



ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ

Εθνικόν και Καποδιστριακόν
Πανεπιστήμιον Αθηνών

— ΙΔΡΥΘΕΝ ΤΟ 1837 —

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ

ΤΜΗΜΑ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗΣ

ΤΟΜΕΑΣ ΦΑΡΜΑΚΟΓΝΩΣΙΑΣ ΚΑΙ ΧΗΜΕΙΑΣ ΦΥΣΙΚΩΝ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ

ΤΟΜΕΑΣ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗΣ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
“ΚΟΣΜΗΤΟΛΟΓΙΑ-ΔΕΡΜΑΤΟΦΑΡΜΑΚΟΛΟΓΙΑ”

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΤΗΣ ΕΠΟΥΛΩΤΙΚΗΣ ΔΡΑΣΗΣ ΕΠΙΛΕΓΜΕΝΩΝ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΩΝ ΚΑΙ
ΣΥΣΤΑΤΙΚΩΝ ΑΠΟ ΤΟ ΘΑΛΑΣΣΙΟ ΙΣΟΠΟΔΟ *CERATOTHOA OESTROIDES***

ΠΑΝΑΓΙΩΤΑ ΚΟΡΟΛΗ

ΑΘΗΝΑ

ΙΟΥΛΙΟΣ 2019

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ

Βασίλειος Ρούσσης

Καθηγητής, Τομέας Φαρμακογνωσίας και Χημείας Φυσικών Προϊόντων, Τμήμα Φαρμακευτικής, Σχολή Επιστημών Υγείας, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Βασίλειος Ρούσσης

Καθηγητής, Τομέας Φαρμακογνωσίας και Χημείας Φυσικών Προϊόντων, Τμήμα Φαρμακευτικής, Σχολή Επιστημών Υγείας, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

Ευσταθία Ιωάννου

Επίκουρη Καθηγήτρια, Τομέας Φαρμακογνωσίας και Χημείας Φυσικών Προϊόντων, Τμήμα Φαρμακευτικής, Σχολή Επιστημών Υγείας, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

Μιχαήλ Ράλλης

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

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Ο οργανισμός *Ceratothoa oestroides* ανήκει στην τάξη των ισοπόδων και πρόκειται για ένα πρωτανδρικό ερμαφρόδιτο που παρασιτεί σε ένα ευρύ φάσμα οικογενειών ψαριών. Σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν να αξιολογηθεί η δραστικότητα των διαφορετικών εκχυλισμάτων του ισοπόδου στην επουλωτική διαδικασία, καθώς και ο προσδιορισμός της βέλτιστης δόσης. Το ολικό οργανικό εκχύλισμα του ισοπόδου υποβλήθηκε σε υγρή-υγρή εκχύλιση με διαλύτες διαφορετικής πολικότητας ώστε να παραληφθούν τέσσερα κλάσματα. Τα κλάσματα αυτά, μορφοποιήθηκαν στην συνέχεια σε αλοιφές και η δραστικότητά τους στην επούλωση τραυμάτων, αξιολογήθηκε σε φυσιολογικό δέρμα ποντικών τύπου SKH-hr1, στους οποίους είχε προκληθεί έλλειμμα εμβαδού 1 cm², στο πίσω μέρος της ράχης. Την πιο σημαντική επουλωτική δράση εμφάνισε το διχλωρομεθανιακό κλάσμα, το οποίο ήταν εμπλουτισμένο σε πολυακόρεστα λιπαρά οξέα (PUFA).

Η ιστοπαθολογική εξέταση του δέρματος των ποντικών στους οποίους χρησιμοποιήθηκε το διχλωρομεθανιακό κλάσμα, έδειξε ήπια έως ελάχιστη φλεγμονή, επιταχύνοντας την αναγέννηση των ιστών. Καθώς το συγκεκριμένο κλάσμα περιείχε σε υψηλή συγκέντρωση πολυακόρεστα λιπαρά οξέα (PUFA), ελέγχθηκε στην συνέχεια ξεχωριστά η δραστικότητα ενός συστατικού (EPA) του συγκεκριμένου κλάσματος, για να ελεγχθεί εάν το θεραπευτικό αποτέλεσμα οφειλόταν σε αυτό το συστατικό και αν η δράση είναι συνεργιστική.

ABSTRACT

Ceratothoa oestroides is a protandric hermaphrodite parasite of the order Isopoda, infesting a wide range of fish species. The aim of the present study was to evaluate the activity of different extracts of the isopod in the healing process, as well as to find their optimal dose. The organic extract of the isopod was subjected to liquid-liquid extraction with solvents of different polarity to afford four fractions. Those four fractions were then formulated in ointments and their wound healing activity was evaluated on the normal skin of hairless mice type SKH-hr1, after excision of an 1 cm² of the upper back skin area. The most significant healing effect was observed for the dichloromethane fraction, which was enriched in polyunsaturated fatty acids (PUFA).

The histopathological analysis of the skin of mice treated with the dichloromethane fraction, showed mild to minimal inflammation, accelerating tissue regeneration. Since the particular fraction contained a high concentration of polyunsaturated fatty acids (PUFA), the activity of one component (EPA) of the particular extract was then individually tested, to check if the healing effect was due to this constituent and whether the effect is synergistic.

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα διατριβή αποτελεί την ερευνητική μου εργασία στο πλαίσιο του Προγράμματος Μεταπτυχιακών σπουδών , με τίτλο “Κοσμητολογία-Δερματοφαρμακολογία”.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον Καθηγητή Ρούσση Βασίλειο και την Επίκουρη Καθηγήτρια Ιωάννου Ευσταθία του Τομέα Φαρμακογνωσίας και Χημείας Φυσικών Προϊόντων του Τμήματος Φαρμακευτικής του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών για την ανάθεση του θέματος, την αρωγή και την καθοδήγησή τους σε όλη την διάρκεια εκπόνησης της διπλωματικής μου εργασίας, καθώς και για την συμμετοχή τους στην τριμελή επιτροπή για την ανάγνωση και αξιολόγηση της εργασίας μου .

Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον Επίκουρο Καθηγητή Ράλλη Μιχαήλ του Τομέα Φαρμακευτικής Τεχνολογίας του Τμήματος Φαρμακευτικής του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών για την επίβλεψη, την ελευθερία με την οποία μου επέτρεψε να εργάζομαι στο εργαστήριο, να οργανώσω τον χρόνο της εργασίας μου και να φέρω εις πέρας το θέμα της διατριβής μου, καθώς και για την συμμετοχή του στην τριμελή επιτροπή για την ανάγνωση και αξιολόγηση της εργασίας μου.

Ξεχωριστά, οφείλω να ευχαριστήσω τον κ.Σφηνιαδάκη Ιωάννη, Διευθυντή του Παθολογοανατομικού Εργαστηρίου του Ναυτικού Νοσοκομείου Αθηνών για την συμβολή του στην εργασία μου, με την ιστοπαθολογική αξιολόγηση των δειγμάτων, όπως και την εταιρεία ιχθυοκαλλιεργειών Forkys στην Χίο για την διάθεση του δείγματος του ισοπόδου.

Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω την μεταδιδάκτορα ερευνήτρια του Τομέα Φαρμακογνωσίας και Χημείας Φυσικών Προϊόντων Κατερίνα Κουτσαβίτη όπως και τους τεχνικούς του ίδιου τομέα, Γιάννη Κλειδά και Δάφνη Διακάκη, για την πολύτιμη βοήθειά τους, τόσο στο πειραματικό κομμάτι, όσο και για την υποστήριξή τους, καθ’όλη την διάρκεια της παραμονής μου στο εργαστήριο.

Ένα μεγάλο ευχαριστώ από τα βάθη της καρδιάς μου στους γονείς μου και την αδερφή μου, που τόσα χρόνια με στηρίζουν ηθικά, ψυχολογικά και υλικά, όπως και για την αμέριστη κατανόηση και την υπομονή τους .

Τέλος, θέλω να ευχαριστήσω την Μαριάννα για την βοήθεια που μου προσέφερε στην εκμάθηση και κατανόηση των υπολογιστικών προγραμμάτων που χρησιμοποίησα στην παρούσα μελέτη, όσο και στην συγγραφή της διατριβής μου με εύστοχες διορθώσεις και προτάσεις.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	3
ABSTRACT.....	4
ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ.....	5
1.ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	9
1.1.ΔΕΡΜΑ.....	9
1.1.1.ΕΠΙΔΕΡΜΙΔΑ.....	10
1.1.2.ΚΥΤΤΑΡΑ ΤΗΣ ΕΠΙΔΕΡΜΙΔΑΣ.....	12
1.1.3.ΧΟΡΙΟ.....	14
1.1.4. ΥΠΟΔΕΡΜΑ Ή ΥΠΟΔΟΡΙΟΣ ΙΣΤΟΣ.....	15
1.1.5. ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΤΟΥ ΔΕΡΜΑΤΟΣ.....	15
1.1.6.ΤΟ ΔΕΡΜΑ ΤΩΝ ΑΤΡΙΧΩΝ ΜΥΩΝ ΣΑΝ ΜΟΝΤΕΛΟ ΜΕΛΕΤΗΣ.....	16
1.2. Η ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΕΠΟΥΛΩΣΗΣ.....	17
1.2.1.ΤΡΑΥΜΑ ΚΑΙ ΕΠΟΥΛΩΣΗ.....	17
1.2.2. ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΕΠΟΥΛΩΣΗΣ.....	18
1.3.ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΠΟΥ ΕΠΗΡΕΑΖΟΥΝ ΤΗΝ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΕΠΟΥΛΩΣΗΣ ΤΟΥ ΤΡΑΥΜΑΤΟΣ.....	25
1.4. ΑΝΑΔΡΟΜΗ ΣΤΗΝ ΙΣΤΟΡΙΑ ΤΗΣ ΕΠΟΥΛΩΣΗΣ.....	34
1.5. ΦΥΣΙΚΑ ΠΡΟΪΟΝΤΑ ΚΑΙ ΕΠΟΥΛΩΣΗ.....	37
1.6. ΘΑΛΑΣΣΙΑ ΦΥΣΙΚΑ ΠΡΟΪΟΝΤΑ ΜΕ ΔΡΑΣΗ ΣΤΗΝ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΤΗΣ ΕΠΟΥΛΩΣΗΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΑΝΑΓΕΝΝΗΣΗΣ ΤΩΝ ΙΣΤΩΝ.....	42
1.6.1. ΧΙΤΙΝΗ ΚΑΙ ΧΙΤΟΖΑΝΗ.....	44
1.6.2. ΚΟΛΛΑΓΟΝΟ.....	46
1.6.3. ΑΛΓΙΝΙΚΑ ΑΛΑΤΑ.....	48
1.6.4. ΥΑΛΟΥΡΟΝΙΚΟ ΟΞΥ.....	49
1.6.5. ΛΙΠΑΡΑ ΟΞΕΑ.....	51
1.6.6. ΦΟΥΚΟΪΔΑΝΗ.....	53
1.6.7. ΚΑΡΑΓΕΝΝΑΝΕΣ.....	53
1.6.8. ΟΥΛΒΑΝΕΣ.....	54
1.7. ΑΡΘΡΟΠΟΔΑ.....	55
1.7.1. ΙΣΟΠΟΔΑ.....	57
1.7.2. ΙΣΟΠΟΔΟ <i>Ceratothoa oestroides</i>	58
1.8 ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ.....	59
2.ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	61
2.1.ΓΙΑ ΤΗΝ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΤΟΥ ΟΡΓΑΝΙΣΜΟΥ ΚΑΙ ΤΗΝ ΕΝΣΩΜΑΤΩΣΗ ΤΩΝ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΩΝ ΣΤΑ ΣΚΕΥΑΣΜΑΤΑ.....	61
2.1.1. ΟΡΓΑΝΟΛΟΓΙΑ.....	61
2.1.2. ΔΙΑΛΥΤΕΣ ΚΑΙ ΧΗΜΙΚΑ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ.....	61
2.1.3. ΣΥΛΛΟΓΗ ΤΟΥ ΟΡΓΑΝΙΣΜΟΥ.....	61
2.1.4. ΕΚΧΥΛΙΣΕΙΣ.....	62
2.2. <i>IN VIVO</i> ΔΟΚΙΜΕΣ.....	63

2.2.1. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	63
2.2.2. ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ ΚΑΙ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ.....	72
3.ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	75
3.1. ΠΑΡΑΛΑΒΗ ΤΩΝ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΩΝ.....	75
3.2. <i>IN VIVO</i> ΔΟΚΙΜΕΣ.....	77
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	115
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	117

1.ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

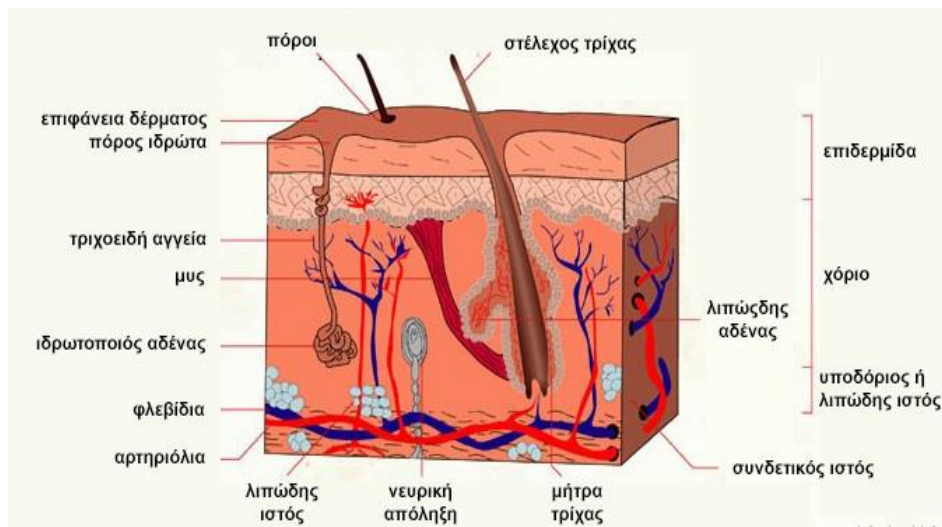
1.1. ΔΕΡΜΑ

Το ανθρώπινο δέρμα είναι το μεγαλύτερο πολυλειτουργικό όργανο του σώματος και η γνώση της δομής και της λειτουργίας του είναι απαραίτητη για τους κλινικούς ερευνητές (Wysocki, 1999). Καλύπτει επιφάνεια περίπου 1,5-2 m² στους ενήλικες και η μάζα του αποτελεί περίπου το 15% της συνολικής σωματικής μάζας (Richardson, 2003).

Το δέρμα συνιστά τον φραγμό μεταξύ του ανθρώπινου σώματος και του εξωτερικού περιβάλλοντος. Προστατεύει το σώμα από εξωγενείς χημικούς και φυσικούς παράγοντες και κατέχει θερμορυθμιστικό ρόλο. Αποτελεί την πρώτη γραμμή άμυνας εναντίον παθογόνων μικροοργανισμών και συμμετέχει σε ανοσολογικές διαδικασίες (Hongbo & Maibach, 2004). Το βαθύτερο στρώμα του δέρματος μπορεί να αποθηκεύει νερό και λιπαρά, ενώ το δέρμα λειτουργεί ως μεταβολικό όργανο παράγοντας ορμόνες και βιταμίνες που είναι σημαντικές για ολόκληρο το σώμα, όπως η βιταμίνη D (Menche, 2012). Ανάμεσα στις λειτουργίες αυτές, η σημαντικότερη είναι η διατήρηση της ομοιόστασης του οργανισμού (Ribeiro *et al.*, 2017).

Το ανθρώπινο δέρμα αποτελείται από τρεις διακριτές, δομικές και λειτουργικές στοιβάδες: (Παπαϊωάννου, 2006):

- την **επιδερμίδα**, επιφανειακά
- το **χόριο** ή **δερμίδα**, που αποτελεί στοιβάδα του συνδετικού ιστού και
- το **υπόδερμα** ή **υποδόριο ιστό** που βρίσκεται κάτω από το χόριο.



Εικόνα 1: Δομή του δέρματος και των εξαρτημάτων του.
 (<https://bioximikos.gr/topics/physiology-anatomy/100-anatomia-dermatos>)

1.1.1. ΕΠΙΔΕΡΜΙΔΑ

Η επιδερμίδα συνιστά το εξώτατο στρώμα του δερματικού ιστού και πρόκειται για ένα κερατινοποιημένο πλακώδες επιθήλιο. Η επιδερμίδα αποτελείται από πλειάδα κερατινοκυττάρων στα διάφορα στάδια της διαφοροποίησής τους (Ribeiro *et al.*, 2017). Συγκεκριμένα, περίπου το 95% των κυττάρων αυτών, είναι κερατινοκύτταρα, ενώ τα υπόλοιπα είναι μελανοκύτταρα, κύτταρα Langerhans και κύτταρα Merkel (Zaidi & Lanigan, 2010). Διακρίνεται στις εξής στοιβάδες (Zaidi & Lanigan, 2010):

- ❖ Βασική ή μητρική στοιβάδα (Stratum Germinatum)
- ❖ Ακανθωτή ή μαλλιγιανή στοιβάδα (Stratum Spinosum)
- ❖ Κοκκιώδης στοιβάδα (Stratum Granulosum)
- ❖ Διαυγής στοιβάδα (Stratum Lucidum)
- ❖ Κεράτινη στοιβάδα (Stratum Corneum)

ΒΑΣΙΚΗ ΣΤΟΙΒΑΔΑ:

Η βασική στοιβάδα περιλαμβάνει τα βαθύτερα κύτταρα της επιδερμίδας τα οποία βρίσκονται σε μια ενιαία στρώση. Αυτά είναι τα μόνα κύτταρα της επιδερμίδας που διαιρούνται συνεχώς και

ανεβαίνουν προς την επιφάνεια με σκοπό τελικώς, να σχηματίσουν την κεράτινη στοιβάδα. Τα κύτταρα αυτά έχουν κυλινδρικό σχήμα με μεγάλους σκουρόχρωμους πυρήνες (Zaidi & Lanigan, 2010). Διατάσσονται το ένα δίπλα στο άλλο και συνδέονται μεταξύ τους με ινίδια που σχηματίζουν, τα δεσμοσώματα. Η βασική στοιβάδα είναι συνεπώς, υπεύθυνη για την συνεχή ανανέωση των επιδερμικών κυττάρων (Αντωνίου και Κατσαμπάς, 2015).

ΑΚΑΝΘΩΤΗ ΣΤΟΙΒΑΔΑ:

Αυτή η στοιβάδα ονομάζεται έτσι διότι τα δεσμοσώματα, που αποτελούν διακυτταρικές γέφυρες, μοιάζουν με άκανθες (Αντωνίου και Κατσαμπάς, 2015). Η ακανθώδης στοιβάδα αποτελείται από 4 έως 10 στρώματα πολυεδρικών κυττάρων. Τα κύτταρα έχουν έναν κεντρικό οβάλ πυρήνα και το κυτταρόπλασμα. Τα κύτταρα περιέχουν επίσης διάφορα οργανίδια, τα οποία βοηθούν στον σχηματισμό της κερατίνης και της ενδοκυτταρικής προσκόλλησης της κεράτινης στοιβάδας (Zaidi & Lanigan, 2010).

ΚΟΚΚΙΩΔΗΣ ΣΤΟΙΒΑΔΑ:

Η κοκκιώδης στοιβάδα, ονομάζεται έτσι, λόγω των κόκκων που περιέχει. Αυτοί οι κόκκοι, ονομάζονται κόκκοι κερατοϋαλίνης, που αποτελεί την πρόδρομη ουσία της κερατίνης. Περιέχουν πρωτεΐνες, όπως η ιστιδίνη, οι οποίες βοηθούν στην δέσμευση των κυττάρων της κερατίνης στοιβάδας. Επιπλέον, τα λιπίδια της κοκκιώδους στοιβάδας αποβάλλονται στο μεσοκυττάριο διάστημα και συμβάλλουν στην κυτταρική συνοχή. Η κοκκιώδης στοιβάδα έχει πάχος τριών έως τεσσάρων στρωμάτων και τα κύτταρα της έχουν σχήμα διαμαντιού (Zaidi & Lanigan, 2010).

ΔΙΑΥΓΗΣ ΣΤΟΙΒΑΔΑ:

Αυτή η στρώση βρίσκεται μεταξύ της κοκκιώδους και της κεράτινης στοιβάδας. Βρίσκεται μόνο στις παλάμες και τα πέλματα, όπου το δέρμα είναι πολύ παχύ. Τα κύτταρα της διαυγούς στοιβάδας είναι εμπύρνηνα, διαθέτουν αδιαφανείς μεμβράνες και πυκνό κυτταρόπλασμα (Zaidi & Lanigan, 2010).

ΚΕΡΑΤΙΝΗ ΣΤΟΙΒΑΔΑ:

Η τελική εξωτερική στοιβάδα είναι η κεράτινη στοιβάδα. Τα βιώσιμα εμπύρνηνα κύτταρα της κοκκιώδους στοιβάδας, καθώς μετακινούνται από την κοκκιώδη στοιβάδα προς την κεράτινη, μετατρέπονται απότομα σε απύρνηνα νεκρά κύτταρα της κερατίνης στοιβάδας. Η κεράτινη στοιβάδα, αποτελείται πλέον από επιπεδα, απύρνηνα κύτταρα (πετάλια), με κεραμωτή αλληλουχία (Zaidi & Lanigan, 2010). Τα κύτταρα της κερατίνης στοιβάδας, συνενώνονται σταθερά μεταξύ τους και

δημιουργούν φραγμό προς το περιβάλλον, προσδίδοντας στο δέρμα μια σημαντική ιδιότητα, την αδιαπερατότητα (Παπαϊωάννου, 2006).

Τα κύτταρα της κεράτινης στοιβάδας είναι μεγάλα, επίπεδα πολυεδρικά και άφθονα σε κερατίνη. Διαφέρουν σε πάχος από 15 έως 25 στρώματα. Τα κύτταρα της κεράτινης στοιβάδας αλληλεπικαλύπτονται και είναι πλούσια σε λιπίδια. Το γεγονός αυτό καθιστά την κεράτινη στοιβάδα αδιαπέραστη.

Τα ανώτερα στρώματα της κεράτινης στοιβάδας αποβάλλονται από την επιφάνεια του δέρματος. Ο ίδιος αριθμός κυττάρων αντικαθίστανται από τα κύτταρα της βασικής στοιβάδας. Η μετανάστευση των κυττάρων από την βασική στοιβάδα προς την κορυφή της κοκκιδώδους στοιβάδας διαρκεί περίπου 26-42 ημέρες και η διάσχιση των κυττάρων από την κεράτινη στοιβάδα προς την επιφάνεια άλλες 13-14 ημέρες. Έπειτα αποβάλλονται (Zaidi & Lanigan, 2010).

ΕΠΙΔΕΡΜΙΚΗ ΑΝΑΝΕΩΣΗ:

Το δέρμα ανανεώνεται συνεχώς με μια διαδικασία γνωστή, ως κερατινοποίηση. Συγκεκριμένα, καθώς η επιδερμίδα αποτελεί έναν μεταβολικά ενεργό ιστό, τα κερατινοκύτταρα που παράγονται στη βασική στοιβάδα κινούνται ανοδικά, προς την εξωτερική επιφάνεια, τροποποιώντας την δομή τους και τις φυσιολογικές τους λειτουργίες. Έτσι χάνουν σταδιακά την λειτουργικότητά τους, μέχρι που αποπίπτουν. Έπειτα, με την απομάκρυνση των νεκρών κυττάρων της επιφάνειας, νέα κύτταρα της βασικής στοιβάδας κινούνται προς τα πάνω, τροφοδοτώντας συνεχώς την κεράτινη στοιβάδα. Ένας κύκλος της παραπάνω διαδικασίας, διαρκεί περίπου 28 ημέρες ανάλογα με την ηλικία, την περιοχή του σώματος και άλλους παράγοντες (Tigarashi *et al.*, 2005).

1.1.2. ΚΥΤΤΑΡΑ ΤΗΣ ΕΠΙΔΕΡΜΙΔΑΣ

Η επιδερμίδα περιλαμβάνει τέσσερις τύπους κυττάρων. Τα κερατινοκύτταρα, τα μελανοκύτταρα, τα κύτταρα του Langerhans και τα κύτταρα του Merkel.

ΚΕΡΑΤΙΝΟΚΥΤΤΑΡΑ:

Τα κερατινοκύτταρα είναι τα κυρίαρχα συστατικά κύτταρα της επιδερμίδας και αποτελούν το μεγαλύτερο ποσοστό των κυττάρων της. Αυτά τα κύτταρα παράγουν μια ινώδη πρωτεΐνη που ονομάζεται κερατίνη και συμβάλλει στην ακαμψία του εξωτερικού στρώματος του δέρματος. Τα κερατινοκύτταρα προστατεύουν το σώμα από το εξωτερικό περιβάλλον, για παράδειγμα από διέγερση, τριβή και παθογόνους μικροοργανισμούς, διατηρώντας παράλληλα την υγρασία

(Tigarashi *et al.*, 2005). Η παραγωγή των κερατινοκυττάρων πραγματοποιείται στην βασική στοιβάδα και σε αυτό το στάδιο χαρακτηρίζονται ως εμπύρηννα κύτταρα. Στην συνέχεια, κάθε κερατινοκύτταρο κινείται προς τις ανώτερες στοιβάδες, για να φτάσει τελικά στην κεράτινη στιβάδα. Κατά την διάρκεια αυτής της πορείας, το κερατινοκύτταρο, υφίσταται μεγάλο αριθμό μεταβολών στην δομή και την λειτουργία του, καταλήγοντας στην κεράτινη στιβάδα, ως απύρηννο κύτταρο μέχρι την απόπτωσή του (Κατσάμπας, 2001).

ΜΕΛΑΝΙΝΟΚΥΤΤΑΡΑ:

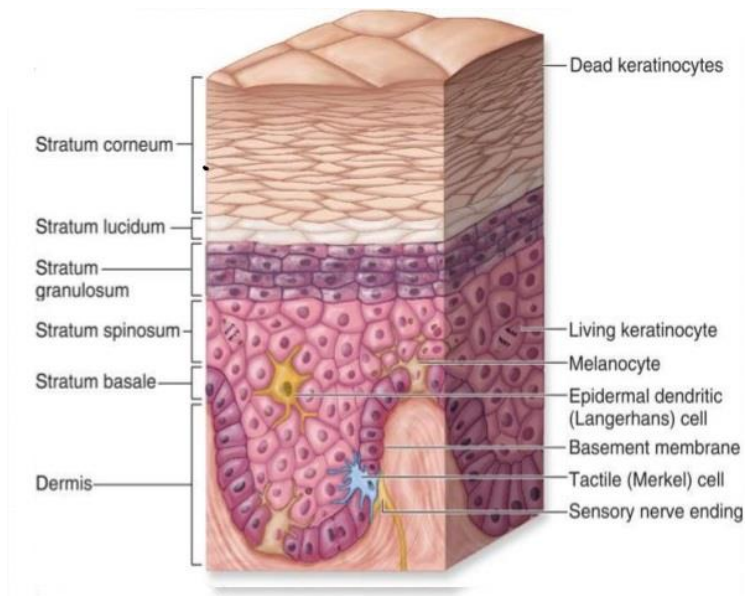
Αυτά είναι τα κύτταρα που παράγουν την χρωστική της επιδερμίδας, την μελανίνη, η οποία είναι μία από τις κύριες χρωστικές που απορροφούν το φως στο δέρμα. Τα μελανοκύτταρα είναι παρόντα στην βασική στοιβάδα. Πρόκειται για δενδριτικά κύτταρα που μεταφέρουν την μελανίνη μέσω των ινιδίων (δενδρίτες), στα κερατινοκύτταρα για να τα προστατεύσουν από το υπεριώδες φως και να δώσουν χρώμα στο δέρμα. Στην κεράτινη στιβάδα, είναι ομοιόμορφα κατανεμημένα για να σχηματίσουν μια απορροφητική υπεριώδη επένδυση, η οποία μειώνει την ποσότητα της ακτινοβολίας που διεισδύει στο δέρμα (Zaidi & Lanigan, 2010). Υπάρχουν γενικά 1000 έως 2000 μελανοκύτταρα σε 1 mm² δέρματος. Τα μελανοκύτταρα περιέχουν εξειδικευμένα οργανίδια που ονομάζονται μελανοσώματα. Όταν το δέρμα είναι εκτεθειμένο στο ηλιακό φως, ενεργοποιούνται τα μελανοσώματα και παράγουν την μελανίνη. Η πυκνότητα των μελανοσωμάτων εξαρτάται από την περιοχή του σώματος. Για παράδειγμα, περιοχές που εκτίθενται συχνά στο ηλιακό φως, όπως το πρόσωπο, έχουν μεγαλύτερη πυκνότητα από άλλες περιοχές (Tigarashi *et al.*, 2005).

ΚΥΤΤΑΡΑ ΤΟΥ LANGERHANS:

Αυτά τα κύτταρα παράγονται στον μυελό των οστών, είναι κύτταρα αντιγόνο-παρουσιαστικά και σχηματίζουν την πρώτη γραμμή άμυνας του δέρματος. Διαθέτουν έναν πυρήνα σε σχήμα λωβού και αναγνωρίζονται από τους κόκκους σε σχήμα ρακέτας (κόκκοι Birbeck). Αυτοί οι κόκκοι μπορούν να φανούν υπό ηλεκτρονικό μικροσκόπιο (Zaidi & Lanigan, 2010).

ΚΥΤΤΑΡΑ ΤΟΥ MERKEL:

Αυτά τα κύτταρα βρίσκονται επίσης στην βασική στοιβάδα, σε στενή γειτνίαση με τους θύλακες των τριχών. Διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην αίσθηση της αφής. Το κυτταρόπλασμα τους περιέχει νευροπεπτιδικούς κόκκους, όπως νευροεμφυτεύματα και κερατίνη (Zaidi & Lanigan, 2010).



Εικόνα 2:Οι στοιβάδες της επιδερμίδας και τα είδη κυττάρων της. (<http://axierrentxokoa.blogariak.net/2015/12/larruazala>)

1.1.3. ΧΟΡΙΟ

Το χόριο συνιστά ένα στρώμα δέρματος μεταξύ της επιδερμίδας και του υποδόριου. Αποτελείται από ίνες κολλαγόνου, ελαστικές ίνες, εξωκυττάρια θεμέλια ουσία (γλυκοζαμινογλυκάνες), ινοβλάστες, δερμικά δενδροκύτταρα (δενδριτικά κύτταρα με πιθανή ανοσολογική λειτουργία), μαστοκύτταρα, ιστιοκύτταρα, αιμοφόρα αγγεία, νεύρα και λεμφοκύτταρα.

Το χόριο υποδιαιρείται σε δύο τμήματα: το ανώτερο τμήμα που ονομάζεται θηλώδες χόριο και το κατώτερο τμήμα, το δικτυωτό χόριο. Δεν υπάρχει σαφής οριοθέτηση μεταξύ των δύο τμημάτων. Οι ίνες στο θηλώδες χόριο είναι λεπτές και αλληλεπιδρούν με τις επιδερμικές κορυφογραμμές, ενώ οι ίνες του δικτυωτού χορίου είναι παχιές και χονδροειδείς (Zaidi & Lanigan, 2010).

ΘΗΛΩΔΕΣ ΧΟΡΙΟ:

Ονομάζεται έτσι γιατί εισχωρεί με προεκβολές (θηλές) στην επιδερμίδα και είναι το ανώτερο στρώμα του χορίου. Περιέχει ένα λεπτό δίκτυο ινών κολλαγόνου τύπου I και III, ελαστικές ίνες, άφθονη εξωκυττάρια θεμέλια ουσία, πλούσιο τριχοειδικό αγγειακό δίκτυο και ελεύθερες νευρικές απολήξεις που σε ορισμένο ποσοστό εισέρχονται και στην επιδερμίδα.

ΔΙΚΤΥΩΤΟ ΧΟΡΙΟ:

Το δικτυωτό χόριο, ονομάζεται έτσι, επειδή οι ίνες του κολλαγόνου παρουσιάζουν περίπλοκη (δικτυωτή) δομή. Βρίσκεται μεταξύ του θηλώδους χορίου και του υποδόριου ιστού και αποτελείται από πολλές στιβάδες πυκνών δεσμίδων κολλαγόνου I, παράλληλων προς την επιφάνεια, παχιές,

κατακερματισμένες ελαστικές ίνες, λίγη θεμέλια ουσία, αιμοφόρα και λεμφικά αγγεία καθώς και αυτόνομη νεύρωση.

1.1.4. ΥΠΟΔΕΡΜΑ Ή ΥΠΟΔΟΡΙΟΣ ΙΣΤΟΣ

Το υπόδερμα είναι το βαθύτερο στρώμα του δέρματος και αποτελείται από λιποκύτταρα. Το υπόδερμα έχει πάχος από 2 έως 30 mm. Το ποσό του υποδόριου λίπους (υπόδερμα) ποικίλει από άτομο σε άτομο, όπως και πάνω στο ίδιο το άτομο από περιοχή σε περιοχή. Τα λιποκύτταρα είναι διατεταγμένα σε λιπώδεις λοβούς, οι οποίοι διαχωρίζονται μεταξύ τους με ινώδη διαφράγματα. Δεσμίδες από ίνες που προέρχονται από το χόριο και εκτείνονται μέσα στο υπόδερμα, ενισχύουν την σύνδεση μεταξύ αυτών των δύο διαμερισμάτων. Σε μη παχύσαρκους, περίπου το 80% του συνόλου του σωματικού λίπους βρίσκεται στο εσωτερικό του υποδόριου ιστού (Lai-Cheong & McGrath, 2017). Ο υποδόριος ιστός έχει διάφορες λειτουργίες ανάμεσα στις οποίες είναι και η προστασία του σώματος από τα τραύματα (μηχανική προστασία). Επιπλέον, λειτουργεί ως μονωτής θερμότητας και αποτελεί σημαντική αποθήκη διατροφικής ενέργειας (Zaidi & Lanigan, 2010).

1.1.5. ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΤΟΥ ΔΕΡΜΑΤΟΣ

Η κύρια λειτουργία του δέρματος είναι ο διαχωρισμός του εσωτερικού φυσιολογικού περιβάλλοντος του σώματος από το εξωτερικό περιβάλλον. Αποτελεί δηλαδή, έναν ισχυρό φραγμό. Ο φραγμός του δέρματος είναι φυσικής, χημικής και ανοσολογικής φύσεως. Ο φυσικός φραγμός παρέχεται κυρίως από την κεράτινη στιβάδα και είναι υπεύθυνος για την ρύθμιση της εισόδου εξωγενών παραγόντων, αποτρέποντας παράλληλα και την υπερβολική απώλεια νερού από το σώμα. Ο χημικός φραγμός του δέρματος οφείλει την λειτουργία του στην όξινη (pH 4-6) φύση της επιφάνειας του δέρματος που προστατεύει το σώμα με δύο τρόπους. Πρώτα, προσδίδει επιλεκτικές αντιμικροβιακές ιδιότητες στο δέρμα διατηρώντας την φυσιολογική μικροχλωρίδα του δέρματος, που ζει βέλτιστα σε όξινο περιβάλλον, ενώ προλαμβάνει την ανάπτυξη των παθογόνων μικροοργανισμών που ευδοκιμούν σε αλκαλικά περιβάλλοντα.

Δεύτερον, βοηθά στην διατήρηση της ακεραιότητας του φραγμού της κεράτινης στιβάδας, καθώς πολλά ένζυμα του δέρματος, που είναι ζωτικής σημασίας ως προς την ομοίωση των λιπιδίων της κεράτινης στιβάδας έχουν ένα βέλτιστο pH μέσα σε αυτό το εύρος pH. Οι σμηγματογόνοι αδένες του δέρματος, οι οποίες εκκρίνουν σμήγμα, εκτελούν παρόμοια λειτουργία. Το σμήγμα περιέχει επίσης αντιμικροβιακά συστατικά.

Το δέρμα αποτελεί επίσης ένα ανοσοποιητικό όργανο, καθώς μεγάλο μέρος των κυττάρων που το συνιστούν, είναι κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος συμπεριλαμβανομένων των κυττάρων

του Langerhans, δερμικών δενδριτικών κυττάρων και μακροφάγων. Αυτά τα κύτταρα διεξάγουν ανοσολογική επιτήρηση και υπερασπίζονται το σώμα ενάντια στους εισβάλλοντες μικροοργανισμούς (Ng & Lau, 2015).

1.1.6. ΤΟ ΔΕΡΜΑ ΤΩΝ ΑΤΡΙΧΩΝ ΜΥΩΝ ΣΑΝ ΜΟΝΤΕΛΟ ΜΕΛΕΤΗΣ

Οι άτριχοι μύες τύπου SKH-hr έχουν 80% ομολογία γονιδιώματος συγκριτικά με το γονιδίωμα του ανθρώπου, μικρό σχετικά κύκλο ζωής (περίπου 2 έτη), δίνουν υψηλό αριθμό απογόνων (8-10/γέννα), είναι εύκολη η συντήρησή τους στο εργαστήριο και επιπλέον οι φυσιολογικές διεργασίες τους είναι παρόμοιες με εκείνες του ανθρώπου, οπότε προτιμώνται οι μελέτες σε αυτούς συγκριτικά με άλλα θηλαστικά.

Αν και έχουν αναπτυχθεί ποικίλα στελέχη χωρίς τρίχες, τα SKH-hr ποντίκια είναι τα πιο ευρέως χρησιμοποιούμενα στην δερματολογική έρευνα. Κι αυτό γιατί επιτρέπουν τον εύκολο χειρισμό του δέρματος, την εφαρμογή τοπικών παραγόντων, την έκθεση σε UV ακτίνες, καθώς και την εύκολη απεικόνιση της δερματικής απόκρισης. Η επούλωση πληγών, οι οξείες φωτοβιολογικές αποκρίσεις και η καρκινογένεση του δέρματος έχουν μελετηθεί εκτενώς σε ποντίκια SKH-hr1 και αποδίδουν επαρκώς καλά. Τα άτριχα ποντίκια είναι εξαιρετικά για μελέτες επούλωσης πληγών, καθώς αποφεύγεται η σχετιζόμενη με την αποτρίχωση φλεγμονή και η αναγέννηση των μαλλιών δεν επισκιάζει την απόκριση της επούλωσης.

Τα μοντέλα εκτομής πληγών που χρησιμοποιούνται σε ποντίκια με τρίχες, μπορούν εύκολα να προσαρμοστούν σε ποντικούς χωρίς τρίχες, ώστε να πραγματοποιηθούν μελέτες παρατεταμένης επούλωσης λόγω ισχαιμίας ή διαβήτη (Uhl *et al.*, 2003). Όπως και στα ποντίκια με τρίχες, τα στάδια επούλωσης πληγών, περιλαμβάνουν την φλεγμονή (σχηματισμό θρόμβου και εισροή λευκοκυττάρων), την φάση του πολλαπλασιασμού και την αναδιαμόρφωση του ιστού (σχηματισμός ουλών). Τα πλήρους πάχους τραύματα, εν τω βάθει παρουσιάζουν σημαντική συστολή, λόγω της δραστηριότητας του υποδόριου ιστού. Μια τέτοια συστολή του τραύματος μπορεί να φθάσει μέχρι και το 90%, σε αντίθεση με την κατάσταση του ανθρώπου (Greenhalgh, 2005). Αυτή η συστολή, εμφανίζεται πολύ νωρίς κατά την διάρκεια της επούλωσης του τραύματος και είναι αρκετά διαφορετική από την συστολή που οφείλεται στην μετανάστευση των ινοβλαστών και των μυοϊνοβλαστών, η οποία εμφανίζεται στην φάση της αναδιαμόρφωσης του ιστού .



Εικόνα 3: SKH-hr1 μύες. (πηγή: <https://www.criver.com/products-services/find-model/skh1-hairless-mouse?region=3616>)

1.2. Η ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΕΠΟΥΛΩΣΗΣ

1.2.1. ΤΡΑΥΜΑ ΚΑΙ ΕΠΟΥΛΩΣΗ

Ως τραύμα, περιγράφεται οποιαδήποτε βλάβη του δερματικού ιστού, που προκαλείται από εξωτερική δύναμη, με αποτέλεσμα την διάσπαση της ακεραιότητας της επιδερμίδας και την πιθανή λειτουργική απώλεια του ιστού, στο σημείο του τραύματος (Reinke & Sorg, 2012).

Η επούλωση τραυμάτων είναι μια φυσιολογική αντίδραση του οργανισμού, στον τραυματισμό των ιστών (Bowden *et al.*, 2016). Πρόκειται για ένα σύνθετο βιολογικό φαινόμενο, που περιλαμβάνει μια πολύπλοκη αλληλεπίδραση μεταξύ πολυάριθμων κυτταρικών τύπων, κυτοκινών, μεσολαβητών και του αγγειακού συστήματος με σκοπό την αποκατάσταση της βλάβης και την αναγέννηση του ιστού. (Bowden *et al.*, 2016). Αρχίζει αμέσως μετά τον τραυματισμό του επιδερμικού στρώματος και μπορεί να διαρκέσει χρόνια.

Η επούλωση ενός τραύματος, διακρίνεται αδρά σε δύο κατηγορίες:

- Στην οξεία επούλωση, όπου τα τραύματα θεραπεύονται με ομαλή πρόοδο, ωριμάζουν μέσω καθορισμένων φάσεων πήξης, φλεγμονής, σύνθεσης και εναπόθεσης μήτρας, αγγειογένεσης, επιθηλιοποίησης και αναδιαμόρφωσης του ιστού.
- Στην χρόνια επούλωση, στην οποία μια πληγή αδυνατεί να επουλωθεί σύμφωνα με την προηγούμενη τακτική και έγκαιρη ακολουθία φάσεων, με αποτέλεσμα την απουσία της δομικής και λειτουργικής ακεραιότητας του ιστού (Stadelmann *et al.*, 1998).

1.2.2. ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΕΠΟΥΛΩΣΗΣ

Ως φυσιολογική βιολογική διαδικασία, η επούλωση τραυμάτων στο ανθρώπινο σώμα, επιτυγχάνεται μέσω τεσσάρων, με μεγάλη ακρίβεια, προγραμματισμένων φάσεων: της αιμόστασης, της φλεγμονής, του πολλαπλασιασμού και της αναδιαμόρφωσης. Για να θεραπευθεί μια πληγή με επιτυχία, πρέπει να εμφανιστούν και οι τέσσερις φάσεις με την σωστή ακολουθία και στο κατάλληλο χρονικό πλαίσιο.

I.ΦΑΣΗ ΑΙΜΟΣΤΑΣΗΣ:

Μέσα στα πρώτα λεπτά του τραυματισμού, τα αιμοπετάλια στο αίμα αρχίζουν να εισέρχονται στον τραυματισμένο χώρο. Έτσι, τα αιμοπετάλια ενεργοποιούνται, μεταβάλλοντας το σχήμα τους σε ένα πιο κατάλληλο για την πήξη και απελευθερώνουν χημικά σήματα για να την προάξουν. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την ενεργοποίηση του ινώδους, το οποίο σχηματίζει ένα πλέγμα και δρα ως "κόλλα" για να συνδέσει τα αιμοπετάλια μεταξύ τους. Δημιουργείται έτσι ένας θρόμβος που χρησιμεύει για να επιδιορθώσει το σπασμένο αιμοφόρο αγγείο, επιβραδύνοντας και αποτρέποντας την περαιτέρω αιμορραγία (Rasche, 2001). Μια δυναμική ισορροπία μεταξύ των κυττάρων του ενδοθηλίου, θρομβοκυττάρων, θρόμβωσης και ινωδολύσης ρυθμίζει την αιμόσταση και προσδιορίζει την ποσότητα του ινώδους στην περιοχή του τραύματος, επηρεάζοντας έτσι την πρόοδο των διαδικασιών αποκατάστασης. Ο κύριος στόχος της φάσης της αιμόστασης είναι να αποτραπεί η ακατάσχετη αιμορραγία. Είναι ένας τρόπος να προστατευτεί το αγγειακό σύστημα, έτσι ώστε η λειτουργία των ζωτικών οργάνων να παραμείνει άθικτη, παρά τον τραυματισμό (Velnar *et al.*, 2009).

II.ΦΑΣΗ ΦΛΕΓΜΟΝΗΣ:

Η φάση που ακολουθεί, είναι εκείνη της φλεγμονής, που έχει ως στόχο την δημιουργία ενός ανοσολογικού φραγμού κατά των εισερχόμενων μικροοργανισμών. Αρχίζει 24 ώρες μετά τον τραυματισμό και διακρίνεται σε δύο φάσεις, μια πρώιμη φλεγμονώδη φάση και μια τελική φλεγμονώδη φάση.

α) Πρώιμη φλεγμονώδης φάση

Ξεκινώντας κατά την τελευταία φάση της πήξης και λίγο αργότερα, η πρώτη φλεγμονώδης αντίδραση έχει πολλές λειτουργίες. Ενεργοποιεί τον καταρράκτη του συμπληρώματος και ξεκινά μοριακά συμβάντα, οδηγώντας στην διείσδυση ουδετερόφιλων στη θέση του τραύματος, των οποίων η κύρια λειτουργία είναι, να αποτρέψουν την μόλυνση.

Τα ουδετερόφιλα αρχίζουν με το κρίσιμο καθήκον της φαγοκυττάρωσης προκειμένου να καταστρέψουν και να απομακρύνουν βακτήρια, ξένα σωματίδια και κατεστραμμένο ιστό. Η

φαγοκυττάρωση είναι κρίσιμη για τα επόμενα στάδια, επειδή οξείες πληγές που έχουν βακτηριακή ανισορροπία δεν θα θεραπευθούν. Τα ουδετερόφιλα αρχίζουν να προσελκύονται στην περιοχή του τραύματος μέσα σε 24-36 ώρες μετά τον τραυματισμό, από διάφορους χημειοτακτικούς παράγοντες, συμπεριλαμβανομένων των TGF- β , συστατικών του συμπληρώματος, όπως οι C3a, C5a και φορμυλομεθειονυλο πεπτιδίων που παράγονται από βακτηρίδια και προϊόντα των αιμοπεταλίων. Λόγω αλλαγών στην επιφάνεια προσκόλλησης των μορίων, τα ουδετερόφιλα γίνονται κολλώδη και μέσω μιας διαδικασίας περιθωριοποίησης, αρχίζουν να προσκολλώνται στα ενδοθηλιακά κύτταρα των τριχοειδών φλεβιδίων γύρω από την πληγή. Στη συνέχεια, τα ουδετερόφιλα κυλούν στην επιφάνεια του ενδοθλίου, καθώς σπρώχνονται από τη ροή του αίματος, έμπροσθεν. Αυτές οι συμφύσεις και οι μηχανισμοί κύλισης διαμεσολαβούνται από αλληλεπιδράσεις που εξαρτώνται από την σελεκτίνη. Οι χημειοκίνες που εκκρίνονται από τα ενδοθηλιακά κύτταρα ενεργοποιούνται γρήγορα από ένα ισχυρότερο σύστημα πρόσφυσης, που προκαλείται από τις ιντεγκρίνες. Τα κύτταρα σταματούν να κυλούν και μεταναστεύουν έξω από τα φλεβίδια, συμπιεζόμενα μεταξύ των ενδοθηλιακών κυττάρων με μια διαδικασία γνωστή ως διαπήδηση.

