που μας επιτρέπει την εφαρμογή παραμετρικών μεθόδων ανάλυσης.

#### ❖ ANOVA

Για τη διαπίστωση τυχόν στατιστικά σημαντικών διαφορών μεταξύ των θεραπειών εφαρμόστηκε η ανάλυση διασποράς (ANOVA). Η ANOVA χρησιμοποιείται για τον έλεγχο της στατιστικής σημαντικότητας των διαφορών των μέσων όρων περισσότερων από δύο ομάδων-δειγμάτων

Τα αποτελέσματα της ANOVA αξιολογήθηκαν παρατηρώντας την τιμή της σημαντικότητας και την εφαρμογή κριτηρίου post-hoc LSD (Least Significant Difference). Το όριο για τη σημαντικότητα σε όλες τις δοκιμές ήταν  $p \leq 0,05$ .

#### ❖ Paired t-test

Το κριτήριο t για εξαρτημένα δείγματα ελέγχει αν οι πληθυσμιακοί μέσοι όροι ανάμεσα σε ζεύγη παρατηρήσεων διαφέρουν σημαντικά μεταξύ τους. Στην περίπτωση αυτή αναφερόμαστε στις τιμές της ίδιας ποσοτικής μεταβλητής που παρατηρήθηκαν την πρώτη και την τελευταία μέρα του πειράματος.

## 10.7 Συνοπτική περιγραφή πειραμάτων

### 10.7.1 Πείραμα Φλεγμονής

Σαράντα θηλυκοί, άτριχοι μύες τύπου SKH-1 χωρίστηκαν σε 5 ομάδες των 8 ζώων και εγκλιματίστηκαν για μια βδομάδα στις συνθήκες του δωματίου πειραματισμού. Σε καθεμιά από τις πέντε ομάδες εφαρμόστηκαν τα εξής πολυμερικά επιθέματα με κολλητική ταινία περιδέσης (Tegaderm, 3M) .

1. Αποστειρωμένη Γάζα (Ομάδα 1, Μάρτυρες)
2. Επίθεμα PEO/CA (Ομάδα 2)
3. Επίθεμα SA/PEO/CA (Ομάδα 3)
4. Επίθεμα SA/PEO/CA/*P.halepensis* 15,1 % w/w (Ομάδα 4)
5. Επίθεμα SA/PEO/CA/*P.halepensis* 26,2 % w/w (Ομάδα 5)

Η αλλαγή και η εφαρμογή νέων επιθεμάτων γινόταν κάθε 24 ώρες για 18 ημέρες.

Ημέρα 1: Μετρήσεις των παραμέτρων TEWL, Ενυδάτωση, Σμήγμα, Ερύθημα, Ελαστικότητα και Πάχος Δέρματος. Ακτινοβόληση των μυών με δόση ίση με 3 Ελάχιστες Ερυθηματώδεις Δόσεις (3MED) για την πρόκληση μικρής εντάσεως φλεγμονής.

Ημέρες 1-17: Λήψη φωτογραφιών και εφαρμογή των επιθεμάτων

Ημέρες 2,4,7,10,14: Μετρήσεις των παραμέτρων TEWL, Ενυδάτωση, Σμήγμα, Ερύθημα και Πάχος Δέρματος.

Ημέρα 18: Λήψη φωτογραφιών, Μετρήσεις των παραμέτρων TEWL, Ενυδάτωση, Σμήγμα, Ερύθημα και Πάχος Δέρματος, Λήψη strippings, Ευθανασία των μυών και Λήψη δερμάτων για ιστοπαθολογική αξιολόγηση.

### **10.7.2 Πείραμα επουλώσεως πληγής**

#### **Πείραμα 1<sup>ο</sup>**

Σαράντα αρσενικοί, άτριχοι μύες τύπου SKH-1 χωρίστηκαν σε 5 ομάδες των 8 ζώων και εγκλιματίστηκαν για μια βδομάδα στις συνθήκες του δωματίου πειραματισμού. Σε καθεμιά από τις πέντε ομάδες εφαρμόστηκαν τα εξής πολυμερικά επιθέματα με κολλητική ταινία περιόδου (Opsite flexigrid).

1. Αποστειρωμένη Γάζα (Ομάδα 1, Μάρτυρες)
2. Επίθεμα PCL/PVP (Ομάδα 2)
3. Επίθεμα PCL/PVP/1% w/w propolis (Ομάδα 3)
4. Επίθεμα PCL/PVP/15% w/w propolis (Ομάδα 4)
5. Επίθεμα PCL/PVP/30% w/w propolis (Ομάδα 5)

Η αλλαγή και η εφαρμογή νέων επιθεμάτων γινόταν κάθε 24 ώρες για 20 ημέρες.

Ημέρα 1: Μετρήσεις των παραμέτρων Πάχος Δέρματος, TEWL, Ενυδάτωση και Ερύθημα. Αναισθητοποίηση των μυών και πρόκληση τραύματος επιφανείας 1cm<sup>2</sup> στη ράχη τους

Ημέρες 1-19: Εφαρμογή των επιθεμάτων, Λήψη φωτογραφιών (ανά δυο μέρες)

Ημέρα 20: Λήψη φωτογραφιών, Μετρήσεις των παραμέτρων των παραμέτρων Πάχος Δέρματος, TEWL, Ενυδάτωση και Ερύθημα. Λήψη strippings. Ευθανασία των μυών και Λήψη δερμάτων για ιστοπαθολογική αξιολόγηση.

#### **Πείραμα 2<sup>ο</sup>**

Σαράντα αρσενικοί, άτριχοι μύες τύπου SKH-1 χωρίστηκαν σε 5 ομάδες των 8 ζώων και εγκλιματίστηκαν για μια βδομάδα στις συνθήκες του δωματίου πειραματισμού. Σε καθεμιά από τις

πέντε ομάδες εφαρμόστηκαν τα εξής πολυμερικά επιθέματα με κολλητική ταινία περιδέσης (Fixomull BSN).

1. Αποστειρωμένη Γάζα (Ομάδα 1, Μάρτυρες)
2. Επίθεμα PCL/PVP (Ομάδα 2)
3. Επίθεμα PCL/PVP/0,1% w/w propolis (Ομάδα 3)
4. Επίθεμα PCL/PVP/0,4% w/w propolis (Ομάδα 4)
5. Επίθεμα PCL/PVP/0,7% w/w propolis (Ομάδα 5)

Η αλλαγή και η εφαρμογή νέων επιθεμάτων γινόταν κάθε 24 ώρες για 18 ημέρες.

Ημέρα 1: Μετρήσεις των παραμέτρων Πάχος Δέρματος, TEWL, Ενυδάτωση, Ερύθημα και Ελαστικότητα. Αναισθητοποίηση των μυών και πρόκληση τραύματος επιφανείας 1cm<sup>2</sup> στη ράχη τους

Ημέρες 1-17: Εφαρμογή των επιθεμάτων, Λήψη φωτογραφιών (ανά δυο μέρες)

Ημέρα 18: Λήψη φωτογραφιών, Μετρήσεις των παραμέτρων Πάχος Δέρματος, TEWL, Ενυδάτωση, Ερύθημα και Ελαστικότητα Λήψη strippings, Ευθανασία των μυών και Λήψη δερμάτων για ιστοπαθολογική αξιολόγηση.

















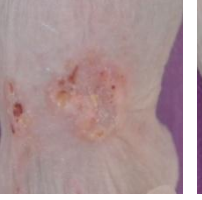



























# ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

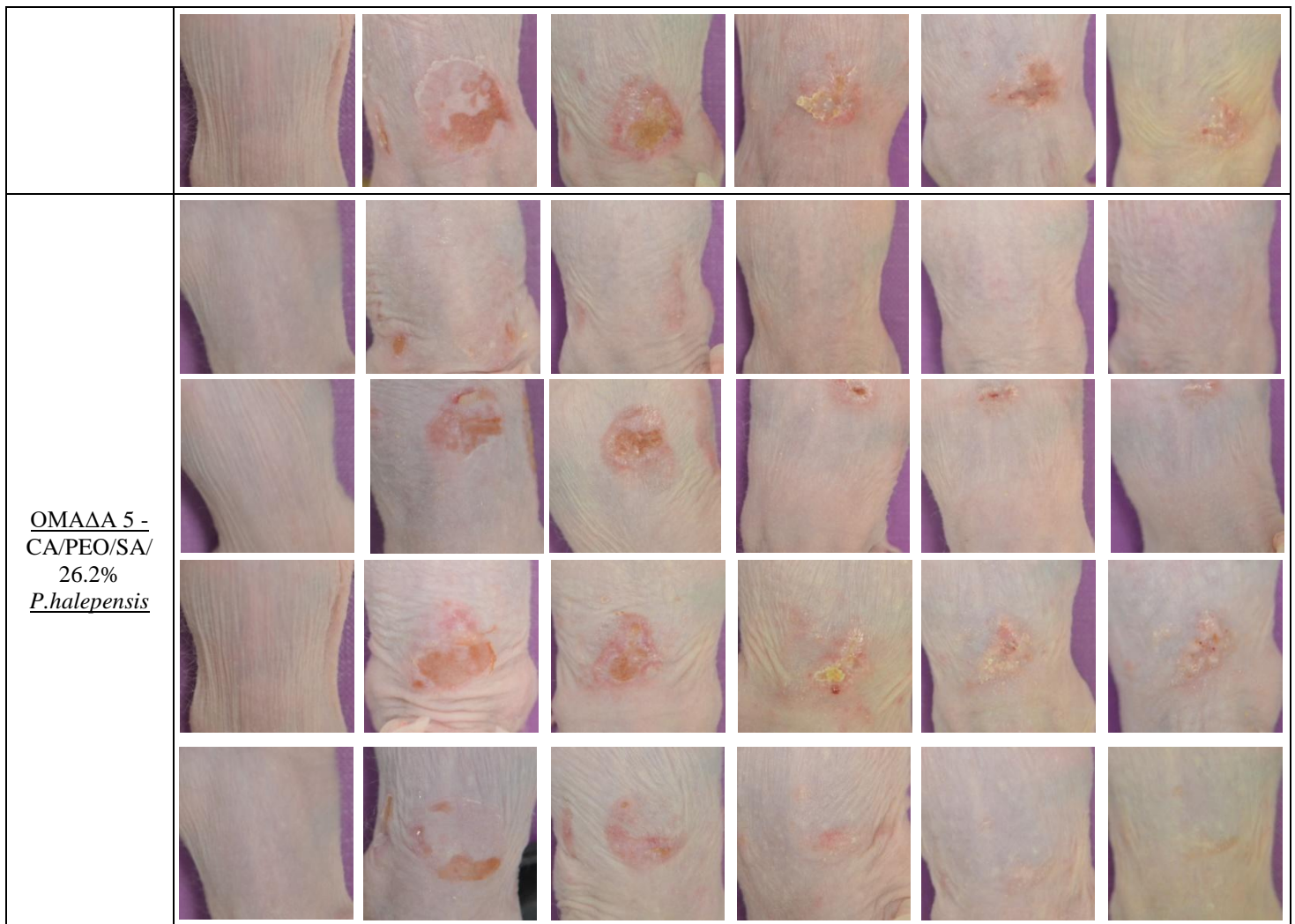
# ΚΕΦΑΛΑΙΟ 11

## Πείραμα φλεγμονής

### 11.1 Φωτογραφικό υλικό

ΟΜΑΔΕΣ	ΗΜΕΡΕΣ					
	1 <sup>η</sup>	4 <sup>η</sup>	7 <sup>η</sup>	10 <sup>η</sup>	14 <sup>η</sup>	18 <sup>η</sup>
<u>ΟΜΑΔΑ 1 -</u> ΓΑΖΑ						
						
						
						
<u>ΟΜΑΔΑ 2 -</u> CA/PEO						
						
						

<p><u>ΟΜΑΔΑ 3 -</u>  <u>CA/PEO/SA</u></p>						
<p><u>ΟΜΑΔΑ 4 -</u>  <u>CA/PEO/SA/</u>  <u>15.1%</u>  <u><i>P.halepensis</i></u></p>						



**Πίνακας 1 Φωτογραφικό υλικό από το σημείο της φλεγμονής κατά τη διάρκεια του πειράματος**

- Από το φωτογραφικό υλικό του **Πίνακα 1** παρατηρείται ότι την ημέρα 4 μετά την ακτινοβολία εμφανίζονται έντονα τα στοιχεία της φλεγμονής, κυρίως ερύθημα στις ομάδες 1-4. Στις ομάδες της γάζας και CA/PEO παρατηρείται σε κάποια ζώα οίδημα στην περιοχή. Στην ομάδα με επίθεμα *P. halepensis* 26,2% w/w κάποια ζώα εμφάνισαν περιορισμένη φλεγμονώδης αντίδραση. Την 7<sup>η</sup> ημέρα τα στοιχεία της φλεγμονής όπως ο ερεθισμός, το οίδημα και η ξηροδερμία είναι σε έξαρση στις ομάδες γάζας και CA/PEO. Στην ομάδα με επίθεμα SA/PEO/CA παρατηρείται λίγο καλύτερη κλινική εικόνα από αυτή των μαρτύρων. Στις ομάδες με επίθεμα με *P. halepensis* 15,1% w/w και 26,2% w/w το ερύθημα έχει αρχίσει να υποχωρεί. Τη 10<sup>η</sup> και 14<sup>η</sup> ημέρα του πειράματος, το δέρμα των μυών των ομάδων SA/PEO/CA, *P. halepensis* 15.1% w/w και 26.2% w/w επανέρχεται σταδιακά στη φυσιολογική του κατάσταση με καλύτερη κλινική εικόνα αυτή της ομάδας με ποσοστό 26,2%. Οι ομάδες γάζας και CA/PEO συνεχίζουν να φέρουν σημάδια χρόνιας φλεγμονής και ξηροδερμίας. Τέλος, την 18<sup>η</sup> ημέρα οι ομάδες γάζας και CA/PEO εμφανίζουν παρόμοια κλινική εικόνα · το δέρμα των μυών έχει εμφανή στοιχεία φλεγμονής.

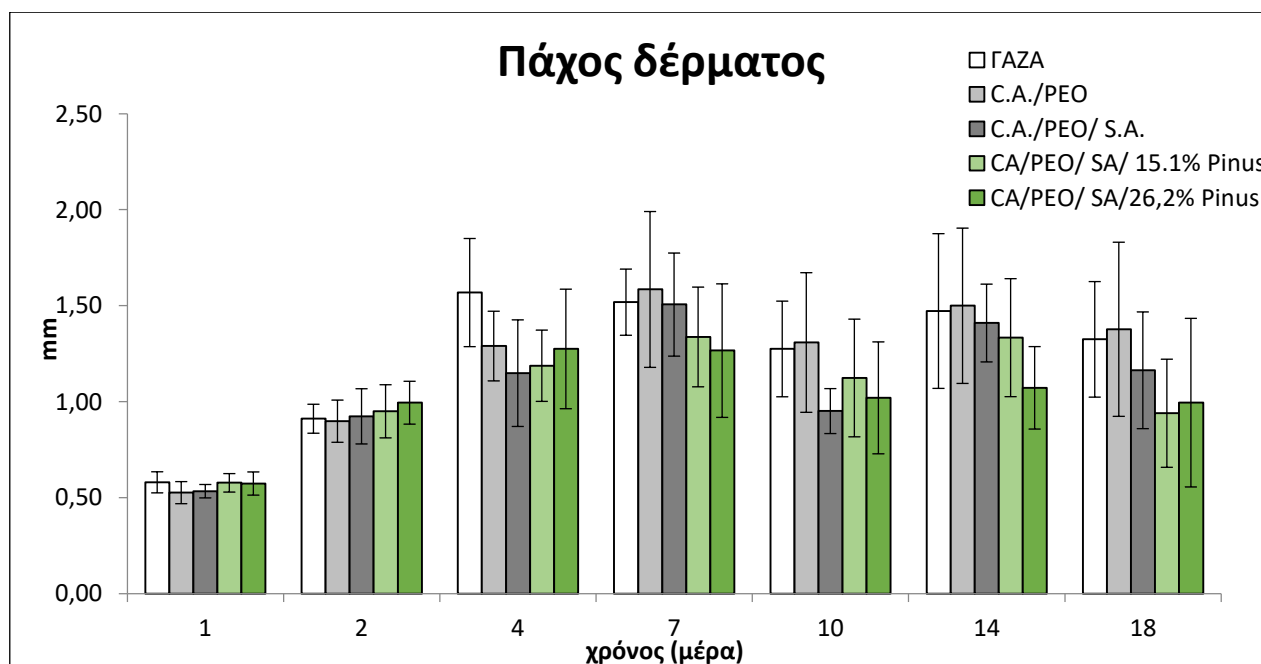
Καλύτερη εικόνα παρουσιάζει η ομάδα SA/PEO/CA σε σύγκριση με τους μάρτυρες καθώς ορισμένα ζώα έχουν έλθει σχεδόν στη φυσιολογική τους κατάσταση. Όσον αφορά τις ομάδες 4 και 5 το μεγαλύτερο ποσοστό των ζώων εμφανίζουν υγιές δέρμα.

### 11.1.1 Αξιολόγηση του Πάχους δέρματος

Ο μέσος όρος (Μ.Ο.) και η τυπική απόκλιση (STDEV) των μετρήσεων του πάχους του δέρματος κατά τη διάρκεια του πειράματος (ημέρες 1,2,4,7,10,14,18) δίνονται στον **Πίνακα 2** και στο **Διάγραμμα 1**.

<u>ΟΜΑΔΕΣ</u>	<u>ΗΜ. 1<sup>η</sup></u>	<u>ΗΜ. 2<sup>η</sup></u>	<u>ΗΜ. 4<sup>η</sup></u>	<u>ΗΜ. 7<sup>η</sup></u>	<u>ΗΜ. 10<sup>η</sup></u>	<u>ΗΜ. 14<sup>η</sup></u>	<u>ΗΜ. 18<sup>η</sup></u>
<u>ΟΜΑΔΑ 1</u>	0.58±0.06	0.91±0.08	1.57±0.28	1.52±0.17	1.28±0.25	1.47±0.40	1.33±0.30
<u>ΟΜΑΔΑ 2</u>	0.53±0.06	0.90±0.11	1.29±0.18	1.59±0.41	1.31±0.36	1.50±0.40	1.38±0.45
<u>ΟΜΑΔΑ 3</u>	0.53±0.04	0.92±0.14	1.15±0.28	1.51±0.27	0.95±0.12	1.41±0.20	1.16±0.30
<u>ΟΜΑΔΑ 4</u>	0.58±0.05	0.95±0.14	1.19±0.19	1.34±0.26	1.12±0.31	1.33±0.31	0.94±0.28
<u>ΟΜΑΔΑ 5</u>	0.57±0.06	1.00±0.11	1.28±0.31	1.27±0.35	1.02±0.29	1.07±0.21	1.00±0.44

**Πίνακας 2** Μέσος όρος τιμών του πάχους ± τυπική απόκλιση για τις 5 ομάδες



**Διάγραμμα 1** Μεταβολή του πάχους δέρματος τις 18 ημέρες για τις 5 ομάδες

- Στο **Διάγραμμα 1** παρατηρείται αύξηση του πάχους του δέρματος σε όλες τις ομάδες. Η αύξηση αυτή είναι εμφανώς μεγαλύτερη για τις ομάδες της γάζας και CA/PEO ενώ για τις

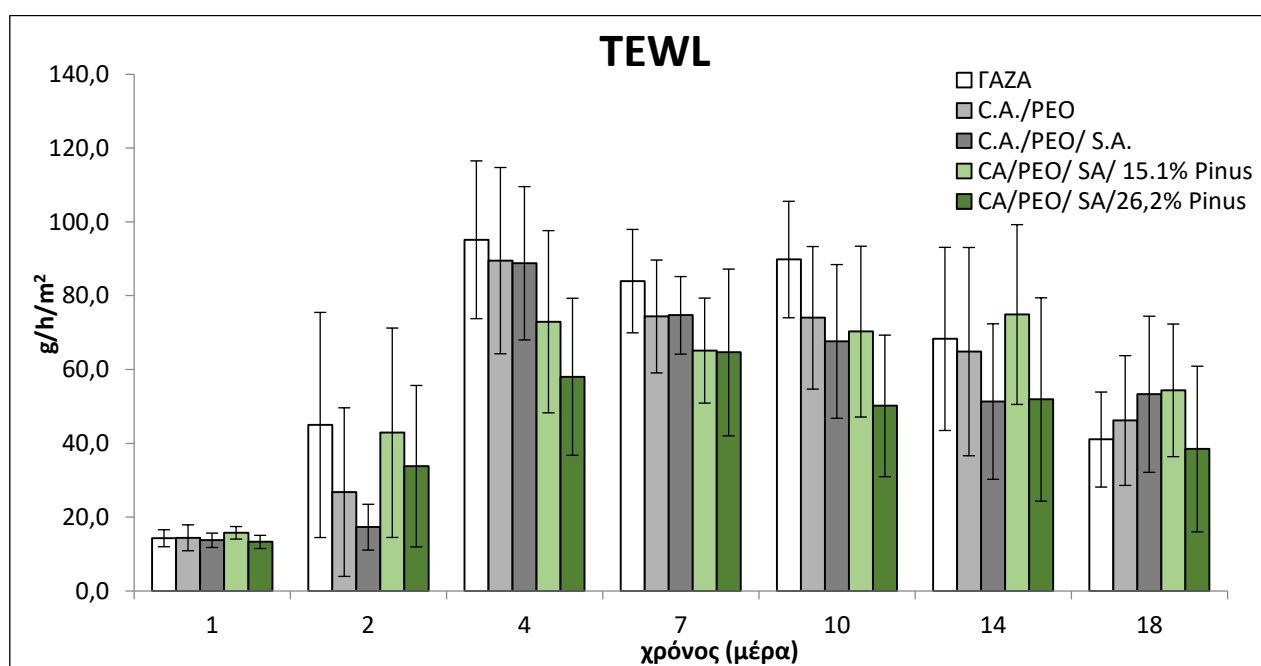
ομάδες 4 και 5 όπου το επίθεμα περιέχει το εκχύλισμα *P.haerperensis* το πάχος του δέρματος έχει διατηρηθεί σε τιμές χαμηλότερες.

### 11.1.2 Αξιολόγηση της Αδηλης Απόλειας Ύδατος (TEWL)

Ο μέσος όρος (Μ.Ο.) και η τυπική απόκλιση (STDEV) των μετρήσεων της TEWL του δέρματος κατά τη διάρκεια του πειράματος (ημέρες 1,2,4,7,10,14,18) δίνονται στον **Πίνακα 3** και στο **Διάγραμμα 2**.

<u>ΟΜΑΔΕΣ</u>	<u>ΗΜ. 1<sup>η</sup></u>	<u>ΗΜ. 2<sup>η</sup></u>	<u>ΗΜ. 4<sup>η</sup></u>	<u>ΗΜ. 7<sup>η</sup></u>	<u>ΗΜ. 10<sup>η</sup></u>	<u>ΗΜ. 14<sup>η</sup></u>	<u>ΗΜ. 18<sup>η</sup></u>
<u>ΟΜΑΔΑ 1</u>	14.3±2.3	45.0±30.5	95.2±21.4	84.0±14.0	89.8±15.8	68.3±24.8	41.1±12.9
<u>ΟΜΑΔΑ 2</u>	14.4±3.5	26.8±22.8	89.5±25.2	74.4±15.3	74.0±19.3	64.9±28.2	46.2±17.6
<u>ΟΜΑΔΑ 3</u>	13.8±2.0	17.3±6.2	88.8±20.8	74.7±10.5	67.6±20.8	51.3±21.1	53.3±21.1
<u>ΟΜΑΔΑ 4</u>	15.8±1.7	42.9±28.4	73.0±24.7	65.2±14.2	70.3±23.1	74.9±24.4	54.4±18.0
<u>ΟΜΑΔΑ 5</u>	13.3±1.8	33.8±21.9	58.0±21.3	64.6±22.6	50.2±19.2	51.9±27.5	38.5±22.4

**Πίνακας 3** Μέσος όρος τιμών TEWL ± τυπική απόκλιση για τις 5 ομάδες



**Διάγραμμα 2** Μεταβολή της TEWL του δέρματος τις 18 ημέρες για τις 5 ομάδες

- Στο **Διάγραμμα 2** παρατηρείται αύξηση των τιμών της TEWL σε όλες τις ομάδες. Οι μεγαλύτερες μεταβολές σημειώνονται στις ομάδες της γάζας και CA/PEO. Όσον αφορά τις

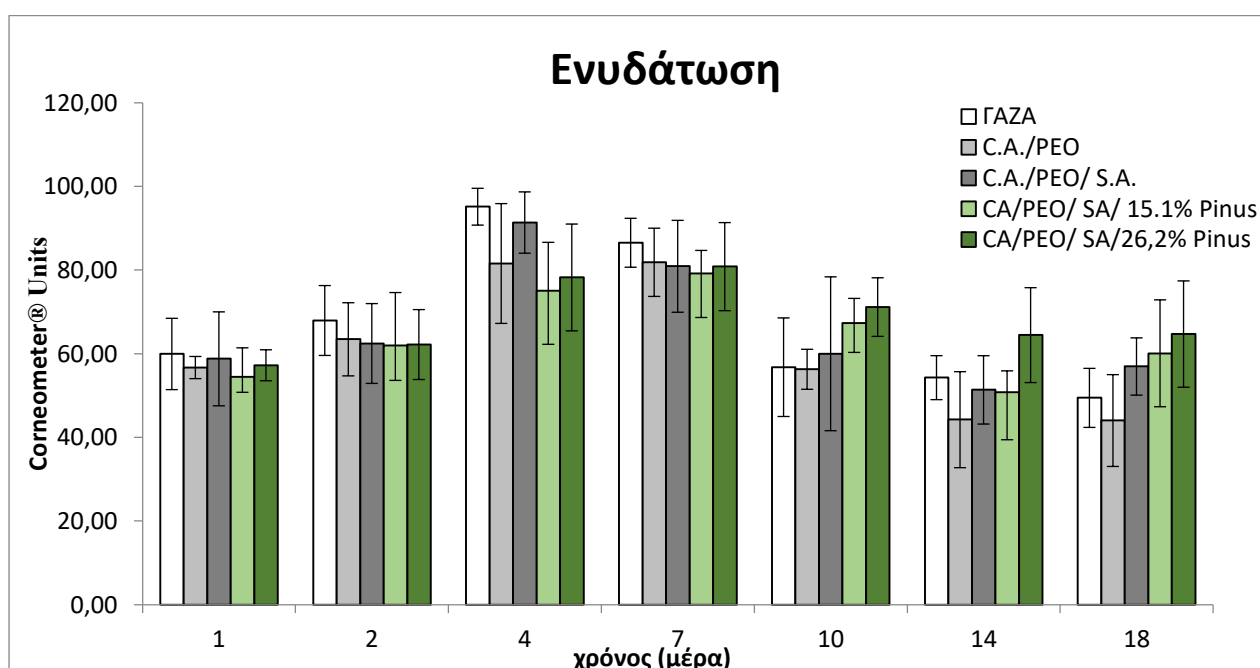
ομάδες με το εκχύλισμα του *P.halepensis* μετά την 7<sup>η</sup> ημέρα παρουσιάζεται αισθητή πτώση των τιμών της TEWL.

### 11.1.3 Αξιολόγηση της Ενυδάτωσης

Ο μέσος όρος (Μ.Ο.) και η τυπική απόκλιση (STDEV) των μετρήσεων της ενυδάτωσης του δέρματος κατά τη διάρκεια του πειράματος (ημέρες 1,2,4,7,10,14,18) δίνονται στον **Πίνακα 4** και στο **Διάγραμμα 3**.

<u>ΟΜΑΔΕΣ</u>	<u>ΗΜ. 1<sup>η</sup></u>	<u>ΗΜ. 2<sup>η</sup></u>	<u>ΗΜ. 4<sup>η</sup></u>	<u>ΗΜ. 7<sup>η</sup></u>	<u>ΗΜ. 10<sup>η</sup></u>	<u>ΗΜ. 14<sup>η</sup></u>	<u>ΗΜ. 18<sup>η</sup></u>
<u>ΟΜΑΔΑ 1</u>	59.96±8.52	67.96±8.36	95.17±4.40	86.54±5.84	56.79±11.78	54.29±5.26	48.46±7.06
<u>ΟΜΑΔΑ 2</u>	56.71±2.65	63.46±8.75	81.58±14.32	81.88±8.16	56.29±4.79	44.25±11.47	44.04±10.98
<u>ΟΜΑΔΑ 3</u>	58.79±11.23	62.46±9.54	91.38±7.32	80.92±10.98	60.00±18.39	51.38±8.16	56.96±6.84
<u>ΟΜΑΔΑ 4</u>	54.50±6.92	62.00±12.64	75.04±11.60	79.21±5.50	67.33±5.91	50.79±5.13	60.04±12.84
<u>ΟΜΑΔΑ 5</u>	57.25±3.70	62.21±8.36	78.25±12.77	80.83±10.53	71.17±7.00	64.46±11.34	64.71±12.70

Πίνακας 4 Μέσος όρος τιμών ενυδάτωσης ± τυπική απόκλιση για τις 5 ομάδες



Διάγραμμα 3 Μεταβολή της ενυδάτωσης του δέρματος τις 18 ημέρες για τις 5 ομάδες

- Στο **Διάγραμμα 3** παρατηρείται αύξηση των τιμών της ενυδάτωσης για όλες τις ομάδες μέχρι την ημέρα 7 (ημέρες έξαρσης της φλεγμονής). Στη συνέχεια η ομάδα SA/CA/PEO και οι δυο ομάδες με το εκχύλισμα του *P.halepensis* διατηρούν τα επίπεδα ενυδάτωσης στα αρχικά

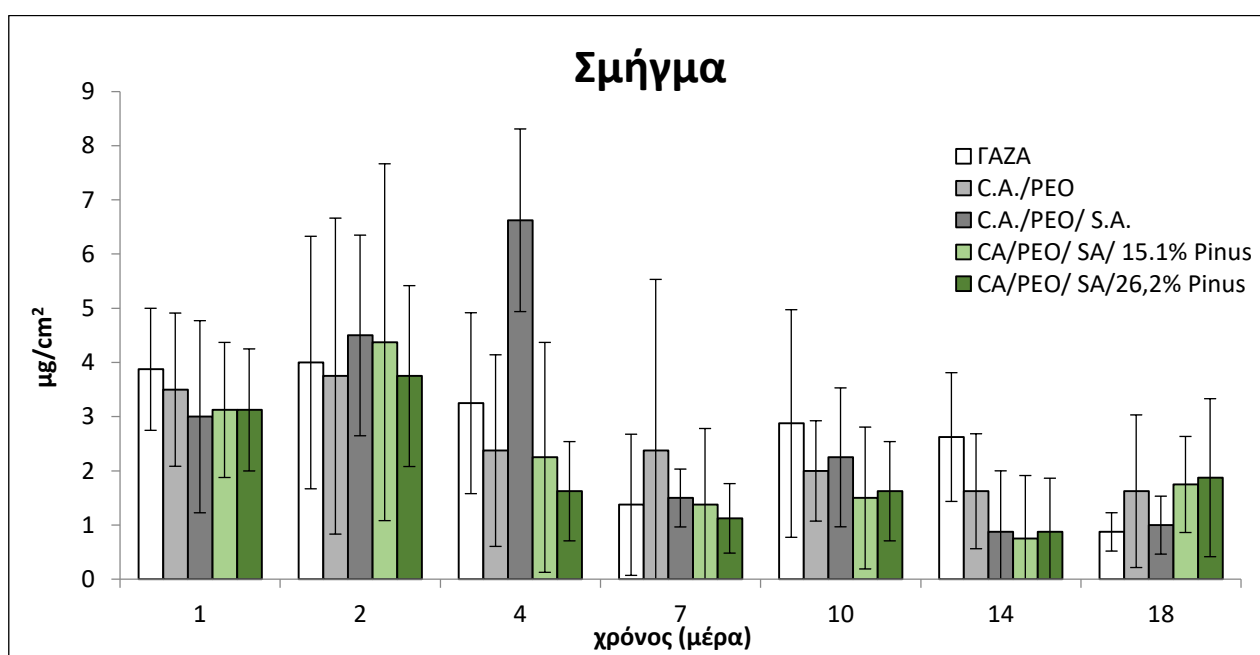
επίπεδα ενώ στις ομάδες γάζας και CA/PEO παρατηρείται μείωση των τιμών σε χαμηλότερα επίπεδα από τα αρχικά.

#### 11.1.4 Αξιολόγηση της παραγωγής Σμήγματος

Ο μέσος όρος (Μ.Ο.) και η τυπική απόκλιση (STDEV) των μετρήσεων του σμήγματος του δέρματος κατά τη διάρκεια του πειράματος (ημέρες 1,2,4,7,10,14,18 ) δίνονται στον **Πίνακα 5** και στο **Διάγραμμα 4**.

