



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ**

**ΤΟΜΕΑΣ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΟΣ-ΚΛΙΝΙΚΟΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟΣ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑΣ**

***ΕΠΟΥΛΩΣΗ ΕΓΚΑΥΜΑΤΩΝ ΟΛΙΚΟΥ ΠΑΧΟΥΣ
ΔΕΡΜΑΤΟΣ ΣΕ ΕΠΙΜΥΕΣ WISTAR***

Ευθαλία Γκούμα
Ιατρός

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2011

«Η έγκριση της διδακτορική διατριβής από την Ιατρική Σχολή του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων δεν υποδηλώνει την αποδοχή των γνωμών του συγγραφέα Ν.5343/32, άρθρο 202, παράγραφος 2 (νομική κατοχύρωση του Ιατρικού Τμήματος)»

Ημερομηνία αίτησης της κ. Γκούμα Ευθαλίας: 18-4-2005

Ημερομηνία ορισμού Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής: 560^α/21-6-2005

Μέλη Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής:

Επιβλέπων

Ευαγγέλου Άγγελος Καθηγητής Φυσιολογίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Μέλη

Καλφακάκου Βασιλική Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Φυσιολογίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Λυκούδης Ευστάθιος Επίκουρος Καθηγητής Πλαστικής Χειρουργικής Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Ημερομηνία ορισμού θέματος: 15-2-2006

«Επούλωση εγκαυμάτων ολικού πάχους δέρματος σε επιμέες Wistar»

Ημερομηνία ανασυγκρότησης της Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής: 596^α/12-12-2006

Επιβλέπων

Ευαγγέλου Άγγελος Καθηγητής Φυσιολογίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Μέλη

Λυκούδης Ευστάθιος Επίκουρος Καθηγητής Πλαστικής Χειρουργικής Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Καρκαμπούνας Σπυρίδωνας Λέκτορας Φυσιολογίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

ΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΕΠΤΑΜΕΛΟΥΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ : 697^α/7-12-2010

Αγνάντη Νίκη	Ομότιμη Καθηγήτρια Παθολογικής Ανατομίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
Ευαγγέλου Άγγελος	Καθηγητής Φυσιολογίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
Χαραλαμπόπουλος Κωνσταντίνος	Καθηγητής Φυσιολογίας Ιατρικής Σχολής Δημοκρίτειου Πανεπιστημίου Θράκης
Μπατιστάτου Άννα	Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Παθολογικής Ανατομίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
Λυκούδης Ευστάθιος	Αναπληρωτής Καθηγητής Πλαστικής Χειρουργικής Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
Χατζηκακού Σωτήριος	Αναπληρωτής Καθηγητής Τμήματος Χημείας Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Καρκαμπούνας Σπυρίδων

Επίκουρος Καθηγητής Φυσιολογίας με έμφαση στην
Περιβαλλοντολογική Φυσιολογία Ιατρικής Σχολής
Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Έγκριση Διδακτορικής Διατριβής με βαθμό «ΑΡΙΣΤΑ» στις 22-3-2011

ΠΡΟΕΔΡΟΣ ΤΗΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΣΧΟΛΗΣ

Ιωάννης Γουδέβενος

Καθηγητής Παθολογίας- Καρδιολογίας

Η Γραμματέας της Σχολής

ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΣΒΕΝΤΖΟΥΡΗ -ΖΩΗ



*Αφιερώνεται στους γονείς μου
και στην αδερφή μου*

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η παρούσα μελέτη πραγματοποιήθηκε στο Εργαστήριο Φυσιολογίας της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων και το μεγαλύτερο μέρος των πειραμάτων πραγματοποιήθηκε στο εκτροφείο πειραματόζων της Ιατρικής Σχολής.

Ευχαριστώ θερμά τον Καθηγητή Φυσιολογίας της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων κ. Ευαγγέλου Άγγελο για την ανάθεση του θέματος της διατριβής, την άμεση και συνεχή αρωγή του σε όλα τα στάδια εκπόνησης της διατριβής, καθώς και για την ηθική συμπαράσταση και στήριξη που μου επέδειξε.

Ευχαριστώ τον Επίκουρο Καθηγητή Φυσιολογίας της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων κ. Καρκαμπούνα Σπυρίδων, για την καθοδήγησή του στο πειραματικό μέρος της διατριβής.

Τις θερμές μου ευχαριστίες εκφράζω στον Αναπληρωτή Καθηγητή Πλαστικής Χειρουργικής της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων κ. Λυκούδη Ευστάθιο, για τη συνεργασία και τις εύστοχες υποδείξεις του.

Ευχαριστώ θερμά την Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Παθολογικής Ανατομικής της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων κ. Μπατιστάτου Άννα για την χρονοβόρα και αξιόλογη προσφορά της σχετικά με την ιστολογική εκτίμηση περίπου 300 τεμαχίων δέρματος.

Για την εποικοδομητική και αποτελεσματική συνεργασία με τον Αναπληρωτή Καθηγητή Τμήματος Χημείας του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων κ. Χατζηκακού Σωτήριο, εκφράζω θερμές ευχαριστίες.

Ευχαριστώ τον Αναπληρωτή Καθηγητή Δερματολογίας της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων κ. Μπασιούκα Κωνσταντίνο για την βοήθεια που μου προσέφερε κατά την εκπόνηση της διατριβής.

Για τον συνεχές ενδιαφέρον τους ως προς την πορεία της εκπόνησης της διδακτορικής διατριβής καθώς και για την φιλική τους συμπεριφορά, ευχαριστώ τον Καθηγητή Φυσιολογίας της Ιατρικής Σχολής του Δημοκρίτειου Πανεπιστημίου Θράκης κ. Χαραλαμπίδου Κωνσταντίνο, την Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Φυσιολογίας της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων κ. Καλφακάκου Βασιλική, την Επίκουρη Καθηγήτρια Φυσιολογίας της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων κ. Βεζυράκη Πάτρα και την Επίκουρη Καθηγήτρια Παθολογικής Ανατομικής της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων κ. Γούσια Άννα.

Ευχαριστώ θερμά για τη συνεργασία τους διδάκτορες κ. Βεργινάδη Ιωάννη και κ. Σίμο Ιωάννη καθώς και την υποψήφια διδάκτωρα κ. Βελαλοπούλου Αναστασία.

Θερμές ευχαριστίες στους υπαλλήλους του εκτροφείου πειραματόζωων για την άμεση προμήθεια πειραματόζωων. Επίσης ευχαριστώ για τη βοήθειά τους τον κ. Κατσάνο Γεώργιο, τον κ. Κοντογιάννη Γεώργιο, την κ. Μπάρμπα Χριστίνα και την κ. Ζώη Λαμπρινή. Επιπλέον ευχαριστώ όλα τα μέλη ΔΕΠ και ΕΤΕΠ του Εργαστηρίου Φυσιολογίας για την συνεργασία και τη στήριξή τους.

Τέλος ευχαριστώ θερμά και ιδιαίτερος την κ. Αγνάντη Νίκη, Ομότιμο Καθηγητή Παθολογικής Ανατομικής της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων, για την καθοδήγησή της, τη φιλική συμπεριφορά και την κατανόησή της καθώς και για την ηθική συμπαράστασή της.

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

ΕΙΣΑΓΩΓΗ	11
1 ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΗ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ	11
1.1 Στοιχεία ανατομίας και φυσιολογίας του δέρματος.....	11
1.1.1 Το Δέρμα.....	11
1.1.2 Ιστολογική δομή του δέρματος	11
1.1.3 Η Επιδερμίδα.....	12
1.1.4 Το Χόριο	13
1.1.5 Το Υπόδερμα.....	14
1.2 Έγκαυμα δέρματος.....	15
1.2.1 Ορισμός εγκαύματος.....	15
1.2.2 Ιστολογική και κλινική εικόνα του εγκαύματος	15
1.2.3 Παθολογοανατομική εκτίμηση	16
1.2.4 Βαθμοί εγκαύματος.....	17
1.2.5 Ποια εγκαύματα αντιμετωπίζονται σε Νοσοκομείο.....	20
1.2.6 Τοπική φροντίδα του εγκαύματος.....	21
1.3 Η πορεία της επούλωσης σε εγκαύματα μερικού και ολικού πάχους δέρματος.....	22
1.3.1 Επιπολής μερικού δερματικού πάχους έγκαυμα	22
1.3.2 Βαθύ μερικού δερματικού πάχους έγκαυμα.....	22
1.3.3 Ολικού δερματικού πάχους έγκαυμα	23
1.3.4 Επούλωση εγκαύματος σε επίμυες.....	24
1.3.5 Χειρουργική αντιμετώπιση των εγκαυμάτων	26

1.4	Η επίδραση της θερμότητας σε μακρομόρια ιστών και οι μεταβολές της κυτταρικής δομής μετά από θερμικό έγκαυμα	27
1.4.1	Ρυθμός μεταφοράς θερμότητας σε ζώντες ιστούς.....	28
1.4.2	Μετουσίωση των μορίων με την επίδραση της θερμότητας	29
1.4.3	Μεμβρανικές πρωτεΐνες	33
1.4.4	Πρωτεΐνες του πυρήνα.....	34
1.4.5	Πρωτεΐνες των μιτοχονδρίων	35
1.4.6	Πρωτεΐνες του κυτταροσκελετού	35
1.4.7	Κολλαγόνο.....	36
1.5	Παθογόνοι μικροοργανισμοί-Μόλυνση-Αμυνα-Επιπλοκές-θεραπεία	37
1.5.1	Μικροβιακή χλωρίδα του δέρματος-Ορισμοί.....	37
1.5.2	Αμυντικές δυνάμεις του οργανισμού εναντίων των μικροβίων	38
1.5.3	Επιμόλυνση του εγκαύματος με παθογόνους μικροοργανισμούς.....	39
1.5.4	Παράγοντες κινδύνου που σχετίζονται με τη μόλυνση.....	40
1.5.5	Παθογόνα βακτήρια που σχετίζονται με μόλυνση της πληγής	40
1.5.6	Σηψαιμία από σταφυλόκοκκο σε εγκαύματα	41
1.5.7	Μόλυνση-σηψαιμία από <i>pseudomonas aeruginosa</i>	42
1.5.8	Μόλυνση εγκαυματικών πληγών από τον ιό του απλού έρπη και <i>Candida Albicans</i>	43
1.5.9	Ποσοτική μικροβιολογία στην αντιμετώπιση των εγκαυμάτων.....	44
1.5.10	Μικροοργανισμοί που ανιχνεύονται στην περιοχή του εγκαύματος σε επίμυες Wistar	45
1.5.11	Προτεινόμενες θεραπείες για την αντιμετώπιση μικροβιακών λοιμώξεων	45
	Θεραπευτικά σχήματα	45

1) Ο <i>Staphylococcus aureus</i>	45
2) Κοαγκουλάση αρνητικοί σταφυλόκοκκοι (<i>Staphylococcus Epidermidis</i> , <i>Staphylococcus saprophyticus</i> και ο <i>Staphylococcus haemolyticus</i>)	46
3) <i>Streptococcus pyogenes</i>	46
4) <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	47
5) HSV-1.....	47
6) CMV.....	47
7) <i>Candida Albicans</i>	48
1.6 Έγκαυμα και καρκίνος	48
1.6.1 Παθοφυσιολογία.....	48
1.6.2 Προγνωστικοί δείκτες	49
1.6.3 Διάγνωση-Σταδιοποίηση	50
1.6.4 Ομάδες υψηλού κινδύνου.....	50
1.6.5 Θεραπεία	51
1.7 Νεότερες μέθοδοι και τεχνικές επούλωσης των εγκαυμάτων.....	51
1.8 Υπολογισμός της ολικής επιφάνειας σώματος και της έκτασης του εγκαύματος	54
1.9 Άργυρος.....	57
1.9.1 Τοξική δράση του Αργύρου	59
1.9.2 Παρενέργειες από τη χρήση του αργύρου.....	60
1.9.3 Αντικαρκινική δράση του αργύρου.....	61
1.10 Κουερσετίνη	61
1.10.1 Αντικαρκινική δράση της Κουερσετίνης	63
1.11 Αδενοσίνη	63

2	ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ	67
	Πρόκληση εγκαύματος	67
3	ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	71
3.1	Πιλοτικά πειράματα.....	71
3.1.1	Προετοιμασία Ζώων.....	73
3.1.2	Μακροσκοπική εκτίμηση	75
3.1.3	Πλανίμετρο-Πλανιμετρία	76
3.1.4	Ιστολογική εκτίμηση	80
3.2	Πειραματικό μέρος.....	80
3.2.1	Πείραμα πρώτο	80
3.2.2	Υλικά	81
3.2.3	Προετοιμασία ουσιών.....	84
3.2.4	Προετοιμασία Ζώων.....	85
3.2.5	Μέθοδος.....	85
3.2.6	Τρίτη μετεγκαυματική ημέρα.....	88
3.2.7	Έκτη μετεγκαυματική ημέρα.....	90
3.2.8	Δωδέκατη μετεγκαυματική ημέρα.....	90
3.2.9	Εικοστή πρώτη μετεγκαυματική ημέρα	91
3.2.10	Τριακοστή πρώτη μετεγκαυματική ημέρα	92
3.3	Πείραμα δεύτερο	92
3.4	Πείραμα τρίτο.....	93
3.5	Πείραμα τέταρτο.....	95
3.6	Πείραμα πέμπτο.....	96
3.7	Πείραμα έκτο.....	98
3.8	Πείραμα έβδομο	100

3.8.1	Υλικά.....	100
3.8.2	Προετοιμασία Ζώων.....	101
3.8.3	Μέθοδος.....	101
3.9	Στατιστική ανάλυση.....	105
4	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	107
4.1	Αποτελέσματα από τη μακροσκοπική εκτίμηση της πορείας της επούλωσης του εγκαύματος κατόπιν τοπικής εφαρμογής των συμπλόκων αργύρου Σ1, Σ2, Σ3 και Σ4.....	107
4.1.1	Ημέρα πρόκλησης του εγκαύματος.....	107
4.1.2	Τρίτη μετεγκαυματική ημέρα.....	108
4.1.3	Έκτη μετεγκαυματική ημέρα.....	108
4.1.4	Δωδέκατη μετεγκαυματική ημέρα.....	110
4.1.5	Δέκατη έβδομη μετεγκαυματική ημέρα.....	112
4.1.6	Εικοστή πρώτη μετεγκαυματική ημέρα.....	113
4.1.7	Εικοστή τρίτη μετεγκαυματική ημέρα.....	116
4.1.8	Τριακοστή πρώτη μετεγκαυματική ημέρα.....	116
4.2	Αποτελέσματα πλανιμετρίας από την μέτρηση της εγκαυματικής πληγής κατόπιν τοπικής εφαρμογής των συμπλόκων Αργύρου Σ1, Σ2, Σ3 και Σ4.....	117
4.3	Αποτελέσματα από την ιστολογική εκτίμηση της πορείας της επούλωσης του εγκαύματος κατόπιν τοπικής εφαρμογής των συμπλόκων αργύρου Σ1, Σ2, Σ3 και Σ4.....	122
4.4	Συγκεντρωτικά αποτελέσματα από την ιστολογική, μακροσκοπική και πλανιμετρική εκτίμηση, για τα ζώα των υποομάδων της ΟΕ, ΟΔ, ΟΣ1, ΟΣ2, ΟΣ3, ΟΣ4, την εικοστή πρώτη μετεγκαυματική ημέρα.....	125

4.5	Αποτελέσματα από τη μακροσκοπική εκτίμηση της πορείας της επούλωσης του εγκαύματος κατόπιν τοπικής εφαρμογής των ουσιών Κουερσετίνη και Αδενοσίνη.....	128
4.5.1	Ημέρα πρόκλησης του εγκαύματος.....	128
4.5.2	Τρίτη μετεγκαυματική ημέρα.....	129
4.5.3	Έκτη μετεγκαυματική ημέρα.....	129
4.5.4	Δωδέκατη μετεγκαυματική ημέρα.....	131
4.5.5	Δέκατη έβδομη μετεγκαυματική ημέρα	133
4.5.6	Εικοστή πρώτη μετεγκαυματική ημέρα	133
4.5.7	Εικοστή τρίτη μετεγκαυματική ημέρα	136
4.5.8	Τριακοστή πρώτη μετεγκαυματική ημέρα.....	136
4.6	Αποτελέσματα πλανιμετρίας από την μέτρηση της εγκαυματικής πληγής κατόπιν τοπικής εφαρμογής των ουσιών Κουερσετίνη και Αδενοσίνη	137
4.7	Αποτελέσματα από την ιστολογική εκτίμηση της πορείας της επούλωσης του εγκαύματος κατόπιν τοπικής εφαρμογής των ουσιών Κουερσετίνη και Αδενοσίνη.....	141
4.8	Συγκεντρωτικά αποτελέσματα από την ιστολογική, μακροσκοπική και πλανιμετρική εκτίμηση, για τα ζώα των υποομάδων της ΟΕ, ΟΔ, ΟΚ και ΟΑ, την εικοστή πρώτη μετεγκαυματική ημέρα.....	143
4.9	Συγκεντρωτικά αποτελέσματα πλανιμετρίας για τα σύμπλοκα Σ1, Σ2, Σ3, Σ4, και τις ουσίες Κουερσετίνη και Αδενοσίνη, την τρίτη, έκτη, δωδέκατη και εικοστή πρώτη μετεγκαυματική ημέρα	147
4.10	Αποτελέσματα πλανιμετρίας για τον υπολογισμό της επιφάνειας σώματος των επίμυων Wistar	148

5	ΣΥΖΗΤΗΣΗ	155
6	ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	173
7	ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΣΤΗΝ ΕΛΛΗΝΙΚΗ	175
8	ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΣΤΗΝ ΑΓΓΛΙΚΗ	179
9	ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	183

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1. Βιβλιογραφική ανασκόπηση

1.1. Στοιχεία ανατομίας και φυσιολογίας του δέρματος

1.1.1 Το Δέρμα

Το δέρμα αποτελεί το μεγαλύτερο όργανο του ανθρώπινου σώματος με σπουδαίες αμυντικές και αισθητηριακές λειτουργίες. Στα αντίστοιχα στόμια το δέρμα μεταπίπτει στους ημιβλεννογόνους και ακολούθως στους βλεννογόνους των κοιλοτήτων (στόματος, οφθαλμών, γεννητικών οργάνων και πρωκτού).

1.1.2 Ιστολογική δομή του δέρματος

Το δέρμα αποτελείται από τρεις κύριες στοιβάδες:

1) Την επιδερμίδα (epidermis): είναι η επιφανειακή στοιβάδα που βρίσκεται σε άμεση επαφή με το εξωτερικό περιβάλλον. Οι καταδύσεις της δημιουργούν τους ιδρωτοποιούς αδένες, τα τριχοθυλάκια και άλλα εξαρτήματα της επιδερμίδας.

2) Την δερμίδα ή χόριο (dermis): είναι η μεσαία στοιβάδα η οποία περιέχει αγγεία, νεύρα και νευρικές απολήξεις μέσα σ' ένα ελαστικό κολλαγονώδες στρώμα από ινοβλάστες.

3) Την υποδερμίδα ή υποδόριο που είναι η βαθύτερη στοιβάδα, ποικίλλει σε μέγεθος και περιεχόμενο, αλλά κυρίως αποτελείται από λιπώδη ιστό (Hatzis 1994).

1.1.3 Η Επιδερμίδα

Η επιδερμίδα αποτελείται από πολύστοιβο επιθήλιο και διακρίνεται σε 5 στοιβάδες:

1) Τη βασική στοιβάδα (basal cell layer): από αυτήν σχηματίζεται όλος ο πληθυσμός των κερατινοκυττάρων. Η κυτταρική διαίρεση των κυττάρων της επιδερμίδας συμβαίνει μόνο στη βασική στοιβάδα, για να αντικαταστήσει τα κύτταρα που χάνονται στην επιφάνεια του δέρματος με την απολέπιση. Τα βασικά κύτταρα έχουν κυτταρόπλασμα πλούσιο σε ριβοσώματα και μιτοχόνδρια, σε μικρό αριθμό βρίσκονται τονοϊνίδια καθώς και κοκκία μελανίνης και λυσοσώματα (Hatzis 1994).

2) Τη μαλπιγιανή ή ακανθωτή στοιβάδα (malpighian layer, prickle cell layer): το κυτταρόπλασμα των ακανθωτών κυττάρων περιέχει πολλά τονοϊνίδια. Τα κύτταρα συνδέονται μεταξύ τους με μεσοκυττάρια γέφυρες, οι οποίες προσδίδουν σημαντική σταθερότητα και αντοχή στην επιδερμίδα. Τα διάκενα μεταξύ των ακανθωτών κυττάρων καταλαμβάνονται από προσεκβολές των μελανοκυττάρων και των κυττάρων Langerhans (Stevens *et al.* 1998)

3) Την κοκκώδη στοιβάδα (granular layer): τα κύτταρα περιέχουν κοκκία κερατοϋαλίνης που αποτελούνται από πρωτεϊνικό υλικό, το οποίο περιέχει αμινοξέα πλούσια σε θείο (π.χ. κυστεΐνη). Επίσης περιέχουν άφθονα τονοϊνίδια (Stevens *et al.* 1998)

4) Τη διαυγή στοιβάδα (lucid layer): παρεμβάλλεται μεταξύ της κοκκώδους και της κερατίνης στοιβάδας στις παλάμες και στα πέλματα. Αποτελείται από 1-2 στοιχεία εξαιρετικά λεπτών και επιμηκυσμένων κυττάρων χωρίς κοκκία. Το περιεχόμενο των

κοκκίων κερατοϋαλίνης προφανώς έχει διαχυθεί στο κυτταρόπλασμα και για αυτό το λόγο τα κοκκία δεν είναι ορατά.

5) Την κεράτινη στοιβάδα: τα κύτταρα περιέχουν κερατίνη, μια πρωτεΐνη, η οποία προσφέρει ελαστικότητα, μηχανική αντοχή και ανθεκτικότητα στις χημικές αντιδράσεις του περιβάλλοντος. Πρόκειται για κύτταρα απύρηντα, αποπεπλατισμένα και αφυδατωμένα, τα οποία αποπίπτουν συνεχώς φυσιολογικά, εξ' αιτίας της φθοράς και λόγω εφαρμογής δυνάμεων τριβής και πίεσης στην επιφάνεια του δέρματος.

Το κύτταρο χρειάζεται να φθάσει από τη βασική στοιβάδα στην κερατίνη περίπου 30 ημέρες (Hatzis 1994).

1.1.4 Το Χόριο

Διακρίνεται σε: θηλώδες χόριο και δικτυωτό χόριο.

Το χόριο γενικά αποτελείται από:

1) Τη θεμέλια ουσία που είναι μια παχύρρευστη γέλη, πλούσια σε βλεννοπολυσακχαρίτες, μέσα στην οποία βρίσκονται οι ίνες, τα αγγεία, τα νεύρα και τα κύτταρα του χορίου.

2) Τις ίνες του χορίου: Το 75% αποτελούν οι κολλαγόνες ίνες, οι δικτυωτές και οι ελαστικές, που στο σύνολό τους συμβάλλουν στην ελαστικότητα και αντοχή του δέρματος.

3) Τα κύτταρα του χορίου: Ανευρίσκονται ινοβλάστες, ιστιοκύτταρα-μακροφάγα (φαγοκυτταρώνουν μικροοργανισμούς, μελανίνη, μελάνη τατουάζ), μαστοκύτταρα (τα οποία παράγουν και αποθηκεύουν ισταμίνη-ηπαρίνη), λεμφοκύτταρα και λευκοκύτταρα.

4) Τα αγγεία και λεμφαγγεία του χορίου: Ανευρίσκονται σε δύο επίπεδα και δημιουργούν αγγειακά πλέγματα, το επιπολής αγγειακό πλέγμα και το εν τω βάθει αγγειακό πλέγμα με σπουδαίο ρόλο στη θερμορύθμιση.

Το λεμφαγγειακό σύστημα αποτελείται από: α) τυφλά λεμφικά τριχοειδή που εκβάλλουν σε ένα υποθηλώδες λεμφικό δίκτυο και β) ένα βαθύτερο δίκτυο λεμφαγγείων με βαλβίδες που εκβάλλει σε επιχώριους λεμφαδένες.

5) Τα νεύρα: Είναι εμμύελες και ελεύθερες νευρικές ίνες. Η νεύρωση του δέρματος γίνεται α) από το αυτόνομο νευρικό σύστημα και β) από αισθητικές νευρικές ίνες οι οποίες είναι ελεύθερες στο χόριο και την επιδερμίδα (αίσθηση πόνου), άλλες υπάρχουν γύρω από τριχοθυλάκους (αίσθηση αφής) και άλλες καταλήγουν σε εξειδικευμένα τελικά σώματα (Meissner: αφή, Pacini: πίεση, Krause: ψύχος, Ruffini: θερμότητα) (Hatzis 1994).

1.1.5 Το Υπόδερμα

Τα κύτταρά του έχουν διαφοροποιηθεί έτσι ώστε να μπορούν να αποθηκεύουν λίπος. Προστατεύει τον ανθρώπινο οργανισμό από τραυματισμούς και το ψύχος. Τέλος ο ιστός αυτός αποτελεί αποθήκη ενέργειας.

1.2 Έγκαυμα δέρματος

1.2.1 Ορισμός εγκαύματος

Έγκαυμα είναι η βλάβη του δέρματος από την επίδραση θερμότητας. Η θερμότητα αυτή μπορεί να είναι αέρια (φωτιά), υγρή (καυτό νερό) ή και στερεή (καυτές επιφάνειες). Τα κύτταρα του οργανισμού υφίστανται βλάβη σε θερμοκρασία μεγαλύτερη των 50° C. Ανάλογα με την αιτία που τα προκάλεσε τα εγκαύματα διακρίνονται σε:

1. Θερμικά
2. Χημικά
3. Ηλεκτρικά
4. Από ακτινοβολία (ηλιακή, ιονίζουσα κ.τ.λ.)

1.2.2 Ιστολογική και κλινική εικόνα του εγκαύματος

Χαρακτηρίζεται από τρεις ομόκεντρες ζώνες βλάβης:

Τη ζώνη της πηκτικής νέκρωσης, τη ζώνη της στάσεως και τη ζώνη της υπεραιμίας.

Οι ζώνες αυτές αφορούν τόσο το βάθος, όσο και την επιφάνεια του δέρματος στην εγκαυματική περιοχή.

I. Ζώνη θερμικής πήξεως και νεκρώσεως των ινών (Zone of coagulation): Συναντάται σε περιοχές ισχαιμίας και υποξίας. Στην πάσχουσα περιοχή παρατηρείται οξέωση, η οποία προκαλεί μετουσίωση δομικών πρωτεϊνών και καταλυτικών ενζύμων των κυττάρων, με αποτέλεσμα την αδρανοποίηση των ενζύμων και την πήξη των κυττάρων. Μετά την πάροδο μιας ή δύο ημερών στην περιοχή αναπτύσσεται φλεγμονή και τα νεκρωμένα

κύτταρα απομακρύνονται από τα μακροφάγα ή διαλύονται με τη δράση πρωτεολυτικών ενζύμων των πολυμορφοπύρηνων ουδετερόφιλων λευκοκυττάρων.

II. Ζώνη της στάσεως (Zone of stasis): Γύρω από την κεντρική περιοχή της κακώσεως δημιουργείται η ζώνη της στάσεως. Σε μεγάλο βαθμό καταργείται ο φραγμός των τριχοειδικών τοιχωμάτων και το πλάσμα εξαγγειώνεται στο μεσοκυττάριο χώρο, προκαλώντας οίδημα, που προοδευτικά αυξάνεται. Η αγγειακή βλάβη κλιμακώνεται, ανάλογα με την αύξηση της θερμοκρασίας των ιστών, από τη χάλαση ή παράλυση του αγγειακού τοιχώματος και από την αύξηση της διαπερατότητάς του, μέχρι την άμεση και πλήρη θερμική καταστροφή των αγγείων και την ενδαγγειακή πήξη του αίματος που αυτά περιέχουν. Η αύξηση της διαπερατότητας των αγγειακών τοιχωμάτων επιτρέπει την εξαγγείωση υγρών, ηλεκτρολυτών, μακρομοριακών συστατικών του πλάσματος, όπως λευκωματίνες και σφαιρίνες στους μεσοκυττάριους χώρους.

III. Ζώνη υπεραιμίας: Παρατηρείται επίσης αύξηση της διαπερατότητας των αγγειακών τοιχωμάτων (Sbarounis 1989).

1.2.3 Παθολογοανατομική εκτίμηση

A. Σε κυτταρικό επίπεδο: Παρατηρούνται περιορισμένες και αναστρέψιμες λειτουργικές διαταραχές κυτταρικών μορφωμάτων (Golgi, μιτοχόνδρια), βαριές μορφολογικές αλλοιώσεις, κυτταρική νέκρωση, ομογενοποίηση κυτταρικής μάζας.

B. Στους πυρήνες των κυττάρων: Καρυόλυση, καρυοπύκνωση, καρυορρηξία.

Οι κυτταροπλασματικές πρωτεΐνες μετουσιώνονται και παρατηρείται διάσπαση του κυτταροπλασματικού RNA (Agnantis *et al.* 2001).

Γ. Στις κυτταρικές μεμβράνες: Χημικές και μηχανικές βλάβες στο δέρμα προκαλούν μια αύξηση στα λιπιδιακά υπεροξειδία στις κατεστραμμένες πλευρές του δέρματος και των κυτταρικών μεμβρανών. Τα λιπιδιακά υπεροξειδία προέρχονται από αυτές τις πλευρές, διότι μεγάλες ποσότητες από ακόρεστα λιπαρά οξέα, μέταλλα, και νερό είναι αποθηκευμένα στις μεμβράνες των κυττάρων, ένα ιδανικό περιβάλλον για τη δημιουργία λιπιδιακών υπεροξειδίων και δραστικών μορφών οξυγόνου (ROS).

1.2.4 Βαθμοί εγκαύματος

1^ο βαθμού: Χαρακτηρίζεται από οίδημα, ερύθημα του δέρματος και καυστικό άλγος και ίσως πολύ μικρές φουσαλίδες (π.χ. ηλιακό έγκαυμα ή έγκαυμα εντριβής με πετρέλαιο) τα οποία παρέρχονται μετά από 24-72 ώρες.

2^ο βαθμού: Έντονη ερυθρότητα με μεγάλες φουσαλίδες που περιέχουν θολερό υγρό (υποκίτρινο). Η διατήρηση της μαλπιγιανής και βασικής στοιβάδας κάνει δυνατή την ίαση των εγκαυμάτων σε διάστημα 10-20 ημερών. Χαρακτηριστικός είναι ο έντονος πόνος. Στις φουσαλίδες περιέχεται νερό, ηλεκτρολύτες και λεύκωμα. Προτιμότερο είναι να σπάζεται η φουσαλίδα ή να αναρροφάται το περιεχόμενό της διότι:

1. Λόγω της μεγάλης περιεκτικότητάς της σε λεύκωμα, ευνοείται η ανάπτυξη μικροβίων.
2. Το διατεταμένο δέρμα της φουσαλίδας με τους ανοικτούς πόρους δεν αποτρέπει την είσοδο μικροβίων και επομένως η διατήρησή της δεν αποφέρει κανένα όφελος

3. Το υγρό των φυσαλίδων περιέχει ουσίες όπως π.χ. εικοσανοειδή (αγγειοδραστικές ουσίες που προκαλούν αγγειοσύσπαση), που δρουν ανασταλτικά στον πολλαπλασιασμό των επιθηλιακών κυττάρων (Kononas 1998)

3^ο βαθμού: Πρόκειται για έγκαυμα που αφορά ολόκληρο το πάχος του δέρματος το οποίο έχει χρώμα ωχροκίτρινο ή γκρι-σταχτί, ή μαύρο, χαρακτηρίζεται από πηκτική νέκρωση του δέρματος και το σχηματισμό εγκαυματικής εσχάρας. Τα θρομβωμένα αγγεία διαφαίνονται κάτω από το νεκρωμένο δέρμα. Επίσης είναι εγκαύματα σκληρά και χωρίς αισθητικότητα, λόγω καταστροφής των νευρικών απολήξεων.

4^ο βαθμού: Απανθράκωση του δέρματος και των υποκείμενων ιστών.

Η κυριότερη μέθοδος σταδιοποίησης των εγκαυμάτων που αφορά την εκτίμηση του βάθους του εγκαύματος είναι:

- Μερικού πάχους δέρματος εγκαύματα, στα οποία η κυτταρική βλάβη δεν υπερβαίνει τα κατώτερα στρώματα του δέρματος. Ανάλογα με το βάθος της βλάβης διακρίνονται σε επιπολής και βαθιά. Τα επιπολής αντιστοιχούν στα εγκαύματα 1^ο βαθμού με νέκρωση της επιδερμίδας, ενώ τα βαθιά, με νέκρωση της επιδερμίδας και του χορίου, αντιστοιχούν στα εγκαύματα 2^ο βαθμού.
- Ολικού πάχους δέρματος εγκαύματα, τα οποία αντιστοιχούν στα εγκαύματα 3^ο βαθμού, με νέκρωση της επιδερμίδας, του χορίου, του υποδόριου ιστού και αρκετές φορές και των υποκείμενων μυών.

Για τη βαρύτητα ενός εγκαύματος πρέπει να συνεκτιμηθούν οι εξής παράμετροι:

- Βάθος καταστροφής των ιστών (μερικού πάχους-ολικού πάχους εγκαύματα).
- Έκταση του εγκαύματος ως προς την ολική επιφάνεια σώματος («κανόνας των 9»).

- Το αίτιο του εγκαύματος
- Οι συνθήκες πρόκλησης του εγκαύματος
- Η εντόπιση του εγκαύματος (πρόσωπο, τράχηλος, περίνεο κ.λ.π.).
- Συνύπαρξη άλλων τύπων κακώσεων (κατάγματα κ.λ.π.).
- Η ηλικία του ασθενούς (τα παιδιά και οι ηλικιωμένοι είναι περισσότερο ευάλωτοι).

Για τον υπολογισμό της έκτασης του εγκαύματος χρησιμοποιείται ο «Κανόνας των 9» ή αλλιώς κανόνας του «Wallace». Το κεφάλι και κάθε άνω άκρο καταλαμβάνει 9%, το κάθε κάτω άκρο και κάθε πρόσθια και οπίσθια επιφάνεια του κορμού το 18%, ενώ η επιφάνεια του περινέου το 1%, της ολικής επιφάνειας σώματος. Ο πίνακας αυτός εφαρμόζεται μόνο σε ενήλικες, ενώ για τα παιδιά που έχουν διαφορετικές αναλογίες στα διάφορα μέρη του σώματος χρησιμοποιούνται άλλοι πίνακες π.χ. Lund-Browder, υπολογίζουν με ακρίβεια την έκταση του εγκαύματος ανάλογα με την ηλικία. Για τα βρέφη το κεφάλι καταλαμβάνει το 20%, ο κορμός το 31%, κάθε άνω άκρο από 10%, κάθε κάτω άκρο από 14% και η επιφάνεια του περινέου το 1% της ολικής επιφάνειας σώματος. Για τα παιδιά το κεφάλι καταλαμβάνει το 14%, ο κορμός το 31%, κάθε άνω άκρο από 10%, κάθε κάτω άκρο από 17% και η επιφάνεια του περινέου το 1% της ολικής επιφάνειας σώματος

Οι Lund και Browder ανακοίνωσαν ότι η επιφάνεια κάθε χεριού αποτελούσε 2.5% της επιφάνειας σώματος και περιλαμβάνει το δέρμα στις δύο πλευρές του χεριού και ανάμεσα από τα δάκτυλα (Amirshaybani *et al.* 2001). Παραδοσιακά η επιφάνεια της παλάμης έχει εκτιμηθεί ότι αντιπροσωπεύει το 1.0% της επιφάνειας σώματος.

1.2.5 Ποια εγκαύματα αντιμετωπίζονται σε Νοσοκομείο

Στο Νοσοκομείο εισάγονται τα εγκαύματα μέσης βαρύτητας:

- Τα εγκαύματα μερικού πάχους δέρματος με έκταση 15-25 % της επιφάνειας σώματος σε ενήλικες (10-20% αντίστοιχα στην παιδική ηλικία).
- Τα εγκαύματα ολικού πάχους δέρματος με έκταση <10% της επιφάνειας σώματος (εξαιρούνται περιοχές μεγάλης λειτουργικής και αισθητικής σπουδαιότητας όπως πρόσωπο, χέρια περίνεο) (Sbarounis 1989).

Σε ειδικά τμήματα ή κέντρα εγκαυμάτων εισάγονται τα εγκαύματα μεγάλης βαρύτητας:

- Εγκαύματα μερικού πάχους δέρματος >25% της επιφάνειας σώματος στους ενήλικες και 20% σε παιδιά.
- Όλα τα εγκαύματα ολικού πάχους δέρματος και βαθύτερα (τρίτου και τετάρτου βαθμού) >10% της επιφάνειας σώματος
- Εγκαύματα προσώπου, χεριών, ποδιών, περινέου, ανεξαρτήτως βαθμού
- Ηλεκτρικά εγκαύματα ρεύματος υψηλής τάσεως και χημικά εγκαύματα
- Εγκαύματα με συμμετοχή των αναπνευστικών οδών
- Εγκαύματα που συνοδεύονται από κατάγματα ή άλλες μηχανικές κακώσεις
- Η συνύπαρξη άλλης πάθησης π.χ. σακχαρώδης διαβήτης, καρδιακή ανεπάρκεια ή αναπνευστική ανεπάρκεια, ανοσοκαταστολή
- Εγκαύματα σε υπερήλικες, βρεφική-νηπιακή ηλικία (Sbarounis 1989; Kononas 1998).

Αντικατάσταση των απολεσθέντων υγρών με παρεντερικά διαλύματα γίνεται σε εγκαύματα με έκταση πάνω από 15% στους ενήλικες και πάνω από 10% στα παιδιά. Η

επαναπλήρωση υγρών πραγματοποιείται βάσει της Parkland formula (Ioannovits *et al.* 1989).

1.2.6 Τοπική φροντίδα του εγκαύματος

Σημαντικό στην επούλωση του εγκαύματος θεωρείται η εξασφάλιση κατάλληλου περιβάλλοντος που να ευνοεί την αναπαραγωγή του απωλεσθέντος δέρματος.

Μετά την αρχική φάση της ανάνηψης ακολουθεί η μακρά περίοδος φροντίδας του εγκαυματία, γίνονται καθημερινές αλλαγές σε εγκαύματα μεγάλης έκτασης και όχι σε εγκαύματα μικρής έκτασης και χρησιμοποιούνται τοπικοί χημειοθεραπευτικοί παράγοντες μόνο στα βαθιά μερικού ή ολικού πάχους εκτεταμένα ή επιμολυσμένα εγκαύματα.

Οι τοπικοί χημειοθεραπευτικοί παράγοντες που χρησιμοποιούνται είναι:

1. Αλοιφή σουλφαδιαζινικού αργύρου (διάλυμα 1%) που είναι το ισχυρότερο χρησιμοποιούμενο χημειοθεραπευτικό. Παρουσιάζει μέτρια διείσδυση στην εγκαυματική εσχάρα, έχει βακτηριοστατικές ιδιότητες, είναι δραστικό για Gram (-) μικρόβια και σε σπάνιες περιπτώσεις προκαλεί παροδική λευκοπενία και μεθαιμοσφαιριναιμία (Kononas 1998; Sbarounis 1989).

2. Διάλυμα Νιτρικού Αργύρου (0.5%). Χρησιμοποιούνται γάζες που διαβρέχονται με το συγκεκριμένο διάλυμα συχνά, ώστε να διατηρούνται υγρές. Χρωματίζει μαύρους τους ιστούς και λόγω του ότι το διάλυμα είναι υπότονο, ίσως υπάρχει κίνδυνος εμφάνισης ηλεκτρολυτικών διαταραχών (Kononas 1998; Sbarounis 1989).

3. Αλοιφή ή επιθέματα (10%) ιωδιούχου πολυβινυλπυρολιδόνης (Betadine), ένα πολύ καλό αντισηπτικό για πλήθος μικροβίων και μυκήτων. Μειονεκτεί λόγω του ότι προκαλεί ρίκνωση των πληγών με περιορισμό έτσι της δυνατότητας κινήσεων.

4. Οξική μαφενίδη (διάλυμα 11%) (δεν κυκλοφορεί ευρέως στην Ελλάδα), η οποία διεισδύει στη νεκρωτική εσχάρα και αποτελεί ισχυρό βακτηριοστατικό. Προκαλεί πόνο κατά την εφαρμογή της και επίσης αναστολή της καρβονικής ανυδράσης, με αποτέλεσμα την εμφάνιση μεταβολικής οξέωσης (Kononas 1998; Sbarounis 1989).

Αντιβιοτικά χορηγούνται μόνο μετά τη λήψη καλλιέργειας και σύμφωνα με το αντιβιογράμμα για αποφυγή ανάπτυξης ανθεκτικών στελεχών (Kononas 1998).

1.3 Η πορεία της επούλωσης σε εγκαύματα μερικού και ολικού πάχους δέρματος

1.3.1 Επιπολής μερικού δερματικού πάχους έγκαυμα

Πρόκειται για έγκαυμα το οποίο θα επουλωθεί χωρίς να αφήσει ουλή. Υπάρχει πλήρης καταστροφή της επιδερμίδας, αλλά οι τριχικοί θύλακες, οι σμηγματογόνοι και ιδρωτοποιοί αδένες διατηρούνται ανέπαφοι. Το επιθήλιο αναπαράγεται από επιζώντες επιθηλιακούς ιστούς, εξαπλώνεται και εξασφαλίζει μια δερματική επιφάνεια, από την οποία απολεπίζονται τα επιπολής νεκρά στρώματα, αποκαλύπτοντας δέρμα καλής ποιότητας και ελαστικότητας, το οποίο με τον καιρό είναι πανομοιότυπο με το φυσιολογικό (Kononas 1998).

1.3.2 Βαθύ μερικού δερματικού πάχους έγκαυμα

Σ' αυτό το έγκαυμα οι σμηγματογόνοι αδένες και ένα μεγάλο μέρος του χορίου έχουν καταστραφεί και έχουν διασωθεί σε βαθύτερα στρώματα μερικοί τριχικοί θύλακες και

ιδρωτοποιοί αδένες. Το όριο της καταστροφής του δέρματος φθάνει μέχρι το υποδόριο στα σημεία που αυτό προβάλλει μέσα στο χόριο (τρούλοι λίπους). Αυτό το βάθος εγκαύματος γίνεται ορατό κατά το στάδιο αποκόλλησης της εγκαυματικής εσχάρας. Τα ελάχιστα νησίδα επιθηλίου είναι αρκετά για την επανεπιθηλιοποίηση της επιφάνειας, αλλά αυτή η διαδικασία είναι χρονοβόρα, το δέρμα που πρόκειται να επουλωθεί δεν είναι πολύ καλής ποιότητας και συχνά εμφανίζει υπερτροφικές ουλές.

Τέλος συχνά το επιθήλιο που προκύπτει είναι ασταθές με αποτέλεσμα να παρατηρούνται συχνά φλύκταινες και μικρές εξελκώσεις στο επουλωθέν δέρμα καθώς και βασανιστικός κνησμός (Kononas 1998).

1.3.3 Ολικού δερματικού πάχους έγκαυμα

Στο έγκαυμα αυτού του τύπου έχει καταστραφεί όλο το πάχος δέρματος και δεν υπάρχουν επιζώντα επιθηλιακά στοιχεία. Έχει πειραματικά αποδειχθεί ότι, οι νεκρώσεις δεν αντιστοιχούν ακριβώς στην επιφάνεια που δέχθηκε τη θερμική επίδραση, αλλά είναι κατά 30% περίπου μεγαλύτερες. Αυτό εξηγείται από το ότι μόλις η επιφάνεια του σώματος έλθει σε επαφή με τη θερμότητα προκαλείται αγγειοδιαστολή και τελικά κατάργηση του αγγειακού τόνου με αποτέλεσμα στάση του αίματος, θρόμβωση των τριχοειδών, κακή οξυγόνωση των κυττάρων και τελικά νέκρωσή τους. Έτσι αυξάνεται η έκταση αλλά και το βάθος του εγκαυματικού τραύματος.

Δημιουργείται η χαρακτηριστική εσχάρα ολικού πάχους δέρματος, δηλαδή η περιοχή γίνεται ξηρή, σκληρή και χρώματος μαύρου, στους υγιείς ιστούς κάτω από την εσχάρα η κυτταρική και τριχοειδική δραστηριότητα παράγει ένα στρώμα κοκκιώδους ιστού, η ενζυμική δραστηριότητα του οποίου χαλαρώνει την εσχάρα, η οποία τελικώς αποκολλάται

εν καιρώ και αποκαλύπτεται η ερυθρή επιφάνεια του κοκκιώδους ιστού. Εφόσον ο κοκκιώδης ιστός στερείται επιθηλιακών κυττάρων, η επούλωση της περιοχής επιτυγχάνεται από την επικάλυψη με κύτταρα του υγιούς επιθηλιακού όχθου.

Αρχικά η επούλωση γίνεται με γρήγορους ρυθμούς, όσο όμως το επιθήλιο αναπτύσσεται μακριά από την αρχική του θέση, αρχίζει η καθυστέρηση της επιθηλιοποίησης και τελικά η διακοπή της. Έτσι εάν η επιφάνεια του εγκαύματος δεν καλυφθεί με δερματικό μόσχευμα, μπορεί να παραμείνει «ανοιχτή» για πολλά χρόνια.

Στα βαθύτερα στρώματα ταυτόχρονα αρχίζει η εναπόθεση κολλαγόνου. Ακολουθεί μείωση της αιμάτωσης και τελικά ο ιστός μετατρέπεται σε ουλώδη ιστό. Από τα επιφανειακά στρώματα του κοκκιώδους ιστού παράγεται ορός, ο οποίος πήζει και διηθείται από κύτταρα και νεοτριχοειδή, παράγοντας νέο κοκκιώδη ιστό. Καθώς η επιφάνεια παραμένει χωρίς επιθήλιο, παράγεται συνεχώς κοκκιώδης ιστός, ενώ τα βαθύτερα στρώματα μετατρέπονται σε ουλώδη ιστό. Όταν σχηματιστεί ο ουλώδης ιστός, αρχίζει να ρικνούται και η ρίκνωση αυτή είναι η αιτία παραμόρφωσης του δέρματος των εγκαυματιών.

Σε ακάλυπτες εγκαυματικές επιφάνειες ακολουθεί εποικισμός μικροβίων με επιβλαβείς συνέπειες τοπικές και συστηματικές. Επίσης αποτελούν πηγές απώλειας πρωτεϊνών και ερυθρών αιμοσφαιρίων, γεγονός που σημαίνει εξασθένιση των εφεδριών του πάσχοντος (Kononas 1998).

1.3.4 Επούλωση εγκαύματος σε επίμυες

Η μελέτη επούλωσης εγκαύματος ολικού πάχους δέρματος σε επίμυες Wistar με βάση την ιστολογική εκτίμηση βιοπτικών τεμαχίων που ελήφθησαν κατά την 7^η, 16^η, και 30^η ημέρα μετά

το έγκαιμα, ανέδειξε ότι ο αριθμός των ουδετερόφιλων, των ινοβλαστών και των αιμοφόρων αγγείων ήταν χαμηλός την 7^η μετεγκαυματική ημέρα, ενώ ο αριθμός των μακροφάγων ήταν μεγαλύτερος σε σχέση με τις υπόλοιπες ημέρες της μελέτης. Άυξηση παρουσίασαν ο αριθμός των ουδετερόφιλων, των αιμοφόρων αγγείων, των ινοβλαστών την 16^η μετεγκαυματική ημέρα, ενώ στην 30^η μετεγκαυματική ημέρα μειώθηκαν ο αριθμός των ουδετερόφιλων και των αιμοφόρων αγγείων, ενώ ο αριθμός των ινοβλαστών παρέμεινε αμετάβλητος. Το βάθος της νεοσχηματισθείσας επιδερμίδας την 7^η μετεγκαυματική ημέρα δεν παρουσίασε διαφορές με αυτό της 16^{ης} μετεγκαυματικής ημέρας, διαπιστώθηκε όμως μικρή μείωση την 30^η μετεγκαυματική ημέρα. Το νεοσχηματισθέν χόριο είχε σταθερό βάθος και σχεδόν αμετάβλητο κατά την 7^η, 16^η, 30^η μετεγκαυματική ημέρα (Bayat *et al.* 2006).

Σε μια άλλη μελέτη με ποντίκια Sprague-Dawley η αγγειοποίηση εντοπίστηκε την 10^η μετεγκαυματική ημέρα, με ολοκλήρωση αυτής την 20^η μετεγκαυματική ημέρα και παρόμοια εικόνα την 30^η μετεγκαυματική ημέρα. Η επιθηλιοποίηση αναδείχθηκε την 10^η μετεγκαυματική ημέρα, με προοδευτική αύξησή της έως την 30^η μετεγκαυματική ημέρα καθώς και παρόμοια άνοδο στα κυτταρικά συστατικά. Η παρουσία κοκκιώδους ιστού εκτιμήθηκε κατά την 10^η μετεγκαυματική ημέρα, με αύξηση την 20^η μετεγκαυματική ημέρα και μικρή μείωση την 30^η μετεγκαυματική ημέρα (Schlager *et al.* 2000).

Στην ίδια μελέτη η μακροσκοπική εκτίμηση έδειξε ότι η επιθηλιοποίηση άρχισε κατά την 6^η μετεγκαυματική ημέρα με προοδευτική αύξηση στις επόμενες ημέρες και ολοκλήρωσή της την 30^η μετεγκαυματική ημέρα. Η ερυθρότητα ήταν έντονη την 2^η μετεγκαυματική ημέρα με μεγαλύτερη επίταση την 4^η μετεγκαυματική ημέρα και προοδευτική μείωση έως την 15^η μετεγκαυματική ημέρα, ενώ τις ακόλουθες ημέρες εξαφανίστηκε (Schlager *et al.* 2000).

1.3.5 Χειρουργική αντιμετώπιση των εγκαυμάτων

Σε περιπτώσεις εγκαυμάτων εν τω βάθει μερικού ή ολικού πάχους δέρματος είναι αναγκαία η κάλυψη με δερματικό μόσχευμα (αυτομοσχεύματα), το οποίο λαμβάνονται από τον ίδιο τον εγκαυματία. Τα δερματικά μοσχεύματα λαμβάνονται με δερμοτόμο και είναι σχεδόν αποκλειστικά μερικού πάχους δέρματος. Ο δερμοτόμος μπορεί να είναι χειροκίνητος ή ηλεκτρικός, τα δε μοσχεύματα περιλαμβάνουν την επιδερμίδα και μέρος από το χόριο, ενώ το πάχος τους κυμαίνεται από 0.35 mm έως 0.45 mm. Η περιοχή απ' όπου λαμβάνονται τα μοσχεύματα (δότηρια περιοχή), αφήνεται να επουλωθεί από μόνη της, αφού όπως και στα εγκαύματα μερικού πάχους διασώζονται τα επιθηλιακά στοιχεία από τα οποία μπορεί να γίνει η ανάπλαση του δέρματος (Kononas 1998-2000)

Η κλίμακα σχηματισμού ουλής Vancouver (Vancouver Scar Scale, VSS) χρησιμοποιείται γενικά ως εργαλείο προσδιορισμού της εγκαυματικής ουλής. Η κλίμακα αξιολόγησης VSS περιλαμβάνει 4 μεταβλητές: αγγείωση, ύψος, ελαστικότητα και χρώση. Η VSS επιτρέπει την κλινική εκτίμηση αυτών των τεσσάρων παραμέτρων. Η VSS δημιουργήθηκε στην προσπάθεια του προσδιορισμού της ουλής και χαίρει ευρείας αποδοχής από τους ειδικούς που ασχολούνται με τη φροντίδα των εγκαυμάτων. Πολλές τροποποιήσεις έχουν περιγραφεί μεταγενέστερα σε μια προσπάθεια βελτίωσης της εγκυρότητας και της ακρίβειάς της. Ανεξάρτητα από αυτές τις τροποποιήσεις, η VSS παραμένει μια υποκειμενική προσέγγιση με μια πρωτότυπη κλίμακα (Baryza *et al.* 1995; Pradier *et al.* 2007; Lye *et al.* 2006; Truong *et al.* 2005; Avery *et al.* 2005; Martin *et al.* 2003; Rennekampff *et al.* 2006).

Σήμερα με τη φαρμακευτική και τεχνολογική υποστήριξη των βασικών λειτουργιών του εγκαυματία σε Μονάδες Εγκαυμάτων, αυξήθηκε ο αριθμός των εγκαυματιών που επιβιώνουν με πολύ εκτεταμένα εγκαύματα (Kononas 1998-2000).

1.4 Η επίδραση της θερμότητας σε μακρομόρια ιστών και οι μεταβολές της κυτταρικής δομής μετά από θερμικό έγκαυμα

Το θερμικό έγκαυμα μπορεί να γίνει περισσότερο κατανοητό εάν εξετάσουμε τη συμπεριφορά των κυτταρικών συστατικών σε θερμοκρασίες μεγαλύτερες της φυσιολογικής. Οι υψηλές θερμοκρασίες προκαλούν μετατροπή της τρισδιάστατης διαμόρφωσης πολλών βιομορίων (πρωτεϊνών και οργανιδίων), γεγονός που συχνά οδηγεί σε αμετάκλητες καταστάσεις (μετουσίωση), οι οποίες επηρεάζουν τη βιωσιμότητα του κυττάρου και στοχεύουν στον κυτταρικό θάνατο.

Η θερμική μετουσίωση των πρωτεϊνών και η διάσπαση των οργανιδίων περιλαμβάνουν ενδομοριακή αναδόμηση και ενδομοριακή διοργάνωση. Η κινητική αυτών των διαδικασιών εξαρτάται από την ισχύ των χημικών δεσμών, την πυκνότητα, τη διαλυτότητα, και τις αλληλεπιδράσεις με περιβάλλοντα μακρομόρια όπως είναι οι μοριακοί συνοδοί (molecular chaperones). Μολαταύτα, η τελική τρισδιάστατη δομή μιας πρωτεΐνης πάντοτε καθορίζεται από την αλληλουχία των αμινοξέων της: οι μοριακοί συνοδοί απλώς καθιστούν τη διεργασία της πτύχωσης πιο αξιόπιστη (Alberts *et al.* 2000). Παρά το γεγονός ότι η κινητική της θερμικής βλάβης καθορίζεται από τις κυτταρικές δομές εξαρτάται από πλήθος παραγόντων στο χημικό περιβάλλον, η πειραματική παρατήρηση της εγκαυματικής βλάβης συνιστά ότι η εγκαυματική βλάβη μπορεί να περιγραφεί με μια μοναδική αντιπροσωπευτική εξίσωση (Σχήμα 1).

Μια τυπική προσέγγιση για τον υπολογισμό της ενδοκυττάριας κινητικής είναι η διόρθωση των χημικών κινητικών ρυθμών που μετρήθηκαν σε αραιωμένο διάλυμα για ποικίλα αποτελέσματα όπως η μοριακή συμφόρηση και ο ρυθμός θέρμανσης. Αυτή η ανάλυση αναδεικνύει μόνο μια αδρή προσέγγιση στον πολύπλοκο μηχανισμό της εγκαυματικής βλάβης. Πολύ σημαντικά βιομόρια όπως οι μοριακοί συνοδοί (chaperones),

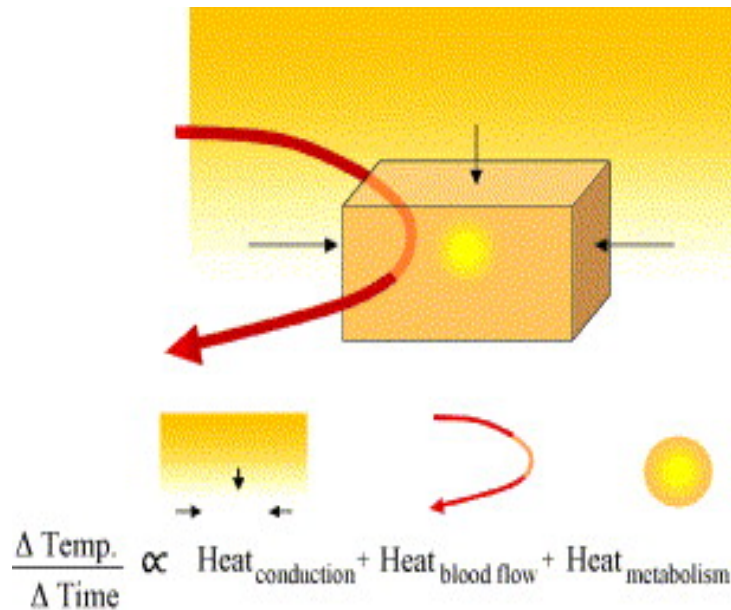
συστατικά ανοσίας και κυτοκίνες, που μπορούν να προσφέρουν σταθερότητα σε απάντηση στη θερμική βλάβη, είχαν περιφρονηθεί μέχρι τώρα. Κάτω από αυτές τις συνθήκες, πραγματοποιήθηκε έρευνα με σκοπό την ανακάλυψη κάποιων υποψήφιων πρωτεϊνών και κυτταρικών δομών που θα μπορούσαν να καθορίσουν την επιβίωση των ιστών μετά από μια εγκαυματική βλάβη (Despa *et al.* 2005).

1.4.1 Ρυθμός μεταφοράς θερμότητας σε ζώντες ιστούς

Ένα τυπικό έγκαυμα χωρίζεται σε ζώνες βλάβης αντανακλώντας το γεγονός ότι το εύρος των θερμοκρασιών δεν είναι ομοιογενές στον ιστό. Η εξίσωση της μεταφοράς θερμότητας σε ζώντες ιστούς, υποστηρίζει ότι ο ρυθμός μεταβολής της θερμοκρασίας σε ένα μικρό όγκο ιστού είναι ίσος με το άθροισμα της μεταφοράς θερμότητας από τους περιβάλλοντες ιστούς (αγωγή) και της μεταφοράς θερμότητας από το αίμα που διαχέεται προκαλώντας απόφραξη. Στο μοντέλο αυτό περιλαμβάνεται και ένας όρος που αφορά τη θερμότητα λόγω μεταβολισμού που παράγεται από τα κύτταρα. Θεωρείται όμως αμελητέα για θερμικές βλάβες που εμφανίζονται μετά από μικρό χρονικό διάστημα.