Η μεταγενέστερη μετανάστευση εξαρτάται τώρα από χημειοκίνες και άλλους χημειοτακτικούς παράγοντες. Τα ουδετερόφιλα μόλις βρεθούν στο περιβάλλον της πληγής, φαγοκυτταρώνουν το ξένο υλικό και τα βακτηρίδια απελευθερώνοντας πρωτεολυτικά ένζυμα και ελεύθερες ρίζες που προέρχονται από το οξυγόνο. Μετά την ολοκλήρωση της εργασίας, τα ουδετερόφιλα πρέπει να εξαιρεθούν από την πληγή πριν από την έναρξη της επόμενης φάσης της επούλωσης. Τα πλεονάζοντα ουδετερόφιλα απορρίπτονται με εξώθηση από την επιφάνεια του τραύματος ή με απόπτωση. Τα κυτταρικά υπολείμματα και τα αποπτωτικά κύτταρα, φαγοκυτταρώνονται τότε από μακροφάγα (Velnar *et al.*, 2009).

β) Ύστερη φλεγμονώδης φάση

Ως μέρος της τελικής φλεγμονώδους φάσης, 48-72 ώρες μετά τον τραυματισμό, εμφανίζονται μακροφάγα στην πληγή για να συνεχίσουν την διαδικασία της φαγοκυττάρωσης. Αυτά τα κύτταρα, είναι αρχικά, μονοκύτταρα του αίματος που υποβάλλονται σε φαινοτυπικές αλλαγές κατά την άφιξή τους στην πληγή, ώστε να γίνουν μακροφάγα του ιστού.

Προσελκύονται στον χώρο του τραύματος από μια μυριάδα χημειοτακτικών παραγόντων, όπως εκείνων της πήξης του αίματος, συστατικά του συμπληρώματος, κυτοκίνες όπως η PDGF, η TGF- β , το λευκοτριένιο B4 και τον παράγοντα IV των αιμοπεταλίων, καθώς και από την ελαστίνη και προϊόντα διάσπασης του κολλαγόνου.

Τα μακροφάγα έχουν μεγαλύτερη διάρκεια ζωής από τα ουδετερόφιλα και συνεχίζουν να εργάζονται σε χαμηλότερο pH. Αυτά τα κύτταρα είναι θεμελιώδη για το τελευταίο στάδιο της φλεγμονώδους αντίδρασης, ενεργώντας ως ρυθμιστικά κύτταρα-κλειδιά, καθώς παρέχουν μια τεράστια δεξαμενή ισχυρών αυξητικών παραγόντων στον ιστό, κυρίως του TGF-β, καθώς και άλλων μεσολαβητών, όπως του TGF-α (επιδερμικός αυξητικός παράγοντας στην σύνδεση της ηπαρίνης), του FGF (παράγοντας ανάπτυξης ινοβλαστών) και της κολλαγενάσης. Επιπλέον, ενεργοποιούν κερατινοκύτταρα, ινοβλάστες και ενδοθηλιακά κυττάρα.

Τα τελευταία κύτταρα που εισέρχονται στο σημείο της πληγής, στην ύστερη φλεγμονώδη φάση, είναι τα λεμφοκύτταρα, που προσελκύονται εκεί, 72 ώρες μετά από τον τραυματισμό, μέσω της ιντερλευκίνης-1 (IL-1), συστατικών του συμπληρώματος, όπως και μέσω της ανοσοσφαιρίνης G (IgG).

Η IL-1 παίζει σημαντικό ρόλο στην ρύθμιση της κολλαγενάσης, η οποία είναι απαραίτητη αργότερα, για την αναδιαμόρφωση του κολλαγόνου, την παραγωγή των συστατικών της εξωκυττάριας μήτρας και την μετέπειτα απομάκρυνσή τους (Velna *et al.*, 2009).

III.ΦΑΣΗ ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΜΟΥ:

Όταν η αιμόσταση έχει επιτευχθεί και η ανοσολογική αντίδραση έχει ξεκινήσει να λαμβάνει χώρα επιτυχώς, η οξεία επούλωση οδεύει προς την επιδιόρθωση και αποκατάσταση του ιστού. Η φάση του πολλαπλασιασμού ξεκινάει την τρίτη ημέρα μετά τον τραυματισμό και διαρκεί περίπου 2 εβδομάδες. Χαρακτηρίζεται από μετανάστευση ινοβλαστών και εναπόθεση πρόσφατα συνθεθειμένης εξωκυττάριας μήτρας, ενεργώντας ως αντικαταστάτης του προσωρινού δικτύου που αποτελείται από ινώδες και φμπρονεκτίνη. Οι ποικίλες διαδικασίες που λαμβάνουν χώρα στην φάση του πολλαπλασιασμού, περιγράφονται εν συντομία παρακάτω:

α) Μετακίνηση ινοβλαστών:

Μετά τον τραυματισμό, ινοβλάστες και μυοϊνοβλάστες στον περιβάλλοντα ιστό, διεγείρονται ώστε να πολλαπλασιαστούν, μέσα σε 3 ημέρες. Στην συνέχεια μεταναστεύουν στην πληγή, όπου προσελκύονται από παράγοντες όπως ο TGF-β και ο PDGF, που απελευθερώνονται από φλεγμονώδη κύτταρα και αιμοπετάλια. Οι ινοβλάστες εμφανίζονται για πρώτη φορά στην πληγή την τρίτη ημέρα μετά τον τραυματισμό. Μόλις έρθουν στην πληγή, πολλαπλασιάζονται αφειδώς και παράγουν τις πρωτεΐνες της μήτρας, δηλαδή την υαλουρονάνη, την ινονεκτίνη, πρωτεογλυκάνες και προκολλαγόνο τύπου I και τύπου III. Μέχρι το τέλος της πρώτης εβδομάδας, συσσωρεύεται άφθονη εξωκυττάρια μήτρα, η οποία υποστηρίζει περαιτέρω, την μετανάστευση κυττάρων και είναι απαραίτητη για την διαδικασία της επιδιόρθωσης. Σε αυτό το στάδιο, οι ινοβλάστες μετατρέπονται

σε μυοϊνοβλάστες και περιέχουν παχές δέσμες ακτίνης κάτω από την μεμβράνη του πλάσματος, εκτείνοντας ενεργά ψευδοπόδια, συνδεόμενα με φμπρονεκτίνη και κολλαγόνο στην εξωκυττάρια μήτρα.

Όταν αυτές οι επεκτάσεις των κυττάρων συστέλλονται, λαμβάνει χώρα, η συστολή της πληγής, που είναι ένα σημαντικό γεγονός στην διαδικασία της αποκατάστασης του τραύματος. Έχοντας φέρει εις πέρας αυτό το καθήκον, οι πλεονάζοντες ινοβλάστες εξαλείφονται μέσω της απόπτωσης (Velnar *et al.*, 2009) .

β) Σύνθεση κολλαγόνου:

Το κολλαγόνο αποτελεί ένα σημαντικό συστατικό για όλες τις φάσεις της επούλωσης. Συντίθεται από τους ινοβλάστες, οι οποίοι προσδίδουν ακεραιότητα και ισχύ σε όλους τους ιστούς και διαδραματίζουν βασικό ρόλο, ιδιαίτερα στις φάσεις του πολλαπλασιασμού και της αναδιαμόρφωσης του τραύματος. Το κολλαγόνο ενεργεί ως θεμέλιο για τον ενδοκυτταρικό σχηματισμό μήτρας μέσα στο τραύμα (Velnar *et al.*, 2009).

γ) Αγγειογένεση:

Τα αγγεία είναι κρίσιμα στην επούλωση πληγών και λαμβάνουν μέρος σε όλες τις φάσεις της επιδιορθωτικής διαδικασίας. Εκτός από την προσέλκυση ουδετερόφιλων και μακροφάγων, πολλοί παράγοντες αγγειογένεσης που παράγονται κατά την διάρκεια της φάσης της αιμόστασης, προάγουν την αγγειογένεση.

Τα ενδοθηλιακά κύτταρα ανταποκρίνονται σε έναν αριθμό αγγειογόνων παραγόντων, συμπεριλαμβανομένων του FGF, του VEGF (αγγειακός ενδοθηλιακός αυξητικός παράγοντας), του PDGF, της αγγειογενίνης, των TGF-α και TGF-β.

Μια ωραία ισορροπία τηρείται από τη δράση των ανασταλτικών παραγόντων, όπως η αγγειοστατίνη και τα στεροειδή. Οι ανασταλτικοί και διεγερτικοί παράγοντες ενεργούν σε πολλαπλασιαζόμενα ενδοθηλιακά κύτταρα, άμεσα και έμμεσα, ενεργοποιώντας την μίτωση, προωθώντας την μετακίνηση και διεγείροντας τα κύτταρα-ξενιστές να απελευθερώσουν ενδοθηλιακούς αυξητικούς παράγοντες.

Κάτω από υποξικές συνθήκες, εκκρίνονται μόρια από τον περιβάλλοντα ιστό, προωθώντας τον πολλαπλασιασμό και την ανάπτυξη ενδοθηλιακών κυττάρων. Σε απάντηση, πραγματοποιείται μια διαδικασία σε τέσσερα βήματα: (i) παραγωγή πρωτεασών από ενδοθηλιακά κύτταρα για την αποικοδόμηση του βασικού στρώματος στο μητρικό αγγείο, ώστε να διοχετευθεί προς τα έξω μέσω

της εξωκυττάριας ουσίας, (ii) χημειοταξία, (iii) πολλαπλασιασμός και (iv) αναδιαμόρφωση. Οι FGF και VEGF παίζουν κεντρικό ρυθμιστικό ρόλο σε όλες τις διαδικασίες.

Αρχικά, δεν υπάρχει αγγειακή παροχή αίματος στο σημείο της πληγής και στον βιώσιμο ιστό που περιορίζεται στα περιθώρια της πληγής, διοχετεύουν αίμα τα μη τραυματισμένα αγγεία. Τριχοειδείς βλαστοί από τις γύρω άκρες εισβάλλουν στον θρόμβο του τραύματος και μέσα σε λίγες ημέρες, σχηματίζεται ένα μικροαγγειακό δίκτυο που αποτελείται από πολλά νέα τριχοειδή αγγεία. Η χημειοταξία είναι η ικανότητα των κυττάρων να κινηθούν κατά μήκος μιας χημικής πορείας. Αυτός ο βιοχημικός μηχανισμός επιτρέπει στα κύτταρα να αντιδρούν σωστά στα περιβαλλοντικά ερεθίσματα που καθορίζουν τον πολλαπλασιασμό, την διαφοροποίηση και την μετανάστευση. Οι χημειοτακτικοί παράγοντες στους υποδοχείς της κυτταρικής επιφάνειας, κατευθύνουν την μετανάστευση των κυττάρων που εμπλέκονται στην αγγειογένεση, κατά την διάρκεια της επούλωσης του τραύματος. Η μετανάστευση είναι η συνέπεια της χημειοτακτικής δραστηριότητας και είναι απαραίτητη για την αγγειογένεση. Ως μια περίπλοκη διαδικασία που συνεπάγεται συντονισμένες αλλαγές στην κυτταροσκελετική οργάνωση, στην μεταγωγή του σήματος και στην προσκόλληση των κυττάρων, η μετανάστευση εξαρτάται από το πλούσιο σε ακτίνες δίκτυο, κάτω από την μεμβράνη του πλάσματος και ρυθμίζεται από φυσικούς και χημικούς παράγοντες του αγγειακού συστήματος (Velnar *et al.*, 2009).

δ) Εξοχή προς τα έξω:

Με τρεις τύπους διασυνδεδεμένων νημάτων, ο κυτταροσκελετός στερεώνεται μέσω διασταυρώσεων κυττάρου-κυττάρου και μέσω της συγκολλησεως εξωκυττάριας ουσίας, παρέχοντας μηχανική υποστήριξη στο κύτταρο.

Το δίκτυο ακτίνων είναι γνωστό για την δυναμική του αναδιοργάνωση, ενεργεί ως μηχανικός-τελεστής και είναι σημαντικό για τον συντονισμό της κυτταρικής μετανάστευσης. Κατά το πρώτο βήμα της μετακίνησης αυτής, λαμβάνει χώρα ο πολυμερισμός της ακτίνης στην θέση αιχμής, ο οποίος καθορίζεται από την υψηλότερη συγκέντρωση χημειοτακτικής ουσίας, πιέζοντας την μεμβράνη πλάσματος προς τα έξω. Μια προεξέχουσα δομή σχηματίζεται, γεμάτη με νηματοειδή ακτίνη. Πολλαπλές οδοί σηματοδότησης και ρυθμιστικές πρωτεΐνες ελέγχουν την δυναμική της ακτίνης και τις αλλαγές στην μορφολογία του κυττάρου (Velnar *et al.*, 2009).

ε) Προσκόλληση

Η προσκόλληση σε ένα στερεό υπόστρωμα είναι ένα ιδιαίτερα σημαντικό βήμα στην κυτταρική μετανάστευση. Μεσολαβήτριες σε αυτήν είναι οι ιντεγκρίνες, που δρουν ως πρωταρχικοί υποδοχείς για τις πρωτεΐνες της εξωκυττάριας μήτρας και συνεπώς είναι απαραίτητες για την κυτταρική κινητικότητα. Επιπλέον, αυτά τα μόρια εμπλέκονται στην μεταγωγή σήματος, στην ρύθμιση και στην τόνωση της μετανάστευσης. Τα ενδοθηλιακά κύτταρα μπορούν να προσαρμόσουν την ένταση της προσκόλλησης, δίνοντας εντολή στα πιο ασθενή συγκολλητικά κύτταρα, να κινούνται ταχύτερα από ό,τι τα πιο ισχυρά. Μετά την προσάρτηση στην εξωκυττάρια μήτρα, το κύτταρο αλλάζει μορφή. Συγκεκριμένα από ωοειδές, λαμβάνει ένα ακανόνιστο, πεπλατυσμένο σχήμα. Αυτές οι αλλοιώσεις στο σχήμα διέπονται από την ιντεγκρίνη και εξαρτώνται από την σύνδεση της ιντεγκρίνης με την εξωκυττάρια μήτρα στο εστιακό σημείο. Τα ενδοθηλιακά κύτταρα μεταναστεύουν ταχύτερα αμέσως μετά τον τραυματισμό, έπειτα κινούνται με έναν πιο αργό ρυθμό, ο οποίος και διατηρείται καθ' όλη την διάρκεια της διαδικασίας επούλωσης (Velnar *et al.*, 2009).

στ) Έλξη

Συστρεμμένες δυνάμεις, μεταδιδόμενες μέσω των κυτταροσκελετικών συνδέσεων, επιτρέπουν στο κύτταρο να τραβήξει το κυτταρόπλασμα προς τα εμπρός, δημιουργώντας έλξη στο υπόστρωμα. Η δύναμη για την κίνηση παρέχεται από την μυοσίνη. Αλληλεπιδράσεις μεταξύ της μυοσίνης και των ινών ακτίνης, τραβούν τα κύτταρα προς τα εμπρός. Την ίδια στιγμή, οι πρωτεΐνες δέσμευσης της εξωκυττάριας μήτρας, στο οπίσθιο άκρο του κινούμενου κυττάρου, πρέπει να απελευθερωθούν από τις συνδέσεις τους.

Ο βαθμός αντοχής της σύνδεσης ιντεγκρίνης-κυτταροσκελετού, επηρεάζεται από την ακαμψία του υποστρώματος. Με ισχυρότερη σύνδεση σε μια σταθερή επιφάνεια, η δύναμη μπορεί να μεταδίδεται περισσότερο αποτελεσματικά, μέσω της κυτταρικής μετανάστευσης. Κατά την διάρκεια της κίνησης, οι δυνάμεις προσκόλλησης, που δημιουργούνται στις θέσεις επαφής, μπορούν να είναι αρκετά ισχυρές, για να παραμορφώσουν την εξωκυττάρια μήτρα και να την αναδιατάξουν σημαντικά. Μακροφάγα, πολλαπλασιαζόμενοι ινοβλάστες και αγγειοποιημένο στρώμα, μαζί με μήτρα κολλαγόνου, ινωδογόνο, ινωδονεκτίνη και υαλουρονικό οξύ, αποτελούν τον οξύ ιστό κοκκιοποίησης που αντικαθιστά την προσωρινή μήτρα, η οποία βασίζεται σε ινίδια. Με την συσσώρευση κολλαγόνου, η πυκνότητα των αγγείων του αίματος μειώνεται και ο ιστός κοκκιοποίησης σταδιακά ωριμάζει για να σχηματίσει μια ουλή (Velnar *et al.*, 2009).

ζ) Επιθηλιοποίηση

Η μετανάστευση των επιθηλιακών κυττάρων αρχίζει από τις άκρες του τραύματος, μέσα σε λίγες ώρες από τον τραυματισμό. Ένα μόνο στρώμα κυττάρων ξεκινά την επιδιόρθωση, ενώ παράλληλα παρατηρείται μια σημαντική αύξηση της μιτωτικής δραστηριότητας των επιθηλιακών κυττάρων γύρω από τα άκρα του τραύματος. Κύτταρα μεταναστεύουν στην περιοχή αυτή και συνδέονται με την προσωρινή μήτρα. Όταν τα κύτταρα φθάσουν τον επαρκή αριθμό, η μετακίνησή σταματά και αρχίζει να σχηματίζεται η μεμβράνη βάσης (Velnar *et al.*, 2009).

IV. ΦΑΣΗ ΑΝΑΔΙΑΜΟΡΦΩΣΗΣ ΤΟΥ ΙΣΤΟΥ

Ως τελική φάση της επούλωσης των τραυμάτων, η φάση της αναδιαμόρφωσης είναι υπεύθυνη για την ανάπτυξη του νέου επιθηλίου και για τον τελικό σχηματισμό του ουλώδους ιστού. Αυτή η φάση μπορεί να διαρκέσει από 1 ώρα έως και 2 χρόνια ή μερικές φορές ακόμη περισσότερο.

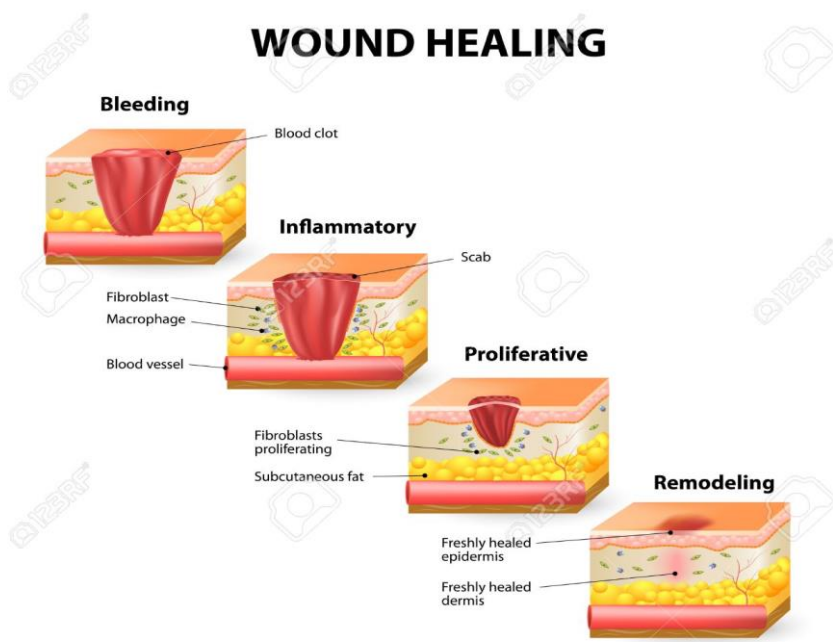
Η αναδιαμόρφωση μιας οξείας πληγής είναι αυστηρά ελεγχόμενη από ρυθμιστικούς μηχανισμούς με στόχο την διατήρηση μιας ευαίσθητης ισορροπίας, ανάμεσα στην αποδόμηση και την σύνθεση, οδηγώντας σε φυσιολογική επούλωση. Μαζί με την ωρίμανση της ενδοκυτταρικής μήτρας, οι δέσμες κολλαγόνου αυξάνουν την διαμέτρο τους, ενώ το υαλουρονικό οξύ και η ινωδονεκτίνη αποικοδομούνται. Η επιδιορθωτική ικανότητα της πληγής αυξάνεται προοδευτικά, παράλληλα με την συλλογή κολλαγόνου. Οι ίνες κολλαγόνου μπορεί να ανακτήσουν περίπου το ογδόντα τοις εκατό της αρχικής αντοχής σε σύγκριση με τον μη τραυματισμένο ιστό. Η τελική ισχύς που αποκτήθηκε, εξαρτάται από τον εντοπισμό της επισκευής και την διάρκειά της, αλλά η ισχύς του αρχικού (πριν τον τραυματισμό) ιστού δεν μπορεί ποτέ να επανακτηθεί.

Η σύνθεση και η κατανομή του κολλαγόνου, καθώς και η αναδιαμόρφωση της εξωκυττάριας μήτρας, λαμβάνουν χώρα αδιάκοπα, ενώ και οι δύο τείνουν να ισορροπήσουν σε μια σταθερή κατάσταση περίπου 3 εβδομάδες μετά τον τραυματισμό.

Οι μεταλλοπρωτεΐνες της μήτρας, που παράγονται από τα ουδετερόφιλα, τα μακροφάγα και τους ινοβλάστες στο τραύμα, είναι υπεύθυνες για την αποδόμηση του κολλαγόνου. Η δραστηριότητά τους ρυθμίζεται αυστηρά και συγχρονίζεται από ανασταλτικούς παράγοντες. Σταδιακά, η δραστηριότητα των αναστολέων των μεταλλοπρωτεϊνών του ιστού, αυξάνεται, προωθώντας έτσι την συσσώρευση νέας μήτρας.

Αν και η αρχική εναπόθεση των δεσμών κολλαγόνου είναι ιδιαίτερα αποδιοργανωμένη, η νέα μήτρα κολλαγόνου γίνεται περισσότερο προσανατολισμένη με την πάροδο του χρόνου. Η επακόλουθη οργάνωση επιτυγχάνεται κατά την διάρκεια των τελικών σταδίων της φάσης αναδιαμόρφωσης, με την εμφάνιση μεγαλύτερης συστολής της πληγής, από εκείνη που ήδη ξεκίνησε στην φάση του πολλαπλασιασμού. Ο υποκείμενος συνδετικός ιστός συρρικνώνεται σε μέγεθος και φέρνει τα

περιθώρια της πληγής πιο κοντά, λόγω αλληλεπιδράσεων των ινοβλαστών με την εξωκυττάρια μήτρα. Η διαδικασία ρυθμίζεται από διάφορους παράγοντες, με τους PDG , TGF-β και FGF να είναι οι πιο σημαντικοί. Καθώς το τραύμα θεραπεύεται, η πυκνότητα των ινοβλαστών και των μακροφάγων μειώνεται περαιτέρω λόγω της απόπτωσης. Με την πάροδο του χρόνου, η ανάπτυξη των τριχοειδών αγγείων σταματά, η ροή του αίματος στην περιοχή ελαττώνεται και η μεταβολική δραστηριότητα γύρω από το τραύμα μειώνεται. Το τελικό αποτέλεσμα είναι μια πλήρης ώριμη ουλή με μειωμένο αριθμό κύτταρων και αιμοφόρων αγγείων, καθώς και αυξημένη ικανότητα πλέξης ιστού (Velnar *et al.*, 2009).



Εικόνα 4: Τα στάδια της διαδικασίας επούλωσης ενός τραύματος. (πηγή:<http://www.shieldhealthcare.com>)

1.3. ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΠΟΥ ΕΠΗΡΕΑΖΟΥΝ ΤΗΝ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΕΠΟΥΛΩΣΗΣ ΤΟΥ ΤΡΑΥΜΑΤΟΣ

Αρκετοί παράγοντες είναι ικανοί να επηρεάσουν σε σημαντικό βαθμό τον ρυθμό επούλωσης ενός τραύματος και να οδηγήσουν σε καθυστέρηση αυτής. Σε γενικές γραμμές, οι παράγοντες αυτοί μπορούν να διακριθούν σε τοπικούς και συστημικούς. Πολλοί από αυτούς τους παράγοντες σχετίζονται με τους συστημικούς παράγοντες να δρουν μέσω των τοπικών επιδράσεων που επηρεάζουν την πληγή.

Ως τοπικοί ορίζονται οι παράγοντες που επηρεάζουν άμεσα τα χαρακτηριστικά της πληγής και πρόκειται για τους εξής :

α) Οξυγόνωση του ιστού:

Το οξυγόνο είναι σημαντικό για τον μεταβολισμό των κυττάρων, ιδιαίτερα για την παραγωγή ενέργειας μέσω ATP και είναι κρίσιμο για όλες σχεδόν τις διεργασίες επούλωσης των πληγών. Αποτρέπει την μόλυνση των πληγών, προκαλεί αγγειογένεση, αυξάνει την διαφοροποίηση των κερατινοκυττάρων, την μετανάστευση και την επανα-επιθηλιοποίηση, ενισχύει τον πολλαπλασιασμό των ινοβλαστών και την σύνθεση του κολλαγόνου και προάγει την συστολή του τραύματος (Bishop *et al.*, 2008). Επιπλέον, το επίπεδο παραγωγής υπεροξειδίων (βασικός παράγοντας για την οξειδωτική θανάτωση παθογόνων βακτηρίων) από τα πολυμορφοπύρρηνα λευκοκύτταρα, εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από τα επίπεδα οξυγόνου. Σε πληγές όπου η οξυγόνωση δεν αποκαθίσταται, η επούλωση καθυστερεί. Η προσωρινή υποξία, μετά από τραυματισμό, προκαλεί επούλωση πληγών, αλλά παρατεταμένη ή χρόνια απουσία οξυγόνου, καθυστερεί την επούλωση των τυραυμάτων. Συνοπτικά, το σωστό επίπεδο οξυγόνου είναι ζωτικής σημασίας για την βέλτιστη επούλωση των πληγών.

β) Λοιμώξεις:

Μόλις τραυματιστεί το δέρμα, μικροοργανισμοί που συνήθως απομονώνονται στην επιφάνεια του δέρματος, αποκτούν πρόσβαση στους υποκείμενους ιστούς. Η κατάσταση της λοίμωξης και της αναπαραγωγικής κατάστασης των μικροοργανισμών καθορίζει εάν το τραύμα έχει ταξινομηθεί ως μόλυνση, αποικία, τοπική λοίμωξη (κρίσιμη αποικία) και / ή ως εξάπλωση διεισδυτικής λοίμωξης. Η μόλυνση είναι η παρουσία μη αναπαραγόμενων οργανισμών σε ένα τραύμα, ενώ η αποικία ορίζεται ως η παρουσία αναπαραγόμενων μικροοργανισμών στο τραύμα, χωρίς βλάβη του ιστού. Η τοπική λοίμωξη (κρίσιμη αποικία) είναι ένα ενδιάμεσο στάδιο, με την αναπαραγωγή μικροοργανισμών και την αρχή τοπικών αποκρίσεων ιστού (Edwards & Harding, 2004). Η φλεγμονή είναι ένα φυσιολογικό μέρος της διαδικασίας επούλωσης των πληγών και είναι σημαντική για την απομάκρυνση των μολυσματικών μικροοργανισμών. Ωστόσο, ελλείψει αποτελεσματικής απολύμανσης, η φλεγμονή μπορεί να παραταθεί, από τη στιγμή που η μικροβιακή κάθαρση είναι ελλιπής. Τόσο βακτήρια όσο και ενδοτοξίνες μπορούν να οδηγήσουν στην παρατεταμένη αύξηση των προ-φλεγμονωδών κυτοκινών όπως η ιντερλευκίνη-1 (IL-1) και TNF-α και να επιμηκύνουν την φλεγμονώδη φάση (Edwards & Harding, 2004; Menke *et al.*, 2007).

Ως συστημικοί παράγοντες, ορίζονται η γενική κατάσταση της υγείας του ατόμου, η ηλικία, το φύλο, η κατάσταση του ανοσοποιητικού συστήματος, ο υποσιτισμός, το κάπνισμα, τα φάρμακα, η

ακτινοβολία και η χημειοθεραπεία, ο διαβήτης, οι ασθένειες ή το στάδιο της νόσου από την οποία πιθανώς να πάσχει το άτομο που φέρει το τραύμα. Αυτοί, επηρεάζουν την ικανότητά του οργανισμού να θεραπεύσει τα τραύματα.

Πιο συγκεκριμένα:

α) Ηλικία:

Η αυξημένη ηλικία είναι ένας μείζων παράγοντας κινδύνου για την παρατεταμένη επούλωση των πληγών. Είναι κοινώς αναγνωρισμένο πώς σε υγιείς ηλικιωμένους, η γήρανση προκαλεί μια χρονική καθυστέρηση στην επούλωση πληγών, αλλά όχι μια πραγματική αποδυνάμωση από την άποψη της ποιότητας της θεραπείας (Gosain & DiPietro, 2004). Η καθυστερημένη επούλωση τραυμάτων στα ηλικιωμένα άτομα σχετίζεται με μια αλλοιωμένη φλεγμονώδη απόκριση, όπως καθυστέρηση της διήθησης T-κυττάρων στην περιοχή του τραύματος, με μεταβολές στην παραγωγή χημειοκινών και μειωμένη φαγοκυτταρική δραστηριότητα των μακροφάγων (Swift *et al.*, 2001). Συνολικά, υπάρχουν παγκόσμιες διαφορές στην επούλωση των πληγών μεταξύ των νέων και των ηλικιωμένων ατόμων. Μια ανασκόπηση των αλλαγών ως προς την ικανότητα της επούλωσης, που σχετίζονται με την ηλικία, καταδεικνύει ότι κάθε φάση της επουλωτικής διαδικασίας, υφίσταται χαρακτηριστικές μεταβολές που σχετίζονται με την ηλικία, συμπεριλαμβανομένης της αυξημένης συσσωμάτωσης αιμοπεταλίων, την αυξημένη έκκριση φλεγμονωδών μεσολαβητών, την καθυστερημένη διείσδυση των μακροφάγων και των λεμφοκυττάρων, την μειωμένη δραστηριότητα των μακροφάγων και την έκκριση αυξητικών παραγόντων, την καθυστερημένη επανα-επιθηλιοποίηση, αγγειογένεση και εναπόθεση του κολλαγόνου και τέλος, την μειωμένη αντοχή του τραύματος (Gosain & DiPietro, 2004).

β) Άγχος:

Το άγχος έχει μεγάλο αντίκτυπο στην ανθρώπινη υγεία και την κοινωνική συμπεριφορά. Πολλές ασθένειες όπως οι καρδιαγγειακές παθήσεις, ο καρκίνος, η υποβοηθούμενη επούλωση τραυμάτων και ο διαβήτης σχετίζονται στενά με το άγχος. Πολυάριθμες μελέτες επιβεβαίωσαν πως η διαταραχή στην νευροενδοκρινολογική ισορροπία, που προκαλείται από το στρες, επηρεάζει σημαντικά την κατάσταση της υγείας ενός ατόμου (Glaser & Kiecolt, 2005; Vileikyte, 2007). Άλλες μελέτες, τόσο σε ανθρώπους όσο και σε ζώα, έχουν καταδείξει πως το ψυχολογικό άγχος προκαλεί σημαντική καθυστέρηση στην επούλωση των πληγών. Η παθοφυσιολογία του στρες έχει ως αποτέλεσμα την απορρύθμιση του ανοσοποιητικού συστήματος, που προκαλείται κυρίως από βλάβη στον

υποθαλάμο της υπόφυσης ή στους επινεφριδιακούς μυελικούς άξονες και το νευρικό σύστημα (Godbout & Glaser, 2006;Boyarati & Wang, 2007). Οι παράγοντες αυτοί, ρυθμίζουν αντίστοιχα την απελευθέρωση της υπόφυσης και των ορμονών των επινεφριδίων. Αυτές οι ορμόνες περιλαμβάνουν τις αδρενοκορτικοτροπικές ορμόνες, την κορτιζόλη, την προλακτίνη και τις κατεχολαμίνες (επινεφρίνη και νορεπινεφρίνη). Το άγχος αυξάνει τα γλυκοκορτικοειδή (GCs) και μειώνει τα επίπεδα των προφλεγμονωδών κυτοκινών IL-1β, IL-6 και TNF-α στο σημείο της πληγής. Το άγχος μειώνει επίσης την έκφραση της IL-1α και της IL-8 στην περιοχή του τραύματος, που είναι αμφότερες απαραίτητες για την αρχική φλεγμονώδη φάση επούλωσης πληγών (Godbout & Glaser, 2006; Boyarati & Wang, 2007). Επιπλέον, τα GCs επηρεάζουν τα κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος, καταστέλλοντας την διαφοροποίηση και τον πολλαπλασιασμό, ρυθμίζοντας την μεταγραφή των γονιδίων και μειώνοντας την έκφραση των μορίων κυτταρικής προσκόλλησης που εμπλέκονται στην κίνηση των ανοσοκυττάρων (Sternberg, 2006). Η κορτιζόλη GC λειτουργεί ως ένας αντιφλεγμονώδης παράγοντας και ρυθμίζει την μεσολάβηση της Th1 στην ανοσολογική απόκριση, απαραίτητη για την αρχική φάση της επούλωσης. Έτσι, το ψυχολογικό στρες μειώνει την φυσιολογική ικανότητα απόκρισης των κύτταρων, στην περιοχή του τραύματος, προκαλώντας μια σημαντική καθυστέρηση στην διαδικασία της επούλωσης (Godbout & Glaser, 2006).

γ) Ορμόνες-Φύλο του ατόμου:

Οι σεξουαλικές ορμόνες παίζουν ρόλο στην επούλωση ελλειμμάτων τραυμάτων που σχετίζονται με την ηλικία. Σε σύγκριση με ηλικιωμένες γυναίκες, έχει αποδειχθεί ότι ηλικιωμένοι άνδρες παρουσιάζουν καθυστέρηση στην επούλωση των οξέων τραυμάτων. Μερική εξήγηση για αυτό, είναι ότι τα θηλυκά οιστρογόνα (οιστρόνη και 17β-οιστραδιόλη), τα αρσενικά ανδρογόνα (τεστοστερόνη και 5α-διϋδροτεστοστερόνη,DHT) και η στεροειδής πρόδρομή τους δεϋδροεπιανδροστερόνη (DHEA), φαίνεται να έχουν σημαντικές επιδράσεις στην επούλωση των πληγών (Gilliver,2007). Πρόσφατα βρέθηκε ότι οι διαφορές στην έκφραση γονιδίων στα τραύματα ηλικιωμένων αρσενικών και νεαρών ατόμων είναι, σχεδόν αποκλειστικά, ρυθμισμένες από τα οιστρογόνα (Hardman & Ashcroft, 2008). Τα οιστρογόνα επηρεάζουν την επούλωση των πληγών με την ρύθμιση μιας ποικιλίας γονιδίων που σχετίζονται με την αναγέννηση, την παραγωγή μήτρας, την αναστολή της πρωτεάσης, την επιδερμική λειτουργία και τα γονίδια που σχετίζονται κυρίως με την φλεγμονή (Hardman & Ashcroft, 2008). Μελέτες δείχνουν ότι τα οιστρογόνα μπορούν να βελτιώσουν την βλάβη, που σχετίζεται με την ηλικία, στην θεραπεία τόσο των ανδρών όσο και των γυναικών, ενώ τα ανδρογόνα ρυθμίζουν αρνητικά την δερματική επούλωση πληγών (Gilliver, 2007).

δ) Διαβήτης:

Ο διαβήτης επηρεάζει εκατοντάδες εκατομμύρια άνθρωπους παγκοσμίως. Τα διαβητικά άτομα παρουσιάζουν τεκμηριωμένη δυσλειτουργία στην θεραπεία των οξέων πληγών. Επιπλέον, αυτός ο πληθυσμός είναι επιρρεπής στην ανάπτυξη ενός χρόνια, μη-θεραπευόμενου, έλκους, το επονομαζόμενο διαβητικό πόδι (DFU), το οποίο εκτιμάται ότι θα εμφανιστεί σε ποσοστό 15% στα άτομα με διαβήτη. Το DFU αποτελεί σοβαρή επιπλοκή του διαβήτη και προηγείται, κατά 84%, όλων των ακρωτηριασμών που σχετίζονται με τον διαβήτη (Brem & Tomic-Canic, 2007). Στην μειωμένη επούλωση και των δύο διαβητικών ποδιών, όπως και σε οξεία δερματικά τραύματα σε άτομα με διαβήτη, εμπλέκονται πολλαπλοί σύνθετοι παθοφυσιολογικοί μηχανισμοί. Τα συγκεκριμένα έλκη, συνοδεύονται πάντα από υποξία (Tandara & Mustoe, 2004). Μια κατάσταση παρατεταμένης υποξίας, η οποία μπορεί να προέλθει τόσο από την ανεπαρκή διάχυση όσο και από την ανεπαρκή αγγειογένεση, είναι επιζήμια για την επούλωση πληγών. Η υποξία μπορεί να ενισχύσει την πρόωρη φλεγμονώδη απόκριση, παρατείνοντας έτσι τον τραυματισμό και αυξάνοντας τα επίπεδα ριζών οξυγόνου (ROS) (Mathieu, 2006; Woo, 2007). Η υπεργλυκαιμία μπορεί επίσης να αυξήσει το οξειδωτικό στρες όταν η παραγωγή ROS υπερβαίνει την αντιοξειδωτική ικανότητα (Vincent, 2004). Ακόμη, η νευροπάθεια που εμφανίζεται στα διαβητικά άτομα πιθανώς να συμβάλλει στην παρατεταμένη επούλωση των πληγών. Νευροπεπτίδια όπως ο παράγοντας ανάπτυξης νεύρου, η ουσία P και το πεπτίδιο της καλσιτονίνης, σχετίζονται με την επούλωση πληγών, επειδή προάγουν την κυτταρική χημειοταξία, προκαλούν την παραγωγή αυξητικού παράγοντα και διεγείρουν τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων. Μείωση των νευροπεπτιδίων, σχετίζεται με τον σχηματισμό ελκών DFU. Συνοπτικά, η εξασθενημένη επούλωση που εμφανίζεται στα άτομα με διαβήτη περιλαμβάνει υποξία, δυσλειτουργία των ινοβλαστών και των επιδερμικών κυττάρων, εξασθενημένη αγγειογένεση και νεοαγγειοποίηση, βλάβες από ROS, μειωμένη ανοσολογική αντίσταση του ξενιστή και νευροπάθεια.

ε) Λήψη φαρμάκων:

Πολλά φάρμακα, όπως αυτά που παρεμποδίζουν τον σχηματισμό θρόμβων ή την λειτουργία των αιμοπεταλίων, τις φλεγμονώδεις αποκρίσεις και τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, έχουν την ικανότητα να επηρεάζουν την επούλωση των πληγών. Τα συνήθως χρησιμοποιούμενα φάρμακα που έχουν σημαντικό αντίκτυπο στη θεραπεία, είναι τα στεροειδή, τα γλυκοκορτικοειδή, τα μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη φάρμακα και τα χημειοθεραπευτικά φάρμακα.

I.Γλυκοκορτικοειδή στεροειδή

Τα συστηματικά γλυκοκορτικοειδή (GC), που χρησιμοποιούνται συχνά ως αντιφλεγμονώδεις παράγοντες, είναι πολύ γνωστό ότι αναστέλλουν την επιδιόρθωση των τραυμάτων μέσω αντιφλεγμονωδών επιδράσεων και την καταστολή των κυτταρικών αποκρίσεων, αμέσως μετά τον τραυματισμό, συμπεριλαμβανομένου του πολλαπλασιασμού των ινοβλαστών και της σύνθεσης του κολλαγόνου. Κατά την λήψη συστηματικών στεροειδών, συχνά οι πληγές θεραπεύονται αργά, με έναν ατελή ιστό κοκκιοποίησης και με μειωμένη συστολή της πληγής (Franz, 2007). Τα γλυκοκορτικοειδή αναστέλλουν επίσης την παραγωγή του παράγοντα HIF-1, ενός βασικού μεταγραφικού παράγοντα στην θεραπεία των πληγών (Wagner *et al.*, 2008). Πέρα από τις επιπτώσεις στην ίδια την αποκατάσταση του δερματικού φραγμού, τα συστηματικά κορτικοστεροειδή είναι πιθανό να αυξήσουν τον κίνδυνο μόλυνσης του τραύματος.

II.Μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη φάρμακα

Τα μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη φάρμακα (NSAIDs) όπως η ιβουπροφαίνη χρησιμοποιούνται ευρέως στην θεραπεία της φλεγμονής και της ρευματοειδούς αρθρίτιδας, όπως και στην διαχείριση του πόνου. (Pieringer, 2007). Σε ζωικά μοντέλα, η συστηματική χρήση ιβουπροφαίνης έχει καταδείξει αντι-πολλαπλασιαστικό αποτέλεσμα των ινοβλαστών, με αποτέλεσμα τον μειωμένο αριθμό τους, την μειωμένη συστολή της πληγής, την καθυστερημένη επιθηλιοποίηση (Dong, 1993;Dnivedi, 1997; Krischak 2007) και αγγειογένεση (Jones, 1999).

III.Χημειοθεραπευτικά Φάρμακα

Τα περισσότερα χημειοθεραπευτικά φάρμακα έχουν σχεδιαστεί για να αναστέλλουν τον κυτταρικό μεταβολισμό, την ταχεία κυτταρική διαίρεση και αγγειογένεση και έτσι αναστέλλουν πολλά από τα μονοπάτια που είναι κρίσιμα για την ορθή επιδιόρθωση ενός τραύματος. Αυτά τα φάρμακα αναστέλλουν το DNA, το RNA ή την σύνθεση των πρωτεϊνών με αποτέλεσμα να μειώνεται η ινοπλασία και η νεοαγγειοποίηση των τραυμάτων (Waldron & Zimmerman-Pope, 2003;Franz, 2007). Τα χημειοθεραπευτικά φάρμακα καθυστερούν την μετανάστευση των κυττάρων στην πληγή, μειώνουν τον πρόωρο σχηματισμό μήτρας στην πληγή, προάγουν την ελαττωμένη παραγωγή κολλαγόνου, καθυστερούν τον πολλαπλασιασμό των ινοβλαστών και παρεμποδίζουν την συστολή των τραυμάτων (Franz, 2007). Επιπλέον, αυτοί οι παράγοντες αποδυναμώνουν το ανοσοποιητικό σύστημα των ασθενών και εμποδίζουν έτσι την φλεγμονώδη φάση της επούλωσης, αυξάνοντας τον κίνδυνο μόλυνσης του τραύματος.

Η χημειοθεραπεία προκαλεί ουδετεροπενία, αναιμία και θρομβοπενία, αφήνοντας έτσι, τα τραύματα εκτεθειμένα στον κίνδυνο λοίμωξης, μειώνοντας την παροχή οξυγόνου στο τραύμα, καθιστώντας τους ασθενείς ευάλωτους σε υπερβολική αιμορραγία στο σημείο της πληγής.

Διαταραγμένη επούλωση τραυμάτων λόγω χημειοθεραπευτικών φαρμάκων όπως η αδριαμυκίνη, είναι πιο κοινή, όταν χορηγούνται τα φάρμακα προ-εγχειρητικά ή εντός 3 εβδομάδων μετά την επέμβαση (Lawrence, 1986).

στ) Παχυσαρκία:

Η παχυσαρκία είναι γνωστό ότι αυξάνει τον κίνδυνο εμφάνισης πολλών ασθενειών στις οποίες περιλαμβάνονται η στεφανιαία νόσος, ο διαβήτης τύπου 2, ο καρκίνος, η υπέρταση, η δυσλιπιδαιμία, το εγκεφαλικό επεισόδιο, η άπνοια ύπνου, τα αναπνευστικά προβλήματα και η προβληματική επούλωση πληγών. Τα παχύσαρκα άτομα αντιμετωπίζουν συχνά επιπλοκές στην επούλωση του τραύματος, συμπεριλαμβανομένης της λοίμωξης στην περιοχή της πληγής, αιμάτωμα και σχηματισμό ορού, έλκη πίεσεως και φλεβικά έλκη (Wilson & Clark, 2004). Τα έλκη που σχετίζονται με την αυξημένη πίεση στα παχύσαρκα άτομα επηρεάζονται επίσης από την υπερευαισθησία, δεδομένου ότι η κακή διάχυση καθιστά τον ιστό πιο ευαίσθητο σε αυτόν τον τύπο βλάβης. Επιπλέον, οι πτυχές του δέρματος φιλοξενούν μικροοργανισμούς που ευδοκιμούν σε υγρές περιοχές και συμβάλλουν στην μόλυνση και την βλάβη του ιστού. Η τριβή που προκαλείται από την επαφή δέρματος με δέρμα προσκαλεί έλκωση. Μαζί, αυτοί οι παράγοντες προδιαθέτουν τα παχύσαρκα άτομα στην ανάπτυξη εξασθενημένης επούλωσης τραύματος (Wilson & Clark, 2004; Anaya & Dellinger, 2006; Greco, 2008).