<u>ΟΜΑΔΕΣ</u>	<u>ΗΜ. 1<sup>η</sup></u>	<u>ΗΜ. 2<sup>η</sup></u>	<u>ΗΜ. 4<sup>η</sup></u>	<u>ΗΜ. 7<sup>η</sup></u>	<u>ΗΜ. 10<sup>η</sup></u>	<u>ΗΜ. 14<sup>η</sup></u>	<u>ΗΜ. 18<sup>η</sup></u>
<u>ΟΜΑΔΑ 1</u>	4±1	4±2	3±2	1±1	3±2	3±1	1±0
<u>ΟΜΑΔΑ 2</u>	4±1	4±3	2±2	2±3	2±1	2±1	2±1
<u>ΟΜΑΔΑ 3</u>	3±2	5±2	7±2	2±1	2±1	1±1	1±1
<u>ΟΜΑΔΑ 4</u>	3±1	4±3	2±2	1±1	2±1	1±1	2±1
<u>ΟΜΑΔΑ 5</u>	3±1	4±2	2±1	1±1	2±1	1±1	2±1

**Πίνακας 5** Μέσος όρος τιμών σμήγματος ± τυπική απόκλιση για τις 5 ομάδες



**Διάγραμμα 4** Μεταβολή του σμήγματος του δέρματος τις 18 ημέρες για τις 5 ομάδες

- Στο **Διάγραμμα 4** παρατηρείται αύξηση των τιμών του σμήγματος τις ημέρες έξαρσης της φλεγμονής (2-7) και οι οποίες έχουν την τάση να επιστρέψουν στα αρχικά επίπεδα,

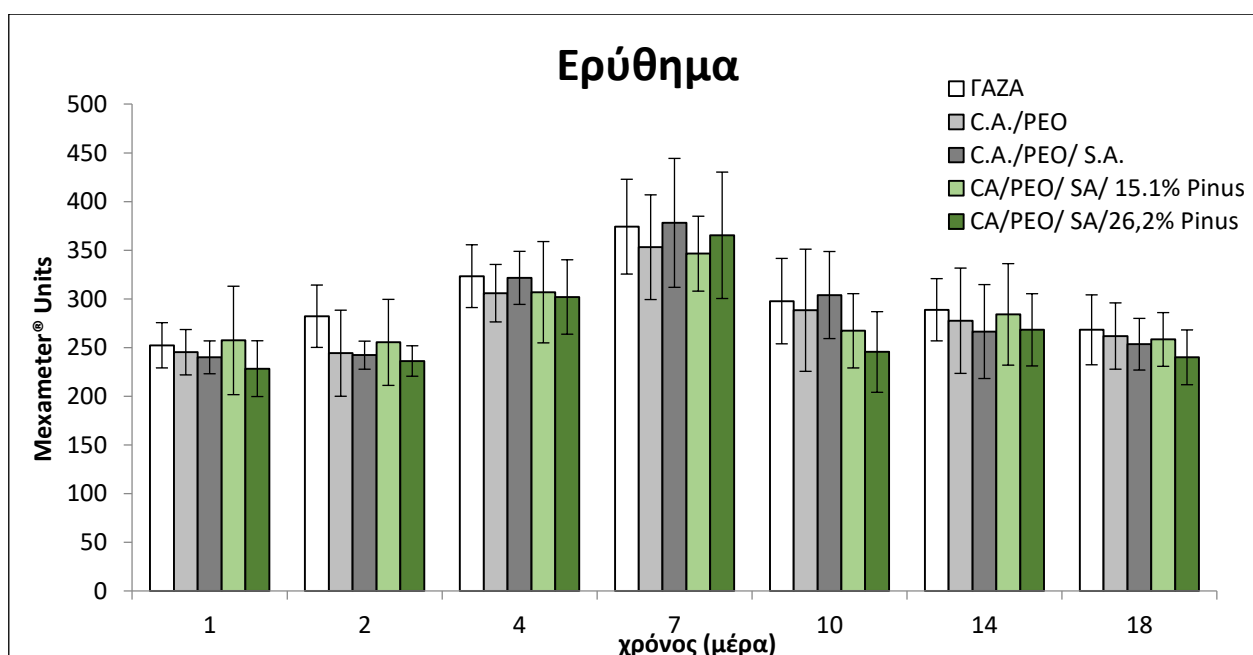


### 11.1.5 Αξιολόγηση του Ερυθήματος

Ο μέσος όρος (Μ.Ο.) και η τυπική απόκλιση (STDEV) των μετρήσεων του ερυθήματος του δέρματος κατά τη διάρκεια του πειράματος (ημέρες 1,2,4,7,10,14,18 ) δίνονται στον **Πίνακα 6** και στο **Διάγραμμα 5**.

<u>ΟΜΑΔΕΣ</u>	<u>ΗΜ. 1<sup>η</sup></u>	<u>ΗΜ. 2<sup>η</sup></u>	<u>ΗΜ. 4<sup>η</sup></u>	<u>ΗΜ. 7<sup>η</sup></u>	<u>ΗΜ. 10<sup>η</sup></u>	<u>ΗΜ. 14<sup>η</sup></u>	<u>ΗΜ. 18<sup>η</sup></u>
<u>ΟΜΑΔΑ 1</u>	252±23	282±32	323±32	374±49	298±44	289±32	268±36
<u>ΟΜΑΔΑ 2</u>	245±23	244±44	306±30	353±54	288±63	278±54	262±34
<u>ΟΜΑΔΑ 3</u>	240±17	242±14	322±27	378±66	304±45	267±48	254±27
<u>ΟΜΑΔΑ 4</u>	257±56	255±44	307±52	347±338	267±38	284±52	258±28
<u>ΟΜΑΔΑ 5</u>	228±29	236±16	302±38	365±65	246±61	268±37	240±28

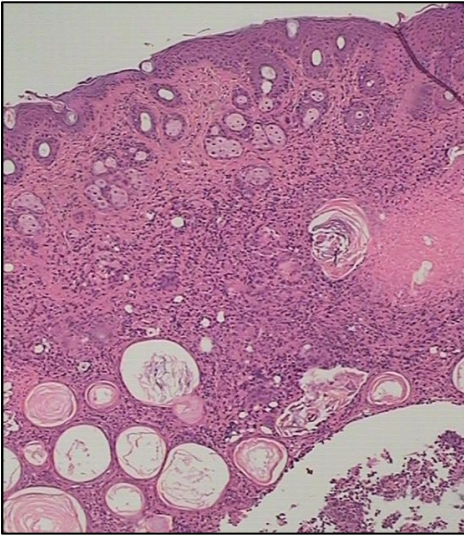
Πίνακας 6 Μέσος όρος τιμών σμήγματος ± τυπική απόκλιση για τις 5 ομάδες



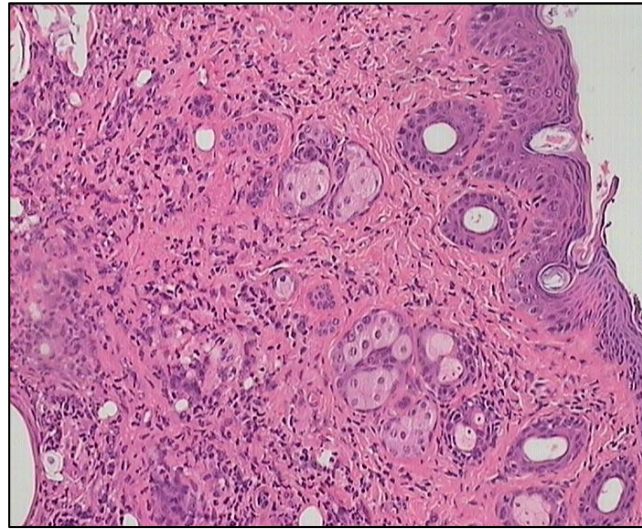
Διάγραμμα 5 Μεταβολή του ερυθήματος του δέρματος τις 18 ημέρες για τις 5 ομάδες

- Στο **Διάγραμμα 5** παρατηρούνται μέγιστες τιμές ερυθήματος την ημέρα 7 (έξαρση φλεγμονής) για όλες τις ομάδες. Αξίζει να αναφερθεί ότι οι τιμές του ερυθήματος την ημέρα 18 έχουν επιστρέψει σε φυσιολογικά επίπεδα.

### 11.1.6 Ιστοπαθολογική Αξιολόγηση



(μεγέθυνση x100)



(μεγέθυνση x200)

**Εικόνα 19** Τομή δέρματος μύς ομάδας 1 (γάζα)

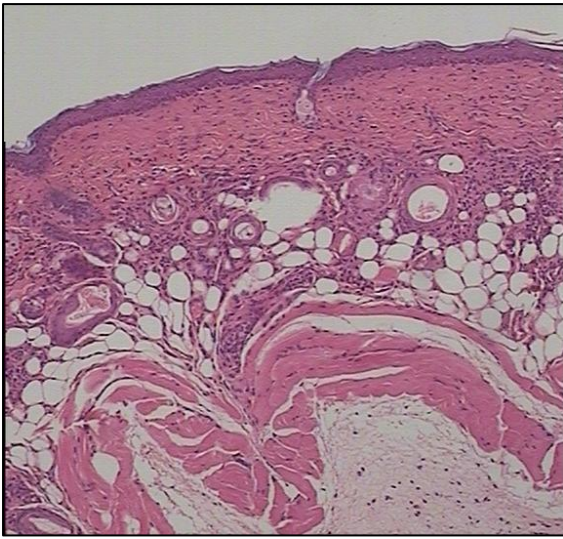
Η ομάδα των μαρτύρων παρουσιάζει εικόνα με έντονη, χρόνια φλεγμονή (παρουσία πολυμορφοπύρηνων λεμφοκυττάρων) και ενεργό φλεγμονή στο χόριο και στο υποδόριο. Στην επιδερμίδα παρατηρείται υπερκεράτωση (**Εικ. 19**). Η ομάδα αυτή έδειξε τη χειρότερη εικόνα από όλες τις ομάδες.



(μεγέθυνση x100)

**Εικόνα 20** Τομή δέρματος μύς ομάδας 2 (CA/PEO)

Η ομάδα με το πολυμερικό επίθεμα CA/PEO εμφανίζει χρόνια λεμφοκυτταρική φλεγμονώδη διήθηση μεταξύ χορίου – υποδορίου και ενεργό φλεγμονή. Ακόμα παρουσιάζει επιδερμίδα με υπερκεράτωση (**Εικ.20**). Η εικόνα αυτή είναι παρόμοια με την εικόνα της ομάδας 1.



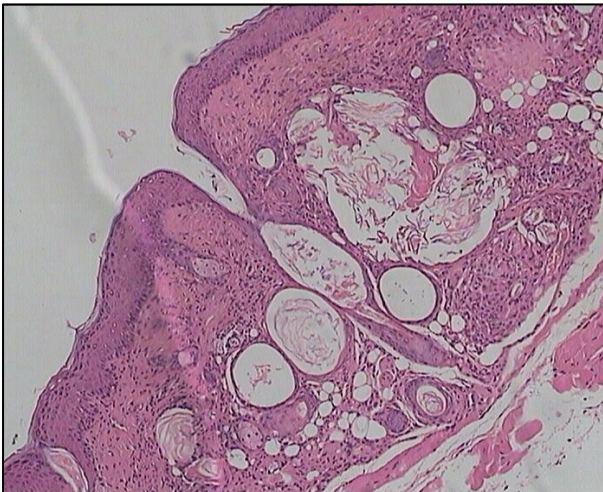
(μεγέθυνση x100)



(μεγέθυνση x200)

**Εικόνα 21** Τομή δέρματος μύος ομάδας 3 (CA/PEO/SA)

Η ομάδα με το επίθεμα CA/PEO/SA παρουσιάζει μέτρια χρόνια φλεγμονή (αραιές λεμφοκυτταρικές διηθήσεις) μεταξύ χορίου-υποδορίου και ενεργό φλεγμονή. Η επιδερμίδα είναι καλύτερη με μέτρια υπερκεράτωση. (**Εικ.21**). Η εικόνα αυτή είναι λίγο καλύτερη από τις εικόνες της ομάδας 1 και 2.



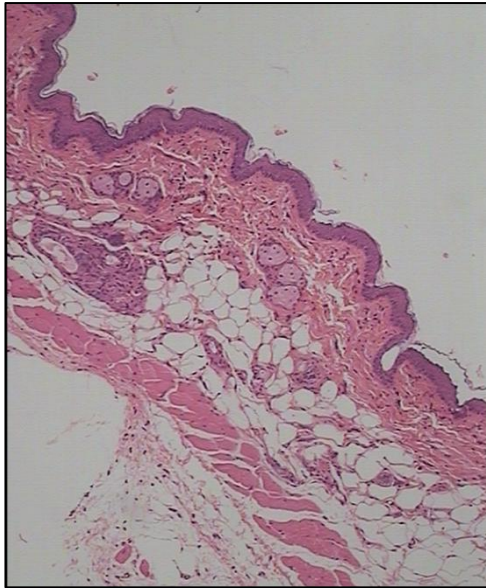
(μεγέθυνση x100)



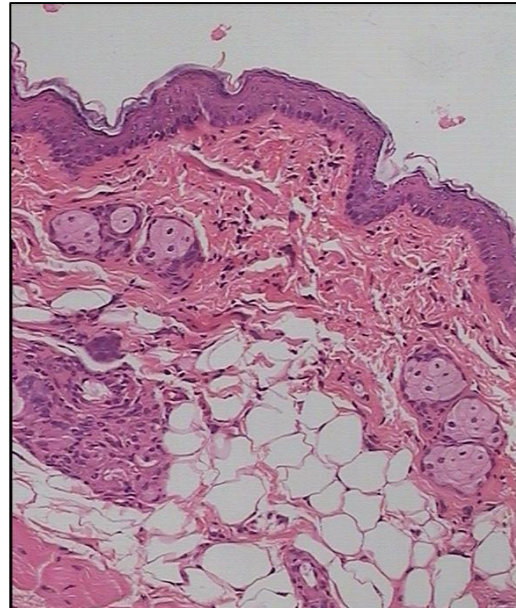
(μεγέθυνση x200)

**Εικόνα 22** Τομή δέρματος μύος ομάδας 4 (CA/PEO/SA/15.1%w/w *P.halepensis*)

Η ομάδα με το επίθεμα CA/PEO/SA/15.1%w/w *P.halepensis* παρουσιάζει ήπια χρόνια φλεγμονή (αραιές λεμφοκυτταρικές διηθήσεις) μεταξύ χορίου-υποδορίου. Η επιδερμίδα είναι καλή με ελαφριά υπερκεράτωση. (**Εικ. 22**). Η εικόνα αυτή είναι παρόμοια με την εικόνα της ομάδας 3.



(μεγέθυνση x100)



(μεγέθυνση x200)

**Εικόνα 23** Τομή δέρματος μυός ομάδας 5 (CA/PEO/SA/26.2%w/w *P.halepensis*)

Η ομάδα με το επίθεμα SA/PEO/CA/*P.halepensis* 26,2% w/w παρουσιάζει εικόνα με ελάχιστη έως καθόλου φλεγμονή. Ακόμα απουσιάζει η φλεγμονή στο εν τω βάθει χόριο και παρατηρείται μια καλή εικόνα της επιδερμίδας (**Εικ. 23**) Η ομάδα αυτή έδειξε την καλύτερη εικόνα σύμφωνα με την ιστοπαθολογική αξιολόγηση.

## 11.2 Συζήτηση

Με βάση την κλινική εικόνα, το φωτογραφικό υλικό, τις μετρήσεις των διαφόρων δερματικών παραμέτρων και την ιστοπαθολογική αξιολόγηση διαπιστώνεται ότι η ομάδα στην οποία εφαρμόστηκαν τα επιθέματα με το εκχύλισμα *P.halepensis* 26.2%w/w (συγκέντρωση κορεσμού) είχαν την καλύτερη συνολική εικόνα. Κατά τη διάρκεια του πειράματος η εκδήλωση της φλεγμονής ήταν ήπια με ελάχιστο ερύθημα και ξηροδερμία, οι μετρήσεις των δερματικών παραμέτρων επέστρεψαν στα αρχικά επίπεδα και η ιστοπαθολογική αξιολόγηση έδειξε ελάχιστη έως καθόλου φλεγμονή και μια υγιή επιδερμίδα. Αμέσως μετά ακολουθεί με μικρές διαφορές όσον αφορά την κλινική εικόνα και τις τιμές των μετρήσεων η ομάδα με εκχύλισμα *P.halepensis* 15,1%w/w. Η ιστοπαθολογική αξιολόγηση αυτής της ομάδας παρουσίασε ήπια φλεγμονή στο χόριο και μια αρκετά καλή εικόνα της επιδερμίδας. Η ομάδα SA/CA/PEO έδειξε μια μέτρια κλινική εικόνα με μέτριας έντασης ερύθημα και ξηροδερμία. Η ιστοπαθολογική αξιολόγηση έδειξε μια μέτρια υπερκεράττωση της επιδερμίδας και ύπαρξη χρόνιας φλεγμονής στο χόριο. Η συνολική εικόνα των ομάδων γάζα και CA/PEO είναι παρόμοια με μεγάλης έντασης εμφάνιση δερματικής φλεγμονής (έντονο ερεθισμό,

οίδημα και ξηροδερμία) κατά τη διάρκεια του πειράματος. Η ιστοπαθολογική αξιολόγηση επιβεβαίωσε αυτή την παρατήρηση καθώς υπήρχε έντονη λεμφοκυτταρική διήθηση σημάδι σοβαρής χρόνιας φλεγμονής.









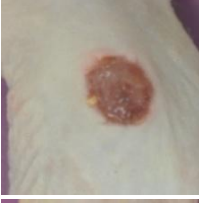




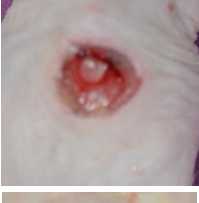

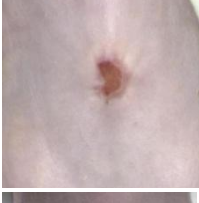














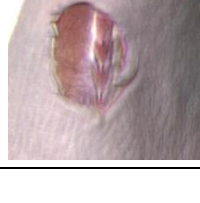




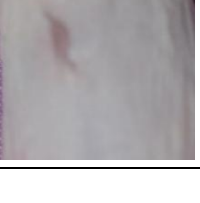
Στο σημείο αυτό αξίζει να αναφερθεί ότι τις ημέρες έξαρσης της φλεγμονής παρατηρήθηκε υπερενυδάτωση της περιοχής η οποία αποδόθηκε στην ταινία περίδεσης. Η συγκεκριμένη ταινία δεν επέτρεπε την ανταλλαγή υγρών μεταξύ της επιφάνειας του δέρματος και του περιβάλλοντος. Έτσι παρουσιάστηκε έντονη φλεγμονώδης αντίδραση σε ορισμένες ομάδες. Ακόμα επηρεάστηκαν οι τιμές της άδηλης απώλειας και της ενυδάτωσης τις ημέρες 2-7 οι οποίες αυξήθηκαν υπερβολικά.

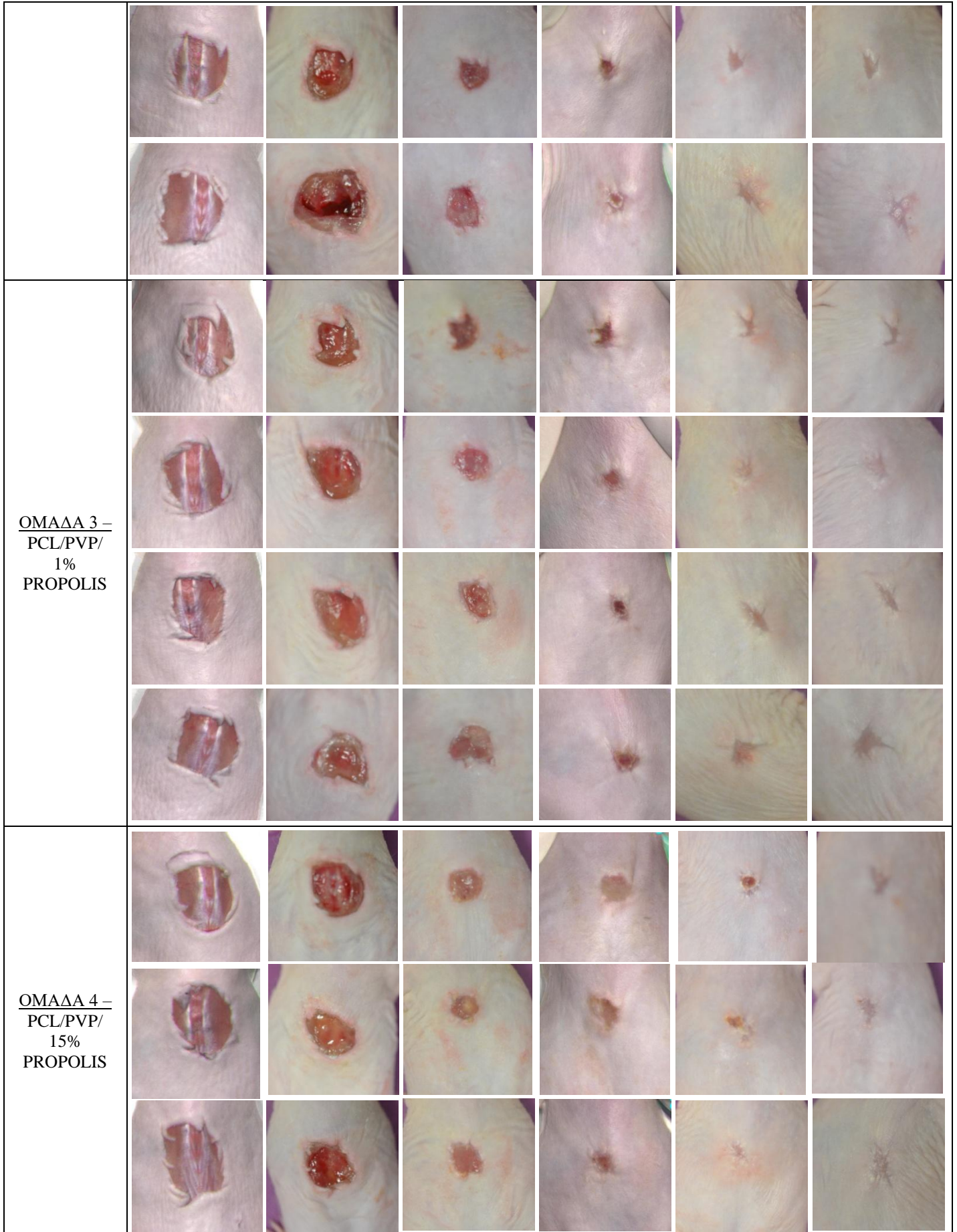
# ΚΕΦΑΛΑΙΟ 12

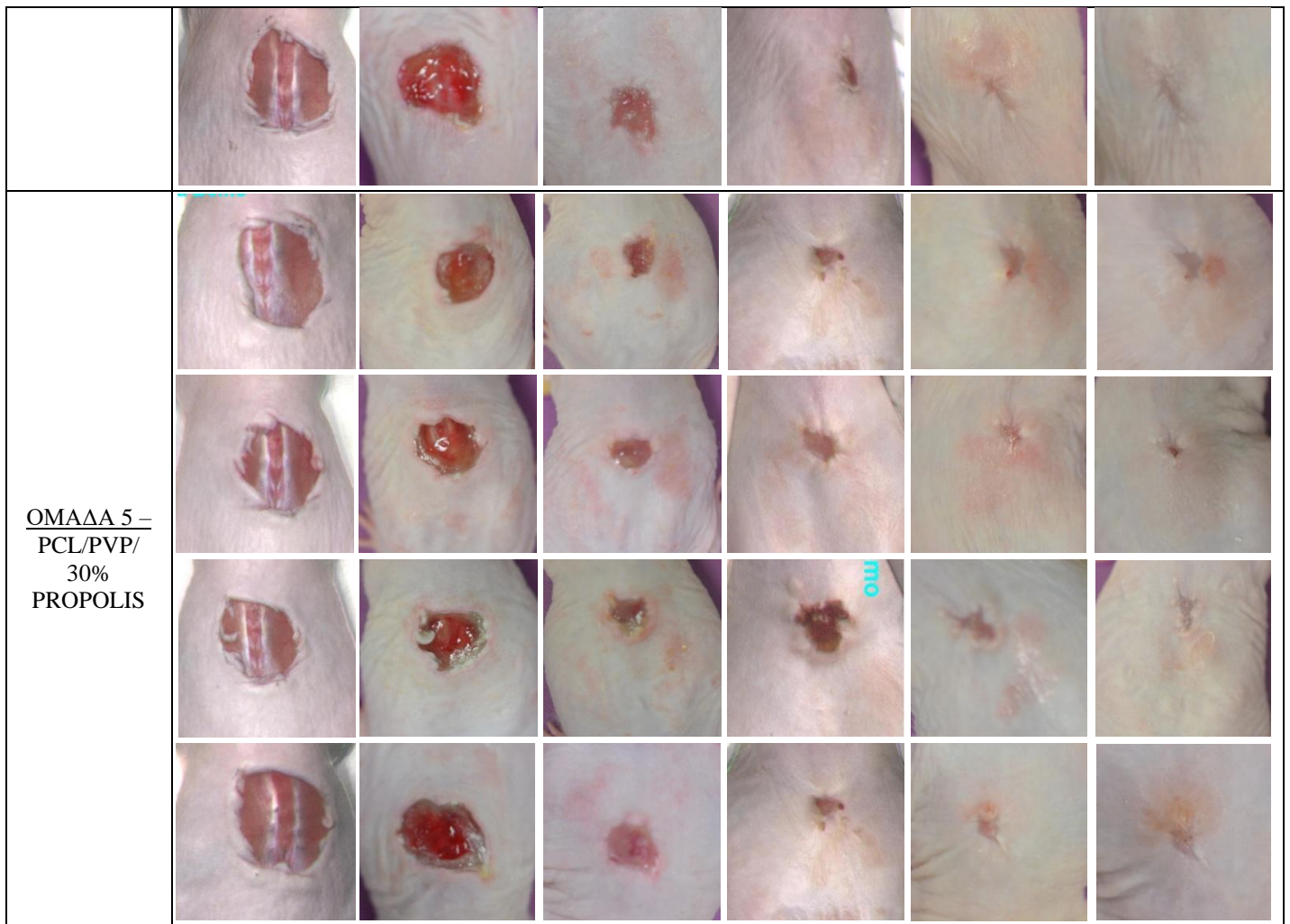
## Πείραμα επούλωσης πληγής

### 12.1 Πείραμα 1<sup>ο</sup>

#### 12.1.1 Φωτογραφικό υλικό

ΟΜΑΔΕΣ	ΗΜΕΡΕΣ					
	1 <sup>η</sup>	5 <sup>η</sup>	10 <sup>η</sup>	14 <sup>η</sup>	18 <sup>η</sup>	20 <sup>η</sup>
<u>ΟΜΑΔΑ 1 –</u> ΓΑΖΑ						
						
						
						
<u>ΟΜΑΔΑ 2 –</u> PCL/PVP						
						





**Πίνακας 7 Φωτογραφικό υλικό από το σημείο του τραύματος κατά τη διάρκεια του πειράματος**

- Από το φωτογραφικό υλικό του **Πίνακα 7** παρατηρείται ότι την ημέρα 5 μετά την πρόκληση της πληγής εμφανίζεται ερεθισμός στην ομάδα 30% w/w propolis. Η κατάσταση του δέρματος για αυτή την ομάδα επιδεινώνεται με την πάροδο των ημερών καθώς παρουσιάζεται έντονο οίδημα σε μερικά ζώα της ομάδας. Επιπλέον, η ομάδα 1% w/w εμφανίζει έναν ελαφρύ ερεθισμό την ημέρα 18 και την ημέρα 20 ενώ η ομάδα 15% w/w propolis λίγο πιο έντονο. Η απουσία ερεθισμού και οιδήματος από τις ομάδες γάζα και PCL/PVP οδηγεί στο συμπέρασμα ότι η πρόπολη στις συγκεκριμένες περιεκτικότητες οδηγεί σε ερεθισμό-τοξικότητα.

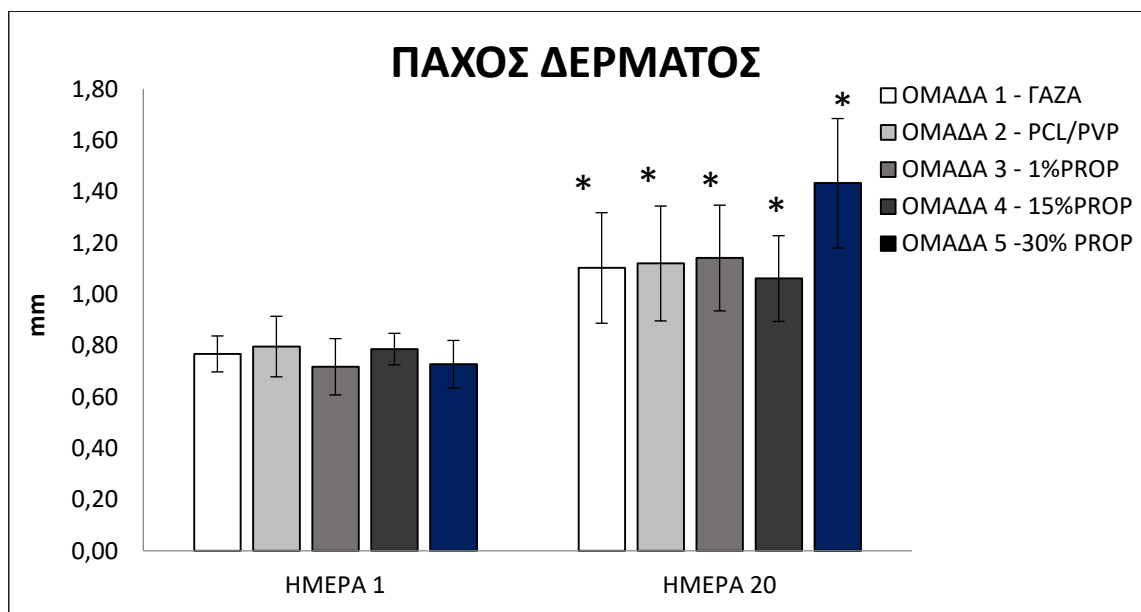
### 12.1.2 Αξιολόγηση του Πάχους δέρματος

Ο μέσος όρος (Μ.Ο.) και η τυπική απόκλιση (STDEV) των μετρήσεων του πάχους του δέρματος στην αρχή (ημέρα 1- υγιές δέρμα) και στο τέλος του πειράματος (ημέρα 20) δίνονται στον **Πίνακα 8** και στο **Διάγραμμα 6**.



ΟΜΑΔΕΣ	ΗΜΕΡΑ 1 <sup>η</sup>	ΗΜΕΡΑ 20 <sup>η</sup>
ΟΜΑΔΑ 1 – ΓΑΖΑ	0,77 ± 0,07	1,10 ± 0,22
ΟΜΑΔΑ 2 – PCL/PVP	0,80 ± 0,12	1,12 ± 0,22
ΟΜΑΔΑ 3 – PCL/PVP/ 1% PROPOLIS	0,72 ± 0,11	1,14 ± 0,21
ΟΜΑΔΑ 4 – PCL/PVP/ 15% PROPOLIS	0,79 ± 0,06	1,06 ± 0,17
ΟΜΑΔΑ 5 – PCL/PVP/ 30% PROPOLIS	0,73 ± 0,09	1,43 ± 0,25

Πίνακας 8 Μέσος όρος τιμών του πάχους ± τυπική απόκλιση για τις 5 ομάδες



Διάγραμμα 6 Μεταβολή του πάχους δέρματος σε 20 ημέρες για τις 5 ομάδες

Στη συνέχεια ακολούθησε στατιστική σύγκριση των τιμών του πάχους του δέρματος με παραμετρικές μεθόδους ανάλυσης. (ANOVA και Paired t-test)

ΗΜΕΡΕΣ	ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΟΜΑΔΩΝ	ΔΙΑΦΟΡΑ Μ.Ο.	ΤΥΠΙΚΟ ΣΦΑΛΜΑ	p-value
1	1-2	-0,02875	0,04652	0,541
	1-3	0,05000	0,04652	0,290
	1-4	-0,01875	0,04652	0,689
	1-5	0,04000	0,04652	0,396
	2-3	0,07875	0,04652	0,099
	2-4	0,01000	0,04652	0,831
	2-5	0,06875	0,04652	0,148
	3-4	-0,06875	0,04652	0,148
	3-5	-0,01000	0,04652	0,831

	4-5	0,05875	0,04652	0,215
20	1-2	-0,01750	0,10735	0,871
	1-3	-0,03875	0,10735	0,720
	1-4	0,04125	0,10735	0,703
	1-5	-0,33000	0,10735	<b>0,004*</b>
	2-3	-0,02125	0,10735	0,844
	2-4	0,05875	0,10735	0,588
	2-5	-0,31250	0,10735	<b>0,006*</b>
	3-4	0,08000	0,10735	0,461
	3-5	-0,29125	0,10735	<b>0,010*</b>
	4-5	-0,37125	0,10735	<b>0,001*</b>

**Πίνακας 9** Στατιστική σύγκριση του πάχους του δέρματος των μυών μεταξύ των ομάδων (one way-ANOVA) βάσει του κριτηρίου LSD (\*) περιπτώσεις όπου διαφέρουν στατιστικά σημαντικά οι ομάδες σύγκρισης

ΟΜΑΔΕΣ	ΔΙΑΦΟΡΑ Μ.Ο.	ΤΥΠΙΚΗ ΑΠΟΚΛΙΣΗ	ΤΥΠΙΚΟ ΣΦΑΛΜΑ	p-value
1	-0.33500	0.18087	0.06395	<b>0.001*</b>
2	-0.32375	0.23796	0.08413	<b>0.006*</b>
3	-0.42375	0.16248	0.05744	<b>0.000*</b>
4	-0.27500	0.15090	0.05335	<b>0.001*</b>
5	-0.70500	0.24911	0.08807	<b>0.000*</b>

**Πίνακας 10** Paired t-test για τη σύγκριση του πάχους μεταξύ των ημερών 1 - 20 σε κάθε ομάδα (\*) περιπτώσεις όπου διαφέρουν στατιστικά σημαντικά μεταξύ των 2 ημερών

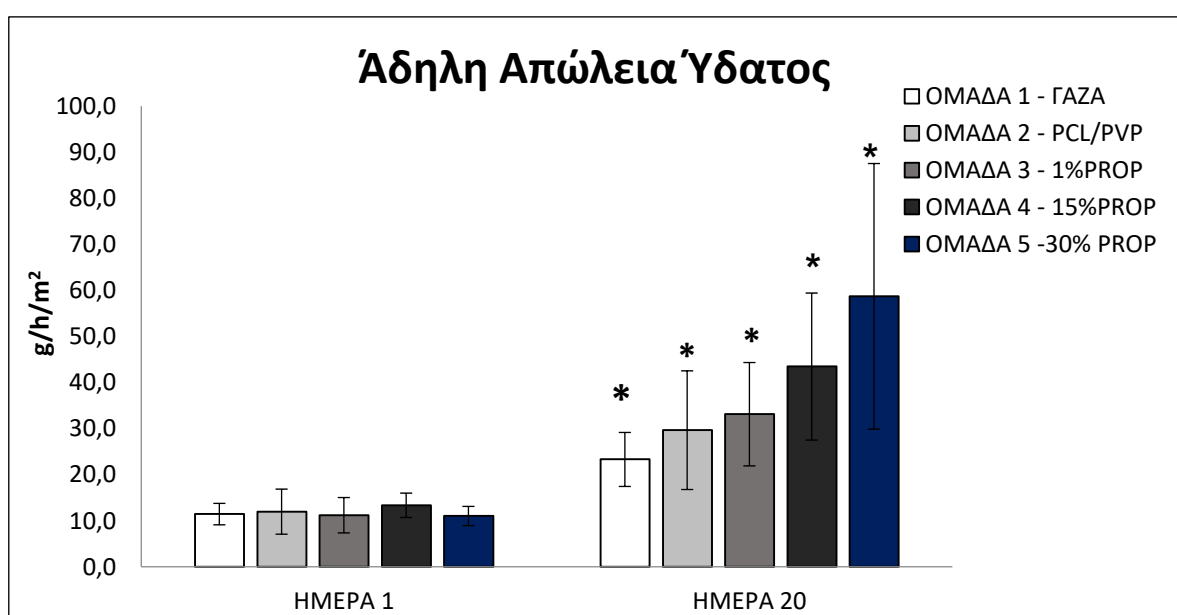
- Σύμφωνα με τους **Πίνακες 8-10** και το **Διάγραμμα 6** το πάχος του δέρματος δεν έχει επιστρέψει στις αρχικές τιμές. Το paired t-test για τις ημέρες 1 με 20 έδειξε ότι οι τιμές διαφέρουν στατιστικά σημαντικά σε όλες τις ομάδες. Με βάση το one way ANOVA test η ομάδα 5 (επίθεμα με 30%w/w propolis) διαφέρει στατιστικά σημαντικά από τις άλλες ομάδες την ημέρα 20 αποτέλεσμα το οποίο δικαιολογείται από την ύπαρξη οιδήματος στην περιοχή του τραύματος στη συγκεκριμένη ομάδα.