Η μαθηματική εξίσωση για το μοντέλο μεταφοράς θερμότητας σε ζωντανούς ιστούς είναι η εξής:

$$pc \frac{\partial T}{\partial t} = \nabla k \nabla T + \omega_b p_b c_b (T - T_b) \text{ (Despa } et al. \text{ 2005).}$$



Σχήμα 1: Εξίσωση μεταφοράς θερμότητας σε ζωντανούς ιστούς η οποία προσδιορίζει το ρυθμό της μεταβολής της θερμοκρασίας σε ένα μικρό όγκο ιστού (Από Despa *et al.* 2005).

όπου ρ είναι η πυκνότητα, c είναι η θερμοχωρητικότητα και k είναι η αγωγιμότητα του ιστού, b είναι ένας δείκτης των φυσικών ιδιοτήτων του αίματος και ω_b είναι η φυσιολογική διάχυση του αίματος στον ιστό. Πειραματικές παρατηρήσεις της διάχυσης του αίματος έδειξαν ότι η μεταφορά θερμότητας εμφανίζεται πρωταρχικά σε επίπεδο αρτηριολίων και όχι σε επίπεδο τριχοειδών. Αυτό ίσως εξηγεί για ποιο λόγο συχνά απουσιάζει η θερμική βλάβη γύρω από μερικά μικρά αιμοφόρα αγγεία.

1.4.2 Μετουσίωση των μορίων με την επίδραση της θερμότητας

Η εκδίπλωση της πρωτεΐνης μπορεί να συμβεί και σε θερμοκρασία σώματος τυπικά όμως τα κύτταρα έχουν την ικανότητα να ανθίστανται ή να επιδιορθώνουν αυτή τη βλάβη. Στο κυτταρόπλασμα των κυττάρων, ένας μεγάλος αριθμός διαλυτών και αδιάλυτων συστατικών συνυπάρχει σε διαφορετικές συγκεντρώσεις, κάποιες φορές σε πολύ υψηλές

συγκεντρώσεις που εξαρτώνται από φυσιολογικές και περιβαλλοντικές συνθήκες. Η συγκέντρωση των μακρομορίων στο κυτταρόπλασμα ποικίλλει σε μια κλίμακα των 80-200 mg/ml. Οι απαιτήσεις για μια πρωτεΐνη να εκδιπλωθεί σε ένα τόσο πυκνό διάλυμα είναι πολύ μεγαλύτερες από τις απαιτήσεις να εκδιπλωθεί σε ένα αραιωμένο διάλυμα. Η συσσώρευση επηρεάζει την τιμή της θερμοκρασίας τήξης της πρωτεΐνης (Li *et al.* 2001). Για παράδειγμα η θερμοκρασία τήξης της ακτίνης αυξάνεται έως και 5° C κατά προσέγγιση με την παρουσία 100 mg/ml PEG-6000 (πολυαιθυλενογλυκόλης, polyethylene-glycole), ενός μη ιονικού επιφανειοδραστικού παράγοντα (Tellam *et al.* 1983). Πειράματα έχουν δείξει ότι οι πρωτεΐνες που περικλείονται σε μικρούς πόρους σε υδατικούς υάλους διοξειδίου του πυριτίου, έχουν μια αυξανόμενη σταθερότητα όταν θερμαίνονται (Eggers and Valentine 2001).

Μετά από εξονυχιστικές πειραματικές διαδικασίες συλλέχθηκαν οι θερμοκρασίες τήξης για 12 πρωτεΐνες ζωτικής σημασίας όπως του DNA, RNA, και συστατικών της κυτταρικής μεμβράνης. Τα δεδομένα συλλέχθηκαν με τιμές του pH όσο το δυνατό πλησιέστερες των φυσιολογικών τιμών π.χ. pH \approx 7.

Molecule	Temperature (°C)														
	40	42	44	46	48	50	52	54	56	58	60	62	64	66	
lipid bilayer	0.02	2	74	100											
spectrin												0.02	2		
NKP							0.01	4	95	100					
PMCP						1.3	23	87.4	100						
SRCP											7	88	100		
DNA										5	72	100			
RNA											1	35	96		
histone					3	59	98	100							
cytochrome c												3	59	89	
ATP synthesis e										1	62	100			
F actin															
myosin									6	86	100				
tubulin									1	69	100				
apoCam												3	55	92	
collagen												2	33	93	100

Πίνακας 1: Παρατηρείται το % ποσοστό μετουσίωσης για επιλεγμένες πρωτεΐνες μετά από έκθεση 20 sec σε θερμοκρασίες μεταξύ 40 και 66° C (Από Despa *et al.* 2005).

Molecule	time (s)																		
	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	
lipid bilayer	0.3	98	100																
spectrin																			
NKP							1	35	95	100									
PMCP				13	74	97	100												
SRCP												1	5	10	25	41	65	86	
DNA								1	11	43	78	93	100						
RNA											2	6	17	36	58	75	86	92	95
histone			4	16	94	100													
cytochrome c														3	8	15	21	40	54
ATP synthesis e									1	17	74	96	100						
F actin																			
myosin						6	55	94	100										
tubulin									11	92	100								
apoCam														3	7	14	24	37	50
collagen											2	7	18	34	53	69	81	88	92

Πίνακας 2: Παρατηρείται το % ποσοστό μετουσίωσης διαφόρων κυτταρικών συστατικών σε T= 80° C σε συνάρτηση με το χρόνο (από 3 έως 20 sec) (Orgill *et al.* 1998) στο μεσόδερμα (Από Despa *et al.* 2005).

Όπως φαίνεται στον Πίνακα 1, η θερμοκρασία των 44° C είναι ανεκτή από όλα τα κυτταρικά συστατικά εκτός από τη λιπιδιακή διπλοστοιβάδα. Η λιπιδιακή διπλοστοιβάδα υφίσταται μετουσίωση κατά 2% για αύξηση της θερμοκρασίας μόνο κατά 2° C, από 42 σε 44° C. Μια αύξηση της θερμοκρασίας στους 45° C οδηγεί σε ταχεία μετουσίωση αυτού του μεμβρανικού συστατικού.

Η διαδικασία εφαρμόστηκε με κατεύθυνση από την κυτταρική μεμβράνη διαμέσου του κυτταροπλάσματος προς τον πυρήνα, έτσι ώστε το επίπεδο μετουσίωσης κάποιων επιλεγμένων πρωτεϊνών το οποίο προκαλείται από επιλεγμένες θερμοκρασίες να είναι καλύτερα ορατό.

Molecule	Time (s)																	
	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
lipid bilayer	2 23 79 97 100																	
spectrin																		
NKP																		
PMCP	2 3 5 8 13 18 25																	
SRCP																		
DNA																		
RNA																		
histone	2 4 9 16 26 38 50 61																	
cytochrome c																		
ATP synthesis e																		
F actin																		
myosin																		
tubulin																		
apoCam																		
collagen																		

Πίνακας 3. Παρατηρείται το αναμενόμενο % ποσοστό μετουσίωσης διαφόρων κυτταρικών συστατικών σε T=80° C στη διαχωριστική επιφάνεια μεσοδέρματος – χορίου (fat dermis interface) (Despa *et al.* 2005).

1.4.3 Μεμβρανικές πρωτεΐνες

Η λιπιδιακή διπλοστοιβάδα (lipid bilayer) υφίσταται ποσοστό μετουσίωσης 2% για αύξηση της θερμοκρασίας για 2° C μόνο, από 42° C έως 44° C. Μεγαλύτερη αύξηση της θερμοκρασίας στους 45° C, οδηγεί ταχέως σε 50% μετουσίωση του εν λόγω μεμβρανικού συστατικού. Η υπερθερμία που ευθύνεται για παραγωγή φυσαλίδων σχετίζεται με τον κυτταρικό θάνατο στους 45.5° C (Borrelli *et al.* 1986).

Στα ανθρώπινα ερυθρά αιμοσφαίρια υπάρχουν τρεις τύποι πρωτεϊνών η σπεκτρίνη (spectrin), η γλυκοφορίνη και η ζώνη III (band III), οι οποίες αποτελούν πάνω από 60% του βάρους του συνόλου των πρωτεϊνών. Η σπεκρίνη αποτελεί το μεγαλύτερο μέρος της μάζας των μεμβρανικών πρωτεϊνών (30%) (Filimonov *et al.* 1999). Σχετικά με άλλα βιομόρια η σπεκτρίνη παρουσιάζει σταθερότητα, αφού λιγότερο από 3% εκδιπλώνεται στους 66° C.

Εκτιμήθηκε επίσης το επίπεδο μετουσίωσης σε δύο μεμβρανικές ATPάσες: της αντλίας Na^+/K^+ και της αντλίας Ca^{++} . Η αντλία Na^+/K^+ (NKP= Na^+/K^+ pump), διατηρεί το ηλεκτροστατικό δυναμικό διαμέσου της κυτταροπλασματικής μεμβράνης. Το θερμογράφημα της θερμικής τους μετουσίωσης δείχνει την εκδίπλωση σε τρεις σχετικές περιοχές με μέσο σημείο μετάβασης της θερμοκρασίας ($T_1=47.6^\circ\text{C}$, $T_2 = 54.5^\circ\text{C}$, $T_3 = 58.5^\circ\text{C}$ (Grinberg *et al.* 2001). Η θερμοκρασία εκδίπλωσης της πρώτης περιοχής, δεν είχε κανένα αποτέλεσμα στη δραστηριότητα του ATP. Η δεύτερη περιοχή θερμοκρασιών σχετίζεται περισσότερο με μια σημαντική αναταραχή της δραστηριότητας του ATP σε υψηλές θερμοκρασίες. Τα αποτελέσματα φαίνονται στους άνω πίνακες.

Η αντλία Ca^{++} μεταφέρει Ca^{++} προς τον εξωκυττάριο χώρο και προς το σαρκοπλασματικό δίκτυο (sarcoplasmic reticulum, SR). Η αντλία Ca^{++} της κυτταροπλασματικής μεμβράνης (PMCP) είναι πολύ ευαίσθητη στη θερμότητα. Η συνεχής

άνοδος της θερμοκρασίας ίσως οδηγήσει σε δημιουργία συσσωματωμάτων ενδομεμβρικών πρωτεϊνών τα οποία σχετίζονται με αμετάκλητες λειτουργικές μεταβολές. Είναι ενδιαφέρον το γεγονός ότι, όπως φαίνεται και από τους πίνακες, η αντλία Ca^{++} του σαρκοπλασματικού δικτύου (SRCP) είναι περισσότερο σταθερή στην επίδραση της θερμότητας από την PMCP. Η SRCP είναι η μόνη κυρίαρχη πρωτεΐνη στο σαρκοπλασματικό δίκτυο και είναι υπεύθυνη για το 90% περίπου των πρωτεϊνών του σαρκοπλασματικού δικτύου (Despa *et al.* 2005; Lerock 2003).

1.4.4 Πρωτεΐνες του πυρήνα

Η παρεμπόδιση της γονιδιακής μεταγραφής ή μετάφρασης θα οδηγήσει σε κυτταρικό θάνατο. Υπάρχουν διαθέσιμα δεδομένα για τη θερμική σταθερότητα συγκεκριμένων τμημάτων του DNA. Στους πίνακες αναγράφονται οι προβλεπόμενες τιμές για την μεταβολή λόγω θερμότητας των διπλών αλληλουχιών dGCATAATACGT/d του DNA (Wu *et al.* 2002) και ACCUUUGC του RNA (Xia *et al.* 1998). Αν και το DNA και RNA θεωρείται ότι γενικά διατηρούν τη δομική τους σταθερότητα σε αυξανόμενες θερμοκρασίες, πιθανώς κάποια μικρά τμήματα από αυτά τα βιομόρια να μπορούν εύκολα να μεταβληθούν από τη επίδραση της θερμότητας. Για παράδειγμα η ως άνω αλληλουχία του DNA η οποία είναι η μεγαλύτερη που αναλύθηκε πειραματικά (Wu *et al.* 2002), δείχνει πιθανότητα της τάξεως του 50% να εκδιπλωθεί σε μια θερμοκρασία γύρω στους 59° C.

Έχουν εκτιμηθεί και οι τιμές της θερμικής μετουσίωσης των ιστονών (histone) (Karantza *et al.* 1995) που είναι από τις πιο πολυάριθμες χρωμοσωμικές πρωτεΐνες (6.0×10^7 καθενός τύπου ανά κύτταρο). Παίζουν σημαντικό ρόλο στις αντιδράσεις που

αφορούν το γονιδίωμα. Φαίνεται ότι η σταθερότητα στην επίδραση της θερμότητας αυτών των πρωτεϊνών είναι σημαντικά πιο χαμηλή από αυτή του DNA και του RNA (π.χ. η μετουσίωση στο μεσόδεσμα είναι πλήρης στα πρώτα 9 sec για $T = 80^{\circ}\text{C}$).

1.4.5 Πρωτεΐνες των μιτοχονδρίων

Τα μιτοχόνδρια πραγματοποιούν το μεγαλύτερο μέρος της οξυγόνωσης των κυττάρων και παράγουν τη μεγαλύτερη ποσότητα του κυτταρικού ATP. Η ενέργεια ελέγχεται από μια αλυσίδα μεταφοράς e^{-} η οποία είναι τοποθετημένη βαθιά στην εσωτερική μεμβράνη των μιτοχονδρίων και δημιουργεί μια διαμεμβρανική ηλεκτροχημική βαθμίδα πρωτονίων με άντληση πρωτονίων εκτός του στρώματος. Στους πίνακες φαίνονται οι γενικές προβλέψεις της θερμικής μετουσίωσης των 2 κύριων πρωτεϊνών που σχετίζονται με την εν λόγω διαδικασία: του κυτοχρώματος c (cytochrome c) (Liggins *et al.* 1999), που έχει θερμιδικό ρόλο στην αναπνευστική αλυσίδα, και της ATP συνθάσης (ATP synthesis e^{-}) (Wang *et al.* 1993), η οποία παράγει ATP στο στρώμα. Αυτές οι πρωτεΐνες χαρακτηρίζονται από υψηλή σταθερότητα στην επίδραση της θερμότητας, σε σχέση με άλλες που ήδη αναφέρθηκαν π.χ. παραμένουν σταθερές σε θερμοκρασία μικρότερη των 60°C .

1.4.6 Πρωτεΐνες του κυτταροσκελετού

Η ικανότητα για απόδοση σχήματος, εσωτερική οργάνωση και κίνηση εξαρτώνται από ένα σύμπλεγμα πρωτεϊνικών λεπτών νηματίων που υπάρχουν στο κυτταρόπλασμα και

δημιουργούν τον κυτταροσκελετό στα κύτταρα. Τα δύο πιο σημαντικά δομικά στοιχεία στο κύτταρο είναι τα νημάτια ακτίνης και οι μικροσωληνίσκοι. Πραγματοποιήθηκε μελέτη της θερμικής μετουσίωσης των συστατικών των μικρονηματίων, της F ακτίνης (F actin) (Bertazzon and Tsong 1990), της μυοσίνης (myosin) (Bertazzon and Tsong 1989) και της τουμπουλίνης (tubulin) (Menendez *et al.* 1998), τα οποία αποτελούν τους μικροσωληνίσκους.

Η ακτίνη παρουσιάζει μια υπολογίσιμη σταθερότητα στην επίδραση θερμότητας. Σε αντίθεση με αυτή, η μυοσίνη έχει πολύ μικρή σταθερότητα και φαίνεται να παρουσιάζει μεγαλύτερη ευαισθησία στη θερμοκρασία (πιθανότητα για εκδίπλωση στους 60° C).

Η κίνηση της ακτίνης και της μυοσίνης στα μυϊκά κύτταρα ρυθμίζεται από μια μεταστροφή της καλμοδουλίνης Ca^{2+} . Η καλμοδουλίνη (apoCam) είναι σταθερή σε προοδευτικά αυξανόμενες θερμοκρασίες και η σταθερότητά της μπορεί να αυξηθεί από την παρουσία Ca^{2+} (Hill *et al.* 2000).

1.4.7 Κολλαγόνο

Τα κολλαγόνα (collagen) είναι μια οικογένεια από ινώδεις πρωτεΐνες που αποτελούν το εξωκυττάριο στρώμα Βρίσκονται σε αφθονία στα θηλαστικά, αποτελώντας το 25% του συνόλου των πρωτεϊνών τους. Το κύριο μοντέλο όλων των μοριακών κολλαγόνων είναι μια άκαμπτη τρίκλωνη ελικοειδής δομή. Η ελικοειδής δομή του μορίου του κολλαγόνου δεν είναι σταθερή σε φυσιολογικές θερμοκρασίες (Persikov *et al.* 2004; Leikina *et al.* 2002). Η θερμική αστάθεια όμως του κολλαγόνου είναι απαραίτητη για την παραγωγή ινώδους. Η παραγωγή ινικής προσφέρει σταθερότητα στις έλικες του κολλαγόνου και αποτρέπει περαιτέρω εκδίπλωση, έτσι το κολλαγόνο ανθίσταται στη διαδικασία

δίπλωσης/εκδίπλωσης όπως ακριβώς είναι αναγκαίο, δίνοντας αντοχή και ελαστικότητα στις ίνες. Σε υψηλές θερμοκρασίες, η τριπλή ελικοειδής δομή του κολλαγόνου αρχίζει να μεταβάλλεται και ταχέως απενεργοποιείται στους 58° C. Στους πίνακες άνωθεν φαίνεται η θερμική σταθερότητα του κολλαγόνου (Despa *et al.* 2005)

1.5 Παθογόνοι μικροοργανισμοί- Μόλυνση-Άμυνα-Επιπλοκές-Θεραπεία

1.5.1 Μικροβιακή γλωρίδα του δέρματος-Ορισμοί

ΜΙΚΡΟΒΙΟ	% ΑΤΟΜΩΝ
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	85-100
<i>Staphylococcus aureus</i>	5-25
<i>Streptococcus pyogenes</i>	0-4
<i>Propionibacterium acnes</i>	45-100
<i>Diphtheroids</i>	55
<i>Clostridium perfringens</i>	40-100
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	25
<i>Moraxella</i>	5-15
<i>Candida Albicans</i>	σπάνια

Πίνακας 4. Μικροβιακή γλωρίδα του δέρματος

Μόλυνση: Είναι η εγκατάσταση και αναπαραγωγή του λοιμογόνου παράγοντα στον ανθρώπινο οργανισμό (Antoniadis *et al.* 2000).

Λοίμωξη: Είναι η εμφάνιση τοπικών ή και γενικών κλινικών σημείων και συμπτωμάτων (Antoniadis *et al.* 2000).

1.5.2 Αμυντικές δυνάμεις του οργανισμού εναντίων των μικροβίων

Το ανοσοποιητικό σύστημα είναι ένα σύνολο κυττάρων και οργάνων, τα οποία συνεργάζονται στενά μεταξύ τους με σκοπό την άμυνα και την προστασία του οργανισμού έναντι διαφόρων βλαπτικών παραγόντων που προέρχονται από το εξωτερικό ή το εσωτερικό περιβάλλον. Η λειτουργία αυτή ονομάζεται «ανοσία».

Ο όρος «ανοσία» εμφανίστηκε για πρώτη φορά το 1910 για να δηλώσει την προστασία έναντι των λοιμωδών νόσων. Σήμερα με τον όρο «ανοσία» εννοούμε κάθε απόκριση του ξενιστή έναντι ξένων συστατικών είτε αυτά είναι μικροοργανισμοί είτε είναι μακρομόρια, ανεξαρτήτως αν για τον ξενιστή αυτή η απόκριση εξελίσσεται δυσμενώς ή ενισχύει τις φυσιολογικές λειτουργίες (Mc Phee and Moutsopoulos 2000).

Η ανοσία διακρίνεται στη μη ειδική (ή φυσική ή έμφυτη), και στην ειδική. Η φυσική ανοσία υπάρχει εκ γενετής και δεν εξελίσσεται. Η ειδική ανοσία επιτυγχάνεται:

A) Όταν εκτεθεί φυσιολογικά ο οργανισμός σε ξένα αντιγόνα (ενεργός ανοσία).

B) Μεταφέροντας κύτταρα ή ορό ενός ατόμου με ενεργό ανοσία σε ένα άλλο άτομο.

Έτσι επιτυγχάνεται ανοσοποίηση στο δεύτερο άτομο κατά ενός δεδομένου αντιγόνου, χωρίς να εκτεθεί σε αυτό (παθητική ανοσία).

Φορείς της φυσικής και ειδικής ανοσίας	
ΑΝΟΣΙΑ	
Φυσική (μη ειδική)	Ειδική
Φυσικοί φραγμοί (δέρμα, βλενογόνοι)	T- λεμφοκύτταρα
Κοκκιοκύτταρα	B- λεμφοκύτταρα
Μονοπύρηνα φαγοκύτταρα	Μακροφάγα
Φυσικά φονικά κύτταρα (NK cells)	Τα προϊόντα των ανωτέρων κυττάρων
Τα προϊόντα των ανωτέρω κυττάρων	
Συμπλήρωμα	

Πίνακας 5: Φορείς της φυσικής και ειδικής ανοσίας (Από Mc Phee and Moutsopoulos 2000)

1.5.3 Επιμόλυνση του εγκαύματος με παθογόνους μικροοργανισμούς

Η μεγαλύτερη αποτυχία της ομάδας αντιμετώπισης εγκαυμάτων είναι, ο μεν ασθενής να επιζεί στην κρίσιμη περίοδο και να υποκύπτει λόγω φλεγμονής (επιμόλυνσης), η οποία είναι γνωστό ότι προκαλεί πάνω από 50% των θανάτων από έγκαυμα. Τα εγκαύματα επιμολύνονται διότι το περιβάλλον στην περιοχή της πληγής είναι ιδανικό για τον πολλαπλασιασμό του εισβάλλοντος μικροοργανισμού. Το επίπεδο της ανοσοκαταστολής του ασθενούς και η ένδεια αντισωμάτων, επιτρέπουν στους μικροοργανισμούς να πολλαπλασιαστούν ελεύθερα. Τα βακτήρια πολλαπλασιάζονται ταχύτατα, με μέσο χρόνο πολλαπλασιασμού, στις πιο ευνοϊκές συνθήκες, τα 20 λεπτά κατά προσέγγιση. Γι αυτό ένα απλό βακτηριακό κύτταρο μπορεί να αυξηθεί σε αριθμό για μια περίοδο 24 ωρών σε πάνω από 10 δισεκατομμύρια κύτταρα (Edwards-Jones and Greenwood 2003).

1.5.4 Παράγοντες κινδύνου που σχετίζονται με τη μόλυνση

Έχουν εντοπιστεί αρκετοί παράγοντες κινδύνου από μια μόλυνση εγκαύματος (Pruitt 1984). Αυτοί ταξινομούνται στους παράγοντες που προέρχονται από τον ασθενή (η έκταση του εγκαύματος, η ηλικία του ασθενούς, η ύπαρξη προϋπάρχουσας ασθένειας, η θερμοκρασία και η αφυδάτωση της πληγής, δευτερογενής δυσχέρεια της αιματικής ροής και οξείδωση) και οι παράγοντες που οφείλονται σε μικρόβια (λοιμογόνος δύναμη, ο αριθμός των μικροοργανισμών, η κινητικότητα, εξωκυτταρικά προϊόντα όπως πρωτεΐνάσες, κολλαγενάσες, υαλουρονιδάση, εξωτοξίνες και μικροβιακή αντίσταση).

1.5.5 Παθογόνα βακτήρια που σχετίζονται με μόλυνση της πληγής

Οι παθογόνοι μικροοργανισμοί που συνήθως απομονώνονται από εγκαυματικές επιφάνειες είναι οι: *Staphylococcus aureus* (75%), *Pseudomonas aeruginosa* (25%), *Streptococcus Pyogenes* (20%) και διάφορα κολοβακτηρίδια (5%). Άλλοι, όπως οι στρεπτόκοκκοι, αναερόβιοι μικροοργανισμοί και μύκητες (*Candida Albicans* και *Aspergillus fumigates*), μπορούν επίσης να προκαλέσουν μόλυνση. Μικρότερα εγκαύματα τείνουν να μολυνθούν με Gram (+) βακτήρια όπως *Staphylococcus aureus* αν και στο μεγαλύτερο ποσοστό τα εγκαύματα επιμολύνονται με *Staphylococcus aureus* και *Pseudomonas aeruginosa* (Edwards-Jones and Greenwood 2003).

1.5.6 Σηψαιμία από σταφυλόκοκκο σε εγκαύματα

Οι σταφυλόκοκκοι, ειδικά ο *Staphylococcus aureus*, προκαλούν επιμολύνσεις στις πληγές και σηψαιμία στους εγκαυματίες. Έχει ήδη ανακοινωθεί ότι ο *Staphylococcus aureus* και οι κοαγκουλάση αρνητικοί σταφυλόκοκκοι (coagulase-negative *Staphylococci*, CNS), απομονώθηκαν στις καλλιέργειες του αίματος σε ποσοστό 34.2% εγκαυματιών με σηψαιμία, οι οποίοι κατέληξαν (Lesseva and Hadjiiski 1996). Η εκτεταμένη χρήση των αντιβιοτικών ευρέως φάσματος β-λακτάμης που καλύπτουν τα περισσότερα από τα κοινά παθογόνα σε ένα νοσοκομείο, δημιούργησε τους σταφυλόκοκκους ανθεκτικούς στη μεθικιλίνη (Hershow *et al.* 1992), δηλαδή τους κοαγκουλάση θετικούς (*staphylococcus aureus* ανθεκτικοί στη μεθικιλίνη, MRSA) και τους κοαγκουλάση αρνητικούς (*staphylococcus epidermidis* ανθεκτικοί στη μεθικιλίνη, MRSE) και οι μονάδες εγκαυμάτων δεν αποτέλεσαν εξαίρεση (Gang *et al.* 2000).

Η εφαρμογή αντιβιοτικών προ της ανάπτυξης μόλυνσης και η εκτεταμένη παραμονή σε νοσοκομείο, έχουν συνδεθεί με μολύνσεις με MRSA και ίσως δρουν συνεργιστικά στην εγκατάσταση MRSA. Οι σταφυλόκοκκοι οι ανθεκτικοί στη μεθικιλίνη έχουν εξαπλωθεί στο περιβάλλον των νοσοκομείων και είναι κοινή αιτία νοσοκομειακών λοιμώξεων, ειδικά σε μονάδες εγκαυμάτων (Bang *et al.* 1998). Επιπλέον, αν και οι MRSA είναι λιγότερο λοιμογόνοι από τους *Staphylococcus aureus* ευαίσθητους στη μεθικιλίνη (MSSA) σε φυσιολογικούς ασθενείς, είναι εξαιρετικά λοιμογόνοι σε ανοσοκατασταλμένους ασθενείς (Mizobuchi *et al.* 1994). Τα σοβαρά εγκαύματα καταστέλλουν την ανοσολογική απάντηση και αυτά τα βακτήρια συνεισφέρουν σε μολύνσεις απειλητικές για τη ζωή. Ο αποικισμός από διάφορους τύπους σταφυλόκοκκων όπως MSSA, MSSE (*staphylococcus epidermidis* ευαίσθητοι στη μεθικιλίνη), MRSA και MRSE στην επιφάνεια της εγκαυματικής πληγής, ίσως προκαλέσουν συστηματική λοίμωξη (Cook 1998). Από όλους αυτούς τους

μικροοργανισμούς, οι MRSA φαίνεται ότι εξαπλώνονται πολύ γρήγορα από τα χέρια του προσωπικού των νοσοκομείων. Έχει ανακοινωθεί, ότι ο κίνδυνος να αποκτήσουν οι εγκαυματίες επίκτητη μόλυνση με MRSA είναι 45% (Hunt *et al.* 1988) και είναι οι πιο πιθανοί υποψήφιοι να εμφανίσουν τη μόλυνση από άλλους ασθενείς με τραύματα (Boyce *et al.* 1981). Οι ασθενείς με εκτεταμένα εγκαύματα είναι οι πιο ευαίσθητοι στον αποικισμό και τη μόλυνση με MRSA, από ότι οι χειρουργικοί ασθενείς με μέσο χρόνο εμφάνισης MRSA μόλυνσης τις 27.2 ± 5.6 ημέρες (Gang *et al.* 2000; Boyce *et al.* 1981).

Σε μελέτη που πραγματοποιήθηκε στο Κέντρο Εγκαυμάτων στη Σόφια της Βουλγαρίας, σε χρονικό διάστημα 8 ετών, οι σταφυλόκοκκοι απομονώθηκαν από καλλιέργειες αίματος σε ποσοστό ασθενών με σηψαιμία που άγγιζε το 60,7% (Lesseva and Hadjiiski 1996). Ο κύριος παθογόνος μικροοργανισμός σε μόλυνση εγκαυματικής πληγής θεωρούνταν ότι ήταν η *Pseudomonas aeruginosa*, αλλά προσφάτως τεκμηριώθηκε ότι το κύριο αίτιο σηψαιμίας είναι οι σταφυλόκοκκοι (Pegg 1992).

1.5.7 Μόλυνση-σηψαιμία από *pseudomonas aeruginosa*

Η *Pseudomonas aeruginosa* προκαλεί σοβαρές μολύνσεις στους εγκαυματίες, διότι έχει την ικανότητα να παράγει πολλούς λοιμογόνους παράγοντες. Πρόκειται για Gram (-) ευκαιριακά παθογόνο μικροοργανισμό, ο οποίος προκαλεί μεγάλο εύρος μολύνσεων σε ανοσοκατασταλμένους ασθενείς, όπως είναι οι ασθενείς με κυστική ίνωση, με νεοπλασίες, ασθενείς με HIV και οι ασθενείς με σοβαρά εγκαύματα (Stieritz and Holder 1975; Nicas and Iglewski 1985; Baltimore *et al.* 1989; Schuster and Norris 1994). Ο πολλαπλασιασμός της *Pseudomonas aeruginosa* στους εγκαυματίες που έχουν μολυσμένους ιστούς, συχνά καταλήγει σε σηψαιμία με φτωχή κλινική έκβαση. Η σηψαιμία, οφειλόμενη σε

Pseudomonas aeruginosa, συχνά οδηγεί με υψηλό ρυθμό ($\approx 70\%$) σε πολυοργανική ανεπάρκεια (multiple organ failure, MOF). Το ποσοστό θνησιμότητας σε ασθενείς με σηψαιμία από *Pseudomonas aeruginosa* αγγίζει το 50%. Η ικανότητα της *Pseudomonas aeruginosa* να προκαλεί αυτές τις σοβαρές επιπλοκές, οφείλεται στην παραγωγή λοιμογόνων παραγόντων που σχετίζονται με το κύτταρο, ή είναι εξωκυττάριοι (Rumbaugh *et al.* 2004).

Οι εγκαυματίες χωρίς μόλυνση, όπως και οι εγκαυματίες που έχουν μολυνθεί με *Pseudomonas aeruginosa*, φέρουν υψηλά επίπεδα κυκλοφορούντων κυτοκινών, όπως ιντερλευκίνη 6 (IL-6), TNF- α και IL-8 (Yeh *et al.* 1999; Struzyna *et al.* 1995; Hack *et al.* 1992; Guo *et al.* 1990; Rumbaugh *et al.* 2001).

1.5.8 Μόλυνση εγκαυματικών πληγών από τον ιό του απλού έρπη και *Candida*

Albicans

Οι εγκαυματίες υποφέρουν από ανοσοκαταστολή τις πρώτες τρεις ή τέσσερις εβδομάδες μετά τη νοσοκομειακή περίθαλψη. Οι μολύνσεις με τον ιό του έρπη (HSV) είναι συχνές σε ανοσοκατασταλμένους ασθενείς (Bourdagias *et al.* 1996) και ίσως να αποτελούν αιτία νοσηρότητας και θνησιμότητας. Σε μελέτες από το 1970 φαίνεται ότι οι περισσότερες περιπτώσεις της ερπητικής λοίμωξης στους εγκαυματίες (σχεδόν 90%), αφορούσαν άνδρες και το γεγονός αυτό αντιπροσωπεύει τη μεγάλη αναλογία τους στις Μονάδες Εγκαυμάτων. Τέτοιου είδους μολύνσεις εμφανίζονται σε όλες τις ηλικίες, ακόμη και σε παιδιά κάτω των 5 ετών (McGill and Cartotto 2000; Sheridan *et al.* 1999).

Σε μια ανασκόπηση από 115 νεκροτομές από θανάτους λόγω εγκαυμάτων σε παιδιατρικούς ασθενείς, οι 86 (75%) ανέδειξαν τη σήψη ως πρωταρχική αιτία θανάτου

(Linares 1982). Οι ιοί του έρπη και η *Candida Albicans* προκαλούν πολύ σοβαρές μολύνσεις στους εγκαυματίες. Φαίνεται ότι οι λοιμώξεις με τον ιό του έρπη σε ασθενείς που έχουν υποστεί θερμικό έγκαυμα, τους κάνουν πιο ευαίσθητους και ευπαθείς, προδιαθέτοντας στη ανάπτυξη δευτερογενών μικροβιακών λοιμώξεων (Kagan *et al.* 1985). Οι μολύνσεις με *Candida Albicans* ανευρίσκονται στο 40% των εγκαυματικών πληγών (Kobayashi *et al.* 2002).

1.5.9 Ποσοτική μικροβιολογία στην αντιμετώπιση των εγκαυμάτων

Η εφαρμογή της ποσοτικής μικροβιολογίας στις Μονάδες Εγκαυμάτων ίσως έχει χρησιμότητα στην πρόβλεψη σήψης ή απόρριψης του μοσχεύματος. Οι ερευνητές έχουν προτείνει διαφορετικές βακτηριακές συγκεντρώσεις, οι οποίες είναι απαραίτητες για την εμφάνιση σήψης, με εύρος από 10^4 και 10^7 ανά γραμμάριο εγκαυματικού ιστού (Loebl *et al.* 1974; Bharadwaj *et al.* 1983; Freshwater and Su 1980). Κάποιοι χρησιμοποιούν την ποσοτική μικροβιολογία σαν δείκτη για την έναρξη της αντιμικροβιακής θεραπείας πριν το χειρουργείο, ή την ταχεία χειρουργική αφαίρεση του μολυσμένου ιστού (Taddonio *et al.* 1988; Bacchetta *et al.* 1975).

Πρόσφατες έρευνες υποστηρίζουν ότι ένας μικρός αριθμός Μονάδων Εγκαυμάτων χρησιμοποιούν την ποσοτική μικροβιολογία. Στο Ηνωμένο Βασίλειο μόνο δύο από τις 39 Μονάδες Εγκαυμάτων (5%) χρησιμοποιούν ως ρουτίνα τις βιοψίες από την εγκαυματική πληγή (Papini *et al.* 1995), σε σύγκριση με τις 26 από τις 96 Μονάδες Εγκαυμάτων (27%) στην υπόλοιπη Ευρώπη (κυρίως στην Ιταλία και τη Γαλλία) και 26 από τις 55 Μονάδες (47%) στις ΗΠΑ (Taddonio *et al.* 1990). Η ποσοτική μικροβιολογία ίσως να ήταν περισσότερο χρήσιμη, εάν είχε τη δυνατότητα να προβλέψει μια επικείμενη σήψη πριν να

εμφανιστούν τα χαρακτηριστικά κλινικά σημεία, ή εάν τα αποτελέσματα επέτρεπαν στον κλινικό ιατρό να προβλέψει μια δυσμενή έκβαση μετά το χειρουργείο (Steer *et al.* 1996)

1.5.10 Μικροοργανισμοί που ανιχνεύονται στην περιοχή του εγκαύματος σε επίμυες

Wistar

Στους επίμυες Wistar στην περιοχή του εγκαύματος (σε % ποσοστό των πληγών) ανιχνεύθηκαν οι εξής μικροοργανισμοί: *S. Epidermidis* 71%, *S. Aureus* 57%, *P. Aeruginosa* 57% (Bayat *et al.* 2006).

1.5.11 Προτεινόμενες θεραπείες για την αντιμετώπιση μικροβιακών λοιμώξεων

Θεραπευτικά σχήματα

1) Ο *Staphylococcus aureus* ήταν ο πρώτος σταφυλόκοκκος που έδειξε ότι είναι ευαίσθητος στην πενικιλίνη (*in vivo* και *in vitro*). Ο μηχανισμός δράσης της συνίσταται στην αναστολή της σύνθεσης της πεπτιδογλυκάνης του κυτταρικού τοιχώματος του μικροβίου. Την ίδια δράση έχουν και όλα τα αντιβιοτικά που στο μόριό τους φέρουν το δακτύλιο της β-λακτάμης (κεφαλοσπορίνες κ.α.).

Η ταχεία ανάπτυξη αντοχής προς την πενικιλίνη έκανε επιτακτική την ανάγκη χρησιμοποίησης άλλων αντιβιοτικών. Ιδιαίτερη σημασία για τα νοσοκομειακά στελέχη του σταφυλόκοκκου έχει η αντοχή του στη μεθικιλίνη. Από την κατηγορία των αντισταφυλοκοκκικών πενικιλινών το πιο κατάλληλο αντιβιοτικό είναι η φλουκλοξακιλλίνη, η οποία απορροφάται καλύτερα από το γαστρεντερικό σωλήνα.

Φάρμακο επιλογής για την αντιμετώπιση σταφυλόκοκκων ανθεκτικών στη μεθικιλίνη είναι η βανκομυκίνη και τεϊκοπλανίνη, και ακολουθούν η κοτριμοξαζόλη (τύπος TMP-SMX) και το φουσιδικό οξύ. Οι αμινογλυκοσίδες ενισχύουν τη δράση των πενικιλινών και δίνονται σε συνδυασμό με αυτές ιδίως στη θεραπεία των εν τω βάθει σταφυλοκοκκικών λοιμώξεων. Οι μακρολίδες επίσης χορηγούνται σε συνδυασμούς (Marselos and Malamas 1998).

2) Κοαγκουλάση αρνητικοί σταφυλόκοκκοι (*Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus saprophyticus* και ο *staphylococcus haemolyticus*).

Είναι ευαίσθητοι στις αντισταφυλοκοκκικές πενικιλίνες (οξακιλίνη, μεθικιλίνη, δικλοξακιλίνη). Σε ποσοστό 30% είναι ανθεκτικοί στη μεθικιλίνη και σε όλα τα αντιβιοτικά β-λακτάμης. Τα στελέχη αυτά παρουσιάζουν ποικίλη ευαισθησία στις τετρακυκλίνες, στη χλωραμφαινικόλη, στην ερυθρομυκίνη και στις αμινογλυκοσίδες. Η θεραπεία στην περίπτωση στελεχών ευαίσθητων στην μεθικιλίνη γίνεται με συνδυασμό δραστικών αντιβιοτικών β-λακτάμης και αμινογλυκοσιδών. Σε λοιμώξεις που προκαλούνται από στελέχη ανθεκτικά στη μεθικιλίνη, χορηγείται βανκομυκίνη (Antoniadis *et al.* 1999) και τεϊκοπλανίνη.

3) *Streptococcus pyogenes*.

Φάρμακο εκλογής είναι η πενικιλίνη, επί παραμονής του δοκιμάζεται η κλινδαμυκίνη, η αμοξυκιλίνη και το κλαβουλανικό οξύ, ή η πενικιλίνη σε συνδυασμό με τη ριφαμπικίνη.

Η ερυθρομυκίνη χορηγείται εναλλακτικά σε αλλεργικά στην πενικιλίνη άτομα. Αν συνυπάρχει και *Staphylococcus aureus* χρησιμοποιείται ως μονοθεραπεία ή σε συνδυασμό με πενικιλίνες ένα αντιβιοτικό ανθεκτικό στις β-λακτάμες όπως η φλουκλοξακιλίνη.

4) *Pseudomonas aeruginosa*.

Σε όλες τις περιπτώσεις η θεραπεία πρέπει να βασίζεται στο αντιβιογράμμα, διότι τα μικρόβια αυτά χαρακτηρίζονται από υψηλή αντοχή σε μια πληθώρα αντιβιοτικών. Η θεραπεία με συνδυασμό ενός αντιβιοτικού της ομάδας των β-λακταμών, όπως τικαρκιλίνη, καρβενικιλίνη, κεφταζιδίμη κ.α. και ενός αντιβιοτικού από την ομάδα των αμινογλυκοσιδών όπως αμικασίνη, νετιλμικίνη κ.α., έχει δώσει θετικά αποτελέσματα. Μονοθεραπεία με ευρέως φάσματος αντιβιοτικών β-λακτάμης έχει επίσης δοκιμαστεί με επιτυχία. Η νεότερη αζλοκιλίνη είναι δραστικότερη κατά της ψευδομονάδας και προτιμάται σε πολύ σοβαρές λοιμώξεις. Η πιπερακιλίνη είναι αντιψευδομοναδικό φάρμακο με ευρύτερο αντιμικροβιακό φάσμα. Κατά την χορήγηση των ανωτέρω φαρμάκων θα πρέπει να λαμβάνεται υπόψη και η περιεκτικότητά τους σε νάτριο (καρβενικιλίνη 4,7 mEq/g, καρφεκιλίνη 4.7-5.3mEq/g, τικαρκιλίνη 5.1 mEq/g, αζλοκιλίνη 2,17 mEq/g, πιπερακιλίνη 1,85 mEq/g) (Marselos and Malamas 1998)

Αναστολέας των β-λακταμασών είναι η ταζοβακτάμη (με πιπερακιλίνη)

5) **HSV-1.** Χορηγείται Ακυκλοβίρη (Acyclovir)

6) **CMV.** Χορηγείται Γκανσικλοβίρη, Φωσκαρνέτη (Ganciclovir, Foscarnet)

7) *Candida Albicans*. Χορηγείται Αμφοτερικίνη Β (amphotericin Β) κετοконаζόλη (Ketokonazole) κλοτριμαζόλη (Clotrimazole) (Marselos and Malamas 1998).

1.6 Έγκαυμα και καρκίνος

Οι δερματικές κακοήθειες σχετίζονται με πάνω από 600.000 νέες περιπτώσεις το χρόνο μόνο στις Ηνωμένες Πολιτείες. Γύρω στο 80% όλων των καρκίνων του δέρματος αποτελεί το βασικοκυτταρικό καρκίνωμα (BCC, basal cell carcinoma), 16% το ακανθοκυτταρικό καρκίνωμα (SCC, squamous cell carcinoma) και το 4% το μελάνωμα. Το πιο συχνό νεόπλασμα που δημιουργείται από εγκαυματική ουλή είναι το ακανθοκυτταρικό καρκίνωμα. Η εγκαυματική βλάβη, η οποία έχει επουλωθεί κατά β' σκοπό, βρίσκεται σε κίνδυνο επανηλλημένων τραυματισμών λόγω των καθημερινών δραστηριοτήτων, διότι έχει διαταραχθεί η ακεραιότητα του δέρματος (δηλαδή η φυσιολογική επιδερμίδα, τα νεύρα, τα αγγεία και άλλα εξαρτήματα). Επίσης έχει μικρή ελαστικότητα σαν κάλυμμα υποκείμενων δομών, επομένως είναι πιο εύκολο να υποστεί ρήξη, να αποκολληθεί και να δημιουργηθεί εξέλκωση σε σχέση με το φυσιολογικό δέρμα (Kowal-Vern and Criswel 2005)

1.6.1 Παθοφυσιολογία

Η παθοφυσιολογία των νεοπλασμάτων που αναπτύσσονται σε έδαφος εγκαυματικής ουλής, δείχνει ότι αποτελούν καθαρά μια ευδιάκριτη οντότητα σε σχέση με τους συνηθισμένους καρκίνους του δέρματος.

Τα αξιώματα του Ewing συνιστούν:

1. Παρουσία εγκαυματικής ουλής.
2. Όγκος στην περιφέρεια της ουλής.
3. Απουσία προηγούμενης νεοπλασίας σε αυτή τη θέση.
4. Η ιστολογία του όγκου πρέπει να είναι συμβατή με τους κυτταρικούς τύπους που ανευρίσκονται στο δέρμα και στην ουλή.
5. Υπάρχει ένα κατάλληλο χρονικό περιθώριο μεταξύ της εγκαυματικής βλάβης και της ανάπτυξης του όγκου (Kowal-Vern and Criswel 2005).

Ενώ οι παράγοντες οδηγούν σε κακοήθη εξάλλαγή, η μεταγενέστερη επανεμφάνιση και η μεταστατική εξάπλωση δεν έχουν κατανοηθεί πλήρως (Futrell and Myers 1972). Οι Crawley *et al* τόνισαν ότι οι ασθενείς με λεμφοκυτταρική διήθηση γύρω από τον όγκο ήταν πιο πιθανό να επιζήσουν, εφόσον ήταν δυνατή η οργάνωση ανοσολογικής επίθεσης στον όγκο, η οποία θα περιόριζε την εξάπλωση (Crawley *et al.* 1978). Αν και τα νεοπλάσματα που αναπτύσσονται επάνω στις εγκαυματικές ουλές έχουν γίνει συνώνυμα με τα έλκη Marjolin's, η βιβλιογραφία έχει συμπεριλάβει και άλλες αιτίες όπως τα έλκη λόγω πίεσης, φλεβικής στάσης, ουρικών συριγγίων, οστεομυελίτιδας (Inglis *et al.* 1979) εμβολιασμών, lupus vulgaris κ.α.

1.6.2 Προγνωστικοί δείκτες

Για τη μελέτη των καρκίνων που αναπτύσσονται σε έδαφος εγκαυματικής ουλής και τη σύγκρισή τους με αυτά που δεν έχουν κλινικό ιστορικό τραύματος, χρησιμοποιούνται διάφοροι δείκτες όπως p53, Ki-67, E-cadherin και beta-catenin, (Ueda *et al.* 2006), το ποσό της φιμπρονεκτίνης (FN) (Igisu 1987) και ερευνάται επίσης αν οι μεταλλάξεις του

p53 είναι συχνές σε κακοήθειες που αναπτύσσονται σε έδαφος χρόνιων φλεγμονών (Nakanishi *et al.* 1999).

1.6.3 Διάγνωση-Σταδιοποίηση

Για τη διάγνωση ακανθοκυτταρικού καρκινώματος (SCC) σε έδαφος εγκαυματικής ουλής, πιο έγκυρα αποτελέσματα δίνουν οι τέλειες εκτομές και η βιοψία, ενώ οι πολλαπλές βιοψίες (punch biopsies) ίσως βγουν αρνητικές (Phillips *et al.* 1998).

Οι όγκοι που συνοδεύονται από λεμφαδενικές μεταστάσεις δεν έχουν συνήθως καλή πρόγνωση. Η έγκαιρη αναγνώριση και η σωστή σταδιοποίηση προσφέρουν την καλύτερη εναλλακτική για τη θεραπεία (Esther *et al.* 1999).

Οι βιοψίες του λεμφαδένα φρουρού (SLN) σε απουσία κλινικής λεμφαδενοπάθειας, αντιπροσωπεύουν μια λιγότερο επιθετική και σχετικά έγκυρη διαδικασία σταδιοποίησης για το έλκος Marjolin (Estman *et al.* 2004).

1.6.4 Ομάδες υψηλού κινδύνου

Ομάδες υψηλού κινδύνου αποτελούν τα άτομα που έχουν αναπτύξει βλάβες στο δέρμα λόγω ακτινοβολίας, ουλές μετά από έγκαυμα ή τραύμα, ουλές από χρόνιες παρακεντήσεις, και χρόνιες φλεγμονές (κυρίως για ανάπτυξη SCC) (Ishihara 1987).

Μετά τη θεραπεία μια πιο προσεκτική παρακολούθηση συνιστάται ειδικά για τις γυναίκες και για τα άτομα που φέρουν όγκους με υψηλή διαφοροποίηση (Eroglou and Camlibel 1997).

1.6.5 Θεραπεία

Με τη σωστή θεραπεία οι πιο δύσκολες και δύσμορφες ουλές μπορούν να αποφευχθούν, έτσι ώστε το έλκος Marjolin να είναι μια οντότητα που να μπορεί να εξαφανιστεί με την καλή υγειονομική φροντίδα (Paredes 1998). Η συντηρητική θεραπεία σχετίζεται με το 30% της επανεμφάνισης καρκίνου (Ca). Οι παράγοντες κινδύνου υποτροπής είναι το οικονομικό και κοινωνικό επίπεδο (status) των ανδρών, τα εγκαύματα με λάδι μαγειρικής, η αποτυχία θεραπείας της αρχικής εγκαυματικής βλάβης, η ουλή με σκληρή σύσταση, η αποτυχία θεραπείας κατά την επανεμφάνιση εξέλκωσης (Kasse *et al.* 1999).

Τα SCC εμφανίζονται σε έδαφος εγκαυματικής ουλής σε χρονικό διάστημα από 3 μήνες έως 75 έτη, μετά το έγκαυμα και έχουν φτωχή πρόγνωση. Γι' αυτό οι ασταθείς ουλές, οι χρόνιες ουλές και οι όγκοι πρέπει να μας ενεργοποιούν για διενέργεια ιστολογικών εξετάσεων όσο το δυνατό πιο γρήγορα. Επί επιβεβαίωσης ύπαρξης κακοήθειας, η θεραπεία εκλογής είναι η ευρεία εκτομή του όγκου (Liebau and Palua 1995).

1.7 Νεότερες μέθοδοι και τεχνικές επούλωσης των εγκαυμάτων

Τα σοβαρά εγκαύματα προκαλούν εκτεταμένες βλάβες που επιβαρύνονται από την απώλεια υγρών και επιμόλυνση. Στα πλαίσια της θεραπείας εν αναμονή της επιθηλιοποίησης των μερικού πάχους εγκαυμάτων ή της μόνιμης κάλυψης των ολικού πάχους εγκαυμάτων με μοσχεύματα, αναφέρονται διάφορες μέθοδοι τοπικής θεραπείας. Με δεδομένο ότι η αποτελεσματικότητα πολλών από τις μεθόδους αυτές είναι αμφίλεγόμενη, η ανάπτυξη νεότερων θεραπευτικών μεθόδων, που να συνδυάζουν την

εύκολη τοπική εφαρμογή με το χαμηλό οικονομικό κόστος θα αποτελούσε την ιδανική λύση. Πέραν όμως της εύκολης εφαρμογής και του χαμηλού κόστους οι μέθοδοι αυτές πρέπει επιπλέον να είναι άμεσα διαθέσιμες, να εξασφαλίζουν ανακούφιση από τον πόνο, να προστατεύουν από την επιμόλυνση, να προλαμβάνουν την απώλεια υγρών, και να μειώνουν την παραμονή στο νοσοκομείο (Gobel and Schubert 1990; Ravishaker *et al.* 2003).

Για την προσωρινή κάλυψη των εγκαυματικών επιφανειών μέχρι την οριστική τους επούλωση ή κάλυψη με δερματικά συνήθως αυτομοσχεύματα, έχουν επινοηθεί και χρησιμοποιηθεί διάφορα υποκατάστατα, σαν αποτέλεσμα της έρευνας και τεχνολογικής ανάπτυξης σε αυτόν τον τομέα. Στις νεότερες μεθόδους που εφαρμόζονται στον τομέα αυτό περιλαμβάνεται μια σειρά από υλικά προσωρινής κάλυψης των εγκαυματικών επιφανειών, όπως οι αμνιακές μεμβράνες (amniotic membrane) (Rejzek *et al.* 2001; Ueta *et al.* 2002) με κυριότερο πλεονέκτημα την εξασφάλιση λεπτής, δηλαδή μη δύσχρηστης – ογκώδους, βιολογικής κάλυψης (Bose 1979). Αναφέρεται επίσης η χρήση μεμβράνης από πλακούντα, οι οποίες όμως παρουσιάζουν μεγαλύτερο κίνδυνο μόλυνσης (Addis *et al.* 2001). Κατά καιρούς έχουν χρησιμοποιηθεί για προσωρινή κάλυψη ανθρώπινα αλλομοσχεύματα, τόσο από ζώντες δότες όσο και πτωματικά (Hansbrough *et al.* 1997; Tomaz 1999; Obeng *et al.* 2001; Hoekstra *et al.* 1994; Bravo *et al.* 2000), όπως και ξενομοσχεύματα από διάφορα ζωικά είδη, κυρίως χοίρους (human cadaver allografts and xenografts) (Hansbrough *et al.* 1997; Tomaz 1999). Όπως είναι φυσικό την προσωρινή κάλυψη με εφαρμογή των μοσχευμάτων αυτών, ακολουθεί η διαδικασία απόρριψής τους, στα πλαίσια της ανοσολογικής απόκρισης του δέκτη στην αντιγονική τους ασυμβατότητα (Seetharam *et al.* 2010).

Όσον αφορά την μόνιμη κάλυψη των εγκαυματικών επιφανειών ολικού πάχους, χωρίς αμφιβολία την θεραπεία εκλογής αποτελούν τα δερματικά αυτομοσχεύματα, δηλαδή

δερματικά μοσχεύματα που δότης είναι ο ίδιος ο εγκαυματίας. Όμως η διαθεσιμότητα δερματικών αυτομοσχευμάτων είναι περιορισμένη, ειδικά σε εκτεταμένα εγκαύματα. Επιπλέον, η δότερια περιοχή σχετίζεται τόσο με αύξηση της επιφάνειας των δερματικών βλαβών, όσο και με την επιπρόσθετη ανάπτυξη ουλών. Για το λόγο αυτό αναπτύχθηκαν, σαν εναλλακτικές μέθοδοι, διάφορα βιοσυμβατά μοσχεύματα για μόνιμη κάλυψη των εγκαυματικών πληγών ολικού πάχους. Το 1981 πραγματοποιήθηκε μια πρώιμη εφαρμογή καλλιεργημένου αυτόλογου δερματικού επιθηλίου (keratinocyte culture) για τη θεραπεία εκτεταμένων εγκαυμάτων 3^{ου} βαθμού (Braye *et al.* 2000). Τα επιθηλιακά αυτομοσχεύματα που προκύπτουν με καλλιέργεια (Cultured epithelial autografts, CEA's), μπορούν επιλεκτικά να χρησιμοποιηθούν και σε βαθιά δευτέρου βαθμού εγκαύματα (Atiyeh *et al.* 2005). Η εφαρμογή της τεχνολογίας της ιστικής μηχανικής στην επούλωση εγκαυματικών πληγών, δημιούργησε τα υποκατάστατα διπλής στοιβάδας (living bilayered skin construct, BSC) (Brem *et al.* 2001), και το σύνθετο βιοσυμβατό δερματικό μόσχευμα (composite biocompatible skin graft, CBSG) (Chan *et al.* 2001; Lam *et al.* 1999), το αλλογενικό καλλιεργημένο υποκατάστατο χορίου (cultured dermal substitute, CDS) (Kuroyanagi *et al.* 2004; Fujimori *et al.* 2004) και το ημισυνθετικό χόριο (Integra: Johnson & Johnson, Hamburg, Germany Integra Life Sciences Corporation, NJ, USA) (Burke 1987; Jeschke *et al.* 2004; Palao *et al.* 2003). Τέλος η γονιδιακή θεραπεία προτείνεται ως αποτελεσματική θεραπευτική προσέγγιση για να βελτιώσει την κλινική έκβαση μετά από θερμικό έγκαυμα (Galeano *et al.* 2003; Braddock *et al.* 1999; Khavari 199; Henry *et al.* 1998).

1.8 Υπολογισμός της ολικής επιφάνειας σώματος και της έκτασης του εγκαύματος

Οι Lund και Browder ανακοίνωσαν ότι η επιφάνεια κάθε χεριού αποτελούσε 2.5%, με την παλαμιαία επιφάνεια να αποτελεί το 1.0% της επιφάνειας σώματος. Η τιμή 2.5% περιλαμβάνει το δέρμα στις δύο πλευρές του χεριού και ανάμεσα από τα δάκτυλα (Amirsheybani *et al.* 2001). Παραδοσιακά η επιφάνεια της παλάμης έχει εκτιμηθεί ότι αντιπροσωπεύει το 1.0% της επιφάνειας σώματος.

Η μελέτη της ολικής επιφάνειας σώματος αποτελούσε πάντα ένα πρόβλημα στον τομέα της ιατρικής. Οι περισσότερες φόρμουλες που υπολογίζουν την επιφάνεια σώματος, την συσχετίζουν με το ύψος και το βάρος. Υπάρχουν πολλές εξισώσεις διαθέσιμες για τον υπολογισμό της επιφάνειας σώματος, όμως οι περισσότερες βασίζονται σε ένα περιορισμένο αριθμό μετρήσεων, από διαφορετικούς ερευνητές με διαφορετικές τεχνικές και ανατομική οριοθέτηση. Ο χρυσός κανόνας είναι η κλασική φόρμουλα του Dubois (Επιφάνεια σώματος (m²) = 0.20247 x Ύψος (m)^{0.725} x Βάρος (kg)^{0.425} (Dubois and Dubois 1916), η οποία βασίζεται στο ύψος και στο βάρος. Οι Gehan and George βελτίωσαν αυτή τη φόρμουλα μελετώντας 401 περιπτώσεις (Επιφάνεια σώματος (m²) = 0,02350 Ύψος^{0,42246} x Βάρος^{0,51456} (Gehan and George 1970). Υπάρχουν και άλλες διαθέσιμες, συμπεριλαμβανομένης της εξίσωσης του Meeh (Επιφάνεια σώματος = K x Βάρος^{2/3}) (Meeh 1879; Diack 1930), η οποία είναι η πρώτη στο είδος της για τον καθορισμό της επιφάνειας σώματος και της Boyd (επιφάνεια σώματος (m²) = 0.0003207 x Ύψος (cm)^{0.3} x Βάρος (gr)^{(0.0188 x LOG (grams))} (Boyd 1935). Άλλες χρησιμοποιούμενες φόρμουλες είναι οι εξής: Η εξίσωση του Mosteller (επιφάνεια σώματος (m²) = ([Ύψος (cm) x Βάρος (kg)]/3600)^{1/2} (Mosteller 1987), η εξίσωση του Haycock (επιφάνεια σώματος (m²) = 0.024265 x Ύψος (cm)^{0.3964} x Βάρος (kg)^{0.5378} (Haycock *et al.* 1978; Sivanandam *et*

al. 2008). Σήμερα η περισσότερο κοινή χρησιμοποιούμενη φόρμουλα είναι των Dubois and Dubois.