Εκτός από τις τοπικές συνθήκες, οι συστημικοί παράγοντες παίζουν επίσης έναν σημαντικό ρόλο στην εξασθενημένη επούλωση πληγών και στην εμφάνιση επιπλοκών τραυμάτων σε παχύσαρκους ασθενείς. Η παχυσαρκία μπορεί να συνδεθεί με την πίεση, το άγχος και την κατάθλιψη, δηλαδή όλες τις καταστάσεις που μπορούν να προκαλέσουν μια καθυστερημένη ανοσολογική απόκριση (Wilson & Clark, 2004). Διαταραχές στην λειτουργία των μονοπύρηνων κυττάρων του περιφερικού αίματος, ο μειωμένος πολλαπλασιασμός των λεμφοκυττάρων και τα τροποποιημένα περιφερικά επίπεδα κυτοκίνης αναφέρονται ως επιπτώσεις της παχυσαρκίας. Είναι σημαντικό, ωστόσο, ότι πολλές από τις αλλοιώσεις στην ανοσολογική λειτουργία, που σχετίζονται με την παχυσαρκία, βελτιώνονται με την απώλεια βάρους (Nieman, 1999; Fontana, 2007; de Mello, 2008).

ζ) Κατανάλωση Αλκοόλ:

Κλινικές αποδείξεις και πειράματα σε ζώα έχουν δείξει ότι η έκθεση σε αλκοόλ, εμποδίζει την επούλωση των πληγών και αυξάνει την συχνότητα μόλυνσης τους (Szabo & Mandrekar, 2009; Gentilello, 1993). Η έκθεση στο αλκοόλ μειώνει την αντοχή του ξενιστή και η υπερβολική συγκέντρωση αιθανόλης στον οργανισμό, κατά την στιγμή του τραυματισμού, αυξάνει την

ευαισθησία για λοίμωξη στην πληγή (Choudhry & Chaudry, 2006). Μελέτες έχουν καταδείξει την σημαντική επίδραση του αλκοόλ στους μηχανισμούς άμυνας του ξενιστή, αν και σε αυτήν συμβάλλουν και άλλοι παράγοντες, όπως ο χρόνος της έκθεσης στο αλκοόλ (δηλαδή χρόνια έναντι μιας βραχείας έκθεσης), η διάρκεια της κατανάλωσης και ο χρόνος που έχει περάσει από την έκθεση στο αλκοόλ. Πέρα από την αυξημένη συχνότητα μόλυνσης, η έκθεση σε αιθανόλη φαίνεται να επηρεάζει επιπλέον, την πολλαπλασιαστική φάση της επούλωσης. Συγκεκριμένα, φαίνεται πως μόνο μια μικρή δόση αλκοόλ, της τάξης των 100 mg / dL, διαταράσσει την επανεπιθηλιοποίηση, την αγγειογένεση, την παραγωγή κολλαγόνου και το κλείσιμο του τραύματος (Radek, 2005; Fitzgerald, 2007). Η πιο σημαντική βλάβη φαίνεται να συμβαίνει στην αγγειογένεση, η οποία μειώνεται έως και κατά 61% μετά από μία μόνο έκθεση σε αιθανόλη (Radek, 2008). Συνοπτικά, η ανάλυση των κλινικών δεδομένων δείχνει ότι η χρόνια ή και η οξεία έκθεση σε αιθανόλη μπορεί να οδηγήσει σε εξασθενημένη επούλωση τραυμάτων, προάγοντας την ευαισθησία στις λοιμώξεις.

η) Κάπνισμα:

Οι αρνητικές επιπτώσεις του καπνίσματος στην επούλωση των πληγών είναι γνωστές εδώ και πολλά έτη (Siana, 1989; Jensen, 1991; Ahn, 2008). Μετεγχειρητικά, οι ασθενείς που καπνίζουν παρουσιάζουν καθυστέρηση στην επούλωση τραυμάτων και αύξηση ποικίλων επιπλοκών, όπως λοίμωξη, ρήξη τραύματος, νέκρωση του ιστού, επιδερμόλυση και μείωση της επιδιορθωτικής ικανότητας των κυττάρων στο σημείο του τραύματος. (Chan, 2006; Ahn *et al.*, 2008). Οι ουσίες στον καπνό του τσιγάρου έχουν εντοπιστεί και για κάποιες έχει αποδειχθεί πως έχουν αρνητικό αντίκτυπο στην επούλωση (Ahn *et al.*, 2008). Οι περισσότερες μελέτες επικεντρώθηκαν στις επιπτώσεις της νικοτίνης, του μονοξειδίου του άνθρακα και του κυανιούχου υδρογόνου στον καπνό. Η νικοτίνη πιθανότατα παρεμβαίνει στην παροχή του οξυγόνου προκαλώντας ισχαιμία ιστού, δεδομένου ότι η νικοτίνη μπορεί να προκαλέσει μειωμένη ροή αίματος μέσω αγγειοσυσπαστικών μηνυμάτων (Ahn *et al.*, 2008 ;Sørensen, 2009). Η νικοτίνη διεγείρει την νευρική δραστηριότητα, με αποτέλεσμα την απελευθέρωση της επινεφρίνης, που προκαλεί περιφερική αγγειοσύσπαση και μειωμένη αιμάτωση του ιστού. Εκτός από τις επιπτώσεις της νικοτίνης, το μονοξείδιο του άνθρακα στον καπνό των τσιγάρων προκαλεί υποξία των ιστών. Η ένωση αυτή, δεσμεύεται ανταγωνιστικά ως προς το οξυγόνο, στην αιμοσφαιρίνη, με αποτέλεσμα μια μειωμένη συγκέντρωση οξυγονωμένης αιμοσφαιρίνης στην κυκλοφορία του αίματος. Το κυανιούχο υδρογόνο, ένα άλλο, καλά μελετημένο συστατικό του καπνού των τσιγάρων, επηρεάζει τον μεταβολισμό του κυτταρικού οξυγόνου, οδηγώντας σε περιορισμένη κατανάλωση οξυγόνου από τους ιστούς. Πέρα από αυτά, τα άμεσα αποτελέσματα στους ιστούς, το κάπνισμα αυξάνει τον κίνδυνο για αθηροσκλήρωση και χρόνια

αποφρακτικό πνευμονικό σύνδρομο, δύο παθήσεις που μπορούν επίσης να μειώσουν το οξυγόνο του ιστού (Siana *et al.*, 1989;Jense *et al.*, 1991;Ahn *et al.*, 2008). Αρκετοί κυτταρικοί τύποι και διαδικασίες που είναι σημαντικές για την επούλωση, έχει αποδειχθεί ότι επηρεάζονται αρνητικά από τον καπνό του τσιγάρου. Στην φλεγμονώδη φάση, το κάπνισμα προκαλεί την εξασθενημένη μετανάστευση των λευκών αιμοσφαιρίων, με αποτέλεσμα μικρότερους αριθμούς μονοκυττάρων και μακροφάγων στην περιοχή του τραύματος. Μειώνει επίσης την βακτηριοκτόνο δράση των ουδετερόφιλων και την λειτουργία των λεμφοκυττάρων. Αυτές οι επιδράσεις οδηγούν σε φτωχή επούλωση των τραυμάτων και σε έναν αυξημένο κίνδυνο ευκαιριακής λοίμωξης τους.

Κατά την διάρκεια της φάσης του πολλαπλασιασμού, η έκθεση σε καπνό, καθυστερεί την μετανάστευση και τον πολλαπλασιασμό των ινοβλαστών, οδηγεί σε μειωμένη συστολή της πληγής, παρεμποδίζοντας την παραγωγή εξωκυττάριας μήτρας (Ahn *et al.*, 2008). Αυτό που είναι βέβαιο είναι ότι η διακοπή του καπνίσματος οδηγεί σε βελτιωμένη αποκατάσταση και μειώνει την μόλυνση του τραύματος (Sorensen, 2003;Lauerman, 2008).

θ) Διατροφή:

Μαζί με τα λίπη, οι υδατάνθρακες είναι η κύρια πηγή ενέργειας στην διαδικασία επούλωσης των πληγών. Η γλυκόζη είναι η κύρια πηγή καυσίμου που χρησιμοποιείται για τη δημιουργία του κυτταρικού ATP, που παρέχει ενέργεια για την αγγειογένεση και την εναπόθεση των νέων ιστών (Shepherd, 2003). Η πρωτεΐνη, ταυτόχρονα, είναι ένας από τους σημαντικότερους θρεπτικούς παράγοντες που συνεισφέρουν στην επούλωση. Η ανεπάρκεια πρωτεΐνης μπορεί να εξασθενήσει τον πολλαπλασιασμό των ινοβλαστών, την σύνθεση των πρωτεογλυκανών, την σύνθεση του κολλαγόνου και την αναδιαμόρφωση του τραύματος. Έλλειψη πρωτεΐνης, επηρεάζει επίσης το ανοσοποιητικό σύστημα, οδηγώντας το σε ελαττωμένη φαγοκυττάρωση από τα λευκοκύτταρα (Gogia, 1995). Το κολλαγόνο είναι το κύριο πρωτεϊνικό συστατικό του συνδετικού ιστού και αποτελείται κυρίως από γλυκίνη, προλίνη και υδροξυπρολίνη. Η σύνθεση κολλαγόνου απαιτεί την υδροξυλίωση της λυσίνης και της προλίνης, καθώς και συν-παραγόντων, όπως ο σίδηρος και η βιταμίνη C. Η εξασθενημένη επούλωση πληγών οφείλεται σε έλλειψη, ενός οποιουδήποτε από αυτούς τους συν-παραγόντες (Campos *et al.*, 2008). Τα λιπαρά οξέα χρησιμοποιούνται ως διατροφική υποστήριξη σε ασθενείς ή σε άτομα που έχουν πρόσφατα εγχειριστεί, ώστε να καλύψουν τις ενεργειακές τους ανάγκες και να συμβάλλουν στην επούλωση τραυμάτων και στην επισκευή των ιστών. Τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα (PUFA), τα οποία δεν μπορούν να συντίθενται *de novo* από τα θηλαστικά, διακρίνονται κυρίως σε δύο οικογένειες: τα ω-6 (ωμέγα-6, που βρέθηκαν στο έλαιο της σόγιας) και τα ω-3 (ωμέγα-3, που βρίσκονται στο ιχθυέλαιο). Το ιχθυέλαιο

έχει γίνει ευρέως γνωστό για τα οφέλη των ω-3 λιπαρών οξέων του στην υγεία, όπως το εικοσιπεντανοϊκό οξύ (EPA) και το δοκοσαεξαενοϊκό οξύ (DHA). Το πραγματικό όφελος των ω-3 λιπαρών οξέων μπορεί να οφείλεται στην ικανότητά τους να βελτιώνουν την συστηματική ανοσολογική λειτουργία του ξενιστή, μειώνοντας έτσι τις μολυσματικές επιπλοκές (Arnold & Barbul, 2006). Οι βιταμίνες C (L-ασκορβικό οξύ), A (ρετινόλη) και E (τοκοφερόλη) παρουσιάζουν ισχυρά αντιοξειδωτικά και αντιφλεγμονώδη αποτελέσματα. Η βιταμίνη C διαδραματίζει σημαίνοντα ρόλο στην επισκευή των ιστών, ενώ αντίθετα, μια ανεπάρκεια σε αυτήν έχει συνδεθεί με μειωμένη σύνθεση κολλαγόνου, μειωμένο πολλαπλασιασμό των ινοβλαστών, κατασταλμένη αγγειογένεση και αυξημένη αστάθεια τριχοειδών αγγείων. Επίσης, ανεπάρκεια βιταμίνης C οδηγεί σε μια εξασθενημένη ανοσολογική απόκριση (Arnold & Barbul, 2006; Campos, 2008). Πολλά μικροθρεπτικά συστατικά έχουν αποδειχθεί σημαντικά για την βέλτιστη επούλωση. Το μαγνήσιο λειτουργεί ως συν-παράγοντας για πολλά ένζυμα που εμπλέκονται στην σύνθεση πρωτεϊνών και κολλαγόνου, ενώ ο χαλκός είναι ένας απαιτούμενος συν-παράγοντας για την κυτοχρωμική οξειδάση. Ο ψευδάργυρος είναι συν-παράγοντας και για τους δύο. Όπως υποδείχθηκε παραπάνω, οι διατροφικές ανάγκες του τραύματος είναι πολύπλοκες, γεγονός που υποδηλώνει ότι η σύνθετη διατροφή θα ωφελήσει τόσο την οξεία όσο και την χρόνια επούλωση πληγών. Συνοπτικά, οι πρωτεΐνες, οι υδατάνθρακες, τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα, οι βιταμίνες, τα μέταλλα και τα ιχνοστοιχεία κατέχουν σημαντικό ρόλο στην επούλωση των πληγών, ενώ οι ελλείψεις τους την επηρεάζουν αρνητικά.

1.4. ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΔΡΟΜΗ ΤΗΣ ΕΠΟΥΛΩΣΗΣ

Η ιστορία της επούλωσης πληγών είναι συνυφασμένη, κατά μία έννοια, με την ιστορία της ανθρωπότητας. Από την εποχή των σπηλαίων, ο άνθρωπος αναζητούσε μεθόδους, ώστε να θεραπεύει τις πληγές του. Με την πάροδο του χρόνου, διάφοροι πολιτισμοί άρχισαν να δημιουργούν τις δικές τους φυτικές φαρμακευτικές θεραπείες για τραύματα, χρησιμοποιώντας φύλλα από δένδρα, θάμνους ή οποιοδήποτε άλλο είδος φυτών που υπήρχε στο περιβάλλον τους. Αυτές οι φυτικές θεραπείες υπήρξαν η παλαιότερη μορφή θεραπείας τραυμάτων (Arnold & Barbul, 2006). Ωστόσο, η φροντίδα των πληγών εξελίχθηκε από τα φίλτρα και τις αλοιφές, σε μια συστηματική πρακτική περιποίησης των τραυμάτων από τους Έλληνες, τους Μεσοποτάμιους, τους Αιγύπτιους και άλλες φυλές.

Ένα από τα παλαιότερα ιατρικά χειρόγραφα, γνωστά στον άνθρωπο, είναι ένα δισκίο αργίλου που χρονολογείται από το 2200 π.Χ.. Σε αυτό περιγράφονται, ίσως για πρώτη φορά, τρεις χειρουργικές κινήσεις για την φροντίδα ενός τραύματος: πλύση αυτού, χρήση κάποιου υλικού ως γάζα και

περιτύλιξη της πληγής. Αυτές οι γάζες ήταν συνήθως μείγματα ουσιών συμπεριλαμβανομένης της λάσπης ή του πηλού, φυτών και βοτάνων. Τα συγκεκριμένα υλικά εφαρμόστηκαν σε τραύματα για την παροχή προστασίας και για την απορρόφηση του εξιδρώματος (Shah, 2011).

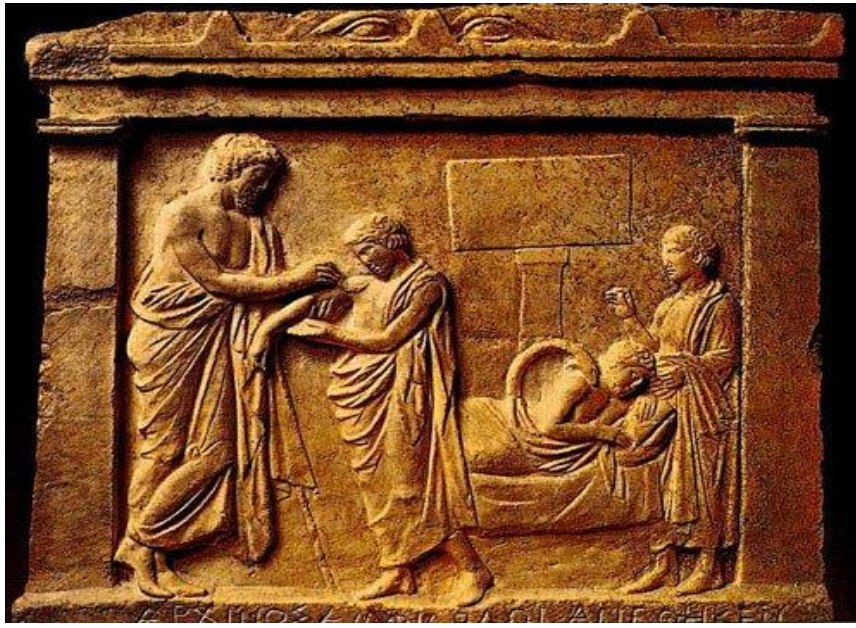
Στην αρχαία Ινδία, επί των ημερών του χειρουργού Sushruta (~800 π.Χ.) λόγω των συχνών μαχών και πολέμων, η θεραπεία των τραυμάτων ήταν θέμα έντονης ανησυχίας για όλους, συμπεριλαμβανομένων των αρχαίων κινέζων, κορεατών, αιγυπτίων και αφρικανών θεραπευτών. Στο χειρόγραφο Sushruta Samhita, περιέχονται δύο ξεχωριστά κεφάλαια που ασχολούνται με την επούλωση των τραυμάτων και περιγράφονται περισσότερα από 100 φυτά για την θεραπεία τραυμάτων, τόσο μεμονωμένα όσο και σε συνδυασμό. Ο Sushruta ανέφερε όχι μόνο διαδικασίες και φάρμακα για να καθαριστεί μια πληγή, ακολουθούμενη από φυσιολογική επούλωση, αλλά και φάρμακα που βοηθούν στη θεραπεία των χηλοειδών (Idris & Singh, 1994). Ο Sushruta επίσης καθόρισε την διαδικασία συρραφής, ως μια διαδικασία σύνδεσης δύο άκρων νήματος για την ένωση των ακμών της πληγής με τη βοήθεια βελόνας και κατάλληλου υλικού ραφής. Τέσσερις μέθοδοι τεχνικών συρραφής περιγράφονται στα αρχαία κείμενα: ευθεία, διακοπτόμενος τύπος, συνεχής τύπος και ζιγκ-ζαγκ.

Μία από τις πιο ενδιαφέρουσες πρώτες γνωστές φροντίδες τραυμάτων ήταν αυτή που εφάρμοζαν οι Σουμέριοι, χρησιμοποιώντας την μπύρα. Συγκεκριμένα παρήγαγαν τουλάχιστον 19 διαφορετικούς τύπους μπύρας (Arnold & Barbul, 2006). Εφάρμοζαν επίσης υλικά λιπαρής φύσεως στην πληγή.

Η Αφρική παραμένει μια χώρα των θαυμάτων με πάνω από 50 χώρες, πάνω από 3000 γλώσσες και μια πληθώρα πολιτιστικών πρακτικών, παραδοσιακών πεποιθήσεων και ισχυρών αξιών. Ορισμένες πολιτισμικές πρακτικές και πεποιθήσεις, όπως η χρήση καπνού, εγκαυμάτων καυτού μετάλλου, ζωικών και φυτικών προϊόντων, εξακολουθούν να ασκούνται. Τα παραδοσιακά φάρμακα, όπως η γούνα των ζώων, το σάλιο, το έδαφος και τα τοπικά βότανα, προτιμούνται συχνά έναντι των δυτικών φαρμάκων, λόγω τόσο της εύκολης διαθεσιμότητας όσο και της ανέξοδης φύσης (Ojok *et al.*, 2012).

Οι Αιγύπτιοι ήταν απόλυτα εξειδικευμένοι στην εφαρμογή και την τοποθέτηση επίδεσμων, όπως και στην αναγνώριση των κρίσιμων συμπτωμάτων της μόλυνσης και της φλεγμονής. Η αιγυπτιακή φαρμακευτική θεραπεία μπορεί να θεωρηθεί ότι έχει εξελιχθεί από ένα σύστημα που έχει ρίζες στην μαγεία και την εμπειρική παρατήρηση. Οι αρχαίοι Αιγύπτιοι χρησιμοποιούσαν το μέλι στην θεραπεία πληγών. Το 1650 π.Χ. Ο Edwin Smith στον Χειρουργικό Πάπυρο, ένα αντίγραφο κάποιου

πολύ παλαιότερου εγγράφου, περιγράφει τουλάχιστον 48 διαφορετικούς τύπους τραυμάτων. Ένα μεταγενέστερο έγγραφο (Ebers Papyrus, 1550 π.Χ.) αναφέρεται στην χρήση παρασκευασμάτων με μέλι (αντιβακτηριδιακές ιδιότητες), χνουδιού (απορροφητικές ιδιότητες) και λίπους (ενίσχυση φραγμού) για την αποτελεσματική επούλωση. Αυτές οι ίδιες ιδιότητες εξακολουθούν να θεωρούνται απαραίτητες στην σύγχρονη καθημερινή διαχείριση τραυμάτων (Sarabahi, 2012). Οι Αιγύπτιοι, επιπλέον, ίσως να ήταν οι πρώτοι άνθρωποι που χρησιμοποίησαν συγκολλητικούς επιδέσμους, φτιαγμένους από φυτικές ίνες, ώστε να βοηθούν στην αποστράγγιση της πληγής, αλλά και στην προστασία της από εξωγενείς μολυσματικούς παράγοντες (Farrar & Krosnick, 1991).



Εικόνα 5: Πρακτικές επούλωσης στα αρχαία χρόνια. (πηγή: <https://theancientwebgreece.wordpress.com>)

Από την άλλη, οι Έλληνες τόνισαν την σημασία της καθαριότητας στην επούλωση ενός τραύματος. Ειδικότερα, ο Ιπποκράτης, Έλληνας γιατρός και χειρουργός (460-377 π.Χ.), γνωστός ως ο πατέρας της ιατρικής, χρησιμοποίησε ξίδι για την άρδευση ανοιχτών πληγών και τυλιγμένους επίδεσμούς, γύρω από τα τραύματα για να αποτρέψει περαιτέρω τραυματισμούς. Έπλενε τα έλκη με κρασί και αφού τα άλειφε με ελαιόλαδο, τα έντυνε με φύλλα συκής. Οι Έλληνες επίσης διέκριναν τα τραύματα σε οξεία και χρόνια (Ackerknecht, 1982).

Ο Πλήνιος (23-79 μ.Χ.) χρησιμοποίησε βάλαμα από μέταλλα, όπως τον μόλυβδο και το ασήμι, ενώ ο Γαληνός (120-201 μ.Χ.), ένας αξιοσημείωτος Έλληνας χειρουργός, ήταν ο πρώτος που αναγνώριζε ότι το πύον από τις πληγές που προκάλεσαν οι μονομάχοι, προηγήθηκε της επούλωσης των πληγών. Θεράπευε τις πληγές χρησιμοποιώντας αλοιφές καρυκευμάτων (Phillips, 1998).

Τον 4ο αιώνα μ.Χ. το πολιτιστικό κέντρο της Μεσογείου μετατοπίστηκε στο Βυζάντιο (Κωνσταντινούπολη) και από εκεί η ιατρική γνώση με την μορφή της Γαληνικής διδασκαλίας, εξαπλώθηκε στους Άραβες μέσω των εξόριστων Νεστοριανών, οι οποίοι μετέφρασαν τον Γαληνό στα συριακά και έπειτα στα αραβικά. Η έλληνο-ρωμαϊκή ιατρική και η χειρουργική μεταβιβάστηκαν στη συνέχεια αμετάβλητες από τον Οριβάσιο (325-403 μ.Χ.), τον Αέτιο της Αμίδας (αρχές 6ου αι.), τον Αλέξανδρο τον Τραλλιανό (525-605 μ.Χ.) και τον Παύλο τον Αιγινήτη (607-690 μ.Χ.).

Τον 18ο αιώνα μ.Χ. η χειρουργική άρχισε να θεωρείται ως ξεχωριστός και σεβαστός κλάδος της ιατρικής. Τον 19ο αιώνα, η τεχνική της αντισηψίας υπήρξε σημαντική ανακάλυψη. Η ανακάλυψη των αντιβιοτικών συνέβαλε στον έλεγχο των λοιμώξεων και στην μείωση της θνησιμότητας (Phillips, 1998). Τον 20ο αιώνα σημειώθηκε η τομή στην αντιμετώπιση των τραυμάτων. Επί του παρόντος, υπάρχουν περισσότερα από 5.000 προϊόντα περιποίησης πληγών. Οι περισσότεροι σύγχρονοι επίδεσμοι περιέχουν υλικά που είναι ιδιαίτερα απορροφητικά, όπως αλγινικά, αφρώδη ή καρβοξυμεθυλοκυτταρίνη (Moues *et al.*, 2009). Οι πρόσφατες εξελίξεις στη ναυοτεχνολογία, την μοριακή βιολογία και την λειτουργική γονιδιωματική, σε συνδυασμό με την αυξημένη κατανόηση της παθοφυσιολογίας ενός χρόνιου τραύματος, έχουν οδηγήσει στην ανάπτυξη νέων θεραπειών όπως τα μηχανικά υποκατάστατα ιστών και οι αυξητικοί παράγοντες (Phillips, 1998).



Εικόνα 6: Πρακτικές επούλωσης στα αρχαία χρόνια. (πηγή : <https://theancientwebgreece.wordpress.com>)

1.5. ΦΥΣΙΚΑ ΠΡΟΙΟΝΤΑ ΚΑΙ ΕΠΟΥΛΩΣΗ

Από την αρχαιότητα, έως σήμερα, οι άνθρωποι στράφηκαν στην φύση προκειμένου να ανακαλύψουν συστατικά που θα μπορούσαν να προστατέψουν και να επουλώσουν τις πληγές τους.

Στον αρχαίο κόσμο υπήρχαν πολλά γνωστά βότανα, μέταλλα και προϊόντα που συνήθιζαν να χρησιμοποιούν στην θεραπεία και την αντιμετώπιση ποικίλων πληγών. Έχουν διεξαχθεί πολλές μελέτες σχετικά με τις ιδιότητες αυτών των φυσικών προϊόντων. Αποδείχθηκε πως έχουν ιδιότητες επουλωτικές, αντιφλεγμονώδεις, αντιοξειδωτικές, αντιβακτηριδιακές και διεγείρουν την σύνθεση του προ-κολλαγόνου. Οι φαρμακευτικές τους ιδιότητες οφείλονται στα βιοενεργά φυτοχημικά συστατικά τους, που ανήκουν σε διάφορες χημικές οικογένειες όπως τα αλκαλοειδή, τα αιθέρια έλαια, τα флаβονοειδή, οι τανίνες, τα τερπενοειδή, οι σαπωνίνες και οι φαινολικές ενώσεις (Thakur *et al.*, 2011). Κάθε ένα από αυτά τα βιοδραστικά συστατικά, έχει ειδική δράση στην επούλωση πληγών. Για παράδειγμα, οι σαπωνίνες μπορούν να ενισχύσουν την σύνθεση του προ-κολλαγόνου (Chandel & Rastogi, 1973–1978), ενώ οι τανίνες και τα флаβονοειδή έχουν αντισηπτική και αντιβακτηριδιακή δράση (Harbone, 1973). Λόγω αυτών των ιδιοτήτων, τα φυσικά προϊόντα και τα φυτοχημικά τους συστατικά, κατέχουν σημαντικό ρόλο στην επούλωση πληγών και χρησιμοποιούνται για τον σχεδιασμό νέων συνθετικών ενώσεων με επουλωτική δράση (Biswas & Mukherjee, 2003).

Πιο αναλυτικά, φυσικά προϊόντα με επουλωτική δράση, αναφέρονται στην συνέχεια:

➤ Μέλι:

Το μέλι χρησιμοποιήθηκε για τις αντιβακτηριδιακές του ιδιότητες που βοηθούσαν στην επούλωση των μολυσμένων πληγών. Επιπλέον, το μέλι χρησιμοποιείτο ως τοπική αλοιφή. Το μέλι αποτελείται από ένα μείγμα υδατανθράκων (80-85%) και περιέχει μια ποικιλία ιχνοστοιχείων, πολλών διαφορετικών βιταμινών, νερό (15-17%), πρωτεΐνες (0,1-0,4%), τέφρα (0,2%) και μικρές ποσότητες ενζύμων, καθώς και ανόργανων στοιχείων (Buba *et al.*, 2013). Η χρήση του μελιού ως μέσου για την θεραπεία των πληγών έχει εφαρμοστεί στην λαογραφία. Αυτή η παραδοσιακή πεποίθηση έχει αποδειχθεί επιστημονικά με προκλινικές μελέτες και κλινικές δοκιμές, όπου το μέλι επιτάχυνε την επούλωση πλήθους τραυμάτων, συμπεριλαμβανομένων εγκαυμάτων, χειρουργικών τραυμάτων, μολυσμένων χειρουργικών τραυμάτων και κακοήθων πληγών. Τα ευρήματα από τις *in vivo* μελέτες έδειξαν ότι τα τραύματα με μέλι επουλώνονται γενικά ταχύτερα σε σύγκριση με τα μη περιποιημένα τραύματα. Τα πρώτα, χαρακτηρίζονταν από αυξημένο ρυθμό επιθηλιοποίησης και αγγειογένεσης, ταχείας κοκκιοποίησης του ιστού και εναπόθεσης του κολλαγόνου, καθώς και της συστολής του τραύματος. Επιπλέον, τα αντιβακτηριδιακά χαρακτηριστικά που περιέχει το μέλι, απέτρεπαν την μόλυνση της πληγής και την περαιτέρω διόγκωσή της (Haryanto *et al.*, 2012).

➤ Πρόπολη:

Η πρόπολη είναι μια φυσική ρητινώδης ουσία που συλλέγουν οι μέλισσες από τους οφθαλμούς των δέντρων ή άλλες φυτικές πηγές όπως οι λεύκες, η ιτιά, η σημύδα, η φτελιά, η ελάτη, η οξιά, τα κωνοφόρα και οι καστανιές (Bosio *et al.*, 2000). Αποτελείται από 30% κηρό μελισσών, 50% ρητίνες και φυτικά βάλσαμα, 10% αιθέρια έλαια, 5% γύρη και κατά 5% από άλλες ουσίες (Burdock, 1997). Περισσότερες από 300 διαφορετικές ενώσεις έχουν ταυτοποιηθεί μέχρι στιγμής στην πρόπολη, συμπεριλαμβανομένων αλειφατικών οξέων, εστέρων, αρωματικών οξέων, λιπαρών οξέων, υδατανθράκων, αλδεϋδών, αμινοξέων, κετονών, τερπενοειδών, βιταμινών και ανόργανων ουσιών. Χρησιμοποιείται από τις μέλισσες ως δομικό υλικό της κυψέλης, προστατεύοντας την από βακτηριακές και μυκητιασικές λοιμώξεις (Yaghoubi & Satari, 2007). Έχει αποδειχθεί πως η πρόπολη έχει αντισηπτικές, αντιβακτηριδιακές, αντιμυκητιασικές, στυπτικές, σπασμολυτικές, αντιφλεγμονώδεις, αναισθητικές, αντιοξειδωτικές, αντιαλλεργικές, αντικαρκινικές και ανοσορρυθμιστικές ιδιότητες, χωρίς να εμφανίζεται τοξικότητα κατά την χρήση της (Bankova, 2005). Υπάρχουν αρχεία που υποδεικνύουν την χρήση της πρόπολης από τους αρχαίους Αιγυπτίους, τους Πέρσες και τους Ρωμαίους για να ανακουφίσουν πολλές ασθένειες, καψίματα ή πληγές, χαρακτηρίζοντάς την ως ουσία "βάλσαμο". Έκτοτε ουκ ολίγα ευρήματα αποκαλύπτουν ότι η πρόπολη επιταχύνει την αποκατάσταση των καμένων ιστών με διέγερση της αναδιαμόρφωσης της μήτρας της πληγής, προτείνοντας ότι οι παρατηρούμενες μεταβολές στην περιεκτικότητα της εξωκυττάριας μήτρας μετά την εφαρμογή πρόπολης, μπορεί να συνδέονται με την ικανότητα των φλαβονοειδών ενώσεων της να μειώνουν την υπεροξειδωση των λιπιδίων και να προλαμβάνουν την νέκρωση των κυττάρων (Olczyk *et al.*, 2013). Τέλος, αρκετές μελέτες έχουν διερευνήσει τις επιδράσεις της πρόπολης στην θεραπεία των τραυμάτων σε κλινικές και προ-κλινικές περιπτώσεις. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η πρόπολη είναι σε θέση να συντονίσει μια ομαλή διαδικασία επούλωσης, κυρίως με την μείωση της φλεγμονώδους αντίδρασης. Έτσι, η διαδικασία επούλωσης γίνεται ταχύτερη με την συνεισφορά της πρόπολης (Chikaraishi *et al.*, 2010).

➤ Κουρκουμίνη (Turmeric):

Το Turmeric (*Curcuma longa*) είναι μέλος της οικογένειας τζίντζερ (Zingiberaceae), που ευδοκιμεί στις χώρες της Ασίας και χρησιμοποιείται από την αρχαιότητα ως βαφή, καρύκευμα, αλλά και ως θεραπεία για την επούλωση τραυμάτων. Η επουλωτική δράση του Turmeric, οφείλεται στην κουρκουμίνη (διαφορετικοϋλμεθάνιο), το κύριο κουρκουμινοειδές που βρίσκεται στο *C. longa* (Ammon & Wahl, 1991). Πρόκειται για ένα αντιοξειδωτικό που βοηθά στην μείωση του πόνου και των απότοκων της φλεγμονής και επιπλέον, έχει βρεθεί ότι επιταχύνει την διαδικασία της

επούλωσης των πληγών. Στην κουρκουμίνη οφείλεται επίσης, το λαμπερό κίτρινο χρώμα του φυτού. Στην ιστορική εποχή γύρω από ορισμένες περιοχές της Ινδίας, οι άνθρωποι που ασκούσαν αυτή την θεραπεία, ξεκινούσαν εφαρμόζοντας μια επαρκή ποσότητα Turmeric πάνω στην τραυματισμένη περιοχή κι ακολουθούσε η περίδεση της περιοχής με κάποιο καθαρό ύφασμα (Foods for Healing Wounds / Organic Facts, 2015).

➤ **Σίδηρος:**

Η αναιμία είναι μια ασθένεια που προκαλείται από την ανεπάρκεια σιδήρου, κατά την οποία ένα άτομο δεν διαθέτει αρκετά ερυθροκύτταρα για να μεταφέρει επαρκές οξυγόνο στα εξωτερικά όργανα του σώματος, αλλιώς γνωστά ως ιστούς. Έτσι, με το πλεόνασμα του σιδήρου σε πρόσθετα όπως τα δισκία, τα χάπια και τα λαχανικά, τα αποτελέσματα μιας τέτοιας ασθένειας μπορούν να παρεμποδιστούν ή ακόμη και να αποτραπούν. Επιπλέον, όσον αφορά τα τραύματα, συχνά συνιστάται από πολλούς γιατρούς και χειρουργούς, οι ασθενείς να λαμβάνουν τροφές και συμπληρώματα, με υψηλή περιεκτικότητα σε σίδηρο, ώστε να επιταχύνουν την επούλωση πληγών.

➤ **Βιταμίνη E:**

Η βιταμίνη E αποτελείται από δύο κύριες υποοικογένειες, δηλαδή την τοκοφερόλη και την τοκοτριενόλη. Τόσο η τοκοφερόλη όσο και η τοκοτριενόλη υπάρχουν σε μορφές άλφα (α), βήτα (β), γάμα (γ) και δέλτα (δ), ανάλογα με την θέση των μεθυλομάδων στον δακτύλιο της χρωμανόλης (Aggarwal *et al.*, 2010). Οι κύριες πηγές βιταμίνης E περιλαμβάνουν το έλαιο φύτρου σιταριού, το σιτάρι, το πίτουρο ρυζιού, το κριθάρι, την βρώμη, την καρύδα και τον φοίνικα. Από την ανακάλυψη της ως ισχυρού λιπόφιλου αντιοξειδωτικού, αντιφλεγμονώδους και αναστολέα συσσωμάτωσης αιμοπεταλίων, η βιταμίνη E θεωρήθηκε ως ένας πιθανός παράγοντας στη θεραπεία εγκαυμάτων, χειρουργικών τραυμάτων και άλλου είδους τραυμάτων. Η βιταμίνη E δρα ως αναγωγικός παράγοντας με την απομάκρυνση των ελεύθερων ριζών για την πρόληψη της οξειδωτικής αντίδρασης που μπορεί να προκαλέσει βλάβη στους ιστούς (Shin *et al.*, 2017). Οι περισσότερες προκλινικές μελέτες ανέφεραν πολλά υποσχόμενες ιδιότητες της βιταμίνης E, στην επούλωση της πληγής, χρησιμοποιώντας υγιή μοντέλα ποντικού, υγιούς χοίρου και διαβητικών ποντικών. Η επιτάχυνση του ποσοστού κλεισίματος των πληγών ανιχνεύθηκε τόσο σε γενετικά όσο και σε χημικά προκληθέντα διαβητικά τρωκτικά. Φάνηκε πως η βιταμίνη E διευκόλυνε τους σχηματισμούς νέων τριχοειδών αγγείων (αγγειογένεση), του επιθήλιου (επιθηλιοποίηση), την κοκκιοποίηση του ιστού, την δημιουργία ινών κολλαγόνου και την ανάπλαση των στρωμάτων του δέρματος, στην περιοχή της προκληθείσας τομής (Musalmah *et al.*, 2002).

➤ Aloe vera ή Aloe Barbadensis:

Η Aloe Barbadensis γνωστή και ως Aloe vera, είναι ένα από τα 400 είδη αλόης που ανήκουν στην οικογένεια Liliaceae και ευδοκιμεί κυρίως στη Νότια Αφρική, ωστόσο φύεται και σε ξηρό υποτροπικό και τροπικό κλίμα, όπως αυτό των νότιων ΗΠΑ (Reynolds & Dweck, 1999). Η Aloe Vera έχει χρησιμοποιηθεί στην λαϊκή ιατρική για πάνω από 2000 χρόνια και παρέμεινε ένα σημαντικό συστατικό στην παραδοσιακή ιατρική πολλών σύγχρονων πολιτισμών, όπως η Κίνα, η Ινδία, οι Δυτικές Ινδίες και η Ιαπωνία. Πολλά ευεργετικά αποτελέσματα αυτού του φυτού έχουν αποδοθεί στους πολυσακχαρίτες που υπάρχουν στον πολτό του. Ο καθαρός πολτός, που είναι επίσης γνωστός ως γέλη, χρησιμοποιείται ευρέως σε διάφορες ιατρικές και καλλυντικές εφαρμογές (Hamman, 2008). Συγκεκριμένα, η A. vera, έχει χρησιμοποιηθεί εξωτερικά για την θεραπεία διαφόρων δερματοπαθειών, σε εγκαύματα και στο έκζεμα (Serrano *et al.*, 2006). Εκχυλίσματα από την γέλη της Aloe vera, έχουν ελεγχθεί πολλάκις ως προς την επουλωτική τους ικανότητα. Το συμπέρασμα είναι πως διεγείρουν τον πολλαπλασιασμό αρκετών κυτταρικών τύπων με αποτέλεσμα την ταχύτερη επούλωση των τραυμάτων (Grace *et al.*, 2008). Η A. Vera μπορεί να έχει άμεση επίδραση στην διαδικασία επούλωσης του τραύματος συνολικά, η οποία εκδηλώνεται με αύξηση του ρυθμού σύσπασης, αύξηση της συστολής του τραύματος και της σύνθεσης κολλαγόνου. Αυτή η ιδιότητα αποδίδεται στην μαννόζη που είναι γνωστό ότι υπάρχει στην γέλη της A. Vera (Liu *et al.*, 2010). Οι πολυσακχαρίτες από την Αλόη προάγουν τόσο τον πολλαπλασιασμό των ινοβλαστών όσο και την παραγωγή του υαλουρονικού οξέος και της υδροξυπρολίνης σε αυτούς, δύο συστατικά με σημαντικό ρόλο στην αναδιαμόρφωση της εξωκυττάριας μήτρας, κατά την διάρκεια της επούλωσης των πληγών (Chantarawatit *et al.*, 2013).

➤ Εναλλακτικές Θεραπείες για πληγές: Βδέλλες και Προνύμφες (Maggots)

Οι ιατρικές βδέλλες αναγνωρίστηκαν ως επικουρική ιατρική μέθοδος το 2004, αφού αποτέλεσε ένα απαραίτητο εργαλείο των ιατρών, κατά τον 19ο αιώνα. Αυτή η ξεχωριστή μέθοδος χρησιμοποιείται σε πολλές χειρουργικές επεμβάσεις σήμερα. Οι βδέλλες έχουν τη δυνατότητα να βοηθούν στην επισκευή του ιστού, με τα συστατικά του σάλιου τους. Το σάλιο περιέχει ένα τοπικό αναισθητικό, έναν αναστολέα της θρομβίνης, με αντιβιοτικές και αγγειοδιασταλτικές ιδιότητες, που ομοιάζει στην ισταμίνη. Αυτές οι ιδιότητες βοηθούν σε χειρουργικές επεμβάσεις, όπως οι μεταμοσχεύσεις. Οι βδέλλες βοηθούν στον εντοπισμό του τραύματος και στην αύξηση της ροής του αίματος, στοιχείο ιδιαίτερος χρήσιμο στις επεμβάσεις όπου εμφανίζονται θρόμβοι αίματος .

Οι προνύμφες (Maggots) χρησιμοποιήθηκαν για πρώτη φορά από τους στρατιωτικούς ιατρούς κατά την διάρκεια του 2ου Παγκοσμίου Πολέμου. Τα Maggots εκπέμπουν ένα ένζυμο που απολυμαίνει τις πληγές και προωθεί την επούλωση. Λειτουργούν ως βιοϊατρικοί παράγοντες απολέπισης των πληγών, με την κατάποση των βακτηρίων και την διάσπασή τους στο εσωτερικό των εντέρων τους.

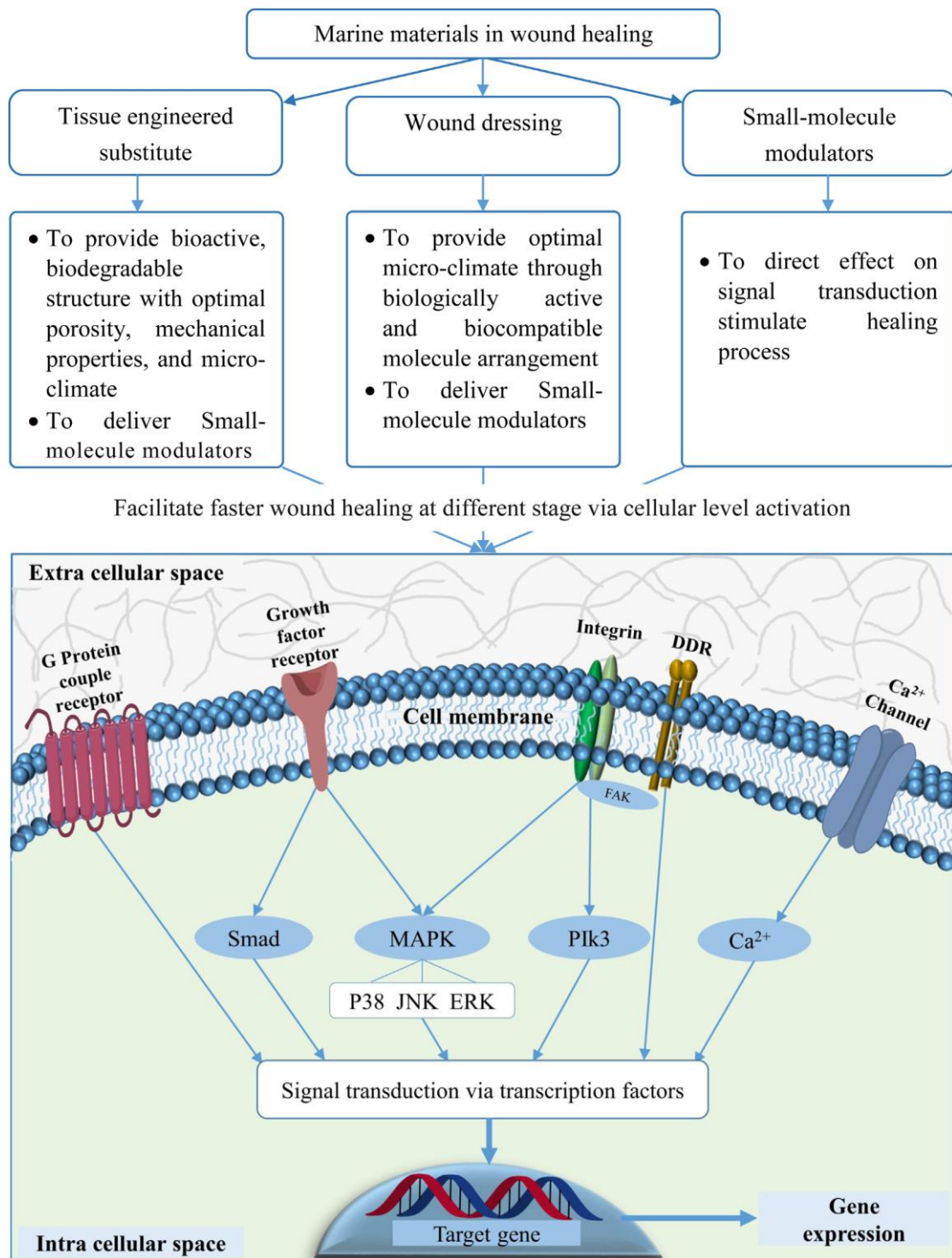
1.6. ΘΑΛΑΣΣΙΑ ΦΥΣΙΚΑ ΠΡΟΪΟΝΤΑ ΜΕ ΔΡΑΣΗ ΣΤΗΝ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΤΗΣ ΕΠΟΥΛΩΣΗΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΑΝΑΓΕΝΝΗΣΗΣ ΤΩΝ ΙΣΤΩΝ

Η επούλωση τραυμάτων αποτελεί μια πολύπλοκη βιολογική διαδικασία, που εξαρτάται από την κατάσταση του τραύματος, από την υγεία του ατόμου και την αρωγή που προσφέρεται μέσω εξωτερικών παραγόντων, για την αποκατάσταση του φραγμού.