### 12.1.3 Αξιολόγηση Άδηλης Απώλειας Ύδατος (TEWL)

Ο μέσος όρος (Μ.Ο.) και η τυπική απόκλιση (STDEV) των μετρήσεων της άδηλης απώλειας ύδατος στην αρχή (ημέρα 1-υγιές δέρμα) και στο τέλος του πειράματος (ημέρα 20) δίνονται στον **Πίνακα 11** και στο **Διάγραμμα 7**.

ΟΜΑΔΕΣ	ΗΜΕΡΑ 1 <sup>η</sup>	ΗΜΕΡΑ 20 <sup>η</sup>
ΟΜΑΔΑ 1 – ΓΑΖΑ	11.46 ± 2.33	23.33 ± 5.86
ΟΜΑΔΑ 2 – PCL/PVP	12.00 ± 4.89	29.68 ± 12.88
ΟΜΑΔΑ 3 – PCL/PVP/ 1% PROPOLIS	11.21 ± 3.84	33.14 ± 11.22
ΟΜΑΔΑ 4 – PCL/PVP/ 15% PROPOLIS	13.38 ± 2.65	43.49 ± 15.96
ΟΜΑΔΑ 5 – PCL/PVP/ 30% PROPOLIS	11.05 ± 2.08	58.73 ± 28.82

Πίνακας 11 Μέσος όρος των τιμών TEWL ± τυπική απόκλιση για τις 5 ομάδες



Διάγραμμα 7 Μεταβολή της TEWL σε 20 ημέρες για τις 5 ομάδες

Στη συνέχεια ακολούθησε στατιστική σύγκριση των τιμών της TEWL με παραμετρικές μεθόδους ανάλυσης. (ANOVA και Paired t-test)

ΗΜΕΡΕΣ	ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΟΜΑΔΩΝ	ΔΙΑΦΟΡΑ Μ.Ο.	ΤΥΠΙΚΟ ΣΦΑΛΜΑ	p-value
1	1-2	-0,53750	1,66584	0,749
	1-3	0,25000	1,66584	0,882
	1-4	-1,91250	1,66584	0,259
	1-5	0,41250	1,66584	0,806
	2-3	0,78750	1,66584	0,639
	2-4	-1,37500	1,66584	0,415
	2-5	0,95000	1,66584	0,572
	3-4	-2,16250	1,66584	0,203
	3-5	0,16250	1,66584	0,923
	4-5	2,32500	1,66584	0,172

20	1-2	-6.35000	8.40013	0.455
	1-3	-9.81250	8.40013	0.251
	1-4	-20.16250	8.40013	<b>0.022*</b>
	1-5	-35.40000	8.40013	<b>0.000*</b>
	2-3	-3.46250	8.40013	0.683
	2-4	-13.81250	8.40013	0.109
	2-5	-29.05000	8.40013	<b>0.001*</b>
	3-4	-10.35000	8.40013	0.226
	3-5	-25.58750	8.40013	<b>0.004*</b>
	4-5	-15.23750	8.40013	0.078

Πίνακας 12 Στατιστική σύγκριση της TEWL των μυών μεταξύ των ομάδων (one way-ANOVA) βάσει του κριτηρίου LSD (\*) περιπτώσεις όπου διαφέρουν στατιστικά σημαντικά οι ομάδες σύγκρισης

ΟΜΑΔΕΣ	ΔΙΑΦΟΡΑ Μ.Ο.	ΤΥΠΙΚΗ ΑΠΟΚΛΙΣΗ	ΤΥΠΙΚΟ ΣΦΑΛΜΑ	p-value
1	-11.86250	4.78597	1.69210	<b>0.000*</b>
2	-17.67500	12.94988	4.57847	<b>0.006*</b>
3	-21.92500	11.20163	3.96037	<b>0.001*</b>
4	-30.11250	16.65820	5.88956	<b>0.001*</b>
5	-47.67500	28.99486	10.25123	<b>0.002*</b>

Πίνακας 13 Paired t-test για τη σύγκριση της TEWL μεταξύ των ημερών 1 - 20 σε κάθε ομάδα (\*) περιπτώσεις όπου διαφέρουν στατιστικά σημαντικά μεταξύ των 2 ημερών

- Σύμφωνα με τους Πίνακες 11-13 και το Διάγραμμα 7 οι τιμές της TEWL δεν έχουν επιστρέψει στις αρχικές. Το paired t-test για τις ημέρες 1 με 20 έδειξε ότι οι τιμές διαφέρουν στατιστικά σημαντικά σε όλες τις ομάδες. Με βάση το one way ANOVA test η ομάδα 5 (επίθεμα με 30%w/w propolis) διαφέρει στατιστικά σημαντικά από τις ομάδες 1-3 την ημέρα 20 αποτέλεσμα το οποίο δικαιολογείται από τη μη πλήρη επούλωση των μυών της ομάδας 5 σε σχέση με την ομάδα 1. Επομένως ο φραγμός δεν έχει επιστρέψει στη φυσιολογική του κατάσταση.

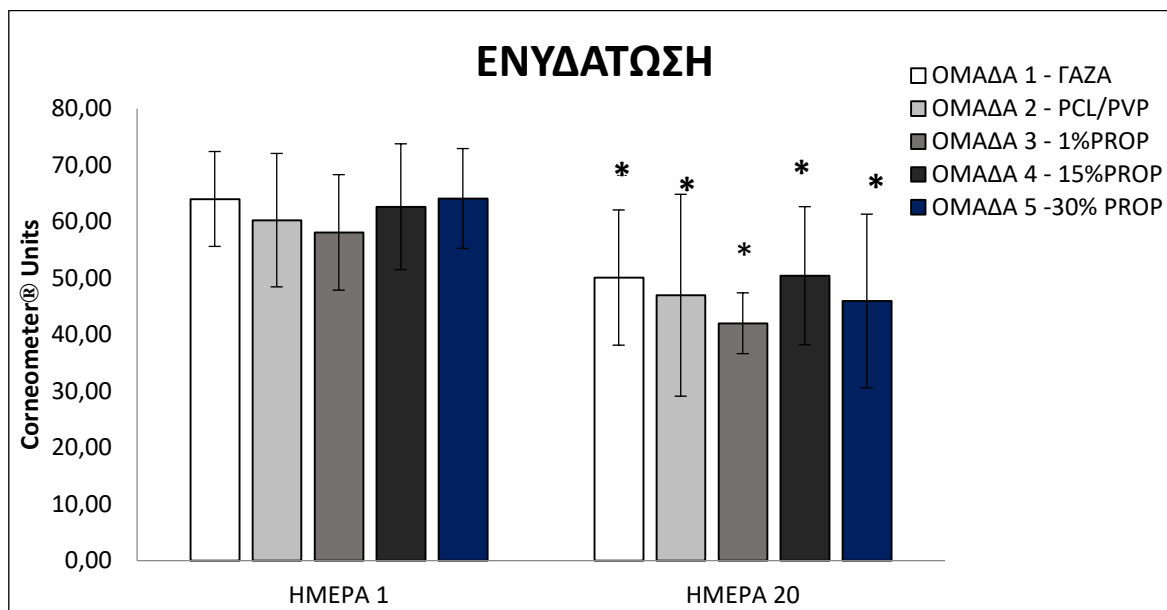
#### 12.1.4 Αξιολόγηση της Ενυδάτωσης

Ο μέσος όρος (Μ.Ο.) και η τυπική απόκλιση (STDEV) των μετρήσεων της ενυδάτωσης στην αρχή (ημέρα 1- υγιές δέρμα) και στο τέλος του πειράματος (ημέρα 20) δίνονται στον Πίνακα 14 και στο Διάγραμμα 8.

ΟΜΑΔΕΣ	ΗΜΕΡΑ 1 <sup>η</sup>	ΗΜΕΡΑ 20 <sup>η</sup>
ΟΜΑΔΑ 1 – ΓΑΖΑ	64.00 ± 8.40	50.08 ± 11.96
ΟΜΑΔΑ 2 – PCL/PVP	60.25 ± 11.81	46.96 ± 17.86

ΟΜΑΔΑ 3 – PCL/PVP/ 1% PROPOLIS	58.08 ± 10.22	42.00 ± 5.38
ΟΜΑΔΑ 4 – PCL/PVP/ 15% PROPOLIS	62.63 ± 11.13	50.42 ± 12.22
ΟΜΑΔΑ 5 – PCL/PVP/ 30% PROPOLIS	64.08 ± 8.84	45.96 ± 15.35

Πίνακας 14 Μέσος όρος των τιμών της ενυδάτωσης ± τυπική απόκλιση για τις 5 ομάδες



Διάγραμμα 8 Μεταβολή της ενυδάτωσης σε 20 ημέρες για τις 5 ομάδες

Στη συνέχεια ακολούθησε στατιστική σύγκριση των τιμών της ενυδάτωσης του δέρματος με παραμετρικές μεθόδους ανάλυσης. (ANOVA και Paired t-test)

ΗΜΕΡΕΣ	ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΟΜΑΔΩΝ	ΔΙΑΦΟΡΑ Μ.Ο.	ΤΥΠΙΚΟ ΣΦΑΛΜΑ	p-value
1	1-2	3.73750	5.08316	0.467
	1-3	5.92500	5.08316	0.252
	1-4	1.38750	5.08316	0.786
	1-5	-0.08750	5.08316	0.986
	2-3	2.18750	5.08316	0.670
	2-4	-2.35000	5.08316	0.647
	2-5	-3.82500	5.08316	0.457
	3-4	-4.53750	5.08316	0.378
	3-5	-6.01250	5.08316	0.245
20	1-2	3,10000	6,61769	0.642
	1-3	8,06250	6,61769	0.231
	1-4	-0,33750	6,61769	0.960
	1-5	4,11250	6,61769	0.538

	2-3	4,96250	6,61769	0.458
	2-4	-3,43750	6,61769	0.607
	2-5	1,01250	6,61769	0.879
	3-4	-8,40000	6,61769	0.213
	3-5	-3,95000	6,61769	0.554
	4-5	4,45000	6,61769	0.506

**Πίνακας 15** Στατιστική σύγκριση της ενυδάτωσης μεταξύ των ομάδων (one way-ANOVA) βάσει του κριτηρίου LSD

ΟΜΑΔΕΣ	ΔΙΑΦΟΡΑ Μ.Ο.	ΤΥΠΙΚΟ ΑΠΟΚΛΙΣΗ	ΤΥΠΙΚΗ ΣΦΑΛΜΑ	p-value
1	13.93750	14.29685	5.05470	<b>0.028*</b>
2	13.30000	12.34967	4.36627	<b>0.019*</b>
3	16.07500	6.83264	2.41570	<b>0.000*</b>
4	12.21250	10.37324	3.66749	<b>0.013*</b>
5	18.13750	18.22102	6.44210	<b>0.026*</b>

**Πίνακας 16** Paired t-test για τη σύγκριση της ενυδάτωσης μεταξύ των ημερών 1 - 20 σε κάθε ομάδα (\*) περιπτώσεις όπου διαφέρουν στατιστικά σημαντικά μεταξύ των 2 ημερών

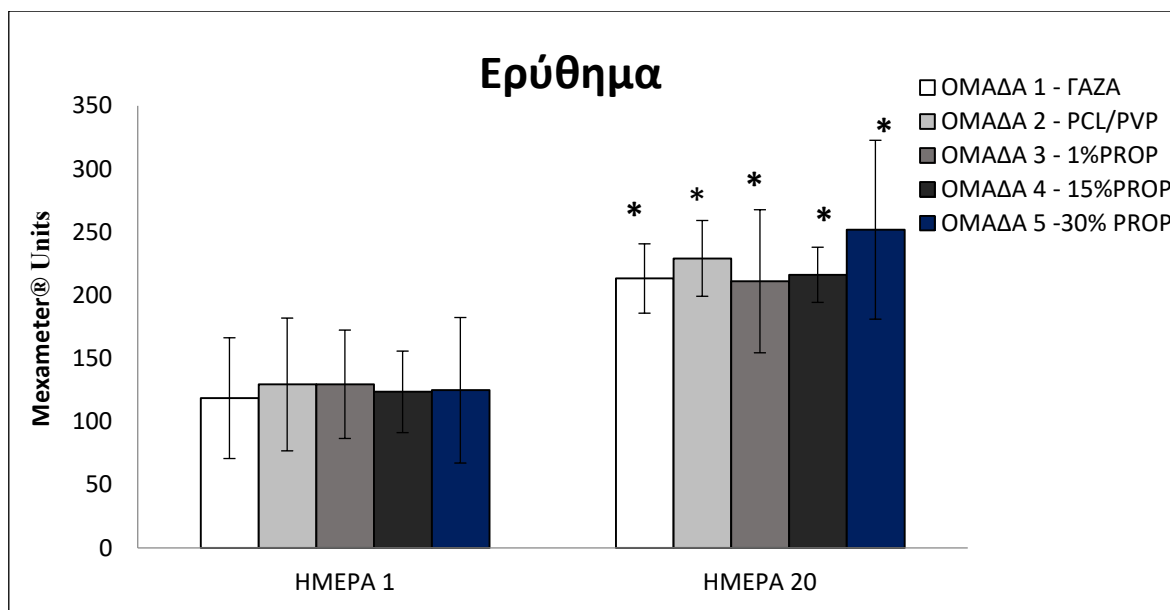
- Σύμφωνα με τους Πίνακες 13-16 και το Διάγραμμα 8 οι τιμές της ενυδάτωσης είναι χαμηλότερες από τις αρχικές. Το paired t-test για τις ημέρες 1 με 20 έδειξε ότι οι τιμές διαφέρουν στατιστικά σημαντικά σε όλες τις ομάδες. Το αποτέλεσμα αυτό δικαιολογείται από τη μη πλήρη επούλωση των πληγών.

### 12.1.5 Αξιολόγηση Ερυθήματος

Ο μέσος όρος (Μ.Ο.) και η τυπική απόκλιση (STDEV) των μετρήσεων του ερυθήματος του δέρματος στην αρχή (ημέρα 1- υγιές δέρμα) και στο τέλος του πειράματος (ημέρα 20) δίνονται στον Πίνακα 17 και στο Διάγραμμα 9.

ΟΜΑΔΕΣ	ΗΜΕΡΑ 1 <sup>η</sup>	ΗΜΕΡΑ 20 <sup>η</sup>
ΟΜΑΔΑ 1 – ΓΑΖΑ	118.53 ± 47.80	213.25 ± 27.44
ΟΜΑΔΑ 2 – PCL/PVP	129.38 ± 52.59	229.19 ± 30.01
ΟΜΑΔΑ 3 – PCL/PVP/ 1% PROPOLIS	129.53 ± 42.92	211.06 ± 56.63
ΟΜΑΔΑ 4 – PCL/PVP/ 15% PROPOLIS	123.53 ± 32.28	216.19 ± 21.83
ΟΜΑΔΑ 5 – PCL/PVP/ 30% PROPOLIS	124.78 ± 57.60	251.88 ± 70.79

**Πίνακας 17** Μέσος όρος των τιμών του ερυθήματος ± τυπική απόκλιση για τις 5 ομάδες



Διάγραμμα 9 Μεταβολή του ερυθήματος σε 20 ημέρες για τις 5 ομάδες

Στη συνέχεια ακολούθησε στατιστική σύγκριση των τιμών του ερυθήματος του δέρματος με παραμετρικές μεθόδους ανάλυσης. (ANOVA και Paired t-test)

ΗΜΕΡΕΣ	ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΟΜΑΔΩΝ	ΔΙΑΦΟΡΑ Μ.Ο.	ΤΥΠΙΚΟ ΣΦΑΛΜΑ	p-value
1	1-2	-10.84375	23.71915	0.650
	1-3	-11.00000	23.71915	0.646
	1-4	-5.000000	23.71915	0.834
	1-5	-6.250000	23.71915	0.794
	2-3	-0.15625	23.71915	0.995
	2-4	5.84375	23.71915	0.807
	2-5	4.59375	23.71915	0.848
	3-4	6.00000	23.71915	0.802
	3-5	4.75000	23.71915	0.842
	4-5	-1.25000	23.71915	0.958
20	1-2	-15.93750	22.74773	0.488
	1-3	2.18750	22.74773	0.924
	1-4	-2.93750	22.74773	0.898
	1-5	-38.62500	22.74773	0.098
	2-3	18.12500	22.74773	0.431
	2-4	13.00000	22.74773	0.571
	2-5	-22.68750	22.74773	0.325
	3-4	-5.12500	22.74773	0.823
	3-5	-40.81250	22.74773	0.081
	4-5	-35.68750	22.74773	0.126

Πίνακας 18 Στατιστική σύγκριση του ερυθήματος μεταξύ των ομάδων (one way-ANOVA) βάσει του κριτηρίου LSD

ΟΜΑΔΕΣ	ΔΙΑΦΟΡΑ Μ.Ο.	ΤΥΠΙΚΟ ΑΠΟΚΛΙΣΗ	ΤΥΠΙΚΗ ΣΦΑΛΜΑ	p-value
1	-94.71875	49.54677	17.51743	<b>0.001*</b>
2	-99.81250	48.59118	17.17958	<b>0.001*</b>
3	-81.53125	42.70109	15.09711	<b>0.001*</b>
4	-92.65625	19.72984	6.97555	<b>0.000*</b>
5	-127.09375	86.86514	30.71146	<b>0.004*</b>

**Πίνακας 19 Paired t-test για τη σύγκριση της ενυδάτωσης μεταξύ των ημερών 1 - 20 σε κάθε ομάδα (\*) περιπτώσεις όπου διαφέρουν στατιστικά σημαντικά μεταξύ των 2 ημερών**

- Σύμφωνα με τους **Πίνακες 17-19** και το **Διάγραμμα 7** το ερύθημα δεν έχει επιστρέψει στις αρχικές τιμές. Το paired t-test για τις ημέρες 1 με 20 έδειξε ότι οι τιμές διαφέρουν στατιστικά σημαντικά σε όλες τις ομάδες. Η ομάδα 5 παρουσιάζει τη μεγαλύτερη αύξηση του ερυθήματος καθώς ήταν η ομάδα στην οποία εμφανίστηκε ο μεγαλύτερος ερεθισμός.

### 12.1.6 Αξιολόγηση με Antera 3D

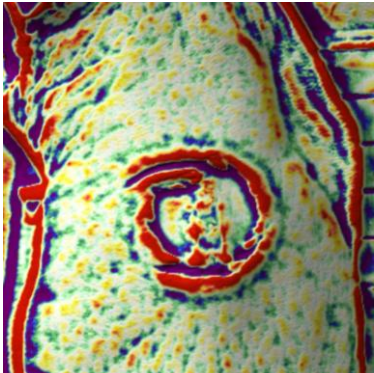
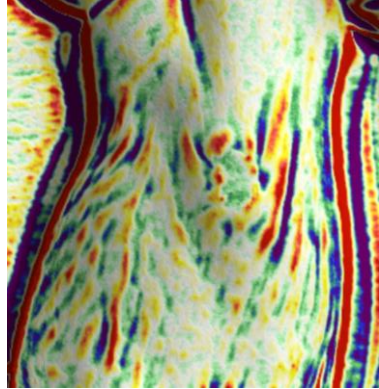
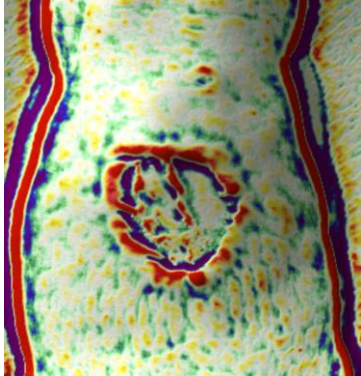
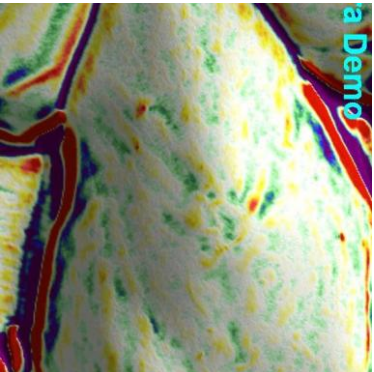
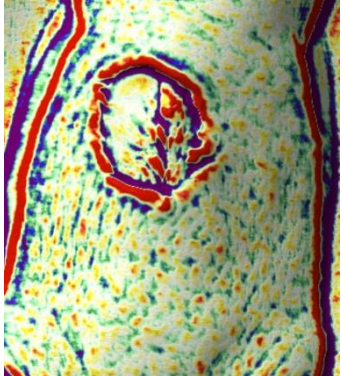
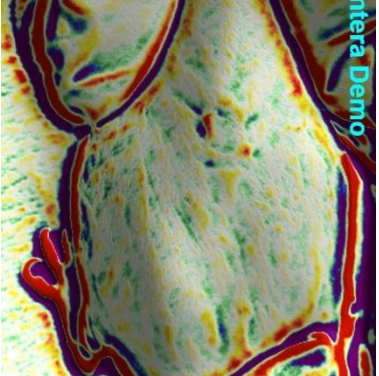
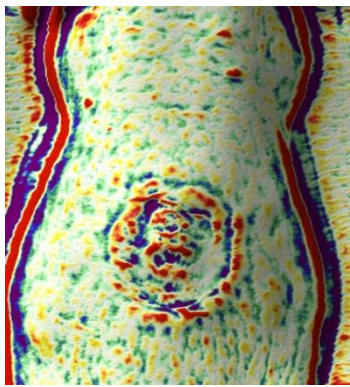
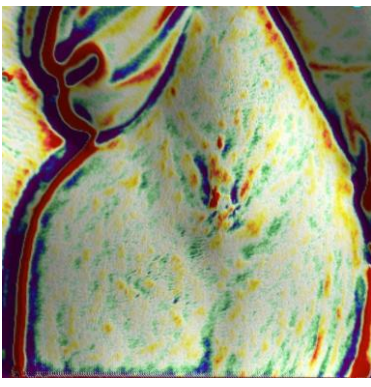
Την 1<sup>η</sup> ημέρα μετά την πρόκληση του τραύματος καθώς και την 14<sup>η</sup> ημέρα του πειράματος έγινε λήψη εικόνων με την κάμερα Antera 3D.

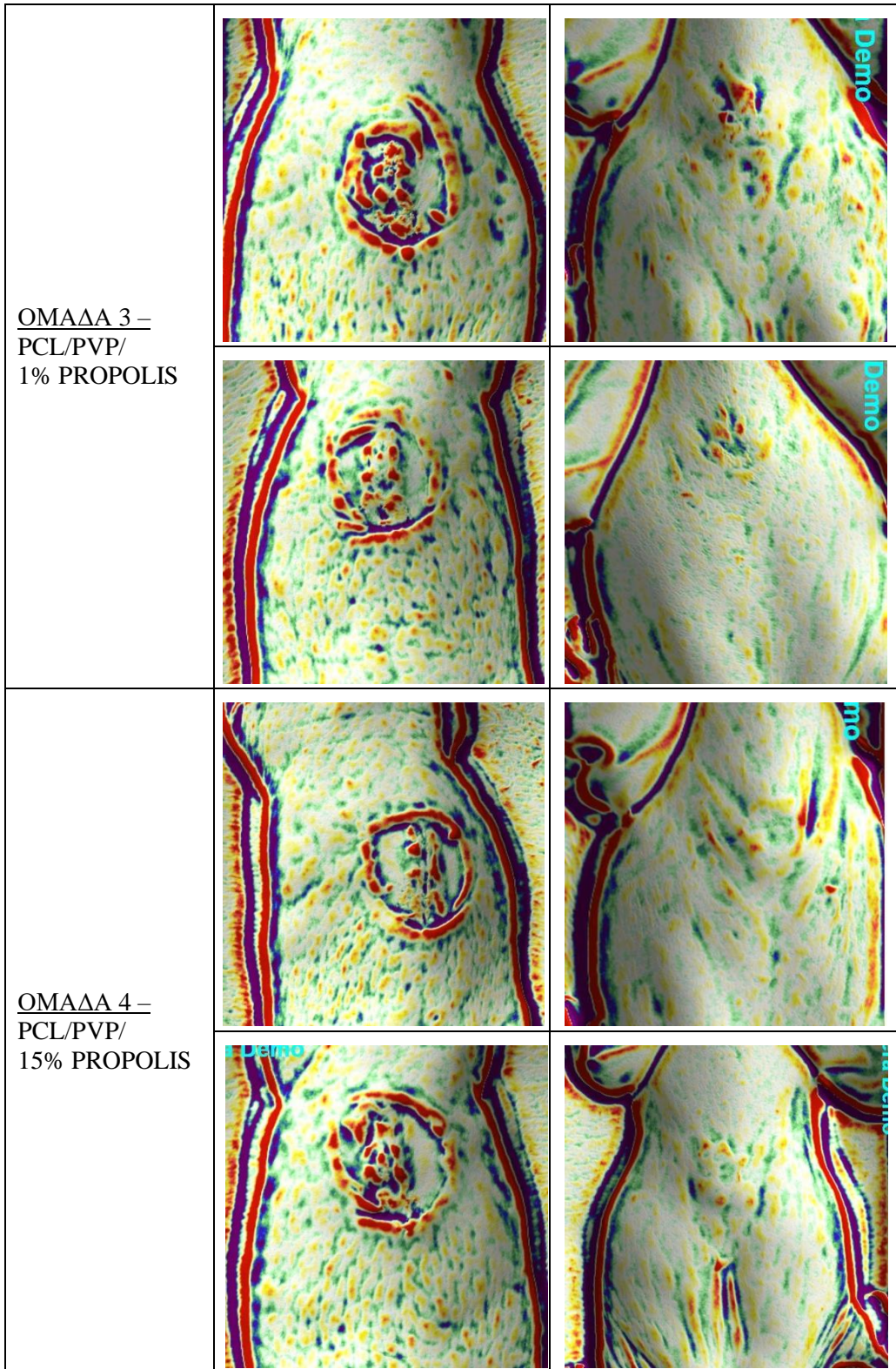
Ο μέσος όρος (Μ.Ο.) και η τυπική απόκλιση (STDEV) των μετρήσεων της υφής του δέρματος στην αρχή (ημέρα 1) και την 14<sup>η</sup> ημέρα δίνονται στον **Πίνακα 20**. Στον **Πίνακα 21** παρουσιάζονται οι αντίστοιχες εικόνες.

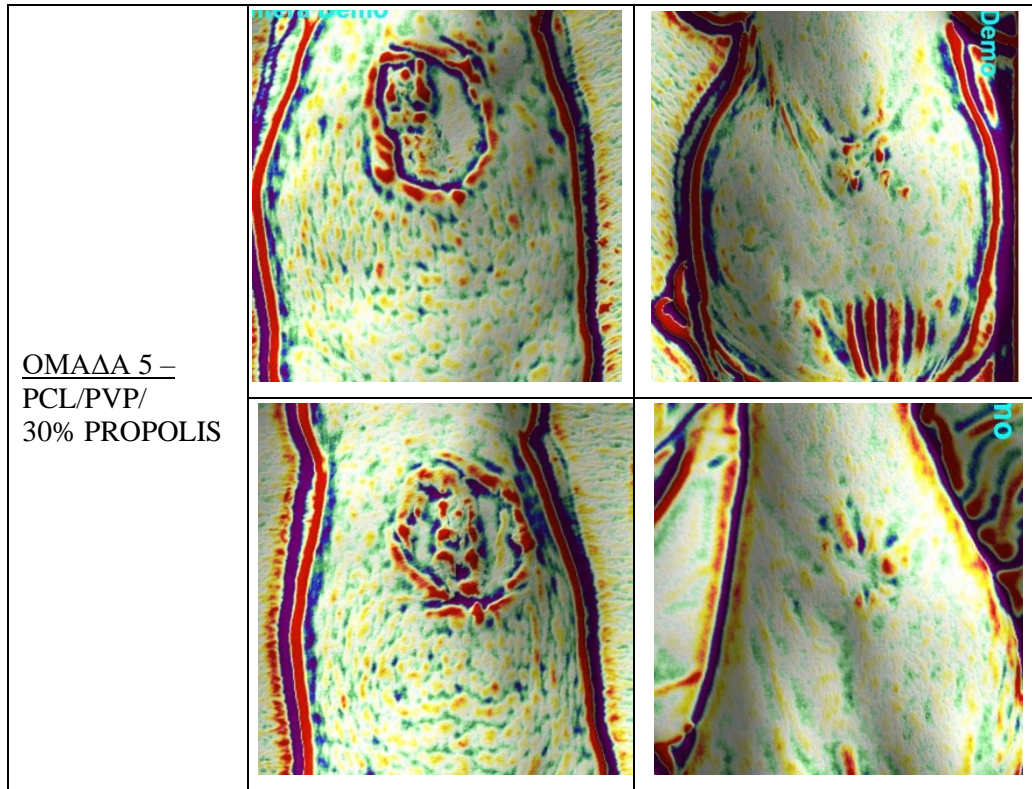
ΟΜΑΔΕΣ	ΗΜΕΡΑ 1 <sup>η</sup>	ΗΜΕΡΑ 14 <sup>η</sup>
<u>ΟΜΑΔΑ 1 – ΓΑΖΑ</u>	21664.125 ± 2568.901	12760.375 ± 4216,859
<u>ΟΜΑΔΑ 2 – PCL/PVP</u>	21775.625 ± 3909.345	11787.750 ± 3643.987
<u>ΟΜΑΔΑ 3 – PCL/PVP/ 1% PROPOLIS</u>	23243.00 ± 6041.440	11428.625 ± 2949.903
<u>ΟΜΑΔΑ 4 – PCL/PVP/ 15% PROPOLIS</u>	22580.625 ± 5261.532	10716.625 ± 2931.072
<u>ΟΜΑΔΑ 5 – PCL/PVP/ 30% PROPOLIS</u>	23224.875 ± 3675.621	12916.125 ± 3618.044

**Πίνακας 20 Μέσος όρος των τιμών της υφής του δέρματος ± τυπική απόκλιση για τις 5 ομάδες**



ΟΜΑΔΕΣ	ΗΜΕΡΑ 1 <sup>η</sup>	ΗΜΕΡΑ 14 <sup>η</sup>
<p data-bbox="292 622 448 685">ΟΜΑΔΑ 1 – GAZA</p>		
		
<p data-bbox="292 1413 448 1476">ΟΜΑΔΑ 2 – PCL/PVP</p>		
		



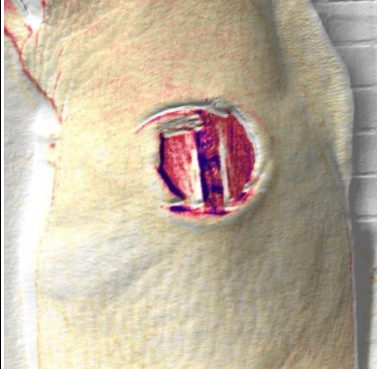

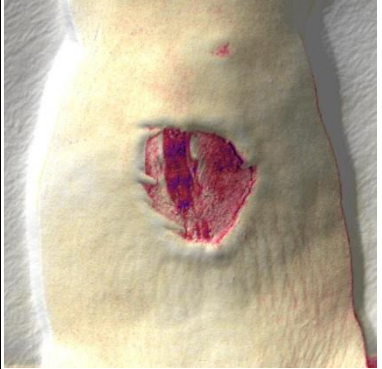








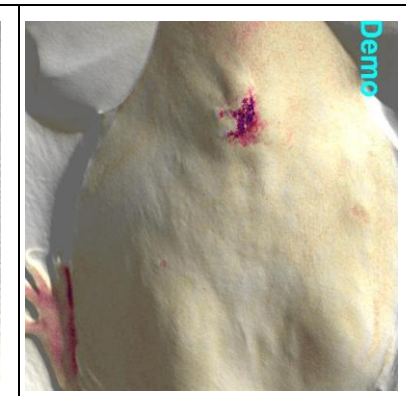


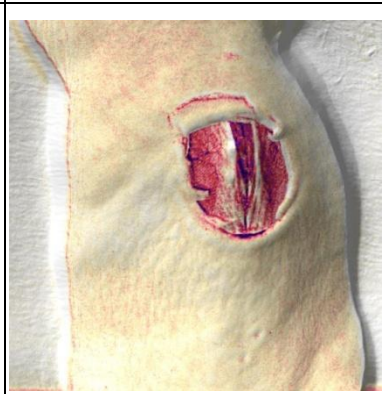



**Πίνακας 21** Απεικόνιση της υφής του δέρματος μέσω της Antera 3D

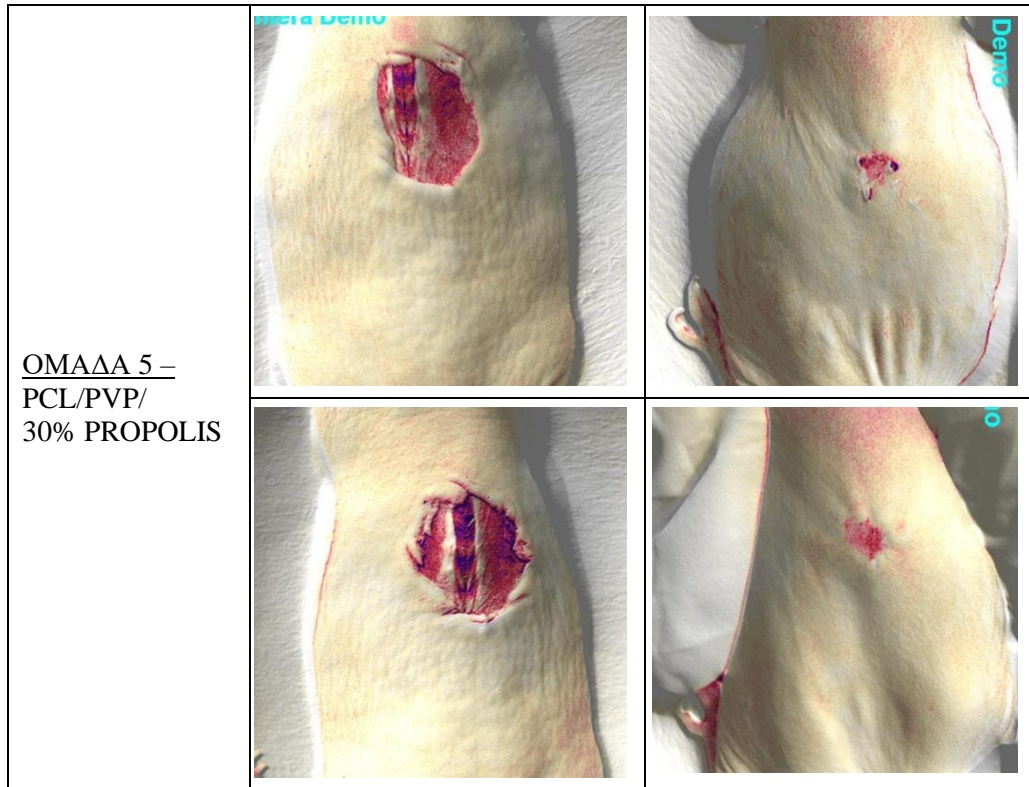
Ο μέσος όρος (Μ.Ο.) και η τυπική απόκλιση (STDEV) των μετρήσεων της αιμογλοβίνης στην αρχή (ημέρα 1) και την 14<sup>η</sup> ημέρα δίνονται στον **Πίνακα 22**. Στον **Πίνακα 23** παρουσιάζονται οι αντίστοιχες εικόνες