Σε μελέτη που έγινε με 800 εθελοντές, βρέθηκε ότι η περιοχή της παλαμιαίας επιφάνειας του χεριού ποικίλει ελάχιστα με την ηλικία και ανταποκρίνεται στο 0.78% της ολικής επιφάνειας σώματος στους ενήλικες χρησιμοποιώντας τη φόρμουλα DuBois για τον υπολογισμό της επιφάνειας σώματος και 0.76% χρησιμοποιώντας τη φόρμουλα των Gehan και George (περιλαμβάνει το δέρμα στις δύο πλευρές του χεριού και ανάμεσα από τα δάκτυλα (*Amirsheybani et al.* 2001).

Εκτός από παραμέτρους όπως το ύψος και το βάρος, χρησιμοποιήθηκαν και παράμετροι όπως ο όγκος του σώματος (O) και το μήκος σώματος (M). Οι Wang και Hihara ανακοίνωσαν μια εξίσωση για τον υπολογισμό της ολικής επιφάνειας σώματος (OES) η οποία συσχετίζει αυτές τις δύο παραμέτρους ($OES = (9\pi OM)^{0.5}$ (Wang and Hihara 2004).

Ο υπολογισμός της ολικής επιφάνειας σώματος (OES) είναι απαραίτητος για να υπολογίσουμε τις ανάγκες του οργανισμού ως προς την επαναπλήρωση υγρών σε βαριά ασθενείς και εγκαυματίες (*Faldmo and Kravitz* 1993), το ρυθμό μεταβολισμού και τη δόση χορήγησης φαρμάκων (*Freireich et al.* 1966), για να υπολογίσουμε διατροφικές ανάγκες (*Widdowson* 1983), για να υπολογίσουμε το ρυθμό σπειραματικής διήθησης (*Gibson and Numa* 2003), τις αναγκαίες θερμίδες, φυσιολογικές παραμέτρους όπως καρδιακή παροχή και ένα πλήθος παραμέτρων αναπνευστικής λειτουργίας, οι οποίοι συχνά εκφράζονται με όρους όπως η επιφάνεια σώματος. Συμπερασματικά ο ακριβής υπολογισμός της ολικής επιφάνειας σώματος (OES) είναι απαραίτητος σε πειραματικές και κλινικές εφαρμογές.

Διάφορες φόρμουλες έχουν προταθεί για τον υπολογισμό της OES και έχουν ανακοινωθεί στη βιβλιογραφία. Από αυτές που αφορούν τα ζώα, οι περισσότερες βασίζονται στην αρχική εμπειρική φόρμουλα που έχει ως αξίωμα το μαθηματικό τύπο του Meeh ($OES = KxB^{2/3}$, όπου OES: η ολική επιφάνεια σώματος, K: σταθερά του Meeh, B:

βάρος του ζώου) (Diack 1930). Αυτός ο τύπος συσχετίζει την επιφάνεια σώματος με το βάρος σώματος, μέσω μιας σταθεράς K , η οποία είναι γνωστή και ως σταθερά του Meeh, η οποία υπολογίζεται εμπειρικά και ποικίλει αρκετά ανάλογα με το είδος και το μέγεθος του ζώου. Αυτή η ποικιλία αντανακλά την διαφοροποίηση της τιμής της K στα διάφορα είδη ζώων και το διαφορετικό εύρος βάρους με το οποίο κάθε είδος συμμετέχει σε αυτό τον υπολογισμό.

Για περισσότερο από ένα αιώνα η φόρμουλα του Meeh έχει χρησιμοποιηθεί για ένα πλήθος οργανισμών όπως, φίδια, ποντίκια, αρουραίοι, γάτες, πίθηκοι, βοοειδή, (Dawson 1967; Vaughan and Adams 1967; Quiring 1955; Lin 1976) με διαφορετικές τιμές της σταθεράς K αντιστοίχως. Κατά καιρούς πολλοί ερευνητές προσπάθησαν να προσδιορίσουν την τιμή της K με περισσότερη ακρίβεια στο πιο ευρέως χρησιμοποιούμενο πειραματικό μοντέλο, τους επίμυες. Κάποιοι από αυτούς αναφέρουν με λεπτομέρεια τη μέθοδο που εφάρμοσαν και κάποιοι άλλοι όχι.

Το εύρος των αναφερόμενων τιμών K κυμαίνεται από 9.0 έως 11.36 (Diack 1930; Hill and Hill 1913; Mitchell and Carmen 1926; Walker and Mason 1968; Lee 1929; Gilpin 1996).

Η εξίσωση του Meeh (Meeh 1879) βασίζεται σε μια μεταβλητή (βάρος) και για αυτό έχουν τεθεί ερωτήματα σχετικά με την ακρίβεια της σταθεράς K . Σε μια μελέτη το 2003 από τους Hosnuler και Babuccu σε 35 ποντίκια Sprague-Dawley με βάρος 220-415 g, προτάθηκε μια νέα φόρμουλα για τον υπολογισμό της ολικής επιφάνειας σώματος ΟΕΣ: $ΟΕΣ = (B \times K1 + M \times K2) \div 2$, (όπου B = βάρος σώματος, M = μήκος σώματος, $K1$ = μέσος όρος της μετρούμενης επιφάνειας (cm^2)/μέσος όρος βάρους (g) και $K2$ = μέσος όρος μετρούμενης επιφάνειας (cm^2)/μέσος όρος μήκους (cm) (με $K1=1.22$ και $K2=17.37$) (με $K1=1.22$ και $K2=17.37$) (Hosnuler and Babuccu 2003).

1.9 Άργυρος

Η τοπική θεραπεία μιας εγκαυματικής πληγής θα πρέπει να είναι οικονομική, εύκολη στην εφαρμογή της, να εξασφαλίζει ανακούφιση από τον πόνο, να επιταχύνει την διαδικασία της επούλωσης και να μειώνει την ανάπτυξη φλεγμονής (Atiyeh *et al.* 2005). Γι' αυτό το λόγο έχουν χρησιμοποιηθεί πολλοί παράγοντες, οι οποίοι κατόπιν τοπικής εφαρμογής, επέτυχαν ικανοποιητική επούλωση σε εγκαυματικές πληγές.

Ο άργυρος είχε χρησιμοποιηθεί ως παράγοντας επούλωσης από τους αρχαίους Ρωμαίους. Με τη χρησιμοποίηση των αντιβιοτικών το 1940, η έρευνα για τη χρήση του αργύρου σε θεραπευτικές εφαρμογές παρουσίασε κάμψη. Το 1965 ο Moyer συνέστησε τη χρήση επιδέσμου με 0.5% νιτρικό άργυρο (AgNO_3) για τη θεραπεία των εγκαυμάτων (Fuller 2009). Το 1968 ο Fox (Fox 1968) συνέστησε την κρέμα με 1% σουλφαδιαζινικό άργυρο (AgSD), η οποία ακόμη και σήμερα αποτελεί σημαντικό παράγοντα που προάγει την επούλωση, με τοπική εφαρμογή στις εγκαυματικές πληγές.

Τα ιόντα αργύρου αντιδρούν αμέσως με οργανικά μόρια όπως πρωτεάσες ή ηλεκτρολύτες, με το εξίδρωμα στην πληγή, τον ιστό, καθώς και με μικροοργανισμούς. Αυτές οι αλληλεπιδράσεις μεταβάλλουν τη δομή του DNA, του RNA και των μεμβρανών και επιπλέον προκαλούν δομικές αλλαγές στα κύτταρα του βακτηριακού τοιχώματος. Αυτός είναι και ο λόγος για τον οποίο τα βακτήρια σπάνια αναπτύσσουν αντίσταση στον άργυρο, σε αντίθεση με τη χρήση των αντιβιοτικών τα οποία στοχεύουν σε μια κυτταρική λειτουργία (Bolton 2006).

Έχουν προταθεί τρεις μηχανισμοί που περιγράφουν τη βιολογική δράση του αργύρου:

- 1) η καταλυτική οξείδωση των ιόντων αργύρου με οξυγόνο εν τω γεννάσθαι,
- 2) η αλληλεπίδραση του αργύρου με τις κυτταρικές μεμβράνες των βακτηρίων,
- 3) η εκλεκτική σύνδεση των ατόμων του αργύρου με το DNA, εμποδίζοντας την εκδίπλωση του DNA.

Αυτοί οι μηχανισμοί ίσως δρουν συνεργιστικά (Batarseh 2004). Ο άργυρος έχει την ικανότητα να καταστρέφει τη δομή του κυτταρικού τοιχώματος του βακτηρίου και να προκαλεί την αποδιοργάνωση βακτηριακών ενζύμων όπως το κυτόχρωμα b και a₃ (Trop *et al.* 2006). Ο άργυρος δεν παρουσιάζει επιλεκτικότητα όσον αφορά τους μικροοργανισμούς και παρουσιάζει αντιμικροβιακή δράση έναντι σε αερόβια, αναερόβια, Gram (-), Gram (+) βακτήρια, μύκητες και ιούς (Berners-Price *et al.* 1988; Zachariadis *et al.* 2003). Μπορεί έτσι ο άργυρος να μειώσει τον αριθμό των βακτηρίων και την απελευθέρωση εξωτοξινών. Όμως, αν και ο άργυρος μειώνει το ποσό των εξωτοξινών που παράγονται, δεν μπορεί να αναστρέψει το δυσμενές αποτέλεσμα των ήδη υπάρχουσών εξωτοξινών. Επιπρόσθετα, καθώς τα Gram (-) βακτήρια καταστρέφονται, απελευθερώνονται ενδοτοξίνες, οι οποίες θα μπορούσαν να δράσουν αρνητικά στην διαδικασία της επούλωσης της πληγής (Tomaselli 2006). Επιπλέον, η αναστολή του κυτταρικού πολλαπλασιασμού ίσως παρεμποδίζει την επούλωση της πληγής, αναστέλλοντας ευθέως τη μίτωση των ινοβλαστών, των κερατινοκυττάρων, καθώς και των φλεγμονωδών κυττάρων (Cho Lee *et al.* 2005).

Τα αντιβιοτικά με χαμηλό μοριακό βάρος αποβάλλονται ταχέως από τον ανθρώπινο οργανισμό, τα ιόντα αργύρου δε, σχηματίζουν σύμπλοκα με άλατα και άλλους παράγοντες που κυκλοφορούν στο αίμα, όπως πρωτεΐνες που περιέχουν θείο και χλώριο. Όμως οι πανταχού παρούσες μεταλλοθειόνες μπορούν να δεσμεύσουν τον άργυρο που εισέρχεται στην κυκλοφορία και να αποτοξινώσουν το μέταλλο αυτό (Fox 1968; Meers *et al.* 2000; Stillman *et al.* 1994).

1.9.1 Τοξική δράση του Αργύρου

Η συγκέντρωση 0.5% διαλύματος νιτρικού αργύρου (AgNO_3), είναι η χαμηλότερη συγκέντρωση, η οποία παρουσιάζει δράση έναντι βακτηρίων *in vitro* και *in vivo*, η οποία συμβάλλει στην epούλωση εγκαυμάτων χωρίς να παρουσιάζει τοξικότητα έναντι των αναπτυσσόμενων κυττάρων της επιδερμίδας.

Το επιτρεπτό όριο της έκθεσης στοιχειώδους ή διαλυτού αργύρου είναι 0.01 mg/m^3 , όπως έχει συσταθεί από τους οργανισμούς Occupational Safety and Healthy Administration and the Mine Safety and Healthy Administration (Drake and Hazelwood 2005). Η απορρόφηση του αργύρου προς τη συστηματική κυκλοφορία, είναι μεγαλύτερου βαθμού από το δέρμα που φέρει πληγή, συγκριτικά με το υγιές-ανέπαφο δέρμα και σχετίζεται με τον περιεχόμενο άργυρο, τη σύνθεση και τη συχνότητα εφαρμογής του προϊόντος. Η απορρόφηση αυξάνει με την αύξηση της έκτασης της πληγής, του βάθους της και της ποσότητας του εξιδρώματος, είναι δε σημαντικού βαθμού όταν γίνεται διαμέσου πληγών που αφορούν περισσότερο από το 5% της συνολικής επιφάνειας σώματος (Bolton 2006). Το όριο τοξικότητας για τον σουλφαδιαζινικό άργυρο (AgSD) στο ορό είναι 20 mg/dl (Shanmugasundaram *et al.* 2008). Σε πειράματα που στοχεύουν στην epούλωση εγκαυματικής πληγής, η μεγαλύτερη ποσότητα του αργύρου παραμένει στην εγκαυματική εσχάρα και λιγότερο από 1% της ποσότητας του αργύρου που απορροφάται, εμφανίζεται στη συστηματική κυκλοφορία (Gear *et al.* 1997).

1.9.2 Παρενέργειες από τη χρήση του Αργύρου

Η κάθαρση του αργύρου γίνεται αργά. Μελέτες που πραγματοποιήθηκαν μετά από χρήση του σουλφαδιαζινικού αργύρου (AgSD), έδειξαν ότι ο άργυρος μπορεί να εναποτεθεί στο δέρμα, στο ήπαρ, στο νεφρό, στον επιπεφυκότα, στον κερατοειδή χιτώνα και αλλού. Η ποσότητα των 100 µg/L στο αίμα, αποτελεί την οριακή τιμή, πέραν της οποίας αρχίζει η απέκκριση του αργύρου στα ούρα. Η τοπική εφαρμογή κρέμας με σουλφαδιαζινικό άργυρο (AgSD) σε εγκαυματικές πληγές στο δέρμα για χρονικό διάστημα 3 μηνών, οδήγησε σε συγκέντρωση του αργύρου στο ήπαρ 1600 φορές μεγαλύτερη από αυτή ενός φυσιολογικού δείγματος από το ήπαρ. Η χρήση AgSD σε περιπτώσεις ασθενών με εγκαύματα που καταλαμβάνουν έκταση μεγαλύτερη από το 40% της ολικής επιφάνειας σώματος, προκάλεσε άμεση αύξηση στα επίπεδα του αργύρου στον ορό 20 φορές μεγαλύτερη από το φυσιολογικό επίπεδο, γύρω στις 6 ώρες μετά την αρχική επάλειψη. Η φυσιολογική τιμή του αργύρου στο αίμα είναι <0.21 µg/L (Fuller 2009).

Καθώς η ποσότητα του αργύρου στον ορό αυξάνεται, μεταφέρεται ευρέως και εναποτίθεται στο δέρμα, με αποτέλεσμα να εμφανίζεται ένα φαινόμενο που ονομάζεται Αργυρία. Χαρακτηριστικό της Αργυρίας είναι μια μπλε, γκρι ή μαύρου χρώματος δυσχρωμία του δέρματος, των δομών του οφθαλμού, των βλεννογόνων και των εσωτερικών οργάνων. Η τοξικότητα από τον σουλφαδιαζινικό άργυρο (AgSD) μπορεί να προκαλέσει στον εγκαυματία αλλεργία, αιμόλυση (σε περιπτώσεις ανεπάρκειας της γλυκοζο-6-φωσφορικής δεϋδρογενάσης, G-6PD), δημιουργία ανοσοσυμπλεγμάτων και μεθαιμοσφαιριναιμία (Fuller 2009). Επίσης μπορεί να προκαλέσει πολύμορφο ερύθημα, έκπτωση της νοητικής λειτουργίας και συχνά λευκοπενία, ενώ ενοχοποιείται για άμεση κυτταροτοξική δράση στο μυελό των οστών (Trop *et al.* 2006).

Η εφαρμογή του Νιτρικού Αργύρου (AgNO_3) βρέθηκε ότι εκτός από τα ανωτέρω, προκαλεί εναπόθεση αργύρου στους μύες, στην καρδιά, στα οστά, στο σπλήνα. Τα φυσιολογικά επίπεδα του αργύρου, όταν πραγματοποιείται ανάλυση οργάνων είναι 0.025 ppm. (Bader 1966).

1.9.3 Αντικαρκινική δράση του Αργύρου

Πολλά μέταλλα όπως ο άργυρος, ο χρυσός, ο χαλκός, το ιρίδιο και το ρόδιο έχουν χρησιμοποιηθεί ως χημειοθεραπευτικοί παράγοντες (Haiduc and Silvesru 1989). Δεν υπάρχουν ενδείξεις ότι ο άργυρος έχει καρκινογόνο δράση. Διάφορα σύμπλοκα του αργύρου παρουσιάζουν αντικαρκινική δράση έναντι ανθρώπινων καρκινικών κυτταρικών σειρών (Berners-Price *et al.* 1988; Zachariadis *et al.* 2003; Liu *et al.* 2008) ενώ έχουν δοκιμαστεί για την κυτταροτοξική τους δράση έναντι κυττάρων σαρκώματος σε επίμυες Wistar (Hadjikakou *et al.* 2008).

1.10 Κουερσετίνη

Τα φλαβονοειδή είναι πολυφαινολικές ενώσεις που απομονώνονται από ένα ευρύ πλήθος φυτών, με περισσότερα από 8000 γνωστά διαφορετικά σύμπλοκα. Δρουν στα φυτά ως αντιοξειδωτικά, αντιμικροβιακές ουσίες, φωτοϋποδοχείς και συμβάλλουν στο διαχωρισμό του φωτός. Πολλές μελέτες συνιστούν ότι τα φλαβονοειδή παρουσιάζουν σπουδαία βιολογική δράση, όπως αντιαλλεργική, αντιφλεγμονώδη, αγγειοδιασταλτική και αντικαρκινική (Pietta 2000).

Η Κουερσετίνη (3,5,7,3',4'-pentahydroxyflavone) είναι από τα πιο γνωστά φλαβονοειδή, που ανευρίσκονται στη φύση και έχει ανακοινωθεί, ότι τα γλυκοσίδιά της παρουσιάζουν μεγάλη πληθώρα βιοχημικών και φαρμακευτικών εφαρμογών. Τα φλαβονοειδή είναι πολυφαινολικές ενώσεις με χαμηλό μοριακό βάρος, τα οποία λειτουργούν ως δευτερογενείς μεταβολίτες στα περισσότερα φυτικά κύτταρα και έχουν αναγνωριστεί ως φυτικοί παράγοντες και ως εκκαθαριστές ελευθέρων ριζών (Nagata *et al.* 1999). Ειδικά η Κουερσετίνη προστατεύει από την οξειδωτική βλάβη και αναστέλλει την δημιουργία ελευθέρων ριζών, και επιπλέον προστατεύει από τη λιπιδιακή υπεροξειδωση (Katsarou *et al.* 2000). Έχει ανακοινωθεί ότι αναστέλλει το μονοπάτι της 5-λιποξυγενάσης (5-lipoxygenase) του αραχιδονικού οξέος (Takeyama *et al.* 2004; Wheeler *et al.* 1986; Nakade *et al.* 1985).

Εκτός από την αντιοξειδωτική της δράση, η Κουερσετίνη μπορεί να μειώσει την απελευθέρωση ισταμίνης από τα βασεόφιλα και τα μαστοκύτταρα στο ανθρώπινο δέρμα, προλαμβάνοντας έτσι την οξεία φλεγμονή (Katsarou *et al.* 2000). Μελέτες *in vitro* ανέδειξαν ότι μπορεί επίσης να αναστείλει τον πολλαπλασιασμό των ανθρώπινων ενδοθηλιακών κυττάρων των μικρών αγγείων και διαφόρων άλλων κυτταρικών σειρών, όπως καρκινικών κυττάρων, κυττάρων λείων μυϊκών ινών και ενδοθηλιακών κυττάρων των αγγείων του χοίρου (Fan *et al.* 2003). Επιπλέον βρέθηκε ότι αναστέλλει τον πολλαπλασιασμό και τη σύσπαση των ινοβλαστών που προέρχονται από χηλοειδή και υπερτροφικές ουλές (Phan *et al.* 2003). Συγκεκριμένα φλαβονοειδή ίσως να προλαμβάνουν την καταστροφή (σπάσιμο του κολλαγόνου), με το να αναστέλλουν την κολλαγενάση σε δέρμα που έχει υποστεί έγκαυμα, καθώς και σε δέρμα με φωτογήρανση (Sin and Kim 2005)

1.10.1 Αντικαρκινική δράση της Κουερσετίνης

Οι μελέτες με μοντέλα ζώων με καρκινογέννεση έχουν παρουσιάσει αμφιλεγόμενα αποτελέσματα σχετικά με την αντικαρκινική δράση της Κουερσετίνης. Για παράδειγμα έχει ανακοινωθεί ότι σε ποντίκια, διαιτητική πρόσληψη 2% σε Κουερσετίνη, αναστέλλει τον υπερπολλαπλασιασμό που προκαλείται από azoxymethane και την εστιακή δυσπλασία. Δεν παρατηρήθηκε όμως ανασταλτικό αποτέλεσμα στα APC^{min} ποντίκια που θεραπεύτηκαν με Κουερσετίνη. Επιπλέον, αν και ανέστειλε τοπικά την ανοσοκαταστολή που προκλήθηκε από UVB ακτινοβολία σε SKH-1 ποντίκια χωρίς τρίχωμα, δεν είχε αποτέλεσμα όσον αφορά την καρκινογέννεση στο δέρμα. Η Κουερσετίνη ανέστειλε την καρκινογέννεση στους πνεύμονες ποντικίων, η οποία προκλήθηκε από N-nitrosodiethylamine, όταν χορηγήθηκε σε πρώιμο στάδιο. Τέλος η θεραπεία καρκινικών κυττάρων από το έντερο (κόλον) με Κουερσετίνη, είχε σαν αποτέλεσμα την μείωση της έκφρασης της πρωτεΐνης Ras (Lammert *et al.* 2005).

1.11 Αδενοσίνη

Η Αδενοσίνη είναι καταβολίτης του ATP και αποτελεί ένα ενδογενή φυσιολογικό μεσολαβητή, ο οποίος ρυθμίζει ένα μεγάλο πλήθος φυσιολογικών διεργασιών. Η Αδενοσίνη επιτυγχάνει τα φυσιολογικά της αποτελέσματα μέσω της αλληλεπίδρασης με ένα ή περισσότερους από του 4 υποδοχείς της κυτταρικής επιφάνειας A₁, A_{2A}, A_{2B}, A₃, οι οποίοι αποτελούν υπότυπους της ομάδας υποδοχέων που συνδέονται με την πρωτεΐνη G (Klotz 2000; Victor-Vega *et al.* 2002; Montesinos *et al.* 2002; Collis and Hourani 1993). Η ιστική κατανομή των A₁ υποδοχέων περιλαμβάνει τον εγκέφαλο, το νωτιαίο μυελό, το

λιπώδη ιστό, τους όρχεις, τη μήτρα, την καρδιά, τους νεφρούς, τους σκελετικούς μύες, το ήπαρ, το έντερο, το στόμαχο και η λειτουργική απάντηση είναι η βραδυκαρδία, η αναστολή της λιπόλυσης, η μείωση της σπειραματικής διήθησης και νατριούρησης η κεντρική αναλγητική δράση. Η ιστική κατανομή των A_{2A} υποδοχέων περιλαμβάνει τον εγκέφαλο, το λιπώδη ιστό, την καρδιά, το θύμο, τους πνεύμονες, το σπλήνα, τον οισοφάγο, τους όρχεις και η λειτουργική απάντηση είναι η αναστολή συγκόλλησης των αιμοπεταλίων και λειτουργίας πολυμορφοπύρηνων λευκοκυττάρων, η αγγειοδιαστολή, η ενεργοποίηση αισθητικών νεύρων. Η ιστική κατανομή των A_{2B} υποδοχέων περιλαμβάνει τον εγκέφαλο, τους πνεύμονες, το παχύ έντερο, την ουροδόχο κύστη και η λειτουργική απάντηση είναι η χάλαση λείων μυϊκών ινών και η απελευθέρωση φλεγμονωδών διαμεσολαβητών. Τέλος η ιστική κατανομή των A_3 υποδοχέων περιλαμβάνει τον εγκέφαλο, τους όρχεις, τους πνεύμονες, τους νεφρούς, την καρδιά και η λειτουργική απάντηση είναι η ρύθμιση της λειτουργίας του υποδοχέα A_1 καθώς και η απελευθέρωση φλεγμονωδών διαμεσολαβητών (Marselos and Malamas 2000).

Η Αδενosίνη έχει διάφορα αποτελέσματα στη καρδιά, συμπεριλαμβανομένης της ρύθμισης της καρδιακής ανταπόκρισης στην ισχαιμία, όπως αυτή προκύπτει κατά την ισχαιμία του μυοκαρδίου (Headrick and Lasley 2009; Liu *et al.* 2009). Δρα στους ειδικούς υποδοχείς A_1 που εμποδίζουν την κολποκοιλιακή αγωγή. Ενδείκνυται σε υπερκοιλιακή παροξυσμική ταχυκαρδία και στο σύνδρομο Wolff-Parkinson-White. Άλλη ένδειξη είναι η συμπτωματική ανακούφιση δερματίτιδας εκ στάσεως από κίρσους.

Η Αδενosίνη αυξάνεται σε ασθενείς με άσθμα και χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια (COPD). Υπάρχουν πολλές μελέτες σε ζώα με νόσο των αεραγωγών που ενισχύουν το πλεονέκτημα της χρήσης των ανταγωνιστών των A_1 , A_{2B} , A_3 , υποδοχέων της Αδενosίνης στη θεραπεία του άσθματος και της COPD (Polosa and Blackburn 2009).

Μελέτες ανέδειξαν ότι η τοπική εφαρμογή των αγωνιστών των υποδοχέων A_1 , A_{2A} της Αδενοσίνης προάγουν την επούλωση εγκαυμάτων (Montesinos *et al.* 2002). Σε *in vitro* μελέτες φαίνεται ότι η Αδενοσίνη παρουσιάζει αγγειογεννητική δράση. Δρώντας στους A_2 υποδοχείς, διεγείρει τη μετανάστευση των ενδοθηλιακών κυττάρων, τον πολλαπλασιασμό και την έκκριση VEGF (αυξητικό παράγοντα των ενδοθηλιακών κυττάρων των αγγείων) (Montesinos *et al.* 2002). Η Αδενοσίνη βρέθηκε ότι ενεργοποιεί τον υποδοχέα A_{2B} στα ενδοθηλιακά κύτταρα των αγγείων του αμφιβληστροειδούς χιτώνα του ανθρώπου, γεγονός το οποίο ίσως οδηγεί σε νεοαγγειογένεση διαμέσου ενός μηχανισμού που σχετίζεται την αυξημένη έκφραση του αγγειογεννητικού αυξητικού παράγοντα (Grant *et al.* 1999). Η ικανότητα της Αδενοσίνης να καταστέλλει την φλεγμονή παρατηρήθηκε πρώτα στα ουδετερόφιλα και ακολούθως βρέθηκε ότι ρυθμίζει την φλεγμονή και σε πολλούς άλλους κυτταρικούς τύπους συμπεριλαμβανομένων των μακροφάγων, των ενδοθηλιακών κυττάρων και των λεμφοκυττάρων (Montesinos *et al.* 2002; Cronstein *et al.* 1983). Με τον αποκλεισμό των A_1 και A_2 υποδοχέων της Αδενοσίνης σε ουδετερόφιλα του ανθρώπου, προάγεται η διαδικασία της χημειοταξίας και αναστέλλεται η δημιουργία ελευθέρων ριζών (O_2^- και H_2O_2) και επιπλέον βρέθηκε ότι η Αδενοσίνη ρυθμίζει την παραγωγή ανιόντος υπεροξειδίου από τα ουδετερόφιλα (Cronstein *et al.* 1983-1992).

Βρέθηκε ότι η Αδενοσίνη προκαλεί σημαντική και ομοιόμορφου μεγέθους αύξηση στη διάμετρο των αρτηριολίων και στο ρυθμό αιματικής ροής σε ζώα που έφεραν εγκαυματική πληγή (Meng *et al.* 1998), ενώ μικρές δόσεις Αδενοσίνης που χορηγούνται συστηματικά, μπορεί μειώσουν την επιφάνεια του δέρματος γύρω από τη βλάβη (επιφανειακό χημικό ή θερμικό έγκαυμα) που παρουσιάζει ευαισθησία, αλλά όταν αυτή χορηγείται σε μεγάλες δόσεις, ενεργοποιεί τους περιφερικούς υποδοχείς του πόνου και προκαλεί αίσθημα άλγους (Sjölund *et al.* 1999).

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

2. Σκοπός της ερευνητικής εργασίας-πρόκληση εγκαύματος

Η επούλωση των εγκαυμάτων είναι μια διαδικασία η οποία απαιτεί τη συνεργασία πολλών ειδικοτήτων. Μετά τη περίοδο της αρχικής αντιμετώπισης ενός εγκαύματος ολικού πάχους δέρματος, ακολουθεί η φάση αποκατάστασης του δέρματος. Οι επεμβάσεις πλαστικής χειρουργικής απαιτούν την ταχεία προετοιμασία του δέρματος για να δεχθεί ένα μόσχευμα ή ένα υποκατάστατο δέρματος. Γι αυτό το λόγο έχουν χρησιμοποιηθεί πολλοί παράγοντες, οι οποίοι με τοπική εφαρμογή δύνανται να επιτύχουν ταχύτερη επούλωση μιας εγκαυματικής πληγής.

Ο σουλφαδιαζινικός άργυρος και ο νιτρικός άργυρος έχουν χρησιμοποιηθεί ευρέως για τη θεραπεία των εγκαυμάτων (Tomaselli 2006; Fox 1968; Shanmugasundaram *et al.* 2009; Fuller 2009; Bader 1966). Εφ' όσον έχουν ταυτοποιηθεί τα θεραπευτικά αποτελέσματα του αργύρου (Tomaselli 2006; Gear *et al.* 1997), έχει μεγάλο ενδιαφέρον τα δοκιμαστούν τα σύμπλοκα του αργύρου με τα: θειοαμίδιο [5-chloro-2-mercapto-benzothiazole (CMBZT, $C_7H_4ClNS_2$)] και φωσφίνες $[AgCl(CMBZT)(TPTP)_2(MeOH)]$ (σύμπλοκο Σ1), με χλώριο και φωσφίνες $[AgCl(TPTP)_3(0.5H_2O)]$ (σύμπλοκο Σ2), με ιώδιο και φωσφίνες $[AgI(TPTP)_3]$ (σύμπλοκο Σ3), και με 2-μερκαπτονικοτινικό οξύ ($H_2MNA=2$ -mercapto-nicotinic acid, $C_6H_5NO_2S$) $\{[Ag_6(\mu_3-Hmna)_4(\mu_3-mna)_2]^{2-} \cdot [(Et_3NH)^+]_2 \cdot (DMSO)_2(H_2O)\}$ (σύμπλοκο Σ4), για να διαπιστωθεί πιο σύμπλοκο επιταχύνει την επούλωση ενός εγκαύματος και ποιο όχι. Μεγάλο ενδιαφέρον έχει και η μελέτη της συνεργιστικής δράσης των μορίων αυτών. Τα υπό μελέτη σύμπλοκα του αργύρου παρασκευάστηκαν στο εργαστήριο Ανόργανης Χημείας, του τμήματος Χημείας του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων. Ο

τρόπος παρασκευής τους, ο χαρακτηρισμός και η τρισδιάστατη μοριακή και κρυσταλλική δομή τους καθώς και τα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά των συμπλόκων έχουν ήδη δημοσιευτεί (Kyros *et al.* 2010; Zachariadis *et al.* 2003).

Είναι αναγκαία η ανακάλυψη εύκολων μεθόδων για την επούλωση των εγκαυμάτων, όπως είναι η τοπική επάλειψη ουσιών σε ένα έγκαυμα το οποίο δεν καταλαμβάνει μεγάλη επιφάνεια σώματος και με σχετικά άμεσα αποτελέσματα, χωρίς οι παράγοντες που χρησιμοποιούνται να είναι τοξικοί και χωρίς να προκαλούν ιδιαίτερες παρενέργειες στον οργανισμό.

Η ποσότητα κάθε ενός από τα σύμπλοκα το αργύρου που τοποθετούνταν στην εγκαυματική επιφάνεια κάθε ζώου ήταν αρκετά μικρή έτσι ώστε να αποφευχθούν φαινόμενα τοξικότητας.

Η χρήση διαφόρων αντιοξειδωτικών ουσιών με τοπική εφαρμογή στην θεραπευτική αντιμετώπιση ενός εγκαύματος είναι αρκετά συχνή και χρησιμοποιούνται διάφοροι αντιοξειδωτικοί παράγοντες όπως είναι οι βιταμίνες C και E (Arslan *et al.* 2005; Sakurai *et al.* 1997; Fang *et al.* 1990). Η ευρεία εφαρμογή αυτών των παραγόντων, οδήγησε στην επιλογή δύο παραγόντων, ενός φλαβονοειδούς με αντιοξειδωτική δράση, της Κουερσετίνης και ενός καταβολίτη του ATP, με αγγειογεννητική και αγγειοδιασταλτική δράση και ρυθμιστή της φλεγμονής, της Αδενοσίνης.

Οι παράγοντες που επηρεάζουν δραστικά τη δομή, την ταχύτητα και την ποιότητα της επούλωσης είναι η αφυδάτωση των εκτιθέμενων ιστών, το επίπεδο τροφοδότησης του αίματος σε μεταφορά οξυγόνου και θρεπτικών συστατικών στην περιοχή και η σήψη (Winter 2006). Επιλέγοντας τις δύο αυτές ομάδες ουσιών μελετούμε την επουλωτική τους δράση στοχεύοντας σε διεργασίες που κυριαρχούν στο έγκαυμα: στην ανάπτυξη φλεγμονής, στην δημιουργία ελεύθερων ριζών, και στο επίπεδο τροφοδότησης, οι οποίες δυσχεραίνουν και καθυστερούν την επουλωση. Αναμένουμε να δούμε και ποια από τις υπό

μελέτη ουσίες παρουσιάζει και την πιο αποτελεσματική επουλωτική δράση από όλες καθώς και σε ποια ομάδα ουσιών ανήκει. Επίσης εάν υπάρχει συνεργιστική δράση μεταξύ των διαφόρων μορίων στην ομάδα των συμπλόκων αργύρου.

Οι χοίροι είναι τα ζώα που προτιμώνται για τη μελέτη της επίδρασης περιβαλλοντικών παραγόντων στο δέρμα, διότι το δέρμα τους ομοιάζει περισσότερο με το ανθρώπινο σε σύγκριση με οποιοδήποτε άλλο. Στην παρούσα μελέτη επιλέχθηκαν οι επίμυες Wistar διότι αναπαράγονται σχετικά γρήγορα. Η μελέτη της δράσης των επιλεχθέντων ουσιών δοκιμάστηκε σε εγκαύματα ολικού πάχους δέρματος σε επίμυες Wistar, τα οποία παρουσιάζουν μεγαλύτερο βαθμό δυσκολίας στην αντιμετώπισή τους από τους άλλους βαθμούς εγκαυμάτων. Για το σκοπό αυτό προηγήθηκαν σειρές πειραμάτων, με πρόκληση εγκαύματος στα ζώα, αφαίρεση τεμαχίων την 3^η, 6^η, 12^η, 21^η, 31^η, μετεγκαυματική ημέρα από την εγκαυματική εσχάρα και ιστολογική εκτίμηση αυτών για να ταυτοποιηθεί εάν πρόκειται για έγκαυμα ολικού πάχους δέρματος. Η πρόκληση εγκαύματος πραγματοποιήθηκε με τετράγωνη σφραγίδα από ανοξείδωτο χάλυβα με ξύλινη λαβή, για αποφυγή της μεταφοράς της θερμότητας στο χέρι του πειραματιστή. Οι διαστάσεις της σφραγίδας ήταν εμβαδόν=4 cm² και ύψος=1 cm. Η πρόκληση εγκαυμάτων ολικού πάχους δέρματος εξασφαλίζεται με προθέρμανση της σφραγίδας για 10 min στη λυχνία Bunsen, και κατόπιν πίεση της σφραγίδας στο δέρμα του ζώου για 5 sec. Μέτρηση του κέντρου της σφραγίδας με θερμομέτρο χειρός τύπου Laser υπερύθρων (Wurth), έδειξε ότι η θερμοκρασία του άκρου της ήταν άνω των 300° C. Μελέτες που πραγματοποιήθηκαν σε ποντίκια, στη ράχη των οποίων πραγματοποιήθηκε πρόκληση εγκαύματος με θέρμανσης μεταλλικής σφραγίδας στη λυχνία Bunsen για 10 sec και στη συνέχεια τοποθετήθηκε στο δέρμα για 4 sec, είχαν σαν αποτέλεσμα την πρόκληση εγκαύματος ολικού πάχους δέρματος (Schlager *et al.* 2000). Έγκαυμα ολικού πάχους δέρματος επίσης επιτυγχάνεται με βύπτιση του δέρματος του επίμυος σε νερό με θερμοκρασία 100° C για 10 sec, (Tanaka

et al. 1999), ή με προθέρμανση σφραγίδας σε νερό 98° C και πίεση αυτής στο δέρμα για 12 sec (Zhang *et al.* 2005).

Η επιλογή του εγκαύματος ολικού πάχους δέρματος έδωσε τη δυνατότητα παρακολούθησης της επουλωτικής δράσης των ουσιών για μακρό χρονικό διάστημα, διάρκειας περίπου ενός μηνός. Δεν υπάρχουν πολλές μελέτες που να αναφέρουν στοιχεία για την παρακολούθηση της επούλωση του εγκαύματος για τόσο μακρό χρονικό διάστημα, ούτε και πολλές ιστομορφολογικές κλίμακες οι οποίες να περιγράφουν την πορεία επούλωσης ενός εγκαύματος (Singer *et al.* 2000). Επιλέχθηκαν τέσσερα σύμπλοκα του αργύρου και δύο ουσίες με αντιοξειδωτική και αγγειοδιασταλτική δράση αντίστοιχα, για να μελετηθούν διεξοδικά, καθ' όλη τη διάρκεια του ενός μηνός με ταυτόχρονη, ανά διαστήματα, ιστολογική εκτίμηση της πορείας της επούλωσης.

Για τα πειράματα που περιγράφονται στην συνέχεια τέθηκε το θέμα επαναπλήρωσης υγρών μετά τη δημιουργία του εγκαύματος ζώα. Λόγω του ότι η επιφάνεια του εγκαύματος είναι σχετικά μικρή, δεν κρίνεται απαραίτητη η επαναπλήρωση υγρών στο ζώο μετά την εγκαυματοποίηση. Για να διαπιστωθεί ποιο είναι το ποσοστό επί τοις εκατό της ολικής επιφάνειας σώματος του ζώου που καταλαμβάνει το έγκαυμα, υπάρχουν πολλές φόρμουλες που το υπολογίζουν εμπειρικά. Στα εν λόγω πειράματα, όπου χρησιμοποιούνται επίμυες Wistar, πραγματοποιήθηκε μια προσπάθεια εύρεσης μιας τεχνικής για τον υπολογισμό της επιφάνειας του σώματος σε μεγάλο αριθμό ζώων.

Η πειραματική μελέτη για τον υπολογισμό της επιφάνειας σώματος των επίμυων Wistar είχε διττό σκοπό. Πρώτον για να παρουσιάσει μια απλή και ακριβή μέθοδο για τον υπολογισμό της ολικής επιφάνειας σώματος σε ζώα μικρού μεγέθους και δεύτερον για να καθορίσει την ακριβή τιμή της σταθεράς K από την εξίσωση του Meeh στο πιο ευρέως χρησιμοποιούμενο εύρος βάρους των επίμυων Wistar.

3. Υλικά και μέθοδοι

3.1 Πιλοτικά πειράματα

Για την επούλωση εγκαυμάτων ολικού πάχους δέρματος σε επίμυες Wistar μελετήθηκαν ουσίες, οι οποίες τοποθετήθηκαν με επάλειψη επάνω στην εγκαυματική εσχάρα.

Εφαρμόστηκαν αρχικά μια σειρά πιλοτικών πειραμάτων τα οποία είχαν σκοπό:

1. Την αντίδραση των ζώων στην χορήγηση αναισθησίας.
2. Την επιλογή κατάλληλων αναισθητικών φαρμάκων και συνδυασμό αυτών, για την επίτευξη αναισθησίας, χωρίς να επέρχεται ο θάνατος του ζώου.
3. Την πρόκληση εγκαύματος ολικού πάχους δέρματος.
4. Την πραγματοποίηση σταθερών και άσηπτων τομών.
5. Την εκμάθηση στην ικανότητα τομής μόνο των στοιβάδων δέρματος χωρίς τον τραυματισμό υποκείμενων ιστών.
6. Την εφαρμογή τομών με σκοπό την αφαίρεση τεμαχίων δέρματος σε σχήμα τριγώνου, με την κορυφή του στο κέντρο της εγκαυματικής εσχάρας και τη βάση του στην περιφέρεια της εσχάρας, συμπεριλαμβάνοντας τεμάχια φυσιολογικού δέρματος εκτός της εγκαυματικής εσχάρας.
7. Την μονιμοποίηση στη φορμόλη των τεμαχίων.
8. Την ιστολογική εκτίμηση των τεμαχίων με σκοπό την επιβεβαίωση ότι πρόκειται πραγματικά για εγκαύματα ολικού πάχους δέρματος.
9. Την επιλογή ιδανικού μεγέθους εγκαυματικής πληγής για την πραγματοποίηση των πειραμάτων.

10. Την μελέτη της πορείας επούλωσης των εγκαυματικών πληγών.
11. Την επιλογή κατάλληλης μεθόδου αποπτίλωσης της περιοχής όπου θα εφαρμοστεί το έγκαυμα.
12. Τον καθορισμό της επιφάνειας όπου θα πραγματοποιηθεί το έγκαυμα.
13. Το καθορισμό του μεγέθους της επιφάνειας όπου θα πραγματοποιηθεί η αφαίρεση του τριχώματος.
14. Την επιλεγόμενη άσκηση ικανής πίεσης της σφραγίδας και το χρόνο θέρμανσής της για την πρόκληση εγκαύματος ολικού πάχους δέρματος.
15. Την οριοθέτηση των ιδανικών χρονικών διαστημάτων για αφαίρεση δερματικών τομών σε διάστημα ενός μηνός.
16. Την οριοθέτηση, καταγραφή και παρακολούθηση συμβάντων όπως εξέλκωση, αποκόλληση εγκαυματικής εσχάρας λόγω πρόκλησης εγκαύματος, ακούσιος τραυματισμός και αποκόλληση της εγκαυματικής εσχάρας από κινήσεις των ζώων μέσα στον κλωβό.
17. Την παρακολούθηση της πορείας της επούλωσης ανάλογα με το μικροβιακό φορτίο του κλωβού.
18. Την συμπεριφορά και αντίδραση των ζώων μετά την πρόκληση εγκαύματος.
19. Την εκμάθηση στο χειρισμό του πλανίμετρου, για τον υπολογισμό της έκτασης της εγκαυματικής πληγής.
20. Την μακροσκοπική εκτίμηση της επούλωσης του εγκαύματος σε χρονικό διάστημα ενός μηνός.

Η ανωτέρω σειρά πειραμάτων εφαρμόστηκε συνολικά σε 20 ζώα. Για την μελέτη της πορείας της επούλωσης των εγκαυματικών πληγών επιλέχθηκαν οι εξής παράμετροι:

μακροσκοπική παρατήρηση, υπολογισμός της επιφάνειας της εγκαυματικής πληγής με το πλανίμετρο και ιστολογική παρατήρηση και εκτίμηση.

3.1.1 Προετοιμασία Ζώων

Για τη μελέτη της επούλωσης εγκαυμάτων ολικού πάχους δέρματος, χρησιμοποιήθηκαν θηλυκοί επίμυες Wistar ηλικίας 5 μηνών βάρους 195-240 g. Χρησιμοποιήθηκαν συνολικά 240 ζώα. Οι επίμυες Wistar είναι από τα πιο ήρεμα και προσιτά πειραματόζωα. Η αναπαραγωγή των επίμυων δεν παρουσιάζει ιδιαίτερα προβλήματα και μπορεί να γίνει στην ηλικία των 50-60 ημερών. Η εγκυμοσύνη διαρκεί κατά μέσο όρο 21 ημέρες και μια τουλάχιστο εβδομάδα πριν τη γέννα, τα έγκυα θηλυκά τοποθετούνται σε ατομικούς κλωβούς μέχρι τον απογαλακτισμό (περίπου 25 ημέρες μετά τη γέννηση). Τα νεογνά απομακρύνονται από τη μητέρα τους μετά από 3 εβδομάδες από την ημέρα γέννησής τους και τοποθετούνται ομαδικά σε κλωβούς ανάλογα με το φύλο τους. Στους κλωβούς αυτούς σημειώνεται σε ειδική καρτέλα το φύλο, το είδος του πειραματόζωου και η ημερομηνία γέννησης. Ο επίμυς ζει έως τρία χρόνια και μόλις συμπληρώσει δύο μήνες ζωής, μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε πειραματικές μελέτες.

Ο επίμυς είναι ζώο παμφάγο και νυκτόβιο (εμφανίζει έντονη κινητική δραστηριότητα τις βραδινές ώρες ενώ την ημέρα συνήθως κοιμάται). Ο χώρος διαβίωσης και εκτροφής των επίμυων πρέπει να έχει σταθερή θερμοκρασία περίπου 22° C και σχετική υγρασία 50-60%. Η ρυθμικότητα του φωτός ρυθμίζεται στις 12 ώρες φως και 12 ώρες σκοτάδι. Απαραίτητο είναι επίσης ένα καλό σύστημα εξαερισμού. Όλα τα ζώα προ και κατά τη διάρκεια του πειράματος αφέθηκαν σε ελεύθερη πρόσβαση στη ζωοτροφή (ad libitum) και

πόση ύδατος. Ο κλωβός των ζώων διαθέτει δάπεδο από πολυπροπυλένιο (Makrolon) με μεταλλικό πλαίσιο τύπος IL (EHRET GmbH, Germany). Επάνω στο πλαίσιο (σκέπαστρο) τοποθετείται μεταλλική υποδοχή για την τοποθέτηση του υδροδοχείου, το οποίο είναι πλαστικό μπουκάλι με μεταλλικό πάμα που καταλήγει σε ρύγχος, και τοποθετείται με το ρύγχος να βρίσκεται μέσα στον κλωβό, καθαριζόταν δε τακτικά και άλλαζε με φρέσκο καθαρό νερό βρύσης καθημερινά. Το μεταλλικό πλαίσιο έφερε και ξεχωριστό χώρο για την τοποθέτηση της τροφής. Η τροφή των επίμυων είναι τυποποιημένη (πλήρης συνθετική ζωοτροφή ποντικών ΠΕΛΛΕΤΣ ΒΠ-302, από την VIOZOIS S.A., Ελλάς), με τη μορφή συμπυκνωμένων κυλίνδρων που περιέχει όλες τις πρωτεΐνες, αμινοξέα, άλατα, μέταλλα, ιχνοστοιχεία, και γενικά τα θρεπτικά συστατικά που είναι απαραίτητα για την φυσιολογική ανάπτυξη των πειραματόζωων. Οι κλωβοί τοποθετούνται σε ειδικό δωμάτιο στο εργαστήριο πειραματόζωων σε ειδικά ράφια με υποδοχή για την προσαρμογή του κάθε κλωβού. Κάθε ζώο τοποθετήθηκε σε ξεχωριστό κλωβό, για την αποφυγή της στοματικής επαφής άλλου ζώου επάνω στην εγκαυματική πληγή. Ο κλωβός κάθε ζώου καθαριζόταν 3 φορές την εβδομάδα. Η στρωμή κάθε κλωβού αποτελούνταν από ροκανίδι (Mucedola s.r.l., Italy).

Καθ' όλη τη διάρκεια των πειραμάτων η μεταχείριση των επίμυων πρέπει να είναι τέτοια ώστε να εξασφαλίζεται η ηρεμία των πειραματόζωων. Για το λόγο αυτό οι επίμυες πρέπει να συνηθίσουν από μικρή ηλικία το άγγιγμα των χεριών και την επαφή με τον πειραματιστή. Σε ιδιαίτερα επώδυνους χειρισμούς όπως είναι η πραγματοποίηση αναισθησίας με ένεση, απαραίτητη είναι η γνώση και εξοικείωση του πειραματιστή, ώστε να γίνει η διαδικασία με περιορισμό των κινήσεων του ζώου. Σε όλα τα ζώα επιλέχθηκε η ενδοπεριτοναϊκή οδός χορήγησης (i.p.) της αναισθησίας, καθώς η απ' ευθείας είσοδος του φαρμάκου στη περιτοναϊκή κοιλότητα εξασφαλίζει την ταχεία απορρόφησή του λόγω της μεγάλης αγγείωσης της περιοχής. Μια ημέρα πριν την διεξαγωγή των πειραμάτων τα ζώα

μεταφέρονται σε ειδικό χώρο, όπου θα πραγματοποιηθεί το πείραμα, έτσι ώστε να εξοικειωθούν με το νέο περιβάλλον. Τέλος πρέπει να τονιστεί ότι όλες οι πειραματικές εργασίες διεξήχθησαν σύμφωνα με την Ελληνική και Ευρωπαϊκή νομοθεσία (Προεδρικό Διάταγμα 160/3-5-1991, άρθρα 13 και 19, Οδηγία 86/609/ΕΟΚ του Ευρωπαϊκού Συμβουλίου και σύμφωνα με τον αρ. άδειας 20ΕΕΡ02 του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

3.1.2 Μακροσκοπική εκτίμηση

Η μακροσκοπική εκτίμηση των ζώων πραγματοποιήθηκε αμέσως μετά την πρόκληση εγκαύματος στη ράχη του κάθε ζώου, αλλά και κάθε ημέρα μετά την πρόκληση του εγκαύματος, για χρονικό διάστημα περίπου ενός μηνός. Τα μακροσκοπικά χαρακτηριστικά του εγκαύματος και της πορείας της επούλωσης καταγράφονται κάθε ημέρα, καθώς και η συμπεριφορά των ζώων. Τέτοια χαρακτηριστικά παθολογικά και μη είναι τα εξής: η ανάπτυξη φλεγμονής στην εγκαυματική εσχάρα (πύον), η αιμορραγία, η δημιουργία σκληρής άκαμπτης πληγής, η ρίκνωση της πληγής, η αποκόλληση της εσχάρας (καθώς και τότε αυτή συμβαίνει μετά την πρόκληση εγκαύματος), μεγάλη ή μικρή ή κανονικού μεγέθους πληγή (ή εσχάρα), εξέλκωση και αύξηση-μείωση-αμετάβλητο μέγεθος της πληγής και συγκέντρωση ορώδους υγρού (εξιδρώματος) υποκείμενο της εσχάρας.

3.1.3 Πλανίμετρο-Πλανιμετρία

Το πλανίμετρο είναι ένα απλό όργανο που χρησιμοποιείται για τον ακριβή υπολογισμό της επιφάνειας. Αποτελείται από τρία ξεχωριστά τμήματα: ένα στύλο ο οποίος είναι βαθμονομημένος και συνδέεται με το τμήμα μετρήσεων του πλανίμετρου, το τμήμα μετρήσεων του πλανίμετρου και το βραχίονα, που συνδέεται με το τμήμα μετρήσεων του πλανίμετρου και με ένα σταθερό τεμάχιο (πίατο) στο άλλο άκρο του (Εικόνα 1).

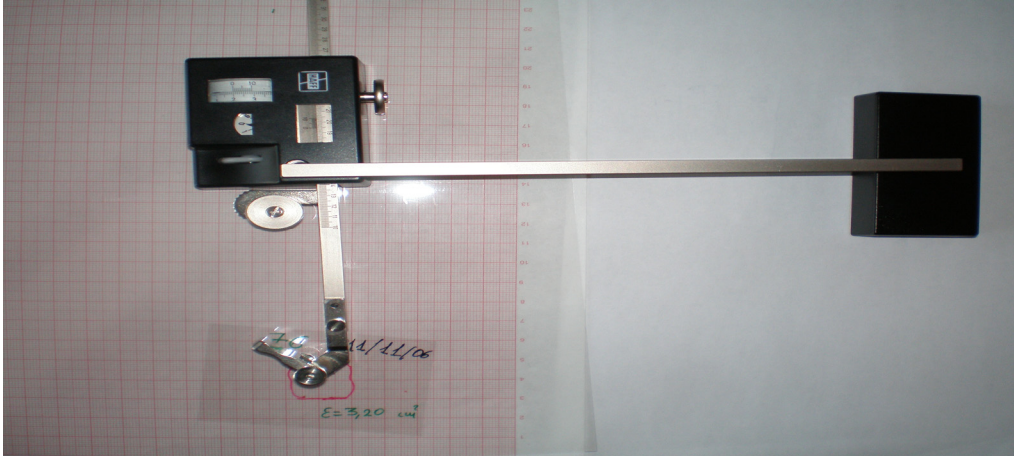
Η χρήση του πλανίμετρου είναι εύκολη και απλή εάν δοκιμαστεί αρκετές φορές, έτσι ώστε ο χειριστής να αποκτήσει την ευχέρεια των χειρισμών. Το τμήμα μετρήσεων του πλανίμετρου διαθέτει πίνακες και καντράν, οι οποίοι θα βοηθήσουν στην ανάγνωση του αποτελέσματος. Στο πλανίμετρο που χρησιμοποιήθηκε στα ανωτέρω πειράματα, στο άκρο του στύλου που συνδέεται μόνο με το τμήμα μετρήσεων του πλανίμετρου καταλήγει σε μια ακίδα (Εικόνα 2). Ο συγκεκριμένος στύλος, ο οποίος είναι βαθμονομημένος, εισέρχεται μέσα στο τμήμα μετρήσεων του πλανίμετρου και μεταβάλλεται το μήκος του ανάλογα με την επιλογή της ένδειξης που απαιτείται για συγκεκριμένο εύρος επιφανειών. Αυτά τα στοιχεία δίνονται από πίνακες στις οδηγίες χρήσης του οργάνου.

Απαραίτητες προϋποθέσεις για να έχουμε ακριβή αποτελέσματα είναι: Α) Τα σχήματα των οποίων πρέπει να υπολογίσουμε την επιφάνεια να είναι αποτυπωμένα επάνω σε μια γυαλιστερή επιφάνεια και όχι σε χαρτί. Β) Όλα τα επιμέρους τεμάχια του συγκεκριμένου οργάνου θα πρέπει να βρίσκονται στο ίδιο επίπεδο. Γ) Η όλη διαδικασία θα πρέπει να πραγματοποιείται σε γυαλιστερή επίπεδη και καθαρή επιφάνεια για να μετακινείται εύκολα το όργανο. Εάν κατά κάποιο τρόπο η μετακίνηση του οργάνου, η οποία βασίζεται σε ένα κύλινδρο που βρίσκεται μέσα στο τμήμα μετρήσεων, δυσχεραίνεται λόγω π.χ. ανώμαλης επιφάνειας ή μη καθαρής επιφάνειας αυτό θα έχει σαν αποτέλεσμα την ανάγνωση λανθασμένων αποτελεσμάτων.

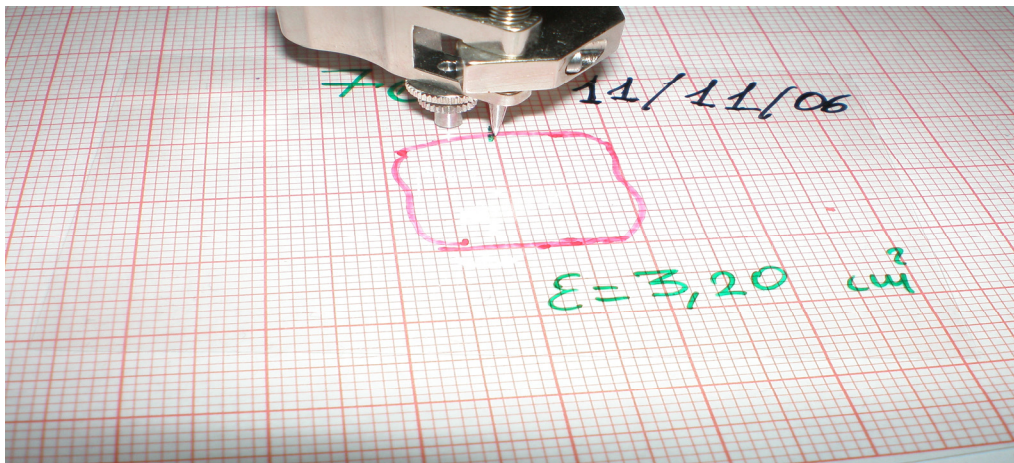
Το πλανίμετρο τοποθετείται με τους δύο στύλους σε ορθή γωνία μεταξύ τους, με το βραχίονα που φέρει στο άκρο του την ακίδα σε κάθετη θέση ως προς το χειριστή, και το βραχίονα που φέρει στο άκρο του το σταθερό τεμάχιο (πίατο) σε οριζόντια θέση ως προς το χειριστή. Αφού μηδενιστούν οι ενδείξεις στις κλίμακες και στα καντράν του τμήματος μετρήσεων του οργάνου, τοποθετείται η ακίδα σε ένα σημείο της περιμέτρου της επιφάνειας που θέλουμε να μετρήσουμε. Το σημείο αυτό χρησιμοποιείται σαν σημείο έναρξης της μέτρησης και σημειώνεται με ένα ανεξίτηλο μαρκαδόρο, διότι αποτελεί και το σημείο λήξης της μέτρησης. Από το σημείο έναρξης οδηγούμε την ακίδα με δεξιόστροφη φορά κατά μήκος της περιμέτρου της επιφάνειας, της οποίας θέλουμε να υπολογίσουμε το εμβαδόν. Όταν επιστρέψουμε στο σημείο έναρξης διαβάζουμε τις ενδείξεις στις κλίμακες και στο καντράν του τμήματος μετρήσεων και σημειώνουμε το αποτέλεσμα. Με κατάλληλους πίνακες που φέρουν οι οδηγίες του πλανίμετρου υπολογίζουμε το εμβαδόν σε cm^2 .