Η ανάπτυξη βιοδραστικών μορίων, με επουλωτικές ιδιότητες, ώστε να αποκαθίσταται ομαλά η ασυνέχεια του ιστού, μετά από έναν τραυματισμό, αποτελεί ένα σημείο έρευνας της επιστήμης, που παρουσιάζει συνεχή πρόοδο. Η ανακάλυψη φυσικών προϊόντων, που περιέχουν ιδανικά μόρια για την αναγέννηση του δερματικού ιστού, έχει αναπτυχθεί ραγδαία με την εξερεύνηση του θαλάσσιου περιβάλλοντος. Το θαλάσσιο περιβάλλον αποτελεί ένα ιδιαίτερος αξιόλογο οικοσύστημα το οποίο είναι εξαιρετικά πλούσιο σε διαφοροποιημένους οργανισμούς. Η ευρεία χημική ποικιλομορφία που παρατηρείται στους θαλάσσιους οργανισμούς, καθιστά τους ωκεανούς μια εξαιρετική πηγή φυσικών ενώσεων. Με την συνεχή διερεύνηση των μοναδικών μορίων του θαλάσσιου κόσμου, ο όρος «θαλάσσιο φυσικό προϊόν» έχει καθιερωθεί στο πεδίο της χημείας των φυσικών προϊόντων (Faulkner, 2002).

Το αποτέλεσμα αυτής της εξερεύνησης είναι ανεκτίμητο, αφού κάθε χρόνο, χημικές ενώσεις που προέρχονται από θαλάσσιους οργανισμούς καθίστανται εκκινητές ή συν-εκκινητές εκατοντάδων υποσχόμενων επουλωτικών σκευασμάτων. Έτσι, άρχισαν να χρησιμοποιούνται σύνθετα υλικά από μόρια προερχόμενα από το θαλάσσιο οικοσύστημα, στην επούλωση τραυμάτων του δέρματος και στην αναγέννηση του δερματικού ιστού (Ferraro *et al.*, 2010).

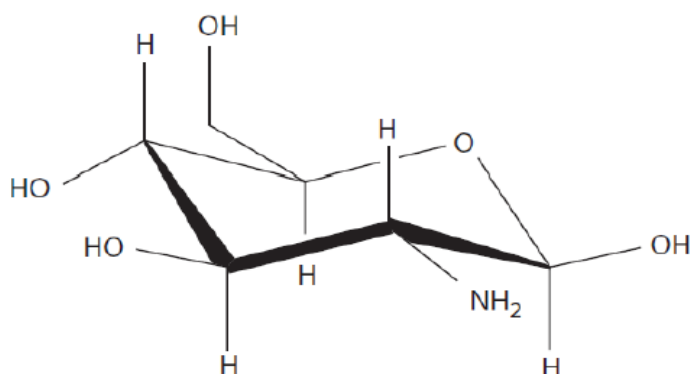
Το σχήμα 1 καταδεικνύει τους τρόπους με τους οποίους συμμετέχουν τα θαλάσσια μόρια στην διαδικασία επούλωσης των πληγών και στην αναγέννηση του δέρματος:



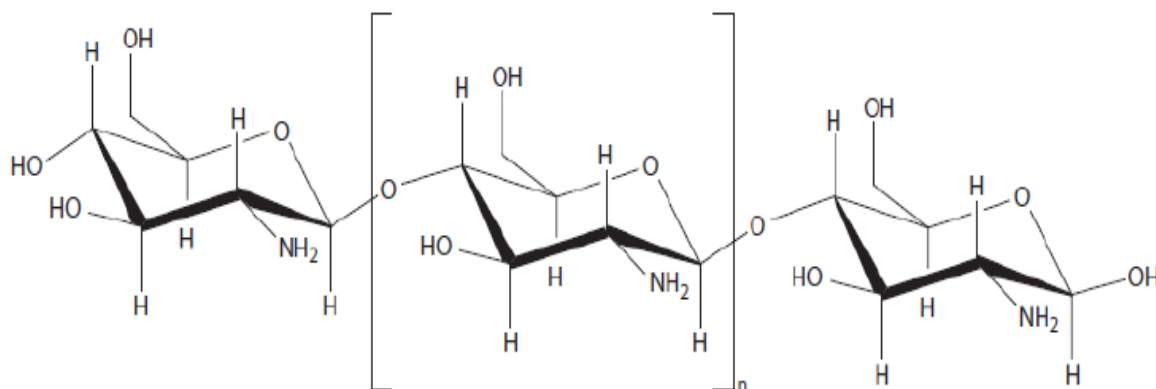
Σχήμα 1: Μηχανισμός μεταγωγής σήματος από χημικά και μηχανικά μέσα, που ελέγχουν το σχήμα του κυττάρου, την προσκόλληση, την μετανάστευση, την εξάπλωση, τον πολλαπλασιασμό και την σύνθεση της εξωκυττάριας μήτρας, καθώς και άλλες δραστηριότητες οι οποίες προάγουν και επιταχύνουν την διαδικασία επούλωσης τραύματος. Ο αναπτυσσόμενος τομέας της χρήσης υλικών θαλάσσιας προέλευσης, παρέχει αξιόλογες δυνατότητες για την επαγωγή αυτής της πολύπλοκης μεταγωγής σηματοδότησης στην επούλωση τραύματος και την αναγέννηση του δερματικού ιστού (Pathum Chandikaa *et al*, 2015).

1.6.1. Χιτίνη και Χιτοζάνη

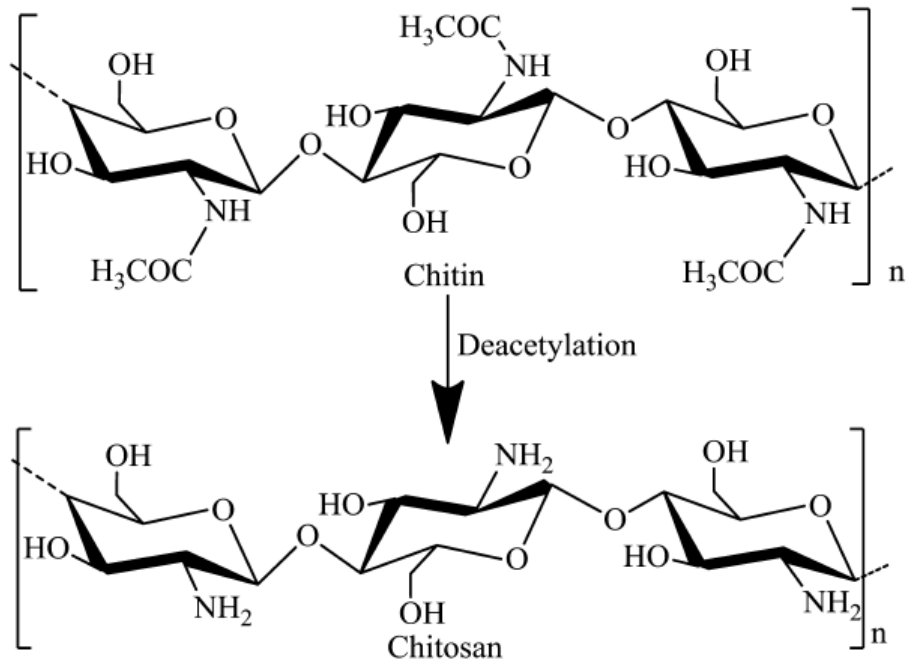
Η χιτίνη είναι ένας γραμμικός πολυσακχαρίτης, ενώ η χιτοζάνη αποτελεί ένα κατιονικό πολυμερές που αποτελείται από επαναλαμβανόμενες δομικές μονάδες N-ακετυλο-γλουκοζαμίνης. Η χιτοζάνη παράγεται από την χιτίνη με απακετυλίωση σε αλκαλικό περιβάλλον. Αν και η χιτίνη είναι ευρέως κατανοημένη σε όλη τη φύση, τα θαλάσσια καρκινοειδή όπως τα καβούρια, οι γαρίδες και τα κριλ, αποτελούν τις πιο πλούσιες πηγές χιτίνης για εμπορική παραγωγή, επειδή είναι άμεσα διαθέσιμες ως υποπροϊόντα της βιομηχανίας θαλασσινών.



Εικόνα 7 :Δομή μορίου γλουκοζαμίνης (πηγή:it.wikipedia.org/wiki/Glucosammina)



Εικόνα 8:Δομή χιτοζάνης (πηγή:www.researchgate.net/figure/Chemical-structure-of-the-chitosan-molecule_fig1_236084986)



Εικόνα 9 :Απακετυλίωση χιτίνης (Chandikaa *et al.*,2015)

Τα εξαιρετικά βιολογικά και φυσιολογικά χαρακτηριστικά της χιτίνης και της χιτοζάνης, έχουν έλξει το ενδιαφέρον των επιστημόνων, καθώς χρησιμοποιούνται σε φαρμακευτικές και βιοϊατρικές εφαρμογές τις τελευταίες δεκαετίες. Ειδικότερα, λόγω των ελκυστικών βιολογικών τους ιδιοτήτων στην επούλωση τραυμάτων, στην αιμόσταση και στην ενίσχυση του ανοσοποιητικού συστήματος, έχουν χρησιμοποιηθεί επί μακρόν στην προαγωγή της επούλωσης πληγών και στην μηχανική των ιστών ως υποκατάστατα (Hu *et al.*, 2007). Επιπλέον, έχουν χρησιμοποιηθεί με άλλα φυσικά ή συνθετικά πολυμερή ή με βιοδραστικές φυσικές ενώσεις σε επιδέσμους τραυμάτων για την ανάπλαση δερματικού ιστού, όπως παρουσιάζεται στον παρακάτω πίνακα.

Πίνακας 1: Δυνητικές ιδιότητες των εφαρμογών που βασίζονται σε θαλάσσια προερχόμενη χιτίνη και χιτοζάνη στην επούλωση των πληγών και στην μηχανική των ιστών του δέρματος (Chandikaa *et al.*, 2015).

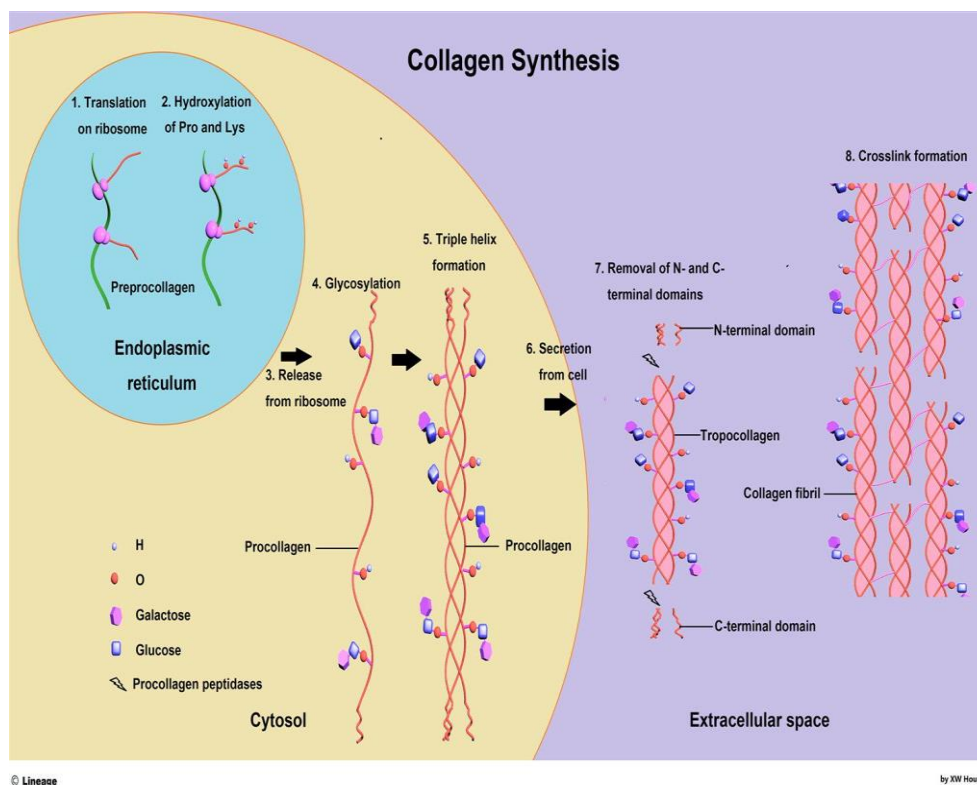
Type of fabrication	Materials used	Sources of chitin/chitosan or oligomers	<i>In vitro</i> / <i>In vivo</i> study
Scaffold	Chitosan, gelatin, and hyaluronic acid	Snow crab shell	<i>In vitro</i> cell attachment, and proliferation of fibroblasts isolated from human foreskins and morphology of keratinocytes co-culture
Porous scaffolds	Chitosan and collagen	Crab shells	<i>In vitro</i> cells adhesion and proliferations of L929 cells
Nanofibrous scaffold	Chitosan, poly(lactide-co-glycolide) (PLGA), and PVA	Crab shells	<i>In vitro</i> cell attachment and proliferation of Rabbit dermal fibroblast cells
Scaffold	Chitosan	Shrimp shells, crab shells, squid bone plates, and fungal mycelia	<i>In vitro</i> cell attachment, morphology, and proliferation of NIH/3T3 cells
Hydrogel	Chitin, chitosan, fucoidan, and alginate	Crab shells	<i>In vitro</i> cytotoxicity evaluation on DFC and DMVEC cells
Gel	Chitosan, collagen, and PDGF	Crab shells	<i>In vivo</i> dermal wound healing performance of excision wounds on female albino rat
Sheets and pastes	Chitosan derivatives; oligo-chitosan, carboxymethyl-chitosan, and N-carboxymethyl-chitosan	Shrimp shells	<i>In vitro</i> cytotoxicity on primary human dermal fibroblasts and hypertrophic scar dermal fibroblasts
Nanocomposite fibers	Chitin, chitosan, and alginate	Shrimp shells	Antibacterial property via the colony count method against gram-positive <i>Staphylococcus aureus</i> and gram-negative <i>Escherichia coli</i>
Hydrogel	Chitosan, poly(N-isopropyl acrylamide) loaded, ciprofloxacin	Crab shells	<i>In vitro</i> cytotoxicity on L929 cells
Nonwoven mats	Chitosan, polycaprolactone	Shrimp shells	Platelet aggregation, anti-bacterial, anti-adhesive, and anti-inflammatory activities
Fibers	Chitin and alginate	Shrimp shells	<i>In vivo</i> full thickness wound healing characteristics on female rat

Έτσι, η χιτίνη και η χιτοζάνη, ξεχωριστά ή σε συνδυασμό με άλλα ιδανικά υλικά, μπορούν σαφώς να χρησιμοποιηθούν για την προώθηση της διαδικασίας επούλωσης των πληγών και ως υποκατάστατο της μηχανικής ιστών του δέρματος.

1.6.2. Κολλαγόνο

Το κολλαγόνο αποτελεί την πλέον άφθονη πρωτεΐνη σώματος στα σπονδυλωτά και αντιπροσωπεύει περίπου το 30% της συνολικής μάζας σώματος. Επιπλέον, το κολλαγόνο είναι η πιο σημαντική δομική πρωτεΐνη στα περισσότερα όργανα του σώματος. Για παράδειγμα, υπολογίζεται ότι περισσότερο από το 50% του δέρματος αποτελείται από κολλαγόνο. Ο ινοβλάστης είναι ο κυρίαρχος

τύπος κυττάρου που εμπλέκεται στην εναπόθεση κολλαγόνου (Anand *et al.*, 2013). Μέχρι σήμερα έχουν αναγνωρισθεί και χαρακτηριστεί 29 διαφορετικοί τύποι κολλαγόνου. Όλοι οι τύποι κολλαγόνου αντιπροσωπεύουν μια τυπική τριπλή ελικοειδή δομή. Οι τύποι I, II, III, V και XI είναι υπεύθυνοι για την παραγωγή ινών κολλαγόνου.



Εικόνα 10:Σύνθεση και δομή κολλαγόνου
(Πηγή:<https://step1.medbullets.com/biochemistry/102078/collagen>)

Επιπλέον, το κολλαγόνο διαδραματίζει κρίσιμο ρόλο στην προσκόλληση, την μετανάστευση, τον πολλαπλασιασμό, την διαφοροποίηση και την επιβίωση των κυττάρων. Λόγω όλων των σημαντικών μοναδικών χαρακτηριστικών του, το κολλαγόνο αναγνωρίζεται ευρέως, ως ένας ιδανικός παράγοντας στην μηχανική υποστήριξη του ιστού (Yang *et al.*, 2004). Στις πολλά υποσχόμενες ιδιότητες του κολλαγόνου, που προέρχεται από θαλάσσιους οργανισμούς, αποδίδεται το μεγάλο ενδιαφέρον για την διερεύνηση των δυνατοτήτων του στις εφαρμογές αναγέννησης του δερματικού ιστού.

Ο πίνακας 2 συνοψίζει αυτές τις εφαρμογές:

Πίνακας 2: Δυνητικές ιδιότητες του κολλαγόνου θαλάσσιας προέλευσης και των εφαρμογών του στην επούλωση τραυμάτων και την μηχανική δερματικού ιστού (Chandikaa *et al.*, 2015).

Organism	Genera/Species	Fabrication type and method	Source	Type of cell cultured	Histological examination
Jellyfish	<i>Stomolophus nomurai meleagris</i>	Porous scaffolds cross-linking with 1-ethyl-(3-3-dimethylaminopropyl) carbodiimide hydrochloride (EDC)	Whole portion	Primary human fibroblasts (HF), and endothelial cells obtained from foreskin	-
Fish	<i>Oncorhynchus keta</i>	DNA-incorporated composite film cross-linked by EDC for gelation, and a ventilation-drying	Skin	Human dermal fibroblast (NHDF), and normal human epidermal keratinocytes (NHEK)	Full thickness, 8 mm diameter wound on the dorsal region of Wistar rat
Fish	Salmon	Elastin-incorporated sponge cross-linked by EDC	Skin	Human dermal fibroblast, and WKA rat fetus fibroblast	Full thickness, 15 mm diameter skin wound in Wistar rat
Fish	<i>Lates calcarifer</i>	<i>Macrotyloma uniflorum</i> plant extract-incorporated porous sponge cross-linked by glutaraldehyde	Fish scale	Mouse embryonic fibroblast (NIH 3T3), and human keratinocytes (HaCaT)	-
Marine catfish	-	Chitosan and platelet-derived growth factor (PDGF) comprised gel	Bladders	-	1.5 × 1.5 cm square wound in female albino rats for dermal regeneration
Red Sea cucumber	<i>Stichopus japonicus</i>	Pepsin-soluble collagen-treated cell plate for wound healing	Body wall	HaCaT	-
Fish	<i>Salmo salar</i>	Genipin cross-linked porous chitosan-collagen-gelatin scaffolds	Skin	NIH-3T3	-

1.6.3. Αλγινικά άλατα

Τα αλγινικά άλατα είναι ανιονικά πολυμερή, που απαντώνται ευρέως στην φύση. Αποτελούν μέλη μιας οικογένειας γραμμικών, μη διακλαδισμένων πολυσακχαριτών. Τα αλγινικά άλατα, εκχυλίζονται από διάφορα είδη καφέ φυκιών όπως τα: *Laminaria hyperborea*, *Ascophyllum nodosum*, *Macrocystis pyrifera*, *Laminaria japonica*, *Eclonia maxima*, *Lesonia negrescens* και *Sargassum* (Smidsrod & Skjak-Braek, 1990). Εδώ και αρκετά χρόνια, έχουν αποκτήσει αυξανόμενη αποδοχή, στον χώρο της ιατρικής και της φαρμακευτικής βιομηχανίας, λόγω των πολλά υποσχόμενων χαρακτηριστικών τους: της βιολογικής “αποδοχής”, της χαμηλής τοξικότητας και της υψηλής διαθεσιμότητας. Τα πλεονεκτικά φυσικά και χημικά χαρακτηριστικά των αλγινικών αλάτων, τα καθιστούν ένα εξαιρετικά πολύτιμο υλικό για βιοϊατρικές εφαρμογές, ειδικά στην περίθαλψη και την διαχείριση πληγών. Για παράδειγμα, οι επιδέσμοι τραυμάτων από αλγινικά άλατα, είναι καλά αποδεκτοί λόγω της ευνοϊκής

τους ικανότητας να διατηρούν ένα φυσιολογικό υγρό μικροπεριβάλλον, ελαχιστοποιώντας την βακτηριακή λοίμωξη και διευκολύνοντας την επούλωση πληγών. Επίσης, έχουν θεωρηθεί ως ένας πολλά υποσχόμενος παράγοντας σε εφαρμογές της μηχανικής του ιστού δέρματος, ιδίως σε τραύματα με βαθύ πάχος, ως εναλλακτικό μόσχευμα, όπως φαίνεται στον Πίνακα 3:

Πίνακας 3 :Δυνητικές ιδιότητες των αλγινικών αλάτων και των εφαρμογών που βασίζονται στα αλγινικά άλατα για την επούλωση τραυμάτων και την μηχανική δερματικού ιστού (Chandikaa *et al.*, 2015).

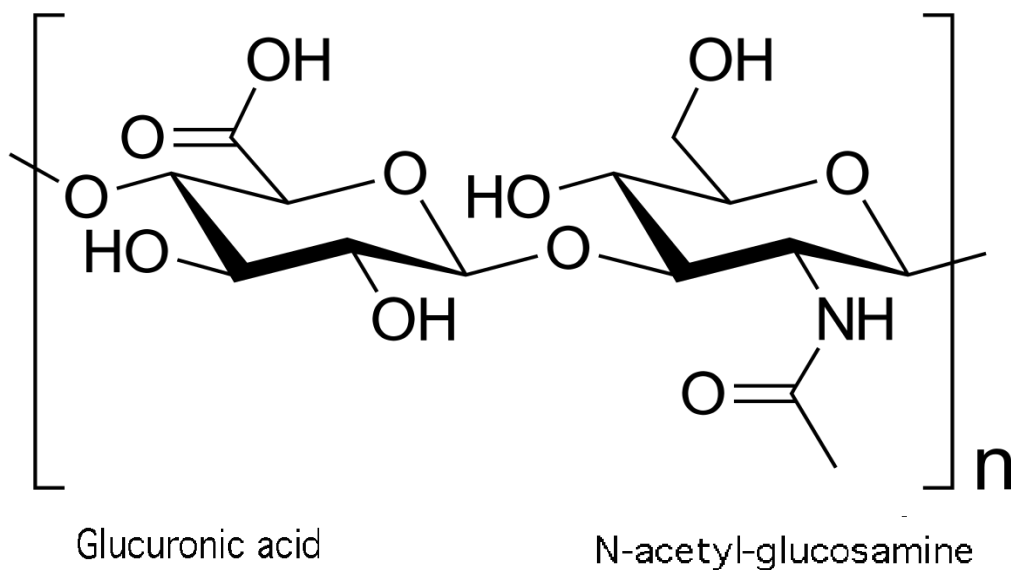
Fabrication type	Co-materials	Cross-linking	<i>In vitro/In vivo</i> study
Hydrogel	Gelatin	Periodate-oxidized alginate cross-links with gelatin in the presence of borax	<i>In vitro</i> cytotoxic study on L929 mouse fibroblast cells and <i>in vitro</i> release experiment
Hydrogel	Gelatin	Periodate-oxidized alginate cross-links with gelatin in the presence of borax	Full thickness wound healing characteristics on Wistar rat
Hydrogel	Gelatin	Periodate-oxidized alginate cross-links with gelatin in the presence of borax	<i>In vitro</i> release of dibutyl cyclic adenosine monophosphate from the hydrogel <i>In vivo</i> full thickness wound healing characteristics on Wistar rats
Hydrogel	PVA	Physical cross-linking via freezing-thawing cycle	<i>In vitro</i> protein adsorption assay <i>In vivo</i> full thickness wound healing characteristics on SD rats
Membrane	Cellulose and gelatin	Ca ²⁺ and glutaraldehyde	<i>In vitro</i> evaluation of Swiss mouse NIH 3T3 cells attachment, viability morphology, and proliferation
Hydrogel	Chitin/chitosan and fucoidan	Using a reagent, ethylene glycol diglycidyl ether, and washing	<i>In vitro</i> cytotoxic study on human dermal fibroblast cells (DFCs) and dermal micro-vascular endothelial cells (DMVECs) <i>In vivo</i> full thickness wound healing characteristics on rats
Hydrogel	Gelatin	-	Combinatorial behavior of diabetic and control hosts-derived macrophages and fibroblast collected from mice
3D plotted hydrogel	-	Ca ²⁺	<i>In vitro</i> cytotoxic study on L929 mouse fibroblast
Membrane	Chitosan/silk	Ca ²⁺	<i>In vitro</i> cytotoxic study on L929 mouse fibroblast
Bi-layer membrane	Chitosan	Ca ²⁺	<i>In vitro</i> antimicrobial, drug permeation, and cytotoxicity on HaCaT cells <i>In vivo</i> full thickness wound healing model on rabbits

1.6.4. Υαλουρονικό οξύ

Το υαλουρονικό οξύ (υαλουρονάνη), είναι ένα φυσικά απαντώμενο πολυμερές στο δέρμα. Αποτελεί κύριο συστατικό της εξωκυττάριας ουσίας του συνδετικού ιστού των σπονδυλωτών και βρίσκεται σε αφθονία στο υαλώδες και στο αρθρικό υγρό (Brekke *et al.*, 2005). Πρόκειται για έναν βιοαποικοδομήσιμο πολυσακχαρίτη αποτελούμενο από επαναλαμβανόμενους δισακχαρίτες -1,4-D-γλυκουρονικό οξύ και -1,3-N-ακετυλ-D-γλυκοζαμίδιο (Laurent & Fraser, 1996). Το υαλουρονικό οξύ έχει χρησιμοποιηθεί σε ένα ευρύ φάσμα ιατρικών πεδίων, όπως η ορθοπεδική και η αισθητική

χειρουργική, καθώς και στην τεχνική ιστών λόγω της εξαιρετικής συμβολής του στις βιολογικές λειτουργίες όπως η κυτταρική προσκόλληση, η μετανάστευση, η διαφοροποίηση και ο πολλαπλασιασμός στην ανάπτυξη ιστών (Zheng Shu *et al.*, 2004). Ιδιαίτερα, τα προϊόντα διάσπασης του υαλουρονικού οξέος, έχουν μια σειρά από ιδιότητες που οδηγούν σε μια διαδικασία ταχείας επούλωσης των πληγών (Price *et al.*, 2005]. Έτσι, τις τελευταίες δεκαετίες, αναπτύσσονται συνεχώς προϊόντα με βασικό συστατικό αυτό το μεγάλο μακρομόριο, τα οποία διαθέτουν ένα ευρύ φάσμα ιδιοτήτων ως προς την ρύθμιση της επούλωσης των πληγών. Είναι μη αντιγονικό και μπορεί να παρασκευάζεται σε διάφορες μορφές, που κυμαίνονται από υδρογέλες, σπόγγους και ελαφρά υφαντά πλέγματα με εξαιρετικές ιδιότητες (Collins & Birkinshaw, 2013). Ωστόσο, η εφαρμογή του θαλάσσια προερχόμενου υαλουρονικού οξέος, έχει λάβει μικρή προσοχή, παρόλο που έχει δείξει να έχει άριστες ιδιότητες και παρόμοια δομικά χαρακτηριστικά με το κοινό υαλουρονικό οξύ (Panagos *et al.*, 2014). Αυτά τα εξαιρετικά φυσικοχημικά χαρακτηριστικά του τελευταίου, μπορούν να παράσχουν την δυνατότητα ανάπτυξης νέων σκευασμάτων, ικανών ως προς την αναγέννηση του δερματικού ιστού.

Hyaluronic Acid

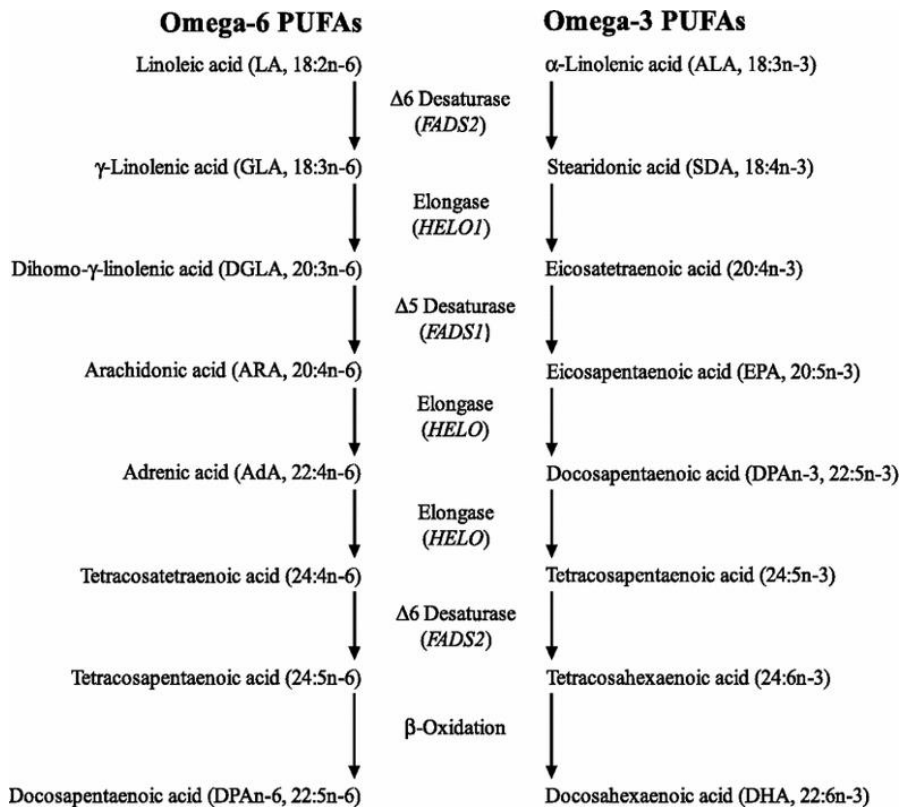


Alternating units of 1,4-linked
N-acetylglucosamine and glucuronic acid

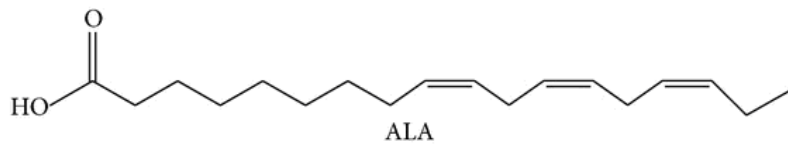
Εικόνα 11: Δομή υαλουρονικού οξέος (Πηγή: https://en.wikipedia.org/wiki/Hyaluronic_acid)

1.6.5. Λιπαρά Οξέα

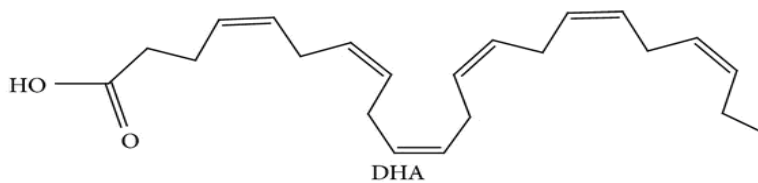
Τα λιπαρά οξέα με τη μορφή φωσφολιπιδίων είναι τα βασικά και πιο σημαντικά συστατικά για την κατασκευή της πλασματικής μεμβράνης. Τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα (PUFA) που υπάρχουν στην μεμβράνη του πλάσματος, εκτός από τον δομικό τους ρόλο στον σχηματισμό της μεμβράνης του πλάσματος, είναι υπεύθυνα για την ρύθμιση των αλληλεπιδράσεων μεταξύ των κυττάρων, καθώς και για την ενδοκυτταρική μεταγωγή σήματος (Calder, 2001). Εν τω μεταξύ, τα ω-3 και ω-6 PUFA συμμετέχουν στην βιοσύνθεση μερικών λιπιδικών μεσολαβητών της σύνθεσης των μεμβρανικών φωσφολιπιδίων και έτσι είναι ικανά να διεγείρουν τον πολλαπλασιασμό των επιθηλιακών κυττάρων, ένα συμβάν που προηγείται της διαδικασίας επούλωσης τραύματος (Ziboh *et al.*, 2000). Τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα (PUFA) είναι πρόδρομοι πολλών λιπιδικών μεσολαβητών, που διαδραματίζουν κρίσιμο ρόλο στα στάδια της φλεγμονής και συγκεκριμένα στην αγγειακή συστολή, στην χημειοταξία, στην κυτταρική προσκόλληση και ενεργοποίηση (Calder, 2006). Ως εκ τούτου, πολυάριθμες μελέτες έχουν διεξαχθεί για την αναγνώριση της ικανότητας των λιπαρών οξέων που προέρχονται από τη θάλασσα, ως παράγοντες επούλωσης τραυμάτων. Για παράδειγμα, το έλαιο από το ήπαρ του βακαλάου, το οποίο είναι πλούσιο σε PUFA, έχει διερευνηθεί ως ένας επιταχυντής επούλωσης τραύματος, με τοπική χορήγηση (Kletzmann, 1999). Περαιτέρω, τα λιπίδια που εκχυλίζονται από τα μαλάκια (*Mytilus galloprovincialis* L) και τα γαστερόποδα (*Rapana venosa*), έδειξαν να μειώνουν τον χρόνο επούλωσης πληγών από έγκαυμα (Badiu *et al.*, 2008). Τέλος, κλινικές μελέτες έχουν υποδείξει ότι τα PUFA αυξάνουν την παραγωγή προ-φλεγμονώδους κυτοκίνης, στις θέσεις του τραύματος και ως εκ τούτου χαρίζουν μια νέα προοπτική στην επούλωση δερματικών τραυμάτων (Belury *et al.*, 2008).



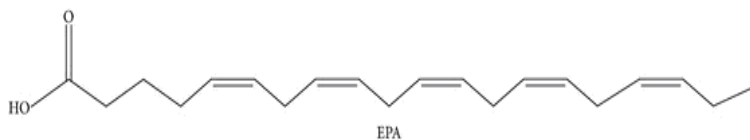
Εικόνα 12: Μονοπάτια βιοσύνθεσης των ω -3 και ω -6 πολυακόρεστων λιπαρών οξέων (πηγή: <https://basicmedicalkey.com/lipid-metabolism-polyunsaturated-fatty-acids>)



α -linolenic acid (18:3, n-3; ALA)



Docosahexaenoic acid (22:6, n-3; DHA)

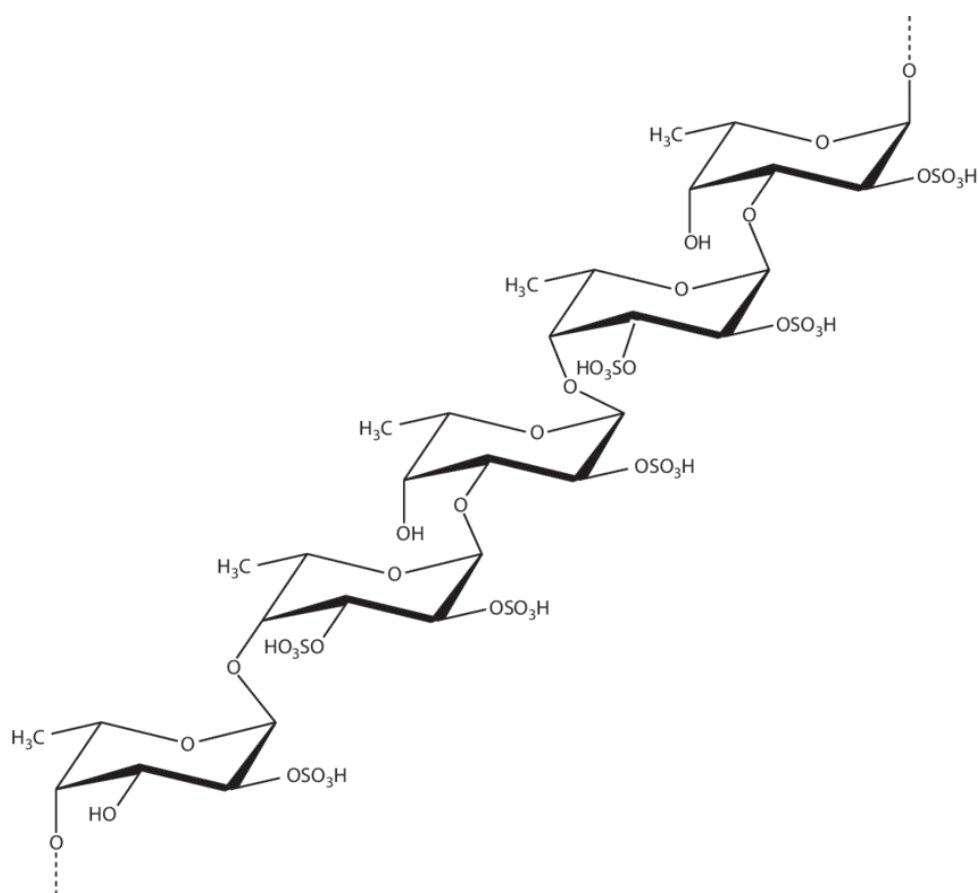


Eicosapentaenoic acid (20:5, n-3; EPA)

Εικόνα 13: Δομές τριών βασικών πολυακόρεστων λιπαρών οξέων (PUFA) (πηγή: www.researchgate.net)

1.6.6. Φουκοϊδάνη

Η φουκοϊδάνη είναι ένας θειωμένος πολυσακχαρίτης που βρίσκεται κυρίως σε διάφορα είδη βρώσιμων φυκιών όπως *mozuku*, *kombu*, *bladderwrac*, *wakame* και *hijiki*. Επιπλέον, αποτελεί συστατικό της μεμβράνης των φυκιών αυτών. Φουκοϊδάνες από το φύκι *Fucus vesiculosus* έχουν απομονωθεί για χρήση σε τραύμα, σε μορφή επίδεσμου (Sezer *et al.*, 2007). Ο επίδεσμος παρουσιάζει καλές μηχανικές και άριστες βιολογικές ιδιότητες, όπως εξαιρετική επανεπιθηλίωση και ταχεία συστολή πληγών σε επιφανειακά δερματικά εγκαύματα. Επιπλέον, παρόμοια αποτελέσματα ελήφθησαν από υδρογέλη φουκοϊδάνης-χιτοζάνης (Sezer *et al.*, 2008). Τέλος, οι φουκοϊδάνες έχουν εξεταστεί σε επιθέματα, συνδυασμένα με διαφορετικά υλικά.

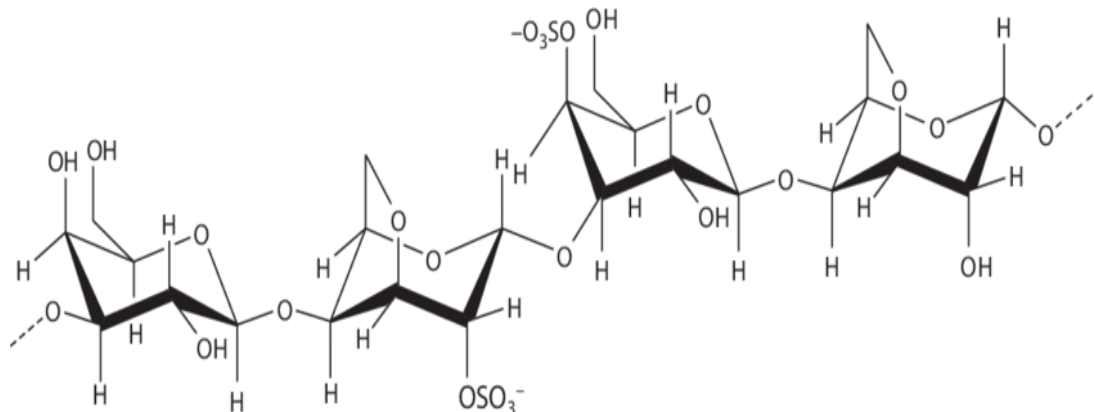


Εικόνα 14: Δομή του μορίου της φουκοϊδάνης (πηγή: https://www.researchgate.net/figure/Structure-of-fucoidan_fig2_300770925)

1.6.7. Καραγεννάνες

Οι καραγεννάνες είναι μια οικογένεια γραμμικών υδατοδιαλυτών θειωμένων γαλακτανών, που απομονώνονται από ορισμένους τύπους θαλάσσιων φυκιών. Σήμερα οι καραγεννάνες εφαρμόζονται ευρέως στην φαρμακευτική βιομηχανία αφού έχουν εγκριθεί από τον FDA ως ασφαλές υλικό (Navarro & Stortz, 2005). Οι καραγεννάνες θεωρούνται ως ένα ζωτικό υλικό για την

επιτάχυνση της επούλωσης τραύματος (Boateng *et al.*, 2013). Επιθέματα καραγεννάνης θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν για την ενεργή μεταφορά φαρμάκου σε ένα τραύμα. Δύο ακόμη χαρακτηριστικά των καραγεννάνων που τις καθιστούν υλικά ιδιαίτερως ικανά και ασφαλή ως επιθέματα γύρω από τραύμα, είναι οι εξαιρετικές αντιμικροβιακές ιδιότητες τους και η ικανότητά τους να απορροφούν την υγρασία.



Εικόνα 15: Δομή του μορίου της καραγεννάνης (πηγή: https://www.researchgate.net/figure/Structure-of-carrageenan_fig3_300770925)

1.6.8. Ουλβάνες

Οι ουλβάνες είναι θειωμένοι πολυσακχαρίτες που εξάγονται από τα κυτταρικά τοιχώματα πράσινων φυκιών, τα οποία ανήκουν στο γένος *Ulva* (Yaich *et al.*, 2014). Έχουν λάβει πολύ μεγαλύτερη προσοχή στις εφαρμογές μηχανικής ιστών. Ωστόσο, οι ουλβάνες εφαρμόζονται μερικώς και στην επούλωση τραυμάτων, καθώς έχει αναφερθεί πρόσφατα πως χρησιμοποιούνται και σε επίθεμα τραυμάτων (Alves *et al.*, 2012).

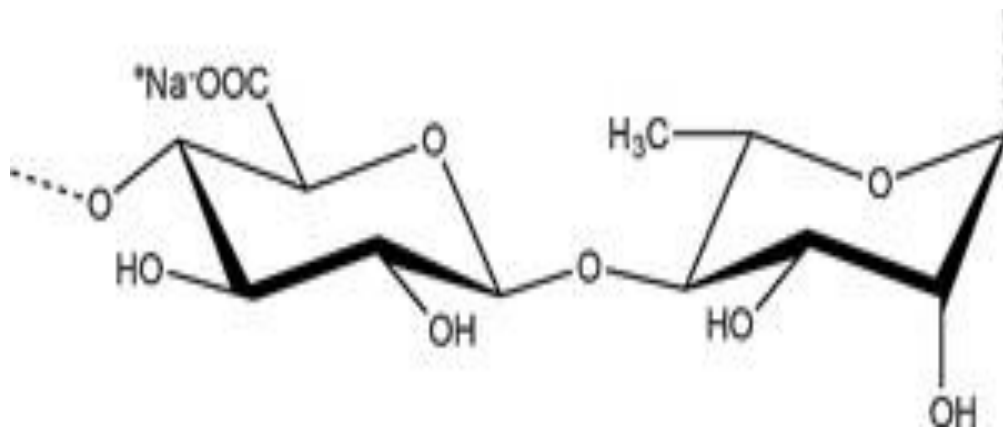
Εκτός από τα παραπάνω διεξοδικά διερευνημένα υλικά στην επούλωση πληγών, εξακολουθεί να υπάρχει ένας τεράστιος αριθμός ζωτικών θαλάσσιων βιοϋλικών που θα μπορούσαν να ερευνηθούν και ύστερα να χρησιμοποιηθούν στην επούλωση τραυμάτων και στις εφαρμογές μηχανικής ιστών .

Έκτοτε, ορισμένα νέα υλικά εξακολουθούν να ερευνώνται. Για παράδειγμα, το ακατέργαστο εκχύλισμα από το φύκος *Eucheuma cottonii* έδειξε ταχύτερη συστολή τραύματος, επιθηλιοποίηση και ανάπτυξη τριχών (Muhammad & Mohamed, 2011).

Επιπλέον, αρκετά παραδοσιακά φάρμακα που εξάγονται από το θαλάσσιο περιβάλλον και εφαρμόζονται στην επούλωση πληγών δεν έχουν ακόμη διερευνηθεί συστηματικά.

Μελετήθηκε η επίδραση του θαλάσσιου μαλακίου *Cypraea moneta*, ενός αρχαίου φαρμάκου που χρησιμοποιείται στην επούλωση τραυμάτων. Η εξωτερική εφαρμογή αλοιφής με σκόνη από το

κέλυφος των μαλακίων, έχει δείξει αποτελεσματική δράση στην θεραπεία των πληγών, όπως και αντιβακτηριδιακή δράση (Badiu *et al.*, 2010).