<b>ΟΜΑΔΕΣ</b>	<b>ΗΜΕΡΑ 1<sup>η</sup></b>	<b>ΗΜΕΡΑ 14<sup>η</sup></b>
<u>ΟΜΑΔΑ 1 –</u> ΓΑΖΑ	1.086 ± 0.288	0.588 ± 0.112
<u>ΟΜΑΔΑ 2 –</u> PCL/PVP	1.001 ± 0.133	0.647 ± 0.089
<u>ΟΜΑΔΑ 3 –</u> PCL/PVP/	0.959 ± 0.095	0.671 ± 0.144
<u>ΟΜΑΔΑ 4 –</u> PCL/PVP/	0.941 ± 0.091	0.596 ± 0.062
<u>ΟΜΑΔΑ 5 –</u> PCL/PVP/	0.974 ± 0.151	0.644 ± 0.106

**Πίνακας 22** Μέσος όρος των τιμών της αιμοσφαιρίνης ± τυπική απόκλιση για τις 5 ομάδες

ΟΜΑΔΕΣ	ΗΜΕΡΑ 1 <sup>η</sup>	ΗΜΕΡΑ 14 <sup>η</sup>
<u>ΟΜΑΔΑ 1 –</u> <u>GAZA</u>		
		
<u>ΟΜΑΔΑ 2 –</u> <u>PCL/PVP</u>		
		

<p>ΟΜΑΔΑ 3 – PCL/PVP/ 1% PROPOLIS</p>		
<p>ΟΜΑΔΑ 4 – PCL/PVP/ 15% PROPOLIS</p>		
<p>ΟΜΑΔΑ 4 – PCL/PVP/ 15% PROPOLIS</p>		
<p>ΟΜΑΔΑ 4 – PCL/PVP/ 15% PROPOLIS</p>		



Πίνακας 23 Απεικόνιση της αιμοσφαιρίνης μέσω της Antera 3D

### 12.1.7 Μέτρηση μεγέθους πληγής

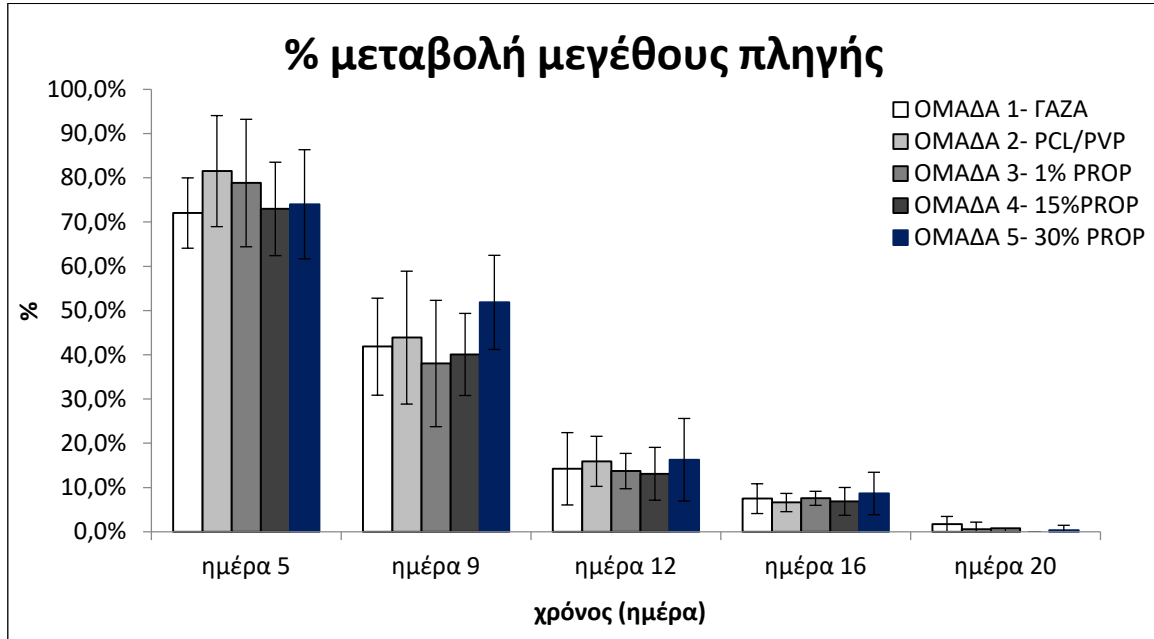
<u>ΟΜΑΔΕΣ</u>	ΗΜ. 1 <sup>η</sup>	ΗΜ. 5 <sup>η</sup>	ΗΜ. 9 <sup>η</sup>	ΗΜ. 12 <sup>η</sup>	ΗΜ. 16 <sup>η</sup>	ΗΜ. 20 <sup>η</sup>
<u>ΟΜΑΔΑ 1</u>	0.998±0.197	0.719±0.107	0.418±0.060	0.142±0.055	0.075±0.024	0,064±0,025
<u>ΟΜΑΔΑ 2</u>	0.948±0.198	0.773±0.163	0.416±0.138	0.151±0.065	0.063±0.017	0,076±0,029
<u>ΟΜΑΔΑ 3</u>	0.916±0.115	0.722±0.078	0.348±0.104	0.126±0.030	0.069±0.021	0,074±0,032
<u>ΟΜΑΔΑ 4</u>	1.019±0.138	0.743±0.088	0.408±0.083	0.134±0.055	0.070±0.025	0,060±0,018
<u>ΟΜΑΔΑ 5</u>	0.982±0.134	0.727±0.110	0.509±0.137	0.160±0.099	0.085±0.047	0,04±0,026

Πίνακας 24 Μέσος όρος του μεγέθους πληγής (cm<sup>2</sup>) ± τυπική απόκλιση για τις 5 ομάδες κατά τη διάρκεια του πειράματος

<u>ΟΜΑΔΕΣ</u>	ΗΜ. 5 <sup>η</sup>	ΗΜ. 9 <sup>η</sup>	ΗΜ. 12 <sup>η</sup>	ΗΜ. 16 <sup>η</sup>	ΗΜ. 20 <sup>η</sup>
<u>ΟΜΑΔΑ 1</u>	72.1%	41.9%	14.2%	7.5%	2%
<u>ΟΜΑΔΑ 2</u>	81.5%	43.9%	15.9%	6.6%	1%
<u>ΟΜΑΔΑ 3</u>	78.8%	38.0%	13.75%	7.6%	1%

<b>ΟΜΑΔΑ 4</b>	73.0%	40.1%	13.1%	6.9%	0%
<b>ΟΜΑΔΑ 5</b>	74.0%	51.9%	16.3%	8.7%	0%

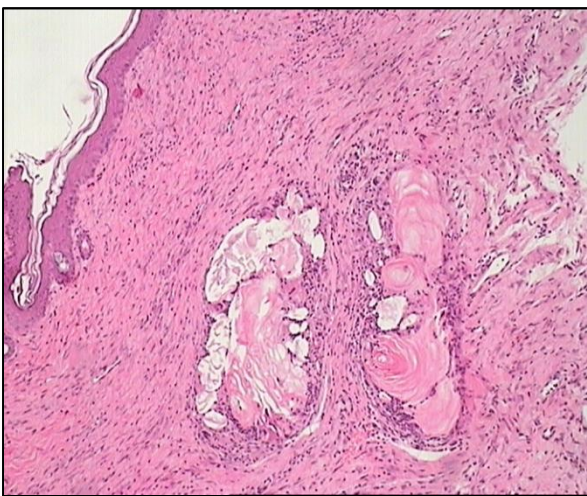
Πίνακας 25 % μεταβολή του μεγέθους της πληγής για τις 5 ομάδες κατά τη διάρκεια του πειράματος



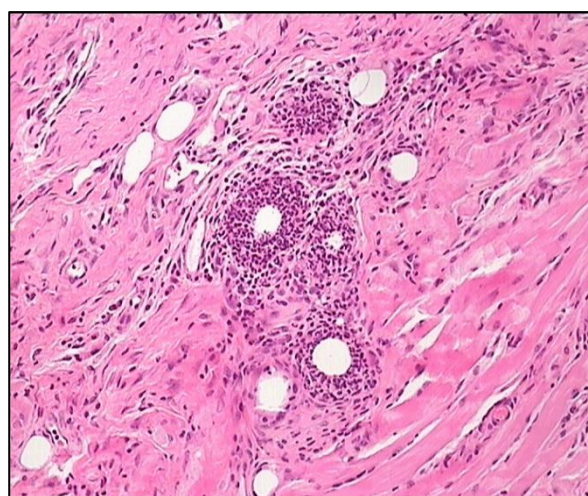
Διάγραμμα 10 % μεταβολή του μεγέθους της πληγής

- Από το **Διάγραμμα 10** προκύπτει ότι η επουλωτική διαδικασία για την ομάδα 30% w/w καθυστερεί σε σύγκριση με τις άλλες ομάδες. Επιπλέον, ο ρυθμός επούλωσης των ομάδων 1% w/w και 15% w/w στις οποίες εφαρμόζεται τα επιθέματα πρόπολης σε χαμηλότερα ποσοστά δεν διαφέρει από αυτόν των ομάδων γάζας και PCL/PVP.

### 12.1.8 Ιστοπαθολογική Αξιολόγηση



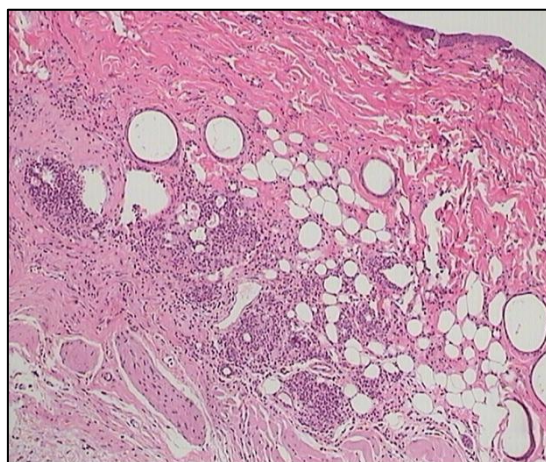
(μεγέθυνση x100)



(μεγέθυνση x200)

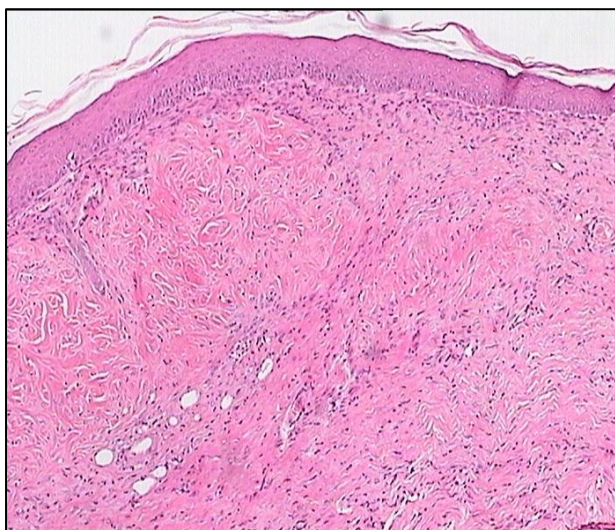
Εικόνα 24 Τομή δέρματος μυός ομάδας 1 (γάζα)

Η ομάδα των μαρτύρων παρουσιάζει οξεία φλεγμονή με αρκετά πολυμορφώδη λευκοκύτταρα μεταξύ χορίου και υποδόριου ιστού. Παρατηρείται η παρουσία ινοβλαστών για δημιουργία ουλής και πάχυνση της επιδερμίδας (**Εικ.24**).



**Εικόνα 25 Τομή δέρματος μύς ομάδας 2 (PCL/PVP)**

Η ομάδα με το πολυμερικό επίθεμα PCL/PVP παρουσιάζει οξεία φλεγμονή με αρκετά πολυμορφώδη λευκοκύτταρα μεταξύ χορίου και υποδόριου ιστού. Παρατηρείται η παρουσία ινοβλαστών για δημιουργία ουλής και πάχυνση της επιδερμίδας (**Εικ.25**). Η εικόνα είναι παρόμοια με της ομάδας 1.



(μεγέθυνση x100)

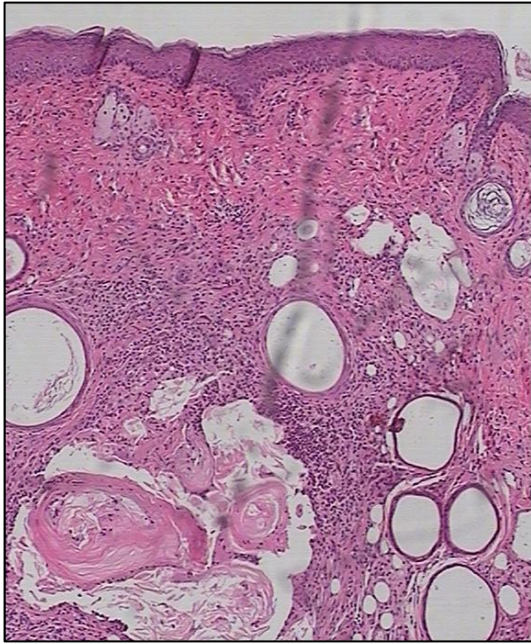


(μεγέθυνση x100)

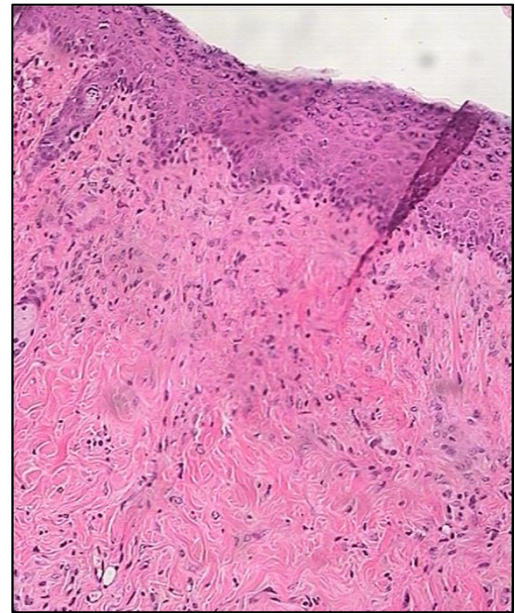
**Εικόνα 26 Τομή δέρματος μύς ομάδας 3 (PCL/PVP/1%w/w propolis)**

Η ομάδα με το πολυμερικό επίθεμα PCL/PVP/1%w/w propolis παρουσιάζει εξέλκωση στην επιδερμίδα και οξεία φλεγμονή με αρκετά πολυμορφώδη λευκοκύτταρα στο χόριο (**Εικ.26**). Παρατηρείται ερεθισμός της επιδερμίδας. Το βέλος δείχνει το όριο της ουλής όπου δεξιά και αριστερά της εμφανίζονται τα εξαρτηματικά μέρη του δέρματος.





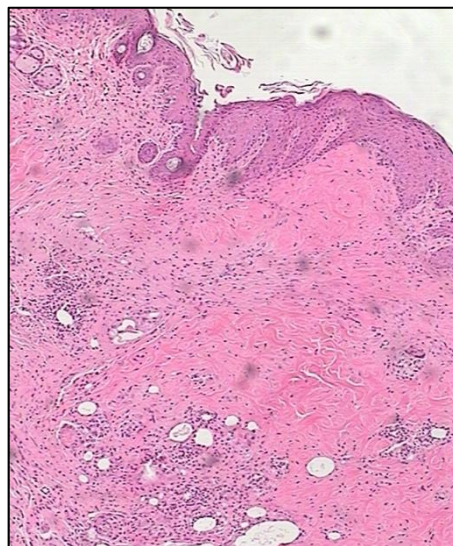
(μεγέθυνση x100)



(μεγέθυνση x200)

**Εικόνα 27 Τομή δέρματος μυός ομάδας 4 (PCL/PVP/15%w/w propolis)**

Η ομάδα με το πολυμερικό επίθεμα PCL/PVP/15%w/w propolis παρουσιάζει οξεία φλεγμονή με αρκετά πολυμορφώδη λευκοκύτταρα στο χόριο. Παρατηρείται η παρουσία ινοβλαστών για προσπάθεια δημιουργίας ουλής και έντονη πάχυνση της επιδερμίδας(**Εικ.27**). Η εικόνα είναι χειρότερη από της ομάδας 3 καθώς και εδώ παρατηρείται ερεθισμός στην επιδερμίδα.



**Εικόνα 28 Τομή δέρματος μυός ομάδας 4 (PCL/PVP/30%w/w propolis)**

Η ομάδα με το πολυμερικό επίθεμα PCL/PVP/30%w/w propolis παρουσιάζει οξεία φλεγμονή με αρκετά πολυμορφώδη λευκοκύτταρα στο χόριο. Παρατηρείται η παρουσία ινοβλαστών για δημιουργία ουλής και έντονη πάχυνση της επιδερμίδας, (**Εικ.28**). Η εικόνα είναι η χειρότερη από όλες τις ομάδες καθώς και εδώ παρατηρείται έντονος ερεθισμός στην επιδερμίδα.











































## 12.2 Συζήτηση

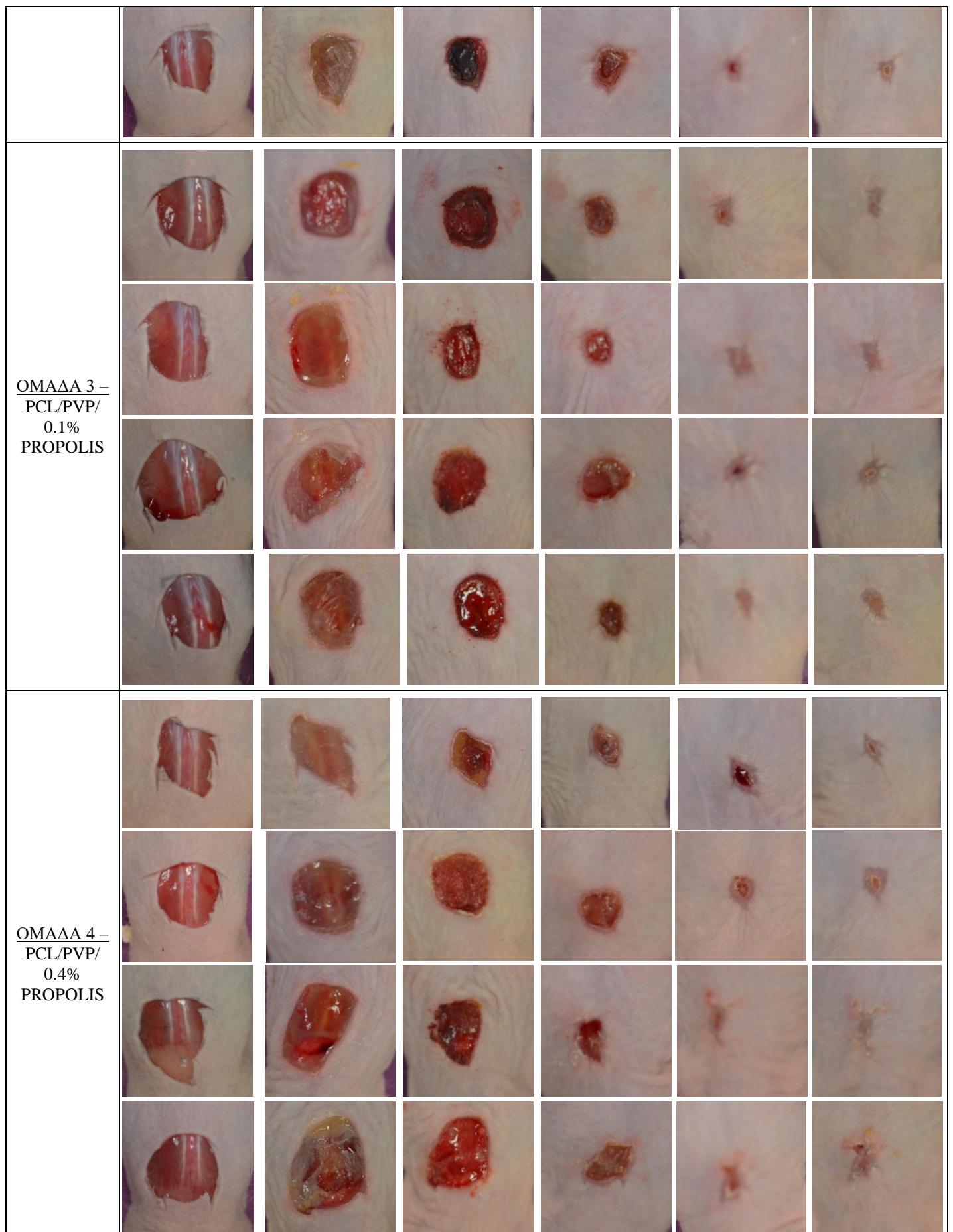
Με βάση την κλινική εικόνα, τις μετρήσεις των δερματικών παραμέτρων, το ποσοστό μεταβολής του μεγέθους της πληγής και την ιστοπαθολογική αξιολόγηση διαπιστώνεται ότι η πρόπολη σε ποσοστά άνω του 1% προκαλεί ερεθισμό – τοξικότητα στο δέρμα και καθυστερεί την επούλωση του τραύματος. Αρχικά, είναι εμφανής ο ερεθισμός και σε ορισμένες περιπτώσεις και το οίδημα στην περιοχή της πληγής στις ομάδες που εφαρμόστηκε η πρόπολη σε σχέση με την ομάδα της γάζας και του PCL/PVP. Επιπλέον, οι μετρήσεις των παραμέτρων του δέρματος επιβεβαιώνουν τις παρατηρήσεις της καθημερινής κλινικής εικόνας καθώς καμία από τις παραμέτρους για καμία από τις ομάδες δεν έχει επιστρέψει στα αρχικά επίπεδα. Αξίζει να σημειωθεί ότι οι τιμές του πάχους και της άδηλης απώλειας είναι σημαντικά υψηλότερες για την ομάδα 30% w/w propolis από τις άλλες ομάδες αποτέλεσμα που οφείλεται στην ύπαρξη ερεθισμού, οιδήματος και μη ολοκληρωμένης επούλωσης. Το ποσοστό μεταβολής του μεγέθους της πληγής δείχνει ότι στις ομάδες που λαμβάνουν τη θεραπεία με πρόπολη όχι μόνο δεν επιταχύνεται η επούλωση αλλά σε ορισμένες περιπτώσεις καθυστερεί σε σχέση με τις ομάδες των μαρτύρων. Η διαδικασία επουλώσεως ολοκληρώθηκε στις 20 ημέρες και για τις 5 ομάδες. Τέλος, η ιστοπαθολογική αξιολόγηση έρχεται να επιβεβαιώσει τις ανωτέρω παρατηρήσεις καθώς παρουσιάζεται εκτεταμένη χρόνια φλεγμονή και ενεργό φλεγμονή στο χόριο με έντονη παρουσία πολυμορφοπύρηνων λευκοκυττάρων σε όλες τις ομάδες. Η εμφάνιση της επιδερμίδας χειροτερεύει με την αύξηση του ποσοστού πρόπολης.

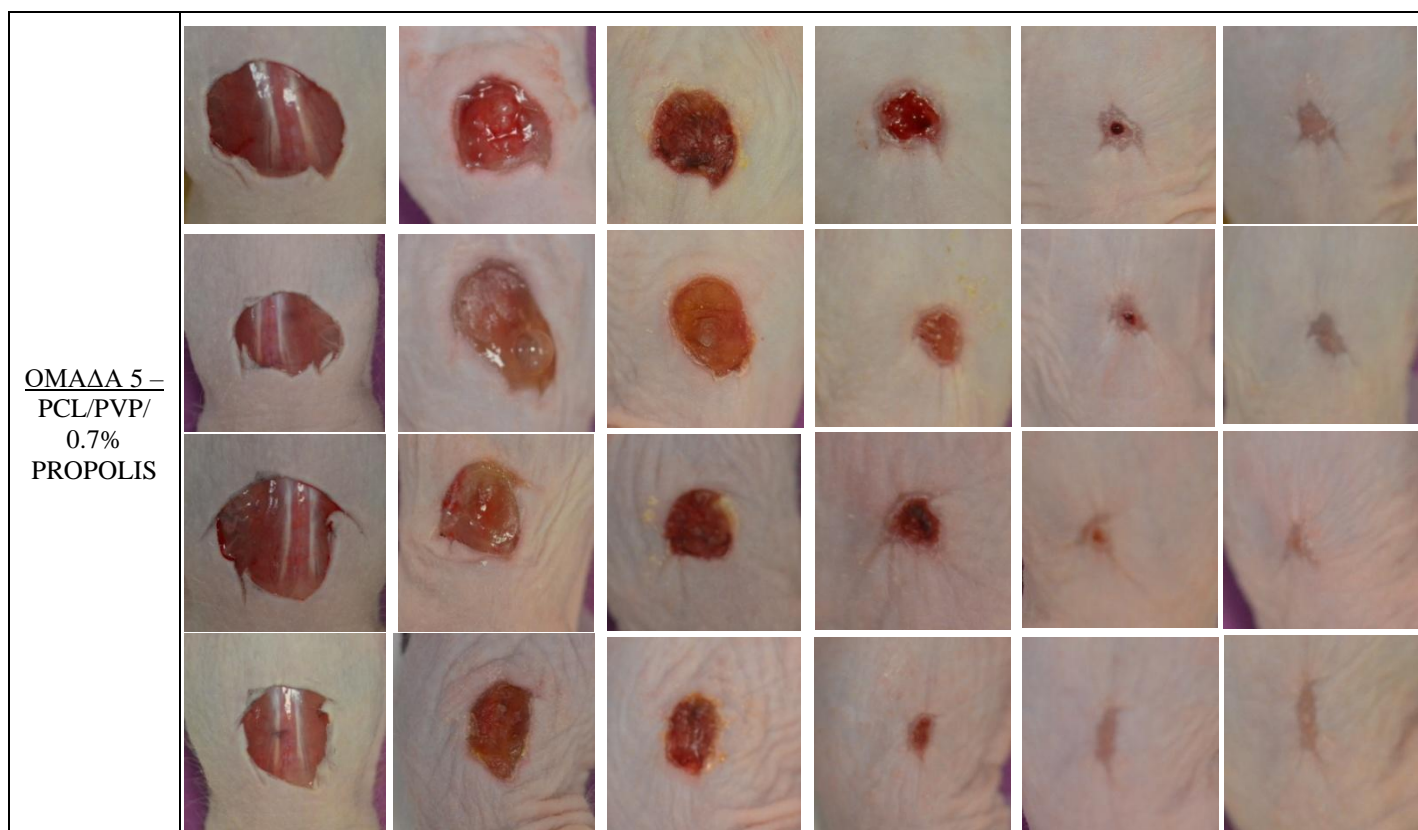
Όλα τα παραπάνω οδήγησαν στην απόφαση για μείωση του ποσοστού της πρόπολης σε ποσοστά μικρότερα του 1% και στο σχεδιασμό και υλοποίηση του δεύτερου πειράματος

## 12.3 Πείραμα 2°

### 12.3.1 Φωτοτεκμηρίωση

ΟΜΑΔΕΣ	ΗΜΕΡΕΣ					
	1 <sup>η</sup>	5 <sup>η</sup>	8 <sup>η</sup>	11 <sup>η</sup>	16 <sup>η</sup>	18 <sup>η</sup>
<u>ΟΜΑΔΑ 1 –</u> ΓΑΖΑ						
						
						
						
<u>ΟΜΑΔΑ 2 –</u> PCL/PVP						
						
						





ΟΜΑΔΑ 5 –  
PCL/PVP/  
0.7%  
PROPOLIS

**Πίνακας 26** Φωτογραφικό υλικό από την περιοχή του τραύματος κατά τη διάρκεια του πειράματος

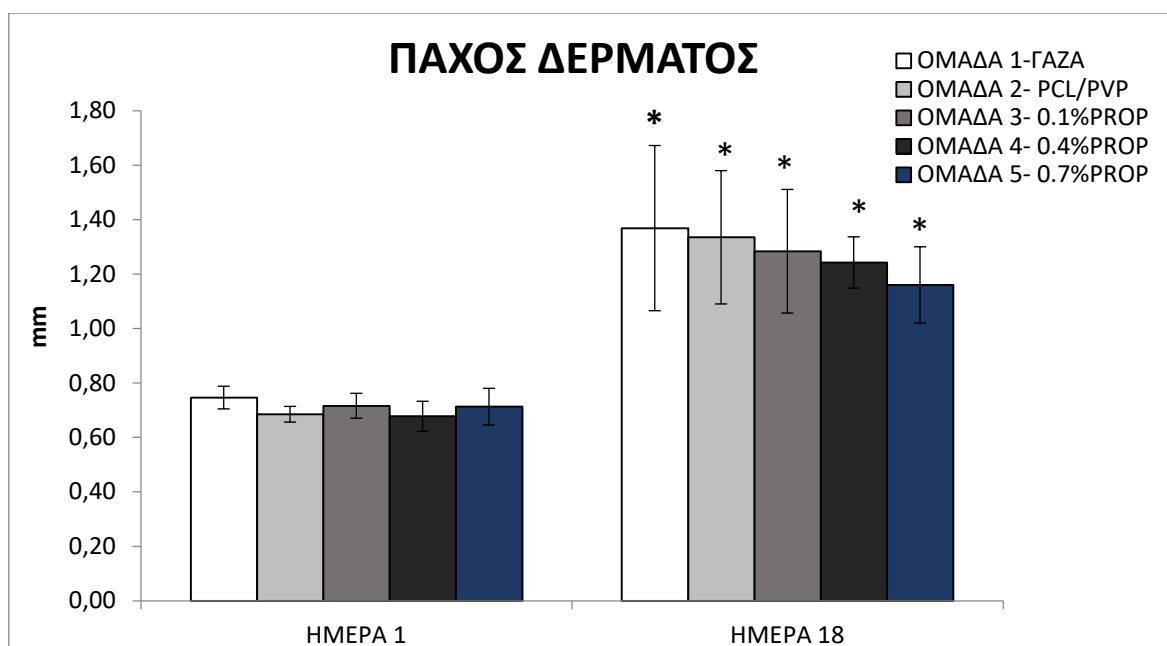
➤ Από το φωτογραφικό υλικό του **Πίνακα 26** παρατηρείται ότι η ομάδα 0,7w/w propolis έχει καλύτερη κλινική εικόνα. Την 18<sup>η</sup> ημέρα έχει επουλωθεί πλήρως μόνο αυτή η ομάδα. Για τις υπόλοιπες ομάδες που εφαρμόζεται η πρόπολη έχουν επουλωθεί μερικά ζώα την 18<sup>η</sup> ημέρα σε αντίθεση με την ομάδα γάζας και PCL/PVP όπου κανένα ζώο δεν έχει επουλωθεί πλήρως. Δεν εμφανίζεται σε κάποια ομάδα ερεθισμός ή οίδημα όπως στο 1<sup>ο</sup> πείραμα.

### 12.3.2 Αξιολόγηση του Πάχους δέρματος

Ο μέσος όρος (Μ.Ο.) και η τυπική απόκλιση (STDEV) των μετρήσεων του πάχους του δέρματος στην αρχή (ημέρα 1- υγιές δέρμα) και στο τέλος του πειράματος (ημέρα 18) δίνονται στον **Πίνακα 27** και στο **Διάγραμμα 11**.