Για την χρήση του συγκεκριμένου πλανίμετρου στα πειράματα που περιγράφονται, εργαστήκαμε ως εξής: Το αποτύπωμα του εμβαδού της επιφάνειας του εγκαύματος λαμβάνεται σε φύλλο διαφάνειας (διαφανής σελίδα A_4). Το κομμάτι από το φύλλο της διαφάνειας τοποθετείται επάνω σε γυάλινη επιφάνεια. Επάνω από το κομμάτι διαφάνειας τοποθετείται ένα φύλλο διαφάνειας (διαφανής σελίδα A_4) και κατόπιν όλη η συσκευή του πλανίμετρου μαζί με τα εξαρτήματά της τοποθετείται επάνω στο φύλλο της διαφάνειας, με τους βραχίονες σε ορθή γωνία. Λαμβάνονται έξι μετρήσεις για κάθε επιφάνεια εγκαύματος και υπολογίζεται ο μέσος όρος. Λόγω του ότι οι επιφάνειες που καλούμαστε να υπολογίζουμε είναι της τάξεως των 4 cm^2 , πολλές φορές οι μετρήσεις πραγματοποιούνταν και με τη βοήθεια χαρτιού μιλλιμετρέ, για την ταυτοποίηση των αποτελεσμάτων (Εικόνα 3).

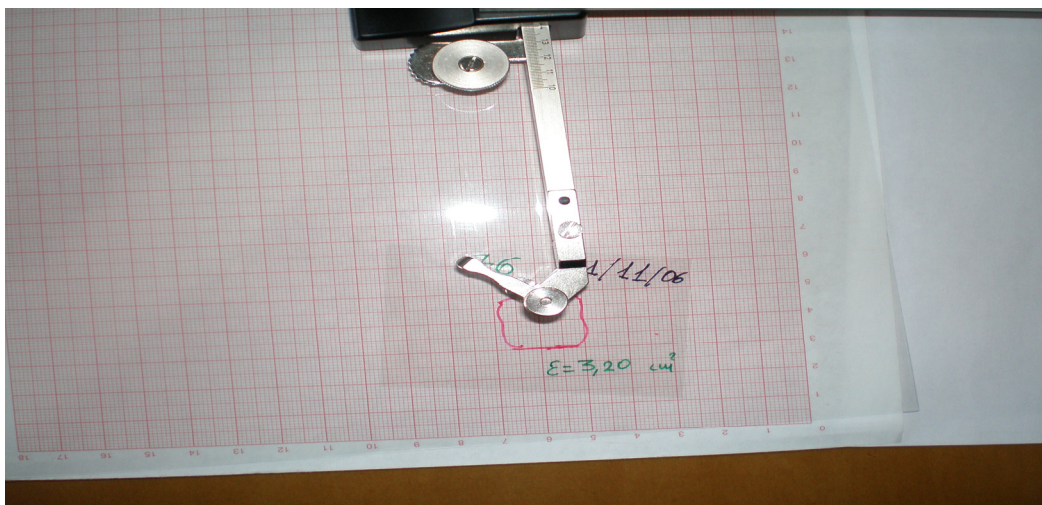
Στα πειράματα που αφορούσαν τον υπολογισμό της ολικής επιφάνειας σώματος των επίμυων Wistar, λόγω του ότι οι επιφάνειες ήταν αρκετά μεγάλες για να γίνει η μέτρησή τους με το συγκεκριμένο πλανίμετρο, χωριζόταν σε επιμέρους περιοχές και κατόπιν προσθέταμε τα αποτελέσματα των μετρήσεων.



Εικόνα 1: Πλανίμετρο



Εικόνα 2: Πλανιμετρία



Εικόνα 3: Πλανιμετρία

3.1.4 Ιστολογική εκτίμηση

Για την ιστολογική εκτίμηση, τα χειρουργικά αφαιρούμενα τεμάχια του ιστού, τα οποία εμπεριέχουν την περιοχή του εγκαύματος και την παρακείμενη περιοχή φυσιολογικού ιστού, μονιμοποιήθηκαν σε ρυθμιστικό διάλυμα ουδέτερης φορμόλης 4%. Αντιπροσωπευτικές τομές ελήφθησαν και εγκλείστηκαν σε κύβους παραφίνης. Ακολούθως, κόπηκαν τομές πάχους 5 μm και έγινε σε αυτές χρώση αιματοξυλίνης-ηωσίνης. Για την εκτίμηση της διαδικασίας της επούλωσης χρησιμοποιήθηκε ένα ημιποσοτικό σύστημα. Εν συντομία, η διαδικασία της επούλωσης διαιρέθηκε σε 5 στάδια. Στο στάδιο 1, σημειώθηκαν τα αποτελέσματα του εγκαύματος στο χόριο και στο υποδόριο λίπος με τη μετουσίωση των ιστών. Επιπλέον σημειώθηκε η παρουσία κυττάρων οξείας φλεγμονής και οιδήματος. Στο στάδιο 2, σημειώθηκε η εμφάνιση ανώριμου κοκκιώδους ιστού, ο οποίος εμφανίζεται πιο ώριμος με περισσότερα τριχοειδή και περισσότερο άφθονους ινοβλάστες στο στάδιο 3. Στο στάδιο 4, σημειώθηκε σχεδόν ολοκληρωμένη επανεπιθηλιοποίηση, με άφθονους ινοβλάστες και ίνες κολλαγόνου στο χόριο και στον υποδόριο ιστό. Πλήρως ανεπτυγμένη ουλή με ολοκληρωμένη επανεπιθηλιοποίηση σημειώθηκε στο στάδιο 5.

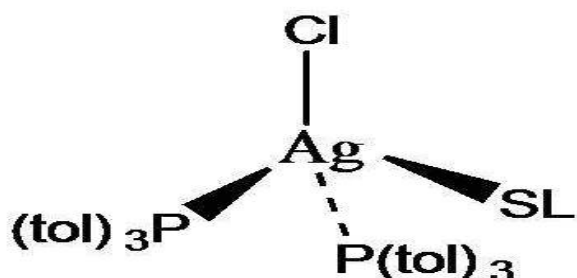
3.2 Πειραματικό μέρος

3.2.1 Πείραμα πρώτο

Υπό μελέτη ουσία: $[\text{AgCl}(\text{CMBZT})(\text{TPTP})_2(\text{MeOH})]$ (σύμπλοκο Σ1) (Kyros *et al.* 2010) (Σχήμα 2).

Πρόκειται για σύμπλοκο του χλωριούχου αργύρου με ετεροκυκλικό θειοαμίδιο 5-chloro-2-mercapto-benzothiazole (CMBZT, $C_7H_4ClNS_2$) και tri(p-tolyl)phosphine (TPTP, $C_{21}H_{21}P$) $MB=985.7$, $MT=C_{50}H_{50}AgCl_2NOP_2S_2$

Διαλυτό στα: MeCN, $CHCl_3$, CH_2Cl_2 , DMF και CH_3OH . Οι κρύσταλλοι είναι σταθεροί στον αέρα όταν διατηρούνται σε σκοτεινό μέρος.



• CH_3OH

LS= 5-Chloro-2-mercaptobenzothiazole

$(tol)_3P$ =tri (p-tolyl) phosphine

Σχήμα 2: Συντακτικός τύπος συμπλόκου Σ1

3.2.2 Υλικά

Για την πραγματοποίηση του πειράματος χρησιμοποιήθηκαν τα εξής υλικά:

1. Ποτήρια ζέσεως
2. Αναδευτήρας
3. Υδατόλουτρο
4. Ηλεκτρονικός ζυγός ακριβείας
5. Πιπέτες (με βαθμονόμηση)
6. Ρύγχος (για πιπέτες)

7. Ζυγαριά (για την ζύγιση των ζώων)
8. Πλανίμετρο (HAFF planimeter No 313 – GEBRUDER HAFF GMBH TIROLER STR.5 D-87459 PFRONDEN GERMANY)
9. Φύλλο διαφάνειας (διαφανής σελίδα A₄)
10. Χαρτί μιλλιμετρέ
11. Σφραγίδα εμβαδού 4 cm² και ύψους 1 cm, από ανοξείδωτο χάλυβα και με ξύλινη λαβή (για την πρόκληση του εγκαύματος)
12. Λυχνία Bunsen
13. Φωτογραφική μηχανή (Olympus digital camera model No FE-190, CHINA)
14. Universal
15. Πλαστικά δοχεία (urobox)
16. Ουδέτερη φορμόλη 4%
17. Σπάτουλα μεταλλική για ζύγιση
18. Πινέλα για επάλειψη ουσιών
19. Αλκοόλη για απολύμανση υλικών
20. Αναισθητικά φάρμακα
21. Σύριγγες μιας χρήσης
22. Λαβίδες μιας χρήσης
23. Νυστέρια μιας χρήσεως
24. Μεταλλικές λάμες για την προσαρμογή των νυστεριών
25. Κλίβανος αποστείρωσης.
26. Μαρκασόροι ανεξίτηλοι και μη
27. Υάλινη ράβδος
28. Αποστειρωμένα χειρουργικά πεδία μιας χρήσης.
29. Μάσκες χειρουργικές

30. θερμόμετρο χειρός τύπου Laser υπερύθρων (Wurth)
31. Αναλώσιμα

Το πρωτόκολλο των πειραμάτων την ημέρα πρόκλησης του εγκαύματος είχε ως εξής:

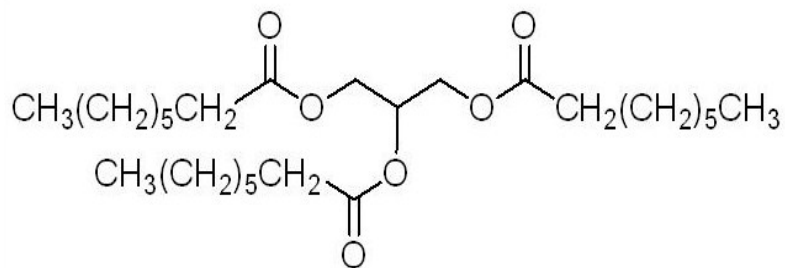
1. Χορήγηση αναισθησίας
2. Σημείωση με μαρκαδόρο στην ουρά του ζώου, έτσι ώστε αυτό να διακρίνεται από τα άλλα.
3. Ζύγιση του κάθε ζώου.
4. Αφαίρεση τριχώματος (από 5 cm² έως 10 cm²) στη ράχη των ζώων.
5. Θέρμανση της σφραγίδας από ανοξειδωτο χάλυβα επί 10 min στη λυχνία Bunsen και κατόπιν τοποθέτηση αυτής στη ράχη του ζώου με ικανή πίεση και χρόνο (για 5 sec), ώστε το έγκαυμα να γίνει βαθύ. Μετά την απομάκρυνση της σφραγίδας ακολούθησε έκπλυση του τραύματος με φυσιολογικό ορό.
6. Φωτογράφιση των εγκαυματικών πληγών
7. Καταγραφή της επιφάνειας εγκαύματος κάθε ζώου σε (φύλλο διαφάνειας) διάφανη σελίδα A₄, η οποία κόπηκε περαιτέρω σε μικρότερα τεμάχια εμβαδού περίπου 10 cm². Επάνω στο εκάστοτε κομμάτι διαφάνειας έγινε η καταγραφή του εμβαδού της εγκαυματικής πληγής του κάθε ζώου, και σε κάθε κομμάτι καταγράφηκε η ημερομηνία της πρόκλησης του εγκαύματος και ο διακριτικός αριθμός του κάθε ζώου.
8. Τοποθέτηση των ζώων στον κλωβό τους και παρακολούθηση αυτών έως ότου παρέλθει η αναισθησία.

9. Καταγραφή των ζώων με αύξοντα αριθμό και τοποθέτηση καρτέλας έξω από κάθε κλωβό, όπου αναγράφεται η ημερομηνία του πειράματος, το φύλο του ζώου, και ο αριθμός του.

3.2.3 Προετοιμασία ουσιών

A) Αρχικά έγινε ζύγιση του $[AgCl(CMBZT)(TPTP)_2(MeOH)]$ (Σ1), στον ηλεκτρονικό ζυγό. Μια ποσότητα 0.0296 g τοποθετήθηκε σε 150 ml Glycerol trioctanoate minimum 99% T9126 SIGMA και ακολούθησε ανάδευσή του διαλύματος του Σ1 στον αναδευτήρα για 6 h. Στη συνέχεια το διάλυμα του Σ1 διατηρήθηκε σε κρυοσυντήρηση με θερμοκρασία 4° C καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος. Η τελική συγκέντρωση του διαλύματος του Σ1 που παρασκευάστηκε ήταν $C = 2 \times 10^{-4}$ M. Η ημερήσια ποσότητα του Σ1 που τοποθετήθηκε στην εγκαυματική πληγή κάθε ζώου ήταν 0.161 mg/kg βάρους σώματος. Πριν από κάθε εφαρμογή το διάλυμα του Σ1 τοποθετούνταν σε αναδευτήρα για να επιτευχθεί η ομοιογένειά του.

B) Διαλύτης: $[CH_3(CH_2)_6COOCH_2]_2CHOCO(CH_2)_6CH_3$ Glycerol trioctanoate minimum 99% T9126 SIGMA, MB=470.68 (Σχήμα 3). Ο διαλύτης διατηρήθηκε σε κρυοσυντήρηση με θερμοκρασία 4° C καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος.



Σχήμα 3: Συντακτικός τύπος Glycerol trioctanoate minimum 99% T9126 SIGMA

3.2.4 Προετοιμασία Ζώων

Για το πείραμα χρησιμοποιήθηκαν 30 επίμυες Wistar ηλικίας 5 μηνών γένους θηλυκού που θα δεχθούν στην επιφάνεια του εγκαύματος το διάλυμα του Σ1 (ομάδα ζώων: ΟΣ1), 30 επίμυες Wistar ηλικίας 5 μηνών γένους θηλυκού που θα δεχθούν στην επιφάνεια του εγκαύματος το διαλύτη (ομάδα ζώων: ΟΔ) και 30 επίμυες Wistar ηλικίας 5 μηνών γένους θηλυκού ως ομάδα ελέγχου (ομάδα ζώων: ΟΕ). Τα βάρη των ζώων ήταν 195-240 g. Όλα τα ζώα προ και κατά τη διάρκεια του πειράματος αφέθηκαν σε ελεύθερη πρόσβαση σε διατροφή και πόση ύδατος. Ο κλωβός των ζώων διαθέτει πλαστικό δάπεδο και μεταλλικό πλαίσιο. Επάνω στο μεταλλικό πλαίσιο τοποθετείται μεταλλική υποδοχή για την τοποθέτηση του υδροδοχείου, το οποίο καθαριζόταν τακτικά και άλλαζε με φρέσκο καθαρό νερό βρύσης καθημερινά. Το μεταλλικό πλαίσιο έφερε και ξεχωριστό χώρο για την τοποθέτηση της τροφής. Οι κλωβοί τοποθετούνται σε ειδικό δωμάτιο στο εργαστήριο πειραματόζωων σε ειδικά ράφια με υποδοχή για την προσαρμογή του κάθε κλωβού. Κάθε ζώο τοποθετήθηκε σε ξεχωριστό κλωβό, για την αποφυγή της στοματικής επαφής άλλου ζώου επάνω στην εγκαυματική πληγή. Ο κλωβός κάθε ζώου καθαριζόταν 3 φορές την εβδομάδα. Η στρωμή κάθε κλωβού αποτελούνταν από ροκανίδι. Η θερμοκρασία στο χώρο ήταν σταθερή στους 22° C και ο φωτισμός 12 ώρες φως, 12 ώρες σκοτάδι.

3.2.5 Μέθοδος

Το ακόλουθο πείραμα πραγματοποιήθηκε στο χειρουργείο του εργαστηρίου πειραματόζωων, ένα ειδικά διαμορφωμένο χώρο με ειδικούς πάγκους, οι οποίοι μπορούν

εύκολα να καθαριστούν και να απολυμανθούν. Στα ζώα έγινε χορήγηση αναισθησίας με 1 ml σε κάθε ζώο αναισθητικού μίγματος midazolame (6.8 mg/kg βάρους σώματος) και ketamine (2.3 mg/kg βάρους σώματος), το οποίο χορηγήθηκε ενδοπεριτοναϊκά. Ακολούθως μετά τη χορήγηση αναισθησίας, τα ζώα ζυγίστηκαν, πραγματοποιήθηκε η καταγραφή του βάρους του κάθε ζώου και ακολούθησε αφαίρεση του τριχώματος του ζώου στην περιοχή της ράχης σε μια επιφάνεια τουλάχιστο 5 cm². Ακολούθησε θέρμανση της σφραγίδας επί 10 min στη λυχνία Bunsen και κατόπιν η σφραγίδα τοποθετήθηκε επί του δέρματος του ζώου και με ικανή πίεση για 5 sec ώστε να επιτευχθεί έγκαυμα ολικού πάχους δέρματος. Σε όλα τα ζώα χρησιμοποιήθηκε η ίδια σφραγίδα για να μην υπάρχει μεγάλη απόκλιση στο τελικό εμβαδόν της επιφάνειας του εγκαύματος. Το εμβαδόν της επιφάνειας του εγκαύματος υπολογίστηκε ότι καταλαμβάνει το 1.12 % της επιφάνειας του σώματος.

Στη συνέχεια η περιοχή του εγκαύματος καθαρίστηκε με στεγνό καθαρό χαρτί και ακολούθησε αποτύπωση της επιφάνειας του εγκαύματος σε διαφανή σελίδα (φύλλο διαφάνειας) A₄ με ανεξίτηλο μαρκαδόρο για να υπολογιστεί με τη μέθοδο της πλανιμετρίας. Η διαδικασία αυτή εφαρμόστηκε σε όλα τα ζώα, την ημέρα πρόκλησης του εγκαύματος (HE). Ακολούθησε η καταγραφή των μακροσκοπικών παρατηρήσεων όσον αφορά την μορφή και τα χαρακτηριστικά της εγκαυματικής πληγής κάθε ζώου.

Το επόμενο βήμα ήταν η φωτογράφιση της εγκαυματικής επιφάνειας του κάθε ζώου.

Η μέτρηση της εγκαυματικής επιφάνειας έγινε ως εξής: Η διαφανής σελίδα τοποθετήθηκε επάνω σε χαρτί μιλλιμετρέ και η επιφάνεια που υπήρχε επάνω στη διαφανή σελίδα μετρήθηκε και με τη χρήση του πλανίμετρου και με τη βοήθεια του μιλλιμετρέ χαρτιού (δηλαδή με δύο τρόπους) για να μην υπάρξουν περιπτώσεις οιονδήποτε αποκλίσεων και λανθασμένων τιμών. Κάθε επιφάνεια μετρήθηκε έξι φορές με το πλανίμετρο και από αυτές υπολογίστηκε ο μέσος όρος (M.O) της εκάστοτε εγκαυματικής

επιφάνειας. Έπειτα ακολούθησε η επαλήθευση με το μιλλιμετρέ χαρτί με μέτρηση της κάθε επιφάνειας τρεις φορές και υπολογισμός του Μ.Ο. για ταυτοποίηση των αποτελεσμάτων.

Η μελέτη της επουλωτικής δράσης του διαλύματος του Σ1, οριοθετήθηκε στις εξής μετεγκαυματικές ημέρες (Μετεγκαυματικές ημέρες: ΜΕΗ): 3^η, 6^η, 12^η, 21^η και 31^η.

Μετά την πρόκληση του εγκαύματος και την αποτύπωση της επιφάνειας του εγκαύματος, τα ζώα μοιράστηκαν ανάλογα με τις ημέρες που θα μελετάται η επούλωση της εγκαυματικής πληγής. Τα 30 ζώα που θα δεχθούν στην επιφάνεια του εγκαύματος το διάλυμα του Σ1 (ομάδα ζώων: ΟΣ1), χωρίστηκαν σε περαιτέρω υποομάδες ανάλογα με την μετεγκαυματική ημέρα που μελετώνται και 6 ζώα μελετήθηκαν την 3^η μετεγκαυματική ημέρα, 6 ζώα την 6^η, 6 ζώα την 12^η, 6 ζώα την 21^η και 6 ζώα την 31^η μετεγκαυματική ημέρα. Τα 30 ζώα (ομάδα ζώων: ΟΔ) που θα δεχθούν στην επιφάνεια του εγκαύματος το διάλυμα (Glyceryl trioctanoate minimum 99% T9126 SIGMA), χωρίστηκαν σε περαιτέρω υποομάδες ανάλογα με την μετεγκαυματική ημέρα που μελετώνται και 6 ζώα μελετήθηκαν την 3^η μετεγκαυματική ημέρα, 6 ζώα την 6^η, 6 ζώα την 12^η, 6 ζώα την 21^η και 6 ζώα την 31^η μετεγκαυματική ημέρα. Τα 30 ζώα που δεν θα δεχθούν στην επιφάνεια του εγκαύματος καμία ουσία και αποτελούν την ομάδα ελέγχου (ομάδα ζώων: ΟΕ), χωρίστηκαν σε περαιτέρω υποομάδες ανάλογα με την μετεγκαυματική ημέρα που μελετώνται και 6 ζώα μελετήθηκαν την 3^η μετεγκαυματική ημέρα, 6 ζώα την 6^η, 6 ζώα την 12^η, 6 ζώα την 21^η και 6 ζώα την 31^η.

Στα ζώα της ΟΣ1 τοποθετήθηκαν με επάλειψη 1.75 ml του διαλύματος του Σ1 ανά 6 ζώα ημερησίως. Στα ζώα της ΟΔ τοποθετήθηκε 1.75 ml του διαλύτη ανά 6 ζώα ημερησίως. Τέλος στα ζώα της ΟΕ δεν τοποθετήθηκε καμία ουσία. Μετά την πρώτη εφαρμογή των ουσιών, την ημέρα της πρόκλησης του εγκαύματος, ακολούθησε η

παρακολούθηση των ζώων για 15 λεπτά, έως ότου παρέλθει η αναισθησία και η καταγραφή μακροσκοπικών παρατηρήσεων.

Την δεύτερη μετεγκαυματική ημέρα τοποθετήθηκαν οι ίδιες ουσίες και η ίδια ποσότητα καθεμιάς από αυτές σε κάθε υποομάδα. Ακολούθησε παρακολούθηση των ζώων για 15 λεπτά και η καταγραφή μακροσκοπικών παρατηρήσεων.

3.2.6 Τρίτη μετεγκαυματική ημέρα

Την τρίτη μετεγκαυματική ημέρα 6 από τα ζώα της ΟΣ1, 6 από τα ζώα της ΟΔ και 6 από τα ζώα της ΟΕ, απομονώθηκαν από τα υπόλοιπα, οι κλωβοί τοποθετήθηκαν στον ειδικά διαμορφωμένο χώρο του χειρουργείου και πραγματοποιήθηκε σε αυτά η ακόλουθη διαδικασία:

1. Στα ζώα έγινε χορήγηση αναισθησίας με 1 ml σε κάθε ζώο αναισθητικού μίγματος midazolame (6.8 mg/kg βάρους σώματος) και ketamine (2.3 mg/kg βάρους σώματος), το οποίο χορηγήθηκε ενδοπεριτοναϊκά.
2. Καταγράφεται η μακροσκοπική παρατήρηση των χαρακτηριστικών του εγκαύματος σε κάθε ζώο.
3. Αποτυπώνεται η επιφάνεια του εγκαύματος σε κομμάτι διαφάνειας με ανεξίτηλο μαρκαδόρο για να υπολογιστεί με τη μέθοδο της πλανιμετρίας. Τα στοιχεία του κάθε ζώου καθώς και η ημερομηνία αναγράφονται σε κάθε κομμάτι διαφάνειας.
4. Ακολουθεί η φωτογράφιση των εγκαυματικών πληγών των ζώων.
5. Τοποθετείται το κάθε ζώο ξεχωριστά σε μια επίπεδη επιφάνεια επάνω σε αποστειρωμένο χαρτί (χειρουργικό πεδίο) μιας χρήσης. Προσαρμόζεται το

χειρουργικό νυστέρι στην μεταλλική λαβή και ακολούθως μελετάται η επιφάνεια του εγκαύματος και η επιλογή κατάλληλου σημείου για να πραγματοποιηθεί η χειρουργική εκτομή. Η χειρουργική εκτομή γίνεται σε σχήμα τριγώνου, με την κορυφή του στο κέντρο της εγκαυματικής πληγής και τη βάση του εκτός της εγκαυματικής πληγής, η οποία φέρει και τεμάχιο υγιούς ιστού (εκτός της εγκαυματικής πληγής). Η εκτομή αρχίζει από το κέντρο της πληγής προς τη βάση του τριγώνου, συνεχίζει από την άλλη πλευρά ομοίως, από το κέντρο της πληγής προς τη βάση του τριγώνου και τέλος γίνεται η εκτομή στη βάση του τριγώνου. Έτσι γίνεται η εκτομή ενός ιστολογικού τεμαχίου, με επιφάνεια λίγο μεγαλύτερη από το 1/4 της εγκαυματικής πληγής. Κατά την διάρκεια της εκτομής, μια χειρουργική λαβίδα συγκρατεί το ιστολογικό τεμάχιο για να διευκολύνονται οι χειρισμοί.

6. Κάθε τεμάχιο τοποθετείται σε διαφορετικό πλαστικό δοχείο το οποίο κλείνει με καπάκι. Μέσα σε κάθε δοχείο τοποθετείται ποσότητα φορμόλης ίση με τα 3/5 του δοχείου. Στην εξωτερική επιφάνεια κάθε δοχείου τοποθετείται αυτοκόλλητο χαρτί, στο οποίο αναγράφονται με ανεξίτηλο μαρκαδόρο η ημερομηνία εκτομής του ιστολογικού τεμαχίου και ο αριθμός του ζώου.
7. Τα ζώα που συμμετείχαν στη διαδικασία που περιγράφηκε απομακρύνονται και θανατώνονται.
8. Ακολουθεί η αποστείρωση των εργαλείων.

Στα υπόλοιπα ζώα που απέμειναν, τα οποία είναι 24 ζώα της ΟΣ1 24 ζώα της ΟΔ και 24 ζώα της ΟΕ, αφού πραγματοποιήθηκε η μακροσκοπική παρατήρηση του εγκαύματος, ακολούθησε η τοποθέτηση στην επιφάνεια του εγκαύματος των αντίστοιχων ουσιών,

δηλαδή 1.75 ml διαλύματος του Σ1 ανά 6 ζώα, 1.75 ml διαλύτη ανά 6 ζώα και καμιά ουσία στην ομάδα ελέγχου.

Η διαδικασία τοποθέτησης των ουσιών μαζί με τις μακροσκοπικές παρατηρήσεις συνεχίστηκαν ομοίως την 4^η και την 5^η μετεγκαυματική ημέρα.

3.2.7 Έκτη μετεγκαυματική ημέρα

Την έκτη μετεγκαυματική ημέρα 6 από τα ζώα της ΟΣ1, 6 από τα ζώα της ΟΔ και 6 από τα ζώα της ΟΕ, απομονώθηκαν από τα υπόλοιπα, οι κλωβοί τοποθετήθηκαν στον ειδικά διαμορφωμένο χώρο του χειρουργείου και πραγματοποιήθηκε σε αυτά η ακόλουθη διαδικασία των βημάτων 1-8 της τρίτης μετεγκαυματικής ημέρας. Στα υπόλοιπα ζώα που απέμειναν, τα οποία είναι 18 ζώα της ΟΣ1, 18 ζώα της ΟΔ και τα 18 ζώα της ΟΕ, αφού πραγματοποιήθηκε η μακροσκοπική παρατήρηση του εγκαύματος, τοποθετήθηκαν στην επιφάνεια του εγκαύματος οι αντίστοιχες ποσότητες ουσιών, δηλαδή 1.75 ml ανά 6 ζώα διαλύματος του Σ1, 1.75 ml διαλύτη ανά 6 ζώα και καμιά ουσία στην ομάδα ελέγχου. Η διαδικασία τοποθέτησης των ουσιών μαζί με τις μακροσκοπικές παρατηρήσεις συνεχίστηκαν ομοίως την 7^η την 8^η την 9^η την 10^η και την 11^η μετεγκαυματική ημέρα.

3.2.8 Δωδέκατη μετεγκαυματική ημέρα

Τη δωδέκατη μετεγκαυματική ημέρα 6 από τα ζώα της ΟΣ1, 6 από τα ζώα της ΟΔ και 6 από τα ζώα της ΟΕ, απομονώθηκαν από τα υπόλοιπα, οι κλωβοί τοποθετήθηκαν στον ειδικά διαμορφωμένο χώρο του χειρουργείου και πραγματοποιήθηκε σε αυτά η ακόλουθη

διαδικασία των βημάτων 1-8 της τρίτης μετεγκαυματικής ημέρας. Στα υπόλοιπα ζώα που απέμειναν, τα οποία είναι 12 ζώα της ΟΣ1, 12 ζώα της ΟΔ όπου τοποθετείται ο διαλύτης, και τα 12 ζώα ΟΕ, αφού πραγματοποιήθηκε η μακροσκοπική παρατήρηση του εγκαύματος, τοποθετήθηκαν στην επιφάνεια του εγκαύματος οι αντίστοιχες ποσότητες ουσιών, δηλαδή 1.75 ml διαλύματος του Σ1 ανά 6 ζώα, 1.75 ml διαλύτη ανά 6 ζώα και καμιά ουσία στην ομάδα ελέγχου. Η διαδικασία τοποθέτησης των ουσιών μαζί με τις μακροσκοπικές παρατηρήσεις συνεχίστηκαν ομοίως την 13^η την 14^η την 15^η την 16^η την 17^η την 18^η την 19^η και την 20^η μετεγκαυματική ημέρα.

3.2.9 Εικοστή πρώτη μετεγκαυματική ημέρα

Την εικοστή πρώτη μετεγκαυματική ημέρα 6 από τα ζώα της ΟΣ1, 6 από τα ζώα της ΟΔ και 6 από τα ζώα της ΟΕ, απομονώθηκαν από τα υπόλοιπα, οι κλωβοί τοποθετήθηκαν στον ειδικά διαμορφωμένο χώρο του χειρουργείου και πραγματοποιήθηκε σε αυτά η ακόλουθη διαδικασία των βημάτων 1-8 της τρίτης μετεγκαυματικής ημέρας. Στα υπόλοιπα ζώα που απέμειναν, τα οποία είναι 6 από τα ζώα της ΟΣ1, 6 από τα ζώα της ΟΔ και 6 από τα ζώα της ΟΕ, αφού πραγματοποιήθηκε η μακροσκοπική παρατήρηση του εγκαύματος, τοποθετήθηκαν στην επιφάνεια του εγκαύματος οι αντίστοιχες ποσότητες ουσιών, δηλαδή 1.75 ml διαλύματος του Σ1 ανά 6 ζώα, 1.75 ml διαλύτη ανά 6 ζώα και καμιά ουσία στην ομάδα ελέγχου. Η διαδικασία τοποθέτησης των ουσιών μαζί με τις μακροσκοπικές παρατηρήσεις συνεχίστηκαν ομοίως την 22^η την 23^η την 24^η την 25^η την 26^η την 27^η την 28^η και την 29^η και την 30^η μετεγκαυματική ημέρα.

3.2.10 Τριακοστή πρώτη μετεγκαυματική ημέρα

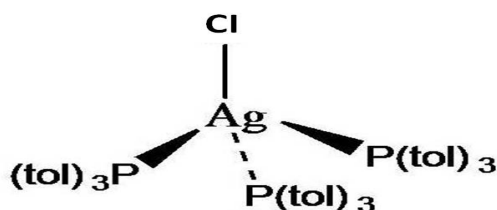
Την τριακοστή πρώτη μετεγκαυματική ημέρα τα 6 ζώα της ΟΣ1, τα 6 ζώα της ΟΔ και τα 6 ζώα της ΟΕ, απομονώθηκαν, οι κλωβοί τοποθετήθηκαν στον ειδικά διαμορφωμένο χώρο του χειρουργείου και πραγματοποιήθηκε σε αυτά η ακόλουθη διαδικασία των βημάτων 1-8 της τρίτης μετεγκαυματικής ημέρας.

3.3 Πείραμα δεύτερο

Υπό μελέτη ουσία: $[\text{AgCl}(\text{TPTP})_3(0.5\text{H}_2\text{O})]$ (σύμπλοκο Σ2), (Kyros *et al.* 2010) (Σχήμα 4)

Πρόκειται για το σύμπλοκο του χλωριούχου αργύρου και tri(p-tolyl)phosphine (TPTP, $\text{C}_{21}\text{H}_{21}\text{P}$) $\text{MB}=1065.4$ $\text{MT}=\text{C}_{63}\text{H}_{64}\text{AgClO}_{0.5}\text{P}_3$

Διαλυτό στα: MeCN, CHCl_3 , CH_2Cl_2 , DMF και CH_3OH . Οι κρύσταλλοι είναι σταθεροί στον αέρα όταν διατηρούνται σε σκοτεινό μέρος.



(tol)₃P=tri (p-tolyl) phosphine

Σχήμα 4: Συντακτικός τύπος συμπλόκου Σ2

Τα υλικά, το πρωτόκολλο των πειραμάτων, η προετοιμασία ουσιών, η προετοιμασία των ζώων, η μέθοδος, είναι ακριβώς τα ίδια με τα αντίστοιχα του πρώτου πειράματος. Σχετικά με την μελέτη του εν λόγω συμπλόκου η προετοιμασία έγινε ως εξής: Αρχικά έγινε ζύγιση του $[\text{AgCl}(\text{TPTP})_3(0.5 \cdot \text{H}_2\text{O})]$ (Σ2), στον ηλεκτρονικό ζυγό. Μια ποσότητα 0.0319 g τοποθετήθηκε σε 150 ml Glyceryl trioctanoate minimum 99% T9126 SIGMA και ακολούθησε ανάδευσή του στον αναδευτήρα για 6 h. Στη συνέχεια το διάλυμα του Σ2 διατηρήθηκε σε κρυσυντήρηση με θερμοκρασία 4° C καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος. Η τελική συγκέντρωση του διαλύματος του Σ2 που παρασκευάστηκε ήταν $C = 2 \times 10^{-4}$ M. Η ημερήσια ποσότητα του Σ2 που τοποθετήθηκε στην εγκαυματική πληγή κάθε ζώου ήταν 0.174 mg/kg βάρους σώματος. Πριν από κάθε εφαρμογή το διάλυμα του Σ2 τοποθετούνταν σε αναδευτήρα για να επιτευχθεί η ομοιογένειά του.

Η μελέτη του συμπλοκου (Σ2) στην πορεία της επούλωσης εγκαυματικής πληγής είναι ακριβώς η ίδια με το πρώτο πείραμα, όσον αφορά τη μέθοδο και ολοκληρώθηκε σε 31 ημέρες.

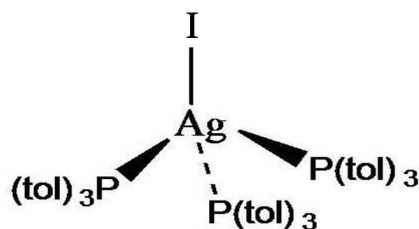
Ομάδες ζώων: ΟΣ2: η ομάδα ζώων που δεχόταν στην εγκαυματική τους πληγή το διάλυμα του Σ2, ΟΔ: η ομάδα ζώων που δεχόταν στην εγκαυματική τους πληγή το διαλύτη και ΟΕ: η ομάδα ελέγχου. Οι ομάδες ΟΔ και ΟΕ είναι οι ίδιες ακριβώς με το πρώτο πείραμα.

3.4 Πείραμα τρίτο

Υπό μελέτη ουσία: $[\text{AgI}(\text{TPTP})_3]$ (σύμπλοκο Σ3), (Kyros *et al.* 2010) (Σχήμα 5)

Πρόκειται για το σύμπλοκο του ιωδιούχου αργύρου και tri(p-tolyl)phosphine (TPTP, $\text{C}_{21}\text{H}_{21}\text{P}$) $\text{MB}=1147.8$ $\text{MT}=\text{C}_{63}\text{H}_{63}\text{AgIP}_3$

Διαλυτό στα: MeCN, CHCl₃, CH₂Cl₂, DMF και CH₃OH. Οι κρύσταλλοι είναι σταθεροί στον αέρα αλλά διατηρήθηκαν σε σκοτεινό μέρος.



(tol)₃P=tri (p-tolyl) phosphine

Σχήμα 5: Συντακτικός τύπος συμπλόκου Σ3

Τα υλικά, το πρωτόκολλο των πειραμάτων, η προετοιμασία ουσιών, η προετοιμασία των ζώων, η μέθοδος, είναι ακριβώς τα ίδια με τα αντίστοιχα του πρώτου πειράματος. Σχετικά με την μελέτη του εν λόγω συμπλοκου η προετοιμασία έγινε ως εξής: Αρχικά έγινε ζύγιση του [AgI(TP)₃] (Σ3) στον ηλεκτρονικό ζυγό. Μια ποσότητα 0.0344 g τοποθετήθηκε σε 150 ml Glyceryl trioctanoate minimum 99% T9126 SIGMA και ακολούθησε ανάδευσή του στον αναδευτήρα για 6 h. Στη συνέχεια το διάλυμα του Σ3 διατηρήθηκε σε κρυσυκντήρηση με θερμοκρασία 4° C καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος. Η τελική συγκέντρωση του διαλύματος του Σ3 που παρασκευάστηκε ήταν C = 2x10⁻⁴ M. Η ημερήσια ποσότητα του Σ3 που τοποθετήθηκε στην εγκαυματική πληγή κάθε ζώου ήταν 0.187 mg/kg βάρους σώματος. Πριν από κάθε εφαρμογή το διάλυμα του Σ3 τοποθετούνταν σε αναδευτήρα για να επιτευχθεί η ομοιογένειά του.

Η μελέτη του συμπλόκου (Σ3) στην πορεία της επούλωσης εγκαυματικής πληγής είναι ακριβώς η ίδια με το πρώτο πείραμα, όσον αφορά τη μέθοδο και ολοκληρώθηκε σε 31 ημέρες.

Ομάδες ζώων: ΟΣ3: η ομάδα ζώων που δεχόταν στην εγκαυματική τους πληγή το διάλυμα του Σ3, ΟΔ: η ομάδα ζώων που δεχόταν στην εγκαυματική τους πληγή το διαλύτη και ΟΕ: η ομάδα ελέγχου. Οι ομάδες ΟΔ και ΟΕ είναι οι ίδιες ακριβώς με το πρώτο πείραμα.

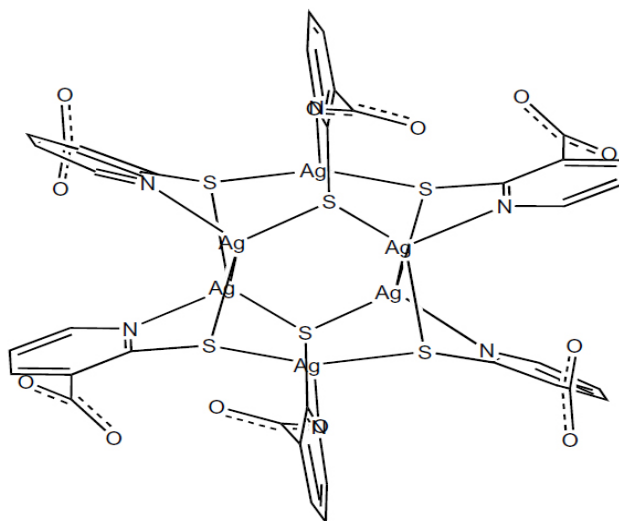
3.5 Πείραμα τέταρτο

Υπό μελέτη ουσία: $\{[Ag_6(\mu_3-Hmna)_4(\mu_3-mna)_2]^{2-} \cdot [(Et_3NH)^+]_2 \cdot (DMSO)_2(H_2O)\}$
(σύμπλοκο Σ4) ($H_2MNA=2$ -mercapto-nicotinic acid, $C_6H_5NO_2S$) (Hadjikakou *et al.* 2008; Zachariadis *et al.* 2003)

Πρόκειται για το σύμπλοκο του αργύρου με 2-μερκαπτονικοτινικό οξύ (Σχήμα 6)

MB=1948.7 MT= $C_{52}H_{68}Ag_6N_8O_{15}S_8$

Διαλύεται σε H_2O , DMSO, DMF. Οι κρύσταλλοι είναι σταθεροί στον αέρα όταν διατηρούνται σε σκοτεινό μέρος.



Σχήμα 6: Συντακτικός τύπος συμπλόκου Σ4 (Από Hadjikakou *et al.* 2008)

Τα υλικά, το πρωτόκολλο των πειραμάτων, η προετοιμασία ουσιών, η προετοιμασία των ζώων, η μέθοδος, είναι ακριβώς τα ίδια με τα αντίστοιχα του πρώτου πειράματος. Σχετικά με την μελέτη του εν λόγω συμπλόκου η προετοιμασία έγινε ως εξής: Αρχικά έγινε ζύγιση του $\{[Ag_6(\mu_3-Hmpa)_4(\mu_3-mna)_2]^{2-} \cdot [(Et_3NH)^+]_2 \cdot (DMSO)_2(H_2O)\}$ (Σ4) στον ηλεκτρονικό ζυγό. Μια ποσότητα 0.0344 g τοποθετήθηκε σε 150 ml Glyceryl trioctanoate minimum 99% T9126 SIGMA και ακολούθησε ανάδευσή του στον αναδευτήρα για 6 h. Στη συνέχεια το διάλυμα του Σ4 διατηρήθηκε σε κρυσυντήρηση με θερμοκρασία 4° C καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος. Η τελική συγκέντρωση του διαλύματος του Σ4 που παρασκευάστηκε ήταν $C = 2 \times 10^{-4}$ M. Η ημερήσια ποσότητα του Σ4 που τοποθετήθηκε στην εγκαυματική πληγή κάθε ζώου ήταν 0.187 mg/kg βάρους σώματος. Πριν από κάθε εφαρμογή το διάλυμα του Σ4 τοποθετούνταν σε αναδευτήρα για να επιτευχθεί η ομοιογένειά του.

Η μελέτη του συμπλόκου (Σ4) στην πορεία της επούλωσης εγκαυματικής πληγής είναι ακριβώς η ίδια με το πρώτο πείραμα, όσον αφορά τη μέθοδο και ολοκληρώθηκε σε 31 ημέρες.

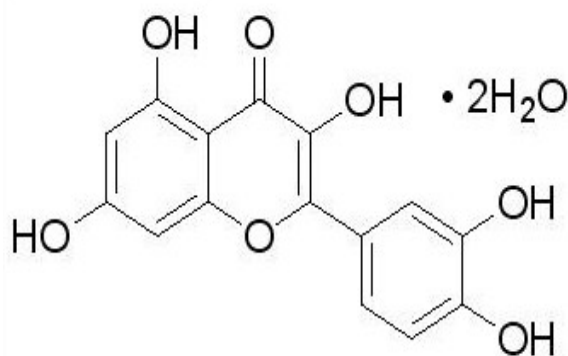
Ομάδες ζώων: ΟΣ4: η ομάδα ζώων που δεχόταν στην εγκαυματική τους πληγή το διάλυμα του Σ4, ΟΔ: η ομάδα ζώων που δεχόταν στην εγκαυματική τους πληγή το διαλύτη και ΟΕ: η ομάδα ελέγχου. Οι ομάδες ΟΔ και ΟΕ είναι οι ίδιες ακριβώς με το πρώτο πείραμα.

3.6 Πείραμα πέμπτο

Τα υλικά, το πρωτόκολλο των πειραμάτων, η προετοιμασία των ζώων, η μέθοδος, είναι ακριβώς τα ίδια με τα αντίστοιχα του πρώτου πειράματος. Σχετικά με την μελέτη της εν

λόγω ουσίας η προετοιμασία έγινε ως εξής: 0.28 g σκόνης Κουερσετίνης (Quercetin dihydrate minimum 98% HPLC, SIGMA Q0125, $MT=C_{15}H_{10}O_7 \cdot 2H_2O$ $MB=338.27$) (Σχήμα 7) η οποία διαλύθηκε σε 1.75 ml Glycerin trioctanoate minimum 99% T9126 SIGMA, ήταν η ποσότητα του διαλύματος το οποίο τοποθετήθηκε επάνω στην εγκαυματική επιφάνεια ανά 6 ζώα ημερησίως. Η ανάμειξη πραγματοποιούνταν κάθε ημέρα προ της επάλειψης και σε ποσότητα κατά αντιστοιχία με τον αριθμό των ζώων που θα δεχόταν το μίγμα στην εγκαυματική της πληγή. Η σκόνη της Κουερσετίνης διατηρήθηκε σε κρυοσυντήρηση με θερμοκρασία $4^{\circ}C$ καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος. Η τελική συγκέντρωση του διαλύματος της Κουερσετίνης που παρασκευάστηκε ήταν $C=0.473 M$. Η ημερήσια ποσότητα της Κουερσετίνης που τοποθετήθηκε στην εγκαυματική πληγή κάθε ζώου ήταν 131 mg/kg βάρους σώματος. Η ανάμειξη της Κουερσετίνης και του διαλύτη γινόταν σε ποτήρι ζέσεως και ανακατευόταν με υάλινη ράβδο έως ότου ελάμβανε μορφή πάστας.

Η μελέτη της Κουερσετίνης στην πορεία της επούλωσης εγκαυματικής πληγής είναι ακριβώς η ίδια με το πρώτο πείραμα, όσον αφορά τη μέθοδο και ολοκληρώθηκε σε 31 ημέρες.



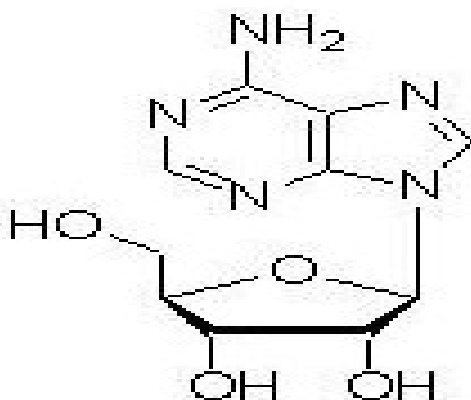
Σχήμα 7: Συντακτικός τύπος της Κουερσετίνης

Ομάδες ζώων: OK: η ομάδα ζώων που δεχόταν στην εγκαυματική τους πληγή το διάλυμα της Κουερσετίνης, ΟΔ: η ομάδα ζώων που δεχόταν στην εγκαυματική τους πληγή το διαλύτη και ΟΕ: η ομάδα ελέγχου. Οι ομάδες ΟΔ και ΟΕ είναι οι ίδιες ακριβώς με το πρώτο πείραμα

3.7 Πείραμα έκτο

Τα υλικά, το πρωτόκολλο των πειραμάτων, η προετοιμασία των ζώων, η μέθοδος, είναι ακριβώς τα ίδια με τα αντίστοιχα του πρώτου πειράματος. Σχετικά με την μελέτη της εν λόγω ουσίας η προετοιμασία έγινε ως εξής: 0.21 g σκόνης Αδενοσίνης (Adenosine, Fluka-01890, $MT=C_{10}H_{13}N_5O_4$ $MB=267.24$) (Σχήμα 8), η οποία διαλύθηκε σε 1.75 ml Glycerin trioctanoate minimum 99% T9126 SIGMA, ήταν η ποσότητα του διαλύματος το οποίο τοποθετήθηκε επάνω στην εγκαυματική επιφάνεια ανά 6 ζώα ημερησίως. Η ανάμειξη πραγματοποιούνταν κάθε ημέρα προ της επάλειψης και σε ποσότητα κατά αντιστοιχία με τον αριθμό των ζώων που θα δεχόταν το μίγμα στην εγκαυματική τους πληγή. Η σκόνη της Αδενοσίνης διατηρήθηκε σε κρυσυντήρηση με θερμοκρασία 4° C καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος. Η τελική συγκέντρωση του διαλύματος της Αδενοσίνης που παρασκευάστηκε ήταν $C=0.45$ M. Η ημερήσια ποσότητα της Αδενοσίνης που τοποθετήθηκε στην εγκαυματική πληγή κάθε ζώου ήταν 98 mg/kg βάρους σώματος. Η ανάμειξη της Αδενοσίνης και του διαλύτη γινόταν σε ποτήρι ζέσεως και ανακατευόταν με υάλινη ράβδο έως ότου ελάμβανε μορφή πάστας.

Η μελέτη της Αδενοσίνης στην πορεία της επούλωσης εγκαυματικής πληγής είναι ακριβώς η ίδια με το πρώτο πείραμα, όσον αφορά τη μέθοδο και ολοκληρώθηκε σε 31 ημέρες.



Σχήμα 8: Συντακτικός τύπος της Αδενοσίνης

Ομάδες ζώων: ΟΑ: η ομάδα ζώων που δεχόταν στην εγκυματική τους πληγή το διάλυμα της Αδενοσίνης, ΟΔ: η ομάδα ζώων που δεχόταν στην εγκυματική τους πληγή το διαλύτη και ΟΕ: η ομάδα ελέγχου. Οι ομάδες ΟΔ και ΟΕ είναι οι ίδιες ακριβώς με το πρώτο πείραμα.

	3 ^η ΜΕΗ	6 ^η ΜΕΗ	12 ^η ΜΕΗ	21 ^η ΜΕΗ	31 ^η ΜΕΗ
ΟΕ	1, 2, 3, 4, 5, 6	7, 8, 9, 10, 11, 12	13, 14, 15, 16, 17, 18	19, 20, 21, 22, 23, 24	25, 26, 27, 28, 29, 30
ΟΔ	1, 2, 3, 4, 5, 6	7, 8, 9, 10, 11, 12	13, 14, 15, 16, 17, 18	19, 20, 21, 22, 23, 24	25, 26, 27, 28, 29, 30
ΟΣ1	1, 2, 3, 4, 5, 6	7, 8, 9, 10, 11, 12	13, 14, 15, 16, 17, 18	19, 20, 21, 22, 23, 24	25, 26, 27, 28, 29, 30
ΟΣ2	1, 2, 3, 4, 5, 6	7, 8, 9, 10, 11, 12	13, 14, 15, 16, 17, 18	19, 20, 21, 22, 23, 24	25, 26, 27, 28, 29, 30
ΟΣ3	1, 2, 3, 4, 5, 6	7, 8, 9, 10, 11, 12	13, 14, 15, 16, 17, 18	19, 20, 21, 22, 23, 24	25, 26, 27, 28, 29, 30
ΟΣ4	1, 2, 3, 4, 5, 6	7, 8, 9, 10, 11, 12	13, 14, 15, 16, 17, 18	19, 20, 21, 22, 23, 24	25, 26, 27, 28, 29, 30
ΟΚ	1, 2, 3, 4, 5, 6	7, 8, 9, 10, 11, 12	13, 14, 15, 16, 17, 18	19, 20, 21, 22, 23, 24	25, 26, 27, 28, 29, 30
ΟΑ	1, 2, 3, 4, 5, 6	7, 8, 9, 10, 11, 12	13, 14, 15, 16, 17, 18	19, 20, 21, 22, 23, 24	25, 26, 27, 28, 29, 30

Πίνακας 6: Κατάταξη ομάδων και υποομάδων ζώων. Σε σύνολο χρησιμοποιήθηκαν 240 ζώα. Ομάδες ζώων: ΟΕ: η ομάδα ελέγχου, ΟΔ: η ομάδα ζώων που δεχόταν στην εγκυματική τους πληγή το διαλύτη, ΟΣ1: η ομάδα ζώων που δεχόταν στην εγκυματική τους πληγή το διάλυμα του Σ1, ΟΣ2: η ομάδα ζώων που δεχόταν στην εγκυματική τους πληγή το διάλυμα του Σ2, ΟΣ3: η ομάδα ζώων που δεχόταν στην

εγκαυματική τους πληγή το διάλυμα του Σ3, ΟΣ4: η ομάδα ζώων που δεχόταν στην εγκαυματική τους πληγή το διάλυμα του Σ4, ΟΚ: η ομάδα ζώων που δεχόταν στην εγκαυματική τους πληγή το διάλυμα της Κουερσετίνης και ΟΑ: η ομάδα ζώων που δεχόταν στην εγκαυματική τους πληγή το διάλυμα της Αδενοσίνης, ΜΕΗ: Μετεγκαυματική ημέρα.

3.8 Πείραμα έβδομο

Υπολογισμός της επιφάνειας σώματος σε επίμυες Wistar

3.8.1 Υλικά

1. Ζυγαριά (για την ζύγιση των ζώων)
2. Πλανίμετρο (HAFF planimeter No 313 – GEBRUDER HAFF GMBH
TIROLER STR.5 D-87459 PFRONDEN GERMANY)
3. Φύλλο διαφάνειας (διαφανής σελίδα A₄)
4. Διάφανοι φάκελοι A₄ (διαφανείς σακούλες)
5. Αναισθητικά φάρμακα
6. Σύριγγες μιας χρήσης.
7. Φωτογραφική μηχανή (Olympus digital camera model No FE-190, CHINA)
8. Μαρκαδόροι ανεξίτηλοι και μη
9. Αναλώσιμα

3.8.2 Προετοιμασία Ζώων

Για το πείραμα χρησιμοποιήθηκαν 30 επίμυες Wistar ηλικίας 5 μηνών γένους θηλυκού. Τα βάρη των ζώων ήταν 195-240 g.

3.8.3 Μέθοδος

Το ακόλουθο πείραμα πραγματοποιήθηκε στο χειρουργείο του εργαστηρίου πειραματόζωων, ένα ειδικά διαμορφωμένο χώρο με ειδικούς πάγκους, οι οποίοι μπορούν εύκολα να καθαριστούν και να απολυμανθούν. Στα ζώα έγινε χορήγηση αναισθησίας με 1 ml σε κάθε ζώο midazolame (6.8 mg/kg βάρους σώματος) και ketamine (2.3 mg/kg βάρους σώματος), το οποίο χορηγήθηκε ενδοπεριτοναϊκά. Ακολούθως τα ζώα ζυγίστηκαν και πραγματοποιήθηκε η καταγραφή του βάρους του κάθε ζώου. Ακολούθησε σημείωση με μαρκαδόρο στην ουρά του ζώου, έτσι ώστε αυτό να διακρίνεται από τα άλλα και καταγράφηκε η σημείωση βάσει αρίθμησης.

Οι διάφανοι φάκελοι τοποθετούνται επάνω σε μια καθαρή, επίπεδη επιφάνεια (Εικόνα 4A). Αρχικά μετρήθηκε το μήκος του κάθε ζώου από τη μύτη έως τον πρωκτό και καταγράφηκε. Κάθε ζώο με τη σειρά τοποθετήθηκε μέσα στο διάφανο φάκελο με την κοιλιακή του επιφάνεια σε επαφή με το κατώτερο φύλλο του φακέλου (Εικόνα 4B). Δημιουργήθηκε μια οπή στη βάση του φακέλου, ακριβώς στο κέντρο του, από την οποία εξέρχεται η ουρά του ζώου. Σε αυτή τη θέση, το σώμα και το κεφάλι του ζώου βρίσκεται μέσα στο φάκελο και η ουρά του εκτός του φακέλου. Το ανώτερο φύλλο του φακέλου, μετατοπίζεται έτσι ώστε, χωρίς να τεντώνεται και να παραμορφώνεται, να εφάπτεται με την ραχιαία και της δύο πλάγιες επιφάνειες του ζώου. Η διαδικασία αυτή

πραγματοποιήθηκε από τρία άτομα. Όταν το ανώτερο φύλλο του φακέλου καλύψει τη ραχιαία και τις δύο πλάγιες επιφάνειες του ζώου και έρθει σε επαφή και το κατώτερο φύλλο του φακέλου, σχεδιάζεται το περίγραμμα του ζώου (δηλαδή το κεφάλι, το σώμα και οι δύο πλάγιες επιφάνειες του ζώου) με ένα ανεξίτηλο μαρκαδόρο. Ο σχεδιασμός πραγματοποιείται στην εξωτερική επιφάνεια του ανώτερου φύλλου του φακέλου, στη θέση που περιγράφεται (Εικόνα 4C).

Ακολούθως το ζώο εξέρχεται του φακέλου και ο φάκελος διαμορφώνεται στο αρχικό του σχήμα. Το ζώο ακολούθως τοποθετείται επάνω στο φάκελο με την κοιλιακή του επιφάνεια σε επαφή με αυτό και σχεδιάζεται το περίγραμμα της κοιλιακής του επιφάνειας με ένα ανεξίτηλο μαρκαδόρο (Εικόνα 4D).

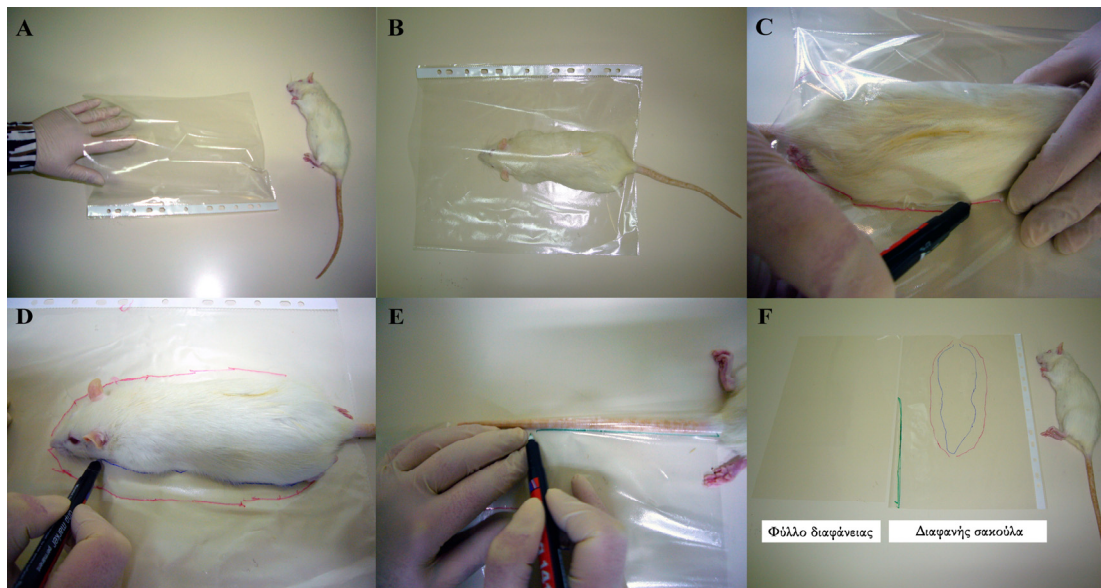
Η επιφάνεια της ουράς, υπολογίζεται ως εξής: Η ουρά του ζώου τοποθετείται μέσα στο φάκελο και το σώμα του ζώου εκτός του φακέλου. Η ουρά τοποθετείται στη γωνία του φακέλου, όπου τα δύο φύλλα του ενώνονται. Το ανώτερο φύλλο του φακέλου πιέζεται με προσοχή προς το κατώτερο φύλλο, έτσι ώστε η ουρά να περικλείεται μεταξύ των δύο φύλλων. Η γραμμή της ουράς που οριοθετείται στο σημείο σύμπτωσης των δύο φύλλων του φακέλου, σημειώνεται επάνω στο ανώτερο φύλλο με ένα ανεξίτηλο μαρκαδόρο. Η ίδια διαδικασία ακολουθείται για να σημειώσουμε τη άλλη πλευρά της ουράς έξω από το αντίστοιχο φύλλο του φακέλου (Εικόνα 4E).