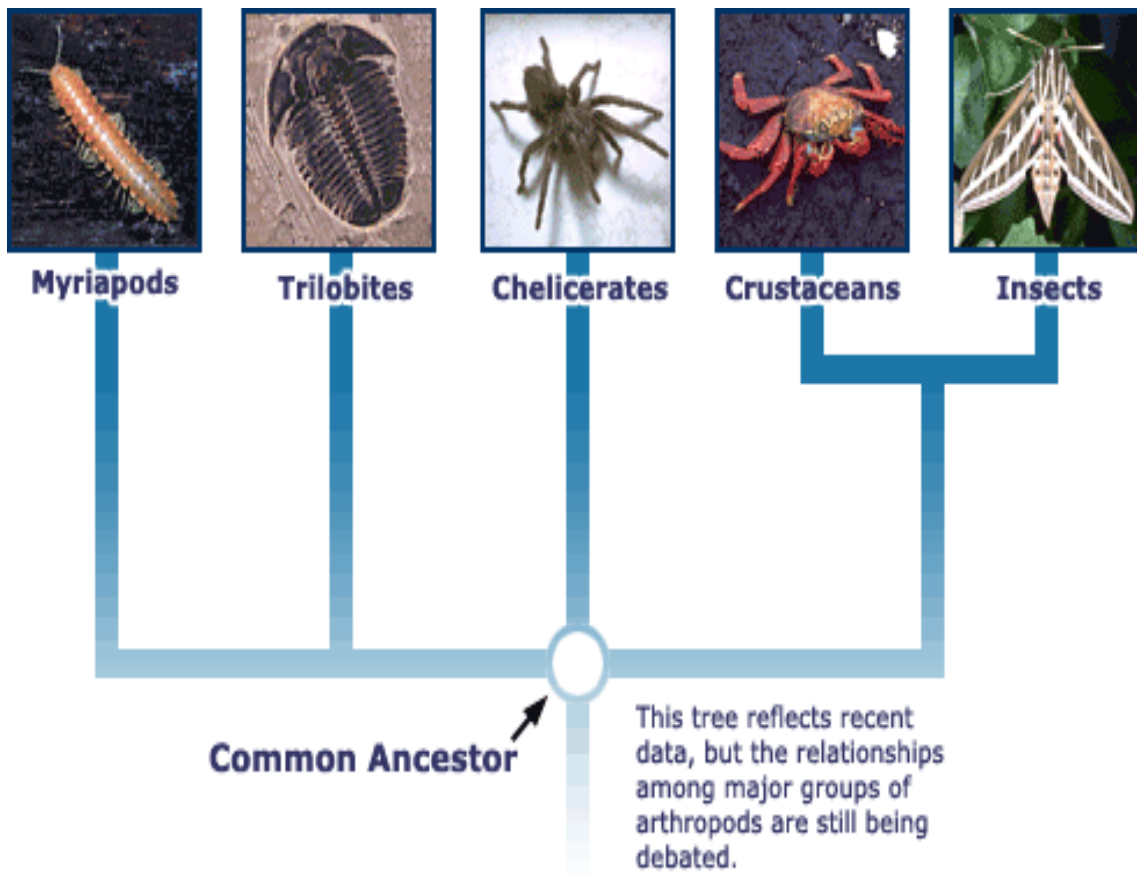


Εικόνα 16: Δομή του μορίου της ουλβάνης (πηγή: https://www.researchgate.net/figure/Structure-of-Iivan_fig2_272944009)

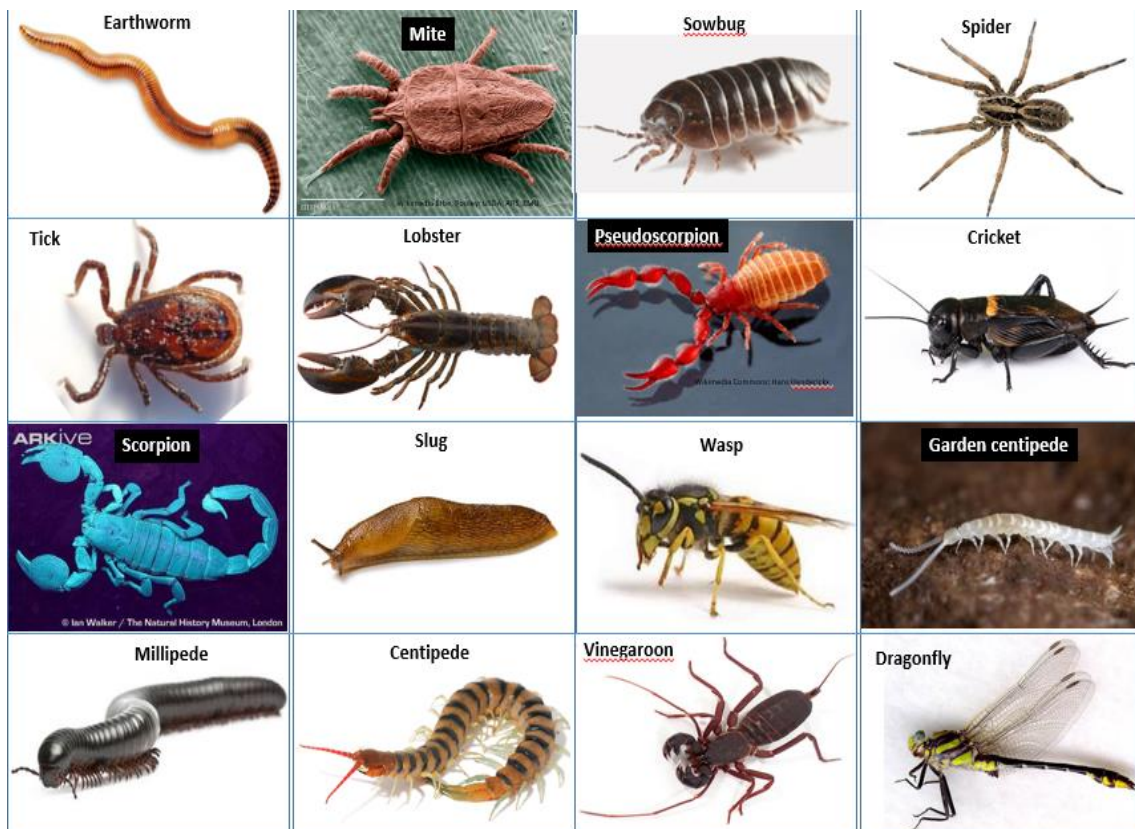
1.7. ΑΡΘΡΟΠΟΔΑ

Τα αρθρόποδα είναι ασπόνδυλα ζώα που διαθέτουν έναν εξωτερικό σκελετό, ένα ξεχωριστό σώμα και ζευγαρωτά προσαρτημένα εξαρτήματα. Είναι διμερώς συμμετρικά και ορισμένα είδη έχουν φτερά. Τα αρθρόποδα χαρακτηρίζονται από τα συνδεδεμένα άκρα και την επιδερμίδα από χιτίνη. Επιβίωσαν εδώ και εκατομμύρια χρόνια, είτε στην ξηρά, είτε στην θάλασσα χάρη στην άκαμπτη επιδερμίδα τους. Τα αρθρόποδα συνολικά αποτελούν το φύλο *Euarthropoda*, που περιλαμβάνει έντομα, μυρίοποδα, αραχνοειδή και καρκινοειδή (Ortega-Hernández, 2016). Πιο συγκεκριμένα, τα αρθρόποδα διακρίνονται στις εξής κατηγορίες (Martin, 2014):

- **Μυρίοποδα (Myriapods)**: σαρανταποδαρούσες και χιλιόποδα
- **Χηλοκεραιωτά (Chelicerata)**: αράχνες, σκορπιοί και ακάρεα
- **Τριλοβιτόμορφα (Trilobites)**: μια εξαφανισμένη ομάδα θαλάσσιων ασπόνδυλων
- **Οστρακόδερμα (Crustaceans)**: καβούρια, αστακοί, γαρίδες και καραβίδες
- **Έντομα (Insects)**: μέλισσες, μυρμήγκια, σκαθάρια και πεταλούδες



Εικόνα 17:Κύριες ομάδες αρθρόποδων (πηγή:https://evolution.berkeley.edu/evolibrary/article/0_0_0/arthropods_02)



Εικόνα 18 :Μερικά γνωστά αρθρόποδα (πηγή: <https://www.chegg.com/homework-help/questions-and-answers/part-1-classification-arthropods-instructions-look-arthropod-cards-decide-features-would-u-q23799349>)

1.7.1. ΙΣΟΠΟΔΑ

Τα ισόποδα ανήκουν στα αρθρόποδα και συγκεκριμένα στα καρκινοειδή (Crustaceans). Ζουν στην θάλασσα, στο γλυκό νερό ή στην ξηρά. Διαθέτουν έναν άκαμπτο σκελετό, δύο ζεύγη κεραίων, επτά ζεύγη συνδεδεμένων άκρων στον θώρακα και πέντε ζεύγη διακλαδισμένων προσαρτημάτων στην κοιλιακή χώρα, που χρησιμοποιούνται στην αναπνοή. Τα ισόποδα έχουν διάφορες μεθόδους διατροφής: μερικά εξ αυτών τρέφονται με νεκρά ή αποσυντιθέμενα φυτικά και ζωικά υλικά, άλλα είναι αρπακτικά, ενώ μερικά είναι εξωτερικά ή εσωτερικά παράσιτα, κυρίως σε ψάρια (Merriam-Webster, 2014). Τα τελευταία, είναι ικανά να βλάψουν ή ακόμη και να σκοτώσουν τους ξενιστές τους, προκαλώντας σημαντικές οικονομικές απώλειες στην εμπορική αλιεία (Ravichandran *et al.*, 2010).

Τα ισόποδα υποδιαιρούνται σε σε έντεκα τάξεις:

- Asellota
- Calabozoida
- Cymothoidae
- Limnoriidea
- Microcerberidea
- Oniscidea
- Phoratopidea
- Phreatoicidea
- Sphaeromatidea
- Tainisopidea
- Valvifera





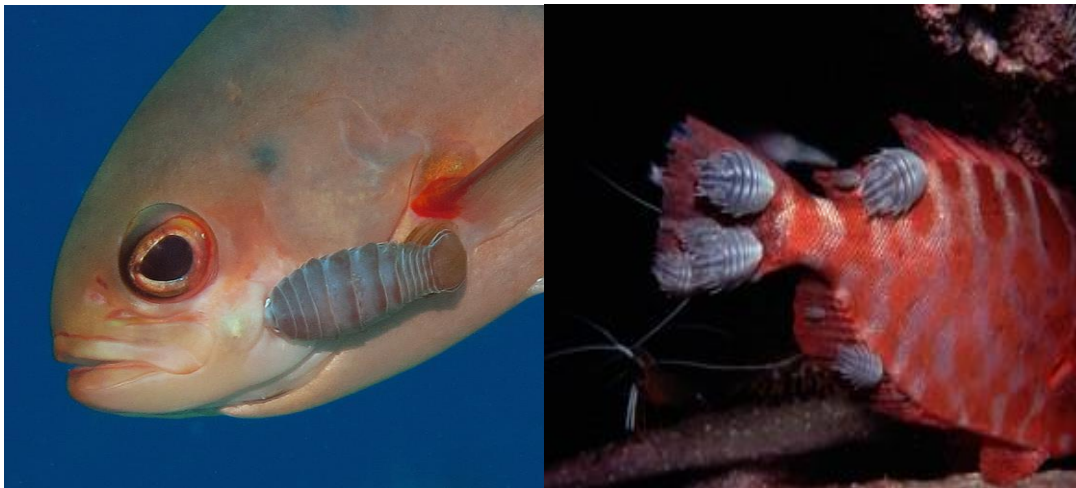
Εικόνα 19: Ισόποδα (πηγή : <http://tolweb.org/Isopoda>)

1.7.2.ΙΣΟΠΟΔΟ *Ceratothoa oestroides*

Το *Ceratothoa oestroides* ανήκει στα ισόποδα και πρόκειται για ένα ερμαφρόδιτο παράσιτο, που συναντάται σε ένα ευρύ φάσμα ψαριών (Mladineo, 2002). Ανήκει στην οικογένεια Cymothoidae. Παρασιτεί κυρίως στην στοματική κοιλότητα του ψαριού-ξενιστή. Στα προσβεβλημένα ψάρια παρατηρούνται κυρίως απώλεια βάρους, αδράνεια, αιμορραγία στο βλέφαρο, αναπνευστική δυσχέρεια, κάψιμο στα βράγχια και εστιακή νέκρωση (Horton & Okamura, 2001). Τα τελευταία χρόνια έχει καταστεί μια απειλή για τις εγκαταστάσεις ψαριών με κλουβιά, όπου η υψηλή πυκνότητα ψαριών προσφέρει τις βέλτιστες συνθήκες μετάδοσης του παράσιτου. Οι επιπτώσεις στην υγεία των ψαριών και την οικονομία είναι σημαντικές, λόγω της μαζικής θνησιμότητας νεαρών ψαριών. Έχει βρεθεί σε 6 διαφορετικές οικογένειες ψαριών: Sparidae, Carangidae, Clupeidae, Maenidae, Scorpaenidae και Mugilidae (Charfi-Cheikhrouha *et al.*, 2000). Απομονώνεται συχνότερα από την τσιπούρα και το λαβράκι (Sparidae).



Εικόνα 20: *Ceratothoa oestroides* (πηγή: <https://www.asturnatura.com/fotografia/fauna-invertebrados/ceratothoa-oestroides-3/22700.html>)



Εικόνα 21: *Ceratothoa oestroides* (πηγή: <https://www.alamy.it/fotos-immagini/fish-parasite.html>)

1.8. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Στην παρούσα εργασία επιλέχθηκε προς μελέτη το ισόποδο *C. oestroides*, του οποίου το οργανικό εκχύλισμα έχει δείξει αξιόλογα αποτελέσματα στην επούλωση τραυμάτων σε φυσιολογικούς άτριχους μύες (Ε.Σωφρονά, 2016). Συγκεκριμένα μελετήθηκε εκ νέου η δράση του οργανικού εκχυλίσματος του ισόποδου, ώστε να επιβεβαιωθεί η επουλωτική του δράση, να προσδιοριστεί η βέλτιστη δόση και να συγκριθεί η δράση του με την δράση ενός εκ των συστατικών του, το πολυακόρεστο λιπαρό οξύ EPA, σε καθαρή μορφή, ώστε να διερευνηθεί αν η δράση οφείλεται σε αυτό ή αν υπάρχει συνέργεια και με άλλα συστατικά.

2. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

2.1. ΓΙΑ ΤΗΝ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΤΟΥ ΟΡΓΑΝΙΣΜΟΥ ΚΑΙ ΤΗΝ ΕΝΣΩΜΑΤΩΣΗ ΤΩΝ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΩΝ ΣΤΑ ΣΚΕΥΑΣΜΑΤΑ

2.1.1. ΟΡΓΑΝΟΛΟΓΙΑ

Η λυοφιλοποίηση του νωπού ισόποδου πραγματοποιήθηκε σε συσκευή Freeze Dry System, Freezone 4.5, της εταιρείας Labconco.

Η συμπύκνωση των υπολειμμάτων που παραλήφθησαν από τους επιμερισμούς, ώστε να παραλειφθούν τα 4 κλάσματα, πραγματοποιήθηκε υπό κενό, σε συσκευή ταχείας εξάτμισης διαλύτη, με μηχανικά περιστρεφόμενη φιάλη απόσταξης και εφαρμογή ελαττωμένης πίεσης, τύπου BÜCHI Rotavapor R-200 σε θερμοκρασία έως 38°C.

Τα φάσματα NMR ελήφθησαν σε φασματογράφους Bruker AC 200 και Bruker DRX 400. Για την λήψη των φασμάτων NMR χρησιμοποιήθηκαν CDCl₃, MeOD και D₂O. Οι ¹H NMR χημικές μετατοπίσεις δίνονται στη κλίμακα δ (ppm) λαμβάνοντας ως αναφορά την κορυφή του CHCl₃ στα 7,24 ppm, της MeOH στα 3,31 ppm και του H₂O στα 4,79 ppm.

2.1.2. ΔΙΑΛΥΤΕΣ ΚΑΙ ΧΗΜΙΚΑ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

Οι διαλύτες c-Hex, CH₂Cl₂ και MeOH ήταν καθαρότητας A.R. της εταιρείας LAB-SCAN Analytical Sciences, οι οποίοι πριν από τη χρήση τους αποστάχθηκαν.

Για την λήψη των φασμάτων NMR χρησιμοποιήθηκαν CDCl₃, MeOD και D₂O χωρίς εσωτερικό πρότυπο, των εταιρειών Deutero GmbH ή Aldrich-Sigma Chemical Company. Το H₂O που χρησιμοποιήθηκε ήταν απεσταγμένο ύδωρ που στη συνέχεια διηθήθηκε μέσω συστήματος ρητινών.

2.1.3. ΣΥΛΛΟΓΗ ΤΟΥ ΟΡΓΑΝΙΣΜΟΥ

Δείγμα του οργανισμού (*C.oestroides*) προήλθε μετά την αφαίρεση του ισόποδου από προσβεβλημένες τσιπούρες, από κλωβούς πάχυνσης των εγκαταστάσεων της εταιρείας ιχθυοκαλλιέργειας FORKYS.

Μετά την συλλογή τους μεταφέρθηκαν με πάγο σε φορητό ψυγείο στο Εργαστήριο Φαρμακογνωσίας και Χημείας Φυσικών Προϊόντων του Πανεπιστημίου Αθηνών, όπου διατηρήθηκαν στους -20 °C μέχρι την περαιτέρω επεξεργασία τους.

2.1.4. ΕΚΧΥΛΙΣΕΙΣ

Δείγμα του οργανισμού λυοφιλοποιήθηκε και στη συνέχεια ο ξηρός οργανισμός υποβλήθηκε σε εξαντλητική εκχύλιση με μίγμα MeOH/CH₂Cl₂ σε αναλογία 1:1. Ακολούθησαν επιμερισμοί σε διαχωριστική χοάνη με την προσθήκη οργανικών διαλυτών αυξανόμενης πολικότητας: c-Hexane, CH₂Cl₂, n-BuOH, H₂O. Παρελήφθησαν συνολικά 4 διαφορετικά κλάσματα, από τους αντίστοιχους διαλύτες επιμερισμού, τα οποία ελέγχθηκαν στη συνέχεια με φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού πρωτονίου (¹H NMR), ώστε να γίνει μια πρώτη εκτίμηση των περιεχόμενων ουσιών (πίνακας 4).

Πίνακας 4: Κλάσματα που παρελήφθησαν με τους αντίστοιχους διαλύτες επιμερισμού:

ΚΛΑΣΜΑ	ΔΙΑΛΥΤΗΣ	ΟΝΟΜΑΣΙΑ ΚΛΑΣΜΑΤΟΣ
1	c-Hex	COA
2	CH ₂ Cl ₂	COB
3	n-BuOH	COC
4	H ₂ O	COD

Μετά από τον φασματοσκοπικό έλεγχο και στηριζόμενοι στα ικανοποιητικά αποτελέσματα προηγούμενης μελέτης (Σωφρονά,2016), επιλέχθηκε να ελεγχθεί *in vivo* το κλάσμα COB.

2.2. IN VIVO ΔΟΚΙΜΕΣ

2.2.1. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

2.2.1.1. ΥΛΙΚΑ

ΠΕΙΡΑΜΑΤΟΖΩΑ:

Τα πειραματόζωα που χρησιμοποιήθηκαν στα πειράματα, τόσο στο πρώτο (1^ο) όσο και στο δεύτερο (2^ο), ήταν άτριχοι, θηλυκοί μύες, τύπου SKH-hr1, ηλικίας από 2-5 μηνών, με μέσο όρο ηλικίας ανά ομάδα τους 4 μήνες. Οι διαφορετικής ηλικίας μύες χρησιμοποιήθηκαν λόγω έλλειψης του απαραίτητου αριθμού μυών στις ημερομηνίες έναρξης των πειραμάτων. Αυτό έγινε τηρουμένων των αναλογιών ανά ομάδα, ώστε να εξασφαλίζεται ο ίδιος αριθμός μυών σε κάθε ομάδα και ο ίδιος μέσος όρος ηλικίας ανά ομάδα αντίστοιχα. Οι μύες προέρχονται από το εργαστήριο του Τομέα Φαρμακευτικής Τεχνολογίας (Υπεύθυνος Επ. Καθ. Μ. Ράλλης) του Τμήματος Φαρμακευτικής του ΕΚΠΑ. Κατά την διάρκεια των πειραμάτων οι μύες είχαν ελεύθερη πρόσβαση σε κατάλληλη τροφή (Nuevo SA-Farma_Efyra Industrial & Commercial SA Greece) και σε καθαρό νερό δικτύου. Η θερμοκρασία στον χώρο πειραματισμού διατηρούνταν μεταξύ 22-25°C και η υγρασία κυμαινόταν από 22-30% (κωδικός καταχώρησης με βάση την κείμενη νομοθεσία EL 25 BIO 07).

Η πραγματοποίηση των πειραμάτων σε ζώα έγινε στα πλαίσια εγκρίσεως της αιτήσεως με τίτλο “Επουλωτική δράση οργανικού εκχυλίσματος (CH₂Cl₂-MeOH) του ισόποδου *Ceratothoa oestroides* και του συστατικού αυτού, του εικοσιπενταενοϊκού οξέος (EPA)”, από την Γενική Διεύθυνση Αγροτικής Οικονομίας και Κτηνιατρικής, Διεύθυνση Αγροτικής και Κτηνιατρικής Πολιτικής, Τμήμα ΚΑΦΕ, που ανήκει στην Περιφέρεια Αττικής, τηρουμένων των προϋποθέσεων της σχετικής για την προστασία των ζώων νομοθεσίας. Υπεύθυνος κτηνίατρος του πειράματος ήταν ο κ.Κλαμαργιάς Λυκούργος.

ΕΝΕΣΙΜΑ ΔΙΑΛΥΜΑΤΑ:

- **ΑΝΑΙΣΘΗΤΙΚΟ-ΑΝΑΛΓΗΤΙΚΟ ΔΙΑΛΥΜΑ ΚΕΤΑΜΙΝΗΣ/ΞΥΛΑΖΙΝΗΣ:**

Διάλυμα κεταμίνης/ξυλαζίνης 3:1: σε 30 μl του περιεχομένου του Imalgene 1000 (Injectable solution 10 ml, δραστική: υδροχλωρική κεταμίνη, υπεύθυνος κυκλοφορίας: Merial) προστίθενται 10 μl του περιεχομένου του Rompun (2% w/v, solution for injection, δραστική: υδροχλωρική ξυλαζίνη, υπεύθυνος κυκλοφορίας: Bayer DVM) και αναδεύεται μέχρι πλήρους αναμίξεως.

ΣΚΕΥΑΣΜΑΤΑ ΠΟΥ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΘΗΚΑΝ ΣΤΗΝ ΜΕΛΕΤΗ:

- ΒΑΣΗ ΑΛΟΙΦΗΣ (στην οποία αργότερα ενσωματώθηκαν τα εκχυλίσματα, το κλάσμα COB που προέκυψε από τους επιμερισμούς και το EPA)

ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ:

Σύσταση:

Vaseline	67,00	20,10
Calendula Oil	5,00	1,50
Vitamine E	2,00	0,60
Beeswax	5,00	1,50
Squalene	10,00	3,00
Alpha Lipoic Acid	1,00	0,30
Ελαιόλαδο	10,00	3,00
	100g	30g

- ΑΛΟΙΦΗ ΜΕ ΕΛΑΪΚΟ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑ ΝΩΠΟΥ ΙΣΟΠΟΔΟΥ (*C.oestroides*), σε ποσοστό 10 %w/w:

Χρησιμοποιήθηκε σαν εργαστηριακό σκεύασμα αναφοράς, καθώς έχει χρησιμοποιηθεί σε προηγούμενες *in vivo* μελέτες στο εργαστήριο Φαρμακευτικής Τεχνολογίας με αξιόλογα αποτελέσματα.

ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ:

Σύσταση:

Vaseline	67,00	20,10
Calendula Oil	5,00	1,50
Vitamine E	2,00	0,60
Beeswax	5,00	1,50
Squalene	10,00	3,00
Alpha Lipoic Acid	1,00	0,30
Ελαϊκό εκχύλισμα	10,00	3,00
	100g	30g

Διαδικασία:

1. Θερμαίνουμε τη βαζελίνη και έπειτα προστίθεται το beeswax στους 70 °C. Στην συνέχεια προστίθεται το Alpha Lipoic Acid και γίνεται ανάδευση στον ομογενοποιητή με turbo για 2-3 min.
2. Προσθήκη του σκουαλενίου και στη συνέχεια του calendula oil, της Vitamine E και του εκχυλίσματος ή του κλάσματος (αφού έχει αναδευθεί στο Vortex για 1 min στις 1800 στροφές) και ανάδευση στον ομογενοποιητή με turbo για 1-2 min.

Τα βήματα 2 και 3 πρέπει να γίνονται σε θερμοκρασία περίπου 55° C καθώς η αλοιφή πήζει στους 50°C.

- ΑΛΟΙΦΗ ΜΕ ΕΛΑΪΚΟ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑ ΞΗΡΟΥ ΙΣΟΠΟΔΟΥ (C.oestroides), σε ποσοστό 10 %w/w: Δεν έχει ξαναχρησιμοποιηθεί το συγκεκριμένο εκχύλισμα σε προηγούμενη μελέτη, οπότε θεωρήθηκε σωστό να αξιολογηθεί η δράση και του ελαϊκού εκχυλίσματος από ξηρό ισόποδο. Τα υλικά και η διαδικασία είναι ίδια με παραπάνω, με την διαφορά ότι αντί για εκχύλισμα νωπού ισόποδου, προστέθηκε εκχύλισμα ξηρού ισόποδου.

- ΑΛΟΙΦΗ με το κλάσμα **COB** σε περιεκτικότητα 2%w/w. Τα υλικά και η διαδικασία είναι ίδια με παραπάνω. Εδώ όμως αντί για ελαϊκό εκχύλισμα, στην βάση της αλοιφής ενσωματώθηκε το κλάσμα **COB**.

ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ:

Σύσταση:

Vaseline	67,00	20,10
Calendula Oil	5,00	1,50
Vitamine E	2,00	0,60
Beeswax	5,00	1,50
Alpha Lipoic Acid	1,00	0,30
Squalene	10,00	3,00
Ελαιόλαδο	8,00	3,00
COB	2,00	0,60
	100g	30g

- ΑΛΟΙΦΗ με το κλάσμα **COB** σε περιεκτικότητα 1%w/w και σε περιεκτικότητα 5% w/w.

Τα υλικά και η διαδικασία είναι ίδια με παραπάνω. Χρησιμοποιήθηκαν αντίστοιχα 0,40g και 1,00g από το κλάσμα **COB**.

- ΑΛΟΙΦΗ με το πολυακόρεστο λιπαρό οξύ **EPA** σε περιεκτικότητα 2%w/w.

Τα υλικά και η διαδικασία είναι ίδια με παραπάνω. Στην βάση της αλοιφής ενσωματώθηκαν 0,04g **EPA** σε καθαρή μορφή.

ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ:

Σύσταση:

Vaseline	67,00	13,40
Calendula Oil	5,00	1,00
Vitamine E	2,00	0,40
Beeswax	5,00	1,00
Alpha Lipoic Acid	1,00	0,20
Squalene	10,00	2,00
Ελαιόλαδο	9,80	1,96
EPA	0,20	0,04
	100g	20g

2.2.1.2 ΜΕΘΟΔΟΙ-ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΑ

ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟ ΑΝΑΙΣΘΗΣΙΑΣ

Πρόκληση αναισθησίας με χορήγηση διαλύματος κεταμίνης/ξυλαζίνης :

Παρασκευή διαλύματος: 30 μl Imalgene (Ketaminehydrochloride 100 mg/ml) και 10 μl Rompun (Xylazinehydrochloride 5mg/kg) για ζώο που έχει μάζα 30g. Χορηγείται με ενδοπεριτονιακή ένεση.

ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟ ΠΡΟΚΛΗΣΗΣ ΕΛΛΕΙΜΜΑΤΩΝ

1. Εγκλιματισμός των επιλεγμένων μυών για 7 ημέρες στον χώρο πειραματισμού.
2. Την ημέρα πραγματοποίησης των ελλειμμάτων, προηγείται αναισθησία με την χορήγηση του διαλύματος κεταμίνης/ξυλαζίνης, μέσω διαμορφωμένης σύριγγας των 10 ml στην περιοχή του περιτοναίου. Αναμονή μέχρι επιβραδύνσεως των παλμών του μυός.
3. Τοποθέτηση σφραγίδας, εμποτισμένης σε μελάνι, με επιφάνεια 1cm*1cm και σχεδίαση της περιοχής του τραύματος στην πλάτη του μυός, 2-3cm από τη βάση της ουράς.
4. Πρόκληση της πληγής με χειρουργικό ψαλίδι και λαβίδα στην τοποθετημένη από την σφραγίδα επιφάνεια.
5. Καθαρισμός της πληγής με φυσιολογικό ορό.
6. Φωτογράφιση του τραύματος δίπλα στο οποίο έχει τοποθετηθεί ένα αντικείμενο βαθμονόμησης.

ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟ ΠΛΥΣΗΣ ΚΑΙ ΕΠΑΛΕΙΨΗΣ

1. Καθαρισμός της πληγής με φυσιολογικό ορό.
2. Αφαίρεση νεκρωτικού ιστού, όποτε αυτό κρίνεται απαραίτητο.
3. Επάλειψη της περιοχής του τραύματος και της γύρω από την πληγή περιοχής, με 0,010g αλοιφής.
4. Η παραπάνω διαδικασία πραγματοποιείται 1 φορά την ημέρα.

ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟ ΛΗΨΗΣ ΦΩΤΟΓΡΑΦΙΩΝ

Η φωτογράφιση πραγματοποιείται με την ψηφιακή φωτογραφική μηχανή Nikon D5100, με προσαρμοσμένο φακό Nikon Nikkor AF-S Micro 60 mm f/2.8G ED, SWMED IF Aspherical, η οποία βρίσκεται μόνιμα στερεωμένη σε απόσταση 30 cm κάθετα από το αντικείμενο φωτογράφισης.

Ως υπόστρωμα για την τοποθέτηση των μυών, χρησιμοποιείται πλαστικοποιημένο χαρτόνι μωβ απόχρωσης, ώστε να μην υπάρχουν πολλές αντανακλάσεις, ενώ δίπλα τοποθετείται κάποιο αντικείμενο βαθμονόμησης.



Εικόνα 22: Nikon D5100

ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟ ΕΚΤΙΜΗΣΗΣ ΕΜΒΑΔΟΥ ΕΛΛΕΙΜΜΑΤΟΣ

Η μέτρηση του εμβαδού του ελλείμματος, πραγματοποιήθηκε με το ηλεκτρονικό πρόγραμμα Adobe Photoshop CS5. Με το συγκεκριμένο πρόγραμμα, υπολογίζονται από τις φωτογραφίες των μυών τα pixels της πληγής και τα pixels του αντικειμένου βαθμονόμησης. Γνωρίζοντας το εμβαδόν του αντικειμένου βαθμονόμησης ($\pi \cdot (d/2)^2$) υπολογίζουμε ανά περίπτωση το εμβαδόν της πληγής.

ΜΕΤΡΗΣΗ ΑΔΗΛΗΣ ΑΠΩΛΕΙΑΣ ΥΔΑΤΟΣ

Η μέτρηση της άδηλης απώλειας νερού (TEWL) στο δέρμα, γίνεται με την χρήση του μηχανήματος Tewameter TM 240 (Courage-Khazaka, Germany). Η αρχή μέτρησης βασίζεται στην μέτρηση μέσω 2 ζευγών ανιχνευτών που απέχουν 3 και 9mm από το δέρμα που μετρούν την σχετική υγρασία και την θερμοκρασία μεταξύ των 2 σημείων. Ο ανιχνευτής εφαρμόζεται στη πλάτη του κάθε μύς στην

περιοχή που πρόκειται να δημιουργηθεί πληγή και επάνω στην επουλωμένη πληγή, στην αρχή και στο τέλος πειράματος. Ο ανιχνευτής εφαρμόζεται στην περιοχή για 60 sec κάθε φορά και καταγράφεται η μέση τιμή που εμφανίζει το μηχάνημα. Κάθε φορά που πρόκειται να πραγματοποιηθεί μια νέα μέτρηση, απομακρύνονται με χαρτί τυχόν υπολείμματα υγρασίας στον ανιχνευτή. Οι μετρήσεις των αποτελεσμάτων γίνονται σε σταθερές τιμές θερμοκρασίας και υγρασίας.



Εικόνα 23: Tewameter TM 240 ,Courage-Khazaka.

ΜΕΤΡΗΣΗ ΕΝΥΔΑΤΩΣΗΣ

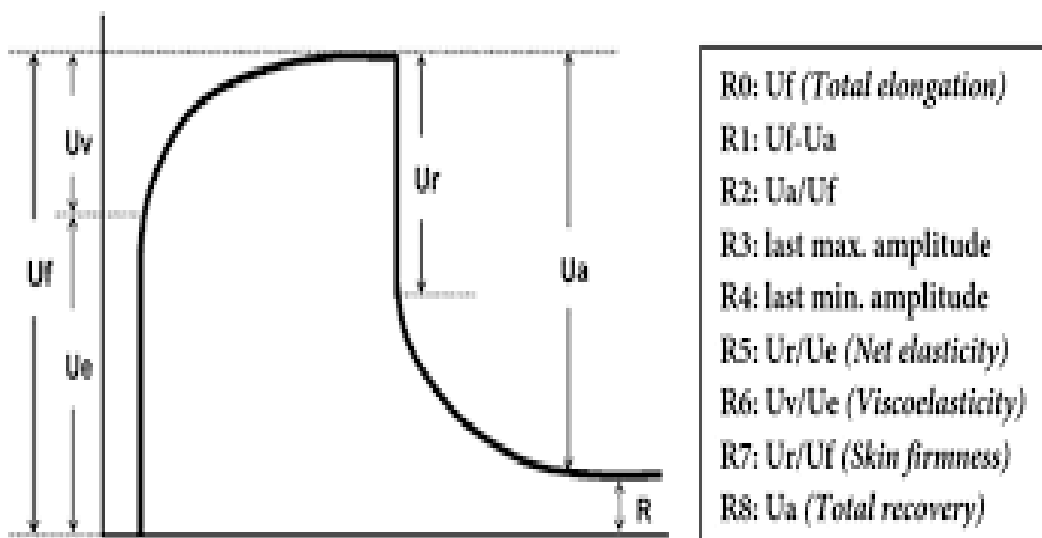
Η μέτρηση της ενυδάτωσης του δέρματος πραγματοποιείται με την χρήση του μηχανήματος Corneometer CM 820 (Courage-Khazaka, Germany). Η αρχή μέτρησης βασίζεται στην μέτρηση της χωρητικότητας που αυξάνεται κυρίως με την παρουσία ύδατος. Ο ανιχνευτής εφαρμόζεται στην πλάτη του μύος, στην περιοχή που πρόκειται να δημιουργηθεί πληγή και επάνω στην επουλωμένη πληγή, στην αρχή και στο τέλος του πειράματος. Κάθε φορά που πρόκειται να πραγματοποιηθεί μια νέα μέτρηση, απομακρύνονται με χαρτί τυχόν υπολείμματα υγρασίας στον ανιχνευτή. Οι μετρήσεις των αποτελεσμάτων γίνονται σε σταθερές τιμές θερμοκρασίας και υγρασίας.



Εικόνα 24: Corneometer CM 820 ,Courage-Khazaka

ΜΕΤΡΗΣΗ ΕΛΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑΣ

Η μέτρηση της ελαστικότητας του δέρματος πραγματοποιείται με την χρήση του μηχανήματος Cutometer MP 580 (Courage-Khazaka, Germany). Η αρχή μέτρησης βασίζεται στην εφαρμογή υποπίεσης και αναρρόφησης. Η περιοχή του δέρματος που πρόκειται να μετρηθεί, τραβιέται μέσα στο άνοιγμα του καθετήρα, λόγω υποπίεσης μέσω αντλίας κενού. Το βάθος διείσδυσης του δέρματος εντός του ανοίγματος προσδιορίζεται χωρίς επαφή με ένα οπτικό σύστημα μέτρησης. Αυτό το σύστημα αποτελείται από έναν πομπό φωτός και έναν δέκτη φωτός. Δύο αντιτιθέμενα πρίσματα γυαλιού μεταδίδουν το φως από τον πομπό στο δέκτη. Το φως δείκτης αλλάζει αναλογικά με το βάθος διείσδυσης του δέρματος. Το μηχάνημα συνδέεται με ηλεκτρονικό υπολογιστή και γίνεται χρήση του προγράμματος Cutometer Q. Επιλέγεται το πρόγραμμα στο οποίο γίνεται εφαρμογή σταθερής υποπίεσης και απότομης διακοπής της υποπίεσης. Ρυθμίζονται: Διάστημα αναρρόφησης σε 1 sec, διάστημα αποκατάστασης 1 δευτερόλεπτο, υπο πίεση 450Mbar και 3 επαναλήψεις. Ο αισθητήρας του μηχανήματος βαθμονομείται με την χρήση του ειδικού πλαστικού καλύμματος. Στη συνέχεια εφαρμόζεται στη πλάτη του κάθε μύς, στην περιοχή που πρόκειται να δημιουργηθεί πληγή, στην αρχή και επάνω στην επουλωμένη πληγή στο τέλος του πειράματος, λαμβάνοντας τις καμπύλες επιμήκυνσης-χρόνου του δέρματος στην οθόνη του υπολογιστή.



Εικόνα 25: Παράμετροι που μετρούνται με το μηχάνημα Cutometer: U_e =άμεση ελαστική επιμήκυνση (παραμόρφωση) του δέρματος κατά το διάστημα αναρρόφησης, U_v =καθυστερημένη ιξωδοελαστική επιμήκυνση (παραμόρφωση) του δέρματος κατά το διάστημα αναρρόφησης, U_r =άμεση αποκατάσταση του δέρματος κατά το διάστημα χάλασης και U_f =συνολική επιμήκυνση (παραμόρφωση) του δέρματος.

Οι παραμέτροι U_e , U_v , U_r , U_f εξαρτώνται από το πάχος του δέρματος και δεν μπορούν να συγκριθούν ως έχουν μεταξύ διαφορετικών τύπων δέρματος χωρίς να συνδυάζονται με μέτρηση του πάχους του δέρματος. Εμείς εξετάζουμε την παράμετρο $R2=U_a/U_f$, η οποία όσο τείνει στο 1 τόσο

μεγαλύτερη είναι η ελαστικότητα. Οι μετρήσεις των αποτελεσμάτων πραγματοποιούνται σε σταθερές τιμές θερμοκρασίας και υγρασίας.



Εικόνα 26: Cutometer MP 580 ,Courage-Khazaka

ΜΕΤΡΗΣΗ ΠΑΧΟΥΣ ΔΕΡΜΑΤΟΣ

Το ηλεκτρονικό παχύμετρο (150 mm Messschieber Digital Präzisions Schieblehre Messlehre Caliper LCD neu) τοποθετείται στο δέρμα των μυών στο πίσω μέρος της ράχης, περίπου 1 cm από την ουρά και έπειτα λαμβάνεται η μέτρηση.



Εικόνα 27: Ηλεκτρονικό παχύμετρο Messschieber Digital

ΛΗΨΗ ΒΙΟΨΙΩΝ ΔΕΡΜΑΤΟΣ ΓΙΑ ΙΣΤΟΠΑΘΟΛΟΓΙΚΗ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ

Την τελευταία μέρα κάθε πειράματος πραγματοποιείται ευθανασία των μυών με αυχενική εξάρθρωση και λαμβάνονται με χειρουργικό ψαλίδι και λαβίδα, τμήματα από το δέρμα τους, στην περιοχή όπου είχε γίνει το έλλειμμα, τα οποία δίνονται για ιστοπαθολογική αξιολόγηση. Η αξιολόγηση αυτή λαμβάνει χώρα στο Παθολογοανατομικό Εργαστήριο του Ναυτικού Νοσοκομείου Αθηνών (NNA) από τον διευθυντή κ.Σφηνιαδάκη Ιωάννη.

2.2.2. ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ ΚΑΙ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

2.2.2.1. ΣΥΝΟΨΗ

Η *in vivo* αξιολόγηση της επουλωτικής δράσης διακρίθηκε σε 2 πειράματα:

ΠΕΙΡΑΜΑ 1: Τα σκευάσματα που ελέγχθησαν, όπως επίσης και τα σκευάσματα αναφοράς, ελέγχθησαν σε ομάδες των 8 ή 7 μυών (φυσιολογικοί, άτριχοι, θηλυκοί μύες, τύπου SKH-hr1, ηλικίας περίπου 4 μηνών).

ΠΕΙΡΑΜΑ 2: Το κλάσμα που περιεχόταν στο σκεύασμα το οποίο έδειξε το καλύτερο αποτέλεσμα στο πείραμα 1, ελέγχθηκε σε 3 διαφορετικές περιεκτικότητες, σε ομάδες των 6 ή 5 μυών (φυσιολογικοί, άτριχοι, θηλυκοί μύες, τύπου SKH-hr1, ηλικίας περίπου 2 μηνών). Επιπλέον ελέγχθηκε ξεχωριστά ένα συστατικό του συγκεκριμένου κλάσματος, σε ένα κατάλληλα μορφοποιημένο σκεύασμα, σε ομάδα των 6 μυών (φυσιολογικοί, άτριχοι, θηλυκοί μύες, τύπου SKH-hr1, ηλικίας περίπου 2 μηνών).

ΠΕΙΡΑΜΑ 1-ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ:

Σε αυτό το πείραμα είχαμε 5 ομάδες των 8 ή 7 μυών. Με συνολικό αριθμό 39 μυών εξετάστηκαν 4 διαφορετικά σκευάσματα. Η μελέτη έγινε σε φυσιολογικούς, άτριχους, θηλυκούς μύες τύπου SKH-hr1, ηλικίας περίπου 4 μηνών και είχε διάρκεια 17 ημέρες.

Αναλυτικά οι ομάδες και τα υπό μελέτη σκευάσματα είχαν ως εξής:

- **Ομάδα 1 (Μάρτυρες-8μύες):** Δεν δόθηκε κανένα σκεύασμα. Πραγματοποιείτο μόνο καθημερινός καθαρισμός της πληγής.
- **Ομάδα 2 (Μάρτυρες με βάση αλοιφής-8 μύες):** Σε αυτή την ομάδα δόθηκε η βάση της αλοιφής.
- **Ομάδα 3 (Ελαϊκό εκχύλισμα ξηρού ισοπόδου 10%-8 μύες):** Δόθηκε η αλοιφή με το ελαϊκό εκχύλισμα του ξηρού ισοπόδου σε περιεκτικότητα 10%-εκχύλισμα το οποίο ελήφθη με εκχύλιση του ξηρού ισοπόδου σε ελαιόλαδο
- **Ομάδα 4 (Ελαϊκό εκχύλισμα νωπού ισοπόδου 10%-8 μύες):** Δόθηκε η αλοιφή με το ελαϊκό εκχύλισμα του νωπού ισοπόδου σε περιεκτικότητα 10%-εκχύλισμα το οποίο ελήφθη με εκχύλιση του νωπού ισοπόδου σε ελαιόλαδο
- **Ομάδα 5 (COB 2%-7 μύες):** Στην βάση της αλοιφής ενσωματώθηκε το κλάσμα COB, από το ολικό οργανικό εκχύλισμα του ισοπόδου, το οποίο ελήφθη με διχλωρομεθάνιο (CH₂Cl₂).

Όλα τα σκευάσματα παρασκευάστηκαν σύμφωνα με τη διαδικασία παραγωγής αλοιφών που αναφέρθηκε προηγουμένως.

ΠΕΙΡΑΜΑ 2-ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ:

Σε αυτό το πείραμα οργανώθηκαν 5 ομάδες των 6 ή 5 μύων. Με συνολικό αριθμό 29 μύες, εξετάστηκαν 5 διαφορετικά σκευάσματα. Η μελέτη πραγματοποιήθηκε σε φυσιολογικούς, άτριχους, θηλυκούς μύες, τύπου SKH-hr1, ηλικίας περίπου 2 μηνών και είχε διάρκεια 16 ημέρες.

Αναλυτικά οι ομάδες και τα υπό μελέτη σκευάσματα είχαν ως εξής:

- **Ομάδα 1 (Μάρτυρες με βάση αλοιφής -6 μύες):** Σε αυτή την ομάδα δόθηκε η βάση της αλοιφής.
- **Ομάδα 2 (COB 1%-5 μύες):** Δόθηκε η αλοιφή με ενσωματωμένο το κλάσμα COB σε περιεκτικότητα 1% w/w.
- **Ομάδα 3 (COB 2%-6 μύες):** Δόθηκε η αλοιφή με ενσωματωμένο το κλάσμα COB σε περιεκτικότητα 2% w/w.
- **Ομάδα 4 (COB 5%-6 μύες):** Δόθηκε η αλοιφή με ενσωματωμένο το κλάσμα COB σε περιεκτικότητα 5% w/w.
- **Ομάδα 5 (EPA 0,2%-6 μύες):** Στην βάση της αλοιφής ενσωματώθηκε η ποσότητα του πολυακόρεστου λιπαρού οξέος EPA σε περιεκτικότητα 0,2% w/w

2.2.2.2.ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

Της πειραματικής διαδικασίας προηγείται εγκλιματισμός των μυών για 7 ημέρες στον χώρο του πειραματισμού. Την ημέρα 0 πραγματοποιούνται οι μετρήσεις άδηλης απώλειας ύδατος (TEWL), της ενυδάτωσης, της ελαστικότητας και του πάχους του δέρματος, στην περιοχή που θα γίνουν τα ελλείμματα. Την ημέρα 1 πραγματοποιείται η πρόκληση των ελλειμμάτων. Πριν από την πρόκληση κάθε ελλείμματος (περίπου 10-15 min πριν) γίνεται ενδοπεριτοναϊκή ένεση διαλύματος κεταμίνης/ξυλαζίνης ανάλογα με την μάζα κάθε μύος, για αναισθησία και μείωση του πόνου. Αφού οι μύες αναισθητοποιούνται εφαρμόζεται σφραγίδα μεγέθους 1cm*1cm, στην ράχη του μύος και πραγματοποιείται η τομή του δέρματος με την χρήση ψαλιδιού και λαβίδας. Ακολουθεί καθαρισμός του τραύματος με φυσιολογικό ορό και σκουπίζεται προσεκτικά η περιοχή του τραύματος, όπως και η γύρω περιοχή. Έπειτα γίνεται επάλειψη της περιοχής του τραύματος και της περιοχής γύρω από το τραύμα, με 0,010g του αντίστοιχου σκευάσματος. Η διαδικασία πλύσης και επάλειψης επαναλαμβάνεται καθημερινά μία φορά την ημέρα. Όποτε κρίνεται απαραίτητο, πραγματοποιείται η

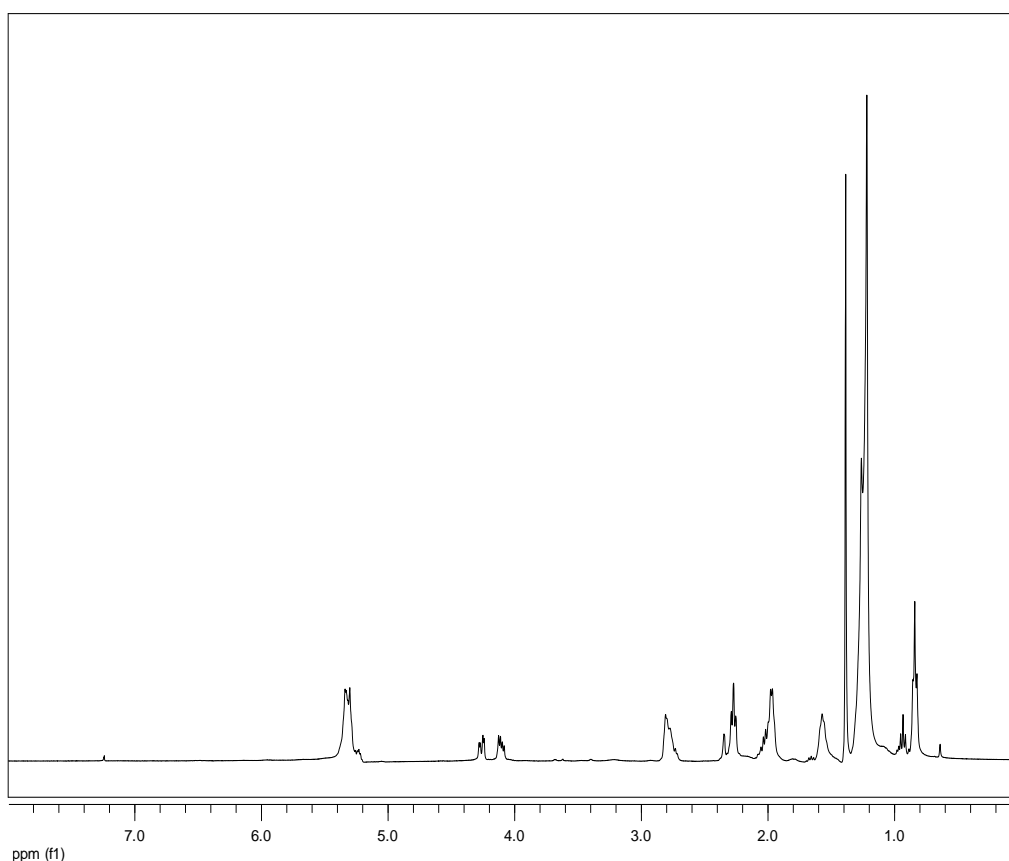
απομάκρυνση του νεκρωτικού ιστού. Ανά 3 ημέρες λαμβάνονται φωτογραφίες από τις οποίες θα πραγματοποιηθεί η εκτίμηση του εμβαδού. Την τελευταία μέρα του πειράματος επαναλαμβάνονται οι μετρήσεις της ημέρας 0. Ακολουθεί η ευθανασία των μυών με αυχενική εξάρθρωση και στην συνέχεια η λήψη τμημάτων δέρματος από την περιοχή του ελλείμματος, από την κάθε ομάδα. Τα τμήματα αυτά, συντηρούνται στην κατάψυξη και τα πιο αντιπροσωπευτικά δείγματα δίνονται για ιστοπαθολογική αξιολόγηση.