ΟΜΑΔΕΣ	ΗΜΕΡΑ 1 <sup>η</sup>	ΗΜΕΡΑ 18 <sup>η</sup>
ΟΜΑΔΑ 1 – ΓΑΖΑ	0.75 ± 0.04	1.37 ± 0.30
ΟΜΑΔΑ 2 – PCL/PVP	0.69 ± 0.03	1.34 ± 0.24
ΟΜΑΔΑ 3 – PCL/PVP/ 0.1% PROPOLIS	0.72 ± 0.05	1.28 ± 0.23
ΟΜΑΔΑ 4 – PCL/PVP/ 0.4% PROPOLIS	0.68 ± 0.06	1.24 ± 0.09
ΟΜΑΔΑ 5 – PCL/PVP/ 0.7% PROPOLIS	0.71 ± 0.07	1.16 ± 0.14

Πίνακας 27 Μέσος όρος τιμών του πάχους ± τυπική απόκλιση για τις 5 ομάδες



Διάγραμμα 11 Μεταβολή του πάχους δέρματος σε 18 ημέρες για τις 5 ομάδες

Στη συνέχεια ακολούθησε στατιστική σύγκριση των τιμών του πάχους του δέρματος με παραμετρικές μεθόδους ανάλυσης. (ANOVA και Paired t-test)

ΗΜΕΡΕΣ	ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΟΜΑΔΩΝ	ΔΙΑΦΟΡΑ Μ.Ο.	ΤΥΠΙΚΟ ΣΦΑΛΜΑ	p-value
1	1-2	0.04875	0.02578	0.067
	1-3	0.02500	0.02578	0.339
	1-4	0.05500	0.02578	0.040
	1-5	0.03625	0.02578	0.168
	2-3	-0.02375	0.02578	0.363
	2-4	0.00625	0.02578	0.810
	2-5	-0.01250	0.02578	0.631
	3-4	0.03000	0.02578	0.252
	3-5	0.01125	0.02578	0.665
	4-5	-0.01875	0.02578	0.472
18	1-2	0.01500	0.10719	0.890
	1-3	0.10250	0.10719	0.346
	1-4	0.08750	0.10719	0.420
	1-5	0.20875	0.10719	0.060
	2-3	0.08750	0.10719	0.420
	2-4	0.07250	0.10719	0.503
	2-5	0.19375	0.10719	0.079
	3-4	-0.01500	0.10719	0.890
	3-5	0.10625	0.10719	0.328
	4-5	0.12125	0.10719	0.266

**Πίνακας 28 Στατιστική σύγκριση του πάχους του δέρματος των μυών μεταξύ των ομάδων (one way-ANOVA) βάσει του κριτηρίου LSD**

ΟΜΑΔΕΣ	ΔΙΑΦΟΡΑ Μ.Ο.	ΤΥΠΙΚΗ ΑΠΟΚΛΙΣΗ	ΤΥΠΙΚΟ ΣΦΑΛΜΑ	p-value
1	-0.6225	0.30018	0.10613	<b>0.001*</b>
2	-0.65625	0.23268	0.08227	<b>0.000*</b>
3	-0.54500	0.19719	0.06972	<b>0.000*</b>
4	-0.59000	0.08569	0.03030	<b>0.000*</b>
5	-0.45000	0.14948	0.05285	<b>0.000*</b>

**Πίνακας 29 Paired t-test για τη σύγκριση του πάχους μεταξύ των ημερών 1 - 18 σε κάθε ομάδα (\*) περιπτώσεις όπου διαφέρουν στατιστικά σημαντικά μεταξύ των 2 ημερών**

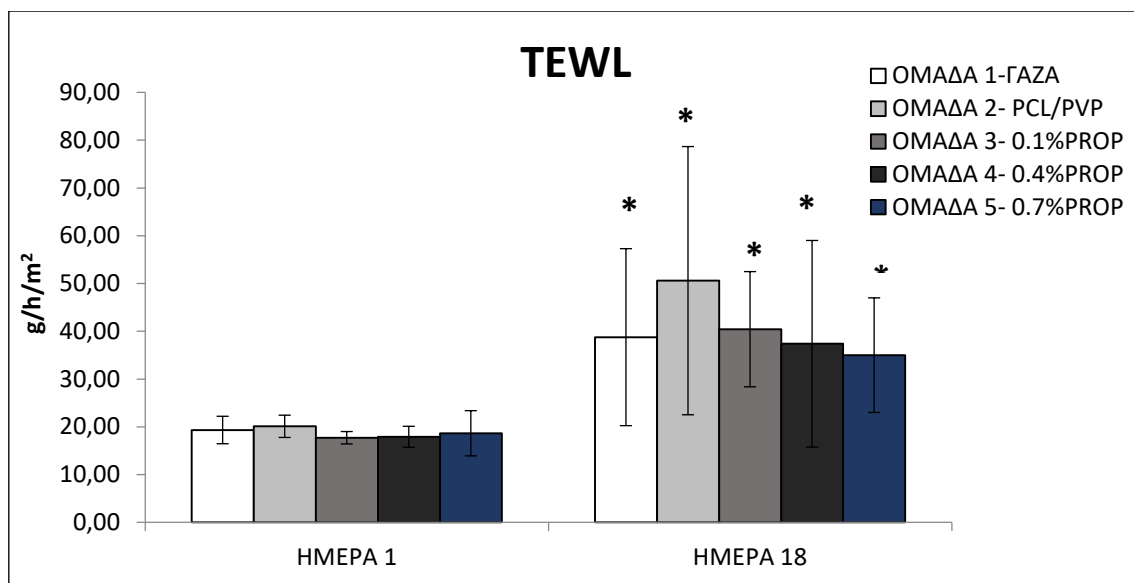
- Σύμφωνα με τους Πίνακες 27-29 και το Διάγραμμα 11 το πάχος του δέρματος δεν έχει επιστρέψει στις αρχικές τιμές Το paired t-test για τις ημέρες 1 με 18 έδειξε ότι οι τιμές διαφέρουν στατιστικά σημαντικά σε όλες τις ομάδες. Όμως η μικρότερη μεταβολή του παρατηρείται για την ομάδα 0,7% w/w propolis.

### 12.3.3 Αξιολόγηση Άδηλης Απώλειας Ύδατος (TEWL)

Ο μέσος όρος (Μ.Ο.) και η τυπική απόκλιση (STDEV) των μετρήσεων της άδηλης απώλειας ύδατος στην αρχή (ημέρα 1-υγιές δέρμα) και στο τέλος του πειράματος (ημέρα 18) δίνονται στον Πίνακα 30 και στο Διάγραμμα 12.

ΟΜΑΔΕΣ	ΗΜΕΡΑ 1 <sup>η</sup>	ΗΜΕΡΑ 18 <sup>η</sup>
ΟΜΑΔΑ 1 – ΓΑΖΑ	19.34 ± 2.87	38.78 ± 18.53
ΟΜΑΔΑ 2 – PCL/PVP	20.11 ± 2.33	50.60 ± 28.08
ΟΜΑΔΑ 3 – PCL/PVP/ 0.1% PROPOLIS	17.71 ± 1.30	40.44 ± 12.06
ΟΜΑΔΑ 4 – PCL/PVP/ 0.4% PROPOLIS	17.91 ± 2.20	37.39 ± 21.63
ΟΜΑΔΑ 5 – PCL/PVP/ 0.7% PROPOLIS	18.65 ± 4.73	35.00 ± 12.00

**Πίνακας 30 Μέσος όρος των τιμών TEWL ± τυπική απόκλιση για τις 5 ομάδες**



Διάγραμμα 12 Μεταβολή της TEWL σε 18 ημέρες για τις 5 ομάδες

Στη συνέχεια ακολούθησε στατιστική σύγκριση των τιμών της TEWL με παραμετρικές μεθόδους ανάλυσης. (ANOVA και Paired t-test)

ΗΜΕΡΕΣ	ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΟΜΑΔΩΝ	ΔΙΑΦΟΡΑ Μ.Ο.	ΤΥΠΙΚΟ ΣΦΑΛΜΑ	p-value
1	1-2	-0.77500	1.46020	0.599
	1-3	1.62500	1.46020	0.273
	1-4	1.42500	1.46020	0.336
	1-5	0.68750	1.46020	0.641
	2-3	2.40000	1.46020	0.109
	2-4	2.20000	1.46020	0.141
	2-5	1.46250	1.46020	0.323
	3-4	-0.20000	1.46020	0.892
	3-5	-0.93750	1.46020	0.525
	4-5	-0.73750	1.46020	0.617
18	1-2	-6.96250	9.62421	0.474
	1-3	5.42500	9.62421	0.577
	1-4	1.65000	9.62421	0.865
	1-5	9.66250	9.62421	0.322
	2-3	12.38750	9.62421	0.207
	2-4	8.61250	9.62421	0.377
	2-5	16.62500	9.62421	0.093
	3-4	-3.77500	9.62421	0.697
	3-5	4.23750	9.62421	0.662
	4-5	8.01250	9.62421	0.411

Πίνακας 31 Στατιστική σύγκριση της TEWL των μών μεταξύ των ομάδων (one way-ANOVA) βάσει του κριτηρίου LSD



ΟΜΑΔΕΣ	ΔΙΑΦΟΡΑ Μ.Ο.	ΤΥΠΙΚΗ ΑΠΟΚΛΙΣΗ	ΤΥΠΙΚΟ ΣΦΑΛΜΑ	p-value
1	-23.400	16.63971	5.88303	<b>0.005*</b>
2	-29.58750	29.55109	10.44789	<b>0.025*</b>
3	-19.60000	13.36092	4.72380	<b>0.004*</b>
4	-23.17500	20.27002	7.16653	<b>0.014*</b>
5	-14.42500	14.96727	5.29173	<b>0.030*</b>

**Πίνακας 32 Paired t-test για τη σύγκριση της TEWL μεταξύ των ημερών 1 - 18 σε κάθε ομάδα (\*) περιπτώσεις όπου διαφέρουν στατιστικά σημαντικά μεταξύ των 2 ημερών**

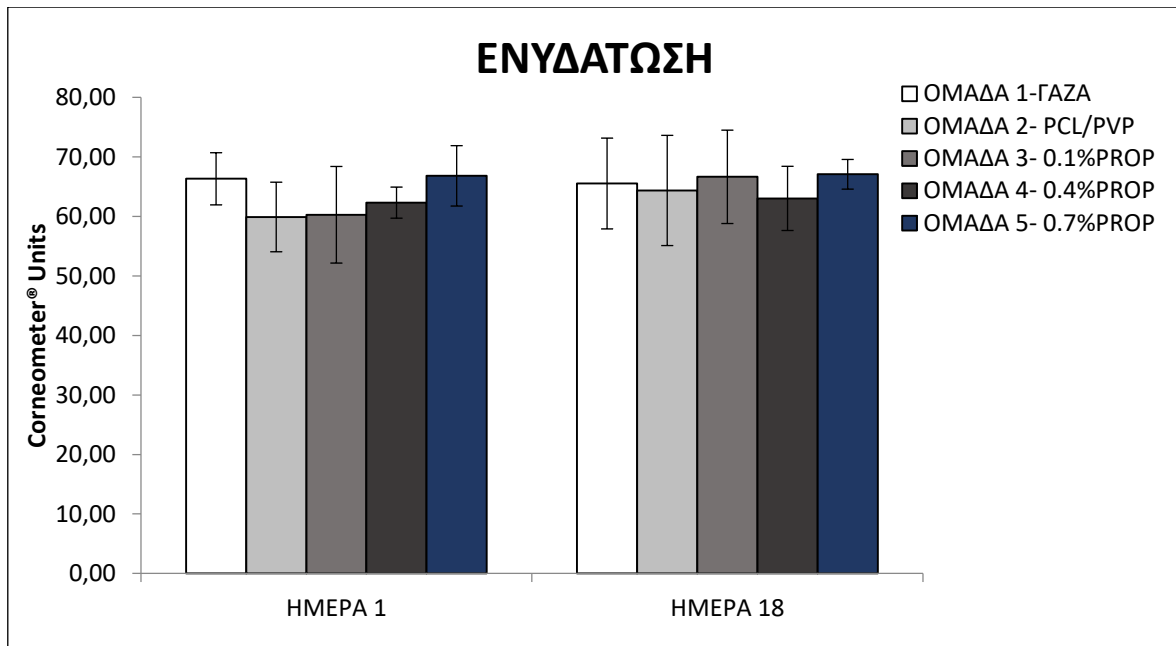
- Σύμφωνα με τους **Πίνακες 30-32** και το **Διάγραμμα 12** οι τιμές της TEWL δεν έχουν επιστρέψει στις αρχικές. Το paired t-test για τις ημέρες 1 με 18 έδειξε ότι οι τιμές διαφέρουν στατιστικά σημαντικά σε όλες τις ομάδες. Ακόμα παρατηρείται ότι η μεταβολή των τιμών της TEWL είναι η μικρότερη για την ομάδα 0,7% w/w propolis.

#### 12.3.4 Αξιολόγηση της Ενυδάτωσης

Ο μέσος όρος (Μ.Ο.) και η τυπική απόκλιση (STDEV) των μετρήσεων της ενυδάτωσης στην αρχή (ημέρα 1- υγιές δέρμα) και στο τέλος του πειράματος (ημέρα 18) δίνονται στον **Πίνακα 33** και στο **Διάγραμμα 13**.

ΟΜΑΔΕΣ	ΗΜΕΡΑ 1 <sup>η</sup>	ΗΜΕΡΑ 18 <sup>η</sup>
ΟΜΑΔΑ 1 – ΓΑΖΑ	66.33 ± 4.39	65.54 ± 7.64
ΟΜΑΔΑ 2 – PCL/PVP	59.92 ± 5.85	64.38 ± 9.26
ΟΜΑΔΑ 3 – PCL/PVP/ 0.1% PROPOLIS	60.29 ± 8.12	66.67 ± 7.85
ΟΜΑΔΑ 4 – PCL/PVP/ 0.4% PROPOLIS	62.33 ± 2.61	63.04 ± 5.39
ΟΜΑΔΑ 5 – PCL/PVP/ 0.7% PROPOLIS	66.83 ± 5.07	67.10 ± 2.49

**Πίνακας 33 Μέσος όρος των τιμών της ενυδάτωσης ± τυπική απόκλιση για τις 5 ομάδες**



**Διάγραμμα 13 Μεταβολή της ενυδάτωσης σε 18 ημέρες για τις 5 ομάδες**

Στη συνέχεια ακολούθησε στατιστική σύγκριση των τιμών της ενυδάτωσης του δέρματος με παραμετρικές μεθόδους ανάλυσης. (ANOVA και Paired t-test)

ΗΜΕΡΕΣ	ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΟΜΑΔΩΝ	ΔΙΑΦΟΡΑ Μ.Ο.	ΤΥΠΙΚΟ ΣΦΑΛΜΑ	p-value
1	1-2	6.41750	2.75533	0.026
	1-3	6.04375	2.75533	0.035
	1-4	3.99875	2.75533	0.156
	1-5	-0.50000	2.75533	0.857
	2-3	-0.37375	2.75533	0.893
	2-4	-2.41875	2.75533	0.386
	2-5	-6.91750	2.75533	0.017
	3-4	-2.04500	2.75533	0.463
	3-5	-6.54375	2.75533	0.023
18	1-2	0.20625	3.34367	0.951
	1-3	-2.75125	3.34367	0.416
	1-4	3.74750	3.34367	0.270
	1-5	-2.08500	3.34367	0.537
	2-3	-2.95750	3.34367	0.382
	2-4	3.54125	3.34367	0.297
	2-5	-2.29125	3.34367	0.498
	3-4	6.49875	3.34367	0.060
	3-5	0.66625	3.34367	0.843
4-5	-5.83250	3.34367	0.090	

**Πίνακας 34 Στατιστική σύγκριση της ενυδάτωσης μεταξύ των ομάδων (one way-ANOVA) βάσει του κριτηρίου LSD (\*) περιπτώσεις όπου διαφέρουν στατιστικά σημαντικά οι ομάδες σύγκρισης**

ΟΜΑΔΕΣ	ΔΙΑΦΟΡΑ Μ.Ο.	ΤΥΠΙΚΗ ΑΠΟΚΛΙΣΗ	ΤΥΠΙΚΟ ΣΦΑΛΜΑ	p-value
1	1.21000	7.11306	2.51485	0.645
2	-5.00125	12.44095	4.39854	0.293
3	-7.58500	4.03221	1.42560	<b>0.001*</b>
4	0.95875	5.69444	2.01329	0.648
5	-0.37500	6.26180	2.21388	0.870

**Πίνακας 35 Paired t-test για τη σύγκριση της ενυδάτωσης μεταξύ των ημερών 1 - 18 σε κάθε ομάδα (\*) περιπτώσεις όπου διαφέρουν στατιστικά σημαντικά μεταξύ των 2 ημερών**

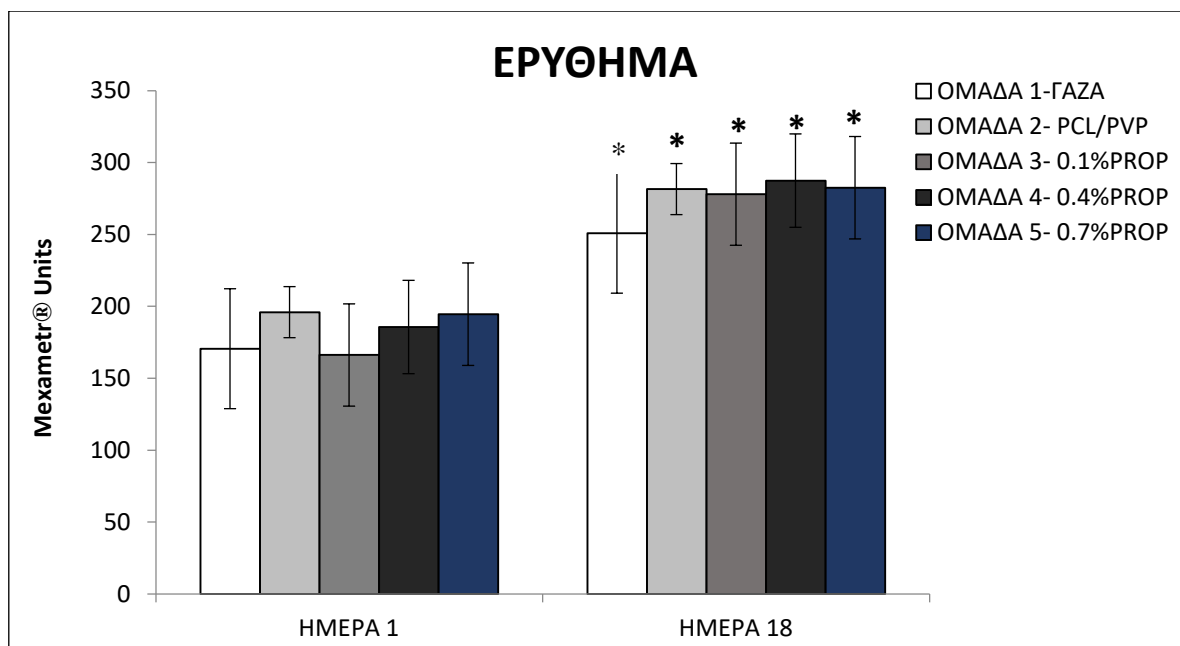
- Σύμφωνα με τους Πίνακες 33-35 και το Διάγραμμα 13 οι τιμές της ενυδάτωσης έχουν επιστρέψει στις αρχικές του τιμές. Το paired t-test για τις ημέρες 1 με 18 έδειξε ότι οι τιμές δε διαφέρουν στατιστικά σημαντικά σε όλες τις ομάδες εκτός της PCL/PVP

### 12.3.5 Αξιολόγηση Ερυθήματος

Ο μέσος όρος (Μ.Ο.) και η τυπική απόκλιση (STDEV) των μετρήσεων του ερυθήματος του δέρματος στην αρχή (ημέρα 1- υγιές δέρμα) και στο τέλος του πειράματος (ημέρα 18) δίνονται στον Πίνακα 36 και στο Διάγραμμα 14.

ΟΜΑΔΕΣ	ΗΜΕΡΑ 1 <sup>η</sup>	ΗΜΕΡΑ 18 <sup>η</sup>
<u>ΟΜΑΔΑ 1 – ΓΑΖΑ</u>	170.54 ± 41.69	250.88 ± 34.50
<u>ΟΜΑΔΑ 2 – PCL/PVP</u>	195.96 ± 17.75	281.54 ± 29.78
<u>ΟΜΑΔΑ 3 – PCL/PVP/ 0.1% PROPOLIS</u>	166.17 ± 35.53	278.00 ± 63.72
<u>ΟΜΑΔΑ 4 – PCL/PVP/ 0.4% PROPOLIS</u>	185.63 ± 32.46	287.42 ± 80.59
<u>ΟΜΑΔΑ 5 – PCL/PVP/ 0.7% PROPOLIS</u>	194.54 ± 35.61	282.48 ± 61.26

**Πίνακας 36 Μέσος όρος των τιμών του ερυθήματος ± τυπική απόκλιση για τις 5 ομάδες**



Διάγραμμα 14 Μεταβολή του ερυθήματος σε 18 ημέρες για τις 5 ομάδες

Στη συνέχεια ακολούθησε στατιστική σύγκριση των τιμών του ερυθήματος του δέρματος με παραμετρικές μεθόδους ανάλυσης, (ANOVA και Paired t-test)

ΗΜΕΡΕΣ	ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΟΜΑΔΩΝ	ΔΙΑΦΟΡΑ Μ.Ο.	ΤΥΠΙΚΟ ΣΦΑΛΜΑ	p-value
1	1-2	-25.41625	16.78933	0.139
	1-3	4.37500	16.78933	0.796
	1-4	-15.08250	16.78933	0.375
	1-5	-24.00000	16.78933	0.162
	2-3	29.79125	16.78933	0.085
	2-4	10.33375	16.78933	0.542
	2-5	1.41625	16.78933	0.933
	3-4	-19.45750	16.78933	0.254
	3-5	-28.37500	16.78933	0.100
4-5	-8.91750	16.78933	0.599	
18	1-2	-10.62500	28.63813	0.713
	1-3	6.83250	28.63813	0.813
	1-4	-38.04125	28.63813	0.193
	1-5	-17.45875	28.63813	0.546
	2-3	17.45750	28.63813	0.546
	2-4	-27.41625	28.63813	0.345
	2-5	-6.83375	28.63813	0.813
	3-4	-44.87375	28.63813	0.126
	3-5	-24.29125	28.63813	0.402
4-5	20.58250	28.63813	0.477	

Πίνακας 37 Στατιστική σύγκριση του ερυθήματος μεταξύ των ομάδων (one way-ANOVA) βάσει του κριτηρίου

LSD

ΟΜΑΔΕΣ	ΔΙΑΦΟΡΑ Μ.Ο.	ΤΥΠΙΚΗ ΑΠΟΚΛΙΣΗ	ΤΥΠΙΚΟ ΣΦΑΛΜΑ	p-value
1	-94,91750	61,82125	21,85711	<b>0.003*</b>
2	-80.12625	45.25536	16.00019	<b>0.002*</b>
3	-92.46000	51.42869	18.18279	<b>0.001*</b>
4	-117.87625	91.89093	32.48835	<b>0.008*</b>
5	-88.37625	67.96088	24.02780	<b>0.008*</b>

**Πίνακας 38 Paired t-test για τη σύγκριση της ενυδάτωσης μεταξύ των ημερών 1 - 18 σε κάθε ομάδα (\*) περιπτώσεις όπου διαφέρουν στατιστικά σημαντικά μεταξύ των 2 ημερών**

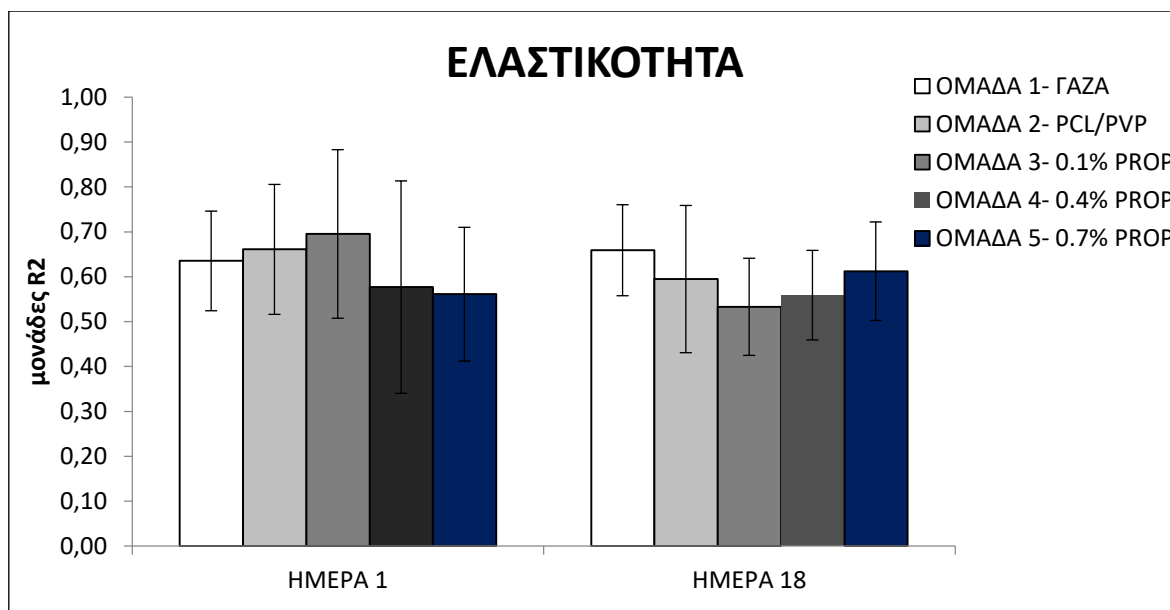
- Σύμφωνα με τους Πίνακες 36-38 και το Διάγραμμα 14 το ερώθημα δεν έχει επιστρέψει στις αρχικές τιμές. Το paired t-test για τις ημέρες 1 με 18 έδειξε ότι οι τιμές διαφέρουν στατιστικά σημαντικά σε όλες τις ομάδες.

### 12.3.6 Αξιολόγηση Ελαστικότητας

Ο μέσος όρος (Μ.Ο.) και η τυπική απόκλιση (STDEV) των μετρήσεων του ερυθήματος του δέρματος στην αρχή (ημέρα 1- υγιές δέρμα) και στο τέλος του πειράματος (ημέρα 18) δίνονται στον Πίνακα 39 και στο Διάγραμμα 15.

ΟΜΑΔΕΣ	ΗΜΕΡΑ 1 <sup>η</sup>	ΗΜΕΡΑ 18 <sup>η</sup>
ΟΜΑΔΑ 1 – ΓΑΖΑ	0.64 ± 0.11	0.66 ± 0.10
ΟΜΑΔΑ 2 – PCL/PVP	0.66 ± 0.14	0.59 ± 0.16
ΟΜΑΔΑ 3 – PCL/PVP/ 0.1% PROPOLIS	0.70 ± 0.19	0.53 ± 0.11
ΟΜΑΔΑ 4 – PCL/PVP/ 0.4% PROPOLIS	0.58 ± 0.24	0.56 ± 0.10
ΟΜΑΔΑ 5 – PCL/PVP/ 0.7% PROPOLIS	0.56 ± 0.15	0.61 ± 0.11

**Πίνακας 39 Μέσος όρος των τιμών της ελαστικότητας ± τυπική απόκλιση για τις 5 ομάδες**



Διάγραμμα 15 Μεταβολή της ελαστικότητας σε 18 ημέρες για τις 5 ομάδες

Στη συνέχεια ακολούθησε στατιστική σύγκριση των τιμών της ελαστικότητας του δέρματος με παραμετρικές μεθόδους ανάλυσης. (ANOVA και Paired t-test)

ΗΜΕΡΕΣ	ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΟΜΑΔΩΝ	ΔΙΑΦΟΡΑ Μ.Ο.	ΤΥΠΙΚΟ ΣΦΑΛΜΑ	p-value
1	1-2	-0.0257125	0.0856192	0.766
	1-3	-0.0600875	0.0856192	0.487
	1-4	-0.0583500	0.0856192	0.500
	1-5	0.0740750	0.0856192	0.393
	2-3	-0.0343750	0.0856192	0.691
	2-4	0.0840625	0.0856192	0.333
	2-5	0.0997875	0.0856192	0.252
	3-4	0.1184375	0.0856192	0.175
	3-5	0.1341625	0.0856192	0.126
	4-5	0.0157250	0.0856192	0.855
18	1-2	0.0620375	0.0598588	0.307
	1-3	0.0939750	0.0598588	0.125
	1-4	0.1335500	0.0598588	<b>0.032*</b>
	1-5	0.0532500	0.0598588	0.329
	2-3	0.0319375	0.0598588	0.597
	2-4	0.0715125	0.0598588	0.240
	2-5	-0.0027875	0.0598588	0.963
	3-4	0.0395750	0.0598588	0.513
	3-5	-0.0347250	0.0598588	0.566
	4-5	0.0743000	0.0598588	0.223

Πίνακας 40 Στατιστική σύγκριση της ελαστικότητας μεταξύ των ομάδων (one way-ANOVA) βάσει του κριτηρίου LSD

ΟΜΑΔΕΣ	ΔΙΑΦΟΡΑ Μ.Ο.	ΤΥΠΙΚΗ ΑΠΟΚΛΙΣΗ	ΤΥΠΙΚΟ ΣΦΑΛΜΑ	p-value
1	-0.0283250	0.1880259	0.0664772	0.683
2	0.0594250	0.1320635	0.0466915	0.244
3	0.1257375	0.2302733	0.0814139	0.166
4	0.0468750	0.1845382	0.0652441	0.496
5	-0.0431500	0.1303373	0.0460812	0.380

Πίνακας 41 Paired t-test για τη σύγκριση της ελαστικότητας μεταξύ των ημερών 1 - 18 σε κάθε ομάδα

- Σύμφωνα με τους Πίνακες 39-41 και το Διάγραμμα 15 η ελαστικότητα έχει επιστρέψει στις αρχικές τιμές μετά την πάροδο των 18 ημερών.

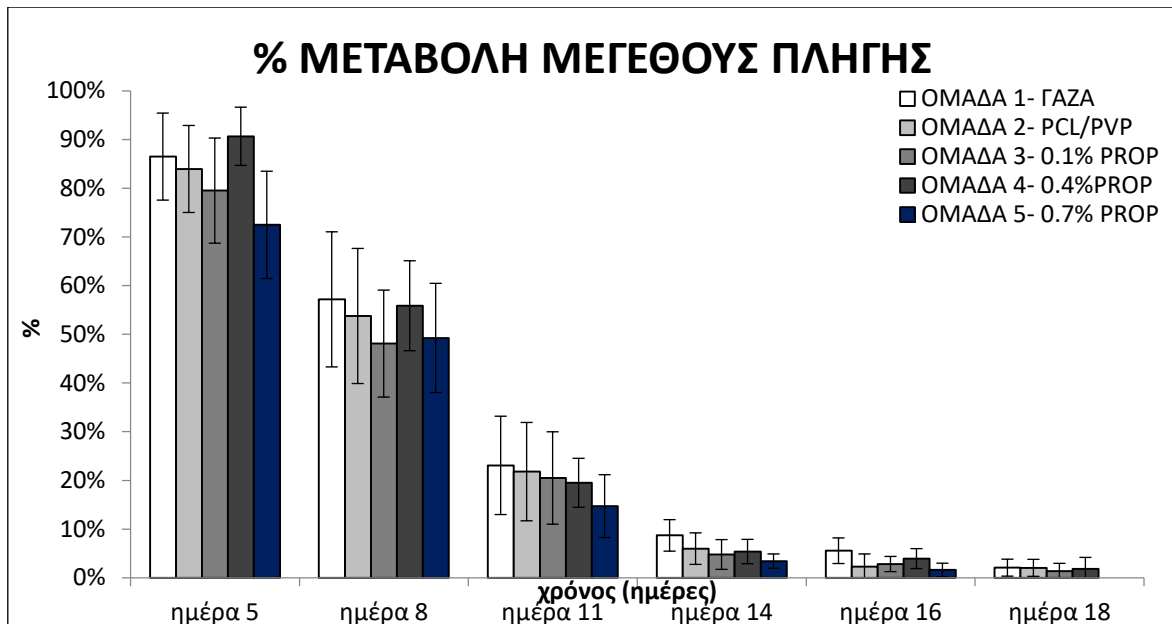
### 12.3.7 Μέτρηση μεγέθους πληγής

ΟΜΑΔΕΣ	ΗΜ. 1 <sup>η</sup>	ΗΜ. 5 <sup>η</sup>	ΗΜ. 8 <sup>η</sup>	ΗΜ. 11 <sup>η</sup>	ΗΜ. 14 <sup>η</sup>	ΗΜ. 16 <sup>η</sup>	ΗΜ. 18 <sup>η</sup>
<u>ΟΜΑΔΑ 1</u>	1.049±0.165	0.907±0.197	0.609±0.183	0.251±0.129	0.093±0.032	0.067±0.020	0.038±0.022
<u>ΟΜΑΔΑ 2</u>	1.043±0.162	0.883±0.199	0.563±0.169	0.232±0.119	0.062±0.035	0.049±0.027	0.034±0.018
<u>ΟΜΑΔΑ 3</u>	1.149±0.149	0.920±0.203	0.558±0.159	0.240±0.123	0.056±0.038	0.037±0.017	0.032±0.018
<u>ΟΜΑΔΑ 4</u>	1.030±0.208	0.927±0.217	0.588±0.193	0.197±0.049	0.053±0.019	0.038±0.017	0.037±0.026
<u>ΟΜΑΔΑ 5</u>	1.049±0.185	0.762±0.184	0.517±0.154	0.155±0.081	0.036±0.018	0.018±0.014	0

Πίνακας 42 Μέσος όρος του μεγέθους πληγής (cm<sup>2</sup>) ± τυπική απόκλιση για τις 5 ομάδες κατά τη διάρκεια του πειράματος

ΟΜΑΔΕΣ	ΗΜ. 5 <sup>η</sup>	ΗΜ. 8 <sup>η</sup>	ΗΜ. 11 <sup>η</sup>	ΗΜ. 14 <sup>η</sup>	ΗΜ. 16 <sup>η</sup>	ΗΜ. 18 <sup>η</sup>
<u>ΟΜΑΔΑ 1</u>	87%	57%	23%	9%	6%	2%
<u>ΟΜΑΔΑ 2</u>	84%	54%	22%	6%	2%	2%
<u>ΟΜΑΔΑ 3</u>	8%	48%	21%	5%	3%	1%
<u>ΟΜΑΔΑ 4</u>	91%	56%	20%	5%	4%	2%
<u>ΟΜΑΔΑ 5</u>	72%	49%	15%	3%	2%	0%

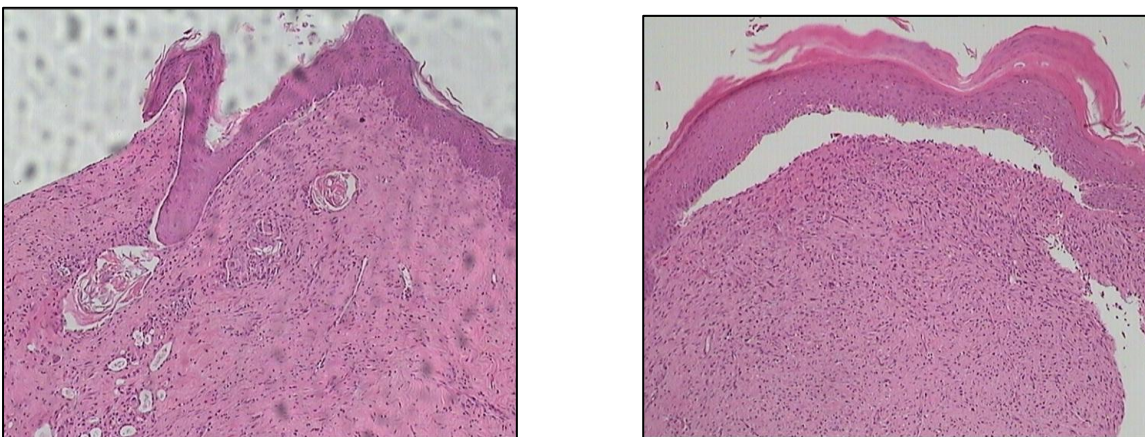
Πίνακας 43 % μεταβολή του μεγέθους της πληγής για τις 5 ομάδες κατά τη διάρκεια του πειράματος



**Διάγραμμα 16 % μεταβολή του μεγέθους της πληγής**

- Από το **Διάγραμμα 16** προκύπτει ότι από την 5<sup>η</sup> ημέρα της επουλωτικής διαδικασίας η ομάδα 0,7% w/w propolis έχει ταχύτερο ρυθμό από την ομάδα των μαρτύρων. Μέχρι την 8<sup>η</sup> ημέρα ο ρυθμός επούλωσης για την ομάδα 0,1% w/w propolis ήταν καλύτερος από την ομάδα της γάζας.