Για να υπολογιστεί η επιφάνεια των άκρων, πρόσθιων και οπίσθιων πραγματοποιήθηκε η ίδια διαδικασία με αυτή για το σχεδιασμό της επιφάνειας της ουράς. Για τον υπολογισμό της επιφάνειας των αυτιών, κόπηκε μια γωνία του φακέλου (που περιείχε και τα δύο φύλλα), τοποθετήθηκε επάνω στο κάθε αυτί και σχεδιάστηκε η περιοχή επαφής του αυτιού με το κεφάλι, έξω από το κομμάτι του φακέλου.

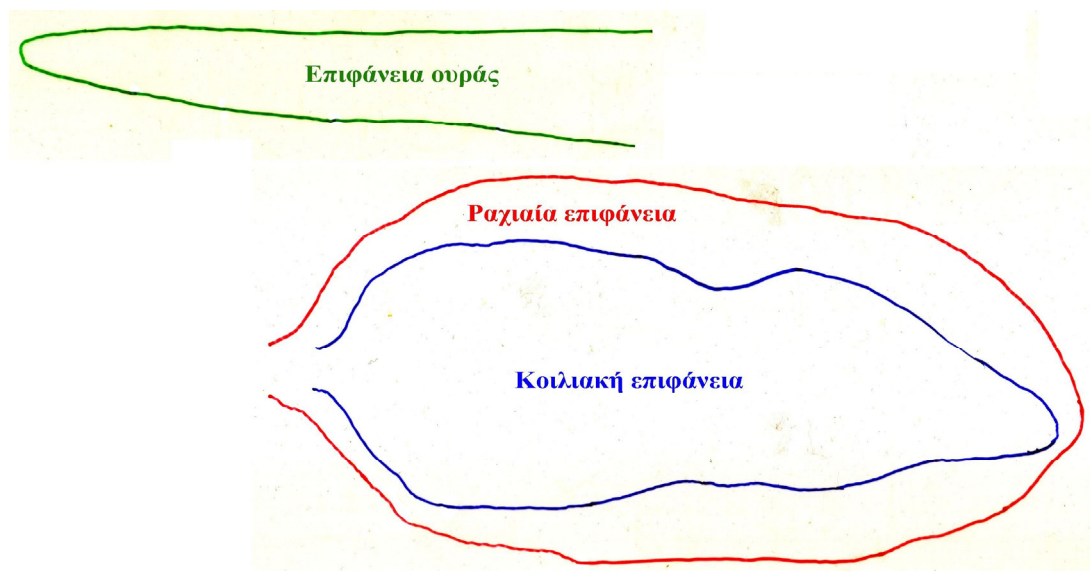
Τα σχήματα που σχεδιάστηκαν με το ανεξίτηλο μαρκαδόρο επάνω στους φακέλους όσον αφορά την κοιλιακή και τη ραχιαία με τις δύο πλάγιες επιφάνειες, μεταφέρθηκαν σε

φύλλο διαφάνειας (διαφανής σελίδα A₄) (Εκόνα 4F) και σε άλλο φύλλο διαφάνειας τα σχήματα που αντιπροσωπεύουν την επιφάνεια των άκρων και των αυτιών. Σε κάθε διαφάνεια σημειώθηκε ο αριθμός του κάθε ζώου, η ημερομηνία διεξαγωγής του πειράματος, καθώς και οι περιοχές της επιφάνειας σώματος που απεικονίζονται. Η διαδικασία πραγματοποιήθηκε η ίδια ακριβώς σε καθένα από τα 30 ζώα που χρησιμοποιήθηκαν στο πείραμα. Με όλες αυτές τις επιφάνειες σχεδιασμένες επάνω σε φύλλο διαφάνειας (διαφανής σελίδα A₄) και που το άθροισμά τους αποτελεί την ολική επιφάνεια σώματος (ΟΕΣ), ο υπολογισμός της πραγματοποιήθηκε με τη χρήση της πλανίμετρου. Υπολογίστηκαν δηλαδή ξεχωριστά κάθε επιμέρους τμήμα της επιφάνειας του κάθε ζώου, δηλαδή: κοιλιακή, ραχιαία και δύο πλάγιες, ουρά, πρόσθια και οπίσθια άκρα, αυτιά με το πλανίμετρο, οι επιμέρους επιφάνειες για κάθε ζώο αθροίστηκαν και το αποτέλεσμα αντιπροσωπεύει την ολική επιφάνεια σώματος (ΟΕΣ) του κάθε ζώου (Εικόνα 5).

Κατά την διάρκεια του πειράματος, δεν απεβίωσε, ούτε θανατώθηκε κάποιο ζώο, ούτε πραγματοποιήθηκαν χειρουργικές διαδικασίες αφαίρεσης του δέρματος του ζώου.



Εικόνα 4: Η διαδικασία της μεθόδου για τον υπολογισμό της ολικής επιφάνειας σώματος (OES) **A:** Διάφανος φάκελος A₄ (διαφανής σακούλα) **B:** Τοποθέτηση του ζώου εντός του φακέλου με την ουρά να βρίσκεται εκτός του φακέλου **C:** Σχεδίαση του περιγράμματος του ζώου (Ραχιαία επιφάνεια- δεξιά και αριστερή πλάγια επιφάνεια) **D:** Επαναφορά ου φακέλου στο αρχικό του σχήμα και σχεδιασμός του περιγράμματος της κοιλιακής επιφάνειας του ζώου **E:** Σχεδιασμός της επιφάνειας της ουράς **F:** Ολοκληρωμένη άποψη σχεδιασμού στο διάφανο φάκελο των αναφερόμενων επιφανειών.



Εικόνα 5: Κοιλιακή επιφάνεια, ραχιαία και πλάγιες επιφάνειες και επιφάνεια της ουράς οι οποίες μεταφέρθηκαν από το διάφανο φάκελο στο φύλλο διαφάνειας. Με τη βοήθεια του πλανίμετρου υπολογίστηκε η επιφάνεια κάθε τμήματος του ζώου: κοιλιακή επιφάνεια, ραχιαία και πλάγιες επιφάνειες (σε αυτές συμπεριλαμβάνονται και η επιφάνεια της κεφαλής), επιφάνεια πρόσθιων και οπίσθιων άκρων και επιφάνεια των αυτιών. Η ολική επιφάνεια σώματος κάθε ζώου υπολογίστηκε από την άθροιση των αποτελεσμάτων των επί μέρους παραμέτρων που υπολογίστηκαν με τη μέθοδο της πλανιμετρίας.

3.9 Στατιστική ανάλυση

Όλα τα δεδομένα εκφράζονται ως μ.ο±τ.α. (Μέσος Όρος±Τυπική απόκλιση). Η στατιστική σημαντικότητα στους μέσους όρους των δεδομένων προσδιορίστηκε με το Student's t-test and two-way analysis of variance (ANOVA) και πραγματοποιήθηκε στατιστική αξιολόγηση των διαφορών μεταξύ των ομάδων (SPSS version 16.0, Statistical Package for the Social Sciences software, SPSS, Chicago, USA). Στατιστικά σημαντική θεωρείται μια τιμή όταν $p < 0.05$.

4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

4.1 Αποτελέσματα από τη μακροσκοπική εκτίμηση της πορείας της επούλωσης του εγκαύματος κατόπιν τοπικής εφαρμογής των συμπλόκων αργύρου Σ1, Σ2, Σ3 και Σ4

Η μακροσκοπική εκτίμηση των ζώων πραγματοποιήθηκε αμέσως μετά την πρόκληση εγκαύματος στη ράχη του κάθε ζώου, αλλά και κάθε ημέρα μετά την πρόκληση του εγκαύματος, έως την ημέρα που ολοκληρώνεται η μελέτη της επουλωτικής δράσης της εκάστοτε ουσίας.

4.1.1 Ημέρα πρόκλησης του εγκαύματος

Την ημέρα πρόκλησης του εγκαύματος, το ζώο 27 της ΟΕ παρουσίασε αποκόλληση του δέρματος στην περιφέρεια της εγκαυματικής πληγής (κατά τη μια διάσταση-1/4 της περιφέρειας της πληγής) αμέσως μετά την απομάκρυνση της σφραγίδας.

Τα ζώα της ΟΔ, που θα δεχόταν το διαλύτη και που παρουσίασαν μικρού βαθμού αποκόλληση, ορατή αμέσως μετά την απομάκρυνση της σφραγίδας, ήταν τα εξής: 19, 25, 27 και 29 στην περιφέρεια της εγκαυματικής πληγής (κατά τη μια διάσταση-λιγότερο από το 1/4 της περιφέρειας της πληγής). Τα ζώα της ΟΣ4 που παρουσίασαν μικρού βαθμού αποκόλληση, ορατή αμέσως μετά την απομάκρυνση της σφραγίδας, ήταν τα εξής: 13, 15, 20, 23, 24, 26 (στην περιφέρεια της εγκαυματικής πληγής (κατά τη μια διάσταση-λιγότερο από το 1/4 της περιφέρειας της πληγής)).

4.1.2 Τρίτη μετεγκαυματική ημέρα

Από τα ζώα της ΟΕ τα 1, 8 και 25 παρουσίασαν εξέλκωση. Τα ζώα της ΟΔ, που δεχόταν επάνω στην εγκαυματική πληγή το διαλύτη και παρουσίασαν μικρού βαθμού εξέλκωση ήταν τα εξής: 19, 21, 25, 27, 29, 30. Από τα ζώα της ΟΣ1, το 1, 3, 4, 6 παρουσίασαν αύξηση του μεγέθους της επιφάνειας του εγκαύματος. Από τα ζώα της ΟΣ2, το 1, 2, 5, 6 παρουσίασαν αύξηση του μεγέθους της επιφάνειας του εγκαύματος. Από τα ζώα της ΟΣ3, το 6 παρουσίασε μικρού βαθμού αποκόλληση της εγκαυματικής εσχάρας και τα 2, 4, 5 παρουσίασαν αύξηση του μεγέθους της επιφάνειας του εγκαύματος. Τα ζώα της ΟΣ4, που παρουσίασαν μικρού βαθμού εξέλκωση ήταν τα εξής: 13, 15, 20, 22, 23, 24, 26, 27 και τα ζώα 2, 5, 6 παρουσίασαν αύξηση του μεγέθους της επιφάνειας του εγκαύματος. Τα υπόλοιπα ζώα δεν παρουσίασαν κανένα αξιοσημείωτο μακροσκοπικό χαρακτηριστικό. Σε γενικές γραμμές την τρίτη μετεγκαυματική ημέρα η επιφάνεια του εγκαύματος αυξήθηκε σε όλες τις υποομάδες ζώων της μελέτης, μεγαλύτερη αύξηση όμως παρατηρήθηκε στις υποομάδες ζώων της ΟΣ1, ΟΣ2, ΟΣ3, ΟΣ4 σε σύγκριση με τις υποομάδες της ΟΔ και ΟΕ.

4.1.3 Έκτη μετεγκαυματική ημέρα

Από τα ζώα της ΟΕ, το 8 παρουσίασε μεγαλύτερο μέγεθος εγκαυματικής εσχάρας από αυτό της ημέρας πρόκλησης του εγκαύματος και εξέλκωση, στα 11 και 12 κατά την αφαίρεση του τεμαχίου παρατηρήθηκε έξοδος εξιδρώματος και στο 29 παρατηρήθηκε μερική αποκόλληση της εσχάρας. Τα υπόλοιπα ζώα δεν παρουσίασαν κανένα αξιοσημείωτο μακροσκοπικό χαρακτηριστικό.

Από τα ζώα της ΟΔ, που δεχόταν το διαλύτη, τα 19, 21, 25, 27, 28, 29 και 30 παρουσίασαν εξέλκωση, ενώ το 12 παρουσίασε αποκόλληση στη διάσταση που βρίσκεται προς την πλευρά του αυχένα, με έξοδο υγρού πριν την αφαίρεση του τεμαχίου.

Από τα ζώα της ΟΣ1, που δεχόταν το διάλυμα του Σ1 στην επιφάνεια του εγκαύματος, το 10 παρουσίασε έξοδο εξιδρώματος περίπου 1 cm^3 και τα 7, 9, 10 παρουσίασαν μεγαλύτερο μέγεθος εγκαυματικής εσχάρας από αυτή την ημέρα ημέρα πρόκλησης του εγκαύματος, από τα ζώα της ΟΣ2, που δεχόταν το διάλυμα του Σ2 στην επιφάνεια του εγκαύματος, το 11 παρουσίασε αρχή εξέλκωσης και τα 9, 11, 12 παρουσίασαν μεγαλύτερο μέγεθος εγκαυματικής εσχάρας από αυτή την ημέρα πρόκλησης του εγκαύματος και από τα ζώα της ΟΣ3 που δεχόταν το διάλυμα του Σ3 στην επιφάνεια του εγκαύματος, το 8 παρουσίασε εξέλκωση, οίδημα και έξοδο εξιδρώματος με πραγματικά άσχημη πληγή ενώ στα ζώα 7, 8, 9, παρατηρήθηκε μικρή αύξηση του μεγέθους της εγκαυματικής εσχάρας σε σύγκριση με την ημέρα πρόκλησης του εγκαύματος.

Τα ζώα της ΟΣ4, που παρουσίασαν μικρού βαθμού εξέλκωση ήταν τα εξής: 13, 15, 20, 22, 23, 24, 26, 27. Το ζώο 7 είχε ήδη έξοδο εξιδρώματος πριν την αφαίρεση του ιστολογικού τεμαχίου και τα ζώα 8 και 10 παρουσίασαν μικρή ποσότητα εξιδρώματος κατά την χειρουργική αφαίρεση του τεμαχίου, ενώ τα συγκεκριμένα ζώα (7, 8, 10) παρουσίασαν και μικρή αύξηση του μεγέθους της εγκαυματικής εσχάρας σε σύγκριση με την ημέρα πρόκλησης του εγκαύματος.

Η συγκεκριμένη μακροσκοπική ανάλυση των χαρακτηριστικών που αναφέρθηκαν αφορούν όλα τα ζώα, όχι μόνο τα ζώα που οριοθετούνται για τη μελέτη της επούλωσης του εγκαύματος την έκτη μετεγκαυματική ημέρα. Η μακροσκοπική παρατήρηση αποκλειστικά των ζώων που μελετώνται την έκτη μετεγκαυματική ημέρα, η οποία είναι σύμφωνη με τον πίνακα κατάταξης των ζώων, παρουσιάζεται στον ακόλουθο πίνακα:

	ΟΕ	ΟΔ	ΟΣ1	ΟΣ2	ΟΣ3	ΟΣ4
Αποκόλληση της εσχάρας		12				
Αύξηση του μεγέθους της εσχάρας	8		7, 9, 10	9, 11, 12	7, 8, 9	7, 8, 10
Εξέλκωση	8			11	8	
Εξίδρωμα κάτω από την εσχάρα	11, 12	12	10		8	7, 8, 10
Φλεγμονή						
Αιμορραγία						

Πίνακας 7: Μακροσκοπική παρατήρηση αποκλειστικά των υποομάδων ζώων που μελετώνται την έκτη μετεγκαυματική ημέρα, με βάση τις παραμέτρους της εγκαυματικής πληγής. ΟΕ: η υποομάδα ελέγχου, ΟΔ: η υποομάδα ζώων που δεχόταν στην εγκαυματική τους πληγή το διάλυμα, ΟΣ1: η υποομάδα ζώων που δεχόταν στην εγκαυματική τους πληγή το διάλυμα του Σ1, ΟΣ2: η υποομάδα ζώων που δεχόταν στην εγκαυματική τους πληγή το διάλυμα του Σ2, ΟΣ3: η υποομάδα ζώων που δεχόταν στην εγκαυματική τους πληγή το διάλυμα του Σ3, ΟΣ4: η υποομάδα ζώων που δεχόταν στην εγκαυματική τους πληγή το διάλυμα του Σ4.

4.1.4 Δωδέκατη μετεγκαυματική ημέρα

Από τα ζώα της ΟΕ, το 13 παρουσίασε μείωση της επιφάνειας του εγκαύματος κατά το 1/3, αλλά παρουσίαζε σκληρία με σύσπαση της πληγής. Το 14 ενώ το μέγεθος της επιφάνειας του εγκαύματος ήταν το ίδιο περίπου με αυτό της ημέρας πρόκλησης του εγκαύματος, παρουσίαζε σκληρία με σύσπαση της πληγής και εξέλκωση, το 15 ενώ το μέγεθος της επιφάνειας του εγκαύματος ήταν το ίδιο περίπου με αυτό της ημέρας πρόκλησης του εγκαύματος, παρουσίαζε εξέλκωση, σκληρία με σύσπαση της πληγής και αιμορραγία, τα 16, 17 είχαν μεγαλύτερο μέγεθος της επιφάνειας του εγκαύματος από αυτό της ημέρας πρόκλησης του εγκαύματος, ενώ στο 17 κατά την αφαίρεση του ιστολογικού

τεμαχίου εξήλθε εξίδρωμα δύσοσμο, το 18 είχε μεγαλύτερο μέγεθος εγκαυματικής πληγής από αυτό της ημέρας πρόκλησης του εγκαύματος και παρουσίασε εξέλκωση, σκληρία με σύσπαση της πληγής και το 28 εμφάνισε μικρού βαθμού εξέλκωση.

Από τα ζώα της ΟΔ, που δεχόταν το διαλύτη, τα 13, 14, 15, 19, 20, 21 και 27 είχαν σταθερή εξέλιξη της εξέλκωσης, ενώ το 14 παρουσίαζε ορατή φλεγμονή και αιμορραγία. Μεγάλης επιφάνειας και βαθιά εξέλκωση, ρυπαρή με φλεγμονή είχαν τα 28 και 29. Μεγάλη επιφάνεια εγκαύματος χωρίς εξέλκωση είχε το 24. Κανονικό μέγεθος επιφάνειας εγκαύματος και αμετάβλητο είχε το 22. Ορατή μείωση στην επιφάνεια του εγκαύματος είχαν τα 17, 25. Στο 16 όταν αφαιρέθηκε το ιστολογικό τεμάχιο, εξήλθε εξίδρωμα άνω των 5 cm^3 . Μικρή αύξηση στην επιφάνεια του εγκαύματος παρουσίασαν τα 16, 18.

Από τα ζώα της ΟΣ1, που δεχόταν το διάλυμα του Σ1 στην επιφάνεια του εγκαύματος, τα 13, 14 και 17 παρουσίασαν αποκόλληση της εσχάρας με μείωση της επιφάνειας του εγκαύματος, από τα ζώα της ΟΣ2, που δεχόταν το διάλυμα του Σ2 στην επιφάνεια του εγκαύματος, τα 14 και 16 παρουσίασαν αποκόλληση της εσχάρας και μείωση της επιφάνειας του εγκαύματος στο 14, ενώ σταθερό μέγεθος της επιφάνειας του εγκαύματος παρουσίασαν τα 13, 16, από τα ζώα της ΟΣ3, που δεχόταν το διάλυμα του Σ3 στην επιφάνεια του εγκαύματος, το 17 παρουσίασε μερική αποκόλληση της εσχάρας, τα 13, 14, 15, 16, 18 αύξηση του μεγέθους της εσχάρας, και το 17 καμιά μεταβολή στο μέγεθος της εσχάρας.

Τα ζώα της ΟΣ4 που παρουσίασαν φυσιολογική εξέλιξη της εξέλκωσης ήταν τα εξής: 19, 23, 27, 29. Ορατή μείωση της επιφάνειας του εγκαύματος παρουσίασαν τα 20, 22, 24 και μεγάλου βαθμού μείωση το 26. Αύξηση της εξέλκωσης παρουσίασαν τα 16, 17, 18, 25. Τα 13, 14, 15, 21, 28 και 30, είχαν αμετάβλητη εγκαυματική εσχάρα, με αποκόλληση της εσχάρας στο 14.

Η συγκεκριμένη μακροσκοπική ανάλυση των χαρακτηριστικών που αναφέρθηκαν αφορούν όλα τα ζώα, όχι μόνο τα ζώα που οριοθετούνται για τη μελέτη της επούλωσης του εγκαύματος την δωδέκατη μετεγκαυματική ημέρα. Η μακροσκοπική παρατήρηση αποκλειστικά των ζώων που μελετώνται την δωδέκατη μετεγκαυματική ημέρα, η οποία είναι σύμφωνη με τον πίνακα κατάταξης των ζώων, παρουσιάζεται στον ακόλουθο πίνακα:

	ΟΕ	ΟΔ	ΟΣ1	ΟΣ2	ΟΣ3	ΟΣ4
Αποκόλληση της εσχάρας			13, 14, 17	14, 16	17	14
Μείωση του μεγέθους της εσχάρας	13	17	13, 14, 17	14		
Αύξηση του μεγέθους της εσχάρας	16, 17, 18	16, 18	15, 16, 18	15, 17, 18	13, 14, 15 16, 18	16, 17, 18
Αμετάβλητο μέγεθος εσχάρας	14, 15	13, 14, 15		13, 16	17	13, 14, 15
Εξίδρωμα κάτω από την εσχάρα (>5 cm ²)	17	16				
Εξέλκωση	14, 15, 18	13, 14, 15				
Φλεγμονή		14, 16				
Αιμορραγία	15	14				

Πίνακας 8: Μακροσκοπική παρατήρηση αποκλειστικά των υποομάδων ζώων που μελετώνται την δωδέκατη μετεγκαυματική ημέρα, με βάση τις παραμέτρους της εγκαυματικής πληγής. ΟΕ: η υποομάδα ελέγχου, ΟΔ: η υποομάδα ζώων που δεχόταν στην εγκαυματική τους πληγή το διαλύτη, ΟΣ1: η υποομάδα ζώων που δεχόταν στην εγκαυματική τους πληγή το διάλυμα του Σ1, ΟΣ2: η υποομάδα ζώων που δεχόταν στην εγκαυματική τους πληγή το διάλυμα του Σ2, ΟΣ3: η υποομάδα ζώων που δεχόταν στην εγκαυματική τους πληγή το διάλυμα του Σ3, ΟΣ4: η υποομάδα ζώων που δεχόταν στην εγκαυματική τους πληγή το διάλυμα του Σ4.

4.1.5 Δέκατη έβδομη μετεγκαυματική ημέρα

Από τα ζώα της ΟΕ, το 28 είχε μεγάλη βλάβη με φλεγμονή, το 29 είχε επίσης μεγάλη βλάβη και στο 30 αρχίζει η αποκόλληση της εγκαυματικής εσχάρας.

Από τα ζώα της ΟΔ, που δεχόταν το διαλύτη, μείωση της επιφάνειας του εγκαυματος παρουσίασαν τα 20, 21, 25 και το 27. Μεγάλη εξέλκωση είχαν τα 19, 28 και 29. Κανονικό μέγεθος της επιφάνειας του εγκαύματος με εξέλκωση είχαν τα 22, 23 και 26. Κανονικό μέγεθος της επιφάνειας του εγκαύματος με παρουσία εγκαυματικής εσχάρας και με μικρού βαθμού αποκόλληση είχαν τα 24 και 30. Τα ζώα 21, 24, και 25 στην επιφάνεια της εγκαυματικής εσχάρας παρουσίασαν ανάπτυξη τριχώματος.

Από τα ζώα της ΟΣ4 που δεχόταν το διάλυμα του Σ4, παρουσίασαν ορατή μείωση της επιφάνειας του εγκαύματος τα 20, 22, 26, 27, 29. Τα 23, 24 και 28 εμφανίζονται χωρίς ορατή φλεγμονή, τα 19 και 25 έχουν κανονικό μέγεθος εξέλκωσης, και αποκόλληση της εσχάρας με υποκείμενη συλλογή εξιδρώματος το 30. Τα ζώα 21, 22, 26, 27, 28 και 30, στην επιφάνεια της εγκαυματικής εσχάρας παρουσίασαν σημαντικού βαθμού ανάπτυξη τριχώματος.

Στα υπόλοιπα ζώα δεν υπάρχουν αξιοσημείωτες παρατηρήσεις.

4.1.6 Εικοστή πρώτη μετεγκαυματική ημέρα

Από τα ζώα της ΟΕ, όλα τα ζώα είχαν την εγκαυματική εσχάρα αν και σε τρία από αυτά φαίνεται να ξεκινάει η διαδικασία της αποκόλλησης, με αποτέλεσμα να είναι δυνατό να δούμε την πορεία της επούλωσης ανασηκώνοντας την εσχάρα με λαβίδα. Τα 19, 20 και 21 παρουσίασαν μείωση της επιφάνειας του εγκαύματος, με υποψία φλεγμονής στο 19, τα υπόλοιπα ζώα εμφάνισαν αύξηση της επιφάνειας του εγκαύματος με το 24 να εμφανίζει φλεγμονή και αιμορραγία, το 23 αιμορραγία και στο 22 κατά την αφαίρεση του τεμαχίου αποκαλύφθηκε συγκέντρωση εξιδρώματος υποκείμενο της εσχάρας άνω των 5 cm^3 . Στο 29 παρατηρήθηκε σύσπαση της εσχάρας και έξοδος εξιδρώματος.

Από τα ζώα της ΟΔ, που δεχόταν το διαλύτη, ολοκληρώθηκε η αποκόλληση της εσχάρας στα 19, 20, 21, 22 και 23. Στα 19, 23 και 24 παρατηρήθηκε αύξηση της επιφάνειας του εγκαύματος με ορατή φλεγμονή και στα υπόλοιπα μείωση. Αιμορραγία παρουσίασαν τα 19 και 24. Εξέλκωση είχαν τα 25, 27 και το 30. Μικρή μείωση της επιφάνειας του εγκαύματος είχαν τα 26 και 28. Το 29 είχε αμετάβλητο μέγεθος της επιφάνειας του εγκαύματος.

Από τα ζώα της ΟΣ1 που δεχόταν το διάλυμα του Σ1 στην επιφάνεια του εγκαύματος, η διαδικασία αποκόλλησης της εσχάρας ολοκληρώθηκε, με ορατή μείωση της επιφάνειας του εγκαύματος σε όλα τα ζώα χωρίς να παρατηρούνται άλλα μακροσκοπικά χαρακτηριστικά. Από τα ζώα της ΟΣ2, που δεχόταν το διάλυμα του Σ2 στην επιφάνεια του εγκαύματος, η διαδικασία αποκόλλησης της εσχάρας ολοκληρώθηκε σε όλα τα ζώα και παρατηρήθηκε μείωση της επιφάνειας του εγκαύματος στα 19, 20, 21, 22 και 23. Δεν παρουσίασε μεταβολή στο μέγεθος της πληγής το 24 και δεν παρατηρούνται άλλα μακροσκοπικά χαρακτηριστικά. Από τα ζώα της ΟΣ3, που δεχόταν το διάλυμα του Σ3 στην επιφάνεια του εγκαύματος, στα 19, 21 και 24 ολοκληρώθηκε η διαδικασία αποκόλλησης της εσχάρας. Τα 19 και 21 εμφάνισαν μείωση της επιφάνειας του εγκαύματος, και τα υπόλοιπα ζώα αύξηση. Το 20 εμφάνισε αιμορραγία και το 23 φλεγμονή.

Από τα ζώα της ΟΣ4, στα 19, 20, 22, 23 και 24 ολοκληρώθηκε η αποκόλληση της εγκαυματικής εσχάρας. Στα 19, 22, 23 και 24 παρατηρήθηκε μείωση της επιφάνειας του εγκαύματος, στο 21 αύξηση του μεγέθους της επιφάνειας του εγκαύματος με παρουσία εγκαυματικής εσχάρας και στο 20 καμιά μεταβολή στο μέγεθος της επιφάνειας του εγκαύματος. Τα 22 και 24 είχαν μικρού βαθμού αιμορραγία επάνω στην πληγή. Στα 25, 26 και 28, παρατηρήθηκε μείωση της επιφάνειας του εγκαύματος. Στο 30 παρατηρήθηκε αμετάβλητο μέγεθος επιφάνειας του εγκαύματος με εξέλκωση και μεγάλη αιμορραγία.

Η συγκεκριμένη μακροσκοπική ανάλυση των χαρακτηριστικών που αναφέρθηκαν αφορούν όλα τα ζώα. Η μακροσκοπική παρατήρηση αποκλειστικά των ζώων που μελετώνται την εικοστή πρώτη μετεγκαυματική ημέρα, η οποία είναι σύμφωνη με τον πίνακα κατάταξης των ζώων, παρουσιάζεται στον ακόλουθο πίνακα:

	ΟΕ	ΟΔ	ΟΣ1	ΟΣ2	ΟΣ3	ΟΣ4
Αποκόλληση της εσχάρας		19, 20, 21 22, 23	19, 20, 21 22, 23, 24	19, 20, 21 22, 23, 24	19, 21, 24	19, 20, 22 23, 24
Μείωση της εγκαυματικής πληγής	19, 20, 21	20, 21, 22	19, 20, 21 22, 23, 24	19, 20, 21 22, 23	19, 21	19, 22, 23 24
Αύξηση της εγκαυματικής πληγής	22, 23, 24	19, 23, 24			20, 22, 23 24	21
Αμετάβλητο μέγεθος πληγής				24		20
Εξίδρωμα κάτω από την εσχάρα (>5 cm ³)	22					
Φλεγμονή	19, 24	19, 23, 24			23	
Αιμορραγία	23, 24	19, 24			20	22, 24

Πίνακας 9: Μακροσκοπική παρατήρηση αποκλειστικά των υποομάδων ζώων που μελετώνται την εικοστή πρώτη μετεγκαυματική ημέρα, με βάση τις παραμέτρους της εγκαυματικής πληγής. ΟΕ: η υποομάδα ελέγχου, ΟΔ: η υποομάδα ζώων που δεχόταν στην εγκαυματική τους πληγή το διαλύτη, ΟΣ1: η υποομάδα ζώων που δεχόταν στην εγκαυματική τους πληγή το διάλυμα του Σ1, ΟΣ2: η υποομάδα ζώων που δεχόταν στην εγκαυματική τους πληγή το διάλυμα του Σ2, ΟΣ3: η υποομάδα ζώων που δεχόταν στην εγκαυματική τους πληγή το διάλυμα του Σ3, ΟΣ4: η υποομάδα ζώων που δεχόταν στην εγκαυματική τους πληγή το διάλυμα του Σ4.

Από τα ανωτέρω ευρήματα προκύπτει ότι μακροσκοπικά τουλάχιστο την καλύτερη επουλωτική διεργασία παρουσιάζουν τα σύμπλοκα (Σ1) και (Σ2), διότι δεν παρατηρήθηκε καμιά άλλη παράμετρος που θα συνιστούσε αρνητικό αποτέλεσμα στην διαδικασία της επούλωσης. Η αποκόλληση της εσχάρας είναι μια φυσιολογική διεργασία της διαδικασίας της επούλωσης και σε καμία περίπτωση δεν απομακρύνθηκε μηχανικά.

Το γεγονός όλα τα ζώα της υποομάδας ελέγχου διέθεταν την 21^η μετεγκαυματική ημέρα την εσχάρα, μας δείχνει αμέσως ότι σε αυτά τα ζώα παρατηρείται καθυστέρηση στη διαδικασία της επούλωσης σε σχέση με τα υπόλοιπα. (Στην Εικόνα 7 παρουσιάζεται η μακροσκοπική εκτίμηση αντιπροσωπευτικών ζώων των υποομάδων των ΟΕ, ΟΔ, ΟΣ1, ΟΣ2, ΟΣ3 και ΟΣ4, την εικοστή πρώτη μετεγκαυματική ημέρα).

4.1.7 Εικοστή τρίτη μετεγκαυματική ημέρα

Από τα ζώα ΟΕ, στα 28 και 29 ολοκληρώθηκε η αποκόλληση της εσχάρας και παρουσιάστηκε εξέλκωση των υποκείμενων ιστών και το 30 είχε εξέλκωση. Από τα ζώα της ΟΔ, που δεχόταν το διαλύτη πολύ καλή πορεία επούλωσης είχε το 25, μέτρια επούλωση τα 26, 27 και 28 και μερική επούλωση το 29. Από τα ζώα της ΟΣ4, που δεχόταν το διάλυμα του Σ4 παρατηρήθηκε μείωση της επιφάνειας του εγκαύματος στα 25, 28 και 30 και πολύ καλή πορεία επούλωσης στα 26, 27 και 29. Στα υπόλοιπα ζώα δεν υπάρχουν αξιοσημείωτες παρατηρήσεις.

4.1.8 Τριακοστή πρώτη μετεγκαυματική ημέρα

Από τα ζώα της ΟΕ, στα 25 και 29 παρατηρήθηκε μείωση της επιφάνειας του εγκαύματος πάνω από τα 3/5, στα 26, 27 και 28 κατά τα 4/5. Το 30 είχε αμετάβλητο μέγεθος πληγής και εξέλκωση. Από τα ζώα της ΟΔ, παρατηρήθηκε εξαφάνιση της πληγής στο 25, σύγκλιση του τραύματος κατά τα 4/5 στα 26, 27, 28, και 29. Το 30 είχε αμετάβλητο μέγεθος πληγής και εξέλκωση. Από τα ζώα της ΟΣ3, τα 25, 27 και 28

εμφάνισαν μείωση της επιφάνειας του εγκαύματος κατά τα 3/5 και τα 26, 29, 30 κατά τα 4/5. Από τα ζώα της ΟΣ4, που δεχόταν το διάλυμα του Σ4, στα 25, 27, 28, 29, 30 παρατηρήθηκε μείωση της εγκαυματικής πληγής κατά τα 4/5, και σχεδόν εξαφάνιση της πληγής στο 26.

Στα ζώα των υπόλοιπων υποομάδων σχεδόν ολοκληρώθηκε η επούλωση του εγκαύματος.

Κατά την καταγραφή της πορείας της επούλωσης παρατηρήθηκε και ένα ακόμη φαινόμενο: στο 30.5% των ζώων επάνω στην εσχάρα και πριν ακόμη ολοκληρωθεί η αποκόλλησή της, παρατηρήθηκε η ανάπτυξη τριχώματος.

Σε γενικό πλαίσιο, η επούλωση πραγματοποιήθηκε από την περιφέρεια της εγκαυματικής πληγής προς το κέντρο της, με ανάπτυξη τριχώματος αρχικά περιφερικά της πληγής. Σε περιπτώσεις όπου ολοκληρώθηκε η επουλωτική διεργασία, μετά το πέρας σχεδόν 2 μηνών, όπως παρατηρήθηκε στα ζώα των πιλοτικών πειραμάτων, αλλά και στα ζώα της μελέτης κανένα ίχνος της εγκαυματικής πληγής δεν ήταν ορατό, της και κανένα ίχνος των χειρουργικών τομών (οι οποίες σε κάποιες περιπτώσεις ξεπερνούσαν τα 10 cm²) και στο τέλος ολόκληρη η περιοχή της ράχης των ζώων παρέμεινε μακροσκοπικά όπως ακριβώς ήταν πριν τις προαναφερθείσες πειραματικές εργασίες. Τα ζώα είχαν κανονικό τρίχωμα και δέρμα (μακροσκοπικά), όπως ακριβώς πριν τη συμμετοχή τους στο πείραμα.

4.2 Αποτελέσματα πλανιμετρίας από την μέτρηση της εγκαυματικής πληγής κατόπιν τοπικής εφαρμογής των συμπλόκων Αργύρου Σ1, Σ2, Σ3 και Σ4

Η καταγραφή και η σύγκριση των αποτελεσμάτων της πλανιμετρίας πραγματοποιήθηκε για τα υπό μελέτη σύμπλοκα Σ1, Σ2, Σ3, Σ4, την τρίτη, έκτη,

δωδέκατη, και εικοστή πρώτη μετεγκαυματική ημέρα. Υπολογίστηκε το % ποσοστό μεταβολής του μεγέθους της εγκαυματικής εσχάρας στις προαναφερθείσες ημέρες για όλες τις ομάδες ζώων, σε σύγκριση με τα αντίστοιχα δεδομένα του μεγέθους της εγκαυματικής εσχάρας την ημέρα πρόκλησης του εγκαύματος (HE) (Πίνακας 10).

Την τρίτη μετεγκαυματική ημέρα (3^η MEH) παρατηρείται αύξηση του μεγέθους της εγκαυματικής εσχάρας σε όλες τις υποομάδες. Συγκεκριμένα στην υποομάδα ζώων της OE, παρατηρείται αύξηση του μεγέθους της εγκαυματικής εσχάρας κατά 12%, στην υποομάδα ζώων της OD, παρατηρείται αύξηση του μεγέθους της εγκαυματικής εσχάρας κατά 13%, στην υποομάδα ζώων της OS1, παρατηρείται αύξηση του μεγέθους της εγκαυματικής εσχάρας κατά 45% (Γράφημα 1), στην υποομάδα ζώων της OS2, παρατηρείται αύξηση του μεγέθους της εγκαυματικής εσχάρας κατά 41% (Γράφημα 2), στην υποομάδα ζώων της OS3, παρατηρείται αύξηση του μεγέθους της εγκαυματικής εσχάρας κατά 38% (Γράφημα 3) και στην υποομάδα ζώων της OS4, παρατηρείται αύξηση του μεγέθους της εγκαυματικής εσχάρας κατά 37% (Γράφημα 4).

Την έκτη μετεγκαυματική ημέρα παρατηρείται αύξηση του μεγέθους της εγκαυματικής εσχάρας σε όλες τις υποομάδες. Συγκεκριμένα στην υποομάδα ζώων της OE, παρατηρείται αύξηση του μεγέθους της εγκαυματικής εσχάρας κατά 12%, στην υποομάδα ζώων της OD, παρατηρείται αύξηση του μεγέθους της εγκαυματικής εσχάρας κατά 14%, στην υποομάδα ζώων της OS1, παρατηρείται αύξηση του μεγέθους της εγκαυματικής εσχάρας κατά 22% (Γράφημα 1), στην υποομάδα ζώων της OS2, παρατηρείται αύξηση του μεγέθους της εγκαυματικής εσχάρας κατά 24% (Γράφημα 2), στην υποομάδα ζώων της OS3, παρατηρείται αύξηση του μεγέθους της εγκαυματικής εσχάρας κατά 34% (Γράφημα 3) και στην υποομάδα ζώων της OS4, παρατηρείται αύξηση του μεγέθους της εγκαυματικής εσχάρας κατά 41% (Γράφημα 4).

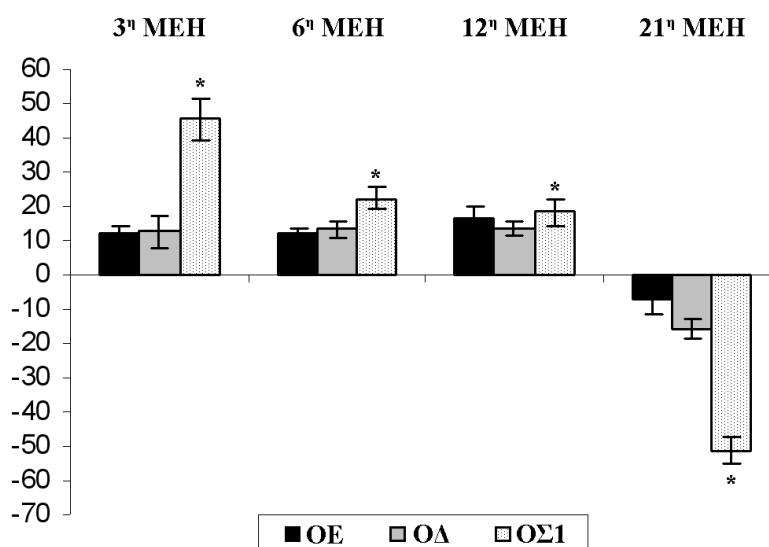
Τη δωδέκατη μετεγκαυματική ημέρα παρατηρείται αύξηση του μεγέθους της εγκαυματικής πληγής σε όλες τις υποομάδες. Συγκεκριμένα στην υποομάδα ζώων της ΟΕ, παρατηρείται αύξηση του μεγέθους της εγκαυματικής πληγής κατά 16%, στην υποομάδα ζώων της ΟΔ, παρατηρείται αύξηση του μεγέθους της εγκαυματικής πληγής κατά 13%, στην υποομάδα ζώων της ΟΣ1, παρατηρείται αύξηση του μεγέθους της εγκαυματικής πληγής κατά 18% (Γράφημα 1), στην υποομάδα ζώων της ΟΣ2, παρατηρείται αύξηση του μεγέθους της εγκαυματικής πληγής κατά 25% (Γράφημα 2), στην υποομάδα ζώων ΟΣ3, παρατηρείται αύξηση του μεγέθους της εγκαυματικής πληγής κατά 47% (Γράφημα 3) και στην υποομάδα ζώων της ΟΣ4, παρατηρείται αύξηση του μεγέθους της εγκαυματικής πληγής κατά 42% (Γράφημα 4).

Την εικοστή πρώτη μετεγκαυματική ημέρα παρατηρείται μείωση του μεγέθους της εγκαυματικής πληγής σε όλες σχεδόν τις υποομάδες. Συγκεκριμένα στην υποομάδα ζώων της ΟΕ, παρατηρείται μείωση του μεγέθους της εγκαυματικής πληγής κατά 7%, στην υποομάδα ζώων της ΟΔ, παρατηρείται μείωση του μεγέθους της εγκαυματικής πληγής κατά 16%, στην υποομάδα ζώων της ΟΣ1, παρατηρείται μείωση του μεγέθους της εγκαυματικής πληγής κατά 51% (Γράφημα 1), στην υποομάδα ζώων της ΟΣ2, παρατηρείται μείωση του μεγέθους της εγκαυματικής πληγής κατά 39% (Γράφημα 2), στην υποομάδα ζώων της ΟΣ3, παρατηρείται αύξηση του μεγέθους της εγκαυματικής πληγής κατά 10% (Γράφημα 3) και στην υποομάδα ζώων της ΟΣ4, παρατηρείται μείωση του μεγέθους της εγκαυματικής πληγής κατά 27% (Γράφημα 4).

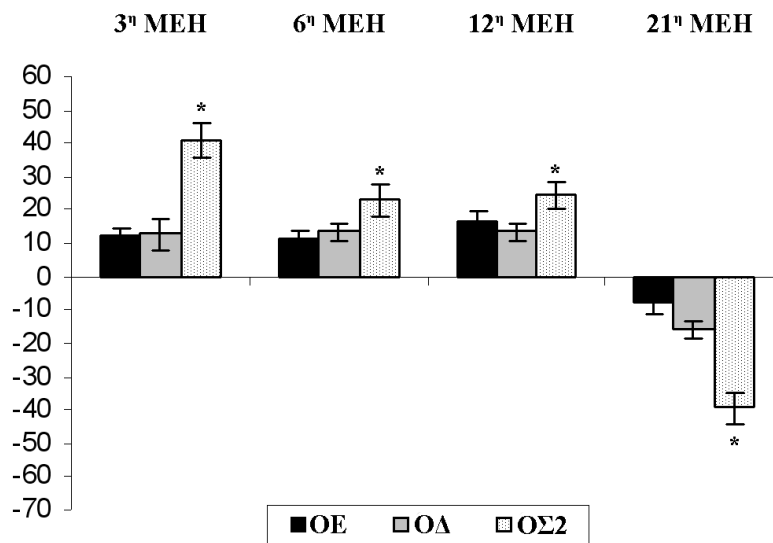
Το Γράφημα 5 αντιπροσωπεύει το % ποσοστό μεταβολής του μεγέθους της εγκαυματικής πληγής για τις υποομάδες ζώων της ΟΕ, ΟΔ, ΟΣ1, ΟΣ2, ΟΣ3, και ΟΣ4 την εικοστή πρώτη μετεγκαυματική ημέρα σε σχέση με το μέγεθος της εγκαυματικής εσχάρας την ημέρα πρόκλησης του εγκαύματος (ΗΕ).

Επιφάνεια εγκαύματος (cm ²)					
Ομάδες ζώων	HE	3 ^η ΜΕΗ	6 ^η ΜΕΗ	12 ^η ΜΕΗ	21 ^η ΜΕΗ
	M.O.±τα	M.O.±τα	M.O.±τα	M.O.±τα	M.O.±τα
ΟΕ	4.1±0.3	4.6±0.2 ^{**}	4.6±0.2 ^{**}	4.8±0.3 ^{**}	3.8±0.2 ^{**}
ΟΔ	4.1±0.2	4.7±0.3 ^{**}	4.7±0.4 ^{**}	4.6±0.3 ^{**}	3.4±0.2 ^{**}
ΟΣ1	4.2±0.1	6.1±0.2 ^{*,**}	5.1±0.1 ^{*,**}	5.0±0.2 ^{*,**}	2.1±0.1 ^{*,**}
ΟΣ2	4.2±0.2	5.9±0.2 ^{*,**}	5.2±0.2 ^{*,**}	5.3±0.2 ^{*,**}	2.6±0.3 ^{*,**}
ΟΣ3	4.3±0.2	6.0±0.2 ^{*,**}	5.8±0.1 ^{*,**}	6.3±0.4 ^{*,**}	4.7±0.4 ^{*,**}
ΟΣ4	4.3±0.2	5.9±0.3 ^{*,**}	6.1±0.3 ^{*,**}	6.1±0.3 ^{*,**}	3.1±0.1 ^{*,**}

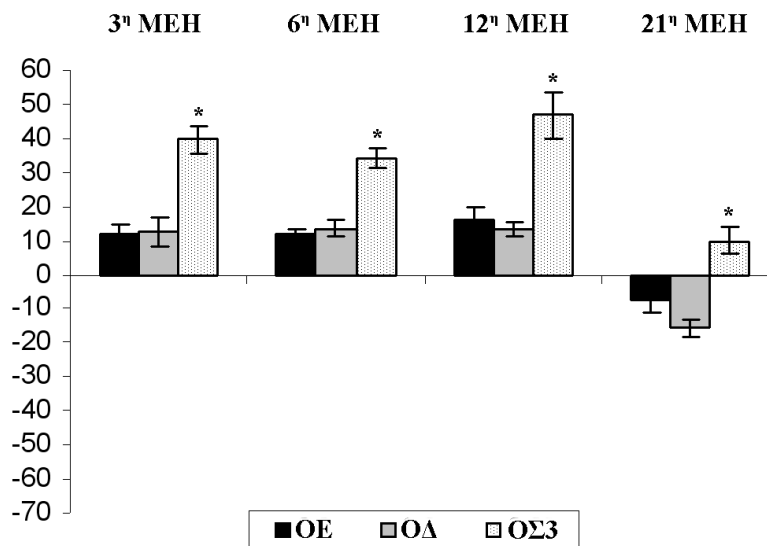
Πίνακας 10: ΟΕ: η ομάδα ελέγχου, ΟΔ: η ομάδα ζώων που δεχόταν στην εγκαυματική τους πληγή το διαλύτη, ΟΣ1: η ομάδα ζώων που δεχόταν στην εγκαυματική τους πληγή το διάλυμα του Σ1, ΟΣ2: η ομάδα ζώων που δεχόταν στην εγκαυματική τους πληγή το διάλυμα του Σ2, ΟΣ3: η ομάδα ζώων που δεχόταν στην εγκαυματική τους πληγή το διάλυμα του Σ3, ΟΣ4: η ομάδα ζώων που δεχόταν στην εγκαυματική τους πληγή το διάλυμα του Σ4, HE: Ημέρα πρόκλησης του εγκαύματος, ΜΕΗ: Μετεγκαυματική ημέρα. *Στατιστικά σημαντική διαφορά σε σχέση με την ΟΔ στην αντίστοιχη ΜΕΗ (p<0.05). **Στατιστικά σημαντική διαφορά ως προς την HE (p<0.05). Τα δεδομένα εκφράζονται ως μέσοι όροι ± τ.α.



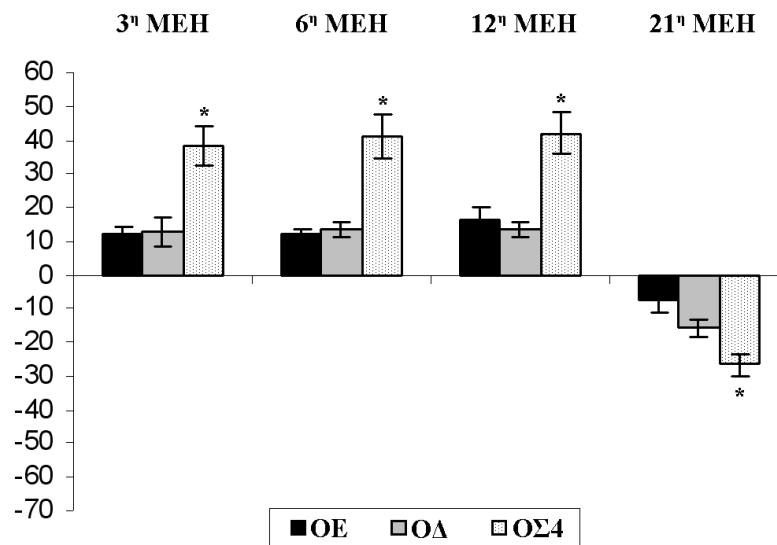
Γράφημα 1: Αντιπροσωπεύει το % ποσοστό μεταβολής του μεγέθους της εγκαυματικής πληγής για τις ομάδες ζώων ΟΕ, ΟΔ και ΟΣ1, την τρίτη, έκτη, δωδέκατη και εικοστή πρώτη μετεγκαυματική ημέρα σε σχέση με το μέγεθος της εγκαυματικής εσχάρας την ημέρα πρόκλησης του εγκαύματος (HE). ΟΕ: η ομάδα ελέγχου, ΟΔ: η ομάδα ζώων που δεχόταν στην εγκαυματική τους πληγή το διαλύτη, ΟΣ1: η ομάδα ζώων που δεχόταν στην εγκαυματική τους πληγή το διάλυμα του Σ1, ΜΕΗ: Μετεγκαυματική ημέρα. *Στατιστικά σημαντική διαφορά σε σχέση με την ΟΔ (p<0.05). Τα δεδομένα εκφράζονται ως μέσοι όροι ± τ.α.



Γράφημα 2: Αντιπροσωπεύει το % ποσοστό μεταβολής του μεγέθους της εγκαυματικής πληγής για τις ομάδες ζώων OE, OA και OS2, την τρίτη, έκτη, δωδέκατη και εικοστή πρώτη μετεγκαυματική ημέρα σε σχέση με το μέγεθος της εγκαυματικής εσχάρας την ημέρα πρόκλησης του εγκαύματος (HE). OE: η ομάδα ελέγχου, OA: η ομάδα ζώων που δεχόταν στην εγκαυματική τους πληγή το διαλύτη, OS2: η ομάδα ζώων που δεχόταν στην εγκαυματική τους πληγή το διάλυμα του Σ2, ΜΕΗ: Μετεγκαυματική ημέρα. *Στατιστικά σημαντική διαφορά σε σχέση με την OA ($p < 0.05$). Τα δεδομένα εκφράζονται ως μέσοι όροι \pm τ.α.



Γράφημα 3: Αντιπροσωπεύει το % ποσοστό μεταβολής του μεγέθους της εγκαυματικής πληγής για τις ομάδες ζώων OE, OA και OS3, την τρίτη, έκτη, δωδέκατη και εικοστή πρώτη μετεγκαυματική ημέρα σε σχέση με το μέγεθος της εγκαυματικής εσχάρας την ημέρα πρόκλησης του εγκαύματος (HE). OE: η ομάδα ελέγχου, OA: η ομάδα ζώων που δεχόταν στην εγκαυματική τους πληγή το διαλύτη, OS3: η ομάδα ζώων που δεχόταν στην εγκαυματική τους πληγή το διάλυμα του Σ3, ΜΕΗ: μετεγκαυματική ημέρα *Στατιστικά σημαντική διαφορά σε σχέση με την OA ($p < 0.05$). Τα δεδομένα εκφράζονται ως μέσοι όροι \pm τ.α.



Γράφημα 4: Αντιπροσωπεύει το % ποσοστό μεταβολής του μεγέθους της εγκαυματικής πληγής για τις ομάδες ζώων ΟΕ, ΟΑ και ΟΣ4, την τρίτη, έκτη, δωδέκατη και εικοστή πρώτη μετεγκαυματική ημέρα σε σχέση με το μέγεθος της εγκαυματικής εσχάρας την ημέρα πρόκλησης του εγκαύματος (ΗΕ). ΟΕ: η ομάδα ελέγχου, ΟΑ: η ομάδα ζώων που δεχόταν στην εγκαυματική τους πληγή το διαλύτη, ΟΣ4: η ομάδα ζώων που δεχόταν στην εγκαυματική τους πληγή το διάλυμα του Σ4, ΜΕΗ: Μετεγκαυματική ημέρα. *Στατιστικά σημαντική διαφορά σε σχέση με την ΟΑ ($p < 0.05$). Τα δεδομένα εκφράζονται ως μέσοι όροι \pm τ.α.

4.3 Αποτελέσματα από την ιστολογική εκτίμηση της πορείας της επούλωσης του εγκαύματος κατόπιν τοπικής εφαρμογής των συμπλόκων αργύρου Σ1, Σ2, Σ3 και Σ4

Τρίτη μετεγκαυματική ημέρα: Στις τομές της υποομάδας της ΟΕ, οι μεταβολές είναι παρόμοιες με αυτές της ΟΑ, π.χ. υπάρχει μια κεντρική περιοχή με πήγμα αίματος και μετουσιωμένου ιστού, καθώς και άθροιση πολυμορφοπύρηνων κυττάρων κάτω από την εσχάρα.

Όλοι οι ιστοί των ζώων που θεραπεύτηκαν με τις ουσίες και εξετάστηκαν, ανέδειξαν επίσης παρόμοια ευρήματα, με ελαφρώς περισσότερο έντονο οίδημα. Δεν παρατηρήθηκε αξιοσημείωτη ανάπτυξη κοκκιώδους ιστού (Στάδιο 1).

Έκτη μετεγκαυματική ημέρα: Στις τομές των υποομάδων της ΟΕ και της ΟΔ, παραμένει η οξεία φλεγμονή. Στην περιοχή εμφανίζονται λίγοι ινοβλάστες και οίδημα, αλλά ακόμη δεν παρατηρείται η εμφάνιση κοκκιώδους ιστού (Στάδιο 1).

Στις τομές της υποομάδας της ΟΣ4, δεν παρατηρείται πλήρως αναπτυγμένος κοκκιώδης ιστός, αλλά η παρουσία οιδήματος είναι εντονότερη και οι εμφανιζόμενοι ινοβλάστες είναι περισσότεροι από τους αντίστοιχους της υποομάδας της ΟΕ, και επιπλέον παρατηρείται η εμφάνιση λίγων τριχοειδών αιμοφόρων αγγείων (Στάδιο 2).

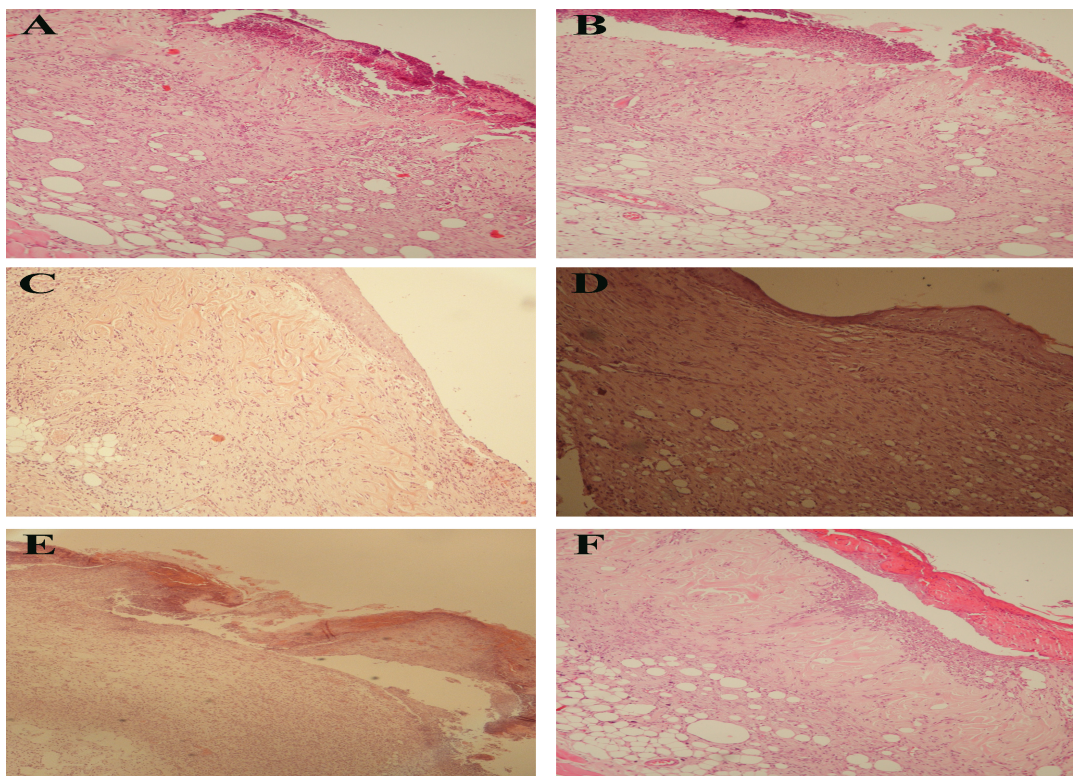
Δωδέκατη μετεγκαυματική ημέρα: Παρατηρείται ανώριμος κοκκιώδης ιστός στις τομές των υποομάδων της ΟΕ και της ΟΔ (Στάδιο 2). Στις τομές της υποομάδας της ΟΣ4 παρατηρείται μείωση του αριθμού των κυττάρων οξείας φλεγμονής. Επιπλέον, σημειώνεται ανάπτυξη πυκνού συνδετικού ιστού με εμφανώς αναπτυγμένο τριχοειδικό δίκτυο καθώς και κάποιοι ινοβλάστες (Στάδιο 3).