3.ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

3.1.ΠΑΡΑΛΑΒΗ ΤΩΝ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΩΝ

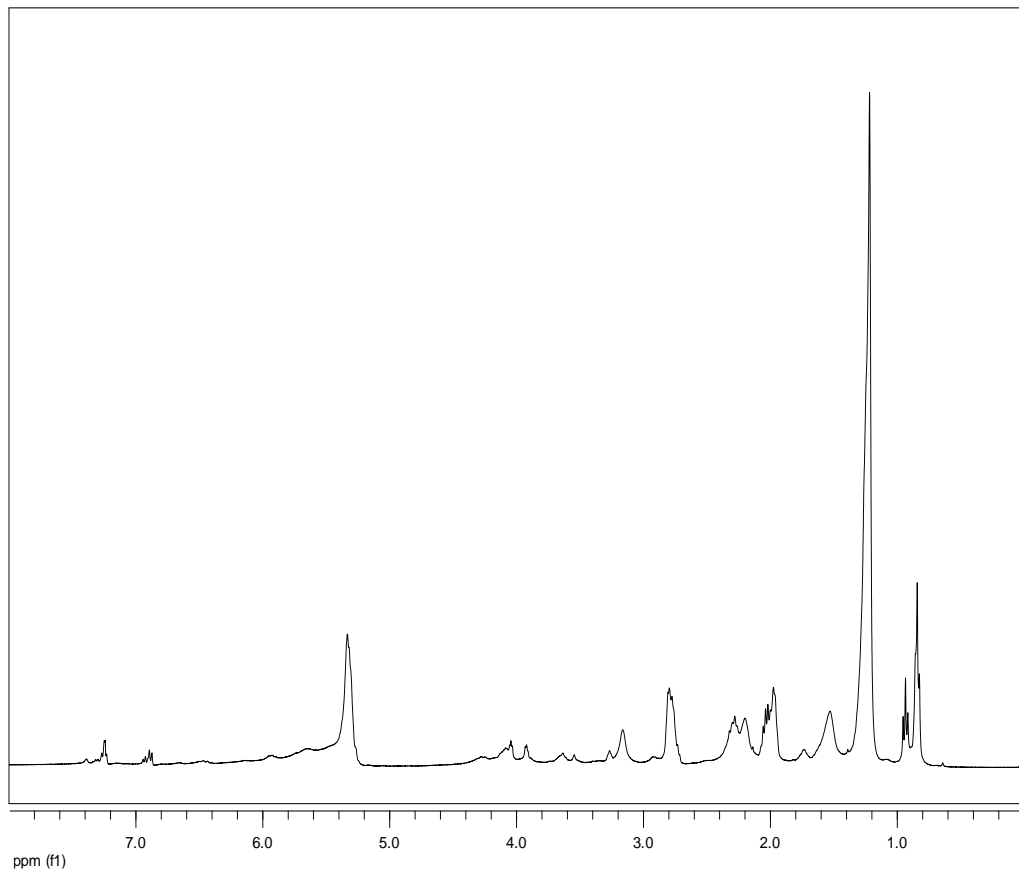
Ο οργανισμός εκχυλίστηκε εξαντλητικά με μίγμα CH_2Cl_2 και MeOH σε αναλογία 1:1 και το οργανικό εκχύλισμα που προέκυψε υποβλήθηκε σε διαδοχικούς επιμερισμούς με ένα σύνολο διαλυτών αυξανόμενης πολικότητας. Τα κλάσματα που προέκυψαν ελέχθησαν στην συνέχεια με φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού πρωτονίου (^1H NMR), για την ταυτοποίησή τους με τα αντίστοιχα κλάσματα προηγούμενης εργασίας (Ε.Σωφρονά, 2016).

3.1.1. ΚΛΑΣΜΑ COA



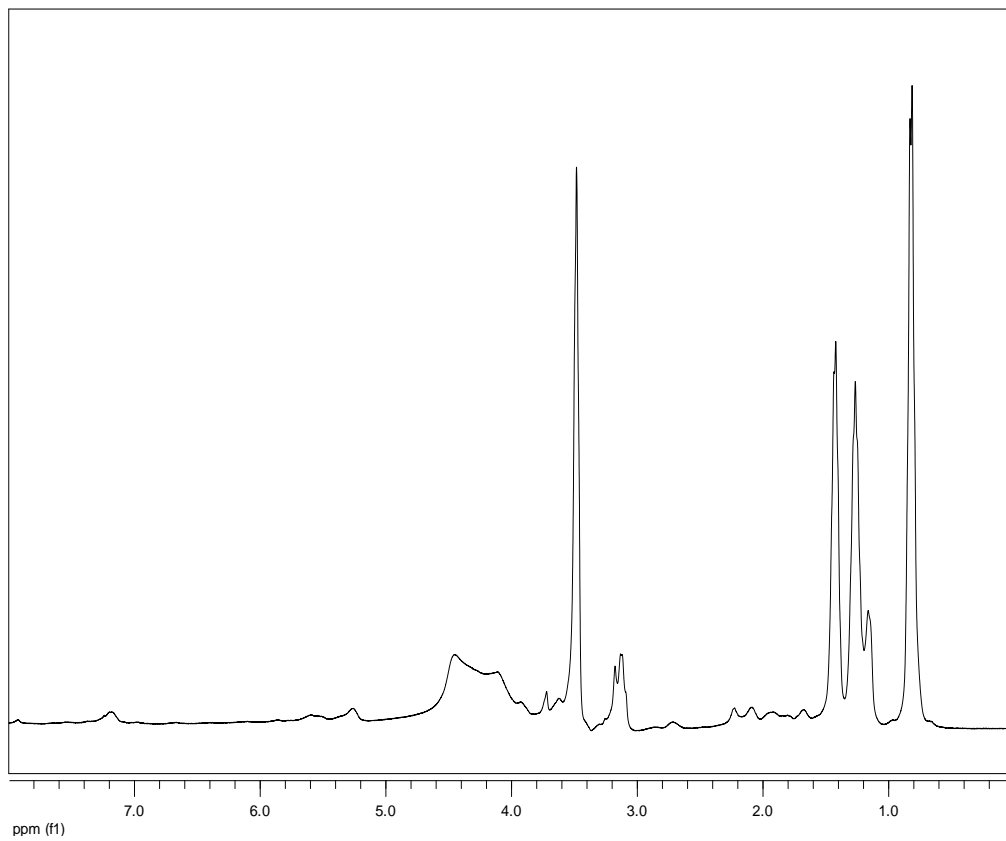
Εικόνα 28:Φάσμα ^1H NMR του κλάσματος COA (c-Hex)

3.1.2. ΚΛΑΣΜΑ COB



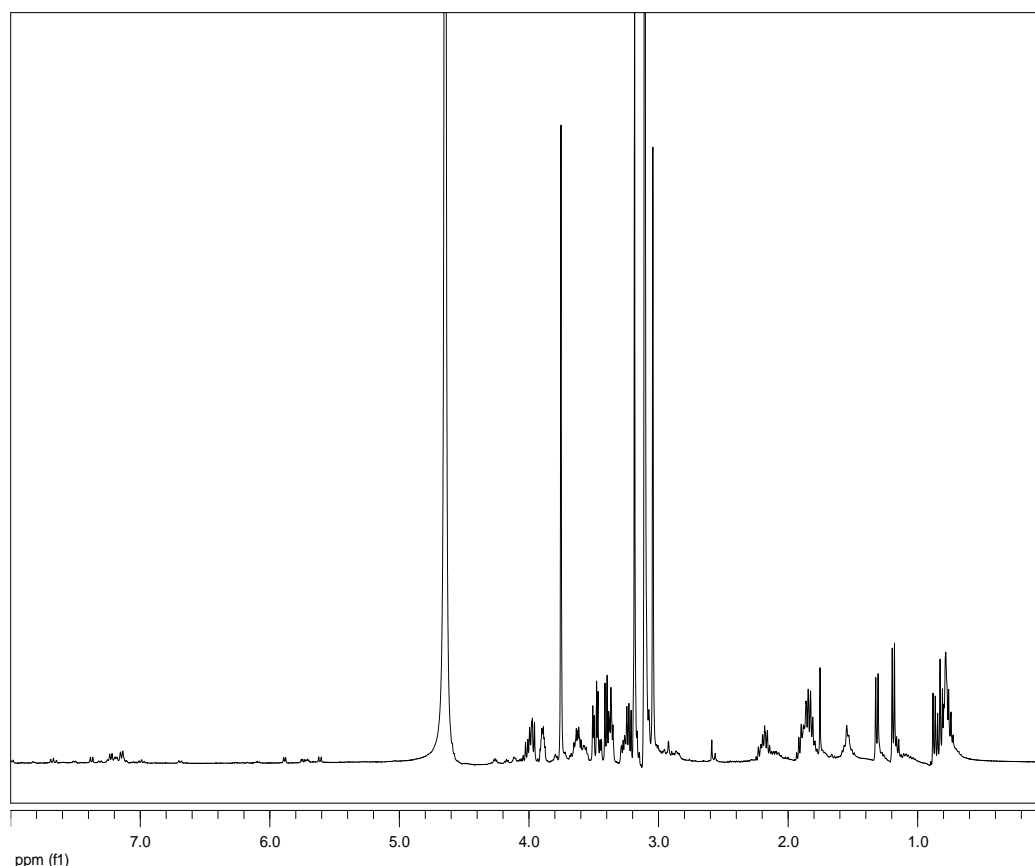
Εικόνα 29: Φάσμα ^1H NMR του κλάσματος COB (CH_2Cl_2)

3.1.3. ΚΛΑΣΜΑ COC



Εικόνα 30: Φάσμα ^1H NMR του κλάσματος COC (n-BuOH)

3.1.4. ΚΛΑΣΜΑ COD



Εικόνα 31:Φάσμα ^1H NMR του κλάσματος COD (H_2O)

3.2. *IN VIVO* ΔΟΚΙΜΕΣ

3.2.1. ΠΕΙΡΑΜΑ 1

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΜΕΤΡΗΣΕΩΝ ΕΜΒΑΔΟΥ ΕΛΛΕΙΜΜΑΤΟΣ

Στον πίνακα 5 φάνηκε ότι οι μύες εμφάνισαν μεγάλη ετερογένεια ως προς το επίπεδο του αρχικού ελλείμματος. Έτσι θεωρήθηκε σκόπιμο να γίνει κανονικοποίηση ως προς το αρχικό εμβαδόν του ελλείμματος, ώστε να μπορούν να εξαχθούν πιο συγκρίσιμα και ασφαλή αποτελέσματα σχετικά με την εξέλιξη της επούλωσης. Συγκεκριμένα, στον πίνακα 6 υπολογίστηκε το % ποσοστό της μείωσης του εμβαδού του ελλείμματος ως προς το αρχικό έλλειμμα, σύμφωνα με τον τύπο: $(\text{Εμβαδόν ημέρας 2} - \text{Εμβαδόν ημέρας } \chi) / \text{Εμβαδόν ημέρας 2} * 100$, όπου χ = ημέρες 6,10,14,17

Πίνακας 5:Μετρήσεις εμβαδού ελλείμματος

ΗΜΕΡΑ ΟΜΑΔΑ /ΑΡΙΘΜΟΣ ΜΥΟΣ		ΗΜΕΡΑ 2	ΗΜΕΡΑ 6	ΗΜΕΡΑ 10	ΗΜΕΡΑ 14	ΗΜΕΡΑ 17
ΜΑΡΤΥΡΕΣ	1	93,96	70,80	40,66	15,16	2,76
	2	82,84	72,41	47,83	23,98	5,19
	3	81,46	57,51	31,40	7,99	2,82
	4	81,59	74,29	55,50	15,38	3,87
	5	57,51	31,40	7,99	2,82	3,06
	6	83,09	61,37	29,15	5,46	2,87
	7	97,88	67,21	36,94	7,17	1,52
	8	56,24	35,15	17,60	3,50	0,01
ΜΑΡΤΥΡΕΣ + ΒΑΣΗ ΑΛΟΙΦΗΣ	1	84,25	64,93	39,33	6,42	1,89
	2	62,92	54,05	23,74	19,42	2,36
	3	93,60	80,53	58,14	11,63	0,84
	4	86,75	73,21	53,34	15,29	5,18
	5	105,04	104,12	57,61	12,93	4,69
	6	78,23	61,40	28,26	6,00	1,46
	7	86,21	66,77	32,30	3,74	0,89
	8	82,20	52,00	25,89	7,71	0,65
ΕΛΑΪΚΟ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑ ΞΗΡΟΥ <i>Ceratothoa oestroides</i> 10% w/w	1	112,65	90,69	43,32	8,36	2,20
	2	126,08	109,60	58,09	14,34	0,86
	3	113,33	89,86	73,54	23,55	5,86
	4	106,59	100,56	66,28	16,01	3,81
	5	99,64	87,10	53,94	19,18	1,40
	6	77,95	45,72	40,55	14,56	0,68
	7	79,43	50,63	28,73	4,94	0,39
	8	68,91	42,54	39,32	12,95	3,18
ΕΛΑΪΚΟ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑ ΝΩΠΟΥ <i>Ceratothoa oestroides</i> 10% w/w	1	93,21	74,53	47,40	46,56	3,06
	2	56,29	47,68	42,67	39,65	1,45
	3	66,39	62,96	51,25	42,38	2,09
	4	103,71	95,32	92,72	88,90	7,10
	5	137,94	95,92	82,48	79,22	2,34
	6	90,26	78,58	54,16	53,54	0,14
	7	73,69	63,25	35,98	34,35	0,64
	8	93,38	76,98	65,20	63,69	3,00
COB 2% w/w	1	88,85	76,56	56,62	14,28	2,01
	2	90,77	74,60	61,64	13,04	1,09
	3	93,53	67,94	50,43	12,40	1,81
	4	84,00	71,88	55,59	25,91	6,78
	5	54,61	53,81	33,58	15,24	2,88
	6	124,48	122,42	85,03	21,45	3,38
	7	89,19	87,16	47,65	5,25	0,01

Πίνακας 6 :Υπολογισμός % ποσοστού μείωσης του εμβαδού του ελλείμματος.

ΗΜΕΡΑ ΟΜΑΔΑ/ΑΡΙΘΜΟΣ ΜΥΟΣ		ΗΜΕΡΑ 2	ΗΜΕΡΑ 6	ΗΜΕΡΑ 10	ΗΜΕΡΑ 14	ΗΜΕΡΑ 17
ΜΑΡΤΥΡΕΣ	1	0	24,65	56,73	83,87	97,06
	2	0	12,59	42,27	71,05	93,74
	3	0	29,40	61,46	90,19	96,53
	4	0	8,95	31,99	81,15	95,26
	5	0	25,82	53,33	86,16	96,08
	6	0	26,13	64,92	93,43	96,54
	7	0	31,34	62,27	92,68	98,44
	8	0	37,50	68,71	93,78	99,99
ΜΑΡΤΥΡΕΣ + ΒΑΣΗ ΑΛΟΙΦΗΣ	1	0	22,92	53,32	92,38	97,76
	2	0	14,08	62,27	69,13	96,24
	3	0	13,97	37,89	87,57	99,10
	4	0	15,61	38,52	82,38	94,03
	5	0	0,88	45,15	87,69	95,54
	6	0	21,52	63,88	92,33	98,13
	7	0	22,55	62,54	95,66	98,96
	8	0	36,74	68,50	90,62	99,21
ΕΛΑΪΚΟ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑ ΞΗΡΟΥ <i>Ceratothoa oestroides</i> 10% w/w	1	0	19,50	61,54	92,58	98,05
	2	0	13,07	53,93	88,62	99,32
	3	0	20,71	35,11	79,22	94,83
	4	0	5,65	37,81	84,98	96,43
	5	0	12,58	45,87	80,76	98,60
	6	0	41,36	47,98	81,32	99,12
	7	0	36,26	63,83	93,79	99,51
	8	0	38,26	42,95	81,21	95,38
ΕΛΑΪΚΟ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑ ΝΩΠΟΥ <i>Ceratothoa oestroides</i> 10% w/w	1	0	20,05	49,15	50,05	96,72
	2	0	15,29	24,19	29,55	97,43
	3	0	5,16	22,80	36,17	96,86
	4	0	8,09	10,60	14,28	93,15
	5	0	30,46	40,20	42,57	98,30
	6	0	12,94	40,00	40,68	99,85
	7	0	14,17	51,18	53,39	99,14
	8	0	17,56	30,17	31,79	96,78
COB 2% w/w	1	0	13,83	36,27	83,93	97,74
	2	0	17,82	32,09	85,64	98,80
	3	0	27,36	46,08	86,75	98,07
	4	0	14,43	33,82	69,16	91,93
	5	0	1,47	38,51	72,09	94,72
	6	0	1,65	31,69	82,76	97,29
	7	0	2,28	46,57	94,11	99,99

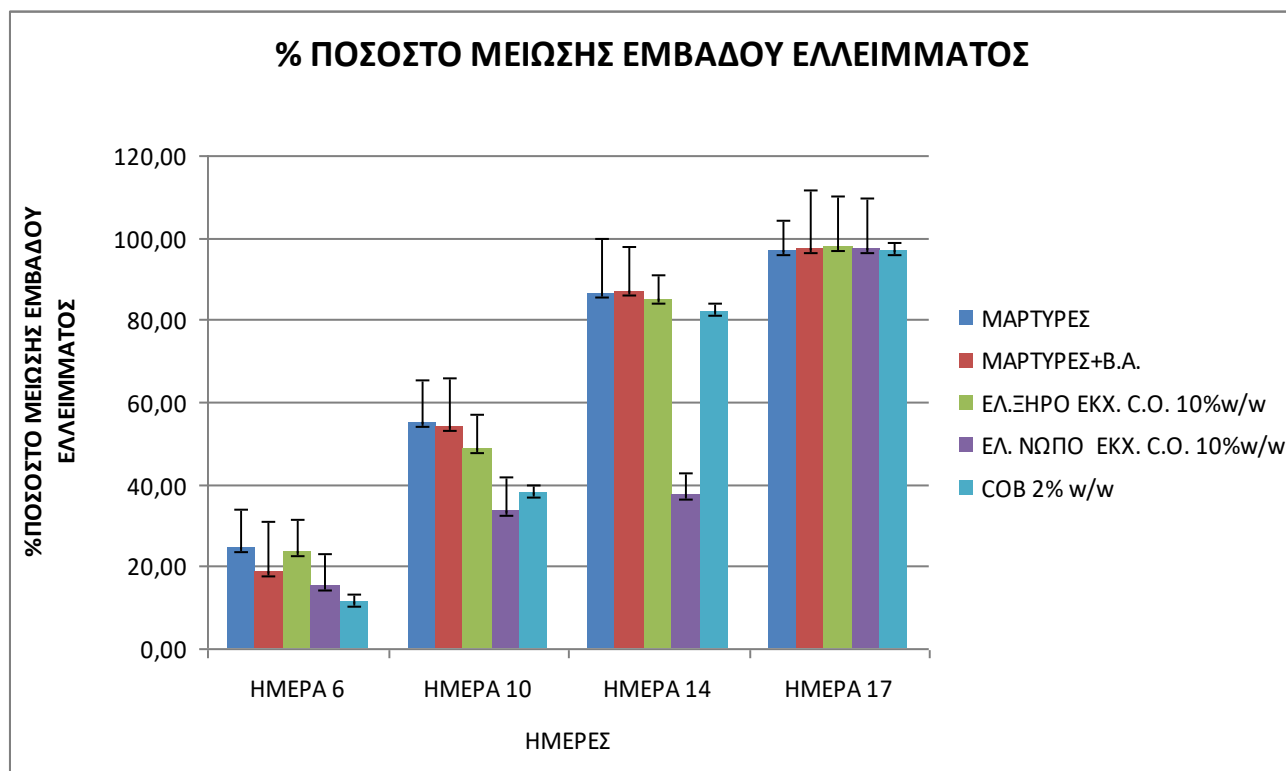
Ο μέσος όρος και η τυπική απόκλιση για το % ποσοστό μείωσης του εμβαδού του ελλείμματος υπολογίστηκε με Microsoft Office Excel 2007.

Πίνακας 7 :Υπολογισμός στατιστικών παραμέτρων

ΟΜΑΔΑ	ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΣ	ΗΜΕΡΑ 2	ΗΜΕΡΑ 6	ΗΜΕΡΑ 10	ΗΜΕΡΑ 14	ΗΜΕΡΑ 17
ΜΑΡΤΥΡΕΣ	Μέσος Όρος	0	27,00	59,30	87,65	96,53
	Τυπική Απόκλιση	0	12,03	16,45	8,37	2,03
ΜΑΡΤΥΡΕΣ + ΒΑΣΗ ΑΛΟΙΦΗΣ	Μέσος Όρος	0	18,53	54,01	87,22	97,37
	Τυπική Απόκλιση	0	10,26	12,12	8,34	1,91
ΕΛΑΪΚΟ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑ ΞΗΡΟΥ <i>Ceratothoa oestroides</i> 10% w/w	Μέσος Όρος	0	23,42	48,63	85,31	97,65
	Τυπική Απόκλιση	0	13,47	10,46	5,69	1,85
ΕΛΑΪΚΟ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑ ΝΩΠΟΥ <i>Ceratothoa oestroides</i> 10% w/w	Μέσος Όρος	0	15,47	33,54	37,31	97,28
	Τυπική Απόκλιση	0	7,74	14,05	12,43	2,03
COB 2% w/w	Μέσος Όρος	0	11,26	37,86	82,06	96,94

	Τυπική Απόκλιση	0	9,90	6,24	8,66	2,73
--	-----------------	---	------	------	------	------

Από τον υπολογισμό του μέσου όρου του % ποσοστού μείωσης του εμβαδού του ελλείμματος, φάνηκε ότι τα σκευάσματα με το εκχύλισμα νωπού και ξηρού ισοπόδου, όπως και με το κλάσμα COB είχαν καλή θεραπευτική δράση συγκρινόμενα με τους μάρτυρες που δεν έλαβαν καμία θεραπεία.







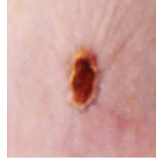






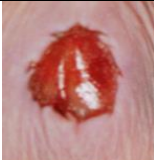

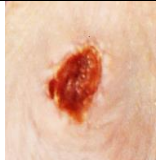






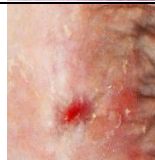

















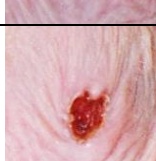


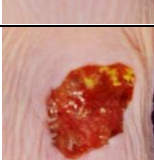

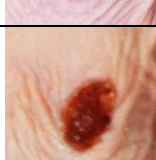

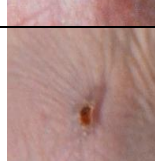
Γράφημα 1. Μέσος όρος κανονικοποιημένων ποσοστών μείωσης εμβαδού ελλείμματος ανάλογα με τις μέρες που έγιναν οι μετρήσεις






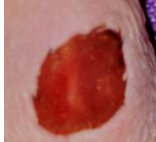

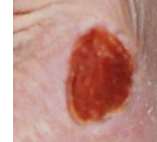











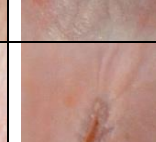
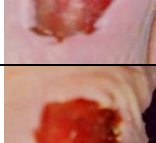
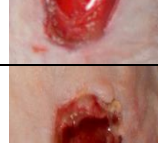


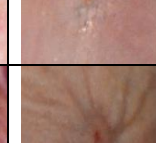
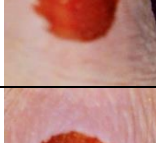




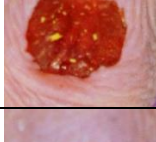

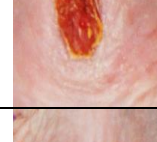

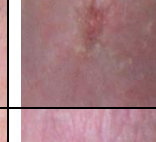




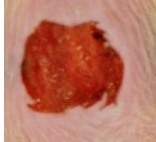




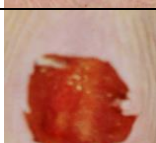




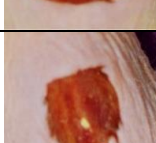



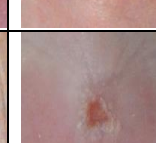
ΦΩΤΟΓΡΑΦΙΚΗ ΤΕΚΜΗΡΙΩΣΗ




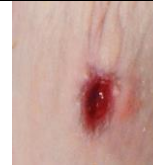

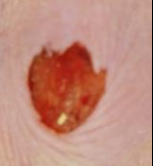


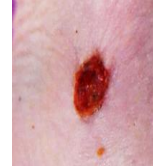




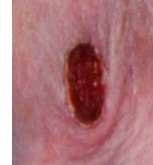













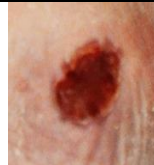




















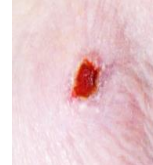
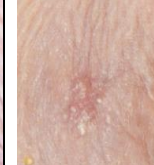
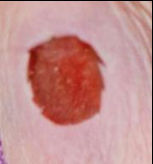




Πέραν των συμπερασμάτων από τις μετρήσεις εμβαδού που αναφέρθηκαν προηγουμένως, από την προσεκτική μελέτη των φωτογραφιών προέκυψε ότι οι θηλυκοί μύες είχαν όλοι, ανεξαρτήτως θεραπείας, σχετικά καλή πορεία επουλώσεως και δεν μπορούν να εξαχθούν ασφαλή συμπεράσματα από αυτούς.

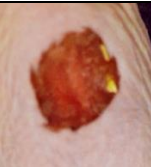


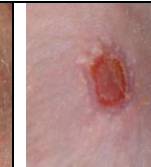
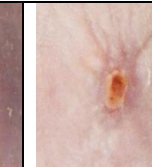



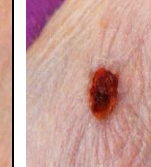
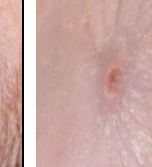

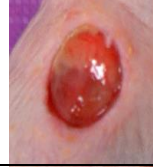

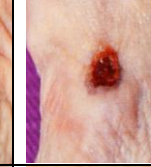

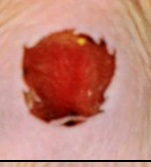


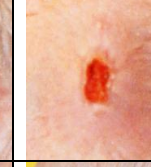
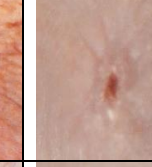
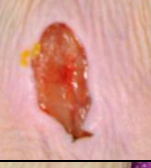
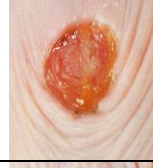

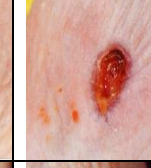

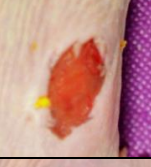


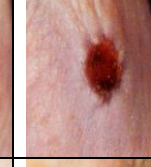

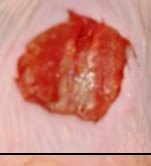



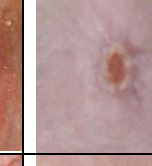





Οι ομάδες που έλαβαν τα σκευάσματα με τα εκχυλίσματα του νωπού ισοπόδου, του ξηρού ισοπόδου, αλλά και με το κλάσμα COB εμφάνισαν σαφώς καλύτερη κλινική εικόνα σε σχέση με την ομάδα των μαρτύρων και με την ομάδα που έλαβε την βάση της αλοιφής. Οι ομάδες των μαρτύρων και εκείνων που έλαβαν την βάση αλοιφής εμφάνισαν το μεγαλύτερο σημάδι. Η ομάδα

που έλαβε την αλοιφή με το εκχύλισμα ξηρού ισοπόδου και με το κλάσμα COB είχε το μικρότερο τελικό σημάδι και το πιο συμμετρικό κλείσιμο της πληγής. Αξιοσημείωτη είναι η μείωση του εμβαδού του ελλείμματος από την 10η στην 14η ημέρα, σε όλες τις ομάδες

ΗΜΕΡΑ  ΟΜΑΔΑ/ΑΡΙΘΜΟΣ ΜΥΟΣ		ΗΜΕΡΑ 2	ΗΜΕΡΑ 6	ΗΜΕΡΑ 10	ΗΜΕΡΑ 14	ΗΜΕΡΑ 17
ΜΑΡΤΥΡΕΣ	1					
	2					
	3					
	4					
	5					
	6					
	7					
	8					
	1					

ΜΑΡΤΥΡΕΣ + ΒΑΣΗ ΑΛΟΙΦΗΣ	2					
	3					
	4					
	5					
	6					
	7					
	8					
	ΕΛΑΪΚΟ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑ ΞΗΡΟΥ <i>Ceratothoa oestroides</i> 10% w/w	1				
2						
3						
4						

	5					
	6					
	7					
	8					
<p>ΕΛΑΪΚΟ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑ ΝΩΠΟΥ <i>Ceratothoa oestroides</i> 10% w/w</p>	1					
	2					
	3					
	4					
	5					
	6					
	7					

	8					
COB 2% w/w	1					
	2					
	3					
	4					
	5					
	6					
	7					

ΒΙΟΦΥΣΙΚΕΣ ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ

Από τα αποτελέσματα των μετρήσεων των βιοφυσικών χαρακτηριστικών του δέρματος με τη χρήση των Tewameter, Corneometer και Mexameter, φάνηκε ότι το επουλωμένο δέρμα παρουσίασε σημαντικές διαφορές σε σχέση με το ακέραιο.

Στους πίνακες που αναφέρονται στις μετρήσεις των μηχανημάτων για τα δύο πειράματα, ως αρχή εννοείται η ημέρα (0η) όπου έγιναν οι μετρήσεις πριν από την πρόκληση της πληγής, στο ακέραιο δέρμα. Ως τέλος εννοείται η ημέρα όπου έγιναν οι μετρήσεις στο επουλωμένο δέρμα, δηλαδή η τελευταία ημέρα του κάθε πειράματος.

Από την στατιστική επεξεργασία των βιοφυσικών μετρήσεων παρατηρήθηκε ετερογένεια στις τιμές της άδηλης απώλειας ύδατος όσο και της ενυδάτωσης, τόσο στην αρχή του πειράματος όσο και στο τέλος, ανάμεσα στις ομάδες. Την τελευταία μέρα παρατηρήθηκε μια μεγάλη τιμή άδηλης απώλειας ύδατος σε όλες τις ομάδες, με την υψηλότερη τιμή να εμφανίζεται στην ομάδα που έλαβε το COB. Επίσης, την τελευταία ημέρα, παρατηρήθηκαν υψηλές τιμές ενυδάτωσης, πιθανώς λόγω υπερενυδάτωσης, σε όλες τις ομάδες. Όσον αφορά στην ελαστικότητα οι μάρτυρες εμφάνισαν την χειρότερη εικόνα, ενώ την καλύτερη εικόνα είχε η ομάδα που έλαβε το COB.

Πίνακας 8. Βιοφυσικές μετρήσεις την 0η και 17η ημέρα

ΟΜΑΔΕΣ	ΜΥΕΣ	Άδηλη απώλεια νερού (TEWL) ($g \cdot h^{-1} \cdot m^{-2}$)		ΕΝΥΔΑΤΩΣΗ (αυθαίρετες μονάδες)		ΑΔΡΗ ΕΛΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑ R2 (αυθαίρετες μονάδες)	
		ΑΡΧΗ	ΤΕΛΟΣ	ΑΡΧΗ	ΤΕΛΟΣ	ΑΡΧΗ	ΤΕΛΟΣ
ΜΑΡΤΥΡΕΣ	1	14.40	42.90	57.33	65.33	0.11	0.25
	2	14.10	44.40	62.67	65.33	0.16	0.26
	3	8.10	20.60	36.00	63.67	0.01	0.02
	4	9.60	67.30	36.67	60.33	0.02	0.01
	5	15.20	28.30	26.33	56.33	0.18	0.02
	6	18.70	32.40	41.67	64.67	0.02	0.32
	7	18.30	38.70	41.00	53.67	0.02	0.12
	8	12.00	45.60	40.67	64.67	0.35	0.47
ΜΑΡΤΥΡΕΣ + ΒΑΣΗ ΑΛΟΙΦΗΣ	1	18.90	31.20	46.67	66.00	0.31	0.51
	2	6.40	36.30	47.00	67.67	0.24	0.22
	3	21.30	34.90	39.33	72.00	0.13	0.56
	4	9.00	59.80	41.33	59.33	0.14	0.01
	5	15.00	61.90	45.67	64.00	0.20	0.03
	6	16.00	38.80	43.67	71.33	0.02	0.36
	7	21.50	45.90	40.33	51.00	0.03	0.95
	8	23.10	38.30	39.00	45.00	0.16	0.51
ΕΛΑΪΚΟ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑ ΞΗΡΟΥ <i>Ceratothoa oestroides</i> 10% w/w	1	21.80	48.10	38.33	58.00	0.01	0.13
	2	20.50	33.70	50.33	64.00	0.21	0.76
	3	14.40	87.20	44.00	71.00	0.07	0.45
	4	13.00	57.30	34.33	80.00	0.11	0.57
	5	15.00	36.90	53.67	107.00	0.08	0.05

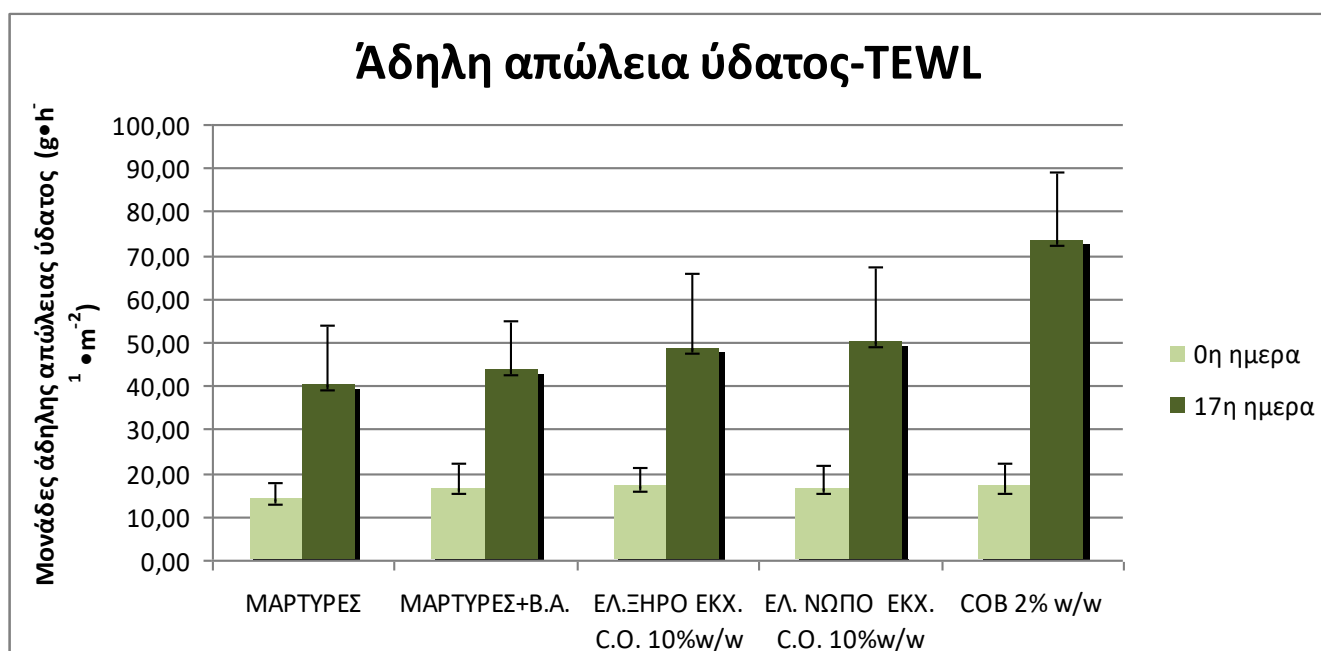
	6	14.50	43.50	47.00	50.33	0.17	0.43
	7	23.70	44.70	41.00	69.00	0.01	0.29
	8	10.80	36.80	42.67	65.67	0.02	0.34
ΕΛΑΪΚΟ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑ ΝΩΠΟΥ <i>Ceratothoa oestroides</i> 10% w/w	1	22.00	50.70	26.33	78.33	0.02	0.02
	2	13.10	30.60	51.00	78.00	0.32	0.02
	3	14.10	46.40	50.33	62.00	0.43	0.55
	4	10.40	44.90	48.00	61.67	0.01	0.29
	5	12.00	65.30	56.33	69.67	0.01	0.76
	6	17.30	45.40	46.67	58.33	0.03	0.42
	7	26.10	68.30	47.67	80.33	0.03	0.37
	8	16.60	84.00	17.00	84.67	0.01	0.38
COB 2% w/w	1	26.20	70.50	36.67	63.33	0.04	0.60
	2	9.50	73.80	57.67	73.67	0.02	0.46
	3	16.50	50.50	52.67	34.00	0.02	0.57
	4	13.80	66.50	59.33	64.33	0.91	0.90
	5	12.30	95.10	44.67	52.67	0.03	0.33
	6	15.10	92.10	16.33	71.67	0.70	0.03
	7	22.7	63.00	62.00	72.00	0.02	0.59

Στην συνέχεια υπολογίστηκαν η μέση τιμή και η τυπική απόκλιση για όλες τις ομάδες των μυών:

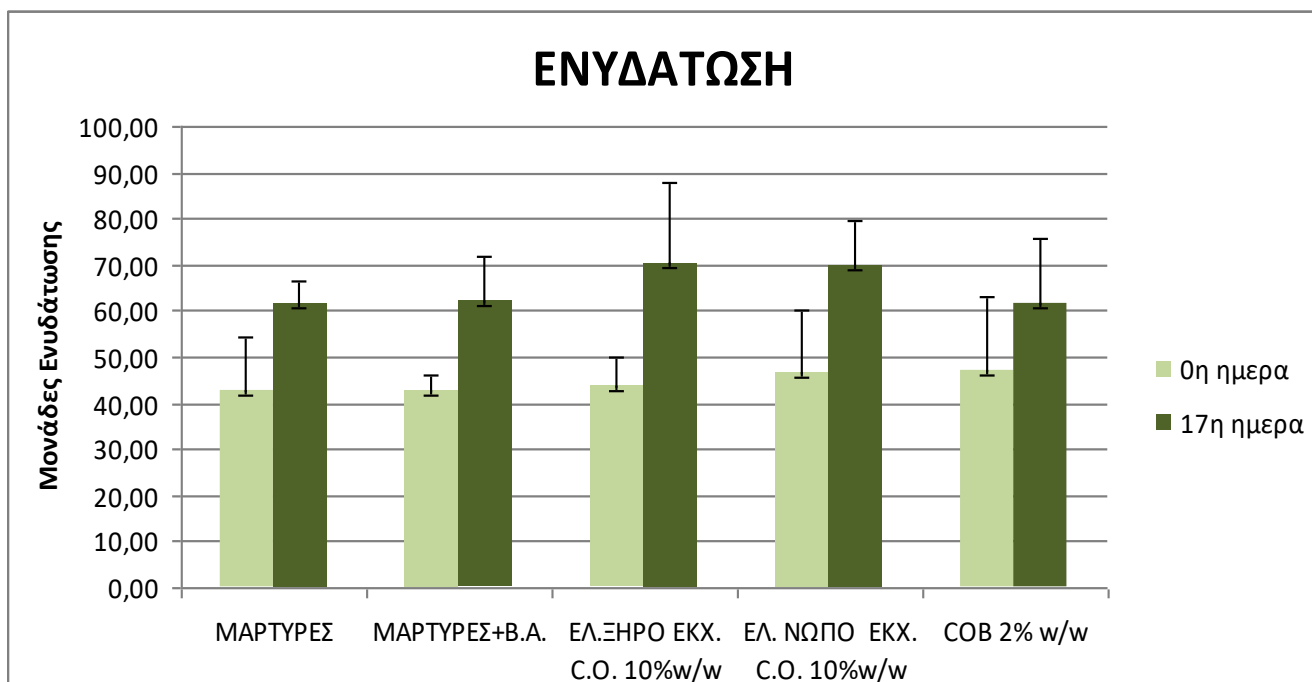
Πίνακας 9 :Υπολογισμός στατιστικών παραμέτρων

ΟΜΑΔΕΣ	ΜΥΕΣ	Άδηλη απώλεια νερού (TEWL) ($g \cdot h^{-1} \cdot m^{-2}$)		ΕΝΥΔΑΤΩΣΗ (αυθαίρετες μονάδες)		ΑΔΡΗ ΕΛΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑ R2 (αυθαίρετες μονάδες)	
		ΑΡΧΗ	ΤΕΛΟΣ	ΑΡΧΗ	ΤΕΛΟΣ	ΑΡΧΗ	ΤΕΛΟΣ
ΜΑΡΤΥΡΕΣ	Μέσος όρος	13,80	40,03	42,79	61,75	0,11	0,18
	Τυπική απόκλιση	3,78	14,03	11,77	4,52	0,12	0,17
ΜΑΡΤΥΡΕΣ + ΒΑΣΗ ΑΛΟΙΦΗΣ	Μέσος όρος	16,40	43,39	42,88	62,04	0,15	0,39
	Τυπική	6,07	11,56	3,30	9,68	0,10	0,31

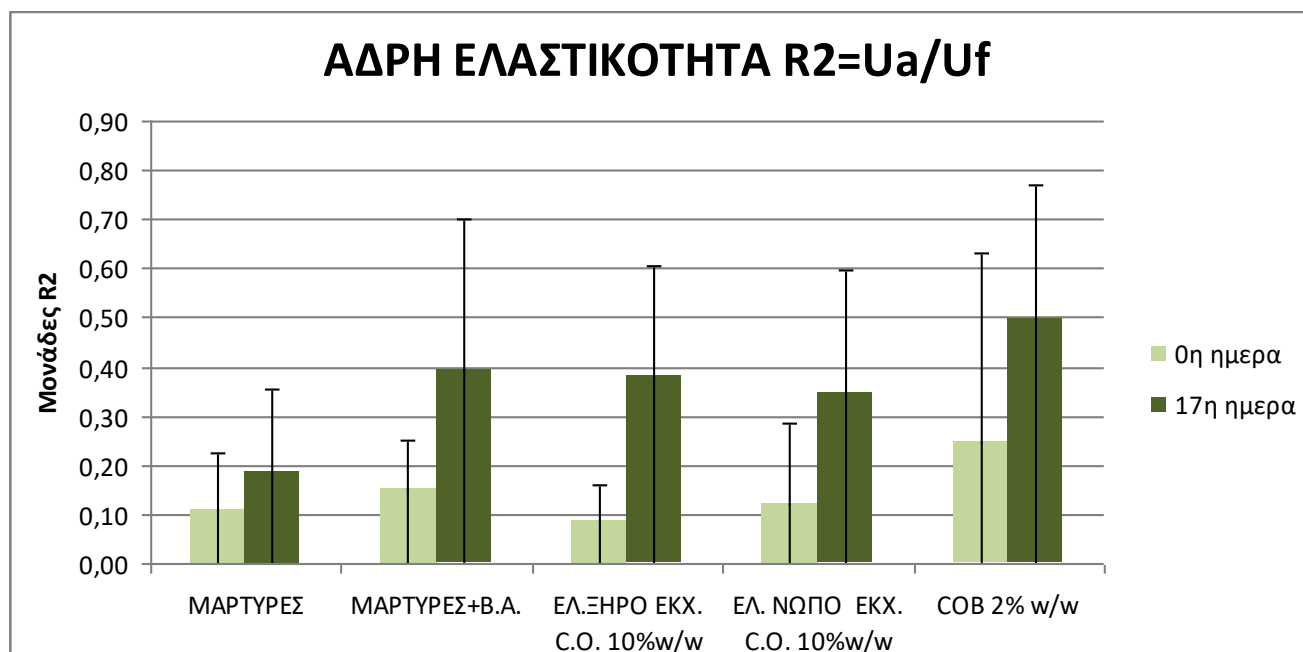
	απόκλιση						
ΕΛΑΪΚΟ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑ ΞΗΡΟΥ <i>Ceratothoa oestroides</i> 10% w/w	Μέσος όρος	16,71	48,53	43,92	70,63	0,09	0,38
	Τυπική απόκλιση	4,64	17,34	6,31	17,13	0,07	0,23
ΕΛΑΪΚΟ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑ ΝΩΠΟΥ <i>Ceratothoa oestroides</i> 10% w/w	Μέσος όρος	16,43	50,23	46,62	69,76	0,12	0,35
	Τυπική απόκλιση	5,32	16,92	13,68	10,03	0,17	0,25
COB 2% w/w	Μέσος όρος	16,59	73,07	47,05	61,67	0,25	0,50
	Τυπική απόκλιση	5,89	15,86	16,21	14,18	0,39	0,27



Γράφημα 2. Μέσος όρος άδηλης απώλειας ύδατος την 0η και την 17η ημέρα



Γράφημα 3. Μέσος όρος ενυδάτωσης την 0η και την 17η ημέρα



Γράφημα 4. Μέσος όρος αδρής ελαστικότητας την 0η και την 17η ημέρα

ΜΕΤΡΗΣΗ ΠΑΧΟΥΣ ΔΕΡΜΑΤΟΣ

Από την στατιστική επεξεργασία των μετρήσεων του πάχους του δέρματος παρατηρήθηκε αύξηση του πάχους δέρματος στην περιοχή του ελλείμματος σε όλες τις ομάδες, με την μεγαλύτερη αύξηση να εμφανίζεται στην ομάδα που έλαβε το ελαικό εκχύλισμα ξηρού ισοπόδου.