### 12.3.8 Ιστοπαθολογική Αξιολόγηση

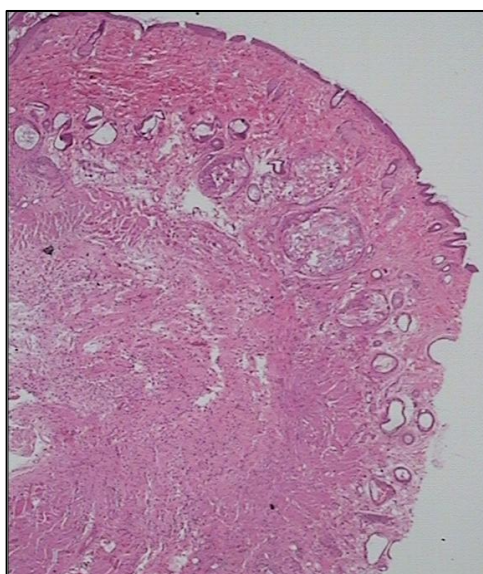


(x100)

**Εικόνα 29 Τομή δέρματος μύς ομάδας 1 (γάζα)**

Η ομάδα των μαρτύρων παρουσιάζει οξεία φλεγμονή με αρκετά πολυμορφοπύρρηνα λευκοκύτταρα. Παρατηρείται έντονη ουλώδης αντίδραση, διάταση των αγγείων και απουσία εξαρτηματικών μορίων στην περιοχή. Ακόμα υπάρχει εμφανής παρακεράτωση και υπερκερράτωση στην κεράτινη στοιβάδα καθώς και εμφανής υπερπλασία της επιδερμίδας (**Εικ.29**).

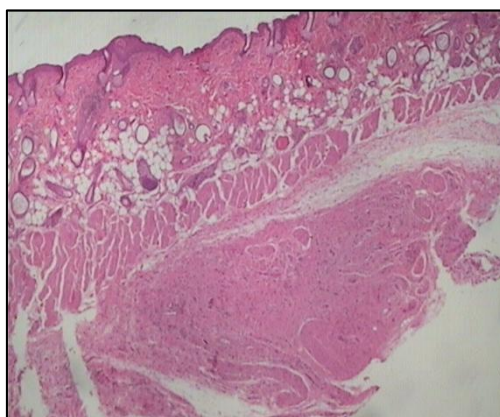




(x40)

**Εικόνα 30 Τομή δέρματος μνός ομάδας 2 (PCL/PVP)**

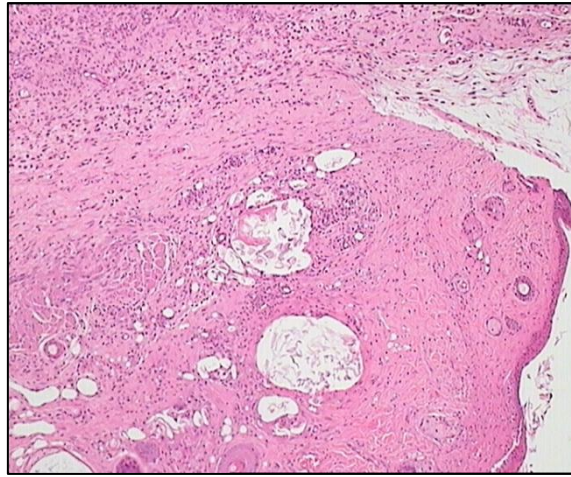
Η ομάδα με το πολυμερικό επίθεμα PCL/PVP παρουσιάζει οξεία φλεγμονή με αρκετά πολυμορφοπύρρηνα λευκοκύτταρα μεταξύ χορίου και υποδόριου ιστού. Παρατηρείται η αρχή για δημιουργία ουλής και πάχυνση της επιδερμίδας(**Εικ.30**). Η εικόνα είναι παρόμοια με της ομάδας 1.



(x40)

**Εικόνα 31 Τομή δέρματος μνός ομάδας 3 (0,1%w/w propolis)**

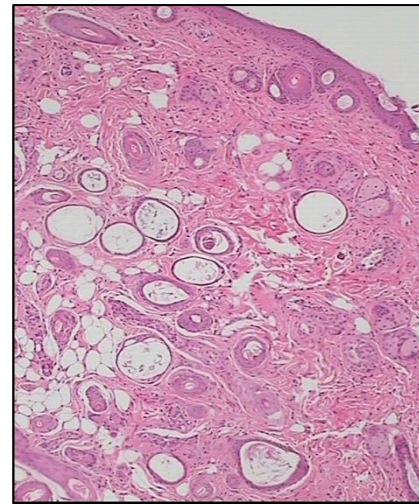
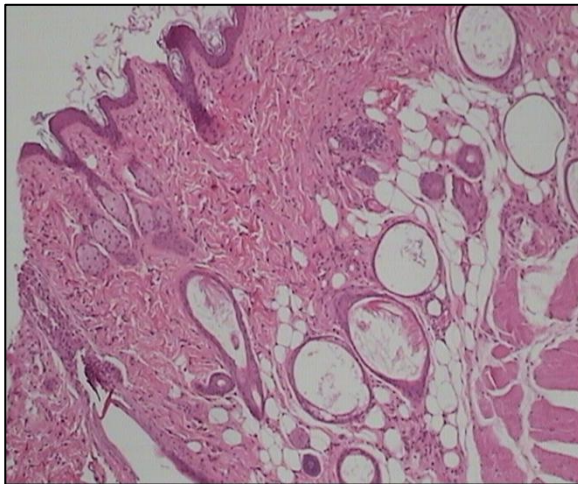
Η ομάδα με το πολυμερικό επίθεμα 0,1% w/w propolis παρουσιάζει οξεία φλεγμονή με αρκετά πολυμορφοπύρρηνα λευκοκύτταρα. Παρατηρείται η αρχή για δημιουργία ουλής αλλά περιορισμένη υπερπλασία της επιδερμίδας (**Εικ.31**). Η εικόνα είναι παρόμοια με των δυο προηγούμενων ομάδων.



(x40)

**Εικόνα 32 Τομή δέρματος μύς ομάδας 4 (0,4%w/w propolis)**

Η ομάδα με το πολυμερικό επίθεμα 0,4% w/w propolis παρουσιάζει οξεία φλεγμονή με αρκετά πολυμορφοπύρρηνα λευκοκύτταρα. Παρατηρείται ουλή αλλά περιορισμένη υπερπλασία της επιδερμίδας (**Εικ.32**). Η εικόνα είναι παρόμοια με των προηγούμενων ομάδων.



(x100)

**Εικόνα 33 Τομή δέρματος μύς ομάδας 5 (0,7%w/w propolis)**

Η ομάδα με το πολυμερικό επίθεμα 0,7% w/w propolis παρουσιάζει μέτρια έως ελάχιστη φλεγμονή. Παρατηρείται περιορισμένη έκταση ουλώδη ιστού και ελάχιστη έως καθόλου υπερπλασία της επιδερμίδας(**Εικ.33**) Η εικόνα είναι η καλύτερη σε σύγκριση με τις προηγούμενες ομάδες.

## 12.4 Συζήτηση

Με βάση την κλινική εικόνα, τις μετρήσεις των δερματικών παραμέτρων, το ποσοστό μεταβολής του μεγέθους της πληγής και την ιστοπαθολογική αξιολόγηση διαπιστώνεται ότι η πρόπολη σε ποσοστά μικρότερα του 1% δεν προκαλεί ερεθισμό – τοξικότητα στο δέρμα. Αρχικά, η κλινική εικόνα έδειξε ότι στην ομάδα 0,7%w/w propolis επουλώθηκαν όλα τα ζώα πλήρως. Οι υπόλοιπες ομάδες στις οποίες εφαρμόστηκε η πρόπολη έδωσαν καλύτερη εικόνα κατά την πορεία του πειράματος από αυτή των μαρτύρων καθώς οι πληγές παρέμειναν υγρές και κρίθηκε απαραίτητο η αφαίρεση του νεκρωτικού ιστού να γίνει μόνο μια φορά σε αντίθεση με τις ομάδες της γάζας και PCL/PVP όπου οι πληγές ήταν ξηρές και ο σχηματισμός νεκρωτικού ιστού ήταν πιο συχνός. Σημαντικό είναι η μείωση του χρόνου επούλωσης στις 18 ημέρες.

Επιπλέον, οι μετρήσεις των παραμέτρων του δέρματος επιβεβαιώνουν τις παρατηρήσεις της καθημερινής κλινικής εικόνας καθώς η ομάδα 0,7% w/w propolis πλησιάζει τις αρχικές μετρήσεις (υγιές δέρμα). Η απουσία στατιστικής σημαντικότητας από τη σύγκριση των δεδομένων προκύπτει από το γεγονός ότι ο δερματικός φραγμός καθυστερεί να επανέλθει στη φυσιολογική κατάσταση. Το ποσοστό μεταβολής του μεγέθους της πληγής δείχνει ότι την 18<sup>η</sup> ημέρα όλα τα ζώα της ομάδας 0,7% w/w propolis έχουν επουλωθεί πλήρως. Τέλος, η ιστοπαθολογική αξιολόγηση έρχεται να επιβεβαιώσει τις ανωτέρω παρατηρήσεις καθώς παρουσιάζεται μια πολύ καλή εικόνα του δέρματος για την ομάδα 0,7% w/w propolis με ελάχιστη έως καθόλου φλεγμονή στο χόριο και μια υγιής επιδερμίδα. Αντίθετα, στις ομάδες της γάζας και PCL/PVP υπάρχει εκτεταμένη χρόνια φλεγμονή καθώς και ενεργό φλεγμονή στο χόριο με έντονη παρουσία πολυμορφοπύρηνων λευκοκυττάρων. Σημαντική παρατήρηση είναι ότι η εμφάνιση της επιδερμίδας βελτιώνεται με την προσθήκη της πρόπολης σε σχέση με των μαρτύρων.

# ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

## Πείραμα φλεγμονής

- 1) Επιβεβαίωση της δόσοεξαρτώμενης αντιφλεγμονώδους δράσης του επιθέματος με *P.halepensis*.
- 2) Η ομάδα στην οποία εφαρμόστηκε το επίθεμα με εκχύλισμα *P. halepensis* σε ποσοστό 26,2% w/w (συγκέντρωση κορεσμού) είχε την καλύτερη κλινική εικόνα και ιστοπαθολογική αξιολόγηση
- 3) Τα επιθέματα που φέρουν το εκχύλισμα του *P. halepensis* έδειξαν μείωση της έκτασης, του βάθους και της πυκνότητας της φλεγμονής σε σύγκριση με τις άλλες ομάδες.
- 4) Η χρήση Αλγινικού Νατρίου φαίνεται να βελτιώνει την εικόνα του δέρματος στη φλεγμένουςα περιοχή.
- 5) Το επίθεμα PEO/CA είχε παρόμοιο αποτέλεσμα με αυτό της απλής γάζας στην αντιμετώπιση της φλεγμονώδους απόκρισης, όσο και στις ιδιότητες του δέρματος των μυών.
- 6) Η συσσώρευση υγρών στην περιοχή της φλεγμονής οδηγεί σε καθυστέρηση της θεραπείας της και επιδείνωση της κλινικής εικόνας του δέρματος κατά την εξέλιξη του πειράματος με έντονο ερεθισμό και οίδημα.

Με βάση τα θετικά αποτελέσματα της παρούσας μελέτης επόμενος στόχος θα μπορούσε να είναι η προκλινική αξιολόγηση των επιθεμάτων και σε άλλες περιπτώσεις φλεγμονής όπως ηλιακό και θερμικό έγκαυμα. Ενδιαφέρον κρίνεται ακόμα και η εφαρμογή τους σε κλινικό επίπεδο.

## Πείραμα επουλώσεως πληγής

- 1) Ενσωμάτωση του εκχυλίσματος πρόπολης στα τελικά επιθέματα απουσία αιθανόλης μέσω της τεχνικής της ηλεκτροστατικής ινοποίησης
- 2) Χρήση του εκχυλίσματος πρόπολης in vivo στην επούλωση πληγών χωρίς την τοξικότητα της αιθανόλης.
- 3) Τα υψηλά ποσοστά πρόπολης (1%, 15%, 30%w/w) στο επίθεμα έδειξαν μέτρια έως έντονη τοξικότητα.
- 4) Εμφάνιση έντονου ερυθήματος και οιδήματος στην ομάδα που εφαρμόστηκε το επίθεμα με 30% w/w πρόπολης.

- 5) Το επίθεμα με 0,7%w/w εκχυλίσματος πρόπολης προάγει την επούλωση σύμφωνα με την κλινική εικόνα, τη μείωση του εμβαδού της πληγής και την ιστοπαθολογική αξιολόγηση.
- 6) Η πρόπολη σε ποσοστό μικρότερο του 0,7%w/w στα επιθέματα έδειξε βελτίωση της εμφάνισης της επιδερμίδας σε σχέση με τους μάρτυρες.
- 7) Η πρόπολη σε ποσοστό μικρότερο του 0,7%w/w στα επιθέματα δεν άσκησε δράση έναντι της φλεγμονής.
- 8) Η θεραπευτική δόση της πρόπολης βρίσκεται πολύ κοντά στην ελάχιστη ερεθιστική δόση. Σε ποσοστό >1%w/w στο επίθεμα εκδηλώθηκε τοξικότητα ενώ σε ποσοστό <0,7% w/w δεν εμφάνισε δράση.
- 9) Η χρήση επιθεμάτων βοηθά ώστε οι πληγές να παραμένουν υγρές και να μην δημιουργείται νεκρωτικός ιστός ο οποίος καθυστερεί την εξέλιξη της επούλωσης.
- 10) Εύρεση της βέλτιστης περιόδου η οποία συγκρατεί το επίθεμα για περίπου 24 ώρες στη ράχη του ζώου, αφαιρείται εύκολα και επιτρέπει την ανταλλαγή υγρών με το περιβάλλον στην περιοχή του τραύματος

Με βάση τα θετικά αποτελέσματα της παρούσας μελέτης σε επόμενο στάδιο αξίζει να μελετηθεί η αντιμικροβιακή και επουλωτική δράση της πρόπολης *in vitro* και *in vivo*.

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Παπαϊωάννου Θ. Γεώργιος, Κοσμητολογία, Συστατικά-Παρασκευή-Χρήση Καλλυντικών Δ' Έκδοση, Εκδόσεις Γ. Γκελμπέσης (2006)
2. Αντωνίου Χ, Κατσάμπας Α. Δερματολογία, Αφροδισιολογία, Broken Hills Publishers LTD ( 2015)
3. Seeley R.R., Trend D., Stephens T.D., Tate P., Anatomy and Physiology, 8<sup>th</sup> edition (2008).
4. Abraham L. Kirszwonbaum, Laura L.Tres, Ιστολογία με Στοιχεία Κυτταρικής Βιολογίας Broken Hills Publishers LTD (2013) p423-427
5. Stevens, A., & Lowe J. (2005). Ιστολογία. Επιμ. Χ. Κίττας. Αθήνα: Π.Χ. Πασχαλίδης. 2007.
6. Martini F.H., Nath J.L., Bartholomew E.F, Fundamentals of Anatomy & Physiology, 4th edition (1998)
7. Young B., Lowe S.J., Health W.J., Deakin Alan Stevens J.P. *Wheater's Functional Histology* . 4th ed. London: Churchill Livingstone (2000). p162
8. Brian L.Diffey, Sources and measurement of ultraviolet radiation, *Methods* 28 (2002) 4:13
9. Kripke, L.M. (1991). Immunological Effects of Ultraviolet Radiation. *The Journal of Dermatology*. 18 (8), p429-433.
10. Clydesdale GJ, Dandie GW, Muller HK. (2001) Ultraviolet light induced injury: Immunological and inflammatory effects. *Immunol Cell Biol* 79, p547–568.
11. Ichihashi M, Ueda M, Budiyanto A, Bito T, Oka M, Fukunaga M, Tsuru K, Horikawa T (2003) UV-induced skin damage. *Toxicology* 189, p21–39.
12. D’Orazio, J., Jarrett, S., Amaro-Ortiz, A., Scott, T. (2013). UV Radiation and the Skin. *International Journal of Molecular Sciences* 14 (6), p12222-12248.
13. Schultz, G.S., (1999), Molecular regulation of wound healing, in Bryant, RA (ed.): *Acute and Chronic Wounds: Nursing Management* (ed 2). St Louis, MO, Mosby. pp 413–429
14. Lazarus, G.S., Cooper, D.M., Knighton, D.R., et al., (1994), Definitions and guidelines for assessment of wounds and evaluation of healing. *Arch Dermatol*. 130:489–493.
15. Enoch, S., John Leaper, D., (2005), Basic science of wound healing. *Surgery (Oxford)*. 23:37–42.
16. Velnar, T., Bailey, T., Smrkolj, V., (2009), The Wound Healing Process: an Overview of the Cellular and Molecular Mechanisms. 37: 1528 – 1542 37(5) 12.
17. Beldon P., (2010) Basic science of wound healing, *Surgery*, 28: 9:409-412
18. Menke N.B, Diegelmann R.F, (2006), Biochemical Pathways of Wound Healing: Implications for Development of Disease-Specific Diagnostics. *DVAN CLIN CHEM*, 41:167-187
19. Boron F. W., Boulpaep L. E., (2006), «Ιατρική φυσιολογία: Κυτταρική και μοριακή προσέγγιση», 1ος Τόμος, Ιατρικές Εκδόσεις Π. Χ. Πασχαλίδης, Αθήνα
20. Robson M.C., (1997) Wound infection: a failure of wound healing caused by an imbalance of bacteria. *SurgClin North Am*. 77: 637 –650.
21. Ramasastry, S.S., (2005) Acute wounds. *Clin Plast Surg*. 32: 195 – 208
22. Enquist IF, Adamson RJ: Collagen synthesis and lysis in healing wounds. *Minn Med* 46:1695-1704, 1965.
23. Tanzer ML: Crosslinking of collagen. *Science* 180:561-569, 1973.
24. Ruszczak Z., Schwartz RA: Modern aspects of wound healing: An update. *Dermatol Surg* 26(3):219-229, 2000.
25. Gillitzer R, Goebeler M: Chemokines in cutaneous wound healing. *J Leukoc Biol* 69(4):513-521, 2001.
26. Munster AM: Immunologic response of trauma and burns: An overview. *Am J Med* 76:1412-149, 1984.

27. Roh, C., Lyle, S., (2006), Cutaneous stem cells and wound healing. *Pediatr Res.* 59: 100R–103R.
28. Jacinto, A., Martinez-Arias, A., Martin, P., (2001) Mechanisms of epithelial fusion and repair. *Nat Cell Biol.* 3:E117–E123
29. Clark, R.A., (1993), Regulation of fibroplasia in cutaneous wound repair. *Am J Med Sci.* 306: 42 – 48.
30. Rowlatt, U., (1979) Intrauterine wound healing in a 20 week human fetus. *Virchows Arch A Pathol Anat Histol.* 381: 353–361.
31. Witte, M.B., Kiyama, T., Barbul, A., (2002), Nitric oxide enhances experimental wound healing in diabetes. *Br J Surg.* 89: 1594–1601
32. Samuels, P., Tan, A.K., (1999), Fetal scarless wound healing. *J Otolaryngol.* 28: 296 – 302
33. Hunt, T.K., Hopf, H., Hussain, Z., (2000), Physiology of wound healing. *Adv Skin Wound Care.* 13: 6–11.
34. Baum, C.L., Arpey, C.J., (2005), Normal cutaneous wound healing: clinical correlation with cellular and molecular events. *Dermatol Surg.* 31: 674 –686
35. Ennis, W.J., Meneses, P., (2000), Wound healing at the local level: the stunned wound. *Ostomy Wound Manage.* 46(1A suppl): 39S – 48S
36. Tziotzios, C., Profyris, C., Sterling, J., (2012), Cutaneous scarring: pathophysiology, molecular mechanisms, and scar reduction therapeutics. *J Am Acad Dermatol.* 66: 13–24
37. Profyris, C., Tziotzios, C., Do Vale, I., (2012), Cutaneous scarring: pathophysiology, molecular mechanisms, and scar reduction therapeutics. *J Am Acad Dermatol.* 66: 1–10.
38. Greenhalgh, D.G., (2005), Models of wound healing. *J Burn Care Rehabil.* 26:293–305.
39. Reinke, J.M., Sorg, H., (2012), Wound repair and regeneration., *EurSurg Res.* 49(1):35
40. Γιαννακοπούλου, Ε. (2009). Οξειδωτικό stress – αντιοξειδωτικοί μηχανισμοί: Κλινική σημασία. *ΑΡΧΕΙΑ ΕΛΛΗΝΙΚΗΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ.* 26 (1), p23-35.
41. Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C, (1989). *Free Radicals in Biology and Medicine*, 2nd edn. Clarendon Press, Oxford, UK.
42. Palmer, D.M., Kitchin, J.S., (2010), Oxidative damage, skin aging, antioxidants and a novel antioxidant rating system, *J Drugs Dermatol.* 9(1):11-5.
43. Dröge Wulf, (2001) “Free Radicals in the Physiological Control of Cell Function”, American physiological society,
44. Niwa, Y., Kanon, T., Sakane, T., Soh, H., Kawai, S., Miyachi, Y., (1987), The ratio of lipid peroxide to superoxide dismutase activity in the skin lesions of patients with severe skin diseases: An accurate prognostic indicator. *Life Sci.* 40, 921-927
45. Niwa, Y., Kasama, T., Kawai, S., et al., (1988). Effect of aging on lipid peroxide levels and superoxide dismutase activity in guinea pigs and patients with burns. *Life Sci.* 42, 351-356
46. Wlaschek, M., Scharffetter-Kochanek, K., (2005), Oxidative stress in chronic venous leg ulcers. *Wound Repair Regen.* 13:452–61.
47. Sen, C.K., Roy, S., (2008), Redox Signals in Wound Healing, *BiochimBiophysActa.* 1780(11):1348-61.
48. Clark, R.A.F., (1996), Wound repair: overview and general considerations. Plenum Press. 3–50.
49. Roy, S., Khanna, S., Nallu, K., Hunt, T.K., Sen, C.K., (2006), Dermal wound healing is subject to redox control. *MolTher.* 13:211–20.
50. Schäfer, M., Werner, S., (2008), Oxidative stress in normal and impaired wound repair., *Pharmacol Res.* 58(2):165-71.
51. Bedard, K., Krause, K.H., (2007), The nox family of ros-generating nadph oxidases: physiology and pathophysiology. *Physiol Rev.* 87:245–313.



52. Sies, H., (1991), Oxidative stress: from basic research to clinical application. *Am J Med.* 91:31S–8S.
53. Haddad, J.J., Saade, N.E., Safieh-Garabedian, B., (2002), Redox regulation of TNF- $\alpha$  biosynthesis: augmentation by irreversible inhibition of gamma-glutamylcysteine synthetase and the involvement of an IkappaB- $\alpha$ /NF-kappaB-independent pathway in alveolar epithelial cells. *Cellular Signalling.* 14:211–8.
54. Schäfer, M., Werner, S., (2008), Oxidative stress in normal and impaired wound repair., *Pharmacol Res.* 58(2):165-71.
55. Shukla, A., Rasik, A.M., Dhawan, B.N., (1999), Asiaticoside-induced elevation of antioxidant levels in healing wounds., *Phytother Res.* 13(1):50-4.
56. Tamer Fouad, M.D. “Antioxidants, nature and chemistry”
57. Schiller, G. (2014). Therapeutic Use of Aleppo Pine (*Pinus halepensis* Mill.). In: Yaniv, Z., Dudai, N Medicinal and Aromatic Plants of the Middle-East. Natherlands: Springer Netherlands p215-224.
58. Fekih, N., Allali, H., Merghache, S., Chaïb, F., Merghache, D., El Amine, M., Djabou, N., Muselli, A., Tabti, B., Costa, J. (2014). Chemical composition and antibacterial activity of *Pinus halepensis* Miller growing in West Northern of Algeria. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease.* 4 (2), p97–103.
59. Voulgaridis E., Grigoriou A., Passialis C., Investigations on bark extractives of *Pinus halepensis* Mill
60. Fuentes, J.L., Vernhe, M., Cuetara, E.B., Sánchez-Lamar, A., Santana, J.L., Llagostera, M., (2006) Tannins from barks of *Pinus caribaea* protect *Escherichia coli* cells against DNA damage induced by  $\gamma$ -rays. *Fitoterapia* 77, 116–120.
61. Kozan, E., Kupeli, E., Yesilada, E., 2006. Evaluation of some plants used in Turkish folk medicine against parasitic infections for their in vivo anthelmintic activity. *J.Ethnopharmacol.* 108, 211–216.
62. Zoumpliou, V., Stamatadi, M., Vassiliadis, C., Rallis, M., Papaioannou, G., Liakos, S., Angelou, A., Daskalaki, S., Kyriazi, M., Roussis, V., Vagias, C., 2014. Effect of cigarette smoke on diabetic skin and protection with topical administration of *Pinus halepensis* extract. *Am. J. Plant Sci.* 5, 3964–3973.
63. Suntar, I., Tumen, I., Ustun, O., Keles, H., Akkol, E.K., 2012. Appraisal on the wound healing and anti-inflammatory activities of the essential oils obtained from the cones and needles of *Pinus* species by in vivo and in vitro experimental models. *J.Ethnopharmacol.* 139, 533–540
64. Guri A, Kefalas P, Roussis V. Antioxidant potential of six pine species. *Phytother Res.* 2006 Apr;20(4):263-6.
65. Petri A, Alexandratou E, Kyriazi M, Rallis M, Roussis V, Yova D. Combination of Fospeg- IPDT and a natural antioxidant compound prevents photosensitivity in amurineprostatecancer tumour model. *Photodiagnosis Photodyn Ther.* 2012 Jun;9 (2):100-8.
66. Jerez, M., Sineiro, J., Guitian, E., Nunez, M.J., 2009. Identification of polymeric procyanidins from pine bark by mass spectrometry. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 23, 4013–4018.
67. Yesil-Celiktas Ozlem, Ganzera Markus, Akgun Ismail, Sevimli Canan, Korkmaz Kemal, Bedira Erdal Determination of polyphenolic constituents and biological activities of bark extracts from different *Pinus* species *J Sci Food Agric* 2009; 89: 1339–1345
68. Aminimoghadamfarouj, N., Nematollahi, A., 2017. Propolis diterpenes as a remarkable bio-source for drug discovery development: a review. *Int. J. Mol. Sci.* 18, 1290.
69. Yumnam, R., Nandan, N., Kumar, N., Raj, S., Mannepalli, A., 2017. Effect of propolis in oral health. *J. Ayurveda Integr. Med. Sci.* 2, 186–192 (ISSN 2456-3110).
70. Syed Ishtiaq Anjum, Amjad Ullah, Khalid Ali Khan, Mohammad Attaullah, Hikmatullah Khan, Hussain Ali, Muhammad Amjad Bashir, Muhammad Tahir, Mohammad Javed Ansari, Hamed A. Ghramh, Nuru Adgaba, Chandra Kanta Dash, Composition and functional properties of propolis (bee glue): A review
71. Bankova V., Popova M., Bogdanov S., Sabatini A.(2002) Chemical composition of European propolis: Expected and unexpected results *Zetschrift fur Naturforschung- Section C Journal of Biosciences*, 53(5-6)402-406

72. AL-Waili, N., Al-Ghamdi, A., Ansari, M.J., Al-Attal, Y., Salom, K., 2012. Synergistic effects of honey and propolis toward drug multi-resistant *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Candida albicans* isolates in single and polymicrobial cultures. *Int. J. Med. Sci.* 9, 793
73. Kasiotis, K.M., Anastasiadou, P., Papadopoulos, A., Machera, K., 2017. Revisiting Greek Propolis: chromatographic Analysis and Antioxidant Activity Study. *PLoS ONE* 12, e0170077
74. Kujumgiev, A., Tsvetkova, I., Serkedjieva, Y., Bankova, V., Christov, R., Popov, S., 1999. Antibacterial, antifungal and antiviral activity of propolis of different geographic origin. *J. Ethnopharmacol.* 64, 235–240.
75. Kuropatnicki, A.K., Szliszka, E., Krol, W., 2013. Historical aspects of propolis research in modern times. *Evidence-Based Complement. Alternat. Med.*
76. Martin, M.P., Pileggi, R., 2004. A quantitative analysis of Propolis: a promising new storage media following avulsion. *Dent. Traumatol.* 20, 85–89.
77. Sforcin, J., Fernandes, A., Lopes, C., Bankova, V., Funari, S., 2000. Seasonal effect on Brazilian propolis antibacterial activity. *J. Ethnopharmacol.* 73, 243–249.
78. Silici, S., Kutluca, S., 2005. Chemical composition and antibacterial activity of propolis collected by three different races of honeybees in the same region. *J. Ethnopharmacol.* 99, 69–73.
79. Acikelli, A.H., Gustmann, S., Bardenheuer, W., Klein, J., Dembinski, U., Kohl, B., Yip, K. T., Nazif, A., Stoll, R., Strumberg, D., 2013. Flavonoids isolated from Caribbean propolis show cytotoxic activity in human cancer cell lines. *Int. J. Clin. Pharmacol. Ther.* 51, 51–53.
80. Aghel, S., Pouramir, M., Moghadamnia, A.A., Moslemi, D., Molania, T., Ghassemi, L., Motallebnejad, M., 2014. Effect of Iranian propolis on salivary total antioxidant capacity in gamma-irradiated rats. *J. Dent. Res. Dent. Clin. Dent. Prospect.* 8, 235.
81. AL-Waili, N., Al-Ghamdi, A., Ansari, M.J., Al-Attal, Y., Salom, K., 2012. Synergistic effects of honey and propolis toward drug multi-resistant *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Candida albicans* isolates in single and polymicrobial cultures. *Int. J. Med. Sci.* 9, 793.
82. Alvareda, E., Miranda, P., Espinosa, V., Pardo, H., Aguilera, S., Paulino Zunini, M., 2015. 196 Antiinflammatory activity of phenolic compounds extracted from Uruguayan propolis and grape. *J. Biomol. Struct. Dyn.* 33, 129–129.
83. Franchin, M., Cólón, D.F., Castanheira, F.V., da Cunha, M.G., Bueno-Silva, B., Alencar, S.M., Cunha, T.M., Rosalen, P.L., 2016. Vestitol isolated from Brazilian red propolis inhibits neutrophils migration in the inflammatory process: elucidation of the mechanism of action. *J. Nat. Prod.* 79, 954–960.
84. Martinotti, S., Ranzato, E., 2015. Propolis: a new frontier for wound healing? *Burns Trauma* 3, 9
85. Beachley, V., Wen, X. (2010). Polymer nanofibrous structures: Fabrication, biofunctionalization, and cell interactions. *Progress in Polymer Science*, 35, p868–892.
86. Lim, E-H., Sardinha, J.P., Myers, S. (2013). Nanotechnology Biomimetic Cartilage Regenerative Scaffolds. *Arch. Plast. Surg.*, 2014, 41(3), p231-240.
87. Greiner A. & Wendorff J. H. Electrospinning: A Fascinating Method for the Preparation of Ultrathin Fibers. *Angew. Chem. Int. Edit.*, 2007, 46, 5670-5703
88. Li D. and Xia Y. Electrospinning of nanofibers: Reinventing the wheel?. *Adv. Mater.*, 2004, 16, 1151-1170..
89. Valarezo Valdez, B.E. (2013). *Innovative processes for the production of new nanocomposite materials by electrospinning technique*. Ph.D. University of Salerno.
90. Huang C., Soenen S. J., Rejman J., Lucas B., Braeckmans K., Demeester J., De Smedt S. C. Stimuli-responsive electrospun fibers and their applications. *Chem. Soc. Rev.*, 2011, 40, 2417-2434.
91. Subbiah T., Bhat G. S., Tock R. W., Parameswaran S., Ramkumar S. S. Electrospinning of Nanofibers. *J. Appl. Polym. Sci.*, 2005, 96, 557-569.