Τα αποτελέσματα από την ιστολογική εκτίμηση των τεμαχίων των υποομάδων των ΟΣ1, ΟΣ2, και ΟΣ3 την έκτη και δωδέκατη μετεγκαυματική ημέρα, ήταν παραπλήσια με αυτά της υποομάδας της ΟΣ4.

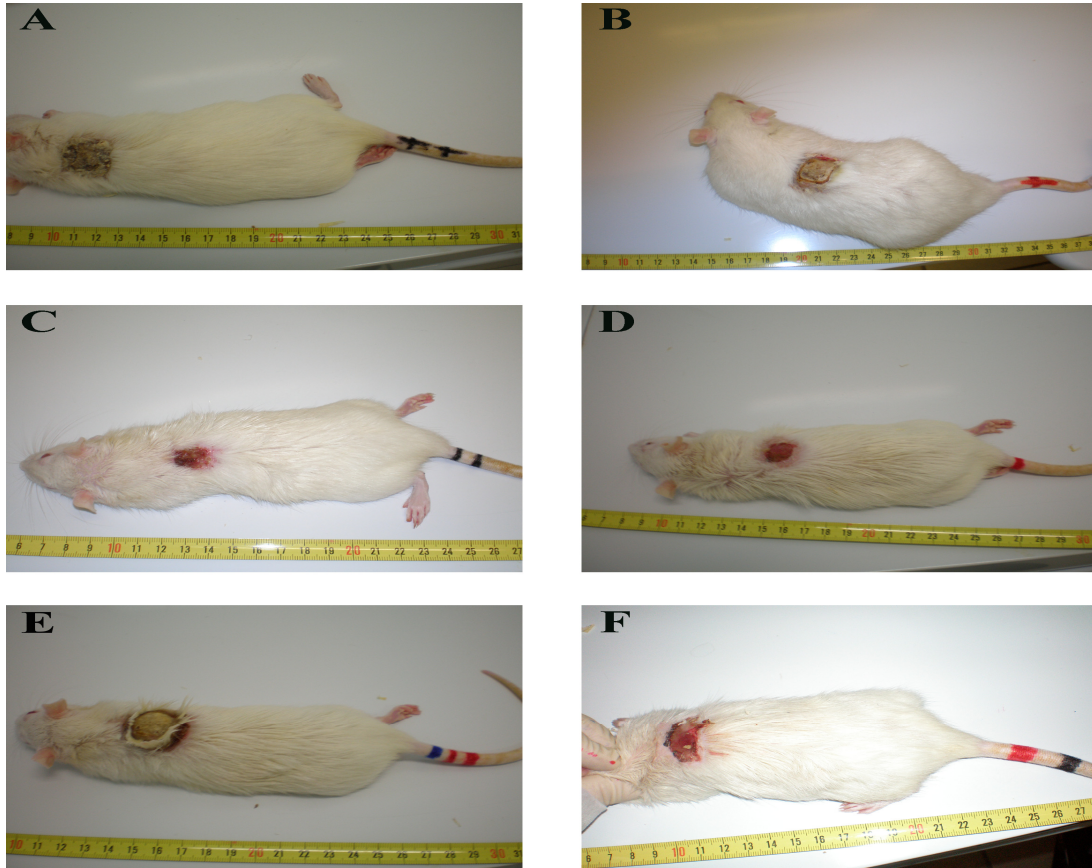
Εικοστή πρώτη μετεγκαυματική ημέρα: Στις τομές των υποομάδων της ΟΕ και της ΟΔ, σημειώνεται η ανάπτυξη ώριμου κοκκιώδους ιστού με ώριμους ινοβλάστες καθώς και περισσότερο ώριμο και πυκνό τριχοειδικό δίκτυο (Στάδιο 3). Υπήρχε μόνο μια μικρή κεντρική περιοχή με κύτταρα οξείας φλεγμονής. Αυτή η περιοχή ήταν μεγαλύτερη στις τομές της υποομάδας της ΟΣ3. Στις υπόλοιπες ομάδες δεν παρατηρούνται πλέον φλεγμονώδη κύτταρα, και ο κοκκιώδης ιστός είναι πλέον ώριμος. Σημειώνεται επανεπιθηλιοποίηση (Στάδιο 4). Ο κοκκιώδης ιστός είναι πιο ώριμος και εκτεταμένος της υποομάδες της ΟΣ1 και ΟΣ2, σε σύγκριση με την υποομάδα της ΟΣ4 (Στην Εικόνα 6 παρουσιάζεται η ιστολογική εκτίμηση τομών αντιπροσωπευτικών ζώων των υποομάδων της ΟΕ, ΟΔ, ΟΣ1, ΟΣ2, ΟΣ3 και ΟΣ4, την εικοστή πρώτη μετεγκαυματική ημέρα).

Τριακοστή πρώτη μετεγκαυματική ημέρα: Παρατηρείται σε όλες τις υποομάδες ουλώδης συνδετικός ιστός με σχεδόν ολοκληρωμένη επανεπιθηλιοποίηση. Στις υποομάδες της ΟΕ και ΟΔ, η επιδερμίδα αποτελείται μόνο από λίγα στρώματα ανώριμων κερατινοκυττάρων (Στάδιο 4). Στην υποομάδα της ΟΣ4, σημειώθηκε σχεδόν πλήρης κάλυψη της πληγής με κερατινοκύτταρα, σχηματίζοντας έτσι ώριμη επιδερμίδα. Υποκείμενα, παρατηρήθηκε πυκνός ινώδης συνδετικός ιστός (Στάδιο 5).

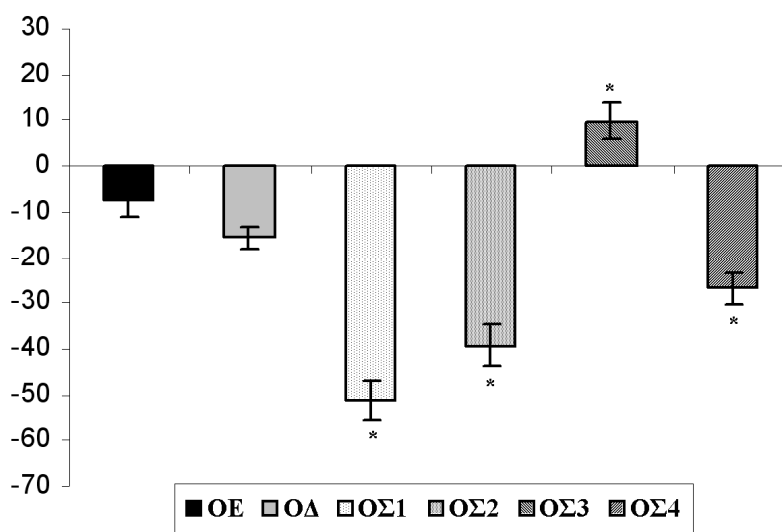
4.4 Συγκεντρωτικά αποτελέσματα από την ιστολογική, μακροσκοπική και πλανιμετρική εκτίμηση, για τα ζώα των υποομάδων της ΟΕ, ΟΔ, ΟΣ1, ΟΣ2, ΟΣ3, ΟΣ4, την εικοστή πρώτη μετεγκαυματική ημέρα



Εικόνα 6: Ιστολογική εκτίμηση της διαδικασίας της επούλωσης. Αντιπροσωπευτικές τομές ελήφθησαν από τα ζώα της υποομάδας της ΟΕ (Εικ. 6Α) και από τις άλλες υποομάδες όπως ήδη αναφέρθηκαν π.χ. ΟΔ (Εικ. 6Β), ΟΣ1 (Εικ. 6C), ΟΣ2 (Εικ. 6D), ΟΣ3 (Εικ. 6E) και ΟΣ4 (Εικ. 6F) την εικοστή πρώτη μετεγκαυματική ημέρα. Στις τομές της υποομάδας της ΟΕ (Εικ. 6Α) και της υποομάδας της ΟΔ (Εικ. 6Β) παρατηρείται μια κεντρική περιοχή εξέλκωσης με πολυμορφοπύρρνα κύτταρα, η οποία περιβάλλεται από πιο ώριμο κοκκιώδη ιστό. Αυτή η κεντρική περιοχή είναι μεγαλύτερη στις τομές της υποομάδας της ΟΣ3 (Εικ. 6E), ενώ απουσιάζει στις τομές των υποομάδων της ΟΣ1 (Εικ. 6C), ΟΣ2 (Εικ. 6D) και ΟΣ4 (Εικ. 6F). Στις τομές της υποομάδας της ΟΣ4 (Εικ. 6F) ο κοκκιώδης ιστός παρουσιάζεται λιγότερο ώριμος σε σύγκριση με τις άλλες δύο υποομάδες π.χ. της ΟΣ1 (Εικ. 6C) και ΟΣ2 (Εικ. 6D). Στις δύο τελευταίες υποομάδες ο κοκκιώδης ιστός είναι περισσότερο ώριμος και εκτεταμένος και σημειώνεται επανεπιθηλιοποίηση. (Αιματοξυλίνη-ηωσίνη x 200). **Α.** ΟΕ: η υποομάδα ελέγχου **Β.** ΟΔ: η υποομάδα ζώων που δεχόταν στην εγκαυματική τους πληγή το διάλυμα του Σ1 **Γ.** ΟΣ1: η υποομάδα ζώων που δεχόταν στην εγκαυματική τους πληγή το διάλυμα του Σ1 **Δ.** ΟΣ2: η υποομάδα ζώων που δεχόταν στην εγκαυματική τους πληγή το διάλυμα του Σ2 **Ε.** ΟΣ3: η υποομάδα ζώων που δεχόταν στην εγκαυματική τους πληγή το διάλυμα του Σ3 **Φ.** ΟΣ4: η υποομάδα ζώων που δεχόταν στην εγκαυματική τους πληγή το διάλυμα του Σ4.



Εικόνα 7. Μακροσκοπική εκτίμηση της διαδικασίας της επούλωσης. Αντιπροσωπευτικά ζώα των υποομάδων της ΟΕ (Εικ. 7Α) καθώς και των άλλων υποομάδων όπως ήδη αναφέρθηκαν π.χ. της ΟΔ (Εικ. 7Β), ΟΣ1 (Εικ. 7C), ΟΣ2 (Εικ. 7D), ΟΣ3 (Εικ. 7E) και ΟΣ4 (Εικ. 7F), την εικοστή πρώτη μετεγχειματική ημέρα. Την εικοστή πρώτη μετεγχειματική ημέρα παρατηρήθηκε μείωση της επιφάνειας του εγκαύματος και στα έξι ζώα της υποομάδας της ΟΣ1, χωρίς να παρατηρείται καμιά άλλη από τις μακροσκοπικές παραμέτρους όπως ορατή φλεγμονή, αιμορραγία, ή παρουσία εξιδρώματος υποκείμενα της εσχάρας (Εικ. 1C), ενώ παρατηρείται μείωση της επιφάνειας του εγκαύματος σε ζώα των υποομάδων της ΟΣ2 και ΟΣ4 (Εικ. 7D-7F, αντίστοιχα). Σημειώνεται παρουσία της εγκαυματικής εσχάρας σε όλα τα ζώα της υποομάδας της ΟΕ (Εικ. 7Α), καθώς και σε τρία από τα έξι ζώα της υποομάδας της ΟΣ3 (Εικ. 7E), ενώ σε τρία από τα έξι ζώα των υποομάδων της ΟΕ και ΟΔ και σε τέσσερα από τα έξι ζώα της υποομάδας της ΟΣ3, παρατηρήθηκε αύξηση της επιφάνειας του εγκαύματος (Εικ. 7Α-7B-7E, αντίστοιχα) **A.** ΟΕ: η υποομάδα ελέγχου **B.** ΟΔ: η υποομάδα ζώων που δεχόταν στην εγκαυματική τους πληγή το διάλυμα του Σ1 **C.** ΟΣ1: η υποομάδα ζώων που δεχόταν στην εγκαυματική τους πληγή το διάλυμα του Σ2 **D.** ΟΣ2: η υποομάδα ζώων που δεχόταν στην εγκαυματική τους πληγή το διάλυμα του Σ3 **E.** ΟΣ3: η υποομάδα ζώων που δεχόταν στην εγκαυματική τους πληγή το διάλυμα του Σ4 **F.** ΟΣ4: η υποομάδα ζώων που δεχόταν στην εγκαυματική τους πληγή το διάλυμα του Σ4.



Γράφημα 5: Αντιπροσωπεύει το % ποσοστό μεταβολής του μεγέθους της εγκαυματικής πληγής για τις υποομάδες ζώων της ΟΕ, ΟΔ, ΟΣ1, ΟΣ2, ΟΣ3 και ΟΣ4 την εικοστή πρώτη μετεγκαυματική ημέρα σε σχέση με το μέγεθος της εγκαυματικής εσχάρας την ημέρα πρόκλησης του εγκαύματος (ΗΕ). ΟΕ: η υποομάδα ελέγχου, ΟΔ: η υποομάδα ζώων που δεχόταν στην εγκαυματική τους πληγή το διαλύτη ΟΣ1: η υποομάδα ζώων που δεχόταν στην εγκαυματική τους πληγή το διάλυμα του Σ1, ΟΣ2: η υποομάδα ζώων που δεχόταν στην εγκαυματική τους πληγή το διάλυμα του Σ2, ΟΣ3: η υποομάδα ζώων που δεχόταν στην εγκαυματική τους πληγή το διάλυμα του Σ3, ΟΣ4: η υποομάδα ζώων που δεχόταν στην εγκαυματική τους πληγή το διάλυμα του Σ4. *Στατιστικά σημαντική διαφορά σε σχέση με την ΟΔ ($p < 0.05$). Τα δεδομένα εκφράζονται ως μέσοι όροι \pm τ.α.

Παρατηρούμε (Γράφημα 5) ότι όλα τα διαλύματα των συμπλόκων που χρησιμοποιήθηκαν στις αντίστοιχες υποομάδες ζώων, μείωσαν το μέγεθος της επιφάνειας του εγκαύματος, την εικοστή πρώτη μετεγκαυματική ημέρα εκτός από το διάλυμα του Σ3, το οποίο στην αντίστοιχη υποομάδα ζώων (ΟΣ3) αύξησε το μέγεθος της επιφάνειας του εγκαύματος. Τα διαλύματα των Σ1 (τοποθετήθηκε στην υποομάδα της ΟΣ1) και Σ2 (τοποθετήθηκε στην υποομάδα της ΟΣ2) παρουσίασαν το καλύτερο επουλωτικό αποτέλεσμα σε σύγκριση με το διαλύτη (τοποθετήθηκε στην υποομάδα της ΟΔ) ($p < 0.05$).

4.5 Αποτελέσματα από τη μακροσκοπική εκτίμηση της πορείας της επούλωσης του εγκαύματος κατόπιν τοπικής εφαρμογής των ουσιών Κουερσετίνη και Αδενοσίνη

Η μακροσκοπική εκτίμηση των ζώων πραγματοποιήθηκε αμέσως μετά την δημιουργία εγκαύματος στη ράχη του κάθε ζώου, αλλά και κάθε ημέρα μετά την ημέρα πρόκλησης του εγκαύματος, έως την ημέρα που ολοκληρώνεται η μελέτη της επουλωτικής δράσης της εκάστοτε ουσίας.

4.5.1 Ημέρα πρόκλησης του εγκαύματος

Την ημέρα πρόκλησης του εγκαύματος, το ζώο 27 της ΟΕ παρουσίασε αποκόλληση του δέρματος στην περιφέρεια της εγκαυματικής πληγής (κατά τη μια διάσταση-1/4 της περιφέρειας της πληγής) αμέσως μετά την απομάκρυνση της σφραγίδας.

Τα ζώα της ΟΔ, που θα δεχόταν το διάλυτη και παρουσίασαν μικρού βαθμού αποκόλληση, ορατή αμέσως μετά την απομάκρυνση της σφραγίδας, ήταν τα εξής: 19, 25, 27 και 29. Την ημέρα πρόκλησης του εγκαύματος το ζώο 19 της ΟΚ (ΟΚ: ομάδα ζώων που δεχόταν το διάλυμα της Κουερσετίνης), παρουσίασε αμέσως αποκόλληση του δέρματος στην περιφέρεια της εγκαυματικής πληγής (κατά τη μια διάσταση-1/4 της περιφέρειας της πληγής) αμέσως μετά την απομάκρυνση της σφραγίδας. Το ζώο 19 της ΟΚ αμέσως μετά την επάλειψη του μίγματος εμφάνισε και μικρή αιμορραγία στο σημείο της αποκόλλησης. Τα υπόλοιπα ζώα δεν παρουσίασαν κανένα αξιοσημείωτο μακροσκοπικό χαρακτηριστικό.

4.5.2 Τρίτη μετεγκαυματική ημέρα

Από τα ζώα της ΟΕ τα 1, 8 και 25 παρουσίασαν εξέλκωση. Τα ζώα της ΟΔ, που δεχόταν επάνω στην εγκαυματική πληγή το διαλύτη και παρουσίασαν μικρού βαθμού εξέλκωση ήταν τα εξής: 19, 21, 25, 27, 29, 30. Το ζώο 19 της ΟΚ παρουσίασε αποκόλληση της εσχάρας και το 21 της ίδιας ομάδας παρουσίασε μικρού βαθμού εξέλκωση. Τα υπόλοιπα ζώα δεν παρουσίασαν κανένα αξιοσημείωτο μακροσκοπικό χαρακτηριστικό. Σε γενικές γραμμές την τρίτη μετεγκαυματική ημέρα η εγκαυματική πληγή αυξήθηκε σε όλες τις υποομάδες ζώων της μελέτης.

4.5.3 Έκτη μετεγκαυματική ημέρα

Από τα ζώα της ΟΕ, το 8 παρουσίασε μεγαλύτερο μέγεθος της επιφάνειας του εγκαύματος από αυτό της ημέρας πρόκλησης του εγκαύματος και εξέλκωση, στα ζώα 11 και 12 κατά την αφαίρεση του τεμαχίου παρατηρήθηκε η έξοδος εξιδρώματος, ενώ στο 29 παρατηρήθηκε μερική αποκόλληση της εσχάρας. Τα υπόλοιπα ζώα δεν παρουσίασαν κανένα αξιοσημείωτο μακροσκοπικό χαρακτηριστικό.

Από τα ζώα της ΟΔ, που δεχόταν το διαλύτη, τα 19, 21, 25, 27, 28, 29 και 30 παρουσίασαν εξέλκωση, ενώ το 12 παρουσίασε αποκόλληση στη διάσταση που βρίσκεται της την πλευρά του αυχένα, με έξοδο υγρού πριν την αφαίρεση του τεμαχίου.

Το ζώο 14 της ΟΚ παρουσίασε αποκόλληση της εσχάρας και το ζώο 13 της ίδιας ομάδας, παρουσίασε μικρού βαθμού εξέλκωση. Το ζώο 10 της ΟΚ πριν την χειρουργική αφαίρεση του τεμαχίου παρουσίασε οίδηματώδη διόγκωση κάτω από την εγκαυματική

πληγή και κατά την αφαίρεση του τεμαχίου εξήλθε κιτρινωπό εξίδρωμα ποσότητας περίπου 3 cm³ (το χρώμα προφανώς οφείλεται στην Κουερσετίνη).

Η συγκεκριμένη μακροσκοπική ανάλυση των χαρακτηριστικών που αναφέρθηκαν αφορούν όλα τα ζώα, όχι μόνο τα ζώα που οριοθετούνται για τη μελέτη της επούλωσης του εγκαύματος την έκτη μετεγκαυματική ημέρα. Σε όλες τις υποομάδες παρατηρήθηκε μικρή αύξηση της επιφάνειας του εγκαύματος σε σχέση με την ημέρα πρόκλησης του εγκαύματος. Η μακροσκοπική παρατήρηση αποκλειστικά των ζώων που μελετώνται την έκτη μετεγκαυματική ημέρα, η οποία είναι σύμφωνη με τον πίνακα κατάταξης των ζώων, παρουσιάζεται στον ακόλουθο πίνακα:

	ΟΕ	ΟΔ	ΟΚ	ΟΑ
Αποκόλληση της εσχάρας		12		
Αύξηση του μεγέθους της εσχάρας	8			
Εξέλκωση	8		10	
Εξίδρωμα κάτω από την εσχάρα (<5 cm ³)	11, 12	12		
Φλεγμονή				
Αιμορραγία				

Πίνακας 11: Μακροσκοπική παρατήρηση αποκλειστικά των υποομάδων ζώων που μελετώνται την έκτη μετεγκαυματική ημέρα, με βάση τις παραμέτρους της εγκαυματικής πληγής. ΟΕ: η υποομάδα ελέγχου, ΟΔ: η υποομάδα ζώων που δεχόταν στην εγκαυματική τους πληγή το διαλύτη ΟΚ: η υποομάδα ζώων που δεχόταν στην εγκαυματική τους πληγή το διάλυμα της Κουερσετίνης, ΟΑ: η υποομάδα ζώων που δεχόταν στην εγκαυματική τους πληγή το διάλυμα της Αδενοσίνης.

4.5.4 Δωδέκατη μετεγκαυματική ημέρα

Από τα ζώα της ΟΕ, το 13 παρουσίασε μείωση της επιφάνειας του εγκαύματος κατά το 1/3, αλλά παρουσίαζε σκληρία με ρίκνωση της πληγής, το 14 ενώ το μέγεθος της πληγής ήταν περίπου το ίδιο με αυτό της ημέρας πρόκλησης του εγκαύματος, παρουσίαζε σκληρία με σύσπαση της πληγής και εξέλκωση, το 15 ενώ το μέγεθος της πληγής ήταν το ίδιο περίπου με αυτό της ημέρας πρόκλησης του εγκαύματος, παρουσίαζε εξέλκωση, σκληρία με ρίκνωση της πληγής και αιμορραγία, τα 16, 17 είχαν μεγαλύτερο μέγεθος της επιφάνειας του εγκαύματος από αυτό της ημέρας πρόκλησης του εγκαύματος, ενώ στο 17 κατά την αφαίρεση του ιστολογικού τεμαχίου εξήλθε εξίδρωμα δύσοσμο, το 18 είχε μεγαλύτερο μέγεθος της επιφάνειας του εγκαύματος από αυτό της ημέρας πρόκλησης του εγκαύματος, και παρουσίαζε σκληρία με ρίκνωση της πληγής και το 28 εμφάνισε μικρού βαθμού εξέλκωση.

Από τα ζώα της ΟΔ, που δεχόταν το διαλύτη, τα 13, 14, 15, 19, 20, 21 και 27 είχαν σταθερή εξέλιξη της εξέλκωσης, ενώ το 14 παρουσίαζε ορατή φλεγμονή και αιμορραγία. Μεγάλης επιφάνειας και βαθιά εξέλκωση, ρυπαρή με φλεγμονή είχαν τα 28 και 29. Μεγάλη επιφάνεια εγκαύματος χωρίς εξέλκωση είχε το 24. Κανονικό μέγεθος επιφάνειας εγκαύματος και αμετάβλητο είχε το 22. Μείωση στην επιφάνεια του εγκαύματος είχαν τα 17, 25. Στο 16 όταν αφαιρέθηκε το ιστολογικό τεμάχιο, εξήλθε εξίδρωμα άνω των 5 cm³. Μικρή αύξηση στην επιφάνεια του εγκαύματος παρουσίασαν τα 16, 18.

Από την ομάδα ΟΚ των ζώων που δέχτηκαν το διάλυμα της Κουερσετίνης, στο 18 κατά την αφαίρεση του ιστολογικού τεμαχίου παρατηρήθηκε μεγάλο μέγεθος πληγής, μεγάλη φλεγμονή, με αποτέλεσμα να μην ανιχνεύεται εγκαυματικός ιστός και να φαίνεται ο υποκείμενος μυς. Στην περιφέρεια της βλάβης υπάρχει σκληρία. Ήταν δύσκολη η αφαίρεση του τεμαχίου. Τα 14, 17, 18 παρουσίασαν αύξηση στο μέγεθος της εσχάρας, το

15 μείωση της της επιφάνειας του εγκαύματος με παρουσία εσχάρας και αιμορραγία και το 16 κανονικό μέγεθος της επιφάνειας του εγκαύματος με παρουσία εσχάρας με σύσπαση, εξέλκωση και φλεγμονή.

Από τα ζώα που δεχόταν το διάλυμα της Αδενοσίνης στην επιφάνεια του εγκαύματος (ΟΑ) τα 13, 14 και 17 παρουσίασαν αύξηση στο μέγεθος της επιφάνειας του εγκαύματος με παρουσία εσχάρας και τα 16 και 18 παρουσίασαν μερική αποκόλληση της εσχάρας.

Η συγκεκριμένη μακροσκοπική ανάλυση των χαρακτηριστικών που αναφέρθηκαν αφορούν όλα τα ζώα, όχι μόνο τα ζώα που οριοθετούνται για τη μελέτη της επούλωσης του εγκαύματος την δωδέκατη μετεγκαυματική ημέρα. Η μακροσκοπική παρατήρηση αποκλειστικά των ζώων που μελετώνται την δωδέκατη μετεγκαυματική ημέρα, η οποία είναι σύμφωνη με τον πίνακα κατάταξης των ζώων, παρουσιάζεται στον ακόλουθο πίνακα:

	ΟΕ	ΟΔ	ΟΚ	ΟΑ
Αποκόλληση της εσχάρας				16, 18
Μείωση του μεγέθους της εσχάρας	13	17	15	15
Αύξηση του μεγέθους της εσχάρας	16, 17, 18	16, 18	14, 17, 18	13, 14, 17
Αμετάβλητο μέγεθος εσχάρας	14, 15	13, 14, 15	13, 16	16, 18
Εξίδρωμα κάτω από την εσχάρα (<5 cm ³)	17	16		
Εξέλκωση	14, 15, 18	13, 14, 15	16	
Φλεγμονή		14, 16	16, 18	
Αιμορραγία	15	14	15	

Πίνακας 12: Μακροσκοπική παρατήρηση αποκλειστικά των υποομάδων ζώων που μελετώνται την δωδέκατη μετεγκαυματική ημέρα, με βάση τις παραμέτρους της εγκαυματικής πληγής. ΟΕ: η υποομάδα ελέγχου, ΟΔ: η υποομάδα ζώων που δεχόταν στην εγκαυματική τους πληγή το διαλύτη ΟΚ: η υποομάδα ζώων που δεχόταν στην εγκαυματική τους πληγή το διάλυμα της Κουερσετίνης, ΟΑ: η υποομάδα ζώων που δεχόταν στην εγκαυματική τους πληγή το διάλυμα της Αδενοσίνης.

4.5.5 Δέκατη έβδομη μετεγκαυματική ημέρα

Από τα ζώα της ΟΕ, το 28 είχε μεγάλη βλάβη με φλεγμονή, το 29 είχε επίσης μεγάλη βλάβη και στο 30 αρχίζει η αποκόλληση της εγκαυματικής εσχάρας.

Από τα ζώα της ΟΔ, που δεχόταν το διαλύτη, μείωση της επιφάνειας του εγκαυματος παρουσίασαν τα 20, 21, 25 και το 27. Μεγάλη εξέλκωση είχαν τα 19, 28 και 29. Κανονικό μέγεθος της επιφάνειας του εγκαύματος με εξέλκωση είχαν τα 22, 23 και 26. Κανονικό μέγεθος της επιφάνειας του εγκαύματος με παρουσία εσχάρας με μικρού βαθμού αποκόλληση είχαν τα 24 και 30. Τα ζώα 21, 24, και 25 στην επιφάνεια της εγκαυματικής εσχάρας παρουσίασαν σημαντικού βαθμού ανάπτυξη τριχώματος.

Από τα ζώα της ΟΚ που δέχτηκαν το διάλυμα της Κουερσετίνης, τα 23, 28 και 29, παρουσιάζουν εγκαυματική εσχάρα έτοιμη να αποκολληθεί. Το 30 έχει υποψία υγρού κάτω από την εσχάρα, με μεγάλη βλάβη έτοιμη για αποκόλληση. Στα υπόλοιπα ζώα δεν υπάρχουν αξιοσημείωτες παρατηρήσεις.

4.5.6 Εικοστή πρώτη μετεγκαυματική ημέρα

Από τα ζώα της ΟΕ, όλα τα ζώα είχαν την εγκαυματική εσχάρα αν και σε τρία από αυτά φαίνεται να ξεκινάει η διαδικασία της αποκόλλησης, με αποτέλεσμα να είναι δυνατό να δούμε την πορεία της επούλωσης ανασηκώνοντας την εσχάρα με λαβίδα. Τα 19, 20 και 21 παρουσίασαν μείωση της επιφάνειας του εγκαύματος με υποψία φλεγμονής στο 19, τα υπόλοιπα ζώα εμφάνισαν αύξηση της επιφάνειας του εγκαύματος με το 24 να εμφανίζει φλεγμονή και αιμορραγία, το 23 αιμορραγία και στο 22 κατά την αφαίρεση του τεμαχίου

αποκαλύφθηκε συγκέντρωση εξιδρώματος υποκείμενο της εσχάρας άνω των 5 cm³. Στο 29 παρατηρήθηκε σύσπαση της εσχάρας και έξοδος εξιδρώματος.

Από τα ζώα της ΟΔ, που δεχόταν το διαλύτη, ολοκληρώθηκε η αποκόλληση της εσχάρας στα 19, 20, 21, 22 και 23. Στα 19, 23 και 24 παρατηρήθηκε αύξηση της επιφάνειας του εγκαύματος με ορατή φλεγμονή και στα υπόλοιπα μείωση. Αιμορραγία παρουσίασαν τα 19 και 24. Εξέλκωση είχαν τα 25, 27 και το 30. Μικρή μείωση της επιφάνειας του εγκαύματος με παρουσία εσχάρας είχαν τα 26 και 28. Το 29 είχε αμετάβλητη εσχάρα.

Από τα ζώα της ΟΚ που δέχτηκαν το διάλυμα της Κουερσετίνης στα 20, 21, 23, 24, 26, 27, 30 ολοκληρώθηκε η αποκόλληση της εγκαυματικής εσχάρας, μείωση της επιφάνειας του εγκαύματος παρατηρήθηκε στα 20, 21, 22, 23, αύξηση της επιφάνειας του εγκαύματος στα 19 και 24 με ορατή φλεγμονή στο 24. Στο 29 έχει ολοκληρωθεί η αποκόλληση της εγκαυματικής εσχάρας κατά 90%.

Από τα ζώα της ΟΑ που δεχόταν το διάλυμα της Αδενοσίνης ολοκληρώθηκε η αποκόλληση της εγκαυματικής εσχάρας στα 20, 22, 23, και 24. Μείωση της επιφάνειας του εγκαύματος φαίνεται να παρουσιάζουν τα 21, 22 και 24 ενώ τα άλλα τρία ζώα παρουσιάζουν αύξηση της επιφάνειας του εγκαύματος με ορατή φλεγμονή στα 19 και 20.

Η συγκεκριμένη μακροσκοπική ανάλυση των χαρακτηριστικών που αναφέρθηκαν αφορούν όλα τα ζώα. Η μακροσκοπική παρατήρηση αποκλειστικά των ζώων που μελετώνται την εικοστή πρώτη μετεγκαυματική ημέρα, η οποία είναι σύμφωνη με τον πίνακα κατάταξης των ζώων, παρουσιάζεται στον ακόλουθο πίνακα:

	ΟΕ	ΟΔ	ΟΚ	ΟΑ
Αποκόλληση της εσχάρας		19, 20, 21, 22, 23	20, 21, 23, 24	20, 22, 23, 24
Μείωση της εγκαυματικής πληγής	19, 20, 21	20, 21, 22	20, 21, 22, 23	21, 22, 24
Αύξηση της εγκαυματικής πληγής	22, 23, 24	19, 23, 24	19, 24	19, 20, 23
Αμετάβλητο μέγεθος πληγής				
Εξίδρωμα κάτω από την εσχάρα (<5 cm ³)	22			
Φλεγμονή	19, 24	19, 23, 24	24	19, 20
Αιμορραγία	23, 24	19, 24		

Πίνακας 13: Μακροσκοπική παρατήρηση αποκλειστικά των υποομάδων ζώων που μελετώνται την εικοστή πρώτη μετεγκαυματική ημέρα, με βάση τις παραμέτρους της εγκαυματικής πληγής. ΟΕ: η υποομάδα ελέγχου, ΟΔ: η υποομάδα ζώων που δεχόταν στην εγκαυματική τους πληγή το διαλύτη ΟΚ: η υποομάδα ζώων που δεχόταν στην εγκαυματική τους πληγή το διάλυμα της Κουερσετίνης, ΟΑ: η υποομάδα ζώων που δεχόταν στην εγκαυματική τους πληγή το διάλυμα της Αδενοσίνης.

Από τα ανωτέρω ευρήματα προκύπτει ότι μακροσκοπικά τουλάχιστο την καλύτερη επουλωτική διεργασία παρουσίασε η Κουερσετίνη σε σύγκριση με την Αδενοσίνη, διότι η επιφάνεια του εγκαύματος μειώθηκε σε μέγεθος σε τέσσερα από τα έξι ζώα της υποομάδας της ΟΕ, ενώ στην υποομάδα της ΟΑ, μειώθηκε το μέγεθος της επιφάνειας του εγκαύματος σε τρία από τα έξι ζώα. Παρουσιάζουν φλεγμονή δε, ένα από τα έξι ζώα της υποομάδας της ΟΚ, σε σύγκριση με δύο από τα έξι ζώα της υποομάδας της ΟΑ. Η αποκόλληση της εσχάρας είναι μια φυσιολογική διεργασία της διαδικασίας της επούλωσης και σε καμία περίπτωση δεν απομακρύνθηκε μηχανικά.

Το γεγονός όλα τα ζώα της υποομάδας της ΟΕ διέθεταν την 21^η μετεγκαυματική ημέρα την εσχάρα, μας δείχνει αμέσως ότι σε αυτά τα ζώα παρατηρείται καθυστέρηση στη διαδικασία της επούλωσης σε σχέση με τα υπόλοιπα. (Στην Εικόνα 9 παρουσιάζεται η

μακροσκοπική εκτίμηση αντιπροσωπευτικών ζώων των υποομάδων της ΟΕ, ΟΔ, ΟΚ και ΟΑ, την εικοστή πρώτη μετεγκαυματική ημέρα).

4.5.7 Εικοστή τρίτη μετεγκαυματική ημέρα

Από τα ζώα της ΟΕ, στα 28 και 29 ολοκληρώθηκε η αποκόλληση της εσχάρας και παρουσιάστηκε εξέλκωση των υποκείμενων ιστών και το 30 είχε εξέλκωση. Από τα ζώα της ΟΔ, που δεχόταν το διαλύτη πολύ καλή πορεία επούλωσης είχε το 25, μέτρια επούλωση τα 26, 27 και 28 και μερική επούλωση το 29. Από τα ζώα της ΟΚ στο 28 παρατηρήθηκε αποκόλληση της εσχάρας με μικρό μέγεθος πληγής εκατέρωθεν, στο 29 παρατηρήθηκε αποκόλληση της εσχάρας και στο 30 συγκέντρωση εξιδρώματος (αιμορραγικό περιεχόμενο) υποκείμενο της εσχάρας. Στα υπόλοιπα ζώα δεν υπάρχουν αξιοσημείωτες παρατηρήσεις.

4.5.8 Τριακοστή πρώτη μετεγκευματική ημέρα

Από τα ζώα της ΟΕ στα 25 και 29 παρατηρήθηκε μείωση της επιφάνειας του εγκαύματος πάνω από τα 3/5, στα 26, 27 και 28 κατά τα 4/5. Το 30 είχε αμετάβλητο μέγεθος της επιφάνειας του εγκαύματος και εξέλκωση. Από τα ζώα της ΟΔ, παρατηρήθηκε εξαφάνιση της πληγής στο 25, σύγκλιση του τραύματος κατά τα 4/5 στα 26, 27, 28, και 29. Το 30 είχε αμετάβλητο μέγεθος της επιφάνειας του εγκαύματος και εξέλκωση. Από τα ζώα της ΟΚ στα 25, 26, 27, 28 και 29 παρατηρήθηκε μείωση της επιφάνειας του εγκαύματος πάνω από 4/5. Το 30 είχε αμετάβλητο μέγεθος της επιφάνειας

του εγκαύματος και αιμορραγία. Παρόμοια μακροσκοπικά χαρακτηριστικά παρουσίασαν και τα ζώα της ΟΑ.

4.6 Αποτελέσματα πλανιμετρίας από την μέτρηση της εγκαυματικής πληγής κατόπιν τοπικής εφαρμογής των ουσιών Κουερσετίνη και Αδενοσίνη

Η καταγραφή και η σύγκριση των αποτελεσμάτων της πλανιμετρίας πραγματοποιήθηκε για τις υπό μελέτη ουσίες Κουερσετίνη και Αδενοσίνη την τρίτη, έκτη, δωδέκατη, και εικοστή πρώτη μετεγκαυματική ημέρα. Υπολογίστηκε το % ποσοστό μεταβολής του μεγέθους της εγκαυματικής εσχάρας στις συγκεκριμένες ημέρες για όλα τις ομάδες ζώων, σε σύγκριση με τα αντίστοιχα δεδομένα του μεγέθους της εγκαυματικής εσχάρας την ημέρα πρόκλησης του εγκαύματος (HE) (Πίνακας 11).

Την τρίτη μετεγκαυματική ημέρα παρατηρείται αύξηση του μεγέθους της εγκαυματικής εσχάρας σε όλες τις υποομάδες. Συγκεκριμένα στην υποομάδα ζώων της ΟΕ, παρατηρείται αύξηση του μεγέθους της εγκαυματικής εσχάρας κατά 12%, στην υποομάδα ζώων της ΟΔ, παρατηρείται αύξηση του μεγέθους της εγκαυματικής εσχάρας κατά 13%, στην υποομάδα ζώων της ΟΚ παρατηρείται αύξηση του μεγέθους της εγκαυματικής εσχάρας κατά 15% (Γράφημα 6) και στην υποομάδα ζώων της ΟΑ, παρατηρείται αύξηση του μεγέθους της εγκαυματικής εσχάρας κατά 13% (Γράφημα 7).

Την έκτη μετεγκαυματική ημέρα παρατηρείται αύξηση του μεγέθους της εγκαυματικής εσχάρας σε όλες τις υποομάδες. Συγκεκριμένα στην υποομάδα ζώων της ΟΕ, παρατηρείται αύξηση του μεγέθους της εγκαυματικής εσχάρας κατά 12%, στην υποομάδα ζώων της ΟΔ, παρατηρείται αύξηση του μεγέθους της εγκαυματικής εσχάρας κατά 14%, στην υποομάδα ζώων της ΟΚ (Γράφημα 6) παρατηρείται αύξηση του μεγέθους της εγκαυματικής εσχάρας

κατά 19% και στην υποομάδα ζώων της ΟΑ, παρατηρείται αύξηση του μεγέθους της εγκαυματικής εσχάρας κατά 21% (Γράφημα 7).

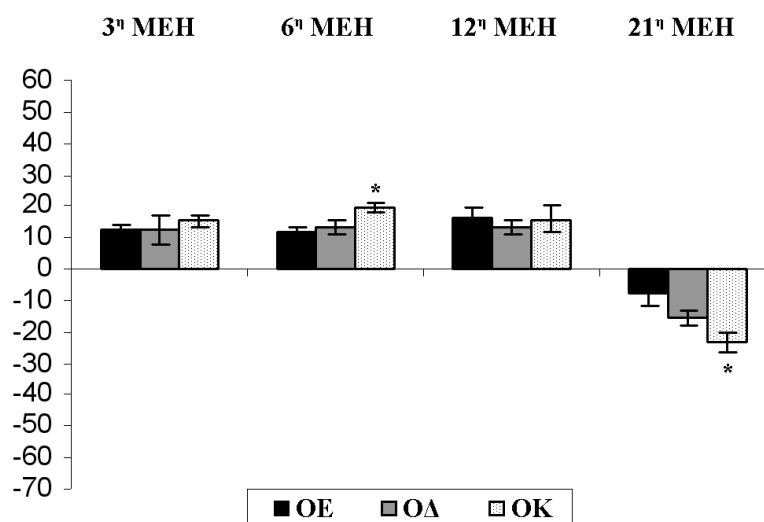
Τη δωδέκατη μετεγκαυματική ημέρα παρατηρείται αύξηση του μεγέθους της εγκαυματικής πληγής σε όλες τις υποομάδες. Συγκεκριμένα στην υποομάδα ζώων της ΟΕ, παρατηρείται αύξηση του μεγέθους της εγκαυματικής πληγής κατά 16%, στην υποομάδα ζώων της ΟΔ, παρατηρείται αύξηση του μεγέθους της εγκαυματικής πληγής κατά 13%, στην υποομάδα ζώων της ΟΚ, παρατηρείται αύξηση του μεγέθους της εγκαυματικής πληγής κατά 16% (Γράφημα 6), στην υποομάδα ζώων ΟΑ, παρατηρείται αύξηση του μεγέθους της εγκαυματικής πληγής κατά 26% (Γράφημα 7).

Την εικοστή πρώτη μετεγκαυματική ημέρα παρατηρείται μείωση του μεγέθους της εγκαυματικής πληγής σε όλες τις υποομάδες. Συγκεκριμένα στην υποομάδα ζώων της ΟΕ, παρατηρείται μείωση του μεγέθους της εγκαυματικής πληγής κατά 7%, στην υποομάδα ζώων της ΟΔ, παρατηρείται μείωση του μεγέθους της εγκαυματικής πληγής κατά 16%, στην υποομάδα ζώων της ΟΚ, παρατηρείται μείωση του μεγέθους της εγκαυματικής πληγής κατά 25% (Γράφημα 6), στην υποομάδα ζώων της ΟΑ, παρατηρείται μείωση του μεγέθους της εγκαυματικής πληγής κατά 21% (Γράφημα 7).

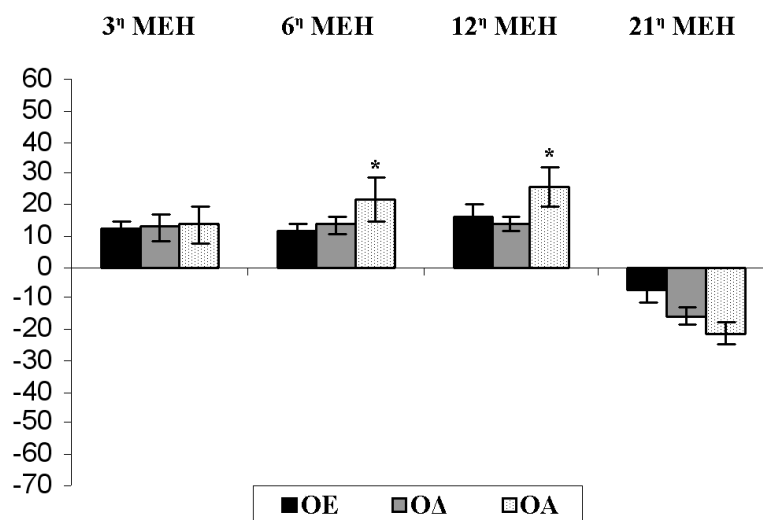
Το Γράφημα 8 αντιπροσωπεύει το % ποσοστό μεταβολής του μεγέθους της εγκαυματικής πληγής για τις υποομάδες ζώων της ΟΕ, ΟΔ, ΟΚ και ΟΑ την εικοστή πρώτη μετεγκαυματική ημέρα σε σχέση με το μέγεθος της εγκαυματικής εσχάρας την ημέρα πρόκλησης του εγκαύματος (ΗΕ).

Επιφάνεια εγκαύματος (cm ²)					
	HE	3 ^η ΜΕΗ	6 ^η ΜΕΗ	12 ^η ΜΕΗ	21 ^η ΜΕΗ
Ομάδες ζώων	M.O.±τα	M.O.±τα	M.O.±τα	M.O.±τα	M.O.±τα
OE	4.1±0.3	4.6±0.2 ^{**}	4.6±0.2 ^{**}	4.8±0.3 ^{**}	3.8±0.2 ^{**}
ΟΔ	4.1±0.2	4.7±0.3 ^{**}	4.7±0.4 ^{**}	4.6±0.3 ^{**}	3.4±0.2 ^{**}
OK	4.2±0.2	4.9±0.3 ^{**}	5.0±0.2 ^{*,**}	4.9±0.3 ^{**}	3.2±0.1 ^{*,**}
ΟΑ	4.2±0.2	4.8±0.3 ^{**}	5.1±0.2 ^{*,**}	5.3±0.4 ^{*,**}	3.3±0.2 ^{**}

Πίνακας 11: OE: η ομάδα ελέγχου, ΟΔ: η ομάδα ζώων που δεχόταν στην εγκαυματική τους πληγή το διαλύτη, OK: η ομάδα ζώων που δεχόταν στην εγκαυματική τους πληγή το διάλυμα της Κουερσετίνης, ΟΑ: η ομάδα ζώων που δεχόταν στην εγκαυματική τους πληγή το διάλυμα της Αδενοσίνης, HE: ημέρα πρόκλησης του εγκαύματος, ΜΕΗ: Μετεγκαυματική ημέρα. *Στατιστικά σημαντική διαφορά σε σχέση με την ΟΔ στην αντίστοιχη ΜΕΗ (p<0.05). **Στατιστικά σημαντική διαφορά ως προς την HE (p<0.05). Τα δεδομένα εκφράζονται ως μέσοι όροι ± τ.α.



Γράφημα 6: Αντιπροσωπεύει το % ποσοστό μεταβολής του μεγέθους της εγκαυματικής πληγής για τις ομάδες ζώων OE, ΟΑ, και OK την τρίτη, έκτη, δωδέκατη εικοστή πρώτη μετεγκαυματική ημέρα σε σχέση με το μέγεθος της εγκαυματικής εσχάρας την ημέρα πρόκλησης του εγκαύματος (HE). OE: η ομάδα ελέγχου, ΟΔ: η ομάδα ζώων που δεχόταν στην εγκαυματική τους πληγή το διαλύτη, OK: η ομάδα ζώων που δεχόταν στην εγκαυματική τους πληγή το διάλυμα της Κουερσετίνης, ΜΕΗ: Μετεγκαυματική ημέρα. *Στατιστικά σημαντική διαφορά σε σχέση με την ΟΔ (p<0.05). Τα δεδομένα εκφράζονται ως μέσοι όροι ± τ.α.



Γράφημα 7: Αντιπροσωπεύει το % ποσοστό μεταβολής του μεγέθους της εγκουματικής πλιγγής για της ομάδες ζώων ΟΕ, ΟΔ, και ΟΑ την τρίτη, έκτη, δωδέκατη, εικοστή πρώτη μετεγκουματική ημέρα σε σχέση με το μέγεθος της εγκουματικής εσχάρας την ημέρα πρόκλησης του εγκυμάτος (ΗΕ). ΟΕ: η ομάδα ελέγχου, ΟΔ: η ομάδα ζώων που δεχόταν στην εγκουματική τους πλιγγή το διαλύτη, ΟΑ: η ομάδα ζώων που δεχόταν στην εγκουματική τους πλιγγή το διάλυμα της Κουερσετίνης, ΜΕΗ: Μετεγκουματική ημέρα. *Στατιστικά σημαντική διαφορά σε σχέση με την ΟΔ ($p < 0.05$). Τα δεδομένα εκφράζονται ως μέσοι όροι \pm τ.α.

4.7 Αποτελέσματα από την ιστολογική εκτίμηση της πορείας της επούλωσης του εγκαύματος κατόπιν τοπικής εφαρμογής των ουσιών Κουερσετίνη και Αδενοσίνη

Τρίτη μετεγκαυματική ημέρα: Στις τομές της υποομάδας της ΟΕ, οι μεταβολές είναι παρόμοιες με αυτές της υποομάδας της ΟΔ, π.χ. υπάρχει μια κεντρική περιοχή με πήγμα αίματος και μετουσιωμένου ιστού, καθώς και άθροιση πολυμορφοπύρηνων κυττάρων κάτω από την εσχάρα.

Όλοι οι ιστοί των ζώων που θεραπεύτηκαν με τις ουσίες και που εξετάστηκαν, ανέδειξαν της παρόμοια ευρήματα, με ελαφρώς περισσότερο έντονο οίδημα. Δεν παρατηρήθηκε αξιοσημείωτος κοκκιώδης ιστός (Στάδιο 1).

Παρουσιάζει ενδιαφέρον το γεγονός ότι στις τομές της υποομάδας της ΟΚ ο αριθμός των πολυμορφοπύρηνων ήταν ελαφρώς μικρότερος σε σύγκριση με την υποομάδα της ΟΕ.

Έκτη μετεγκαυματική ημέρα: Στις τομές της υποομάδας της ΟΕ και ΟΔ, παραμένει η οξεία φλεγμονή. Στην περιοχή εμφανίζονται λίγοι ινοβλάστες και οίδημα, αλλά ακόμη δεν παρατηρείται η εμφάνιση κοκκιώδους ιστού.

Στις τομές της υποομάδας της ΟΚ, υποκείμενα της επιφανειακής εσχάρας παρατηρούνται χαλαρός συνδετικός ιστός με οίδημα, πολυμορφοπύρηνια, νεοσχηματισθέντα τριχοειδή και ανώριμοι ινοβλάστες (Στάδιο 2).

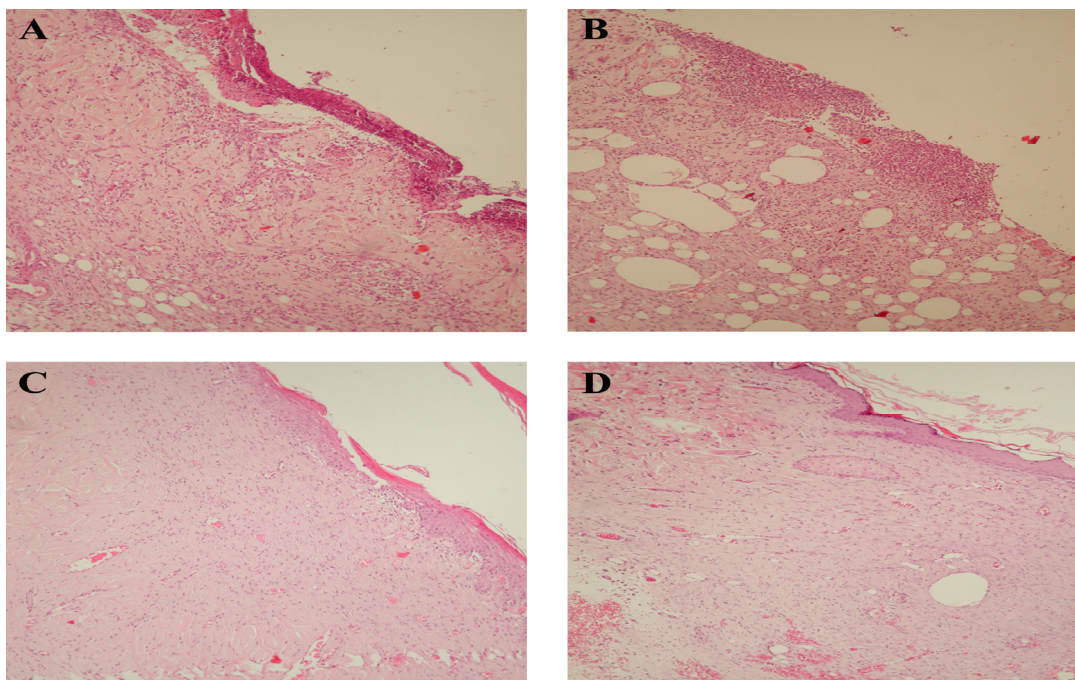
Δωδέκατη μετεγκαυματική ημέρα: Παρατηρείται ανώριμος κοκκιώδης ιστός στις τομές των υποομάδων της ΟΕ και ΟΔ (Στάδιο 2). Στις τομές της υποομάδας της ΟΚ παρατηρείται μείωση στον αριθμό των κυττάρων οξείας φλεγμονής. Επιπλέον, σημειώνεται πιο πυκνός συνδετικός ιστός με ένα εμφανώς αναπτυγμένο τριχοειδικό δίκτυο, ενώ κάποιοι ινοβλάστες αρχίζουν να εμφανίζονται (όψιμο Στάδιο 2). Αυτές οι αλλαγές είναι περισσότερο εμφανείς στην υποομάδα της ΟΚ, στην οποία αρχίζει να εμφανίζεται πλέον ώριμος κοκκιώδης ιστός (πρώιμο Στάδιο 3).

Τα αποτελέσματα από την ιστολογική εκτίμηση των τεμαχίων της υποομάδας της ΟΑ την έκτη και δωδέκατη μετεγκαυματική ημέρα ήταν παραπλήσια με αυτά της υποομάδας της ΟΚ.

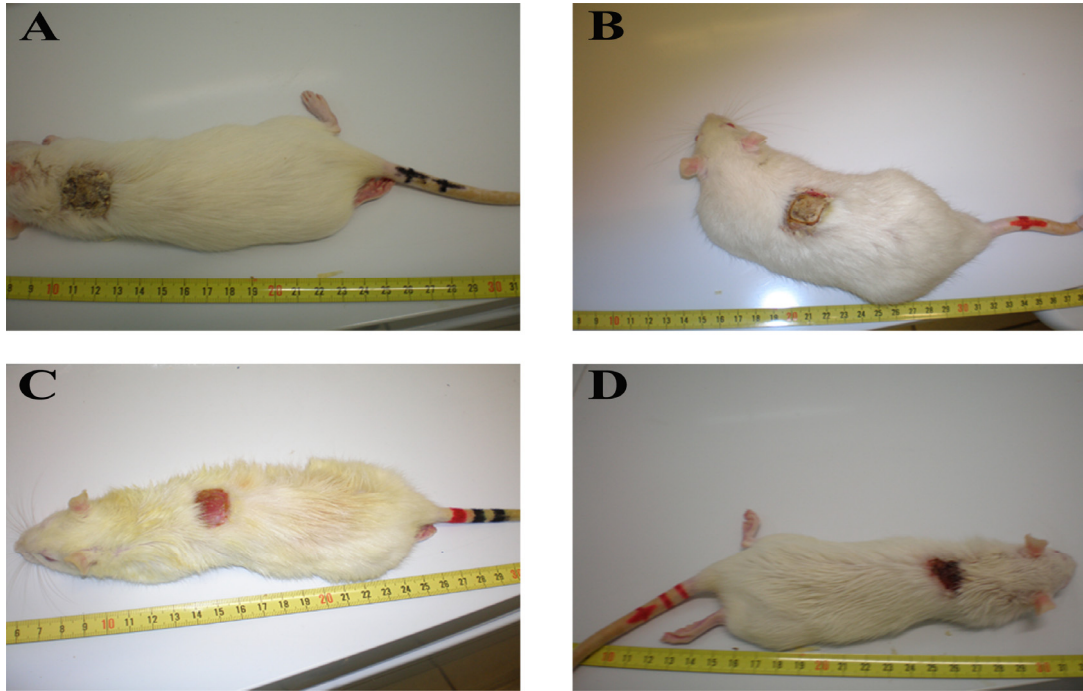
Εικοστή πρώτη μετεγκαυματική ημέρα: Στις τομές των υποομάδων της ΟΕ και ΟΔ, σημειώνεται ώριμος κοκκιώδης ιστός με ώριμους ινοβλάστες καθώς και περισσότερο ώριμο και πυκνό τριχοειδικό δίκτυο (πρώιμο Στάδιο 3). Υπήρχε μόνο μια μικρή κεντρική περιοχή με κύτταρα οξείας φλεγμονής. Στις άλλες δύο υποομάδες (ΟΚ και ΟΑ) δεν παρατηρούνται πλέον κύτταρα φλεγμονής και εμφανίζεται ώριμος κοκκιώδης ιστός (όψιμο Στάδιο 3). (Στην Εικόνα 8 παρουσιάζεται η ιστολογική εκτίμηση αντιπροσωπευτικών ζώνων των υποομάδων της ΟΕ, ΟΔ, ΟΚ, και ΟΑ, την εικοστή πρώτη μετεγκαυματική ημέρα).

Τριακοστή πρώτη μετεγκαυματική ημέρα: Παρατηρείται σε όλες τις υποομάδες ουλώδης συνδετικός ιστός με σχεδόν ολοκληρωμένη επανεπιθηλιοποίηση. Στις υποομάδες της ΟΕ και ΟΔ, η επιδερμίδα αποτελείται μόνο από λίγα στρώματα ανώριμων κερατινοκυττάρων (Στάδιο 4). Στις υποομάδες της ΟΚ και ΟΑ παρατηρήθηκε σχεδόν πλήρης κάλυψη της πληγής από κερατινοκύτταρα, τα οποία σχηματίζουν ώριμη επιδερμίδα. Υποκείμενα παρατηρήθηκε πυκνός ινώδης συνδετικός ιστός (Στάδιο 5).