Πίνακας 10. .Μέτρηση πάχους δέρματος την 0η και 17η ημέρα.

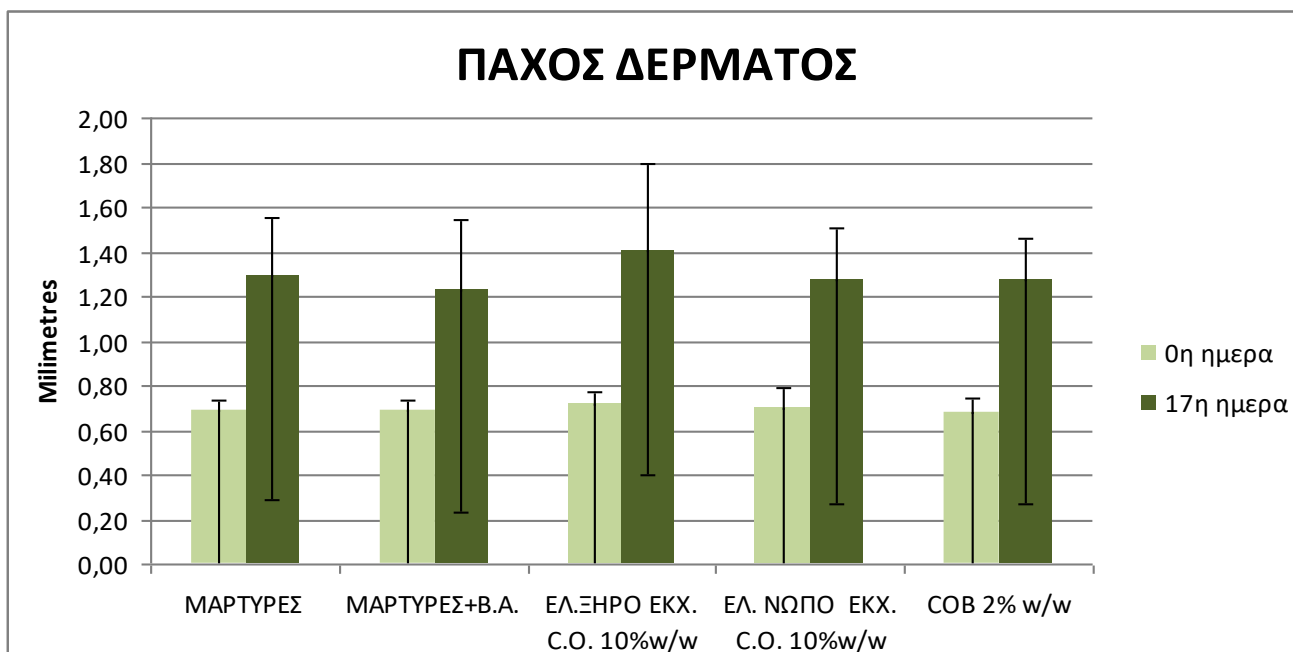
ΟΜΑΔΕΣ	ΜΥΕΣ	ΠΑΧΟΣ	
		ΑΡΧΗ	ΤΕΛΟΣ
ΜΑΡΤΥΡΕΣ	1	0,75	0,88
	2	0,65	1,74
	3	0,68	1,21
	4	0,75	1,29
	5	0,69	1,58
	6	0,64	1,26
	7	0,61	1,11
	8	0,72	1,25
ΜΑΡΤΥΡΕΣ + ΒΑΣΗ ΑΛΟΙΦΗΣ	1	0,75	0,86
	2	0,68	1,39
	3	0,71	1,04
	4	0,71	1,68
	5	0,64	1,25
	6	0,73	0,91
	7	0,70	1,09
	8	0,62	1,64
ΕΛΑΪΚΟ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑ ΞΗΡΟΥ <i>Ceratothoa oestroides</i> 10% w/w	1	0,71	1,33
	2	0,78	1,49
	3	0,74	2,18
	4	0,68	0,98
	5	0,69	1,40
	6	0,67	1,64
	7	0,69	0,98
	8	0,80	1,23
ΕΛΑΪΚΟ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑ ΝΩΠΟΥ <i>Ceratothoa oestroides</i> 10% w/w	1	0,73	1,67
	2	0,65	1,16
	3	0,76	0,85
	4	0,57	1,30
	5	0,63	1,25
	6	0,64	1,47
	7	0,85	1,27
	8	0,77	1,19
	1	0,62	0,88
	2	0,78	1,42
	3	0,70	1,40
	4	0,68	1,23

COB 2% w/w	5	0,73	1,23
	6	0,60	1,34
	7	0,62	1,39

Στη συνέχεια υπολογίστηκε η μέση τιμή και η τυπική απόκλιση για όλες τις ομάδες των μυών:

Πίνακας 11 :Υπολογισμός στατιστικών παραμέτρων

ΟΜΑΔΕΣ	ΜΥΕΣ	ΠΑΧΟΣ	
		ΑΡΧΗ	ΤΕΛΟΣ
ΜΑΡΤΥΡΕΣ	Μέσος όρος	0,69	1,29
	Τυπική απόκλιση	0,05	0,27
ΜΑΡΤΥΡΕΣ + ΒΑΣΗ ΑΛΟΙΦΗΣ	Μέσος όρος	0,69	1,23
	Τυπική απόκλιση	0,04	0,31
ΕΛΑΪΚΟ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑ ΞΗΡΟΥ <i>Ceratothoa oestroides</i> 10% w/w	Μέσος όρος	0,72	1,40
	Τυπική απόκλιση	0,05	0,39
ΕΛΑΪΚΟ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑ ΝΩΠΟΥ <i>Ceratothoa oestroides</i> 10% w/w	Μέσος όρος	0,70	1,27
	Τυπική απόκλιση	0,09	0,24
COB 2% w/w	Μέσος όρος	0,68	1,27
	Τυπική απόκλιση	0,07	0,19



Γράφημα 5. Μέσος όρος πάχους δέρματος την 0η και 17η ημέρα

ΙΣΤΟΠΑΘΟΛΟΓΙΚΗ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ:

Μετά την ευθανασία των μυών, με αυχενική εξάρθρωση την τελευταία ημέρα του πειράματος, λήφθηκαν βιοψίες από το δέρμα μυών κάθε ομάδας, στην περιοχή όπου είχε γίνει το έλλειμμα. Από αυτά, ένα από κάθε ομάδα, το πιο αντιπροσωπευτικό, δόθηκε για ιστοπαθολογική αξιολόγηση από την οποία προέκυψαν τα εξής:

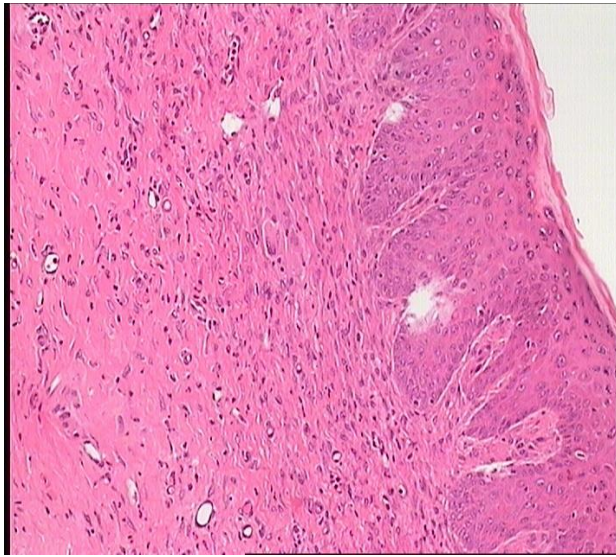
- ❖ **ΜΑΡΤΥΡΕΣ:** παρατηρήθηκαν μέτρια φλεγμονή και μέτριες λεμφοκυτταρικές διηθήσεις .
- ❖ **ΜΑΡΤΥΡΕΣ +ΒΑΣΗ ΑΛΟΙΦΗΣ:** παρατηρήθηκαν μέτρια φλεγμονή και μέτρια πυκνές εστιακά φλεγμονώδεις διηθήσεις.
- ❖ **ΕΛΑΪΚΟ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑ ΞΗΡΟΥ ΙΣΟΠΟΔΟΥ 10%w/w:** ύπαρξη μέτριας φλεγμονής και παρουσία οργανωμένης ουλής.
- ❖ **ΕΛΑΪΚΟ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑ ΝΩΠΟΥ ΙΣΟΠΟΔΟΥ 10%w/w:** ήπιες φλεγμονώδεις διηθήσεις.
- ❖ **COB 2%:** ελάχιστα στοιχεία φλεγμονής, παρατηρείται ινοβλαστική αντίδραση, ανάπλαση

ΟΜΑΔΕΣ**ΦΛΕΓΜΟΝΗ**

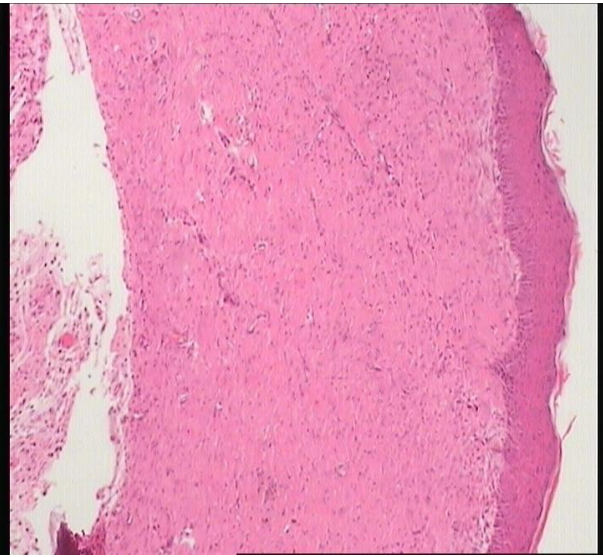
ΜΑΡΤΥΡΕΣ	+++
ΜΑΡΤΥΡΕΣ+ΒΑΣΗ ΑΛΟΙΦΗΣ	+++
ΕΛ.ΕΚΧΥΛΙΣΜΑ ΞΗΡΟΥ C.O.10%	++
ΕΛ.ΕΚΧΥΛΙΣΜΑ ΝΩΠΟΥ C.O.10%	++
COB 2%	+

Όπου:

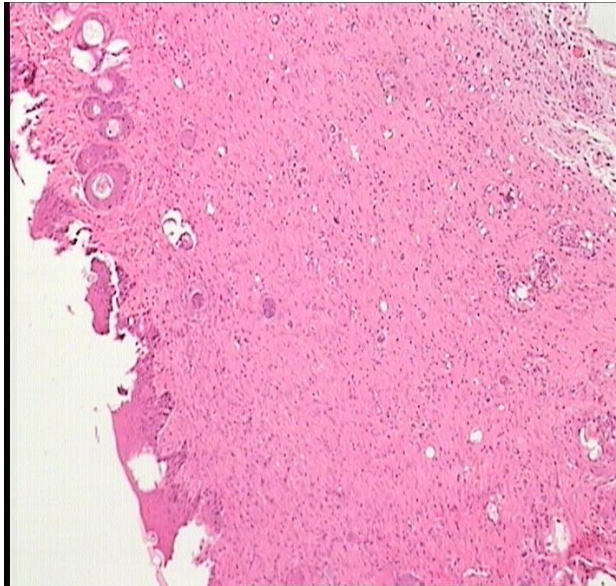
- +++++ έντονη φλεγμονή
- +++ πολύ/μέτρια φλεγμονή
- ++ μέτρια/λίγη φλεγμονή
- + ελάχιστη φλεγμονή
- - καθόλου φλεγμονή



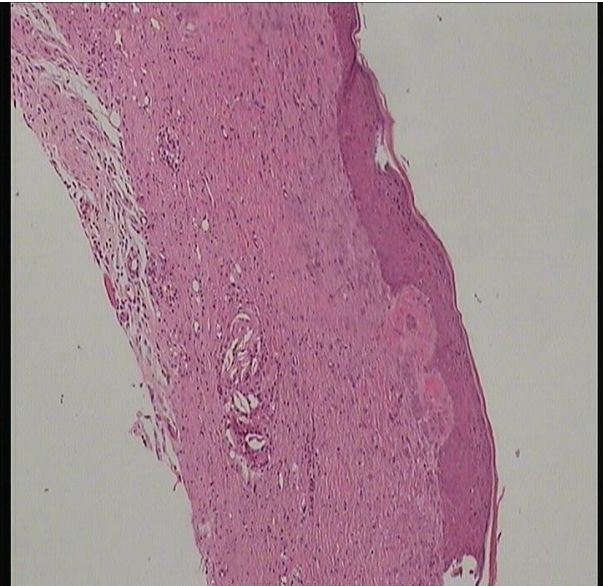
Δείγμα από την ομάδα των μαρτύρων
Μεγέθυνση X100



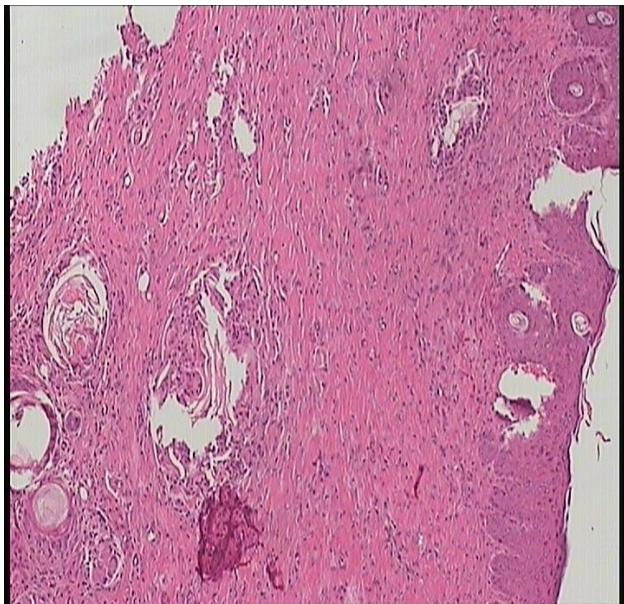
Δείγμα από την ομάδα με την βάση της αλωπίης
Μεγέθυνση X200



Δείγμα από την ομάδα ΕΛ.ΞΗΡ.ΕΚΧ.С.О.10%
Μεγέθυνση X100



Δείγμα από την ομάδα ΕΛ.ΝΩΠ.ΕΚΧ.С.О.10%
Μεγέθυνση X100



Δείγμα από την ομάδα COB 2%
Μεγέθυνση X100

Από την ιστοπαθολογική αξιολόγηση προέκυψε ότι οι ομάδες των μαρτύρων και των μυών που έλαβαν την βάση της αλοιφής παρουσίασαν μέτρια ενεργό φλεγμονή. Η ομάδα που έλαβε το εκχύλισμα του ξηρού ισοπόδου εμφάνισε μέτρια φλεγμονή με υπερπλασία. Η ομάδα που έλαβε το εκχύλισμα νωπού ισοπόδου εμφάνισε ήπια φλεγμονή. Επιπλέον επιβεβαιώθηκε η πάχυνση της επιδερμίδας σε όλες τις ομάδες. Τέλος την καλύτερη εικόνα εμφάνισε η ομάδα που έλαβε το κλάσμα COB, αφού παρατηρήθηκαν ελάχιστα φλεγμονώδη στοιχεία και σημειώθηκε ανάπτυξη ινοβλαστών.

Συμπερασματικά, από όλα τα στοιχεία και κυρίως από την ιστοπαθολογική αξιολόγηση προέκυψε ότι το σκεύασμα με το κλάσμα COB φάνηκε να έχει καλή επουλωτική δράση, με ελάχιστη ή καθόλου φλεγμονή και έτσι αποφασίστηκε η περαιτέρω αξιολόγησή του σε επόμενο πείραμα. Επειδή το συγκεκριμένο κλάσμα, βρέθηκε να είναι πλούσιο σε πολυακόρεστα λιπαρά οξέα και συγκεκριμένα περιείχε το πολυακόρεστο λιπαρό οξύ EPA σε ποσοστό 62% w/w, λήφθηκε η απόφαση να συγκριθούν ταυτόχρονα οι δράσεις του κλάσματος COB με εκείνη του EPA σε καθαρή μορφή, σε κατάλληλα μορφοποιημένα σκευάσματα.

3.2.2. ΠΕΙΡΑΜΑ 2

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΜΕΤΡΗΣΕΩΝ ΕΜΒΑΔΟΥ ΕΛΛΕΙΜΜΑΤΟΣ:

Στον πίνακα 12 φάνηκε ότι οι μύες εμφάνισαν μεγάλη ετερογένεια ως προς το επίπεδο του αρχικού ελλείμματος. Έτσι θεωρήθηκε σκόπιμο να γίνει κανονικοποίηση ως προς το αρχικό εμβαδόν του ελλείμματος, ώστε να μπορούν να εξαχθούν πιο συγκρίσιμα και ασφαλή αποτελέσματα σχετικά με την

εξέλιξη της επούλωσης. Συγκεκριμένα, στον πίνακα 20, υπολογίστηκε το % ποσοστό της μείωσης του εμβαδού του ελλείμματος ως προς το αρχικό έλλειμμα, σύμφωνα με τον τύπο: (Εμβαδόν ημέρας 1- Εμβαδόν ημέρας χ) / Εμβαδόν ημέρας 1)*100, όπου χ = ημέρες 4,7,10,14,16.

Πίνακας 12:Μετρήσεις εμβαδού ελλείμματος

ΗΜΕΡΑ ΟΜΑΔΑ/ΑΡΙΘΜΟΣ ΜΥΟΣ		ΗΜΕΡΑ 1	ΗΜΕΡΑ 4	ΗΜΕΡΑ 7	ΗΜΕΡΑ 10	ΗΜΕΡΑ 14	ΗΜΕΡΑ 16
ΜΑΡΤΥΡΕΣ + ΒΑΣΗ ΑΛΟΙΦΗΣ	1	109,86	98,30	75,50	14,67	9,00	6,64
	2	128,46	117,84	87,67	15,90	8,38	7,02
	3	132,71	91,28	68,00	19,66	13,35	8,31
	4	115,75	94,22	85,41	39,14	23,94	8,00
	5	120,28	113,75	85,62	43,06	21,15	16,30
	6	128,53	101,91	82,95	24,41	21,69	4,49
COB 1% w/w	1	67,28	56,83	51,11	27,00	5,65	4,21
	2	80,00	77,00	69,00	21,00	5,73	2,47
	3	92,00	82,00	66,00	26,00	16,24	6,38
	4	94,03	88,00	81,60	18,08	9,61	5,12
	5	89,01	79,92	64,00	20,92	8,95	6,75
COB 2% w/w	1	102,40	73,34	57,30	19,64	9,08	2,55
	2	84,74	75,32	80,09	24,46	6,31	3,46
	3	99,64	71,82	57,74	25,91	6,24	3,87
	4	68,25	55,72	46,37	15,80	5,60	3,78
	5	88,00	64,82	49,19	14,79	9,19	2,33
	6	73,35	65,85	56,89	17,00	13,19	2,89
COB 5% w/w	1	90,90	86,28	61,82	29,02	6,76	1,97
	2	97,04	63,92	55,59	20,26	4,07	1,52
	3	129,00	85,61	61,07	25,08	8,44	0,00
	4	92,88	85,00	71,00	24,44	19,44	4,22
	5	96,00	64,19	44,95	13,03	4,04	0,00
	6	89,00	83,00	62,08	15,57	6,31	0,00
EPA 0.2% w/w	1	113,85	80,58	36,75	10,75	3,79	0,00
	2	100,00	75,00	52,90	19,16	6,95	0,00
	3	87,60	83,00	75,00	13,41	3,55	0,08
	4	104,00	81,00	65,34	18,72	6,23	0,00
	5	82,69	78,03	63,30	18,00	3,57	0,00

	6	99,00	84,00	60,00	17,00	9,06	4,48
--	---	-------	-------	-------	-------	------	------

Πίνακας 13 :Υπολογισμός % ποσοστού μείωσης του εμβαδού του ελλείμματος.

ΗΜΕΡΑ ΟΜΑΔΑ/ΑΡΙΘΜΟΣ ΜΥΟΣ		ΗΜΕΡΑ 1	ΗΜΕΡΑ 4	ΗΜΕΡΑ 7	ΗΜΕΡΑ 10	ΗΜΕΡΑ 14	ΗΜΕΡΑ 16
ΜΑΡΤΥΡΕΣ + ΒΑΣΗ ΑΛΟΙΦΗΣ	1	0	10,52	31,28	86,64	91,81	93,96
	2	0	8,26	31,75	87,62	93,48	94,54
	3	0	31,22	48,76	85,18	89,94	93,74
	4	0	18,60	26,21	66,19	79,32	93,09
	5	0	5,43	28,82	64,20	82,41	86,44
	6	0	20,71	35,46	81,00	83,13	96,50
COB 1% w/w	1	0	15,52	24,02	59,87	91,60	93,74
	2	0	3,75	13,75	73,75	92,84	96,92
	3	0	10,87	28,26	71,74	82,35	93,06
	4	0	6,41	13,22	80,77	89,78	94,55
	5	0	10,21	28,10	76,50	89,95	92,42
COB 2% w/w	1	0	28,38	44,04	80,82	91,14	97,51
	2	0	11,12	5,48	71,14	92,56	95,91
	3	0	27,92	42,05	74,00	93,73	96,11
	4	0	18,36	32,07	76,84	91,79	94,46
	5	0	26,34	44,11	83,20	89,55	97,35
	6	0	10,22	22,44	76,82	82,02	96,06
COB 5% w/w	1	0	5,07	31,98	68,07	92,56	97,83
	2	0	34,13	42,71	79,12	95,80	98,44
	3	0	33,64	52,66	80,56	93,46	100,00
	4	0	8,48	23,56	73,68	79,07	95,46
	5	0	33,13	53,17	86,42	95,79	100,00
	6	0	6,74	30,24	82,51	92,91	100,00
ΕΡΑ 0.2% w/w	1	0	29,22	67,72	90,56	96,67	100,00
	2	0	25,00	47,10	80,84	93,05	100,00
	3	0	5,25	14,38	84,69	95,94	99,91
	4	0	22,12	37,17	82,00	94,01	100,00
	5	0	5,64	23,46	78,23	95,68	100,00
	6	0	15,15	39,39	82,83	90,85	95,47

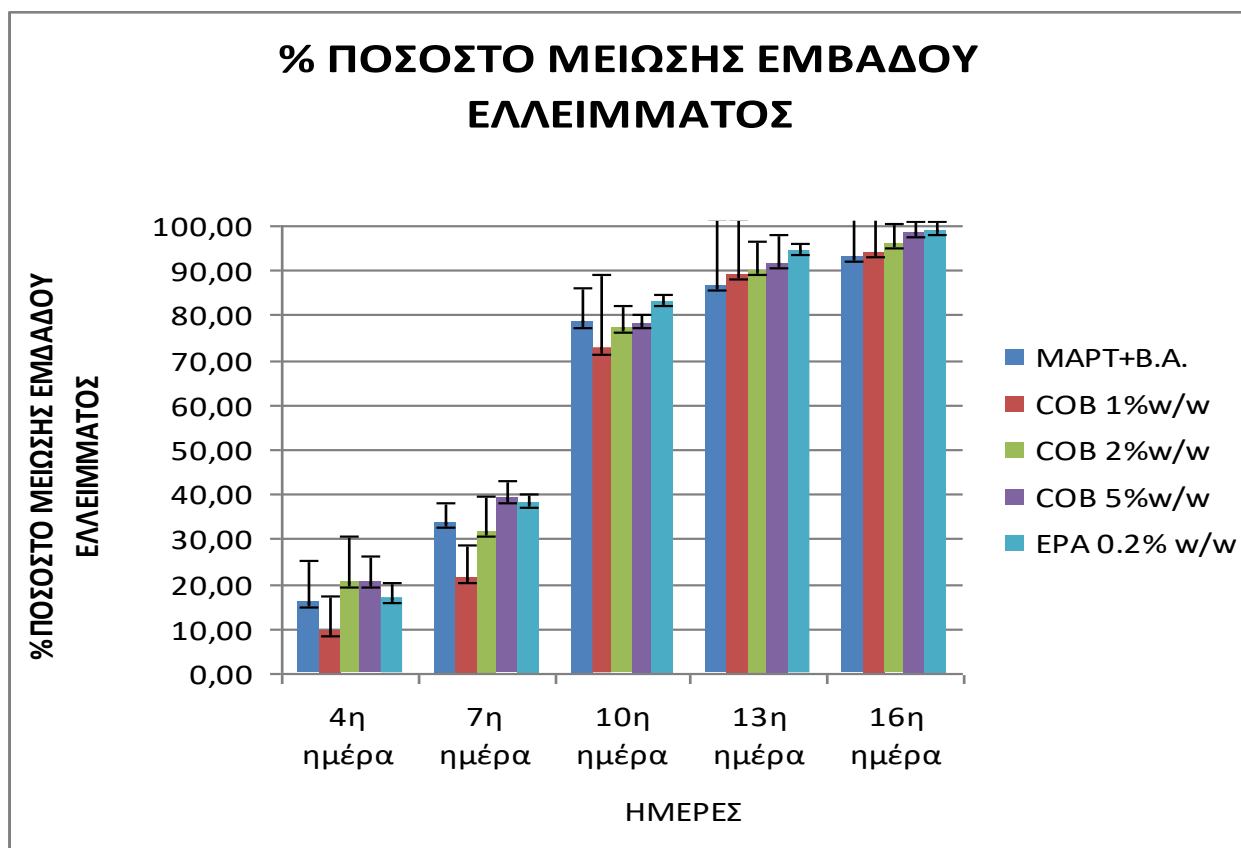
Στον πίνακα 14 υπολογίστηκε ο μέσος όρος και η τυπική απόκλιση για το % ποσοστό μείωσης του εμβαδού του ελλείμματος με Microsoft Office Excel 2010.

Πίνακας 14: Υπολογισμός στατιστικών παραμέτρων

ΟΜΑΔΑ	ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΣ	ΗΜΕΡΑ 1	ΗΜΕΡΑ 4	ΗΜΕΡΑ 7	ΗΜΕΡΑ 10	ΗΜΕΡΑ 13	ΗΜΕΡΑ 16

ΜΑΡΤΥΡΕΣ + ΒΑΣΗ ΑΛΟΙΦΗΣ	Μέσος Όρος	0	15,79	33,71	78,47	86,68	93,04
	Τυπική Απόκλιση	0	9,61	7,99	10,55	5,80	3,44
COB 1% w/w	Μέσος Όρος	0	9,35	21,47	72,53	89,30	94,14
	Τυπική Απόκλιση	0	4,50	7,49	7,84	4,09	1,74
COB 2% w/w	Μέσος Όρος	0	20,39	31,70	77,14	90,13	96,23
	Τυπική Απόκλιση	0	7,50	16,46	4,90	1,56	1,24
COB 5% w/w	Μέσος Όρος	0	20,20	39,05	78,39	91,60	98,62
	Τυπική Απόκλιση	0	14,76	12,37	6,56	6,30	1,81
EPA 0.2% w/w	Μέσος Όρος	0	17,06	38,20	83,19	94,37	99,23
	Τυπική Απόκλιση	0	10,10	18,64	4,20	2,18	1,84

Από τον υπολογισμό των στατιστικών παραμέτρων για το % ποσοστό μείωσης του εμβαδού του ελλείμματος παρατηρήθηκε ότι οι ομάδες που έλαβαν το σκεύασμα με το κλάσμα COB σε ποσοστό 5% και το μορφοποιημένο σκεύασμα με το πολυακόρεστο λιπαρό οξύ EPA σε ποσοστό 0,2% ,είχαν τα καλύτερα αποτελέσματα.



Γράφημα 6. Μέσος όρος κανονικοποιημένων ποσοστών μείωσης εμβαδού ελλείμματος ανάλογα με τις μέρες που έγιναν οι μετρήσεις.






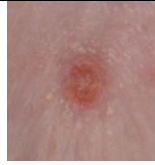












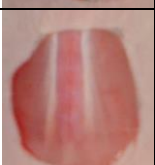


























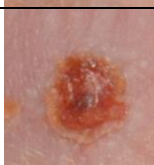





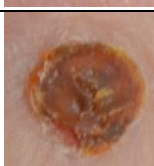


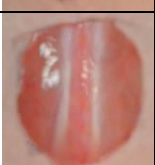











Ο έλεγχος στατιστικής σημαντικότητας έγινε με one-way anova, με $p < 0,05$.













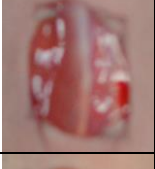






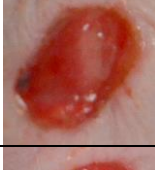





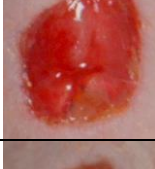
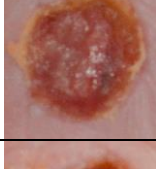

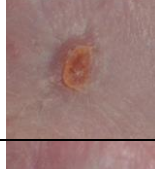

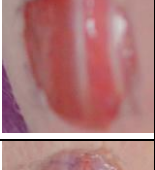












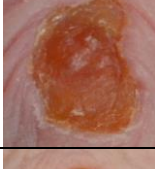










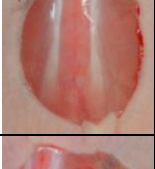
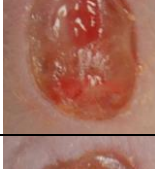
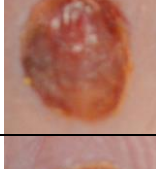
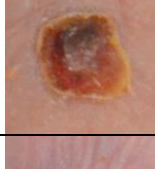


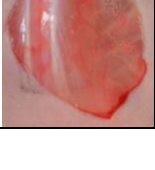





ΦΩΤΟΓΡΑΦΙΚΗ ΤΕΚΜΗΡΙΩΣΗ

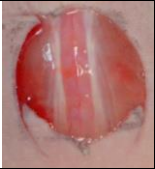





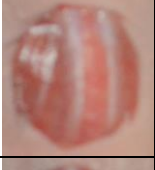












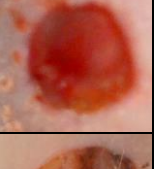
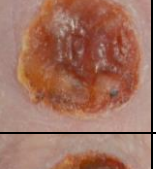



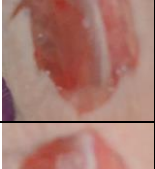



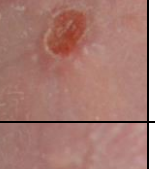

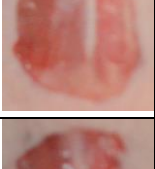

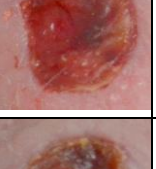



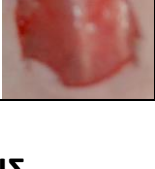





Από την προσεκτική μελέτη των φωτογραφιών επιβεβαιώθηκαν τα συμπεράσματα από τις μετρήσεις του εμβαδού του ελλείμματος. Συγκεκριμένα, οι ομάδες που έλαβαν τα σκευάσματα με το κλάσμα COB σε τρεις διαφορετικές περιεκτικότητες, όπως και η ομάδα που έλαβε το μορφοποιημένο σκεύασμα ΕΡΑ είχαν την καλύτερη πορεία επούλωσης. Από αυτές, την βέλτιστη εικόνα παρουσίασε η ομάδα που έλαβε το σκεύασμα με το κλάσμα COB σε περιεκτικότητα 5%. Οι μύες της ομάδας των μαρτύρων είχαν την χειρότερη εικόνα.

Αξιοσημείωτη είναι η μείωση του εμβαδού του ελλείμματος από την 7^η στη 10^η ημέρα, στις ομάδες που έλαβαν το σκεύασμα με το κλάσμα COB σε περιεκτικότητα 2%, 5% και η ομάδα που έλαβε το μορφοποιημένο σκεύασμα ΕΡΑ σε περιεκτικότητα 0,2%.

ΗΜΕΡΑ ΟΜΑΔΑ/ΑΡΙΘΜΟΣ ΜΥΟΣ	→	ΗΜΕΡΑ 1	ΗΜΕΡΑ 4	ΗΜΕΡΑ 7	ΗΜΕΡΑ 10	ΗΜΕΡΑ 13	ΗΜΕΡΑ 16

ΜΑΡΤΥΡΕΣ + ΒΑΣΗ ΑΛΟΙΦΗΣ	1						
	2						
	3						
	4						
	5						
	6						
COB 1% w/w	1						
	2						
	3						
	4						
	5						

COB 2% w/w	1						
	2						
	3						
	4						
	5						
	6						
COB 5% w/w	1						
	2						
	3						
	4						
	5						

	6						
EPA 0.2% w/w	1						
	2						
	3						
	4						
	5						
	6						

ΒΙΟΦΥΣΙΚΕΣ ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ

Από την στατιστική επεξεργασία των μετρήσεων παρατηρήθηκε ότι οι τιμές της άδηλης απώλειας ύδατος, της ενυδάτωσης και της αδρής ελαστικότητας, κυμάνθηκαν στα ίδια επίπεδα σε όλες τις ομάδες, τόσο στην αρχή του πειράματος όσο και στο τέλος. Μεγάλες τιμές άδηλης απώλειας ύδατος την τελευταία ημέρα του πειράματος παρουσίασαν οι ομάδες που έλαβαν το σκεύασμα με το κλάσμα COB σε περιεκτικότητα 1% και 2%, όπως και η ομάδα που έλαβε το μορφοποιημένο σκεύασμα EPA σε περιεκτικότητα 0,2%. Η ομάδα που έλαβε το σκεύασμα με το κλάσμα COB σε περιεκτικότητα 5% μαζί με εκείνη των μαρτύρων, εμφάνισαν την χαμηλότερη άδηλη απώλεια ύδατος.

Στην ενυδάτωση οι διαφορές την τελευταία ημέρα δεν ήταν τόσο μεγάλες ανάμεσα στις ομάδες που έλαβαν τα COB 1%, COB 5% και EPA 0,2%. Σε αυτές τις τρεις ομάδες υπήρξε αύξηση της ενυδάτωσης την τελευταία ημέρα. Αντίθετα, στην ομάδα των μαρτύρων και στην ομάδα που έλαβε το σκεύασμα με το κλάσμα COB σε περιεκτικότητα 2% η ενυδάτωση παρέμεινε σχεδόν σταθερή. Όσον αφορά την αδρή ελαστικότητα, παρατηρήθηκε ότι όλες οι ομάδες παρουσίασαν καλύτερη ελαστικότητα την τελευταία

μέρα της θεραπείας σε σχέση με την πρώτη ημέρα, με την μεγαλύτερη αύξηση να παρουσιάζεται στην ομάδα με το EPA 0,2%.

Πίνακας 15: Βιοφυσικές μετρήσεις την 0η και 16η ημέρα

ΟΜΑΔΕΣ	ΜΥΕΣ	Άδηλη απώλεια νερού (TEWL) ($\text{g}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}$)		ΕΝΥΔΑΤΩΣΗ (αυθαίρετες μονάδες)		ΑΔΡΗ ΕΛΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑ R2 (αυθαίρετες μονάδες)	
		ΑΡΧΗ	ΤΕΛΟΣ	ΑΡΧΗ	ΤΕΛΟΣ	ΑΡΧΗ	ΤΕΛΟΣ
ΜΑΡΤΥΡΕΣ + ΒΑΣΗ ΑΛΟΙΦΗΣ	1	37,30	43,70	67,60	73,33	0,18	0,36
	2	36,70	37,40	75,60	68,33	0,18	0,16
	3	41,80	78,30	70,60	70,67	0,18	0,35
	4	39,50	66,30	75,00	68,00	0,12	0,27
	5	37,60	78,80	66,30	62,67	0,19	0,41
	6	59,50	84,20	57,30	70,00	0,18	0,21
	7	36,90	102,90	67,30	78,00	0,15	0,17
	8	28,20	104,80	64,00	79,67	0,13	0,15
COB 1% w/w	1	35,90	85,40	59,30	80,67	0,18	0,21
	2	37,50	113,80	67,60	82,00	0,19	0,33
	3	38,80	61,00	64,00	84,00	0,20	0,15

	4	40,70	83,70	63,00	60,67	0,20	0,16
	5	38,20	66,80	65,60	85,00	0,16	0,34
	6	22,40	96,00	71,60	64,00	0,19	0,16
	7	32,80	105,60	69,30	73,00	0,17	0,14
	8	41,40	70,30	72,00	73,33	0,20	0,44
COB 2% w/w	1	27,40	133,60	70,60	69,00	0,17	0,24
	2	46,40	63,80	52,60	82,00	0,19	0,46
	3	45,20	63,00	77,00	64,00	0,19	0,53
	4	36,50	81,90	63,00	90,33	0,15	0,14
	5	41,40	99,60	62,30	63,33	0,17	0,27
	6	46,80	73,20	64,00	76,67	0,19	0,17
	7	46,10	91,30	75,00	67,00	0,18	0,12
	8	34,60	87,20	69,30	89,33	0,19	0,28
	1	32,00	97,40	70,30	84,00	0,18	0,14
	2	43,70	145,10	68,60	86,33	0,11	0,53

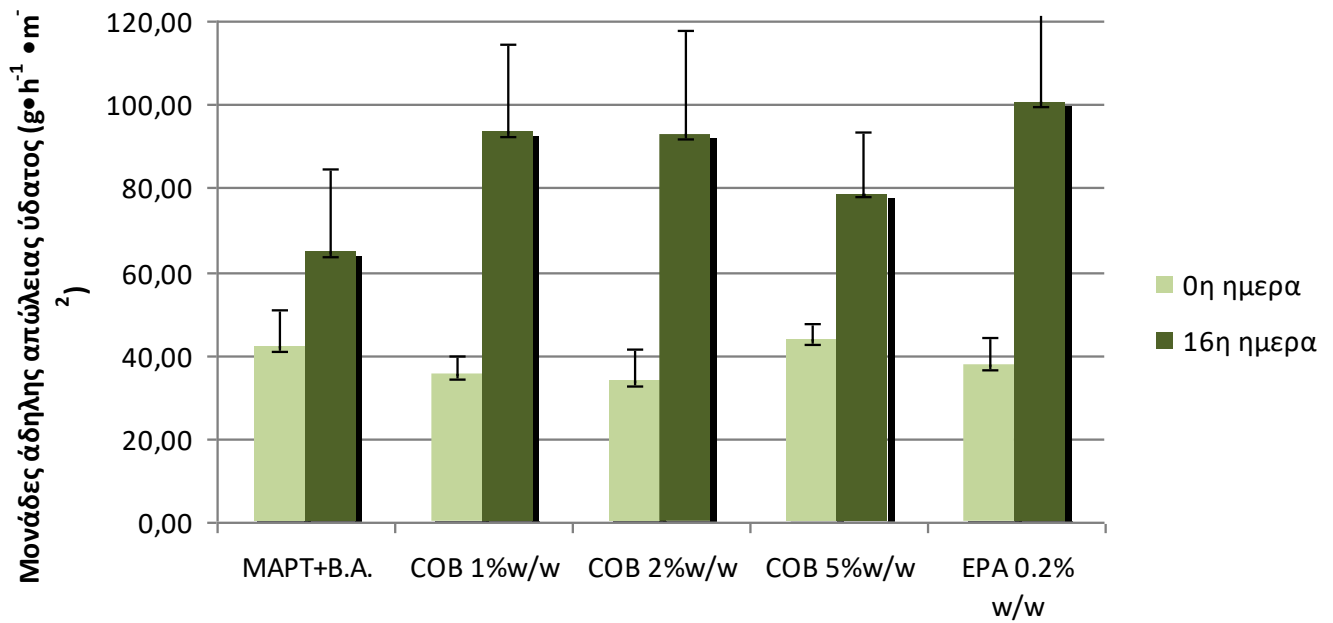
COB 5% w/w	3	29,20	70,70	71,30	78,33	0,20	0,30
	4	44,50	95,70	58,30	55,00	0,12	0,39
	5	42,00	108,70	69,30	84,33	0,17	0,29
	6	37,30	43,70	67,60	73,33	0,18	0,36
	7	36,70	37,40	75,60	68,33	0,18	0,16
	8	41,80	78,30	70,60	70,67	0,18	0,35
	EPA 0.2% w/w	1	39,50	66,30	75,00	68,00	0,12
2		37,60	78,80	66,30	62,67	0,19	0,41
3		59,50	84,20	57,30	70,00	0,18	0,21
4		36,90	102,90	67,30	78,00	0,15	0,17
5		28,20	104,80	64,00	79,67	0,13	0,15
6		35,90	85,40	59,30	80,67	0,18	0,21
7		37,50	113,80	67,60	82,00	0,19	0,33

Πίνακας 16: Υπολογισμός στατιστικών παραμέτρων

ΟΜΑΔΕΣ	ΜΥΕΣ	Άδηλη απώλεια νερού (TEWL) ($g \cdot h^{-1} \cdot m^{-2}$)	ΕΝΥΔΑΤΩΣΗ (αυθαίρετες μονάδες)	ΑΔΡΗ ΕΛΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑ R2 (αυθαίρετες)
---------------	-------------	--	---------------------------------------	--

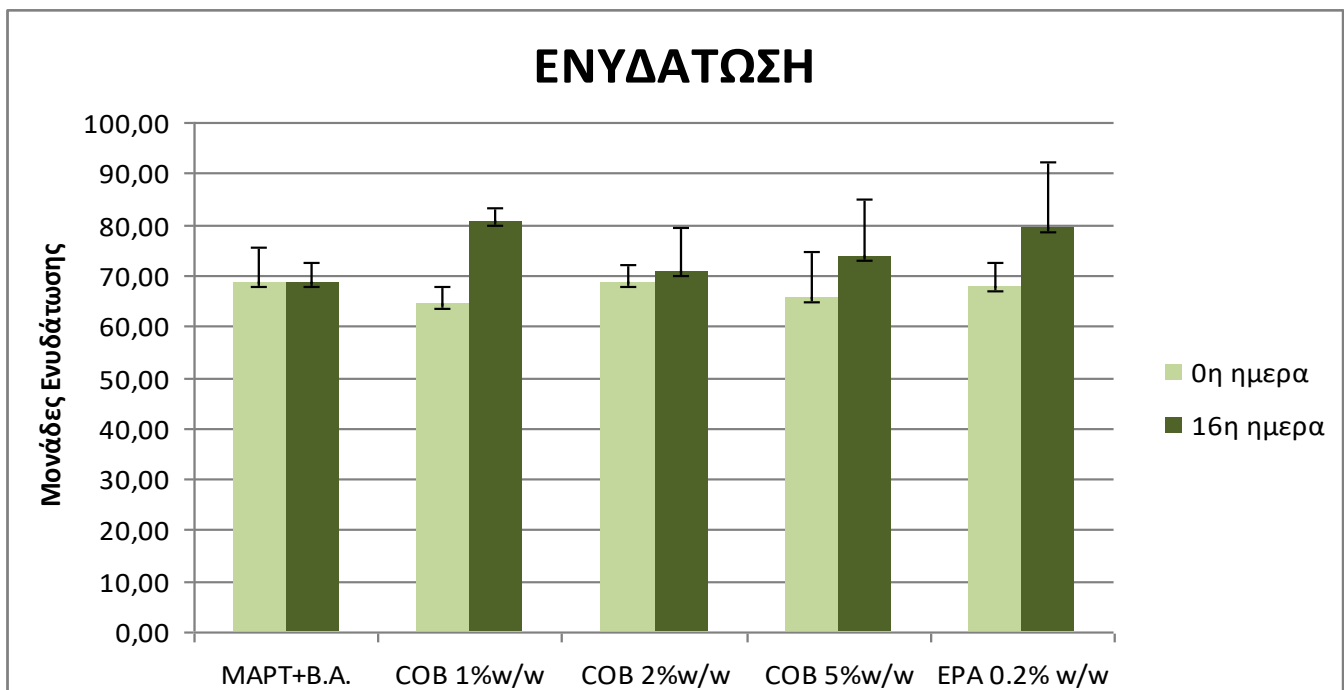
						μονάδες)	
		ΑΡΧΗ	ΤΕΛΟΣ	ΑΡΧΗ	ΤΕΛΟΣ	ΑΡΧΗ	ΤΕΛΟΣ
ΜΑΡΤΥΡΕΣ + ΒΑΣΗ ΑΛΟΙΦΗΣ	Μέσος όρος	42,07	40,03	68,73	61,75	0,17	0,18
	Τυπική απόκλιση	8,74	14,03	6,75	4,52	0,12	0,17
COB 1% w/w	Μέσος όρος	35,46	43,39	64,44	62,04	0,17	0,39
	Τυπική απόκλιση	4,19	11,56	3,35	9,68	0,10	0,31
COB 2% w/w	Μέσος όρος	33,82	48,53	68,68	70,63	0,18	0,38
	Τυπική απόκλιση	7,70	17,34	3,62	17,13	0,07	0,23
COB 5% w/w	Μέσος όρος	43,73	50,23	65,65	69,76	0,18	0,35
	Τυπική απόκλιση	4,05	16,92	9,03	10,03	0,17	0,25
ΕΡΑ 0.2% w/w	Μέσος όρος	37,67	73,07	67,85	61,67	0,16	0,50
	Τυπική απόκλιση	6,56	15,86	4,77	14,18	0,39	0,27

Άδηλη απώλεια ύδατος-TEWL



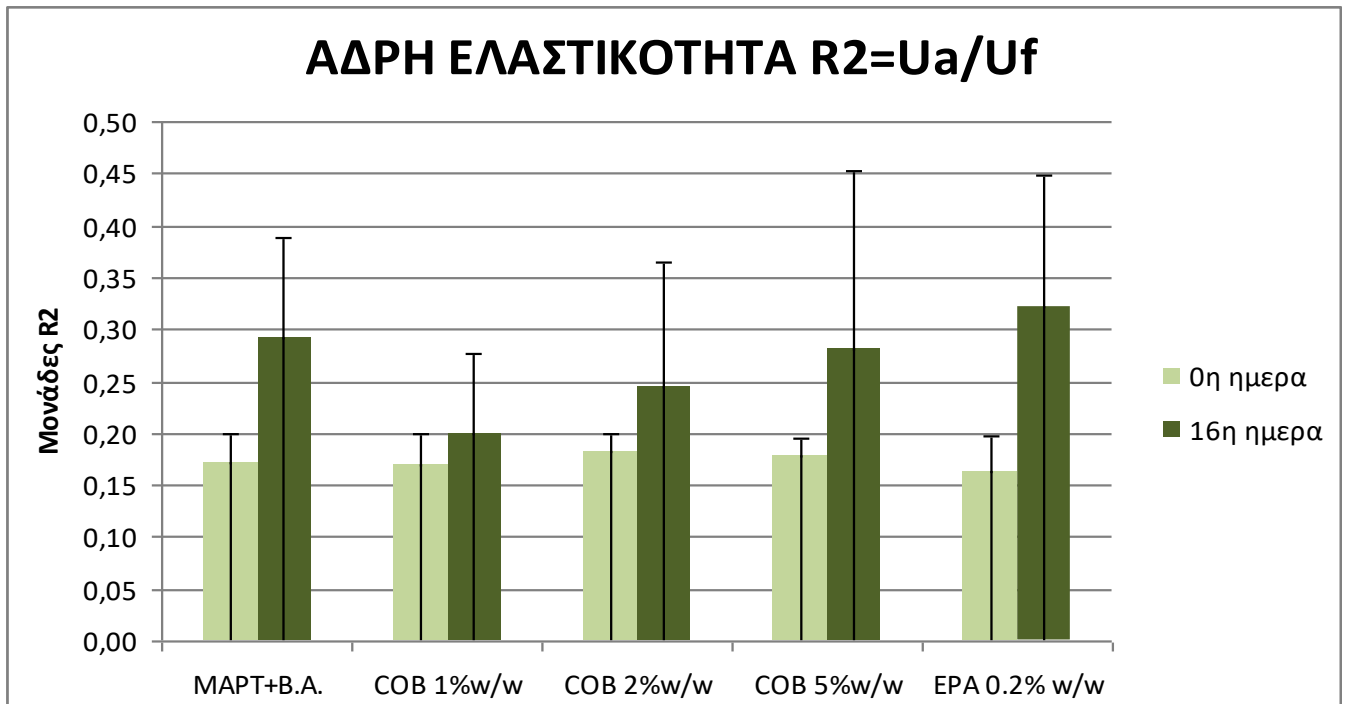
Γράφημα 7: Μέσος όρος άδηλης απώλειας ύδατος την 0η και 16η ημέρα

ΕΝΥΔΑΤΩΣΗ



Γράφημα 8: Μέσος όρος ενυδάτωσης την 0η και 16η ημέρα

ΑΔΡΗ ΕΛΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑ $R2=Ua/Uf$



Γράφημα 9. Μέσος όρος αδρής ελαστικότητας την 0η και 16η ημέρα

ΜΕΤΡΗΣΗ ΠΑΧΟΥΣ ΔΕΡΜΑΤΟΣ

Από την στατιστική επεξεργασία των μετρήσεων του πάχους παρατηρήθηκε έντονη πάχυνση της επιδερμίδας σε όλες τις ομάδες. Η μεγαλύτερη πάχυνση δέρματος παρατηρήθηκε στους μάρτυρες που έλαβαν μόνο την βάση της αλοιφής.