92. Bhardwaj N., Kundu S. C. Electrospinning: A fascinating fiber fabrication technique. *Biotechnol. Adv.*, 2010, 28, 325-347.
93. Jun, Z., Hou, H., Schaper, A., Wendorff, J.H. Greiner A. (2003). Poly-L-lactide nanofibers by electrospinning — influence of solution viscosity and electrical conductivity on fiber diameter and fiber morphology. *e-Polym*, 9, p1–9.
94. Li Z. & Wang C. *One-Dimensional nanostructures: Electrospinning Technique and Unique Nanofibers*, Berlin, Springer Berlin Heidelberg, 2013, 15-28.
95. Vacanti, N. (2010). Investigation of Electrospun Fibrous Scaffolds, Locally Delivered Anti-inflammatory Drugs, and Neural Stem Cells for Promoting Nerve Regeneration. MSc. Massachusetts Institute of Technology.
96. Baji A., Mai Y.-W., Wong S.-C., Abtahi M., Chen P. Electrospinning of polymer nanofibers: Effects on oriented morphology, structures and tensile properties. *Compos. Sci. Technol.*, 2010, 70, 703-718.
97. Kim S. W., Han S. O., Sim I N., Cheon Y. J., Park W. H. Fabrication and characterization of cellulose acetate/montmorillonite composite nanofibers by electrospinning. *J. Nanomater.*, 2015, 2015, 1-8.
98. Wang X., Ding B., Sun G., Wang M., Yu J. Electro-spinning/netting: A strategy for the fabrication of three-dimensional polymer nano-fiber/nets. *Prog. Mater. Sci.*, 2013, 58,1173-1243.
99. Fan, L., Cao, M., Gao, S., Wang, T., Wu, H., Peng, M., Zhou, X., Nie, M.. (2013). Preparation and characterization of sodium alginate modified with collagen peptides.. *Carbohydr. Polym.* 93 (2), p380-385.
100. Ionita, M., Pandeale, A.M., Iovu, H.. (2013). Sodium alginate/graphene oxide composite films with enhanced thermal and mechanical properties. *Carbohydrate Polymers*. 94 (1), p339-344.
101. Nair L. S. & Laurencin C. T. (2007), Biodegradable polymers as biomaterials. *Prog. Polym. Sci.*32, p762-798.
102. Gökmeşe F., Uslu İ., Aytimur A. Preparation and characterization of PVA/PVP nanofibers as promising materials for wound dressing. *Polym-Plast Technol. Eng.*, 2013, 52, 1259-1265.
103. Sheree, E. Cross, (2008), Topical Therapeutic Agents Used in Wound Care, in book: Kenneth A. Walters, Michael S. Roberts, *Dermatologic, Cosmeceutic, and Cosmetic Development, Therapeutic and Novel Approaches*, Informa Healthcare USA, Inc, New York, London
104. Κοτσαμπασάκης Στέλιος, Μπαλτόπουλος Γεώργιος, Εγκαύματα, Αρχές και Πρακτική της αντιμετώπισης των εγκαυμάτων, Ιατρικές Εκδόσεις Π.Χ Πασχαλίδης. Αθήνα 2005
105. Zahedi Payam, Rezaeian Iraj, Seyed-Omid Ranaei-Siadat, Seyed-Hassan Jafari and Pitt Supaphol (2010) A review on wound dressings with an emphasis on electrospun nanofibrous polymeric bandages *Polym. Adv. Technol.*21, p77–95
106. Yu, D-G., Zhu, L-M., White, K., Branford-White, C. (2009). Electrospun nanofiber-based drug delivery systems. *Health*. 1 (2), p67-75.
107. Weng, L., Xie, J.(2017). Smart Electrospun Nanofibers for Controlled Drug Release: Recent Advances and New Perspectives. *Curr Pharm Des.* 21 (15), p1944–1959
108. Sutjarittangtham K., Tragoolpua Y., Tankasirl T., Chantawannakul P., Intatha U. and Eitssayeam S. The Preparation of Electrospun Fiber Mats Containing Propolis Extract/ CL-CMS for Wound Dressing and Cytotoxicity, Antimicrobial, Anti-Herpes Simplex Virus. *J.Comput.Theor Nanosci* 2015, Vol12 No 5.
109. Jeong In Kim, HemRaj Pant, Hyun-Jaung Sim, Kang Min Lee, Cheol Sang Kim Electrospun propolis/polyurethane composite nanofibers for biomedical applications *Materials Science and Engineering C* 44 (2014) 52–57
110. Sarhan Wessam A & Azzazy Hassan ME, Apitherapeutics and phage-loaded nanofibers as wound dressings with enhanced wound healing and antibacterial activity *Nanomedicine (Lond.)* (2017) 12(17), 2055–2067

# ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Ι

## Πείραμα Φλεγμονής

ΗΜΕΡΑ 1<sup>η</sup> (πριν την ακτινοβόληση)

ΟΜΑΔΑ 1 ΓΑΖΑ	ΠΑΧΟΣ	ΕΡΥΘΗΜΑ	ΕΝΥΔΑΤΩΣΗ	ΣΜΗΓΜΑ	ΑΔΗΛΗ ΑΠΩΛΕΙΑ
ΠΟΝΤΙΚΙ 1	0,61	248	67,00	3	16,0
ΠΟΝΤΙΚΙ 2	0,62	261	47,67	5	16,5
ΠΟΝΤΙΚΙ 3	0,62	281	72,67	5	14,9
ΠΟΝΤΙΚΙ 4	0,55	236	58,67	3	14,0
ΠΟΝΤΙΚΙ 5	0,64	283	67,00	4	15,6
ΠΟΝΤΙΚΙ 6	0,48	259	60,33	4	13,8
ΠΟΝΤΙΚΙ 7	0,59	235	54,33	5	14,5
ΠΟΝΤΙΚΙ 8	0,53	216	52,00	2	9,1
<b>AVERAGE</b>	0,58	252	59,96	4	14,3
<b>STDEV</b>	0,06	23	8,52	1	2,3
<b>ΟΜΑΔΑ 2 (C.A. PEO(7M))</b>					
ΠΟΝΤΙΚΙ 1	0,54	235	51,67	5	13,9
ΠΟΝΤΙΚΙ 2	0,63	231	59,67	4	18,7
ΠΟΝΤΙΚΙ 3	0,56	257	59,33	2	17,3
ΠΟΝΤΙΚΙ 4	0,53	208	58,00	5	10,7
ΠΟΝΤΙΚΙ 5	0,46	267	55,00	3	16,0
ΠΟΝΤΙΚΙ 6	0,50	226	58,00	2	8,0
ΠΟΝΤΙΚΙ 7	0,45	270	55,33	5	15,0
ΠΟΝΤΙΚΙ 8	0,54	268	56,67	2	15,7
<b>AVERAGE</b>	0,53	245	56,71	4	14,4
<b>STDEV</b>	0,06	23	2,65	1	3,5
<b>ΟΜΑΔΑ 3 (C.A. PEO(7M), SA)</b>					
ΠΟΝΤΙΚΙ 1	0,51	253	32,67	1	10,7
ΠΟΝΤΙΚΙ 2	0,53	232	62,67	1	12,6
ΠΟΝΤΙΚΙ 3	0,54	223	61,00	5	13,5
ΠΟΝΤΙΚΙ 4	0,59	268	57,00	5	16,1
ΠΟΝΤΙΚΙ 5	0,58	216	70,00	4	14,2
ΠΟΝΤΙΚΙ 6	0,52	250	60,67	3	16,6
ΠΟΝΤΙΚΙ 7	0,49	241	65,33	4	12,3
ΠΟΝΤΙΚΙ 8	0,51	237	61,00	1	14,0
<b>AVERAGE</b>	0,53	240	58,79	3	13,8
<b>STDEV</b>	0,04	17	11,23	2	2,0
<b>ΟΜΑΔΑ 4 (15.1%PINUS ,C.A. PEO(7M), SA)</b>					
ΠΟΝΤΙΚΙ 1	0,62	225	68,33	3	15,0
ΠΟΝΤΙΚΙ 2	0,61	275	58,33	3	16,9

ΠΟΝΤΙΚΙ 3	0,65	189	52,00	2	13,4
ΠΟΝΤΙΚΙ 4	0,53	220	53,67	3	14,3
ΠΟΝΤΙΚΙ 5	0,52	293	55,33	1	16,6
ΠΟΝΤΙΚΙ 6	0,59	254	52,33	5	16,1
ΠΟΝΤΙΚΙ 7	0,57	369	52,00	4	15,1
ΠΟΝΤΙΚΙ 8	0,53	234	44,00	4	18,8
<b>AVERAGE</b>	<b>0,58</b>	<b>257</b>	<b>54,50</b>	<b>3</b>	<b>15,8</b>
<b>STDEV</b>	<b>0,05</b>	<b>56</b>	<b>6,92</b>	<b>1</b>	<b>1,7</b>
<b>ΟΜΑΔΑ 5 (26.2%PINUS ,C.A. PEO(7M), SA)</b>					
ΠΟΝΤΙΚΙ 1	0,62	255	59,00	2	15,7
ΠΟΝΤΙΚΙ 2	0,55	205	61,33	1	10,7
ΠΟΝΤΙΚΙ 3	0,65	207	52,00	4	15,3
ΠΟΝΤΙΚΙ 4	0,57	254	60,00	3	13,7
ΠΟΝΤΙΚΙ 5	0,63	274	55,00	3	13,3
ΠΟΝΤΙΚΙ 6	0,56	204	52,33	4	14,2
ΠΟΝΤΙΚΙ 7	0,55	202	57,67	4	11,6
ΠΟΝΤΙΚΙ 8	0,46	226	60,67	4	11,9
<b>AVERAGE</b>	<b>0,57</b>	<b>228</b>	<b>57,25</b>	<b>3</b>	<b>13,3</b>
<b>STDEV</b>	<b>0,06</b>	<b>29</b>	<b>3,70</b>	<b>1</b>	<b>1,8</b>

## ΗΜΕΡΑ 2<sup>η</sup>

<b>ΟΜΑΔΑ 1 (ΓΑΖΑ)</b>	<b>ΠΑΧΟΣ</b>	<b>ΕΡΥΘΗΜΑ</b>	<b>ΕΝΥΔΑΤΩΣΗ</b>	<b>ΣΜΗΓΜΑ</b>	<b>ΑΛΗΛΗ ΑΠΩΛΕΙΑ</b>
ΠΟΝΤΙΚΙ 1	0,83	292	54,67	2	18,7
ΠΟΝΤΙΚΙ 2	0,99	283	74,33	8	93,2
ΠΟΝΤΙΚΙ 3	0,91	349	65,67	3	85,0
ΠΟΝΤΙΚΙ 4	0,83	270	78,00	4	52,3
ΠΟΝΤΙΚΙ 5	0,94	288	61,33	7	22,0
ΠΟΝΤΙΚΙ 6	0,97	263	61,33	2	19,3
ΠΟΝΤΙΚΙ 7	1,00	276	73,67	2	19,8
ΠΟΝΤΙΚΙ 8	0,82	237	74,67	4	49,6
<b>AVERAGE</b>	<b>0,91</b>	<b>282</b>	<b>67,96</b>	<b>4</b>	<b>45,0</b>
<b>STDEV</b>	<b>0,08</b>	<b>32</b>	<b>8,36</b>	<b>2</b>	<b>30,5</b>
<b>ΟΜΑΔΑ 2 (C.A. PEO(7M))</b>					
ΠΟΝΤΙΚΙ 1	0,82	223	65,67	1	83,2
ΠΟΝΤΙΚΙ 2	0,97	238	55,33	4	20,1
ΠΟΝΤΙΚΙ 3	0,72	212	63,33	2	18,3
ΠΟΝΤΙΚΙ 4	0,85	237	71,00	1	20,2
ΠΟΝΤΙΚΙ 5	1,05	270	53,00	1	18,9
ΠΟΝΤΙΚΙ 6	0,86	179	72,67	8	15,4
ΠΟΝΤΙΚΙ 7	1,02	325	73,67	7	18,6
ΠΟΝΤΙΚΙ 8	0,90	270	53,00	6	19,7

<b>AVERAGE</b>	0,90	244	63,46	4	26,8
<b>STDEV</b>	0,11	44	8,75	3	22,8
<b>ΟΜΑΔΑ 3 (C.A. ΡΕΟ(7Μ), SA)</b>					
ΠΟΝΤΙΚΙ 1	1,14	224	64,67	4	15,6
ΠΟΝΤΙΚΙ 2	1,03	232	67,00	4	4,6
ΠΟΝΤΙΚΙ 3	0,94	242	51,67	4	24,3
ΠΟΝΤΙΚΙ 4	0,79	265	44,67	6	19,4
ΠΟΝΤΙΚΙ 5	1,06	233	70,00	7	17,7
ΠΟΝΤΙΚΙ 6	0,73	260	63,00	1	16,0
ΠΟΝΤΙΚΙ 7	0,82	234	73,00	6	24,3
ΠΟΝΤΙΚΙ 8	0,88	248	65,67	4	16,5
<b>AVERAGE</b>	0,92	242	62,46	5	17,3
<b>STDEV</b>	0,14	14	9,54	2	6,2
<b>ΟΜΑΔΑ 4 (15.1%PINUS ,C.A. ΡΕΟ(7Μ), SA)</b>					
ΠΟΝΤΙΚΙ 1	0,89	201	49,00	3	15,2
ΠΟΝΤΙΚΙ 2	1,00	278	59,67	3	39,8
ΠΟΝΤΙΚΙ 3	1,00	312	87,00	11	107,6
ΠΟΝΤΙΚΙ 4	1,05	245	64,67	2	46,0
ΠΟΝΤΙΚΙ 5	1,04	319	47,67	3	39,7
ΠΟΝΤΙΚΙ 6	0,97	249	71,00	3	22,0
ΠΟΝΤΙΚΙ 7	1,02	209	59,00	2	44,5
ΠΟΝΤΙΚΙ 8	0,63	230	58,00	8	28,3
<b>AVERAGE</b>	0,95	255	62,00	4	42,9
<b>STDEV</b>	0,14	44	12,64	3	28,4
<b>ΟΜΑΔΑ 5 (26.2%PINUS ,C.A. ΡΕΟ(7Μ), SA)</b>					
ΠΟΝΤΙΚΙ 1	1,05	256	57,00	2	19,3
ΠΟΝΤΙΚΙ 2	0,84	203	74,67	6	81,3
ΠΟΝΤΙΚΙ 3	1,11	246	58,33	3	21,0
ΠΟΝΤΙΚΙ 4	0,91	239	60,33	2	30,4
ΠΟΝΤΙΚΙ 5	1,11	232	54,00	2	14,4
ΠΟΝΤΙΚΙ 6	0,93	232	53,00	5	22,3
ΠΟΝΤΙΚΙ 7	0,90	237	68,00	5	33,8
ΠΟΝΤΙΚΙ 8	1,11	245	72,33	5	48,0
<b>AVERAGE</b>	1,00	236	62,21	4	33,8
<b>STDEV</b>	0,11	16	8,36	2	21,9

#### ΗΜΕΡΑ 4<sup>η</sup>

<b>ΟΜΑΔΑ 1 (ΓΑΖΑ)</b>	<b>ΠΑΧΟΣ</b>	<b>ΕΡΥΘΗΜΑ</b>	<b>ΕΝΥΔΑΤΩΣΗ</b>	<b>ΣΜΗΓΜΑ</b>	<b>ΑΔΗΛΗ ΑΠΩΛΕΙΑ</b>
ΠΟΝΤΙΚΙ 1	1,56	291	99,67	2	108,6
ΠΟΝΤΙΚΙ 2	1,98	381	98,00	3	89,9
ΠΟΝΤΙΚΙ 3	1,51	283	91,00	3	81,0

ΠΟΝΤΙΚΙ 4	2,00	333	96,67	6	105,9
ΠΟΝΤΙΚΙ 5	1,31	333	98,33	4	119,9
ΠΟΝΤΙΚΙ 6	1,34	347	98,00	5	118,9
ΠΟΝΤΙΚΙ 7	1,56	301	87,33	1	62,2
ΠΟΝΤΙΚΙ 8	1,29	318	92,33	2	74,9
<b>AVERAGE</b>	1,57	323	95,17	3	95,2
<b>STDEV</b>	0,28	32	4,40	2	21,4
<b>ΟΜΑΔΑ 2 (C.A. PEO(7M))</b>					
ΠΟΝΤΙΚΙ 1	1,42	317	73,00	1	74,3
ΠΟΝΤΙΚΙ 2	1,10	351	88,33	2	86,5
ΠΟΝΤΙΚΙ 3	1,43	325	99,33	4	112,3
ΠΟΝΤΙΚΙ 4	1,40	255	97,00	6	117,7
ΠΟΝΤΙΚΙ 5	1,49	304	87,00	1	102,6
ΠΟΝΤΙΚΙ 6	1,09	275	58,33	2	39,1
ΠΟΝΤΙΚΙ 7	1,35	311	82,00	1	101,3
ΠΟΝΤΙΚΙ 8	1,04	309	67,67	2	82,3
<b>AVERAGE</b>	1,29	306	81,58	2	89,5
<b>STDEV</b>	0,18	30	14,32	2	25,2
<b>ΟΜΑΔΑ 3 (C.A. PEO(7M), SA)</b>					
ΠΟΝΤΙΚΙ 1	1,04	313	91,67	7	125,5
ΠΟΝΤΙΚΙ 2	1,15	372	91,00	6	80,5
ΠΟΝΤΙΚΙ 3	1,57	311	91,33	9	102,3
ΠΟΝΤΙΚΙ 4	0,95	294	81,33	6	105,2
ΠΟΝΤΙΚΙ 5	1,59	300	100,33	8	77,0
ΠΟΝΤΙΚΙ 6	1,01	349	80,67	8	81,8
ΠΟΝΤΙΚΙ 7	1,01	302	95,33	4	78,7
ΠΟΝΤΙΚΙ 8	0,87	332	99,33	5	59,4
<b>AVERAGE</b>	1,15	322	91,38	7	88,8
<b>STDEV</b>	0,28	27	7,32	2	20,8
<b>ΟΜΑΔΑ 4 (15.1%PINUS ,C.A. PEO(7M), SA)</b>					
ΠΟΝΤΙΚΙ 1	0,91	205	77,67	5	54,3
ΠΟΝΤΙΚΙ 2	1,43	352	70,00	0	61,9
ΠΟΝΤΙΚΙ 3	1,22	286	89,33	1	104,1
ΠΟΝΤΙΚΙ 4	1,38	336	76,33	1	91,3
ΠΟΝΤΙΚΙ 5	1,15	370	88,00	6	100,7
ΠΟΝΤΙΚΙ 6	0,94	320	59,67	2	42,3
ΠΟΝΤΙΚΙ 7	1,25	312	58,67	1	82,4
ΠΟΝΤΙΚΙ 8	1,22	274	80,67	2	46,7
<b>AVERAGE</b>	1,19	307	75,04	2	73,0
<b>STDEV</b>	0,19	52	11,60	2	24,7
<b>ΟΜΑΔΑ 5 (26.2%PINUS ,C.A. PEO(7M), SA)</b>					

ΠΟΝΤΙΚΙ 1	1,52	370	93,33	2	36,8
ΠΟΝΤΙΚΙ 2	1,25	298	85,67	0	59,7
ΠΟΝΤΙΚΙ 3	1,60	295	89,33	1	57,8
ΠΟΝΤΙΚΙ 4	1,20	336	79,33	2	71,7
ΠΟΝΤΙΚΙ 5	0,63	309	62,33	2	39,5
ΠΟΝΤΙΚΙ 6	1,36	242	71,67	3	71,2
ΠΟΝΤΙΚΙ 7	1,52	281	85,67	1	95,0
ΠΟΝΤΙΚΙ 8	1,12	285	58,67	2	32,6
<b>AVERAGE</b>	1,28	302	78,25	2	58,0
<b>STDEV</b>	0,31	38	12,77	1	21,3

### ΗΜΕΡΑ 7<sup>η</sup>

<b>ΟΜΑΔΑ 1 (ΓΑΖΑ)</b>	<b>ΠΑΧΟΣ</b>	<b>ΕΡΥΘΗΜΑ</b>	<b>ΕΝΥΔΑΤΩΣΗ</b>	<b>ΣΜΗΓΜΑ</b>	<b>ΑΔΗΛΗ ΑΠΩΛΕΙΑ</b>
ΠΟΝΤΙΚΙ 1	1,50	362	87,67	2	86,7
ΠΟΝΤΙΚΙ 2	1,73	404	85,00	4	54,4
ΠΟΝΤΙΚΙ 3	1,40	339	85,33	0	92,9
ΠΟΝΤΙΚΙ 4	1,47	322	94,33	2	95,8
ΠΟΝΤΙΚΙ 5	1,73	359	87,67	1	93,2
ΠΟΝΤΙΚΙ 6	1,60	355	86,67	1	93,2
ΠΟΝΤΙΚΙ 7	1,51	374	74,33	0	74,2
ΠΟΝΤΙΚΙ 8	1,21	479	91,33	1	81,3
<b>AVERAGE</b>	1,52	374	86,54	1	84,0
<b>STDEV</b>	0,17	49	5,84	1	14,0
<b>ΟΜΑΔΑ 2 (C.A. ΡΕΟ(7Μ))</b>					
ΠΟΝΤΙΚΙ 1	1,75	364	86,67	1	92,0
ΠΟΝΤΙΚΙ 2	1,98	397	72,33	10	76,6
ΠΟΝΤΙΚΙ 3	2,00	375	87,67	0	76,7
ΠΟΝΤΙΚΙ 4	1,92	355	70,67	2	64,7
ΠΟΝΤΙΚΙ 5	1,59	429	92,00	1	86,8
ΠΟΝΤΙΚΙ 6	0,89	252	75,67	1	42,1
ΠΟΝΤΙΚΙ 7	1,35	339	89,00	2	78,8
ΠΟΝΤΙΚΙ 8	1,20	314	81,00	2	77,4
<b>AVERAGE</b>	1,59	353	81,88	2	74,4
<b>STDEV</b>	0,41	54	8,16	3	15,3
<b>ΟΜΑΔΑ 3 (C.A. ΡΕΟ(7Μ), SA)</b>					
ΠΟΝΤΙΚΙ 1	1,15	394	86,67	1	98,1
ΠΟΝΤΙΚΙ 2	1,30	343	68,33	1	62,8
ΠΟΝΤΙΚΙ 3	1,80	305	87,00	2	75,8
ΠΟΝΤΙΚΙ 4	1,71	367	64,33	1	69,7
ΠΟΝΤΙΚΙ 5	1,91	363	76,67	2	70,4
ΠΟΝΤΙΚΙ 6	1,36	419	77,67	2	71,1
ΠΟΝΤΙΚΙ 7	1,46	514	92,00	1	71,3
ΠΟΝΤΙΚΙ 8	1,36	320	94,67	2	78,4



<b>AVERAGE</b>	1,51	378	80,92	2	74,7
<b>STDEV</b>	0,27	66	10,98	1	10,5
<b>ΟΜΑΔΑ 4 (15.1%PINUS ,C.A. PEO(7M), SA)</b>					
ΠΟΝΤΙΚΙ 1	1,37	302	82,00	1	72,1
ΠΟΝΤΙΚΙ 2	1,22	370	70,67	3	50,7
ΠΟΝΤΙΚΙ 3	1,56	350	87,00	0	74,6
ΠΟΝΤΙΚΙ 4	1,78	397	83,00	4	87,5
ΠΟΝΤΙΚΙ 5	1,42	375	78,33	0	65,5
ΠΟΝΤΙΚΙ 6	0,93	346	77,00	1	42,2
ΠΟΝΤΙΚΙ 7	1,15	352	82,67	1	68,9
ΠΟΝΤΙΚΙ 8	1,27	280	73,00	1	59,7
<b>AVERAGE</b>	1,34	347	79,21	1	65,2
<b>STDEV</b>	0,26	38	5,50	1	14,2
<b>ΟΜΑΔΑ 5 (26.2%PINUS ,C.A. PEO(7M), SA)</b>					
ΠΟΝΤΙΚΙ 1	1,73	501	85,33	1	78,8
ΠΟΝΤΙΚΙ 2	1,48	333	93,33	1	82,0
ΠΟΝΤΙΚΙ 3	1,67	381	92,00	1	75,4
ΠΟΝΤΙΚΙ 4	1,06	380	68,00	1	44,2
ΠΟΝΤΙΚΙ 5	0,77	321	65,33	2	28,5
ΠΟΝΤΙΚΙ 6	1,27	374	76,67	0	74,3
ΠΟΝΤΙΚΙ 7	1,25	354	87,67	2	90,7
ΠΟΝΤΙΚΙ 8	0,90	279	78,33	1	43,2
<b>AVERAGE</b>	1,27	365	80,83	1	64,6
<b>STDEV</b>	0,35	65	10,53	1	22,6

#### ΗΜΕΡΑ 10<sup>η</sup>

<b>ΟΜΑΔΑ 1 (ΓΑΖΑ)</b>	<b>ΠΑΧΟΣ</b>	<b>ΕΡΥΘΗΜΑ</b>	<b>ΕΝΥΔΑΤΩΣΗ</b>	<b>ΣΜΗΓΜΑ</b>	<b>ΑΛΗΛΗ ΑΠΩΛΕΙΑ</b>
ΠΟΝΤΙΚΙ 1	1,01	266	41,67	2	103,8
ΠΟΝΤΙΚΙ 2	1,76	374	38,33	1	105,1
ΠΟΝΤΙΚΙ 3	1,05	273	59,00	2	73,5
ΠΟΝΤΙΚΙ 4	1,19	330	59,67	3	102,2
ΠΟΝΤΙΚΙ 5	1,50	279	52,67	7	89,4
ΠΟΝΤΙΚΙ 6	1,28	330	66,33	1	99,9
ΠΟΝΤΙΚΙ 7	1,13	292	71,00	2	62,8
ΠΟΝΤΙΚΙ 8	1,28	238	65,67	5	81,8
<b>AVERAGE</b>	1,28	298	56,79	3	89,8
<b>STDEV</b>	0,25	44	11,78	2	15,8
<b>ΟΜΑΔΑ 2 (C.A. PEO(7M))</b>					
ΠΟΝΤΙΚΙ 1	1,27	248	55,67	2	57,8
ΠΟΝΤΙΚΙ 2	1,68	381	49,67	2	64,2
ΠΟΝΤΙΚΙ 3	1,67	283	52,00	3	88,6

ΠΟΝΤΙΚΙ 4	1,31	348	52,33	1	89,5
ΠΟΝΤΙΚΙ 5	1,40	322	57,67	1	93,1
ΠΟΝΤΙΚΙ 6	0,57	178	62,67	3	38,5
ΠΟΝΤΙΚΙ 7	1,51	272	58,00	1	87,2
ΠΟΝΤΙΚΙ 8	1,06	275	62,33	3	73,3
<b>AVERAGE</b>	1,31	288	56,29	2	74,0
<b>STDEV</b>	0,36	63	4,79	1	19,3
<b>ΟΜΑΔΑ 3 (C.A. PEO(7M), SA)</b>					
ΠΟΝΤΙΚΙ 1	0,94	270	59,00	3	58,4
ΠΟΝΤΙΚΙ 2	0,78	299	69,00	1	100,1
ΠΟΝΤΙΚΙ 3	0,92	367	57,33	1	100,2
ΠΟΝΤΙΚΙ 4	0,94	364	72,00	2	52,1
ΠΟΝΤΙΚΙ 5	1,20	313	18,00	4	68,6
ΠΟΝΤΙΚΙ 6	0,92	234	73,67	2	49,8
ΠΟΝΤΙΚΙ 7	0,99	294	73,33	4	56,9
ΠΟΝΤΙΚΙ 8	0,92	291	57,67	1	54,9
<b>AVERAGE</b>	0,95	304	60,00	2	67,6
<b>STDEV</b>	0,12	45	18,39	1	20,8
<b>ΟΜΑΔΑ 4 (15.1%PINUS ,C.A. PEO(7M), SA)</b>					
ΠΟΝΤΙΚΙ 1	1,26	293	67,67	3	81,7
ΠΟΝΤΙΚΙ 2	0,88	252	66,00	1	48,0
ΠΟΝΤΙΚΙ 3	1,33	252	55,00	3	69,0
ΠΟΝΤΙΚΙ 4	1,45	290	69,33	0	96,2
ΠΟΝΤΙΚΙ 5	1,27	305	64,67	0	91,2
ΠΟΝΤΙΚΙ 6	0,68	191	74,67	3	26,0
ΠΟΝΤΙΚΙ 7	1,38	301	72,00	1	73,9
ΠΟΝΤΙΚΙ 8	0,74	254	69,33	1	76,3
<b>AVERAGE</b>	1,12	267	67,33	2	70,3
<b>STDEV</b>	0,31	38	5,91	1	23,1
<b>ΟΜΑΔΑ 5 (26.2%PINUS ,C.A. PEO(7M), SA)</b>					
ΠΟΝΤΙΚΙ 1	1,44	302	69,33	1	63,5
ΠΟΝΤΙΚΙ 2	0,88	234	77,00	1	59,8
ΠΟΝΤΙΚΙ 3	1,17	315	63,33	1	61,3
ΠΟΝΤΙΚΙ 4	0,86	202	61,00	2	42,1
ΠΟΝΤΙΚΙ 5	0,57	234	77,00	3	24,3
ΠΟΝΤΙΚΙ 6	1,36	234	73,33	1	57,8
ΠΟΝΤΙΚΙ 7	1,04	238	80,67	1	72,3
ΠΟΝΤΙΚΙ 8	0,84	205	67,67	3	20,2
<b>AVERAGE</b>	1,02	246	71,17	2	50,2
<b>STDEV</b>	0,29	41	7,00	1	19,2

ΗΜΕΡΑ 14<sup>η</sup>

ΟΜΑΔΑ 1 (ΓΑΖΑ)	ΠΑΧΟΣ	ΕΡΥΘΗΜΑ	ΕΝΥΔΑΤΩΣΗ	ΣΜΗΓΜΑ	ΛΗΛΗ ΑΠΩΛΕΙΑ
ΠΟΝΤΙΚΙ 1	1,06	294	48,33	2	54,7
ΠΟΝΤΙΚΙ 2	2,30	303	47,33	4	86,6
ΠΟΝΤΙΚΙ 3	1,39	245	50,33	1	34,9
ΠΟΝΤΙΚΙ 4	1,60	325	60,00	4	88,5
ΠΟΝΤΙΚΙ 5	1,38	293	54,67	2	88,1
ΠΟΝΤΙΚΙ 6	1,52	331	61,33	4	79,7
ΠΟΝΤΙΚΙ 7	0,98	249	57,67	2	29,7
ΠΟΝΤΙΚΙ 8	1,55	271	54,67	2	84,3
<b>AVERAGE</b>	1,47	289	54,29	3	68,3
<b>STDEV</b>	0,40	32	5,26	1	24,8
<b>ΟΜΑΔΑ 2 (C.A. ΡΕΟ(7Μ))</b>					
ΠΟΝΤΙΚΙ 1	1,50	265	37,33	1	79,8
ΠΟΝΤΙΚΙ 2	1,83	355	37,67	4	59,7
ΠΟΝΤΙΚΙ 3	1,80	303	47,00	2	86,8
ΠΟΝΤΙΚΙ 4	1,55	284	43,33	2	90,1
ΠΟΝΤΙΚΙ 5	1,95	316	37,00	1	84,8
ΠΟΝΤΙΚΙ 6	0,68	174	41,33	1	19,1
ΠΟΝΤΙΚΙ 7	1,24	284	39,00	1	74,1
ΠΟΝΤΙΚΙ 8	1,45	240	71,33	1	24,5
<b>AVERAGE</b>	1,50	278	44,25	2	64,9
<b>STDEV</b>	0,40	54	11,47	1	28,2
<b>ΟΜΑΔΑ 3 (C.A. ΡΕΟ(7Μ), SA)</b>					
ΠΟΝΤΙΚΙ 1	1,55	348	55,00	0	83,3
ΠΟΝΤΙΚΙ 2	1,30	283	42,00	0	35,9
ΠΟΝΤΙΚΙ 3	1,67	307	63,00	1	78,8
ΠΟΝΤΙΚΙ 4	1,67	236	52,33	2	58,8
ΠΟΝΤΙΚΙ 5	1,26	278	55,33	3	46,4
ΠΟΝΤΙΚΙ 6	1,18	191	45,67	0	22,6
ΠΟΝΤΙΚΙ 7	1,45	243	58,00	1	46,1
ΠΟΝΤΙΚΙ 8	1,20	246	39,67	0	38,7
<b>AVERAGE</b>	1,41	267	51,38	1	51,3
<b>STDEV</b>	0,20	48	8,16	1	21,1
<b>ΟΜΑΔΑ 4 (15.1%PINUS ,C.A. ΡΕΟ(7Μ), SA)</b>					
ΠΟΝΤΙΚΙ 1	1,25	313	51,00	1	48,8
ΠΟΝΤΙΚΙ 2	1,28	204	50,00	0	33,7
ΠΟΝΤΙΚΙ 3	1,55	279	55,33	3	75,4
ΠΟΝΤΙΚΙ 4	1,49	356	45,00	0	95,3
ΠΟΝΤΙΚΙ 5	1,51	331	48,67	0	87,3
ΠΟΝΤΙΚΙ 6	0,79	229	48,33	0	74,9
ΠΟΝΤΙΚΙ 7	1,75	306	61,00	2	109,6

ΠΟΝΤΙΚΙ 8	1,05	255	47,00	0	74,3
<b>AVERAGE</b>	1,33	284	50,79	1	74,9
<b>STDEV</b>	0,31	52	5,13	1	24,4
<b>ΟΜΑΔΑ 5 (26.2%PINUS ,C.A. PEO(7M), SA)</b>					
ΠΟΝΤΙΚΙ 1	1,29	277	72,67	1	81,9
ΠΟΝΤΙΚΙ 2	1,30	282	51,33	1	62,7
ΠΟΝΤΙΚΙ 3	1,27	343	69,67	0	83,7
ΠΟΝΤΙΚΙ 4	1,04	229	66,67	1	28,3
ΠΟΝΤΙΚΙ 5	0,69	251	84,00	3	24,2
ΠΟΝΤΙΚΙ 6	0,96	281	63,33	0	74,6
ΠΟΝΤΙΚΙ 7	1,11	255	57,67	0	45,3
ΠΟΝΤΙΚΙ 8	0,92	228	50,33	1	14,5
<b>AVERAGE</b>	1,07	268	64,46	1	51,9
<b>STDEV</b>	0,21	37	11,34	1	27,5

#### ΗΜΕΡΑ 18<sup>η</sup>

<b>ΟΜΑΔΑ 1 (ΓΑΖΑ)</b>	<b>ΠΑΧΟΣ</b>	<b>ΕΡΥΘΗΜΑ</b>	<b>ΕΝΥΔΑΤΩΣΗ</b>	<b>ΣΜΗΓΜΑ</b>	<b>ΑΛΗΛΗ ΑΠΩΛΕΙΑ</b>
ΠΟΝΤΙΚΙ 1	1,00	315	57,33	1	41,8
ΠΟΝΤΙΚΙ 2	1,68	310	49,67	1	42,8
ΠΟΝΤΙΚΙ 3	1,39	237	34,33	1	28,4
ΠΟΝΤΙΚΙ 4	1,62	295	51,67	1	61,1
ΠΟΝΤΙΚΙ 5	1,54	248	48,00	1	49,1
ΠΟΝΤΙΚΙ 6	1,43	280	56,00	0	43,8
ΠΟΝΤΙΚΙ 7	0,94	229	51,33	1	18,3
ΠΟΝΤΙΚΙ 8	1,00	232	47,33	1	43,1
<b>AVERAGE</b>	1,33	268	49,46	1	41,1
<b>STDEV</b>	0,30	36	7,06	0	12,9
<b>ΟΜΑΔΑ 2 (C.A. PEO(7M))</b>					
ΠΟΝΤΙΚΙ 1	1,88	244	38,33	0	41,6
ΠΟΝΤΙΚΙ 2	1,69	285	50,00	1	51,5
ΠΟΝΤΙΚΙ 3	1,31	267	33,67	3	76,7
ΠΟΝΤΙΚΙ 4	1,47	282	41,67	4	52,1
ΠΟΝΤΙΚΙ 5	1,86	281	42,33	0	56,0
ΠΟΝΤΙΚΙ 6	0,52	185	68,33	2	16,0
ΠΟΝΤΙΚΙ 7	1,17	285	42,00	2	37,6
ΠΟΝΤΙΚΙ 8	1,12	266	36,00	1	38,0
<b>AVERAGE</b>	1,38	262	44,04	2	46,2
<b>STDEV</b>	0,45	34	10,98	1	17,6
<b>ΟΜΑΔΑ 3 (C.A. PEO(7M), SA)</b>					
ΠΟΝΤΙΚΙ 1	1,65	266	49,00	1	54,3
ΠΟΝΤΙΚΙ 2	1,31	242	61,33	0	68,8