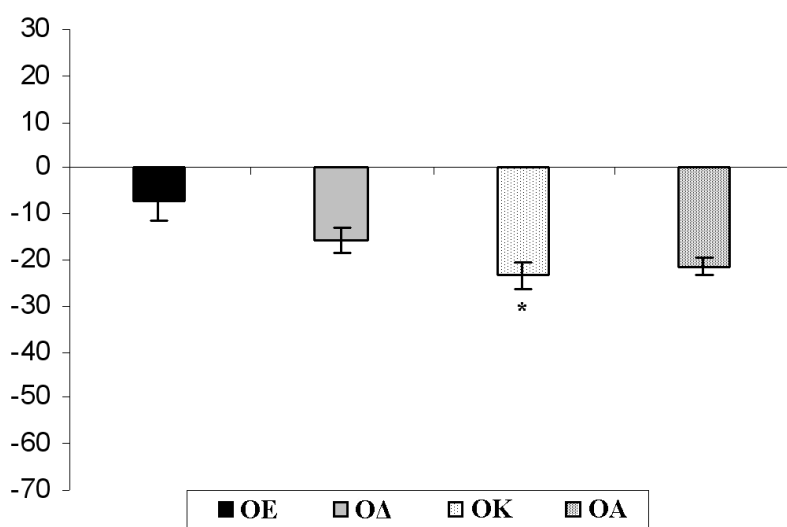
4.8 Συγκεντρωτικά αποτελέσματα από την ιστολογική, μακροσκοπική και πλανιμετρική εκτίμηση, για τα ζώα των υποομάδων της ΟΕ, ΟΔ, ΟΚ και ΟΑ, την εικοστή πρώτη μετεγκαυματική ημέρα



Εικόνα 8: Ιστολογική εκτίμηση της διαδικασίας της επούλωσης. Αντιπροσωπευτικές τομές ελήφθησαν από τα ζώα της υποομάδας της ΟΕ (Εικ. 9Α) καθώς και των άλλων υποομάδων όπως ήδη αναφέρθηκαν π.χ. ΟΔ (Εικ. 9Β), ΟΚ (Εικ. 9C), και ΟΑ (Εικ. 8D), την εικοστή πρώτη μετεγκαυματική ημέρα. Στις τομές της υποομάδας της ΟΕ (Εικ. 8Α) και της υποομάδας της ΟΔ (Εικ. 8Β) παρατηρείται μια κεντρική περιοχή εξέλκωσης. Αυτή η κεντρική περιοχή απουσιάζει στις τομές των υποομάδων της ΟΚ (Εικ. 8C) και της ΟΑ (Εικ. 8D). Στις δύο τελευταίες υποομάδες ο κοκκιώδης ιστός είναι περισσότερο ώριμος και εκτεταμένος και σημειώνεται επανεπιθηλιοποίηση. (Αιματοξυλίνη-ηωσίνη x 200). **A:** ΟΕ: η ομάδα ελέγχου, **B:** ΟΔ: η ομάδα ζώων που δεχόταν στην εγκαυματική τους πληγή το διαλύτη, **C:** ΟΚ: η ομάδα ζώων που δεχόταν στην εγκαυματική τους πληγή το διάλυμα της Κουερσετίνης, **D:** ΟΑ: η ομάδα ζώων που δεχόταν στην εγκαυματική τους πληγή το διάλυμα της Αδενοσίνης.

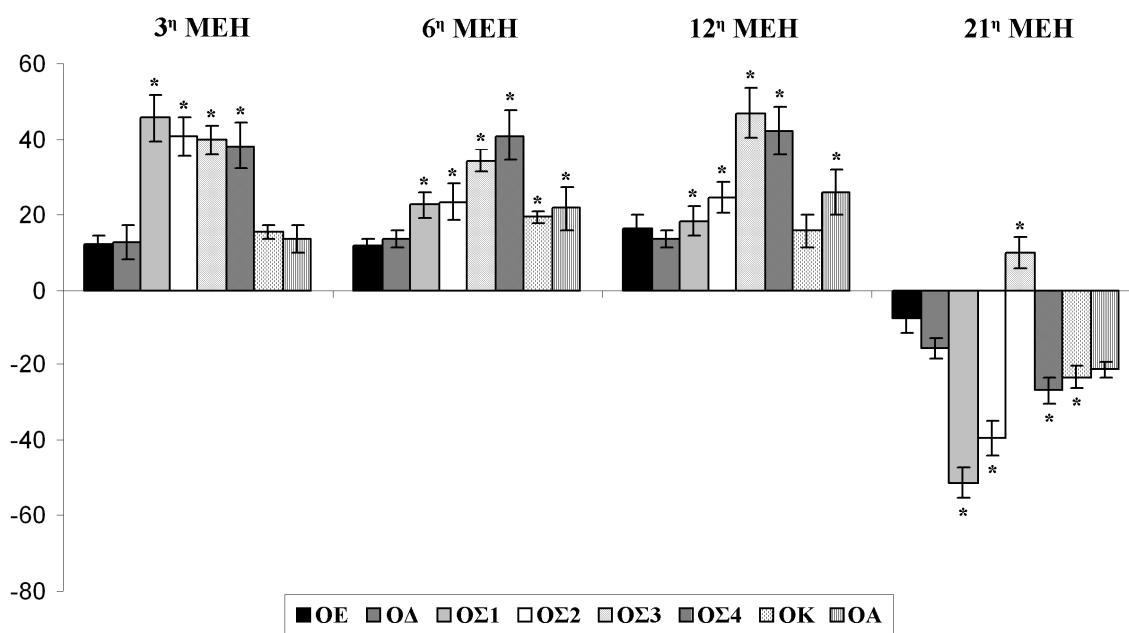


Εικόνα 9. Μακροσκοπική εκτίμηση της διαδικασίας επούλωσης. Αντιπροσωπευτικά ζώα των υποομάδων ελέγχου της OE (Εικ. 9A) καθώς και των άλλων υποομάδων όπως ήδη αναφέρθηκαν π.χ. OD (Εικ. 9B), OK (Εικ. 9C), και OA (Εικ. 9D), την εικοστή πρώτη μετεγχειματική ημέρα. Την εικοστή πρώτη μετεγχειματική ημέρα παρατηρήθηκε μείωση της επιφάνειας του εγκαύματος σε τέσσερα από τα έξι ζώα της υποομάδας της OK (Εικ. 9C), εν αντιθέσει με τρία από τα έξι ζώα των υποομάδων της OE, OD, OA (Εικ. 9A-9B-9D, αντίστοιχα). Μακροσκοπικές παράμετροι όπως ορατή φλεγμονή, (πύον) και αιμορραγία σημειώθηκαν σε μικρότερο βαθμό στις υποομάδες της OK (Εικ. 9C), και OA (Εικ. 9D). **A.** OE: υποομάδα ελέγχου, **B.** OD: υποομάδα ζώων που δεχόταν στην εγχειματική τους πληγή το διάλυμα, **C.** OK: η υποομάδα ζώων που δεχόταν στην εγχειματική τους πληγή το διάλυμα της Κουερσετίνης, **D.** OA: η υποομάδα ζώων που δεχόταν στην εγχειματική τους πληγή το διάλυμα της Αδενοσίνης



Γράφημα 8: Αντιπροσωπεύει το % ποσοστό μεταβολής του μεγέθους της εγκαυματικής πληγής για τις υποομάδες ζώων της OE, OΔ, OK και OA την εικοστή πρώτη μετεγκαυματική ημέρα σε σχέση με το μέγεθος της εγκαυματικής εσχάρας την ημέρα πρόκλησης του εγκαύματος (HE). OE: η υποομάδα ελέγχου, OΔ: η υποομάδα ζώων που δεχόταν στην εγκαυματική τους πληγή το διαλύτη, OK: η υποομάδα ζώων που δεχόταν στην εγκαυματική τους πληγή το διάλυμα της Κουερσετίνης, OA: η υποομάδα ζώων που δεχόταν στην εγκαυματική τους πληγή το διάλυμα της Αδενοσίνης, MEH: μετεγκαυματική ημέρα. *Στατιστικά σημαντική διαφορά σε σχέση με την OΔ ($p < 0.05$) Τα δεδομένα εκφράζονται ως μέσοι όροι \pm τ.α.

4.9 Συγκεντρωτικά αποτελέσματα πλανιμετρίας για τα σύμπλοκα Σ1, Σ2, Σ3, Σ4, και τις ουσίες Κουερσετίνη και Αδενοσίνη την τρίτη, έκτη, δωδέκατη και εικοστή πρώτη μετεγκαυματική ημέρα



Γράφημα 9: Αντιπροσωπεύει το % ποσοστό μεταβολής του μεγέθους της εγκαυματικής πληγής για τις υποομάδες ζώων των ΟΕ, ΟΔ, ΟΣ1, ΟΣ2, ΟΣ3, ΟΣ4, ΟΚ και ΟΑ την τρίτη, έκτη, δωδέκατη και εικοστή πρώτη μετεγκαυματική ημέρα σε σχέση με το μέγεθος της εγκαυματικής εσχάρας την ημέρα πρόκλησης του εγκαύματος (ΗΕ). ΟΕ: η ομάδα ελέγχου, ΟΔ: η ομάδα ζώων που δεχόταν στην εγκαυματική τους πληγή το διάλυμα, ΟΣ1: η ομάδα ζώων που δεχόταν στην εγκαυματική τους πληγή το διάλυμα του Σ1, ΟΣ2: η ομάδα ζώων που δεχόταν στην εγκαυματική τους πληγή το διάλυμα του Σ2, ΟΣ3: η ομάδα ζώων που δεχόταν στην εγκαυματική τους πληγή το διάλυμα του Σ3, ΟΣ4: η ομάδα ζώων που δεχόταν στην εγκαυματική τους πληγή το διάλυμα του Σ4, ΟΚ: η ομάδα ζώων που δεχόταν στην εγκαυματική τους πληγή το διάλυμα της Κουερσετίνης, ΟΑ: η ομάδα ζώων που δεχόταν στην εγκαυματική τους πληγή το διάλυμα της Αδενοσίνης, ΜΕΗ: μετεγκαυματική ημέρα. *Στατιστικά σημαντική διαφορά σε σχέση με την ΟΔ ($p < 0.05$). Τα δεδομένα εκφράζονται ως μέσοι όροι \pm τ.α.

4.10 Αποτελέσματα πλανιμετρίας για τον υπολογισμό της επιφάνειας σώματος των επίμυων Wistar

Οι μετρήσεις με το πλανίμετρο της ραχιαίας και πλάγιων, κοιλιακής επιφάνειας, (στις μετρήσεις αυτές περιλαμβάνεται και η επιφάνεια της κεφαλής) επιφάνειας πρόσθιων και οπίσθιων άκρων, επιφάνειας της ουράς, επιφάνειας αυτιών, καθώς και το μήκος του κάθε ζώου (από την μύτη έως το σημείο επαφής της ουράς στο σώμα), οι οποίες πραγματοποιήθηκαν σε 30 ζώα καταγράφονται στον Πίνακα 15. Το άθροισμα όλων των επί μέρους επιφανειών αποτελεί την ολική επιφάνεια σώματος του κάθε ζώου.

Ο μέσος όρος της ολικής επιφάνειας σώματος (ΟΕΣ) υπολογίστηκε ως $OE\Sigma_{\mu.o}=356.7 \text{ cm}^2$ ο μέσος όρος της κοιλιακής επιφάνειας είναι Κοιλιακή επιφάνεια $_{\mu.o}=86.6 \text{ cm}^2$, ο μέσος όρος της ραχιαίας και των δύο πλάγιων επιφανειών είναι Ραχιαία Επιφάνεια $_{\mu.o}=173.1 \text{ cm}^2$, ο μέσος όρος της επιφάνειας της ουράς είναι Επιφάνεια Ουράς $_{\mu.o}=31.7 \text{ cm}^2$, ο μέσος όρος της επιφάνειας των αυτιών είναι Επιφάνεια αυτιών $_{\mu.o}=4.8 \text{ cm}^2$, ο μέσος όρος της επιφάνειας των πρόσθιων άκρων είναι Επιφάνεια πρόσθιων άκρων $_{\mu.o}=25.6 \text{ cm}^2$, ο μέσος όρος της επιφάνειας των οπίσθιων άκρων είναι Επιφάνεια οπίσθιων άκρων $_{\mu.o}=34.8 \text{ cm}^2$, ο μέσος όρος του μήκους των ζώων είναι Μήκος $_{\mu.o}=19.9 \text{ cm}$, ο μέσος όρος του βάρους των ζώων είναι Βάρος $_{\mu.o}=219.2 \text{ g}$ και ο μέσος όρος της σταθεράς K είναι $K_{\mu.o}=9.83$.

Η ολική επιφάνεια σώματος υπολογίστηκε με τη βοήθεια των αποτελεσμάτων της πλανιμετρίας. Η τιμή της K για κάθε ζώο υπολογίστηκε ακολούθως με την εξίσωση του Meeh $K= OE\Sigma/B^{2/3}$ (όπου ΟΕΣ: η ολική επιφάνεια σώματος του κάθε ζώου και Β: το βάρος του κάθε ζώου), και προκύπτει ο μέσος όρος 9.83 (Πίνακας 15).

Η ολική επιφάνεια σώματος με τα βάρη των ζώων που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα μελέτη, υπολογίστηκε με βάση την εξίσωση του Meeh χρησιμοποιώντας το μέσο

όρο της σταθεράς K της παρούσας μελέτης (9.83) και τις τιμές K που υπολογίστηκαν από άλλους ερευνητές: (Hill και Hill: 9.93, Gilpin: 9.46, Rubner: 9.13, Quiring: 10.38, Mitchell και Carmen: 11.36, Hosnuler και Babuccu: $K1:1.22$ και $K2: 17.37$, οι δε υπολογισμοί των $K1$ και $K2$ είναι οι ακόλουθοι: $K1 =$ μέσος όρος της μετρούμενης επιφάνειας (cm^2)/μέσος όρος βάρους (g) και $K2 =$ μέσος όρος μετρούμενης επιφάνειας (cm^2)/μέσος όρος μήκους (cm) (με $K1=1.22$ και $K2=17.37$) (Hosnuler and Babuccu 2003).

Οι τιμές της ΟΕΣ που υπολογίστηκαν με την εφαρμογή των προαναφερθέντων τιμών K , συγκρίνονται με τις αντιπροσωπευτικές τιμές της ΟΕΣ, που μετρήθηκαν με τη μέθοδο της πλανιμετρίας.

Η απόκλιση της ολικής επιφάνειας σώματος (ΟΕΣ), ακολούθως υπολογίστηκε με εφαρμογή της εξίσωσης: $\text{Απόκλιση} = [(\text{ΟΕΣ}_{\text{υπολογισμένη}} - \text{ΟΕΣ}_{\text{μετρημένη}})] / \text{ΟΕΣ}_{\text{μετρημένη}}$. Η στατιστική ανάλυση των δεδομένων ανέδειξε ότι η χρήση της σταθεράς K που ανακοινώθηκε από τους Mitchell και Carmen, (Mitchell and Carmen 1926), Quiring (Quiring 1955), Rubner (Rubner 1883), και Gilpin (Gilpin 1996), οδηγεί σε σημαντική υπερεκτίμηση ή υποεκτίμηση της ΟΕΣ σε σχέση με τα αποτελέσματα της πλανιμετρίας ($p < 0.05$). Συγκεκριμένα, η χρήση της σταθεράς K των Mitchell και Carmen (Mitchell and Carmen 1926), καθώς και του Quiring (Quiring 1955), οδήγησε σε σημαντική υπερεκτίμηση της ΟΕΣ, (απόκλιση: +0.16 και +0.06, αντίστοιχα), ενώ η χρήση της σταθεράς K των Rubner (Rubner 1883) και Gilpin (Gilpin 1996) οδήγησε σε σημαντική υποεκτίμηση της ΟΕΣ (απόκλιση: -0.07 και -0.03 αντίστοιχως). Δεν βρέθηκε σημαντική στατιστική διαφορά μεταξύ της υπολογισμένης και μετρημένης ΟΕΣ όταν χρησιμοποιήθηκε η σταθερά K των Hill και Hill (Hill and Hill 1913) και οι σταθερές $K1$ και $K2$ των Hosnuler και Babuccu (Hosnuler and Babuccu 2003). Τα ευρήματα μας έδειξαν ότι, δεν υπήρχε στατιστικά σημαντική διαφορά, και η μέση απόκλιση ήταν

αμελητέα (απόκλιση: 0.01, τ.α: 0.05, και απόκλιση:0.00, τ.α.:0.05, αντίστοιχα) Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται λεπτομερώς στον Πίνακα 16.

Περαιτέρω ανάλυση της απόκλισης μεταξύ των τιμών της ΟΕΣ που υπολογίστηκαν με εφαρμογή της σταθεράς K (9.83) που προέκυψαν από τις μετρήσεις μας καθώς και της πραγματικής ΟΕΣ που μετρήθηκε με πλανιμετρία, έδειξε ότι είναι σχετικά μικρή. Ωστόσο, παρατηρείται σημαντική υπερεκτίμηση της ΟΕΣ, καθώς αυξάνεται το βάρος των ζώων (Γράφημα 10).

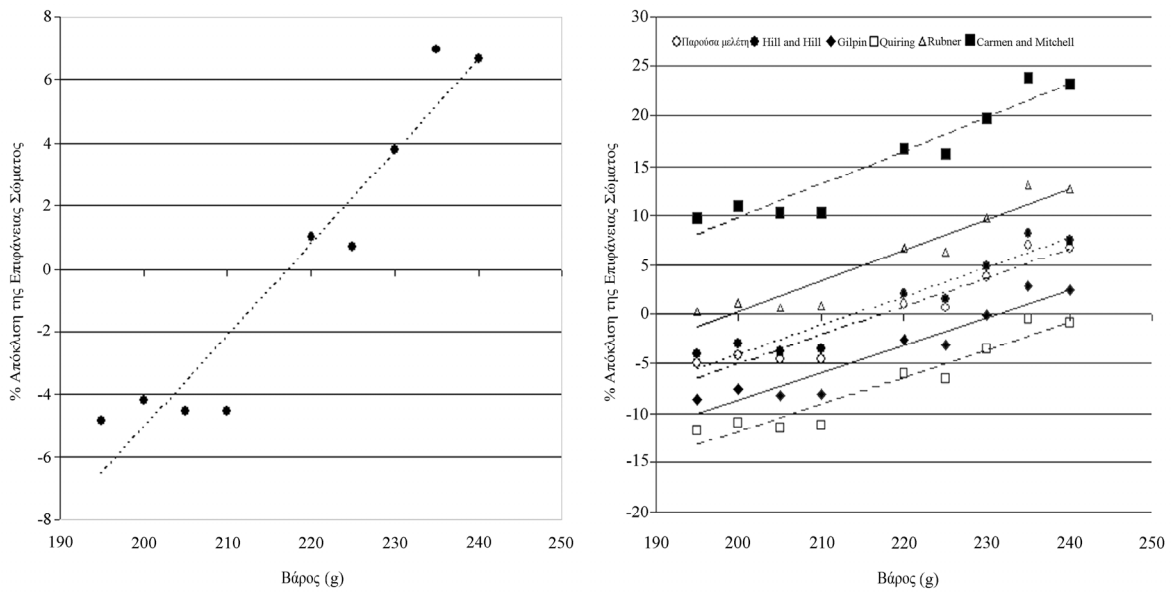
Αριθμ. ζώου	Κουλιακή Επιφ. (cm ²)	Ραχιαία Επιφ. (cm ²)	Επιφ. Ουράς (cm ²)	Επιφ. αυτιών (cm ²)	Επιφ. Πρόσθιων άκρων (cm ²)	Επιφ. Οπίσθ. άκρων (cm ²)	ΟΕΣ (cm ²)	Μήκος (cm)	Βάρος (g)	ΤιμήΚ για κάθε ζώο
1	91.17	175.52	36.45	4.87	24.20	32.33	364.54	18.9	205	10.49
2	75.89	177.41	37.18	4.82	27.60	37.20	360.10	19.2	205	10.36
3	71.93	166.12	35.48	4.69	27.28	46.14	351.64	20.3	220	9.65
4	85.31	171.43	35.70	4.90	32.10	46.19	375.63	18.7	205	10.80
5	86.33	166.50	29.53	4.81	28.97	31.78	347.92	18.7	220	9.55
6	89.91	173.88	28.48	4.83	25.54	36.26	358.90	19.4	230	9.56
7	94.95	184.14	37.98	4.71	24.84	41.22	387.84	21.0	225	10.48
8	91.98	178.22	30.88	4.77	25.62	33.78	365.25	19.8	235	9.59
9	90.81	165.96	28.25	4.82	30.42	31.61	351.87	20.6	220	9.66
10	72.93	175.12	32.48	4.69	27.28	45.11	357.61	21.0	220	9.81
11	84.96	176.76	29.15	4.74	28.42	32.71	356.74	19.2	225	9.64
12	86.31	170.82	35.05	4.87	22.08	33.15	352.28	18.3	230	9.38
13	85.05	163.04	32.08	4.69	26.83	31.37	343.06	20.2	225	9.27
14	96.39	174.51	33.27	4.88	23.07	33.94	366.06	19.9	240	9.48
15	90.00	163.00	31.53	4.90	26.41	32.34	348.18	19.5	195	10.35
16	84.33	182.79	32.40	4.91	22.51	35.37	362.31	19.5	200	10.59
17	92.61	186.00	35.32	4.70	22.89	32.07	373.59	20.2	220	10.25
18	90.90	169.74	27.55	4.65	28.19	34.54	355.57	21.0	210	10.06
19	82.35	162.81	33.16	4.85	22.83	34.29	340.29	20.4	235	8.94
20	92.70	159.75	34.25	4.68	24.23	31.80	347.41	19.8	240	9.00
21	90.73	195.39	30.06	4.71	25.78	34.44	381.11	20.2	210	10.79
22	84.69	161.05	27.43	4.75	30.62	32.23	340.77	19.9	220	9.35
23	83.52	166.94	31.13	4.72	22.10	37.05	345.46	19.4	235	9.07
24	91.26	174.78	28.09	4.86	29.70	32.49	361.18	20.5	225	9.76
25	80.19	165.24	31.70	4.78	22.38	36.20	340.49	19.6	200	9.96
26	89.73	186.12	29.93	4.83	22.92	37.43	370.96	20.0	220	10.18
27	79.38	180.54	32.00	4.69	22.58	35.70	354.89	19.2	210	10.04
28	91.26	174.78	28.09	4.86	29.70	32.49	361.18	19.5	225	9.76
29	86.25	170.49	30.72	4.82	21.00	28.38	341.65	20.8	220	9.37
30	84.15	174.49	26.95	4.84	21.23	23.03	334.69	21.1	205	9.63
Μ.Ο.	86.6	173.1	31.7	4.8	25.6	34.8	356.7	19.9	219.2	9.83
τ.α.	6.1	8.5	3.1	0.1	3.2	4.9	12.9	0.8	12.3	0.5

Πίνακας 15. Μετρήσεις πλανιμετρίας καθώς και ολικής επιφάνειας σώματος (ΟΕΣ) υπολογισμένη από τα δεδομένα πλανιμετρίας. Επιπλέον παρατίθεται το βάρος και το μήκος των ζώων. Βάση των δεδομένων της πλανιμετρίας (ΟΕΣ) και της εξίσωσης του Meeh ($OEΣ=KxB^{2/3}$) υπολογίστηκε η σταθερά K για κάθε ένα ζώο ξεχωριστά και η μέση τιμή της σταθεράς K. Η τιμή της σταθεράς K η οποία χρησιμοποιείται για τον υπολογισμό της επιφάνειας σώματος με την εξίσωση του Meeh, για την συγκεκριμένη ομάδα ζώων (επίμνες Wistar, με βάρος 195-240 g) είναι $K_{μ.ο.}=9.83$, ενώ η μέση ολική επιφάνεια σώματος που υπολογίστηκε είναι $OEΣ_{μ.ο.}=356.7cm^2$

Αριθμός Ζώου	Πλανιμετρία		Παρούσα μελέτη		Hill και Hill		Gilpin		Rubner		Quiring		Mitchell και Carmen		Hosnuler και Babucci	
	ΟΕΣ	Απόκλιση	ΟΕΣ	Απόκλιση	ΟΕΣ	Απόκλιση	ΟΕΣ	Απόκλιση	ΟΕΣ	Απόκλιση	ΟΕΣ	Απόκλιση	ΟΕΣ	Απόκλιση	ΟΕΣ	Απόκλιση
1	365	342	-0.06	345	-0.05	329	-0.10	317	-0.13	361	-0.01	395	0.08	336	-0.08	
2	360	342	-0.05	345	-0.04	329	-0.09	317	-0.12	361	0.00	395	0.10	339	-0.06	
3	352	358	0.02	362	0.03	345	-0.02	333	-0.05	378	0.08	414	0.18	361	0.03	
4	376	342	-0.09	345	-0.08	329	-0.12	317	-0.15	361	-0.04	395	0.05	335	-0.11	
5	348	358	0.03	362	0.04	345	-0.01	333	-0.04	378	0.09	414	0.19	347	0.00	
6	359	369	0.03	373	0.04	355	-0.01	343	-0.05	390	0.09	426	0.19	361	0.01	
7	388	364	-0.06	367	-0.05	350	-0.10	338	-0.13	384	-0.01	420	0.08	372	-0.04	
8	365	374	0.02	378	0.04	360	-0.01	348	-0.05	395	0.08	433	0.18	369	0.01	
9	352	358	0.02	362	0.03	345	-0.02	333	-0.05	378	0.08	414	0.18	364	0.03	
10	358	358	0.00	362	0.01	345	-0.04	333	-0.07	378	0.06	414	0.16	368	0.03	
11	357	364	0.02	367	0.03	350	-0.02	338	-0.05	384	0.08	420	0.18	355	0.00	
12	352	369	0.05	373	0.06	355	0.01	343	-0.03	390	0.11	426	0.21	351	0.00	
13	343	364	0.06	367	0.07	350	0.02	338	-0.02	384	0.12	420	0.22	364	0.06	
14	366	380	0.04	383	0.05	365	0.00	353	-0.04	401	0.10	439	0.20	374	0.02	
15	348	331	-0.05	334	-0.04	318	-0.09	307	-0.12	349	0.00	382	0.10	334	-0.04	
16	362	336	-0.07	340	-0.06	324	-0.11	312	-0.14	355	-0.02	389	0.07	338	-0.07	
17	374	358	-0.04	362	-0.03	345	-0.08	333	-0.11	378	0.01	414	0.11	360	-0.04	
18	356	347	-0.02	351	-0.01	334	-0.06	323	-0.09	367	0.03	401	0.13	359	0.01	
19	340	374	0.10	378	0.11	360	0.06	348	0.02	395	0.16	433	0.27	374	0.10	
20	347	380	0.09	383	0.10	365	0.05	353	0.01	401	0.15	439	0.26	373	0.07	
21	381	347	-0.09	351	-0.08	334	-0.12	323	-0.15	367	-0.04	401	0.05	352	-0.08	
22	341	358	0.05	362	0.06	345	0.01	333	-0.02	378	0.11	414	0.21	358	0.05	
23	345	374	0.08	378	0.09	360	0.04	348	0.01	395	0.14	433	0.25	365	0.06	
24	361	364	0.01	367	0.02	350	-0.03	338	-0.06	384	0.06	420	0.16	367	0.02	
25	340	336	-0.01	340	0.00	324	-0.05	312	-0.08	355	0.04	389	0.14	339	-0.01	
26	371	358	-0.03	362	-0.02	345	-0.07	333	-0.10	378	0.02	414	0.12	359	-0.03	

27	355	347	-0.02	351	-0.01	334	-0.06	323	-0.09	367	0.03	401	0.13	343	-0.03
28	361	364	0.01	367	0.02	350	-0.03	338	-0.06	384	0.06	420	0.16	358	-0.01
29	342	358	0.05	362	0.06	345	0.01	333	-0.03	378	0.11	414	0.21	366	0.07
30	335	342	0.02	345	0.03	329	-0.02	317	-0.05	361	0.08	395	0.18	356	0.06
M.O. (cm²)	356.7	357.2	0.00	360.8	0.01	343.8*	-0.03	331.8*	-0.07	377.2*	0.06	412.8*	0.16	356.6	0.00
τ.α.	13.0	13.4	0.05	13.6	0.05	12.9	0.05	12.5	0.05	14.2	0.06	15.5	0.06	12.5	0.05

Πίνακας 16: Στον Πίνακα άνωθεν πραγματοποιείται σύγκριση της τιμής της ολικής επιφάνειας σώματος η οποία υπολογίστηκε με τη μέθοδο της πλανιμετρίας με την τιμή που προκύπτει από την χρήση της εξίσωσης του Meeh και της σταθεράς K που υπολογίστηκε από διάφορους ερευνητές. Η απόκλιση υπολογίζεται ως η μεταβολή από την τιμή της ολικής επιφάνειας σώματος (OEΣ_{υπολογισμένη}) που υπολογίζεται με βάση τη σταθερά K και την εξίσωση του Meeh και την τιμή της ολικής επιφάνειας σώματος (OEΣ_{μετρημένη}) που υπολογίζεται από την πλανιμετρία: Απόκλιση = [(OEΣ_{υπολογισμένη}-OEΣ_{μετρημένη})/OEΣ_{μετρημένη}]. Οι τιμές της σταθεράς K που χρησιμοποιήθηκαν είναι: 9.83 (παρούσα μελέτη), 9.93 (Hill και Hill), 9.46 (Gilpin) 9.13 (Rubner), 10.38 (Quiring), 11.36 (Mitchell and Carmen), και K1=1.22, K2=17.37 (Hosnuler και Babuccu). *Στατιστικά σημαντική διαφορά από τα δεδομένα της πλανιμετρίας. Τα δεδομένα εκφράζονται ως μέσοi όροι ± τ.α.



Γράφημα 10: Η επίδραση του βάρους σώματος στην απόκλιση μεταξύ της μετρημένης με το πλανίμετρο και της υπολογισμένης επιφάνειας σώματος (στην εξίσωση του Meeh υπολογίζουμε την ΟΕΣ με τη χρήση της σταθεράς K της παρούσης μελέτης και του βάρους των επίμωων από 195 -240 g ανά 5 g). Παρατηρούμε ότι όσο αυξάνεται το βάρος των ζώων, αυξάνεται και η απόκλιση της εξίσωσης από τις πραγματικές μετρήσεις με το πλανίμετρο.

5. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Στην παρούσα διατριβή πραγματοποιήθηκε μελέτη της επίδρασης τεσσάρων συμπλόκων αργύρου στη διαδικασία επούλωσης μετά από εφαρμογή τους σε εγκαύματα ολικού πάχους δέρματος σε επίμυες Wistar. Τα σύμπλοκα αργύρου (Σ1 και Σ2) που περιέχουν χλωρίδιο, ήταν τα πιο αποτελεσματικά, όσον αφορά τη μείωση του μεγέθους της εγκαυματικής πληγής. Το σύμπλοκο αργύρου Σ1 (ένωση χλωριούχου αργύρου με φωσφίνη και με το ετεροκυκλικό θειοαμίδιο CMBZT), παρουσίασε ισχυρή αντιφλεγμονώδη δράση και ο λόγος πιθανά είναι το αποτέλεσμα της συνέργειας των υποκαταστατών, του χλωριδίου, του θειοαμιδίου και της φωσφίνης (Kyros L. et al, 2010). Τα αποτελέσματα που προκύπτουν από την μακροσκοπική, πλανιμετρική και ιστολογική εκτίμηση, συνηγορούν σε αυτό το συμπέρασμα. Ειδικότερα, την 21^η μετεγκαυματική ημέρα παρατηρήθηκε μείωση του μεγέθους της επιφάνειας του εγκαύματος και στα 6 ζώα της ΟΣ1 (υποομάδα ζώων που τοποθετήθηκε στην επιφάνεια του εγκαύματος το διάλυμα του Σ1. Οι μετρήσεις με το πλανίμετρο έδειξαν 51% μείωση του μεγέθους της επιφάνειας του εγκαύματος την 21^η μετεγκαυματική ημέρα, συγκριτικά με την ημέρα πρόκλησης του εγκαύματος στα ζώα, γεγονός που αποδεικνύει την αποτελεσματικότερη επουλωτική δράση του διαλύματος του Σ1, σε σύγκριση με τα άλλα σύμπλοκα του αργύρου που μελετήθηκαν. Τέλος τα αποτελέσματα από την ιστολογική εκτίμηση τεμαχίων που ελήφθησαν από της εγκαυματικές πληγές των ζώων που θεραπεύτηκαν με τα σύμπλοκα Σ1, Σ2 και Σ4 (σύμπλοκα αργύρου), δείχνουν ότι τα φλεγμονώδη κύτταρα δεν είναι πλέον ορατά και ότι ο κοκκιώδης ιστός είναι πλέον ώριμος (στάδιο 4). Ο κοκκιώδης ιστός ήταν περισσότερο ώριμος στα ζώα των υποομάδων της ΟΣ1 και ΟΣ2 (υποομάδες ζώων που τοποθετήθηκαν στην εγκαυματική τους πληγή τα διαλύματα σύμπλοκων αργύρου Σ1 και Σ2 αντίστοιχα), σε σύγκριση με τις τομές των ΟΣ4 και ΟΣ3 (υποομάδες ζώων που

τοποθετήθηκαν στην εγκαυματική τους πληγή τα διαλύματα σύμπλοκων αργύρου Σ4 και Σ3 αντίστοιχα), ενώ στις τομές των ζώων της υποομάδας της ΟΣ3 αναδείχθηκε μεγάλη κεντρική περιοχή με κύτταρα οξείας φλεγμονής, μεγαλύτερη από αυτή των ΟΕ και ΟΔ (υποομάδα ζώων ελέγχου και υποομάδα ζώων που τοποθετήθηκε στην εγκαυματική της πληγή ο διαλύτης αντίστοιχα).

Μετά την 12^η μετεγχευματική ημέρα, όταν η εγκαυματική εσχάρα αρχίζει να αποκολλάται και αποκαλύπτεται η εγκαυματική πληγή υποκείμενα της εσχάρας, αξίζει να αναφερθεί ότι το πραγματικό μέγεθος της πληγής, σε πολλά ζώα ήταν μικρότερο από το μέγεθος της εγκαυματικής εσχάρας. Αυτή η μακροσκοπική παρατήρηση έδειξε ότι η διαδικασία της επούλωσης υποκείμενα της εσχάρας ήταν ταχύτερη στις υποομάδες ζώων της ΟΣ1 και ΟΣ2, αν και το μέγεθος της εσχάρας ήταν μεγάλο. Τα περισσότερα ακριβή αποτελέσματα από την πλανιμετρία και την ιστολογική εκτίμηση σημειώθηκαν μετά την αποκόλληση της εγκαυματικής εσχάρας (γεγονός που εντοπίζεται μετά την δωδέκατη μετεγχευματική ημέρα). Στην 31^η μετεγχευματική ημέρα η διαδικασία της επούλωσης είχε ολοκληρωθεί σε όλες σχεδόν τις υποομάδες ζώων και δεν ήταν δυνατή η πλανιμετρία.

Στην παρούσα μελέτη τα διαλύματα των σύμπλοκων του αργύρου τοποθετούνταν επάνω στην εγκαυματική πληγή με επάλειψη. Η τοπική εφαρμογή ουσιών προσφέρει το πλεονέκτημα του άμεσου αποτελέσματος, μειώνοντας τα επίπεδα των ουσιών στη συστηματική κυκλοφορία και αυξάνοντας την τοπική βιοδιαθεσιμότητα των ιστών (Bader 1966). Η συστηματική απορρόφηση των προϊόντων με βάση τον άργυρο που χρησιμοποιούνται στην αντιμετώπιση των πληγών είναι υψηλότερη σε ένα δέρμα που φέρει πληγή, από ότι σε ένα υγιές δέρμα και σχετίζεται με τον περιεχόμενο άργυρο, τον τύπο, τον τρόπο και τη συχνότητα εφαρμογής του προϊόντος (Bolton 2006).

Η Κουερσετίνη παρουσιάζει αντιοξειδωτική δράση και η Αδενοσίνη παρουσιάζει αγγειογεννητική δράση και είναι ρυθμιστής της φλεγμονής (Katsarou *et al.* 2000;

Cronstein *et al.* 1983-1992). Στην παρούσα μελέτη οι δύο αυτές ουσίες εξετάστηκαν ως προς την ικανότητα επούλωσης εγκαύματος ολικού πάχους δέρματος σε επίμυες Wistar. Από τις δύο ουσίες, η Κουερσετίνη ανέδειξε καλύτερη επουλωτική δράση και τα ευρήματα από την μακροσκοπική, πλανιμετρική και ιστολογική εκτίμηση οδηγούν σε αυτό το συμπέρασμα. Την 21^η μετεγκαυματική ημέρα παρατηρήθηκε μείωση της εγκαυματικής πληγής σε 4 από τα 6 ζώα της υποομάδας ζώων που τοποθετήθηκε στην εγκαυματική τους πληγή ως τοπική θεραπεία η Κουερσετίνη (υποομάδα ζώων της OK), και σε αυτή τη συγκεκριμένη υποομάδα ζώων, μόνο ένα ζώο παρουσίασε ορατή φλεγμονή με πύον (σε σύγκριση με αντίστοιχα 2 ζώα της υποομάδας ζώων που τοποθετήθηκε στην εγκαυματική της πληγή ως τοπική θεραπεία η Αδενοσίνη (υποομάδα ζώων της OA), ενώ δεν παρατηρήθηκε καμιά άλλη παράμετρος, όπως αιμορραγία, συγκέντρωση ορώδους υγρού υποκείμενα της εσχάρας (σε σύγκριση με την υποομάδα ελέγχου (υποομάδα ζώων της OE) και την υποομάδα των ζώων που τοποθετήθηκε στην εγκαυματική της πληγή ο διαλύτης (υποομάδα ζώων της OD). Οι μετρήσεις με το πλανίμετρο έδειξαν 25% μείωση του μεγέθους της εγκαυματικής πληγής στα ζώα της OK, την 21^η μετεγκαυματική ημέρα, συγκριτικά με την ημέρα πρόκλησης του εγκαύματος (HE), γεγονός που αποδεικνύει την αποτελεσματικότερη επουλωτική δράση της Κουερσετίνης σε σύγκριση με τον ρυθμό επούλωσης που παρατηρείται στις υπόλοιπες υποομάδες. Τέλος, η ιστολογική εκτίμηση συνιστά ότι στις υποομάδες ζώων που τοποθετήθηκε στην εγκαυματική τους πληγή η Κουερσετίνη (OK), και στις υποομάδες ζώων που τοποθετήθηκε στην εγκαυματική τους πληγή η Αδενοσίνη (OA), δεν παρατηρούνται πλέον φλεγμονώδη κύτταρα και ότι ο κοκκιώδης ιστός ήταν πλέον ώριμος (όνιμο στάδιο 3).

Μετά την 12^η μετεγκαυματική ημέρα, όταν η εγκαυματική εσχάρα αρχίζει να αποκολλάται και αποκαλύπτεται η εγκαυματική πληγή υποκείμενα της εσχάρας, αξίζει να αναφερθεί ότι το πραγματικό μέγεθος της πληγής, σε πολλά ζώα ήταν μικρότερο από το

μέγεθος της εγκαυματικής εσχάρας. Αυτή η μακροσκοπική παρατήρηση έδειξε ότι η διαδικασία της επούλωσης υποκείμενα της εσχάρας ήταν ταχύτερη της υποομάδες ζώων της OK και OA, αν και το μέγεθος της εσχάρας ήταν μεγάλο. Τα περισσότερα ακριβή αποτελέσματα από την πλανιμετρία και την μικροσκοπική παρατήρηση σημειώθηκαν μετά την αποκόλληση της εγκαυματικής εσχάρας. Στην 31^η μετεγκαυματική ημέρα η διαδικασία της επούλωσης είχε ολοκληρωθεί σε όλες σχεδόν τις ομάδες ζώων και δεν ήταν δυνατή η πλανιμετρία.

Έχουν ανακοινωθεί πολλές μελέτες σχετικά με την αντιφλεγμονώδη και αντιμικροβιακή δράση του αργύρου. Ειδικότερα έχει βρεθεί ότι σύμπλοκα του αργύρου παρουσιάζουν δράση έναντι των μυκήτων, έρπη, τρεπονήματος (Berners-Price *et al.* 1988). Το σύμπλοκο του αργύρου με το μερκαπτονικοτινικό οξύ (S4) έχει βρεθεί ότι αναστέλλει την αντίστροφη τρανσκριπτάση στην αντιγραφή του ιού της επίκτητης ανοσολογικής ανεπάρκειας του ανθρώπου (HIV-RT), με υπολογίσιμη συγκέντρωση αναστολής (Zachariadis *et al.* 2003). Τα σύμπλοκα αργύρου με νικοτινικούς υποκαταστάτες (συνδέσμους), παρουσίασαν σημαντική δράση έναντι της *Ps. Aeruginosa*, *S. Aureus*, *S. Pyogenes*, *P. mirabilis*, που είχαν απομονωθεί κλινικά από διαβητικά έλκη των κάτω άκρων. Τα συγκεκριμένα βακτηρίδια που ελέγχθηκαν ήταν ανθεκτικά σε τουλάχιστο 10 ευρέως χρησιμοποιούμενα αντιβιοτικά που χορηγούνται σε περιπτώσεις διαβητικού έλκους (Abu-Youssef *et al.* 2007). Η αντιμικροβιακή δράση του αργύρου που χορηγήθηκε μέσω ιοντοφόρησης, επιβεβαιώθηκε σε ζώα που έφεραν μολύνσεις σε εγκαυματικές πληγές από θανατηφόρα στελέχη *Ps. Aeruginosa*, και *P. Mirabilis* (Chu *et al.* 2005). Διάφορα σύμπλοκα του αργύρου έχουν δημοσιευτεί ότι αναδεικνύουν αντιμικροβιακή δράση έναντι της *E. coli* (Li *et al.* 2010), ενώ σύμπλοκα του αργύρου με θειομαλικό οξύ, θειοσαλκυλικό οξύ και 2-μερκαπτονικοτινικό οξύ παρουσίασαν αξιοσημείωτη αντιμικροβιακή δράση έναντι βακτηρίων και μυκήτων (Hanif *et al.* 2008;

Yang *et al.* 2007). Το σύμπλοκο αργύρου $\text{Ag}(\text{depe})_2\text{NO}$ παρουσίασε ανάλογη δράση με την fungizone (Amphotericin B) έναντι τριών σειρών της *C. Albicans* (Berners-Price *et al.* 1988).

Τα σύμπλοκα του αργύρου έχουν χρησιμοποιηθεί ως χημειοθεραπευτικοί παράγοντες έναντι συγκεκριμένων καρκινικών σειρών. Η χημειοθεραπευτική δράση των συμπλόκων κουμαρίνης με βάση τον άργυρο καθορίστηκε σε δύο ανθρώπινους καρκινικούς τύπους κυττάρων, A-498 (αδενοκαρκίνωμα νεφρών, human kidney adenocarcinoma), και Hep-G2 (ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα, human hepatocellular carcinoma) καθώς και σε δύο ανθρώπινους μη καρκινικούς τύπους κυττάρων, CHANG (ανθρώπινων ηπατικών, human hepatic) και HK-2 (ανθρώπινων των εγγύς σωληναρίων, human proximal tubular). Βρέθηκε ότι παρουσίασαν την ίδια ικανότητα μείωσης της βιωσιμότητας των καρκινικών κυττάρων που παρουσιάζουν συγγένεια με τα φυσιολογικά κύτταρα, ενώ στην ίδια μελέτη, το AgClO_4 ήταν το λιγότερο κυτταροτοξικό από όλα τα σύμπλοκα (Thati *et al.* 2007). Σε μια άλλη μελέτη που χρησιμοποιεί ανθρώπινες καρκινικές σειρές, συνιστάται ότι η εφαρμογή του συμπλόκου αργύρου $\text{Ag}(\text{pendione})_2\text{ClO}_4$, ίσως είναι ικανή να δράσει ως αρκετά αποτελεσματική αντικαρκινική θεραπεία (Deegan *et al.* 2006).

Από τα αποτελέσματα της παρούσης μελέτης ήταν προφανές ότι η επουλωτική διεργασία πραγματοποιούνταν από την περιφέρεια της το κέντρο της εγκαυματικής πληγής. Την 17^η μετεγκαυματική ημέρα στο 30.5% των ζώων της μελέτης, παρατηρήθηκε ανάπτυξη τριχώματος επάνω στην εγκαυματική εσχάρα. Αυτό το φαινόμενο της ανάπτυξης τριχώματος επάνω στην εγκαυματική εσχάρα, δεν παρουσιάζεται σε ανθρώπους που φέρουν έγκαυμα ολικού πάχους δέρματος και το συγκεκριμένο φαινόμενο ίσως στηρίζεται στην λειτουργία των βλαστοκυττάρων (stem cells) του τριχικού θυλάκου και από τα γενικά κριτήρια που αφορούν τα επιδερμικά βλαστοκύτταρα (Lavker and Sun 2000). Μετά την 40^η μετεγκαυματική ημέρα, παρατηρήθηκε ανάπτυξη τριχώματος στο

100% των ζώων, χωρίς να διακρίνεται μακροσκοπικά κανένα ίχνος της εγκαυματικής πληγής.

Τα βλαστοκύτταρα (stem cells) των θυλάκων των τριχών εδράζονται σε μια περιοχή του τριχικού θύλακα που ονομάζεται «bulge» (κοίλωμα, βολβός) (Cotsarelis *et al.* 1990). Έχει καθιερωθεί ότι τα κερατινοκύτταρα του απώτερου θύλακα μεταναστεύουν στην επιδερμίδα του ποντικού ως απόκριση σε μια διατιτρώσα πληγή. Φαίνεται λοιπόν ότι αυτά τα βλαστοκύτταρα, συμβάλλουν στην ανάπτυξη όχι μόνο του τριχώματος αλλά και στην δημιουργία δέρματος σε ποντικούς (Taylor *et al.* 2000 ; Morris *et al.* 2004). Με δεδομένο ότι υπάρχουν διαφορές στη δομή των τριχικών θυλάκων και της επιδερμίδας μεταξύ ανθρώπων και ποντικών, π.χ. σχετικά με την ύπαρξη κοιλώματος (βολβού, bulge) πρέπει να είμαστε προσεκτικοί όταν προχωράμε σε πειραματικούς συσχετισμούς μεταξύ τρωκτικών και ανθρώπων (Barther and Aberdam 2005).

Η φυσιολογική διαδικασία της διαφοροποίησης των κερατινοκυττάρων είναι μια πολύ σημαντική βιολογική διαδικασία, η οποία δημιουργεί ένα φράγμα μεταξύ του οργανισμού και του περιβάλλοντος. Το ακατάπαυστο αυτό πρόγραμμα της ανανέωσης επηρεάζεται όταν εμφανιστεί μια βλάβη. Τα κερατινοκύτταρα αντιπροσωπεύουν την «πρώτη γραμμή άμυνας» προς το εξωτερικό περιβάλλον, αποτελώντας έτσι τα κύτταρα που αποκρίνονται πρώτα στη βλάβη. Μετά από μια βλάβη τα κερατινοκύτταρα γίνονται ενεργά. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα την έκκριση διαφόρων κυτοκινών και αυξητικών παραγόντων και την ταυτόχρονη απόκριση των κερατινοκυττάρων σε αυτές της ουσίες. Αυτού του είδους οι αποκρίσεις μεταβάλλουν το φαινότυπο του κερατινοκυττάρου από βασικό/διαφοροποιημένο σε αυτό που γενικά ονομάζεται «ενεργό κερατινοκύτταρο» (Tomic-Canic *et al.* 1998).

Ένας από τους δείκτες των ενεργοποιημένων επιδερμικών κερατινοκυττάρων είναι η έκφραση των κερατινών K_6 και K_{16} . Η K_6 ενεργοποιείται από κυτοκίνες και αυξητικούς

παράγοντες όπως οι IL-1, EGF και TNF- α (Jiang *et al.* 1993 ; Komine *et al.* 2000-2001). Φαίνεται ότι οι αλλαγές του κυτταροσκελετού που συμπεριλαμβάνουν την έκφραση των K₆ και K₁₆ νηματίων, εξασφαλίζουν πλαστικότητα και ευλυγισία, ενώ διατηρούν την ελαστικότητα του ενδοκυττάριου πλέγματος, το οποίο είναι σημαντικό για τη μετανάστευση των κερατινοκυττάρων (Coulombe 1997; Wong and Coulombe 2003). Όταν ο κύκλος ενεργοποίησης ολοκληρωθεί, τα κερατινοκύτταρα γίνονται ανενεργά και επανέρχονται στη φυσιολογική διαδικασία της διαφοροποίησης.

Τα κερατινοκύτταρα που μεταναστεύουν παράγουν ένα σύνολο μεμβρανικών μορίων, την βιτρονεκτίνη, υποδοχείς φμπρονεκτίνης, ιντεγκρίνη $\alpha 5 \beta 1$ και αντικαθιστούν τον υποδοχέα κολλαγόνου, τα οποία δίνουν την δυνατότητα μετανάστευσης στα κερατινοκύτταρα (Cavani *et al.* 1993). Πολλοί αυξητικοί παράγοντες ενεργοποιούνται κατά την επούλωση πληγών, όπως οι EGF, KGF και TGF- β , οι οποίοι είναι πιθανοί ρυθμιστές της διαδικασίας (Morrasso and Tomic-Canic 2005; Anrahan and Klagsburn 1996).

Ο αυξητικός παράγοντας β FGF ίσως επηρεάζει τον πολλαπλασιασμό, διαφοροποίηση και μετανάστευση των αναγεννηθέντων κερατινοκυττάρων καθώς και τη «στρατολόγηση» φλεγμονωδών κυττάρων, όπως επίσης και τη νεοαγγείωση στον κοκκιώδη ιστό κατά τη φάση της επούλωσης. Τα μακροφάγα ίσως συνεισφέρουν στην επούλωση πληγών της επιδερμίδας παράγοντας τον αυξητικό παράγοντα β FGF όχι μόνο κατά τη φάση της φλεγμονής και του πολλαπλασιασμού, αλλά και κατά τη φάση ανασυγκρότησης (Kibe *et al.* 2000).

Στους ανθρώπους, πολλά από τα γονίδια που είναι υπεύθυνα για την έκφραση των κερατινοκυττάρων, είναι στενά συνδεδεμένα στο σύστημα επιδερμικής διαφοροποίησης (epidermal differentiation complex, EDC), μια περιοχή 2,5 Mbp εντοπισμένη στο χρωμόσωμα 1q 21 (Volz *et al.* 1993). Στα ποντίκια η αντίστοιχη περιοχή βρίσκεται στο

χρωμόσωμα 3. Προσφάτως ένα δεύτερο κλάσμα επιδερμικών ειδικών γονιδίων περιγράφηκε στο ανθρώπινο χρωμόσωμα 19q13.12 και στο χρωμόσωμα 7 στα ποντίκια (Moffat *et al.* 2004).

Η διαδικασία επούλωσης ενός τραύματος μπορεί να κατηγοριοποιηθεί σε τρεις κυρίαρχες φάσεις: την φλεγμονώδη φάση, τη φάση του κυτταρικού πολλαπλασιασμού και τη φάση της επιδιόρθωσης (Altavilla *et al.* 2005). Πολλές μελέτες, λόγω του ότι δεν υπάρχουν πολλά δεδομένα σχετικά με την μελέτη της προοδευτικής επούλωσης των εγκαυμάτων (Singer *et al.* 2000), χρησιμοποιούν την ιστολογική εκτίμηση της επούλωσης τραυμάτων με ορισμένες τροποποιήσεις (Ross and Benditt 1961; Bayat *et al.* 2006; Schlager *et al.* 2000).

Η βλάβη καταστρέφει τα αιμοφόρα αγγεία προκαλώντας την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων και την έναρξη του «καταρράκτη της πήξεως». Τα κοκκιοκύτταρα τα οποία διηθούν την πληγή κατά της πρώτες 24 ώρες, καταστρέφουν τους εισβάλλοντες μικροοργανισμούς και μετακινούν υπολείμματα κυττάρων και στρώματος (Young and Dyson 1990). Η διήθηση από τα ουδετερόφιλα μειώνεται καθώς αυξάνεται η διήθηση από τα μονοκύτταρα. Κατά τη μετανάστευση προς την περιοχή της πληγής, τα μονοκύτταρα υφίστανται φαινοτυπικές αλλαγές για να μετατραπούν σε μακροφάγα. Αυτά τα μακροφάγα συνεχίζουν να καταστρέφουν βακτήρια όπως και να καθαρίζουν την πληγή. Επιπλέον ελευθερώνουν αυξητικούς παράγοντες όπως αυξητικό παράγοντα των ανθρώπινων αιμοπεταλίων (platelet derived growth factor, PDGF) και αυξητικό παράγοντα του αγγειακού ενδοθηλίου (vascular endothelial growth factor, VEGF), οι οποίοι δίνουν το έναυσμα για τη δημιουργία κοκκιώδους ιστού. Έτσι η φυσιολογική διαδικασία της επούλωσης της πληγής συνεπάγεται την ανάπτυξη μιας πλούσιας φλεγμονώδους αντίδρασης (Altavilla *et al.* 2005).

Η παράταση της φλεγμονώδους φάσης έχει καταστροφικές συνέπειες για την εξέλιξη της επούλωσης της πληγής. Η επούλωση πληγής που οφείλεται σε θερμικό αίτιο καθυστερεί στη φάση της φλεγμονής. Η παθοφυσιολογία των εγκαυμάτων χαρακτηρίζεται από εκτεταμένες φλεγμονώδεις αντιδράσεις, που οδηγούν σε ταχύτατη δημιουργία οιδήματος, επιπρόσθετη νέκρωση ιστών και καθυστέρηση της επούλωσης της πληγής. Πολλοί αυξητικοί παράγοντες και μεσολαβητές μπορεί να εξασθενίζουν από την οξειδωτική βλάβη που προκαλείται από το θερμικό έγκαυμα, όπως ο αυξητικός παράγοντας του ενδοθηλίου των αγγείων VEGF (vascular endothelial growth factor, VEGF), και το μονοξείδιο του αζώτου (nitric oxide, NO), τα οποία συμμετέχουν στο να προκαλέσουν μια ρυθμιζόμενη και ελεγχόμενη αγγειογένεση (Becker *et al.* 1993; Gamelli *et al.* 1995; Akcay *et al.* 2000).

Αμέσως μετά το θερμικό έγκαυμα, τα πολυμορφοπύρρηνα ουδετερόφιλα λευκοκύτταρα (PMNs) εισβάλλουν στην περιοχή, προκαλώντας την απελευθέρωση μεγάλων ποσοτήτων ελευθέρων ριζών οξυγόνου και πρωτεασών στο διάμεσο υγρό γεγονός που προκαλεί καταστροφή του ενδοθηλίου των αγγείων και του δέρματος (Fried *et al.* 1989; Sabeih *et al.* 1998). Οι ρίζες οξυγόνου είναι ανάμεσα στους μεταβολίτες που συμμετέχουν σε ένα αριθμό παθοφυσιολογικών διαδικασιών, όπως είναι η αυξημένη τριχοειδική διαπερατότητα, προκαλώντας τη δημιουργία οιδήματος στη ζώνη στάσεως (Lund *et al.* 1992; Zawcki 1974). Είναι ευρέως γνωστό ότι και το τοπικό και το γενικευμένο οίδημα μετά από εγκαυματική βλάβη εμφανίζεται κυρίως λόγω της αύξησης της αγγειακής διαπερατότητας από ότι λόγω της στάσης. Η αύξηση του ρυθμού δημιουργίας ελευθέρων ριζών οδηγεί σε λιπιδιακή υπεροξειδωση και κυτταρικές βλάβες (Latha *et al.* 1998). Η υπερπαραγωγή ελευθέρων ριζών και πρωτεασών εμποδίζει την παραγωγή και απελευθέρωση των αυξητικών παραγόντων από τα μακροφάγα και τα κερατινοκύτταρα

και αυτή η βλάβη καθυστερεί την επούλωση του δέρματος (Altavilla *et al* 2005; Rose and Herndon 1997).

Οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου και τα λιπιδιακά υπεροξειδία παράγονται από μια αλυσιδωτή αντίδραση δημιουργίας ελευθέρων ριζών, η οποία μπορεί της να αρχίσει από τις ελεύθερες ρίζες οξυγόνου. Οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου π.χ. απλό οξυγόνο, ανιόν υπεροξειδικής ρίζας, υπερωδροξυλική ρίζα, συνεισφέρουν στην βλάβη των ιστών και στη φλεγμονή και επιπλέον προκαλούν βλάβη αντιδρώντας με βιομόρια όπως λιπίδια, πρωτεΐνες και νουκλεϊκά οξέα, όπως επίσης εξαντλώντας ενδογενή ενζυμικά ή μη ενζυμικά αντιοξειδωτικά στο δέρμα. Από την άλλη πλευρά τα ενδοκυτταρικά ένζυμα όπως υπεροξειδική δισμουτάση (SOD) και υπεροξειδάση της γλουταθειόνης (GSH-px) προστατεύουν έναντι των ελευθέρων ριζών οξυγόνου. Η συγκέντρωση της υπεροξειδικής δισμουτάσης (SOD) που αποτοξινώνει ρίζες οξυγόνου είναι μειωμένη μετά από ένα θερμικό έγκαυμα (Bakayona *et al.* 1996). Η υπεροξειδική δισμουτάση (SOD) είναι «εκκαθαριστής» των ανιόντων υπεροξειδίου και η καταλάση αποτοξινώνει το H_2O_2 σε H_2O και O_2 (Khodr and Khalil 2001).

Λιπιαδικά υπεροξειδία όπως η μαλονυλοδιαλδεύδη (malonyldaldehyde, MDA) ένα ενδιάμεσο προϊόν της υπεροξειδωσης των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων, αυξάνονται στο θερμικό έγκαυμα, ελευθερώνονται στο πλάσμα και διαχέονται σε κάποια όργανα προκαλώντας βλάβη και έπειτα παγιδεύονται στο ήπαρ όπου και καταστρέφονται (Nazioglou *et al.* 2003).

Οι ανωμαλίες στη μικροκυκλοφορία και η προοδευτική υποξία που ακολουθούν μετά από θερμικό έγκαυμα του δέρματος είναι στενά συνδεδεμένες με μεταβολές στην ικανότητα ροής των ερυθρών αιμοσφαιρίων (RBC) και τη δράση της λιπιδιακής υπεροξειδωσης. Η υπεροξειδιακή βλάβη της μεμβράνης μπορεί να εμποδίσει την ικανότητα παραμόρφωσης και το χρόνο ζωής αυτών των κυττάρων του αίματος στη

μικροκυκλοφορία. Μετά από θερμικό έγκαυμα έχει παρατηρηθεί μειωμένη ικανότητα φιλτραρίσματος των RBC και αύξηση της λιπιδιακής υπεροξειδωσης κατά τα πρώιμα στάδια. Σε μελέτες φαίνεται ότι το ποσό της μαλονυλοδιαλδεύδης (MDA) αυξάνεται στο πλάσμα και στα RBC (Bakyarova *et al.* 1996).