Πίνακας 17: Μέτρηση πάχους δέρματος την 0η και 16η ημέρα

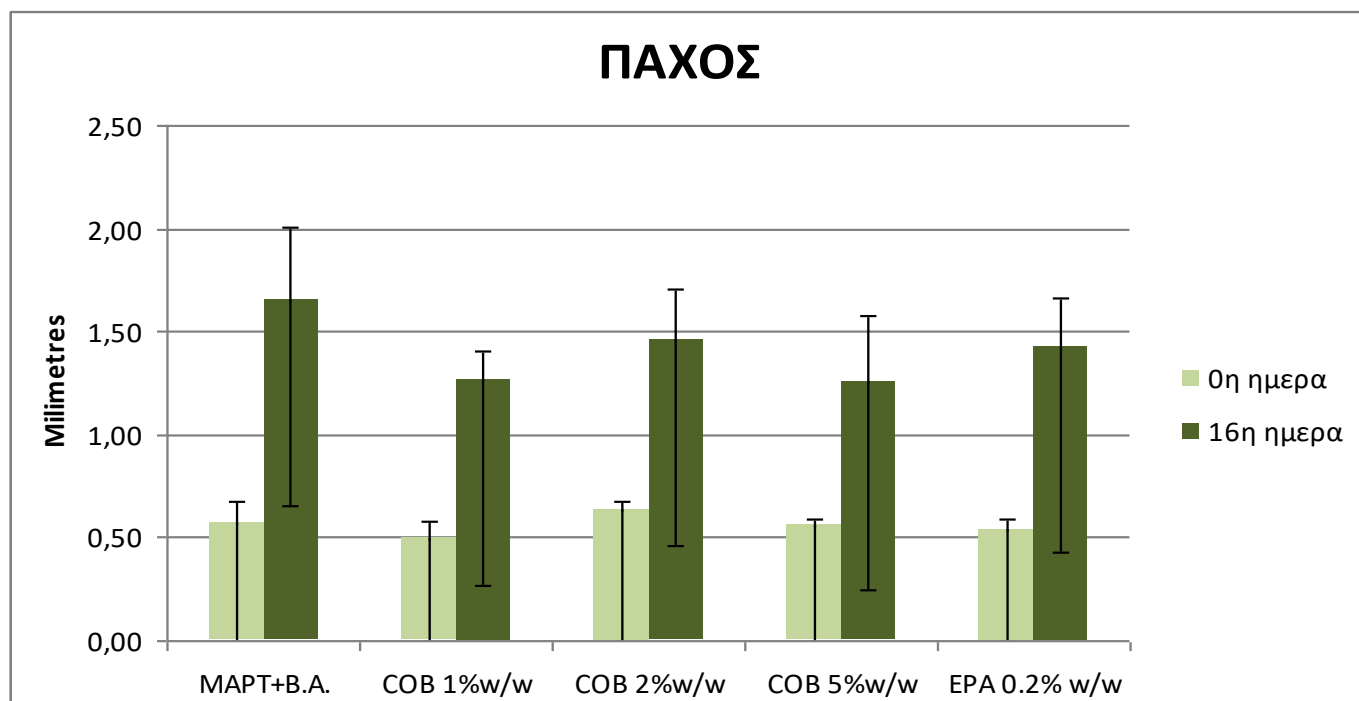
ΟΜΑΔΕΣ	ΜΥΕΣ	ΠΑΧΟΣ	
		ΑΡΧΗ	ΤΕΛΟΣ
ΜΑΡΤΥΡΕΣ + ΒΑΣΗ ΑΛΟΙΦΗΣ	1	0,53	1,55
	2	0,75	1,28
	3	0,62	1,24
	4	0,51	2,01
	5	0,44	1,75
	6	0,58	2,08
COB 1% w/w	1	0,52	1,33
	2	0,40	1,12
	3	0,50	1,47
	4	0,45	1,13
	5	0,62	1,27

COB 2% w/w	1	0,60	1,17
	2	0,63	1,25
	3	0,68	1,77
	4	0,67	1,67
	5	0,66	1,33
	6	0,57	1,56
COB 5% w/w	1	0,57	1,23
	2	0,55	1,35
	3	0,58	1,22
	4	0,52	1,75
	5	0,58	0,75
	6	0,57	1,21
ΕΡΑ 0.2% w/w	1	0,54	1,15
	2	0,57	1,80
	3	0,57	1,30
	4	0,45	1,61
	5	0,60	1,40
	6	0,50	1,32

Πίνακας 18. Υπολογισμός στατιστικών παραμέτρων

ΟΜΑΔΕΣ	ΜΥΕΣ	ΠΑΧΟΣ	
		ΑΡΧΗ	ΤΕΛΟΣ
ΜΑΡΤΥΡΕΣ + ΒΑΣΗ ΑΛΟΙΦΗΣ	Μέσος όρος	0,57	1,65
	Τυπική απόκλιση	0,11	0,36
COB 1% w/w	Μέσος όρος	0,50	1,26
	Τυπική απόκλιση	0,08	0,15
COB 2% w/w	Μέσος όρος	0,64	1,46
	Τυπική απόκλιση	0,04	0,24
COB 5% w/w	Μέσος όρος	0,56	1,25

	Τυπική απόκλιση	0,02	0,32
ΕΡΑ 0.2% w/w	Μέσος όρος	0,54	1,43
	Τυπική απόκλιση	0,05	0,24



Γράφημα 10: Μέσος όρος πάχους δέρματος την 0η και 16η ημέρα

ΙΣΤΟΠΑΘΟΛΟΓΙΚΗ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ

Μετά την ευθανασία των μυών με αυχενική εξάρθρωση την τελευταία ημέρα του πειράματος, λήφθηκαν βιοψίες από το δέρμα μυών κάθε ομάδας, στην περιοχή όπου είχε γίνει το έλλειμμα. Από αυτά, ένα από κάθε ομάδα, το πιο αντιπροσωπευτικό, δόθηκε για ιστοπαθολογική αξιολόγηση από την οποία προέκυψαν τα εξής:

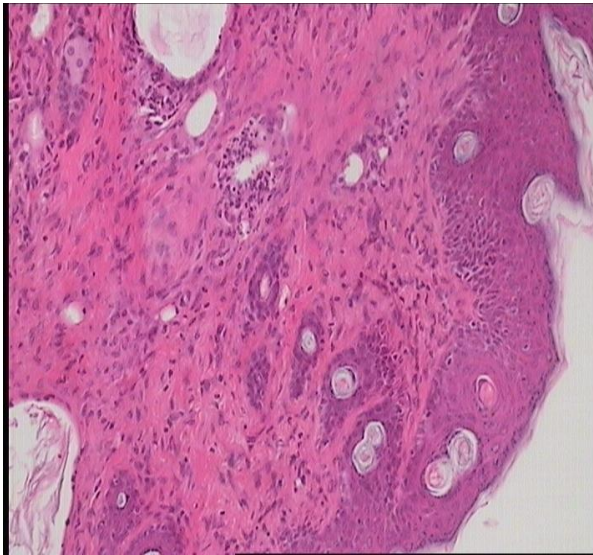
- ❖ **ΜΑΡΤΥΡΕΣ+ΒΑΣΗ ΑΛΟΙΦΗΣ:** Παρατηρήθηκε έντονη φλεγμονή, με πυκνές φλεγμονώδεις διηθήσεις, παρουσία ουλής και εξέλκωση της επιδερμίδας.
- ❖ **COB 1%w/w:** Παρατηρήθηκε πολύ έντονη φλεγμονή, παρουσία πολυμορφοπύρηνων λευκοκυττάρων, πλασματοκυττάρων και ιστοκυττάρων.
- ❖ **COB 2% w/w:** Μέτρια φλεγμονή, υπερπλασία, εμφανή σημάδια επούλωσης και ουλή περιορισμένης έκτασης.
- ❖ **COB 5% w/w:** Ήπιες φλεγμονώδεις διηθήσεις, μέτρια πυκνές εστιακά, ανάπλαση ιστού.
- ❖ **ΕΡΑ 0,2%:** Μέτρια φλεγμονή, απουσία ουλής.

ΟΜΑΔΕΣ**ΦΛΕΓΜΟΝΗ**

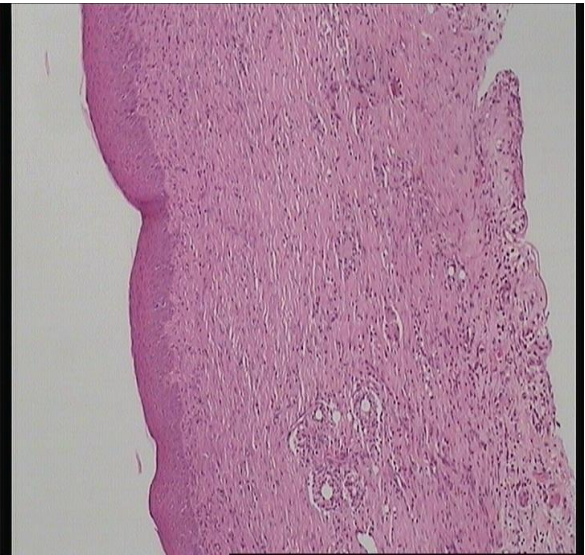
ΜΑΡΤΥΡΕΣ+ΒΑΣΗ ΑΛΟΙΦΗΣ	++++
COB 1%	++++
COB 2%	+++
COB 5%	+
ΕΡΑ 0,2%	++

Όπου:

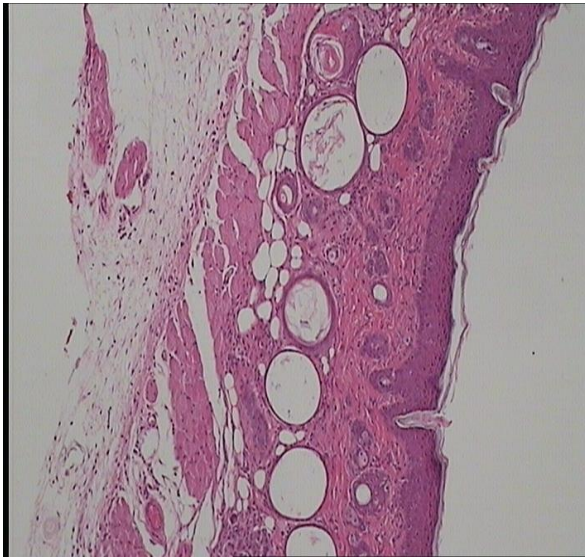
- ++++ έντονη φλεγμονή
- +++ πολύ/μέτρια φλεγμονή
- ++ μέτρια/λίγη φλεγμονή
- + ελάχιστη φλεγμονή
- - καθόλου φλεγμονή



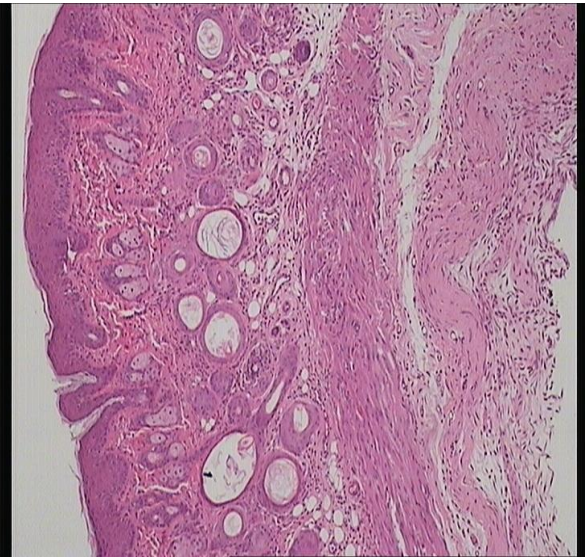
Δείγμα από την ομάδα με την βάση της αλοϊφής
Μεγέθυνση X100



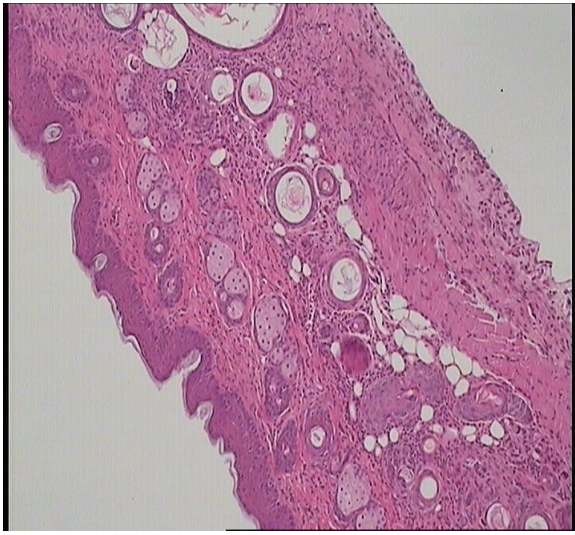
Δείγμα από την ομάδα COB1% w/w
Μεγέθυνση X100



Δείγμα από την ομάδα COB2% w/w
Μεγέθυνση X100



Δείγμα από την ομάδα COB 5% w/w
Μεγέθυνση X100



Δείγμα από την ομάδα EPA 0,2%
Μεγέθυνση X100

Με βάση την ιστοπαθολογική αξιολόγηση η ομάδα με το σκεύασμα COB 5% είχε την καλύτερη εικόνα, με μια ήπια φλεγμονή και σημάδια ανάπτυξης. Η ομάδα που έλαβε το σκεύασμα με το κλάσμα COB 1%, παρόλο που σύμφωνα με τις μετρήσεις του εμβαδού του ελλείμματος είχε καλή εικόνα, εμφάνισε στοιχεία πολύ έντονης φλεγμονής. Η ομάδα που έλαβε το σκεύασμα COB 2% παρουσίασε μέτρια φλεγμονή όπως και η ομάδα με το σκεύασμα του EPA 0,2%, με μια ελαφρώς καλύτερη εικόνα. Οι μάρτυρες σε αυτό το πείραμα εμφάνισαν πολύ έντονη φλεγμονή, με διατεταγμένα αγγεία και εξέλκωση της επιδερμίδας.

Συμπερασματικά, από όλα τα στοιχεία και κυρίως από την ιστοπαθολογική αξιολόγηση προέκυψε ότι το σκεύασμα με το κλάσμα COB σε περιεκτικότητα 5%, φάνηκε να έχει όντως καλή επουλωτική δράση.

Επομένως, η αύξηση της περιεκτικότητας στο κλάσμα COB 5% ,σε σχέση με το COB 2%, φαίνεται πως βοήθησε ακόμα παραπάνω στην αξιολόγηση του συγκεκριμένου κλάσματος από το ισόποδο *Ceratothoa oestroides*, δίνοντας ενθαρρυντικά αποτελέσματα.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

- Το διχλωρομεθανικό κλάσμα (COB) που παραλήφθηκε μετά από επιμερισμό του ολικού οργανικού εκχυλίσματος του ισόποδου *C.oestroides*, είχε δείξει σε προηγούμενη μελέτη καλή επουλωτική δράση σε σύγκριση με άλλα σκευάσματα άλλα σκευάσματα, ακόμα και με εμπορικά διαθέσιμα προϊόντα. Στην παρούσα εργασία, επιβεβαιώθηκε η επουλωτική δράση του κλάσματος σε φυσιολογικούς θηλυκούς άτριχους μύες SKH-hr1.
- Συγκεκριμένα, υπήρξε αξιοσημείωτη μείωση του εμβαδού του ελλείμματος, στις ομάδες που έλαβαν το συγκεκριμένο κλάσμα, ενώ από την ιστοπαθολογική αξιολόγηση, διαπιστώθηκε μέτρια έως ελάχιστη παρουσία φλεγμονωδών στοιχείων, με ενδείξεις ινοβλαστικής αντίδρασης.
- Η αύξηση της περιεκτικότητας του κλάσματος COB στο δεύτερο πείραμα, φάνηκε να έχει θετική επίδραση, στην επουλωτική διαδικασία, δίνοντας ως τελικό αποτέλεσμα ήπια ή πολύ μικρή φλεγμονή, με ταυτόχρονη ανάπλαση του ιστού.
- Η ομάδα που έλαβε το μορφοποιημένο σκεύασμα που περιείχε το EPA, συστατικό του κλάσματος COB, παρουσίασε μέτρια φλεγμονή, αλλά και αξιόλογη μείωση του εμβαδού ελλείμματος.
- Η ηλικία των μυών φάνηκε να παίζει σημαντικό ρόλο στην πορεία της επούλωσης, με τους νεότερους μύες να επουλώνονται πιο γρήγορα από τους μεγαλύτερους. Συγκεκριμένα στο πρώτο πείραμα, όπου υπήρχαν μύες ηλικίας 4 μηνών, η επούλωση άρχισε να γίνεται εμφανής από την 10^η ημέρα, ενώ στο δεύτερο πείραμα, όπου συμμετείχαν μύες ηλικίας περίπου 2 μηνών, η επούλωση ξεκίνησε από την 7^η ημέρα του πειράματος.
- Η ανάγκη για τακτικό και λεπτομερή χειρουργικό καθαρισμό του τραύματος κρίθηκε ζωτικής σημασίας για την εξέλιξη της επουλωτικής διαδικασίας. Απαραίτητη ήταν η απομάκρυνση του νεκρωτικού ιστού και ο σωστός καθαρισμός, ανά τακτά χρονικά διαστήματα, ώστε να αποφευχθεί η επιβράδυνση της επουλωτικής διαδικασίας.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- ❖ Ackerknecht E.H. A Short History of Medicine. *Baltimore, MD: John Hopkins University Press*. **1982**.
- ❖ Aggarwal B.B., Sundaram C., Prasad S., Kannappan R. Tocotrienols, the vitamin E of the 21st century: Its potential against cancer and other chronic diseases. *Biochem. Pharmacol.* **2010**, 80:1613–1631.
- ❖ Ahn C., Mulligan P., Salcido R.S. Smoking—the bane of wound healing: biomedical interventions and social influences. *Adv Skin Wound Care* . **2008**, 21:227-238.
- ❖ Alves A., Pinho E.D., Neves N.M., Sousa R.A., Reis R.L. Processing ulvan into 2D structures: Cross-linked ulvan membranes as new biomaterials for drug delivery applications. *International Journal of Pharmaceutics, Int. J. Pharm.* **2012**, 426,76–81.
- ❖ Ammon H.P., Wahl M.A. Pharmacology of Curcuma longa. *Planta Med.* **1991**, 57:1–7.
- ❖ Anand S., Kamath S., Chuang L., Kasapis S., Lopata A.L. *European Food Research and Technology*. **2013**, 236:873–882.
- ❖ Anaya D.A., Dellinger E.P. The obese surgical patient: a susceptible host for infection. *Surg Infect (Larchmt)*. **2006**, 7:473-480.
- ❖ Arnold M, Barbul A . Nutrition and wound healing. *Plast Reconstr Surg.* **2006**, 117 42S-58S.
- ❖ Badiu D.L., Balu A.M., Barbes L., Luque R., Nita R, Radu M, Tanase E., Rosoiu N. Physico-chemical characterisation of lipids from *Mytilus galloprovincialis* (L.) and *Rapana venosa* and their healing properties on skin burns. *Lipids.* **2008** , 43:829–841.
- ❖ Badiu D.L., Luque R., Dumitrescu E., Craciun A.,Dinca D. Amino acids from *Mytilus galloprovincialis* (L.) and *Rapana venosa* molluscs accelerate skin wounds healing via enhancement of dermal and epidermal neoformation. *Protein J.* **2010**, 29:81–92.
- ❖ Bankova V. Recent trends and important developments in propolis research. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine.* **2005**, 2(1):29–32.
- ❖ Bishop A . Role of oxygen in wound healing. *J Wound Care.* **2008**, 17:399-402.
- ❖ Biswas T.K., Mukherjee B. Plant medicines of Indian origin for wound healing activity: A review. *Int. J. Low. Extrem. Wounds.* **2003**, 2:25–39.
- ❖ Brekke J.H., Thacker K., Guelcher S. An Introduction to Biomaterials:Hyaluronan as a Biomaterial. *CRC Press, Boca Raton, FL.* **2005**, 219–240.
- ❖ Brem H, Tomic-Canic M .Cellular and molecular basis of wound healing in diabetes. *J Clin Invest.* **2007**, 117:1219-1222.

- ❖ Boateng J.S., Pawar H.V., Tetteh J. Polyox and carrageenan based composite film dressing containing anti-microbial and anti-inflammatory drugs for effective wound healing. *International Journal of Pharmaceutics*. **2013**, 441(1-2), 181–191.
- ❖ Bosio K., Avanzini C., D'avolio A., Ozino O., Savoia D. In vitro activity of propolis against *Streptococcus pyogenes*. *Letter in Applied Microbiology*. **2000**, 31(2), 174–177.
- ❖ Boyapati L., Wang HL. The role of stress in periodontal disease and wound healing. *Periodontol 2000*. **2007**, 44:195-210.
- ❖ Bowden L.G., Byrne H.M., Maini PK, Moulton D.E. A morphoelastic model for dermal wound closure. *Biomech Model Mechanobiol*. **2016**, 15(3):663-81.
- ❖ Buba F., Gidado A., Shugaba A. Analysis of biochemical composition of honey samples from North-East Nigeria. *Anal. Biochem*. **2013**, 2:1–7.
- ❖ Burdock G. A. Review of the biological properties and toxicity of bee propolis. *Food and Chemical Toxicology*. **1998**, 36(4):347–363.
- ❖ Calder P. Polyunsaturated fatty acids and inflammatory processes: pouring oil in troubled waters or another fishy tale? *Nutr. Res*. **2001**, 21, 309–341.
- ❖ Calder P. n-3 polyunsaturated fatty acids, inflammation and inflammatory diseases. *Am. J. Clin. Nutr*. **2006**, 83:S1505–S1519.
- ❖ Campos A.C., Groth A.K., Branco A.B. Assessment and nutritional aspects of wound healing. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. **2008**, 11:281-288.
- ❖ Chan L.K., Withey S, Butler P.E. Smoking and wound healing problems in reduction mammoplasty: is the introduction of urine nicotine testing justified? *Ann Plast Surg*. **2006**, 56:111-115.
- ❖ Chandel R.S., Rastogi R.P. Triterpenoid saponins and sapogenins. *Phytochemistry*. **1980**, 19:1889–1908.
- ❖ Chantarawatit P., Sangvanich P., Banlunara W., Soontornvipart K., Thunyakitpisal P. Acemannan sponges stimulate alveolar bone, cementum and periodontal ligament regeneration in a canine class II furcation defect model. *J Periodontal Res*. **2013**, 49:164–178.
- ❖ Charfi-Cheikhrouha F., Zghidi W, Ould Yarba L, Trilles J.P. Le Cymothoidae (isopodes parasites de poissons) des côtes tunisiennes: écologie et indices parasitologiques. *Syst Parasitol*. **2000**, 46:143–150.
- ❖ Choudhry M.A., Chaudry IH. Alcohol intoxication and post-burn complications. *Front Biosci*. **2006**, 11:998-1005.
- ❖ Chikaraishi Y., Izuta H., Shimazawa M., Mishima S., Hara H. Angiostatic effects of Brazilian green propolis and its chemical constituents. *Mol. Nutr. Food Res*. **2010**, 54(4):566–575.

- ❖ de Mello V.D., Kolehmainen M, Schwab U, Mager U, Laaksonen D.E.,Pulkkinen L. et al. Effect of weight loss on cytokine messenger RNA expression in peripheral blood mononuclear cells of obese subjects with the metabolic syndrome. *Metabolism*. **2008**, 57:192-199.
- ❖ Dong Y-L, Fleming, Yan T.Z., Herndon D.N, Waymack J.P. Effect of ibuprofen on the inflammatory response to surgical wounds. *J Trauma* . **1993**, 35:340-343.
- ❖ Dvivedi S., Tiwari S.M., Sharma A. Effect of ibuprofen and diclofenac sodium on experimental wound healing. *Indian J Exp Biol*. **1997**, 35:1243-1245.
- ❖ Farrar G.E. Jr., Krosnick . A Wound healing. *Clin Ther*. **1991**, 13: 430–434.
- ❖ Ferraro V.,Cruz I.B., Jorge R.F.,Malcata F.X., Pintado M.E.,Castro P.M. Valorisation of food extracts from marine source focused on marine by- products. *FoodRes. Int*. **2010**, 43:2221–2233.
- ❖ Fontana L., Eagon J.C., Colonna M., Klein S . Impaired mononuclear cell immune function in extreme obesity is corrected by weight loss .*Rejuvenation Res*. **2007**, 10:41-46.
- ❖ "Foods for Healing Wounds | Organic Facts". *Organic Facts*. **2015**.
- ❖ Franz M.G., Steed D.L., Robson M.C. Optimizing healing of the acute wound by minimizing complications. *Curr Probl Surg*. **2007**, 44:691-763.
- ❖ Gentilello L.M., Cobean R.A., Walker A.P., Moore E.E., Wertz M.J., Dellinger E.P.Acute ethanol intoxication increases the risk of infection following penetrating abdominal trauma. *J Trauma*. **1993**, 34:669-674.
- ❖ Gilliver S.C., Ashworth J.J., Ashcroft G.S. The hormonal regulation of cutaneous wound healing. *Clin Dermatol*. **2007**, 25:56-62.
- ❖ Glaser R, Kiecolt-Glaser JK. Stress-induced immune dysfunction: implications for health. *Nat Rev Immunol* .**2005**, 5:243-251.
- ❖ Grace O.M., Simmonds M.S., Smith G.F., Wyk A.E. Therapeutic uses of *Aloe* L. (Asphodelaceae) in southern Africa. *J Ethnopharmacol*. **2008**, 119:604–614.
- ❖ Greco J.A. 3rd, Castaldo E.T., Nanney L.B., Wendel J.J., Summitt J.B., Kelly K.J. The effect of weight loss surgery and body mass index on wound complications after abdominal contouring operations. *Ann Plast Surg* . **2008**, 61:235-242.
- ❖ Greenhalgh D.G. Models of wound healing. *J Burn Care Rehabil*. **2005**, 26:293–305.
- ❖ Godbout JP, Glaser R. Stress-induced immune dysregulation: implications for wound healing, infectious disease and cancer. *J Neuroimmune Pharmacol*.**2006**, 1:421-427.
- ❖ Gogia P.P.Physiology of wound healing in clinical wound management. *Slack Incorporated*.**1995**, pp 8-12.
- ❖ Gosain A., DiPietro L.A. Aging and wound healing. *World J Surg*. **2004**, 28:321-326.
- ❖ Hamman J.H. Composition and applications of Aloe vera leaf gel. *Molecules*. **2008**, 13:1599–1616.

- ❖ Harbone J.B. *Phytochemical Methods: A Guide to Modern Techniques of Plants Analysis*. Fakenham Press Limited; New York, NY, USA. **1973**.
- ❖ Hardman M.J., Ashcroft G.S. Estrogen, not intrinsic aging, is the major regulator of delayed human wound healing in the elderly. *Genome Biol.* **2008**, 9:R80..
- ❖ Haryanto H., Urai T., Mukai K., Gontijo Filho P.P., Suriadi S., Sugama J., Nakatani T. Effectiveness of Indonesian honey on the acceleration of cutaneous wound healing: An experimental study in mice. *Wounds.* **2012**, 24:110–119.
- ❖ Hongbo Z., Maibach H.I. *Dermatotoxicology*, 6th edition. CRC Press LCC, USA. **2004**, 938-55.
- ❖ Horton T., Okamura B. Cymothoid isopod parasites in aquaculture: a review and case study of a Turkish sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and sea bream (*Sparus auratus*) farm. *Dis Aquat Org.* **2001**, 46:181–188.
- ❖ Hu X., Du Y., Tang Y., Wang Q., Feng T., Yang J., Kennedy J.F. Solubility and property of chitin in NaOH/urea aqueous solution. *Carbohydrate Polymers.* **2007**, 70: 451–458.
- ❖ Idris M., Singh B., Singh G. The use of Medicinal plants in wound healing. *Proc. Natl.* **1994**, 37–41.
- ❖ Jensen J.A, Goodson W.H., Hopf H.W., Hunt T.K. Cigarette smoking decreases tissue oxygen. *Arch Surg.* **1991**, 126:1131-1134.
- ❖ Jones M.K., Wang H, Peskar B.M., Levin E, Itani R.M., Sarfeh I.J. Inhibition of angiogenesis by nonsteroidal anti-inflammatory drugs: insight into mechanisms and implications for cancer growth and ulcer healing. *Nat Med.* **2002**, 5:1418-1423.
- ❖ Kletzmann M. Improvements and retardation of wound healing. *Vet Dermatol.* **1999**, 83–88.
- ❖ Lai-Cheong J.E., McGrath J.A. Structure and function of skin, hair and nails. *Medicine.* **2017**, 45(6):347-351.
- ❖ Lauerma C.J. Surgical patient education related to smoking. *AORNJ.* **2008**, 87:599-609.
- ❖ Laurent T.C., Laurent U.B., Fraser J.R.E. The structure and function of hyaluronan: An overview. *Immunol. Cell Biol.* **1996**, 74(2): A1–A7.
- ❖ Lawrence W.T., Talbot T.L., Norton J.A. Preoperative or postoperative doxorubicin hydrochloride (adriamycin): which is better for wound healing? *Surgery.* **1986**, 100:9-13.
- ❖ Liu L.Y., Chen X.D., Wu B.Y., Jiang Q. Influence of Aloe polysaccharide on proliferation and hyaluronic acid and hydroxyproline secretion of human fibroblasts in vitro. *Zhong Xi Yi Jie He Xue Bao.* **2010**, 8:256–262.
- ❖ Mathieu D, Linke J-C, Wattel F. Non-healing wounds. In: Handbook on hyperbaric medicine. Springer. **2006**, 401-427.

- ❖ McDaniel J.C., Belury M., Ahijevych K., Blakely W.. Omega-3 fatty acids effect on wound healing. *Wound Repair Regen.* **2008**, 337–345.
- ❖ Menche N. Biologie.Anatomie Physiologie. *Munich: Urban & Fischer/ Elsevier.* **2012**.
- ❖ Menke N.B., Ward K.R., Witten T.M., Bonchev D.G., Diegelmann R.F. Impaired wound healing. *Clin Dermatol.* **2007**, 25:19-25.
- ❖ Merriam-Webster. *Encyclopædia Britannica.* **2015**.
- ❖ Mladineo I. The mechanisms of infection of the buccal isopod *Ceratothoa oestroides* in experimental conditions. *Bull Eur Assoc Fish Pathol.* **2002b**, 22:304–310.
- ❖ Mladineo, I. Life cycle of *Ceratothoa oestroides*, a cymothoid isopod parasite from sea bass *Dicentrarchus labrax* and sea bream *Sparus aurata*. *Diseases of Aquatic Organisms.* **2003**, 57, 97–101.
- ❖ M.N. Collins, C. Birkinshaw. Hyaluronic acid based scaffolds for tissue engineering:a review. *Carbohydrate Polymers.* **2013**, 92:1262–1279.
- ❖ Moues C.M., Heule F., Legerstee R., Hovius S.E.: Five millennia of wound care products—what is new? A literature review. *Ostomy Wound Manage.* **2009**, 55(3):16–18, 20, 22.
- ❖ Muhammad K., Mohamed S. Ethanolic Extract of *Eucheuma cottonii* Promotes in vivo Hair Growth and Wound Healing. *Journal of Animal and Veterinary Advances.* **2011**, 10:601-605.
- ❖ Musalmah M., Fairuz A.H., Gapor M.T., Ngah W.Z. Effect of vitamin E on plasma malondialdehyde, antioxidant enzyme levels and the rates of wound closures during wound healing in normal and diabetic rats. *Asia Pac. J. Clin. Nutr.* **2002**, 11:S448–S451.
- ❖ Navarro D.A., Stortz C.A. Microwave-assisted alkaline modification of red seaweed galactans. *Carbohydrate Polymers.* **2005**, 62:187–191.
- ❖ Ng K.W., Lau W.M. Skin Deep: The Basics of Human Skin Structure and Drug Penetration. In: Dragicevic N, Maibach H (eds). Percutaneous Penetration Enhancers Chemical Methods in Penetration Enhancement. *Berlin, Heidelberg: Springer.* **2015**, 3-11.
- ❖ Nieman D.C., Henson D.A., Nehlsen-Cannarella S.L., Ekkens M, Utter A.C., Butterworth D.E. Influence of obesity on immune function. *Journal of the American Dietetic Association.* **1999**, 99:294-299.
- ❖ Ojok Francis., Emmanue Bua I , Akise Regina. The impact of traditional treatment on wound care in sub-Saharan Africa. *Wound International.* **2012**.
- ❖ Olczyk P., Komosinska-Vassev K., Winsz-Szczotka K., Stojko J., Klimek K., Kozma E.M. Propolis induces chondroitin/dermatan sulphate and hyaluronic acid accumulation in the skin of burned wound. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine.* **2013**.

- ❖ Ortega-Hernández J. "Making sense of 'lower' and 'upper' stem-group Euarthropoda, with comments on the strict use of the name Arthropoda von Siebold, 1848". *Biological Reviews*. **2016**, 91 (1): 255–273.
- ❖ Panagos C.G., Thomson D., Moss C., Bavington C.D., Olafsson H.G., Uhrin D. Characterisation of hyaluronic acid and chondroitin/dermatan sulphate from the lumpsucker fish, *C. lumpus*. *Carbohydr. Polym.* **106** . **2014**, 25–33.
- ❖ Phillips T.J. New skin for old: developments in biological skin substitutes. *Arch Dermatol.* **1998**, 134:344–9.
- ❖ Pieringer H., Stuby U., Biesenbach G. Patients with rheumatoid arthritis undergoing surgery: how should we deal with antirheumatic treatment? *Semin Arthritis Rheum.* **2007**, 36:278-286.
- ❖ Price R.D. ,Myers S ,Leigh I.M. ,Navsaria H.A. .*Am. J. Clin. Dermatol.* **2005**, 6:393–402.
- ❖ Radek K.A., Matthies A.M., Burns A.L., Heinrich S.A., Kovacs E.J., DiPietro L.A. Acute ethanol exposure impairs angiogenesis and the proliferative phase of wound healing. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* **2005**, 289:H1084-H1090.
- ❖ Radek K.A., Kovacs E.J., Gallo R.L., DiPietro L.A. Acute ethanol exposure disrupts VEGF receptor cell signaling in endothelial cells. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* **2008**, 295:H174-H184.
- ❖ Rasche H. "Haemostasis and thrombosis: an overview". *European Heart Journal Supplements.* **2004**.
- ❖ Ravichandran S., Rameshkumar G., Balasubramanian T. "Infestation of isopod parasites in commercial marine fishes". *Journal of Parasitic Diseases.* **2010**, 34 (2): 97–98.
- ❖ Reinke J.M., Sorg H. Wound repair and regeneration. *Eur Surg Res.* **2012**, 49(1):35-43.
- ❖ Reynolds T., Dweck, A.C. Aloe vera gel leaf: a review update. *Journal of Ethnopharmacology.* **1999**, 68:3–37.
- ❖ Ribeiro C. S., Leal F., Jeunon T. Skin Anatomy, Histology and Physiology. *Daily Routine in Cosmetic Dermatology.* **2017**, 1–12.
- ❖ Richardson M. *Nurs Times.* **2003**, 99(31):46-8.
- ❖ Sarabahi Sujata. Principles and Practice Of Wound Care. *Jaypee Brothers Medical Publishers.* **2012**Ltd. p 4.
- ❖ Serrano M., Valverde J.M., Guillen F., Castillo S., Martinez-Romero D., Valero D. Use of Aloe vera gel coating preserves the functional properties of table grapes. *J Agric Food Chem.* **2006**, 54:3882–3886.
- ❖ Sezer A.D., Hatipoglu F., Cevher E., Ogurtan Z., Bas A.L., Akbuga J. Chitosan film containing fucoidan as a wound dressing for dermal burn healing: Preparation and in vitro/in vivo evaluation. *AAPS Pharm-SciTech.* **2007**, E94–E101.

- ❖ Sezer A.D., Cevher E., Hatipoglu F., Ogurtan Z., Bas A.L., Akbuga J. Preparation of fucoidan-chitosan hydrogel and its application as burn healing accelerator on rabbits. *Biol. Pharm.Bull.* **2008**, 2326–2333.
- ❖ Shah J. B. The History of Wound Care. *The Journal of the American College of Certified Wound Specialists* . **2011**, 3(3):65–66.
- ❖ Shepherd A.A. Nutrition for optimum wound healing. *Nurs Stand* . **2003**, 18:55-58
- ❖ Shin J., Yang S.J., Lim Y. Gamma-tocopherol supplementation ameliorated hyper-inflammatory response during the early cutaneous wound healing in alloxan-induced diabetic mice. *Exp. Biol. Med.* **2017**, 242:505–515.
- ❖ Siana J.E., Rex S, Gottrup F. The effect of cigarette smoking on wound healing. *Scand J Plast Reconstr Surg Hand Surg.* **1989**, 23:207-209.
- ❖ Smidsrod O., Skjak-Braek G. Alginate as immobilization matrix for cells. *Trends in Biotechnology.* **1990**, 8:71–78.
- ❖ Smith Martin R. "Hallucigenia's onychophoran-like claws and the case for Tactopoda". *Nature.* **2014**, 514 (7522): 363–366.
- ❖ Sørensen L.T., Jorgensen L.N., Zillmer R, Vange J, Hemmingsen U, Gottrup F. Transdermal nicotine patch enhances type I collagen synthesis in abstinent smokers. *Wound Repair Regen.* **2006**, 14:247-251.
- ❖ Sorensen L.T., Karlsmark T, Gottrup F. Abstinence from smoking reduces incisional wound infection: a randomized controlled trial. *Ann Surg.* **2003**, 238:1-5.
- ❖ Stadelmann W.K., Digenis A.G., Tobin G.R. "Physiology and healing dynamics of chronic cutaneous wounds". *American Journal of Surgery.* **1998**, 176(2A Suppl): 265–385.
- ❖ Sternberg E.M. Neural regulation of innate immunity: a coordinated nonspecific host response to pathogens. *Nat Rev Immunol.* **2006**, 6:318-328
- ❖ Swift M.E., Burns A.L., Gray K.L., Di Pietro L.A. Age-related alterations in the inflammatory response to dermal injury. *J.Invest. Dermatol.* **2001**, 117:1027-1035
- ❖ Takanori Igarashi, Ko Nishino, Shree K. Nayar. The Appearance of Human Skin. Department of Computer Science, Columbia University. **2005**.
- ❖ Tandara A.A., Mustoe T.A. Oxygen in wound healing—more than a nutrient. *World J Surg.* **2004** , 8:294-300.
- ❖ Thakur R., Jain N., Pathak R., Sandhu S.S. Practices in Wound Healing Studies of Plants. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine.* **2011**, 2011:438056.
- ❖ Uhl E, Rosken F, Sirsjo A. Influence of platelet-derived growth factor on microcirculation during normal and impaired wound healing. *Wound Repair Regen.* **2003**, 11:361–7.

- ❖ Vileikyte L. Stress and wound healing. *Clin Dermatol* . **2007**, 25:49-55.
- ❖ Vincent A.M., Russell J.W., Low P, Feldman E.L. Oxidative stress in the pathogenesis of diabetic neuropathy. *Endocr Rev*. **2004**, 25:612-628.
- ❖ Wagner A.E., Huck G.,Stiehl D.P., Jelkmann W, Hellwig-Bürigel T. Dexamethasone impairs hypoxia-inducible factor-1 function. *Biochem Biophys Res Commun*. **2008**, 372:336-340.
- ❖ Waldron D.R., Zimmerman-Pope N. Superficial skin wounds. *Textbook of small animal surgery*. **2003**, 260-271.
- ❖ Wilson J.A., Clark J.J..Obesity: impediment to postsurgical wound healing. *Adv Skin Wound Care*. **2004**, 17:426-435.
- ❖ World Register of Marine Species. **2014**.
- ❖ Wysocki A.B.Skin anatomy, physiology and pathophysiology, v. Review.*Nurs Clin North Am*. **1999**, 34(4):777-97.
- ❖ Yaich H., Garna H., Besbes S., Barthélemy J.P., Paquot M., Blecker C., Attia H. Impact of extraction procedures on the chemical, rheological and textural properties of ulvan from *Ulva lactuca* of Tunisia coast. *Food Hydrocolloids*. **2014**, 40:53–63.
- ❖ Yang C., Hillas P.J., Baez J.A., Nokelainen M., Balan J., Tang J., Spiro R., Polarek J.W. The application of recombinant human collagen in tissue engineering. *BioDrugs*. **2004**, 18(2):103–119.
- ❖ Yaghoubi M., Satari G. Gh, R., Antimicrobial activity of Iranian propolis and its chemical composition, *DARU*. **2007**, 15(1):45–48
- ❖ Zaidi Z, Lanigan S.W. Skin: Structure and Function. In: *Dermatology in Clinical Practice*. Springer. **2010**, 1-15.
- ❖ Zheng Shu X., Liu Y., Palumbo F.S., Luo Y., Prestwich G.D. In situ crosslinkable hyaluronan hydrogels for tissue engineering. *Biomaterials*. **2004**, 1339–1348.
- ❖ Ziboh V.A. ,Miller C.C., Cho Y. Metabolism of polyunsaturated fatty acids by skin epidermal enzymes: generation of antiinflammatory and antiproliferative metabolites. *Am. J. Clin. Nutr*. **2000**, 71:361–366.
- ❖ Κατσάμπας Δ. Ανδρέας. Μαθήματα Δερματολογίας-Αφροδισιολογίας.Ιατρικές Εκδόσεις Π.Χ. Πασχαλιδης. **2001**.
- ❖ Παπαϊωάννου Θ. Γ. Κοσμητολογία.Συστατικά-Παρασκευή-Χρήση Καλλυντικών. Δ' Έκδοση, Αθήνα.Εκδόσεις Γ. Γκελμπέσης. **2006**.