ΠΟΝΤΙΚΙ 3	1,08	296	54,33	1	77,4
ΠΟΝΤΙΚΙ 4	0,89	247	47,33	1	41,0
ΠΟΝΤΙΚΙ 5	1,55	287	62,00	1	77,5
ΠΟΝΤΙΚΙ 6	0,88	231	55,33	1	53,4
ΠΟΝΤΙΚΙ 7	1,03	230	58,67	2	36,9
ΠΟΝΤΙΚΙ 8	0,92	229	67,67	1	17,2
<b>AVERAGE</b>	1,16	254	56,96	1	53,3
<b>STDEV</b>	0,30	27	6,84	1	21,1
<b>ΟΜΑΔΑ 4 (15.1%PINUS ,C.A. PEO(7M), SA)</b>					
ΠΟΝΤΙΚΙ 1	1,25	243	54,67	1	52,6
ΠΟΝΤΙΚΙ 2	1,12	222	71,33	2	22,1
ΠΟΝΤΙΚΙ 3	1,07	248	51,67	1	77,4
ΠΟΝΤΙΚΙ 4	0,99	280	49,33	1	76,7
ΠΟΝΤΙΚΙ 5	0,99	260	43,67	3	53,1
ΠΟΝΤΙΚΙ 6	0,55	284	82,33	3	46,8
ΠΟΝΤΙΚΙ 7	1,09	300	67,00	2	45,2
ΠΟΝΤΙΚΙ 8	0,46	230	60,33	1	61,1
<b>AVERAGE</b>	0,94	258	60,04	2	54,4
<b>STDEV</b>	0,28	28	12,84	1	18,0
<b>ΟΜΑΔΑ 5 (26.2%PINUS ,C.A. PEO(7M), SA)</b>					
ΠΟΝΤΙΚΙ 1	1,58	274	52,33	1	59,7
ΠΟΝΤΙΚΙ 2	1,46	247	52,33	1	59,1
ΠΟΝΤΙΚΙ 3	1,45	257	59,33	2	66,4
ΠΟΝΤΙΚΙ 4	0,88	187	69,67	2	16,9
ΠΟΝΤΙΚΙ 5	0,42	235	79,33	4	23,7
ΠΟΝΤΙΚΙ 6	0,71	266	78,67	0	50,2
ΠΟΝΤΙΚΙ 7	0,83	217	49,67	1	19,5
ΠΟΝΤΙΚΙ 8	0,63	237	76,33	4	12,2
<b>AVERAGE</b>	1,00	240	64,71	2	38,5
<b>STDEV</b>	0,44	28	12,70	1	22,4

### Μέτρηση βάρους

<b>ΟΜΑΔΑ 1 (GAZA)</b>	<b>1<sup>η</sup> ημέρα</b>	<b>4<sup>η</sup> ημέρα</b>	<b>14<sup>η</sup> ημέρα</b>	<b>18<sup>η</sup> ημέρα</b>
ΠΟΝΤΙΚΙ 1	28,3	26,8	28,7	27,9
ΠΟΝΤΙΚΙ 2	26,3	26,3	26,2	26,4
ΠΟΝΤΙΚΙ 3	26,0	24,9	26,8	26,7
ΠΟΝΤΙΚΙ 4	26,5	24,7	26,1	25,0
ΠΟΝΤΙΚΙ 5	27,4	26,0	27,8	26,9
ΠΟΝΤΙΚΙ 6	26,9	26,1	27,1	26,7
ΠΟΝΤΙΚΙ 7	29,0	28,3	30,1	28,7

ΠΟΝΤΙΚΙ 8	27,9	27,4	29,1	29,2
<b>ΟΜΑΔΑ 2 (C.A. PEO(7M))</b>				
ΠΟΝΤΙΚΙ 1	28,4	27,2	29,4	28,6
ΠΟΝΤΙΚΙ 2	25,6	23,7	25,6	25,5
ΠΟΝΤΙΚΙ 3	28,0	26,6	27,6	27,1
ΠΟΝΤΙΚΙ 4	40,6	39,7	37,4	37,7
ΠΟΝΤΙΚΙ 5	25,6	25,2	24,6	26,1
ΠΟΝΤΙΚΙ 6	35,8	35,3	37,8	36,7
ΠΟΝΤΙΚΙ 7	25,6	24,1	25,2	25,7
ΠΟΝΤΙΚΙ 8	28,0	26,1	27,2	26,7
<b>ΟΜΑΔΑ 3 (C.A. PEO(7M), SA)</b>				
ΠΟΝΤΙΚΙ 1	26,0	25,8	27,5	26,7
ΠΟΝΤΙΚΙ 2	31,7	31,7	21,4	32,5
ΠΟΝΤΙΚΙ 3	27,9	27,3	28,7	27,8
ΠΟΝΤΙΚΙ 4	24,4	24,1	25,5	24,7
ΠΟΝΤΙΚΙ 5	33,5	32,1	33,7	33,1
ΠΟΝΤΙΚΙ 6	29,5	29,7	30,2	29,2
ΠΟΝΤΙΚΙ 7	29,0	29,1	32,1	30,2
ΠΟΝΤΙΚΙ 8	34,9	34,3	38,5	37,1
<b>ΟΜΑΔΑ 4 (15.1%PINUS ,C.A. PEO(7M), SA)</b>				
ΠΟΝΤΙΚΙ 1	31,2	30,6	34,5	34,2
ΠΟΝΤΙΚΙ 2	27,2	26,3	27,5	28,3
ΠΟΝΤΙΚΙ 3	32,8	32,4	33,5	32,6
ΠΟΝΤΙΚΙ 4	30,6	29,9	32,1	30,5
ΠΟΝΤΙΚΙ 5	27,8	25,4	27,5	26,7
ΠΟΝΤΙΚΙ 6	29,1	28,3	30,0	29,3
ΠΟΝΤΙΚΙ 7	26,1	25,3	28,0	27,2
ΠΟΝΤΙΚΙ 8	28,6	26,6	27,4	27,6
<b>ΟΜΑΔΑ 5 (26.2%PINUS ,C.A. PEO(7M), SA)</b>				
ΠΟΝΤΙΚΙ 1	27,9	27,1	28,1	28,6
ΠΟΝΤΙΚΙ 2	30,6	30,6	32,7	32,0
ΠΟΝΤΙΚΙ 3	29,2	29,5	31,1	29,9
ΠΟΝΤΙΚΙ 4	30,6	30,9	32,3	32,0
ΠΟΝΤΙΚΙ 5	27,4	26,6		27,9
ΠΟΝΤΙΚΙ 6	29,3	27,7	29,4	27,1
ΠΟΝΤΙΚΙ 7	28,1	28,7	32,8	31,5
ΠΟΝΤΙΚΙ 8	27,0	27,1	28,8	28,4

## Πείραμα Επούλωσης Πληγών

### 1<sup>ο</sup> Πείραμα

1<sup>η</sup> ημέρα (πριν την πρόκληση πληγής)

<b>ΟΜΑΔΑ 1 (GAZA)</b>	<b>ΠΑΧΟΣ</b>	<b>ΑΔΗΛΗ ΑΠΩΛΕΙΑ</b>	<b>ΕΡΥΘΗΜΑ</b>	<b>ΕΝΥΔΑΤΩΣΗ</b>
ΠΟΝΤΙΚΙ 1	0,77	11,1	90,5	68,0
ΠΟΝΤΙΚΙ 2	0,81	8,9	49,75	61,3
ΠΟΝΤΙΚΙ 3	0,73	10,3	82,25	66,3
ΠΟΝΤΙΚΙ 4	0,72	13,8	99	75,0
ΠΟΝΤΙΚΙ 5	0,88	11,3	158,25	72,7
ΠΟΝΤΙΚΙ 6	0,74	11,4	125,5	59,0
ΠΟΝΤΙΚΙ 7	0,66	9,1	143,75	61,0
ΠΟΝΤΙΚΙ 8	0,83	28,7	199,25	48,7
<b>AVERAGE</b>	0,77	13,08	118,53	64,00
<b>STDEV</b>	0,07	6,50	47,80	8,40
<b>ΟΜΑΔΑ 2 (PCL/PVP)</b>				
ΠΟΝΤΙΚΙ 1	0,78	7,4	102,25	65,0
ΠΟΝΤΙΚΙ 2	1,01	12,6	91,25	81,7
ΠΟΝΤΙΚΙ 3	0,67	9,0	75,00	68,7
ΠΟΝΤΙΚΙ 4	0,85	7,3	88,25	59,7
ΠΟΝΤΙΚΙ 5	0,62	9,5	130,5	50,0
ΠΟΝΤΙΚΙ 6	0,82	11,6	131,25	61,0
ΠΟΝΤΙΚΙ 7	0,83	24,3	202,25	51,0
ΠΟΝΤΙΚΙ 8	0,79	21,3	214,25	45,0
<b>AVERAGE</b>	0,80	12,88	129,38	60,25
<b>STDEV</b>	0,12	6,44	52,59	11,81
<b>ΟΜΑΔΑ 3 (1% w/w PROPOLIS)</b>				

ΠΟΝΤΙΚΙ 1	0,80	8,0	81,5	66,0
ΠΟΝΤΙΚΙ 2	0,88	6,8	81,5	56,0
ΠΟΝΤΙΚΙ 3	0,68	9,7	105,25	62,0
ΠΟΝΤΙΚΙ 4	0,78	10,6	117,5	66,7
ΠΟΝΤΙΚΙ 5	0,64	9,3	133,25	65,3
ΠΟΝΤΙΚΙ 6	0,52	11,3	135,75	62,0
ΠΟΝΤΙΚΙ 7	0,74	17,4	190,5	49,3
ΠΟΝΤΙΚΙ 8	0,70	16,6	191	37,3
<b>AVERAGE</b>	0,72	11,21	129,53	58,08
<b>STDEV</b>	0,11	3,84	56,63	10,22
<b>ΟΜΑΔΑ 4 (15%w/w PROPOLIS)</b>				
ΠΟΝΤΙΚΙ 1	0,81	9,9	117,25	72,7
ΠΟΝΤΙΚΙ 2	0,85	13,4	110,25	61,3
ΠΟΝΤΙΚΙ 3	0,74	14,6	154,75	69,3
ΠΟΝΤΙΚΙ 4	0,90	15,5	67,75	70,3
ΠΟΝΤΙΚΙ 5	0,77	11,1	124,5	68,0
ΠΟΝΤΙΚΙ 6	0,75	10,3	176	67,3
ΠΟΝΤΙΚΙ 7	0,74	17,0	109	40,7
ΠΟΝΤΙΚΙ 8	0,73	15,2	128,75	51,3
<b>AVERAGE</b>	0,79	13,38	129,53	62,63
<b>STDEV</b>	0,06	2,65	42,92	11,13
<b>ΟΜΑΔΑ 5 (30% w/w PROPOLIS)</b>				
ΠΟΝΤΙΚΙ 1	0,77	7,8	108,75	60,3
ΠΟΝΤΙΚΙ 2	0,82	10,6	118,25	74,7
ΠΟΝΤΙΚΙ 3	0,70	9,0	55,25	74,3
ΠΟΝΤΙΚΙ 4	0,84	13,4	86	59,3
ΠΟΝΤΙΚΙ 5	0,74	10,3	126,75	66,7



ΠΟΝΤΙΚΙ 6	0,71	12,1	82	71,0
ΠΟΝΤΙΚΙ 7	0,54	11,3	208	52,7
ΠΟΝΤΙΚΙ 8	0,70	13,9	213,25	53,7
<b>AVERAGE</b>	0,73	11,05	124,78	64,08
<b>STDEV</b>	0,09	2,08	70,79	8,84

20<sup>η</sup> ημέρα

<b>ΟΜΑΔΑ 1 (ΓΑΖΑ)</b>	<b>ΠΑΧΟΣ</b>	<b>ΑΔΗΛΗ ΑΠΩΛΕΙΑ</b>	<b>ΕΡΥΘΗΜΑ</b>	<b>ΕΝΥΔΑΤΩΣΗ</b>
ΠΟΝΤΙΚΙ 1	1,15	18,1	217,75	63,0
ΠΟΝΤΙΚΙ 2	1,25	11,3	227,75	49,3
ΠΟΝΤΙΚΙ 3	1,11	24,3	173	72,3
ΠΟΝΤΙΚΙ 4	1,11	26,1	201,5	45,3
ΠΟΝΤΙΚΙ 5	1,04	27,8	177,5	37,3
ΠΟΝΤΙΚΙ 6	0,93	26,9	244,75	38,3
ΠΟΝΤΙΚΙ 7	0,75	23,6	219,25	46,3
ΠΟΝΤΙΚΙ 8	1,48	28,5	244,5	48,7
<b>AVERAGE</b>	1,10	23,33	213,25	50,08
<b>STDEV</b>	0,22	5,86	27,44	11,96
<b>ΟΜΑΔΑ 2 (PCL/PVP)</b>				
ΠΟΝΤΙΚΙ 1	1,08	12,1	252,5	75,3
ΠΟΝΤΙΚΙ 2	1,09	15,8	186,5	63,7
ΠΟΝΤΙΚΙ 3	1,22	32,9	206,5	62,3
ΠΟΝΤΙΚΙ 4	1,26	28,3	223,75	32,7
ΠΟΝΤΙΚΙ 5	0,89	31,4	271,5	25,7
ΠΟΝΤΙΚΙ 6	0,72	74,9	205	42,3
ΠΟΝΤΙΚΙ 7	1,34	32,4	261	33,0

ΠΟΝΤΙΚΙ 8	1,36	29,6	226,75	40,7
<b>AVERAGE</b>	1,12	32,18	229,19	46,96
<b>STDEV</b>	0,22	18,97	30,01	17,86
<b>ΟΜΑΔΑ 3 (1% w/w PROPOLIS)</b>				
ΠΟΝΤΙΚΙ 1	1,49	30,8	247,5	50,3
ΠΟΝΤΙΚΙ 2	1,11	48,1	99	46,0
ΠΟΝΤΙΚΙ 3	1,27	40,4	198,75	41,3
ΠΟΝΤΙΚΙ 4	1,14	16,9	176,25	45,3
ΠΟΝΤΙΚΙ 5	1,03	21	210,5	42,7
ΠΟΝΤΙΚΙ 6	0,77	26,6	222,25	39,7
ΠΟΝΤΙΚΙ 7	1,10	44,7	247,25	37,7
ΠΟΝΤΙΚΙ 8	1,22	36,6	287	33,0
<b>AVERAGE</b>	1,14	33,14	211,06	42,00
<b>STDEV</b>	0,21	11,22	56,63	5,38
<b>ΟΜΑΔΑ 4 (15%w/w PROPOLIS)</b>				
ΠΟΝΤΙΚΙ 1	1,16	23	204	64,3
ΠΟΝΤΙΚΙ 2	1,26	42,5	217,75	67,0
ΠΟΝΤΙΚΙ 3	1,10	48	253	50,3
ΠΟΝΤΙΚΙ 4	1,10	54,2	192	57,3
ΠΟΝΤΙΚΙ 5	0,95	70,3	223,75	52,3
ΠΟΝΤΙΚΙ 6	0,82	51,4	234,5	39,3
ΠΟΝΤΙΚΙ 7	1,24	33,7	187	38,0
ΠΟΝΤΙΚΙ 8	0,86	24,8	217,5	34,7
<b>AVERAGE</b>	1,06	43,49	216,19	50,42
<b>STDEV</b>	0,17	15,96	21,83	12,22

<b>ΟΜΑΔΑ 5 (30% w/w PROPOLIS)</b>				
ΠΟΝΤΙΚΙ 1	1,42	85,3	388,25	75,7
ΠΟΝΤΙΚΙ 2	1,20	40,8	214,25	45,0
ΠΟΝΤΙΚΙ 3	1,67	27,4	195,75	25,3
ΠΟΝΤΙΚΙ 4	1,71	83,4	249,25	37,3
ΠΟΝΤΙΚΙ 5	1,75	104,2	297,5	54,7
ΠΟΝΤΙΚΙ 6	1,07	36,2	188	52,3
ΠΟΝΤΙΚΙ 7	1,33	33,8	293,5	34,0
ΠΟΝΤΙΚΙ 8	1,31	58,7	188,5	43,3
<b>AVERAGE</b>	1,43	58,73	251,88	45,96
<b>STDEV</b>	0,25	28,82	70,79	15,35

Μέτρηση Βάρους

<b>ΟΜΑΔΑ 1 (GAZA)</b>	<b>1<sup>η</sup> ημέρα</b>	<b>10<sup>η</sup> ημέρα</b>	<b>20<sup>η</sup> ημέρα</b>
ΠΟΝΤΙΚΙ 1	35,8	35,3	35,4
ΠΟΝΤΙΚΙ 2	36,9	36,3	36,2
ΠΟΝΤΙΚΙ 3	37,2	37,0	36,7
ΠΟΝΤΙΚΙ 4	34,3	34,0	35,0
ΠΟΝΤΙΚΙ 5	36,1	37,9	37,2
ΠΟΝΤΙΚΙ 6	30,9	29,7	29,0
ΠΟΝΤΙΚΙ 7	35,3	35,3	35,0
ΠΟΝΤΙΚΙ 8	29,3	31,9	32,2
<b>ΟΜΑΔΑ 2 (PCL/PVP)</b>			
ΠΟΝΤΙΚΙ 1	37,2	36,6	36,9
ΠΟΝΤΙΚΙ 2	35,1	34,2	33,6

ΠΟΝΤΙΚΙ 3	42,7	42,3	42,3
ΠΟΝΤΙΚΙ 4	30,5	32,2	30,2
ΠΟΝΤΙΚΙ 5	36,0	35,9	33,9
ΠΟΝΤΙΚΙ 6	32,6	33,6	32,4
ΠΟΝΤΙΚΙ 7	32,1	33,4	33,6
ΠΟΝΤΙΚΙ 8	31,3	34,0	33,0
<b>ΟΜΑΔΑ 3 (1% w/w PROPOLIS)</b>			
ΠΟΝΤΙΚΙ 1	43,2	42,3	42,4
ΠΟΝΤΙΚΙ 2	40,1	40,9	41,8
ΠΟΝΤΙΚΙ 3	35,7	36,9	37,1
ΠΟΝΤΙΚΙ 4	35,4	35,9	35,1
ΠΟΝΤΙΚΙ 5	35,1	34,7	34,0
ΠΟΝΤΙΚΙ 6	31,3	30,6	30,7
ΠΟΝΤΙΚΙ 7	35,1	36,1	35,5
ΠΟΝΤΙΚΙ 8	30,1	31,0	31,7
<b>ΟΜΑΔΑ 4 (15%w/w PROPOLIS)</b>			
ΠΟΝΤΙΚΙ 1	37,7	36,9	36,6
ΠΟΝΤΙΚΙ 2	38,7	38,9	39,1
ΠΟΝΤΙΚΙ 3	33,6	33,9	33,8
ΠΟΝΤΙΚΙ 4	44,8	43,4	44,,2
ΠΟΝΤΙΚΙ 5	32,9	32,3	32,2
ΠΟΝΤΙΚΙ 6	37,7	41,0	40,2
ΠΟΝΤΙΚΙ 7	32,2	33,8	34,0
ΠΟΝΤΙΚΙ 8	32,4	31,8	32,4
<b>ΟΜΑΔΑ 5 (30% w/w PROPOLIS)</b>			

ΠΟΝΤΙΚΙ 1	39,7	38,3	39,2
ΠΟΝΤΙΚΙ 2	34,3	34,3	33,3
ΠΟΝΤΙΚΙ 3	45,2	45,7	45,5
ΠΟΝΤΙΚΙ 4	37,6	37,9	37,7
ΠΟΝΤΙΚΙ 5	30,6	33,3	32,2
ΠΟΝΤΙΚΙ 6	29,3	29,3	28,2
ΠΟΝΤΙΚΙ 7	32,4	33,3	
ΠΟΝΤΙΚΙ 8	29,4	30,0	31,7

## 2<sup>ο</sup> Πείραμα

1<sup>η</sup> ημέρα (πριν την πρόκληση πληγής)

<b>ΟΜΑΔΑ 1 (ΓΑΖΑ)</b>	<b>ΠΑΧΟΣ</b>	<b>ΑΔΗΛΗ ΑΠΩΛΕΙΑ</b>	<b>ΕΡΥΘΗΜΑ</b>	<b>ΕΝΥΔΑΤΩΣΗ</b>	<b>ΕΛΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑ</b>
ΠΟΝΤΙΚΙ 1	0,71	22,00	137,67	63,33	0,5909
ΠΟΝΤΙΚΙ 2	0,73	17,30	163,00	74,67	0,6517
ΠΟΝΤΙΚΙ 3	0,75	22,20	192,33	65,00	0,7143
ΠΟΝΤΙΚΙ 4	0,83	16,10	95,33	63,00	0,7603
ΠΟΝΤΙΚΙ 5	0,78	20,70	193,00	70,67	0,6612
ΠΟΝΤΙΚΙ 6	0,74	16,80	208,33	64,33	0,5699
ΠΟΝΤΙΚΙ 7	0,64	22,90	222,00	62,00	0,4122
ΠΟΝΤΙΚΙ 8	0,73	16,70	152,67	67,67	0,7213
<b>AVERAGE</b>	0,75	19,34	170,54	66,33	0,64
<b>STDEV</b>	0,04	2,87	41,69	4,39	0,11
<b>ΟΜΑΔΑ 2 (PCL/PVP)</b>					
ΠΟΝΤΙΚΙ 1	0,65	17,20	193,33	58,00	0,6842
ΠΟΝΤΙΚΙ 2	0,73	19,30	177,67	60,00	0,7295
ΠΟΝΤΙΚΙ 3	0,72	23,00	171,00	68,00	0,5000
ΠΟΝΤΙΚΙ 4	0,70	21,90	209,00	58,67	0,5940
ΠΟΝΤΙΚΙ 5	0,68	19,90	180,33	69,33	0,7226
ΠΟΝΤΙΚΙ 6	0,69	19,40	216,33	55,33	0,8849
ΠΟΝΤΙΚΙ 7	0,66	17,20	207,00	57,33	0,7375
ΠΟΝΤΙΚΙ 8	0,69	23,00	213,00	52,67	0,4348
<b>AVERAGE</b>	0,69	20,11	195,96	59,92	0,66
<b>STDEV</b>	0,03	2,33	17,75	5,85	0,14
<b>ΟΜΑΔΑ 3 (0,1% w/w PROPOLIS)</b>					

ΠONTIKI 1	0,79	16,50	158,33	53,33	0,6541
ΠONTIKI 2	0,75	18,10	158,67	46,00	0,4097
ΠONTIKI 3	0,74	16,90	135,00	61,67	0,9394
ΠONTIKI 4	0,66	20,40	223,67	54,33	0,4387
ΠONTIKI 5	0,71	16,40	187,33	67,33	0,7384
ΠONTIKI 6	0,72	18,40	121,33	65,33	0,8028
ΠONTIKI 7	0,64	17,60	203,33	68,00	0,7313
ΠONTIKI 8	0,7	23,00	213,00	52,67	0,8481
<b>AVERAGE</b>	0,72	17,71	166,17	60,29	0,70
<b>STDEV</b>	0,05	1,30	35,53	8,12	0,19
<b>ΟΜΑΔΑ 4 (0,4%w/w PROPOLIS)</b>					
ΠONTIKI 1	0,79	17,50	187,00	58,67	0,3182
ΠONTIKI 2	0,67	20,80	181,00	65,00	0,2746
ΠONTIKI 3	0,72	15,80	142,00	58,67	0,5376
ΠONTIKI 4	0,65	18,40	193,33	64,33	0,7426
ΠONTIKI 5	0,64	15,40	172,67	63,67	0,6042
ΠONTIKI 6	0,68	21,40	241,33	61,67	0,7065
ΠONTIKI 7	0,63	17,50	151,33	65,00	0,8679
ΠONTIKI 8	0,69	16,50	216,33	61,67	0,8716
<b>AVERAGE</b>	0,68	17,91	185,63	62,33	0,58
<b>STDEV</b>	0,06	2,20	32,46	2,61	0,24
<b>ΟΜΑΔΑ 5 (0,7% w/w PROPOLIS)</b>					
ΠONTIKI 1	0,69	17,90	154,00	65,67	0,3592
ΠONTIKI 2	0,65	19,50	171,33	74,33	0,4628
ΠONTIKI 3	0,83	21,70	166,67	70,67	0,4103

ΠΟΝΤΙΚΙ 4	0,76	12,80	169,67	61,67	0,6667
ΠΟΝΤΙΚΙ 5	0,65	12,60	208,00	72,00	0,5217
ΠΟΝΤΙΚΙ 6	0,63	26,60	258,33	67,00	0,7065
ΠΟΝΤΙΚΙ 7	0,68	21,50	226,00	62,33	0,5823
ΠΟΝΤΙΚΙ 8	0,73	16,60	202,33	61,00	0,7797
<b>AVERAGE</b>	0,71	18,65	194,54	66,83	0,56
<b>STDEV</b>	0,07	4,73	35,61	5,07	0,15

18<sup>η</sup> ημέρα

ΟΜΑΔΑ 1 (ΓΑΖΑ)	ΠΑΧΟΣ	ΑΔΗΛΗ ΑΠΩΛΕΙΑ	ΕΡΥΘΗΜΑ	ΕΝΥΔΑΤΩΣΗ	ΕΛΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑ
ΠΟΝΤΙΚΙ 1	1,6	50,80	249,00	60,00	0,7053
ΠΟΝΤΙΚΙ 2	1,65	36,10	288,67	67,00	0,5918
ΠΟΝΤΙΚΙ 3	1,73	42,30	256,33	54,00	0,6526
ΠΟΝΤΙΚΙ 4	1,58	76,80	279,67	72,33	0,514
ΠΟΝΤΙΚΙ 5	1,15	32,60	231,67	76,33	0,6087
ΠΟΝΤΙΚΙ 6	0,99	24,40	196,33	57,67	0,8625
ΠΟΝΤΙΚΙ 7	1,18	48,70	332,67	65,33	0,6989
ΠΟΝΤΙΚΙ 8	1,01	30,20	289,33	68,33	0,6746
<b>AVERAGE</b>	1,36	38,78	250,88	65,54	0,66
<b>STDEV</b>	0,31	18,53	34,50	7,64	0,10
<b>ΟΜΑΔΑ 2 (PCL/PVP)</b>					
ΠΟΝΤΙΚΙ 1	1,65	72,20	302,67	56,33	0,6389
ΠΟΝΤΙΚΙ 2	1,59	98,50	251,67	59,00	0,487
ΠΟΝΤΙΚΙ 3	1,63	31,60	333,33	49,00	0,4071
ΠΟΝΤΙΚΙ 4	1,14	17,00	216,00	68,67	0,6628



ΠONTIKI 5	0,98	31,80	258,33	75,67	0,4963
ΠONTIKI 6	1,07	36,80	307,00	70,33	0,7941
ΠONTIKI 7	1,07	31,20	281,00	65,67	0,8636
ΠONTIKI 8	1,04	78,50	258,67	74,67	0,4623
<b>AVERAGE</b>	1,27	50,60	281,54	64,38	0,59
<b>STDEV</b>	0,29	28,08	29,78	9,26	0,16
<b>ΟΜΑΔΑ 3 (0,1% w/w PROPOLIS)</b>					
ΠONTIKI 1	1,68	91,80	258,67	67,00	0,5952
ΠONTIKI 2	1,41	54,50	197,33	56,00	0,6000
ΠONTIKI 3	1,44	41,80	257,00	64,67	0,437
ΠONTIKI 4	1,15	24,20	259,67	64,20	0,6092
ΠONTIKI 5	1,05	34,10	262,67	73,67	0,6389
ΠONTIKI 6	1,14	24,70	314,67	72,33	0,575
ΠONTIKI 7	1,19	37,40	268,33	69,33	0,5067
ΠONTIKI 8	1,01	26,00	250,67	75,67	0,5946
<b>AVERAGE</b>	1,28	44,94	278,00	66,67	0,53
<b>STDEV</b>	0,23	21,57	63,72	7,85	0,11
<b>ΟΜΑΔΑ 4 (0,4%w/w PROPOLIS)</b>					
ΠONTIKI 1	1,38	39,10	247,67	58,33	0,4346
ΠONTIKI 2	1,22	37,20	189,67	61,33	0,4778
ΠONTIKI 3	1,17	30,70	290,33	64,67	0,622
ΠONTIKI 4	1,22	27,50	216,33	62,67	0,5932
ΠONTIKI 5	1,23	18,50	269,00	72,67	0,5634
ΠONTIKI 6	1,35	49,20	414,67	54,67	0,3165
ΠONTIKI 7	1,37	86,90	442,00	61,00	0,4825

ΠΟΝΤΙΚΙ 8	1,25	39,60	358,33	55,67	0,75
<b>AVERAGE</b>	1,24	37,39	287,42	63,04	0,56
<b>STDEV</b>	0,09	21,63	80,59	5,39	0,10
<b>ΟΜΑΔΑ 5 (0,7% w/w PROPOLIS)</b>					
ΠΟΝΤΙΚΙ 1	1,2	28,50	240,00	65,67	0,5
ΠΟΝΤΙΚΙ 2	1,25	28,60	290,00	68,33	0,4615
ΠΟΝΤΙΚΙ 3	1,19	33,30	399,67	63,00	0,5179
ΠΟΝΤΙΚΙ 4	1,03	31,30	181,33	71,67	0,7262
ΠΟΝΤΙΚΙ 5	1,17	38,00	301,67	67,33	0,7089
ΠΟΝΤΙΚΙ 6	1,1	19,60	286,00	68,00	0,5484
ΠΟΝΤΙΚΙ 7	0,91	25,70	288,00	66,00	0,7263
ΠΟΝΤΙΚΙ 8	1,37	59,60	276,67	67,67	0,6452
<b>AVERAGE</b>	1,16	35,00	282,48	67,10	0,61
<b>STDEV</b>	0,14	12,00	61,26	2,49	0,11

### Μέτρηση Βάρους

<b>ΟΜΑΔΑ 1 (GAZA)</b>	<b>1<sup>η</sup> ημέρα</b>	<b>8<sup>η</sup> ημέρα</b>	<b>18<sup>η</sup> ημέρα</b>
ΠΟΝΤΙΚΙ 1	40,4	38,4	39,6
ΠΟΝΤΙΚΙ 2	37,5	35,8	36,7
ΠΟΝΤΙΚΙ 3	33,9	32,6	32,8
ΠΟΝΤΙΚΙ 4	36,3	35,3	34,5
ΠΟΝΤΙΚΙ 5	33,0	31,8	32,0
ΠΟΝΤΙΚΙ 6	35,2	33,8	34,2
ΠΟΝΤΙΚΙ 7	32,8	30,9	31,7
ΠΟΝΤΙΚΙ 8	35,6	36,7	37,7

<b>ΟΜΑΔΑ 2 (PCL/PVP)</b>			
ΠΟΝΤΙΚΙ 1	35,4	34,3	34,9
ΠΟΝΤΙΚΙ 2	37,8	36,4	36,5
ΠΟΝΤΙΚΙ 3	37,0	36,6	38,0
ΠΟΝΤΙΚΙ 4	32,0	30,6	30,5
ΠΟΝΤΙΚΙ 5	34,6	32,5	32,7
ΠΟΝΤΙΚΙ 6	32,8	30,9	31,5
ΠΟΝΤΙΚΙ 7	34,3	32,3	33,3
ΠΟΝΤΙΚΙ 8	28,7	32,5	33,6
<b>ΟΜΑΔΑ 3 (0,1% w/w PROPOLIS)</b>			
ΠΟΝΤΙΚΙ 1	36,3	35,0	34,8
ΠΟΝΤΙΚΙ 2	33,4	32,	32,2
ΠΟΝΤΙΚΙ 3	35,2	32,8	33,0
ΠΟΝΤΙΚΙ 4	35,0	34,0	35,9
ΠΟΝΤΙΚΙ 5	33,1	31,8	32,6
ΠΟΝΤΙΚΙ 6	35,4	32,9	33,4
ΠΟΝΤΙΚΙ 7	30,3	27,7	27,7
ΠΟΝΤΙΚΙ 8	33,4	35,7	36,1
<b>ΟΜΑΔΑ 4 (0,4%w/w PROPOLIS)</b>			
ΠΟΝΤΙΚΙ 1	31,8	30,0	28,8
ΠΟΝΤΙΚΙ 2	32,3	32,5	31,1
ΠΟΝΤΙΚΙ 3	37,1	36,1	35,2
ΠΟΝΤΙΚΙ 4	32,3	30,8	32,4
ΠΟΝΤΙΚΙ 5	31,0	31,3	31,5
ΠΟΝΤΙΚΙ 6	34,2	33,9	33,8
ΠΟΝΤΙΚΙ 7	33,2	33,2	33,8

ΠΟΝΤΙΚΙ 8	30,7	32,5	33,6
<b>ΟΜΑΔΑ 5 (0,7% w/w PROPOLIS)</b>			
ΠΟΝΤΙΚΙ 1	34,4	32,9	32,8
ΠΟΝΤΙΚΙ 2	33,8	33,8	33,9
ΠΟΝΤΙΚΙ 3	34,9	34,8	34,7
ΠΟΝΤΙΚΙ 4	33,0	31,4	31,6
ΠΟΝΤΙΚΙ 5	32,5	32,0	32,9
ΠΟΝΤΙΚΙ 6	29,6	30,0	30,7
ΠΟΝΤΙΚΙ 7	31,7	30,1	30,9
ΠΟΝΤΙΚΙ 8	34,4	34,5	35,4