Η Κουερσετίνη είναι ένα από τα πιο διαδεδομένα φλαβονοειδή που ανευρίσκονται σε φυτά και λαχανικά. Είναι γνωστό ότι αναστέλλει τη δημιουργία ελευθέρων ριζών και έτσι προστατεύει κυτταρικούς πληθυσμούς του δέρματος όπως ινοβλάστες, κερατινοκύτταρα και ενδοθηλιακά κύτταρα από την οξειδωτική βλάβη που προκαλείται από την εξάντληση των αποθεμάτων γλουταθειόνης των κυττάρων (Katsarou *et al.* 2000). Από την άλλη πλευρά, τα προϊόντα της λιπιδιακής υπεροξειδωσης είναι τοξικά για το δέρμα και μπορεί να προκαλέσουν υπερκεράτωση, δυσκεράτωση, οίδημα ενδοεπιδερμικά και σπογγίωση. Ο πολύ σπουδαίος ρόλος της Κουερσετίνης έναντι της δημιουργίας ελευθέρων ριζών οφείλεται στα εξής: i) Η Κουερσετίνη αλληλεπιδρά με το ανιόν υπεροξειδίου και αναστέλλει το σχηματισμό ριζών υδροξυλίου, ii) δεσμεύοντας ιόντα σιδήρου, iii) αλληλεπιδρώντας με ρίζες λιπιδιακών υπεροξειδίων και έτσι προλαμβάνει τη λιπιδιακή υπεροξειδωση (Katsarou *et al.* 2000). Η πανταχού παρούσα Κουερσετίνη συνδέεται *in vivo* αποδίδοντας μεταβολίτες με αντιοξειδωτικές ιδιότητες (Morand *et al.* 1998). Μελέτες που πραγματοποιήθηκαν κατόπιν διαιτητικής πρόσληψης Κουερσετίνης σε ποντικούς, έδειξαν ότι η Κουερσετίνη και οι μεταβολίτες της διανέμονταν ευρέως της ιστούς των ποντικών, ενώ οι υψηλότερες συγκεντρώσεις παρατηρήθηκαν της πνεύμονες και οι χαμηλότερες στον εγκέφαλο, στο λευκό λίπος και στο σπλήνα (De Boer *et al.* 2005). Η χορήγηση από το στόμα της Κουερσετίνης σε ποντικούς 30 min προ της χειρουργικής επέμβασης, μείωσε σημαντικά το διάστημα ισχαιμίας/ επαναφοράς της αιματικής κυκλοφορίας που προκαλεί βλάβη του γαστρικού βλεννογόνου (Mojzis *et al.* 2001). Η Κουερσετίνη έχει προταθεί ως αντιφλεγμονώδης, αντιαθηρωματικός και αντιυπερτασικός παράγοντας, που σημαίνει ότι

παρουσιάζει πολύ καλά αποτελέσματα στην αντιμετώπιση καρδιαγγειακών νοσημάτων (Ishizawa *et al.* 2009). Παρουσιάζει προστατευτική δράση σε κύτταρα του μυοκαρδίου σε ποντίκια, κατόπιν υποξίας (Hu *et al.* 2007).

Έχουν γίνει μελέτες για την αντικαρκινική δράση της Κουερσετίνης και μελέτες σε ζώα με καρκινογέννεση, έχουν αναδείξει αμφιλεγόμενα αποτελέσματα σχετικά με την προστατευτική δράση της, έναντι του καρκίνου (Lambert *et al.* 2005). Η ενσωματωμένη Κουερσετίνη στο κολλαγόνο της μεσοκυττάριας ουσίας, ανέδειξε καλύτερη επούλωση δερματικών πληγών σε ποντικούς σε σχέση με τα ζώα ελέγχου και τα ζώα που θεραπεύτηκαν με κολλαγόνο (Gomanthi *et al.* 2003). Το επουλωτικό αποτέλεσμα της Κουερσετίνης ελέγχθηκε σε ζώα και ασθενείς με φλεγμονώδεις νόσους και διαπηθείσες βλάβες στη γνάθο και στον τράχηλο και σημειώθηκε η αντιφλεγμονώδης δράση της (Timofeev *et al.* 1989). Η πλεονεκτική δράση της σε περιπτώσεις οξειδωτικής βλάβης που προκαλείται από UVA, αποκαλύφθηκε κατόπιν ενδοπεριτοναϊκής χορήγησής της Κουερσετίνης σε ποντίκια (50 mg/kg βάρους σώματος) (Erden Inal *et al.* 2001).

Η Αδενοσίνη είναι ένα νουκλεοτίδιο με διάχυτη παρουσία στον οργανισμό και με εκλεκτικά σημεία δράσης (πουρινεργικοί υποδοχείς). Δημιουργείται από τον καταβολισμό του ATP και παίζει σημαντικό ρόλο στην αγγειοδιαστολή των στεφανιαίων αγγείων ως απόκριση στην ισχαιμία. Οι συγκεντρώσεις της Αδενοσίνης αυξάνονται κατά τη διάρκεια της ισχαιμίας ως αποτέλεσμα της αξιοποίησης του ATP. Η ενεργοποίηση των A_{2A} υποδοχέων είναι απαραίτητη για τον ομοιόμορφο σχηματισμό του κοκκιώδους ιστού και της επαναγγείωσης. Οι αγωνιστές των υποδοχέων της Αδενοσίνης που δρουν τοπικά, προάγουν την επούλωση πληγών σε υγιείς και διαβητικούς ποντικούς (Montesinos *et al.* 2002). Επιπλέον βρέθηκε ότι η τοπική εφαρμογή του αγωνιστή CGS-21680 των υποδοχέων της A_{2A} της Αδενοσίνης σε πληγές που δημιουργήθηκαν σε ποντικούς με χειρουργική εκτομή, αύξησαν το ρυθμό επούλωσης των πληγών (Montesinos *et al.* 2002).

Επιτεύχθηκε δε ταχύτερος ρυθμός επούλωσης πληγών σε ποντικούς κατόπιν τοπικής εφαρμογής των αγωνιστών των υποδοχέων Αδενοσίνης A_{2A} , συγκριτικά με τον ανασυνδυσμένο αυξητικό παράγοντα των ανθρώπινων αιμοπεταλίων (Becaplermin gel), ειδικά στα πρώιμα στάδια της επούλωσης πληγών (Victor-Vega *et al.* 2002). Η Αδενοσίνη βρέθηκε επίσης σε υψηλές συγκεντρώσεις στο υγρό εγκαυματικών φυσαλίδων (Shaked *et al.* 2007).

Πολλοί συγγραφείς έχουν υπολογίσει την επιφάνεια σώματος σε ανθρώπους και έχουν προταθεί αρκετοί τύποι για τον προσδιορισμό της επιφάνεια σώματος σε ανθρώπους από τη βιβλιογραφία, οι οποίοι χρησιμοποιούν παραμέτρους όπως το βάρος ή το μήκος (Sivanandam *et al.* 2008; Lee *et al.* 2008; Ahn and Garutto 2000; Wang and Hihara 2004). Το βάρος είναι μια παράμετρος για τον υπολογισμό της επιφάνειας σώματος, το οποίο έχει χρησιμοποιηθεί για τον υπολογισμό της επιφάνειας του περιτόναιου (peritoneal surface area, PSA) (Bredon *et al.* 2008).

Σε ζώα μικρού μεγέθους η ολική επιφάνεια σώματος (ΟΕΣ) υπολογίζεται από την εξίσωση του Meeh ($ΟΕΣ = K \times B^{2/3}$) (Meeh 1879), η οποία χρησιμοποιεί μια παράμετρο που είναι το βάρος του ζώου. Η τιμή της σταθεράς K όμως εξαρτάται και από άλλες παραμέτρους. Στις μελέτες όπου υπολογίζεται η επιφάνεια σώματος σε ποντίκια είναι πολύ δύσκολο να εξασφαλιστεί η ομοιομορφία σε παραμέτρους όπως η ηλικία, το φύλο, το βάρος, το μέγεθος, ικανοποιητικός αριθμός ζώων, το είδος, έτσι ώστε να είναι περισσότερο ακριβής η τιμή της σταθεράς K στην εξίσωση του Meeh (Meeh 1879). Θέμα μείζονος σημασίας είναι η ποικιλία των ζώων, τα οποία ανήκουν στο ίδιο είδος, για παράδειγμα φυσιολογικά, παχύσαρκα, ή ζώα μυώδη. Τα ζώα με μεγάλη μάζα μυών καθώς και τα παχύσαρκα ζώα διαφέρουν σημαντικά από τα ζώα που είναι φυσιολογικά σε μέγεθος και αυτό έχει ως αποτέλεσμα την μεταβολή στην τιμή της σταθεράς K (Cheung *et al.* 2009). Αυτό σημαίνει ότι η τιμή της σταθεράς K για παχύσαρκα ζώα είναι σημαντικά

μικρότερη από αυτή των φυσιολογικών ζώων, καθώς και των ζώων με μεγάλη μυϊκή μάζα. Είναι σαφές ότι θα πρέπει να χρησιμοποιούνται ζώα με ομοιομορφία σε αυτές της παραμέτρους, για να υπολογίσουμε εμπειρικές τιμές της σταθεράς K . Όσον αφορά την ημερήσια διαιτητική πρόσληψη και την ποικιλομορφία ανάμεσα στα βάρη που υπολογίζονται πρωινές ή βραδινές ώρες, η αύξηση στην επιφάνεια σώματος που δημιουργείται από βρώση 40 g τροφής, δεν θα προκαλέσει μεγάλη μεταβολή στην επιφάνεια σώματος, όπως αυτή προβλέπεται από την εξίσωση του Meeh (Gilpin 1996).

Οι διάφορες τιμές της σταθεράς K των ερευνητών που έχουν αναφερθεί στα αποτελέσματα, προκύπτουν κυρίως από το εύρος βάρους των ζώων που χρησιμοποιήθηκαν. Για παράδειγμα οι Mitchell και Carmen (Mitchell and Carmen 1926; Gilpin 1996) αφαίρεσαν το δέρμα από 62 ποντίκια με βάρη που κυμαίνονταν από 25 έως 461 g και η τιμή της K ήταν 11.36. Ο Lee χρησιμοποίησε στη μελέτη του, αφού τους αφαίρεσε το δέρμα 72 ποντίκια, αρσενικά και θηλυκά, τα οποία ζύγιζαν από 19 έως 480 g και η τιμή της K ήταν 9 (Lee 1929; Gilpin 1996).

Κάποιες τιμές της K που ανακοινώθηκαν από της ερευνητές είναι: 9.13 από τον Rubner (Diack 1930; Hosnuler and Babuccu 2003; Gilpin 1996). 9.74 από τον Pfaunder. Δεν αναφέρονται στοιχεία για τα ζώα και τη μέθοδο που εφάρμοσε (Diack 1930). 9.93 από τους Hill και Hill. Χρησιμοποίησαν στη μελέτη τους 5 ποντίκια τα οποία ζύγιζαν από 50 έως 129 g (Hill and Hill 1913). 10 από τους Walker και Mason (Walker and Mason 1968). 7.47 από τον Samuel L. Diack το 1930 που χρησιμοποίησε στη μεθόδό του, 56 φυσιολογικού μεγέθους ποντίκια και 14 ποντίκια με απίσχνανση με μεγάλη απόκλιση στο βάρος και αναλυτική περιγραφή της μεθόδου (Diack 1930). 9.46 από τον D.A. Gilpin το 1996, μια μελέτη με 16 αρσενικά ποντίκια Sprague-Dawley, τα οποία ζύγιζαν 303.8 ± 5.56 g και με αναλυτική περιγραφή της μεθόδου (Gilpin 1996).

Εκτός από την εξίσωση του Meeh (Meeh 1879) που βασίζεται σε μια μεταβλητή (βάρους), σε μια μελέτη το 2003 των Hosnuler και Babuccu σε 35 ποντίκια Sprague-Dawley με βάρους 220-415 g, προτάθηκε μια νέα φόρμουλα για τον υπολογισμό της ολικής επιφάνειας σώματος ΟΕΣ: $OEΣ = (B \times K1 + M \times K2) \div 2$, (όπου B = βάρους σώματος, M = μήκος σώματος, K1 = μέσος όρος της μετρούμενης επιφάνειας (cm²)/μέσος όρος βάρους (g) και K2 = μέσος όρος μετρούμενης επιφάνειας (cm²)/μέσος όρος μήκους (cm) (με K1=1.22 και K2=17.37) (Hosnuler and Babuccu 2003).

Οι διαφορετικές τιμές της σταθεράς K ίσως οφείλονται στο γεγονός ότι το δέρμα που είχε αφαιρεθεί από τα ζώα λαμβάνει την μορφή της επιφάνειας στην οποία τοποθετείται και ο λόγος είναι ότι το δέρμα είναι ένα εξαιρετικά εύκαμπτο και ελαστικό όργανο (Diack 1930). Η μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα μελέτη ελαχιστοποιεί αυτόν τον παράγοντα εφόσον η διαφάνεια όπου αποτυπώνεται η επιφάνεια σώματος δεν μπορεί να αλλάξει σχήμα και μορφή. Ο Gilpin (Gilpin 1996) από την άλλη πλευρά χρησιμοποίησε 16 αρσενικά Sprague-Dawley ποντίκια, με βάρη που κυμαίνονταν από 303±6 g. Αυτή η τιμή της σταθεράς K του Gilpin (K=9.46) υποεκτιμά την ολική επιφάνεια σώματος των ζώων στην παρούσα μελέτη (απόκλιση:-0.03) και η χρήση της σταθεράς K των Rubner (Rubner 1883), οδήγησε σε σημαντική υποεκτίμηση της ΟΕΣ (απόκλιση:-0.07), ενώ των Mitchell και Carmen (Mitchell and Carmen 1926), καθώς και του Quiring (Quiring 1955) την υπερεκτιμά (απόκλιση:+0.16 και +0.6, αντίστοιχα) (Πίνακας 16). Δεν βρέθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ της υπολογισμένης και μετρημένης ΟΕΣ όταν χρησιμοποιήθηκε η σταθερά K των Hill και Hill (Hill and Hill 1913), καθώς και των σταθερών K1 και K2 των Hosnuler και Babuccu (Hosnuler and Babuccu 2003) (απόκλιση: 0.01, τ.α: 0.05, και απόκλιση:0.00, τ.α.:0.05, αντίστοιχα) (Πίνακας 16). Όσο πιο μικρό είναι το εύρος του βάρους των ζώων που χρησιμοποιούνται στη μελέτη, τόσο πιο ακριβής είναι ο υπολογισμός της ολικής επιφάνειας σώματος με εφαρμογή της εξίσωσης του Meeh.

Ο υπολογισμός εμπειρικά της ολικής επιφάνειας σώματος απαιτεί μετρήσεις απ' ευθείας της επιφάνειας σώματος και αφορά τα ακόλουθα: α) κάλυψη (περιτύλιξη) των ζώων με ύφασμα ή χαρτί ή άλλο υλικό β) χρήση του πλανίμετρου γ) ανάλυση της επιφάνειας σώματος σε γεωμετρικά σχήματα δ) αφαίρεση του δέρματος ε) χρήση φωτογραφικών σκιαγραφιών (περιγραμμάτων) και στ) ενσωμάτωση με ένα κύλινδρο γνωστής επιφάνειας (Sneddon *et al* 2003).

Η μέθοδος που εφαρμόστηκε στην παρούσα μελέτη για τον υπολογισμό της ολικής επιφάνειας σώματος δείχνει ότι δεν απαιτείται να θυσιαστούν τα ζώα ούτε να αφαιρεθεί το δέρμα τους. Επιπλέον δεν αφαιρέθηκε ούτε το τρίχωμά τους και για να ελαχιστοποιήσουμε το σφάλμα που προκύπτει από τον συνυπολογισμό του τριχώματος στον υπολογισμό της επιφάνειας σώματος, η πίεση που ασκήθηκε στην στομάχι καθώς αυτός εφάπτεται με τα διάφορα μέρη του σώματος των ζώων ήταν η απαιτούμενη για να θεωρηθεί ότι τα ζώα δεν είχαν τρίχωμα. Αυτή η μέθοδος μπορεί να χρησιμοποιηθεί με επιτυχία για τον υπολογισμό της εγκαυματικής επιφάνειας σε ένα ζωντανό ζώο. Η περιοχή του εγκαύματος μπορεί να σημειωθεί και να αποτυπωθεί σε ένα κομμάτι διαφάνειας A_4 και να μετρηθεί η επιφάνεια του εγκαύματος με ένα πλανίμετρο, ενώ η ολική επιφάνεια σώματος μπορεί να υπολογιστεί με εφαρμογή στον τύπο του Meeh της τιμής της K (9.83) της παρούσας μελέτης. Το ποσοστό της εγκαυματικής πληγής στη μελέτη της επούλωσης εγκαυματος με τοπική εφαρμογή των συμπλόκων Αργύρου, της Κουερσετίνης και της Αδενοσίνης της παρούσας μελέτης δηλαδή επιφάνεια του εγκαύματος $= 4 \text{ cm}^2$ ήταν 1.12% της ολικής επιφάνειας σώματος των επίμυων Wistar υπολογίστηκε με αυτόν τον τρόπο.

Στην μελέτη που αφορά τον υπολογισμό της επιφάνειας σώματος των επίμυων Wistar, έγινε μια προσπάθεια ελαχιστοποίησης των παραγόντων οι οποίοι μπορούν να επηρεάσουν την ακρίβεια της σταθεράς K . Τέτοιοι παράγοντες είναι το φύλο, το μέγεθος, ο τύπος των ζώων, η ηλικία, οι διατροφικές συνήθειες και ο μόνος παράγοντας που παρουσίασε το

μεγαλύτερο εύρος ήταν το βάρος των ζώων, το οποίο ήταν συγκριτικά μικρότερο από τα βάρη ζώων που χρησιμοποίησαν άλλοι ερευνητές. Η τιμή της σταθεράς $K=9.83$ (Πίνακας 15) μπορεί να χρησιμοποιηθεί με ακρίβεια για τον υπολογισμό της ολικής επιφάνειας σώματος σε επίμυες Wistar με βάρος 195-240 g. Η μέθοδος του υπολογισμού της επιφάνειας σώματος είναι τόσο απλή, που μπορεί να εφαρμοστεί σε κάθε ζώο, αρκεί να είναι ακινητοποιημένο (υπό νάρκωση) προ της εφαρμογής οποιουδήποτε πειράματος.

Από τη μελέτη των συμπλόκων αργύρου, φάνηκε ότι τα σύμπλοκα Σ1, Σ2 και Σ4 παρουσίασαν ισχυρή επουλωτική δράση σε εγκαύματα ολικού πάχους δέρματος σε επίμυες Wistar, σύμφωνα με την πλανιμετρική, μακροσκοπική και ιστολογική εκτίμηση. Η τελική σειρά που δείχνει την αντιμικροβιακή δράση των συμπλόκων που μελετήθηκαν και συμπερασματικά την επουλωτική δράση είναι $\Sigma 1 > \Sigma 2 > \Sigma 4 > \Sigma 3$ (Γράφημα 5-Εικόνες 6,7).

Εν κατακλείδι, η Κουερσετίνη και η Αδενοσίνη παρουσίασαν ικανή επουλωτική δράση σε εγκαύματα ολικού πάχους δέρματος σε επίμυες Wistar σύμφωνα με την πλανιμετρική, μακροσκοπική και ιστολογική εκτίμηση. Η Κουερσετίνη σύμφωνα με τα δεδομένα της εικοστής πρώτης μετεγκαυματικής ημέρας, ανέδειξε το καλύτερο επουλωτικό αποτέλεσμα σε σύγκριση με την Αδενοσίνη, επομένως θα πρέπει να προτιμάται ως αντιοξειδωτικός και αντιφλεγμονώδης παράγοντας στην θεραπεία των εγκαυματικών πληγών.

Από τα 4 σύμπλοκα του αργύρου που μελετήθηκαν, την Κουερσετίνη και την Αδενοσίνη (σε σύνολο μελετήθηκαν 6 ενώσεις, ως προς την επουλωτική τους δράση σε εγκαύματα ολικού πάχους δέρματος σε επίμυες Wistar), τον βέλτιστο ρυθμό επούλωσης παρουσίασε η Σ1, $[AgCl(CMBZT)(TPTP)_2(MeOH)]$. Η τελική σειρά που δείχνει την αντιμικροβιακή δράση των συμπλόκων και ουσιών που μελετήθηκαν και συμπερασματικά την επουλωτική δράση είναι $\Sigma 1 > \Sigma 2 > \Sigma 4 > K > A > \Sigma 3$ (όπου Σ1, Σ2, Σ3, Σ4: σύμπλοκα αργύρου της παρούσας μελέτης K: Κουερσετίνη και A: Αδενοσίνη) (Γράφημα 9-Εικόνες: 6,7,8,9). Παρατηρούμε ότι 3 από τα 4 σύμπλοκα του αργύρου ανέδειξαν καλύτερο

επουλωτικό αποτέλεσμα σε σύγκριση με τις ουσίες (Κουερσετίνη και Αδενοσίνη) που μελετήθηκαν και το γεγονός αυτό επιβεβαιώνει για ακόμη μια φορά τον ιδιαίτερο και σημαντικό ρόλο του αργύρου στην θεραπευτική αντιμετώπιση των εγκαυματικών πληγών.

6. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

1. Η επούλωση εγκαυμάτων ολικού πάχους δέρματος σε επίμυες Wistar ολοκληρώθηκε σε 31 ημέρες, στα περισσότερα ζώα της μελέτης.
2. Την 3^η μετεγκαυματική ημέρα παρατηρείται αύξηση του μεγέθους της επιφάνειας του εγκαύματος σε όλες τις ομάδες ζώων που δεχόταν στην εγκαυματική τους πληγή τους παράγοντες που μελετώνται, με παρουσία οιδήματος και άθροιση πολυμορφοπύρηνων που διαπιστώνεται με την ιστολογική εκτίμηση, γεγονός που σημαίνει ότι σε αυτές τις ομάδες ζώων πιθανότατα αρχίζει νωρίτερα η φυσιολογική διαδικασία της επούλωσης της πληγής, η οποία συνεπάγεται την ανάπτυξη μιας πλούσιας φλεγμονώδους αντίδρασης.
3. Η μείωση του μεγέθους της επιφάνειας του εγκαύματος διαπιστώνεται πειραματικά την 21^η μετεγκαυματική ημέρα.
4. Πραγματοποιήθηκε μελέτη της επίδρασης τεσσάρων συμπλόκων αργύρου στη διαδικασία επούλωσης, των $\text{AgCl}(\text{CMBZT})(\text{TPTP})_2(\text{MeOH})$ (Σ1), $[\text{AgCl}(\text{TPTP})_3(0.5 \cdot \text{H}_2\text{O})]$ (Σ2), $[\text{AgI}(\text{TPTP})_3]$ (Σ3) και $\{[\text{Ag}_6(\mu_3\text{-Hmna})_4(\mu_3\text{-mna})_2]^{2-} \cdot [(\text{Et}_3\text{NH})^+]_2(\text{DMSO})_2(\text{H}_2\text{O})\}$ (Σ4). Τα αποτελέσματα της μακροσκοπικής, ιστολογικής και πλανιμετρικής εκτίμησης της μελέτης την 21^η μετεγκαυματική ημέρα έδειξαν ότι η τελική σειρά η οποία αναδεικνύει την αντιφλεγμονώδη δράση των συμπλόκων αργύρου που μελετήθηκαν και ενδεχομένως την επιτάχυνση της διαδικασίας της επούλωσης είναι $\Sigma 1 > \Sigma 2 > \Sigma 4 > \Sigma 3$.
5. Η μελέτη της Κουερσετίνης και της Αδενοσίνης είχε σκοπό να αναδείξει ποια από τις δύο ουσίες προάγει την επούλωση εγκαυμάτων ολικού πάχους

δέρματος σε επίμυες Wistar. Η μείωση του μεγέθους της επιφάνειας του εγκαύματος διαπιστώνεται πειραματικά με αποτελέσματα από την μακροσκοπική, ιστολογική και πλανιμετρική εκτίμησης της μελέτης την 21^η μετεγκαυματική ημέρα. Φαίνεται λοιπόν ότι η Κουερσετίνη επιταχύνει περισσότερο την διαδικασία της επούλωσης σε σχέση με την Αδενοσίνη.

6. Η τελική σειρά που δείχνει την αντιμικροβιακή ή αντιοξειδωτική και αγγειογεννητική δράση των συμπλόκων αργύρου και των άλλων ουσιών που μελετήθηκαν και αντίστοιχα την επουλωτική δράση είναι $\Sigma 1 > \Sigma 2 > \Sigma 4 > K > A > \Sigma 3$ (όπου $\Sigma 1, \Sigma 2, \Sigma 3, \Sigma 4$: σύμπλοκα αργύρου, K: Κουερσετίνη και A: Αδενοσίνη), βάση των αποτελεσμάτων από την μακροσκοπική, ιστολογική και πλανιμετρική εκτίμηση της μελέτης την 21^η μετεγκαυματική ημέρα.
7. Υπολογίστηκε με μια απλή μέθοδο η ολική επιφάνεια σώματος των ζώων (OEΣ) και ο μέσος όρος είναι: $OE\S_{\mu.o} = 356.7 \text{ cm}^2$.
8. Το μέγεθος της εγκαυματικής πληγής αποτελούσε το 1.12% της ολικής επιφάνειας σώματος των ζώων που αξιοποιήθηκαν ως πειραματικά μοντέλα.
9. Από την εξίσωση του Meeh ($OE\S = K \times \text{Βάρους}^{2/3}$) προκύπτει ο μέσος όρος της σταθεράς K ($K_{\mu.o} = 9.83$), η οποία μπορεί να εφαρμόζεται στον υπολογισμό της επιφάνειας σώματος θηλυκών επίμυων Wistar με εύρος βάρους 195-240 g.
10. Όσο αυξάνεται το βάρος των ζώων, αυξάνεται και η απόκλιση της εξίσωσης του Meeh από τις πραγματικές μετρήσεις με το πλανίμετρο.
11. Δεν βρέθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ της υπολογισμένης και μετρημένης OEΣ όταν χρησιμοποιήθηκε η σταθερά $K = 9.83$. Τα ευρήματά μας έδειξαν ότι, δεν υπήρχε στατιστικά σημαντική διαφορά, και η μέση απόκλιση ήταν αμελητέα (απόκλιση: 0.00, τ.α.: 0.05)

7. ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΣΤΗΝ ΕΛΛΗΝΙΚΗ

Επούλωση εγκαυμάτων ολικού πάχους δέρματος σε επίμυες Wistar

Έχουν κατά καιρούς χρησιμοποιηθεί, κατόπιν τοπικής εφαρμογής, πολλοί παράγοντες για να επιταχύνουν την επούλωση εγκαυματικών πληγών. Έχουν προταθεί διάφορα ιόντα μετάλλων, όπως τα ιόντα αργύρου, ως θεραπευτικοί παράγοντες όσον αφορά επούλωση εγκαυματικών πληγών. Στην παρούσα μελέτη, εξετάστηκε η επίδραση τεσσάρων συμπλόκων του αργύρου στη διαδικασία της επούλωσης, σε εγκαύματα ολικού πάχους δέρματος σε επίμυες Wistar, τα οποία ήταν τα εξής: $\text{AgCl}(\text{CMBZT})(\text{TPTP})_2(\text{MeOH})$ (Σ1), $[\text{AgCl}(\text{TPTP})_3(0.5 \cdot \text{H}_2\text{O})]$ (Σ2), $[\text{AgI}(\text{TPTP})_3]$ (Σ3) και $\{[\text{Ag}_6(\mu_3\text{-Hmna})_4(\mu_3\text{-mna})_2]^{2-} \cdot [(\text{Et}_3\text{NH})^+]_2(\text{DMSO})_2(\text{H}_2\text{O})\}$ (Σ4). Χρησιμοποιήθηκαν εκατόν ογδόντα θηλυκοί επίμυες Wistar, οι οποίοι διαιρέθηκαν σε ομάδες: ΟΕ (ομάδα ελέγχου), ΟΔ (ομάδα που τοποθετήθηκε στην εγκαυματική πληγή ο διαλύτης), ΟΣ1, ΟΣ2, ΟΣ3, ΟΣ4 (ομάδες 1, 2, 3, 4, στις οποίες τοποθετήθηκαν στην εγκαυματική τους πληγή τα διαλύματα των συμπλόκων αργύρου Σ1, Σ2, Σ3, Σ4, αντιστοίχως). Τα ζώα διαιρέθηκαν περαιτέρω σε υποομάδες και την 3^η, 6^η, 12^η, 21^η, και 31^η μετεγκαυματική ημέρα πραγματοποιήθηκαν μακροσκοπική, πλανιμετρική και ιστολογική εκτίμηση ως προς την πορεία επούλωσης των εγκαυματικών πληγών. Όλα τα ζώα ανέδειξαν αύξηση του μεγέθους της εγκαυματικής εσχάρας την 3^η, 6^η, και 12^η μετεγκαυματική ημέρα, σε σύγκριση με το μέγεθος της εγκαυματικής εσχάρας την ημέρα πρόκλησης του εγκαύματος (ΗΕ). Τα ζώα που ανήκαν στις ομάδες ελέγχου, στην ομάδα του διαλύτη και στις ομάδες που δέχθηκαν με τοπική εφαρμογή τα διαλύματα των συμπλόκων Σ1, Σ2 και Σ4, ανέδειξαν σημαντική μείωση του μεγέθους της επιφάνειας του εγκαύματος ($p < 0.05$) στην 21^η μετεγκαυματική ημέρα, σε σύγκριση με την ημέρα

πρόκλησης του εγκαύματος (HE). Μόνο τα ζώα που ανήκαν στην ομάδα που δέχθηκε με τοπική εφαρμογή το διάλυμα του Σ3 ανέδειξαν αύξηση του μεγέθους της επιφάνειας του εγκαύματος την 21^η μετεγκαυματική ημέρα. Την 31^η μετεγκαυματική ημέρα η διαδικασία της επούλωσης είχε σχεδόν ολοκληρωθεί σε όλες σχεδόν τις ομάδες ζώων. Η τελική σειρά η οποία αναδεικνύει την αντιφλεγμονώδη δράση των συμπλόκων αργύρου που μελετήθηκαν είναι Σ1>Σ2>Σ4>Σ3.

Η Κουερσετίνη και η Αδενοσίνη είναι παράγοντες αρκετά γνωστοί για την αντιοξειδωτική και αγγειογεννητική δράση τους, αντίστοιχα. Χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα μελέτη εκατόν είκοσι θηλυκοί επίμυες Wistar, οι οποίοι διαιρέθηκαν σε ομάδες: ΟΕ (ομάδα ελέγχου), ΟΔ (ομάδα που τοποθετήθηκε στην εγκαυματική πληγή ο διαλύτης), ΟΚ και ΟΑ (ομάδες ζώων στις οποίες τοποθετήθηκαν στην εγκαυματική τους πληγή το διάλυμα της Κουερσετίνης και της Αδενοσίνης, αντίστοιχα). Περαιτέρω τα ζώα διαιρέθηκαν σε υποομάδες και την 3^η, 6^η, 12^η, 21^η, και 31^η μετεγκαυματική ημέρα πραγματοποιήθηκαν μακροσκοπική, πλανιμετρική και ιστολογική εκτίμηση ως προς την πορεία επούλωσης των εγκαυματικών πληγών. Όλα τα ζώα ανέδειξαν αύξηση του μεγέθους της εγκαυματικής εσχάρας την 3^η, 6^η, και 12^η μετεγκαυματική ημέρα, σε σύγκριση με το μέγεθος της εγκαυματικής εσχάρας την ημέρα πρόκλησης του εγκαύματος (HE). Τα ζώα που ανήκαν στην ομάδα ελέγχου, στην ομάδα του διαλύτη και στις ομάδες που δέχθηκαν με τοπική εφαρμογή τα διαλύματα της Κουερσετίνης και Αδενοσίνης αντίστοιχα, ανέδειξαν σημαντική μείωση του μεγέθους της επιφάνειας του εγκαύματος ($p < 0.05$) στην 21^η μετεγκαυματική ημέρα, με σύγκριση με την ημέρα πρόκλησης του εγκαύματος (HE). Την 31^η μετεγκαυματική ημέρα η διαδικασία της επούλωσης είχε σχεδόν ολοκληρωθεί σε όλες σχεδόν τις ομάδες ζώων. Εν συντομία, σύμφωνα με τα ευρήματα της 21^{ης} μετεγκαυματικής ημέρας η Κουερσετίνη παρουσίασε μεγαλύτερη

επουλωτική ικανότητα σε σύγκριση με την Αδενοσίνη, επομένως θα πρέπει να προτιμάται ως αντιοξειδωτικός παράγοντας στη θεραπεία των εγκαυματικών πληγών.

Η τελική σειρά που δείχνει την αντιμικροβιακή (ή αντιοξειδωτική) δράση των συμπλόκων αργύρου και ουσιών που μελετήθηκαν και συμπερασματικά την επουλωτική δράση είναι $\Sigma 1 > \Sigma 2 > \Sigma 4 > K > A > \Sigma 3$ (όπου $\Sigma 1, \Sigma 2, \Sigma 3, \Sigma 4$: σύμπλοκα αργύρου, K: Κουερσετίνη και A: Αδενοσίνη), με βάση τα αποτελεσμάτα από την μακροσκοπική, ιστολογική και πλανιμετρική εκτίμηση της μελέτης την 21^η μετεγκαυματική ημέρα.

Ο υπολογισμός της ολικής επιφάνειας σώματος (ΟΕΣ) σε εγκαυματίες είναι απαραίτητος για να υπολογίσουμε φυσιολογικές παραμέτρους, θερμιδικές ανάγκες και επαναπλήρωση υγρών. Κατά καιρούς έχει χρησιμοποιηθεί η εξίσωση του Meeh για τον υπολογισμό της ολικής επιφάνειας σώματος σε ζώα ($OE\S = K \times B^{2/3}$, όπου K= σταθερά B=βάρος σώματος του ζώου). Η ακρίβεια της τιμής της σταθεράς K εξαρτάται από την ηλικία, το φύλο, το βάρος, το είδος και τον αριθμό των ζώων που μελετώνται κάθε φορά για τον υπολογισμό της. Για τον υπολογισμό της ΟΕΣ εφαρμόστηκε στην παρούσα μελέτη μια απλή μέθοδος σε κάθε ένα ξεχωριστά από τα 30 ζώα (επίμυες Wistar) που χρησιμοποιήθηκαν στη μελέτη, στα οποία έγινε χορήγηση αναισθησίας και ακολούθησε η μέτρησή της ΟΕΣ με ένα πλανίμετρο. Με δεδομένα τις μετρήσεις της πλανιμετρίας και το βάρος του σώματος των ζώων, από την εξίσωση του Meeh υπολογίστηκε η σταθερά K για κάθε ένα ζώο ξεχωριστά. Εφαρμόζοντας ακολούθως το μέσο όρο της K (K=9.83), υπολογίστηκε η επιφάνεια σώματος για κάθε ζώο και έγινε η σύγκρισή της με τις τιμές της σταθεράς K, οι οποίες έχουν ήδη δημοδιευτεί από άλλους ερευνητές. Η τιμή της K που υπολογίστηκε στην παρούσα μελέτη, μπορεί να εφαρμοστεί με ακρίβεια για τον υπολογισμό της ΟΕΣ που το βάρος σώματος κυμαίνεται από 195 έως 240 g.

8. ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΣΤΗΝ ΑΓΓΛΙΚΗ

Full thickness epidermal burn wound healing on Wistar rats

Doctorate Thesis-Efthalia Gouma

Several agents have been used to provide a successful burn wound healing, by topical application. Metal ions like silver have been proposed as therapeutic agents for burn wound healing. Four newly synthesized silver complexes [AgCl(CMBZT)(TPTP)₂(MeOH)] (S1), [AgCl(TPTP)₃(0.5·H₂O)] (S2), [AgI (TPTP)₃] (S3) and {[Ag₆ (μ₃-Hmna)₄ (μ₃-mna)₂]²⁻ · [(Et₃NH)⁺]₂ (DMSO)₂ (H₂O)} (S4), were used for the treatment of burn wound on Wistar rats. One hundred and eighty female Wistar rats weighing 195-240 g were used as experimental models, which were divided into six groups: CG (control group), SG (solvent group), EG1, EG2, EG3, EG4 (experimental groups 1, 2, 3, 4, in which topical application was performed of the complexes S1, S2, S3, S4, respectively). Further the animals were divided into subgroups and a macroscopic, planimetric and histological evaluation was performed on post burn day (PBD) 3, 6, 12, 21 and 31. All animals on PBD 3, 6 and 12 presented an increase of burn eschar surface area compared to PBD 0. However, animals belonging to CG, SG, EG1, EG2 and EG4, showed a significant decrease (p<0.05) of burn wound on PBD 21 compared to PBD 0. Only animals from EG3 showed an increase of burn eschar on PBD 21. On PBD 31 the healing process was almost completed in all groups. In summary, substances S1, S2 and S4 presented strong burn wound healing effect on Wistar rats. The final order of the anti-inflammatory activity caused by silver complexes is S1>S2>S4>S3.

Quercetin and Adenosine are well known agents, which exhibit antioxidant and angiogenic functions, respectively. One hundred and twenty female Wistar rats weighing 195-240 g were used as experimental models, which were divided into four groups: CG (control group), SG (solvent group), QG and AG (experimental groups in which topical application was performed of Quercetin and Adenosine, respectively). Further the animals were divided into subgroups and macroscopic, planimetric and histological evaluation was performed on post burn day (PBD) 3, 6, 12, 21 and 31. All animals on PBD 3, 6 and 12 showed an increase of burn wound surface area compared to PBD 0. However, animals belonging to CG, SG, QG and AG, showed a significant decrease ($p < 0.05$) of burn wound surface area on PBD 21 compared to PBD 0. On PBD 31 the healing process was almost complete in all groups. In summary, Quercetin revealed better burn wound healing effect, compared to Adenosine, so it would be preferred as an antioxidant agent in the treatment of burns.

The final order of the burn wound healing effect caused by silver complexes, Quercetin and Adenosine is $S1 > S2 > S4 > Q > A > S3$ ($S1, S2, S3, S4$: silver complexes, Q: Quercetin, A: Adenosine) based on macroscopic, planimetric and microscopic evaluation on Post Burn Day 21 (PBD 21).

The estimation of the total body surface area (TBSA) is necessary for burn victims to index physiological parameters. Meeh formula ($TBSA = K \times W^{2/3}$, $K =$ constant and $W =$ weigh) has been used for the estimation of surface area in animal models. The accuracy of K value depends on the age, sex, weight, size, strain and number of the animals. TBSA was determined using a simple method for each of 30 female Wistar rats, which were anaesthetized only, and it was measured with a planimeter. Entering the planimetrically measured data along with the animals weight into the Meeh formula, a K value was obtained for each animal ($K = 9.83$). Using the mean K (9.83) the surface areas of each rat

were calculated and compared against data of surface areas of other K constants that have been described in the literature. The K value obtained from the animals in this experiment can be applied accurately to determine the TBSA of rats weighing 195-240 g.

9. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Abraham JA, Klagsburn M, (1996). Modulation of wound repair by members of the fibroblast growth factor family. In the molecular and cellular biology of wound repair (C.R.A., ed): 195-248
2. Abu-Youssef MA, Dey R, Gohar Y, (2007). Synthesis and structure of silver complexes with nicotinate-type ligands having antibacterial activities against clinically isolated antibiotic resistant pathogens 46 (15): 5893-903
3. Adds PJ, Hunt C, Hartley S, (2001). Bacterial contamination of amniotic membrane. Br J Ophthalmol 85 (2): 228-230
4. Agnantis N, Malamou-Mitsi V, D. Stefanou D (2001). Παθολογική Ανατομική: 27-28
5. Ahn Y, Garruto RM, (2008). Estimations of body surface area in newborns. Acta Paediatr. 97 (3): 366-70
6. Akcay MN, Ozcan O, Gundogdu C, et al (2000). Effect on nitric oxide synthase inhibitor on experimentally induced burn wounds. J Trauma 49 (2) pp: 327-330
7. Alberts B, Bray D, Johnson A, et al, (2000). Essential Cell Biology. An introduction to the Molecular Biology of the Cell. Ιατρικές Εκδόσεις Πασχαλίδης: 158-159.
8. Altavilla D, Galeano M, Bitto A, et al (2005). Lipid peroxidation inhibition by raxofelast improves angiogenesis and wound healing in experimental burn wounds. Shock. 24 (1): 85-91
9. Amirshaybani HR, Crecelius GM, Timothy NH, et al (2001). The natural History of the Hand: I. Hand area as a Percentage of Body Surface Area. Plast Reconstr Surg 107(3): 726-33

10. Antoniadis A, Antoniadis G, Legakis N, et al (1999). Ιατρική Μικροβιολογία Τόμος II. Ιατρικές Εκδόσεις Πασχαλίδης: 15-23.
11. Antoniadis A, Antoniadis G, Legakis N, et al (2000). Ιατρική Μικροβιολογία Τόμος I. Ιατρικές Εκδόσεις Πασχαλίδης: 17-18, 24-26.
12. Arslan E, Basterzi Y, Aksoy A, et al (2005). The additive effects of carnitine and ascorbic acid on distally burned dorsal skin flaps in rats. *Med Sci Monit* 11(6): BR176-180.
13. Atiyeh BS, Hayek SN, Gunn SW, (2005). New technologies for burn wound closure and healing. Review of the literature. *Burns* 31 (8): 944-56
14. Avery CM, Iqbal M, Orr R, et al (2005). Repair of radial free flap donor site by full-thickness skin graft from inner arm. *Br J Oral Maxillofac Surg* 43(2): 161-5
15. Bacchetta CA, Magee W, Rodeheaver G, et al (1975). Biology of infections of split thickness skin grafts. *Am J Surg* 130 (1): 63–67 .
16. Bader KF, (1966). Organ deposition of silver following Silver nitrate therapy of burns. *Plastic and Reconstructive surgery* 37 (6): 550-551
17. Bakyarova G, Yankova T, Kozarev I, et al (1996). Reduced erythrocyte deformability related to activated lipid peroxidation during the early postburn period. *Burns* 22(4): 291-294
18. Baltimore RS, Christie CD, Smith GJ, (1989). Immunohistopathologic localization of *Pseudomonas aeruginosa* in lungs from patients with cystic fibrosis. Implications for the pathogenesis of progressive lung deterioration. *Am. Rev. Respir. Dis* 140 (6): 1650.
19. Bang RL, Gang RK, Sanyal SC, et al (1998). Burn septicaemia: an analysis of 79 patients. *Burns*. 24 (4): 354-61.

20. Barther R, Aberdam D, (2005). Epidermal stem cells. *European Academy of dermatology and Venereology* (19): 405- 413.
21. Baryza MJ, Baryza GA, (1995). The Vancouver Scar Scale: an administration tool and its interrater reliability. *J Burn Care Rehabil* 16(5): 535–8
22. Batarseh KI, (2004). Anomaly and correlation of killing in the therapeutic properties of silver (I) chelation with glutamic and tartaric acids. *Journal of antimicrobial chemotherapy* 54 (2): 546-548
23. Bayat M, Vasheghani MM, Razavi N, (2006). Effect of low-level helium-neon laser therapy on the healing of third-degree burns in rats. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 83 (2): 87-93.
24. Becker WK, Shippee RL, McManus AT, et al, (1993). Kinetics of nitrogen oxide production following experimental thermal injury in rats. *J Trauma* 34 (6): 855-862
25. Berners-Price SJ, Johnson RK, Giovenella AJ, et al (1988). Antimicrobial and anticancer activity of tetrahedral, chelated, diphosphine silver (I) complexes: comparison with silver and gold. *Journal of Inorganic Biochemistry* 33 (4): 285-295.
26. Bertazzon A, and T.Y. Tsong TY, (1990). Effects of ions and pH on the thermal stability of thin and thick filaments of skeletal muscle: high-sensitivity differential scanning calorimetric study. *Biochemistry* 29(27): 6447–6452.
27. Bertazzon A, and Tsong TY, (1989). High-resolution differential scanning calorimetric study of myosin, functional domains, and supramolecular structures, *Biochemistry* 28 (25): 9784–9790
28. Bharadwaj R, Joshi BN, Phadke SA, (1983). Assessment of burn wound sepsis by swab, full thickness biopsy culture and blood culture — a comparative study. *Burns* 10 (2): 124–126

29. Bolton Laura, (2006). Are silver products safe and effective for chronic wound management? *J Wound Ostomy Continence Nurs* 33(5): 469-477.
30. Borrelli MJ, Wong RS, Dewey WC, (1986). A direct correlation between hyperthermia-induced membrane blebbing and survival in synchronous G1 CHO cells. *J Cell Physiol* 126 (2): 181–190
31. Bose B, (1979). Burn wound dressing with human amniotic membrane. *Ann R Coll Surg Eng* 61 (6): 444-7
32. Bourdarias B, Perro G, Cutillas M, et al (1996). Herpes simplex virus infection in burned patients: epidemiology of 11 cases. *Burns* 22 (4): 287-90
33. Boyce JM, Landry M, Deetz TR et al (1981). Epidemiologic studies of an outbreak of nosocomial methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections. *Infect Control*. 2(2): 110-6.
34. Boyd E, (1935). The growth of the surface area of the human body. Minneapolis: University of Minnesota Press
35. Braddock M, Campbell CJ, Zuder D, (1999). Current therapies for wound healing: electrical stimulation, biological therapeutics, and the potential for gene therapy, Review. *Int J Dermatol* 38 (11): 808–817
36. Bravo D, Rigley TH, Gibran N, et al (2000). Effect of storage and preservation methods on viability in transplantable human skin allografts. *Burns* 26 (4): 367-378
37. Braye F, Pascal P, Bertin-Maghit M, et al (2000). Advantages of using a bank of allogenic keratinocytes for the rapid coverage of extensive and deep second degree burns. *Med Biol Eng Comput* 38 (2): 248-252.
38. Bredon E, Choquet P, Bergua L, et al (2008). In vivo peritoneal surface area measurement in rats by micro-computed tomography (μ CT). *Peritoneal dialysis international* 28 (2): 188-194

39. Brem H, Balledux J, Sukkarieh T, et al (2001). Healing of Venous Ulcers of long Duration with a Bilayered Living Skin Substitute: Results from a General Surgery and Dermatology Department. *Dermatol Surg* 27 (11): 915 – 919.
40. Burke JF, (1987). «Observations on the development and clinical use of artificial skin – An attempt to employ regeneration rather than scar formation in wound healing. *Jpn J Surg* 17 (6): 431 – 438.
41. Cavani A, Zambruno G, Marconi A, et al (1993). Distinctive integrin expression in the newly forming epidermis during wound healing in humans. *J Invest Dermatol.* 101(4): 600-4.
42. Chan ES, Lam PK, Liew CT, et al (2001). A new technique to recurface wounds with composite biocompatible epidermal graft and artificial skin. *J Trauma* 50 (2): 358 – 362.
43. Cheung MC, Spalding PB, Gutierrez JC, et al (2009). Body surface area Prediction in normal, hypermuscular, and obese mice. *Journal of Surgical Research* 153 (2): 326-331.
44. Cho Lee AR, Leem H, Lee J, et al (2005). Reversal of silver sulfadiazine-impaired wound healing by epidermal growth factor. *Biomaterials* 26 (22): 670-676.
45. Chu CS, McManus AT, Mason AD, et al (2005). Topical silver treatment after Escharectomy of infected Full Thickness Burn Wounds in Rats. *J Trauma* 58 (5): 1040-1046
46. Collis MG, Hourani SM, (1993). Adenosine receptor subtypes. *Trends Pharmacol. Sci* 14 (10): 360-366
47. Cook N, (1998). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* versus the burn patient. *Burns.* 24(2) pp: 91-8.

48. Cotsarelis G, Sun TT, Lavker RM, (1990). Label –retaining cells reside in the bulge of the pilosebaceous unit: implications for follicular stem cells, hair cycle and skin carcinogenesis. *Cell* 61 (7) 1329-1337.
49. Coulombe PA, (1997). Towards a molecular definition of keratinocyte activation after acute injury to stratified epithelia. *Biochem Biophys Res Commun.* 236 (2): 231-8.
50. Crawley WA, Dellon AL, Ryan JJ, (1978). Does Host Response determine the prognosis in scar carcinoma? *Plast Reconstr Surg* 62 (3): 407–414.
51. Cronstein BN, Kramer SB, Weissmann G, et al (1983). Adenosine: a physiological modulator of superoxide anion generation by human neutrophils. *J Exp Med* 1; 158 (4): 1160-77
52. Cronstein BN, Levin RI, Philips M, et al (1992). Neutrophil adherence to endothelium is enhanced via adenosine A₁ receptors and inhibited via adenosine A₂ receptors. *J Immunol* 148 (7): 2201-6
53. Dawson NJ, (1967). The surface area –body-weight relation in mice. *Aust J Biol Sci* 20: 687
54. De Boer VC, Dihal AA, Van der Woode H, et al (2005). Tissue distribution of quercetin in rats and pigs. *J Nutr* 135 (7): 1718-25.
55. Deegan C, Coyle B, McCann M, et al (2006). *In vitro* anti-tumor effect of 1,10-phenanthroline-5,6-dione (phendione), [Gu(phendione)₃] (ClO₄)₂ ·4H₂O and Ag₂(phendione)₂]ClO₄ using human epithelial cell lines. *Chemico-Biological Interactions* 164 (1-2): 115-125
56. Despa F, Orgill DP, Neuwalder J, et al (2005). The relative thermal stability of tissue macromolecules and cellular structure in burn injury. *Burns* 31(5): 568-77

57. Diack SL, (1930). The determination of the surface area of the white rat. In *The Journal of Nutrition*. Vol. III. No 3: 289-296
58. Drake PL, Hazelwood KJ, (2005). Exposure-related health effects of silver and silver compounds: a review. *Ann Occup Hyg* 49 (7): 575-585.
59. Dubois D, Dubois EF, (1916). A formula to estimate the approximate surface area if height and weight be known. *Arch Int Med* 17: 863-71.
60. Eastman AL, Erdman WA, Lindberg GM, et al (2004). Sentinel lymph node biopsy identifies occult nodal metastasis in patients with Marjolin's ulcer. *J Burn Care Rehabil* 25 (3): 241-5
61. Edwards-Jones V, Greenwood JE, (2003). What's new in burn microbiology? James Laing Memorial Prize Essay. *Burns* 29 (1): 15-24.
62. Eggers DK, Valentine JS, (2001). Crowding and hydration effects on protein conformation: a study with sol-gel encapsulated proteins. *J Mol Biol* 314(4): 911-922.
63. Erden Inal M, Kahraman A, Koken T, (2001). Beneficial effects of quercetin on oxidative stress induced by ultraviolet A. *Clin Exp Dermatol* 26 (6): 536-9
64. Eroglu A, Camlibel S, (1997). Risk factors for locoregional recurrence of scar carcinoma. *Br J Surg* 84 (12): 1744-6
65. Esther RJ, Lamps L, Schwartz HS, (1999). Marjolin ulcers: Secondary carcinomas in chronic wounds. *J South Orthop Assoc* 8 (3): 181-7
66. Faldmo L, Kravitz M, (1993). Management of acute burns and burn shock resuscitation. *AACN Clin Issues Crit Care Nurs* 4 (2): 351-66.
67. Fan PS, Gu ZL, Sheng R, et al (2003). Inhibitory effect of quercetin on proliferation of human microvascular endothelial cells in vitro. *Acta Pharmacol Sin.* 24 (12): 1231-4

68. Fang CH, Peck MD, Alexander JW, et al (1990). The effect of free radical scavengers on outcome after infection in burned mice. *J Trauma* 30 (4): 453-6
69. Filimonov VV, Azuaga AI, Viguera AR, et al (1999). A thermodynamic analysis of a family of small globular proteins: SH3 domains, *Biophys Chem* 77 (2-3): 195–208.
70. Fox CL, (1968). Silver sulfadiazine--a new topical therapy for *Pseudomonas* in burns. Therapy of *Pseudomonas* infection in burns. *Arch Surg* 96: 184-88
71. Freireich EJ, Gehan EA, Rall DP, et al (1966). Quantitative comparison of toxicity of anticancer agents in mouse, rat, hamster, dog, monkey and man. *Cancer Chemother Rep* 50 (4): 219-44
72. Freshwater MF, Su CT, (1980). Potential pitfalls of quantitative burn wound biopsy cultures. *Ann Plast Surg* 4 (3): 216–218.
73. Fried HP, Till GO, Trentz O, et al (1989). Roles of histamine, complement and xanthine oxidase in thermal injury of skin. *Am J Pathol* 135: 203-217
74. Fujimori Y, Ueda K, Fumimoto H, et al (2004). Treatment with autologous cultured dermal substitutes (CDS) for Burn Scar Contracture in Children. *Wound Repair and Regeneration* 57 (4): 408-14
75. Fuller FW, (2009). The side effects of silver sulfadiazine. *Journal of Burn Care and Research* 30(3): 464-470
76. Futrell JW, Myers GH Jr, (1972). The burn scar as an “immunologically privileged site”. *Surg Forum* 23 (0): 129–131.
77. Galeano M, Deodato B, Altavilla D, et al (2003). Effect of recombinant adeno-associated virus vector-mediated vascular endothelial growth factor gene transfer on wound healing after burn injury, *Crit Care Med* 31 (4): 1017–1025.

78. Gamelli RL, George M, Sharp-Pucci M, et al (1995). Burn-induced nitric oxide release in humans. *J Trauma* 39 (5): 869-878
79. Gang RK, Sanyal SC, Bang RL, (2000). Staphylococcal septicaemia in burns. *Burns*. 26 (4): 359-66.
80. Gear AJ, Hellewell TB, Wright HR, et al (1997). A new silver sulfadiazine water soluble gel. *Burns* 23 (5): 387-391
81. Gehan EA, George SL, (1970). Estimation of human body surface area from height and weight. *Cancer Chemother Rep* 54: 225-35
82. Gibson S, Numa A, (2003). The importance of metabolic rate and the folly of body surface area calculations. *Anaesthesia* 58 (1): 50-55
83. Gilpin DA, (1996). Calculation of a new Meeh constant and experimental determination of burn size. *Burns* 22 (8): 607-611.
84. Gobel P, Schubert W, (1990). Personal experiences with covering burns in children with amnion. *Beitr Orthop Traumatol* 37 (9): 495-8
85. Gomanthi K, Gopinath D, Rafiuddin Ahmed M, et al (2003). Quercetin incorporated collagen matrices for dermal wound healing processes in rats. *Biomaterials* 24 (16): 2767-72
86. Grant MB, Tarnuzzer RW, Caballero S, et al (1999). Adenosine receptor activation induces vascular endothelial growth factor in human retinal endothelial cells. *Circ Res* 85 (8): 699-706
87. Grinberg AV, Gevondyan NM, Grinberg NV, et al (2001). The thermal unfolding and domain structure of Na⁺/K⁺-exchanging ATPase. A scanning calorimetry study. *Eur J Biochem* 268 (19): 5027–5036
88. Guo Y, Dickerson C, Chrest FJ, et al (1990). Increased levels of circulating interleukin 6 in burn patients. *Clin. Immunol. Immunopathol* 54 (3): 361-71

89. Hack CE, Hart M, Van Schijndel RJ, et al (1992). Interleukin-8 in sepsis: Relation to shock and inflammatory mediators. *Infect. Immun* 60 (7): 2835-42
90. Hadjikakou SK, Ozturk II, Xanthopoulou MN, et al (2008). Synthesis, structural characterization and biological study of new organotin (IV), silver (I) and antimony (III) complexes with thioamides. *Journal of Inorganic Biochemistry* 102 (5-6): 1007-1015.
91. Haiduc I, Silvestru C, (1989). Rhodium, Indium, copper and gold antitumor organometallic compounds. *In vivo* (1989) 3, 285-93
92. Hanif M, Saddiqa A, Hasnain S, et al (2008). Preparation, spectral characterization and antibacterial studies of silver (I) complexes of 2-mercaptopyridine and thiomalate. *Spectroscopy* 22 (1): 51–56
93. Hansbrough JF, Mozingo DW, Kealey GP, et al (1997). Clinical Trials of a Biosynthetic Temporary Skin Replacement, Dermagraft- Transitional Covering Compared with Cryopreserved Human Cadaver Skin for Temporary Coverage of Excised Burn Wounds. *J Burn Rehabil* 18 (1 Pt 1): 43-51.
94. Hatzis I, (1994). Βασική Δερματολογία – Αφροδισιολογία. Ιατρικές Εκδόσεις Λίτσας Τόμος Α': 12-31
95. Haycock GB, Schwartz GI, Wisotsky DH, (1978). Geometric method for measuring body surface area: A height weight formula validated in infants, children and adults. *The Journal of Pediatrics* 1978 93 (1): 62-66
96. Headrick JP, Lasley RD, (2009). Adenosine receptors and reperfusion injury of the heart. *Handb Exp Pharmacol*, (193): 189-214
97. Henry S, McAllister DV, Allen MG, et al (1998). Microfabricated microneedles: a novel approach to transdermal drug delivery, *J Pharm Sci* 87 (8): 922–925.

98. Hershov RC, Khayr WF, Smith NL. (1992). A comparison of clinical virulence of nosocomially acquired methicillin-resistant and methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus* infections in a university hospital. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 13(10): 587-93
99. Hill AV, Hill AM (1913). *Jour Physiol.*, XLIV, 81
100. Hill TJ, Lafitte D, Wallace JI, et al (2000). Calmodulin-Peptide Interactions: Apocalmodulin Binding to the Myosin Light Chain Kinase Target-Site. *Biochemistry* 39(24): 7284–7290
101. Hoekstra MJ, Kreis RW, Du Pont JS, (1994). History of the Euro Skin Bank: The innovation of preservation technologies. *Burns* 20 (Suppl 1): 543-547.
102. Hosnuler M, Babuccu O, Kargi E, et al (2003): Rat skin surface Measurement: A practical formula. *Plastic and Reconstructive Surgery* 112 (5): 1486-7.
103. Hu JY, Hyang YS, Song HP, et al (2007). Protective effects of Astragaloside and Quercetin on rat myocardial cells after hypoxia. *Zhonghua Shao Shang Za Zhi* 23 (3): 175-8
104. Hunt JL, Purdue GF Tuggle DW, (1998). Morbidity and mortality of an endemic pathogen: methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *Am J Surg* 156 (6): 524-8.
105. Igisu K, (1987). Increased production of fibronectin by fibroblasts from pre-cancerous scars. *Br. J. Dermatol* Jan 116 (1): 79-86
106. Inglis AM, Morton KS, Lehman ECH, (1979). Squamous cell carcinoma arising in chronic osteomyelitis. *Can J Surg* 22 (3): 271–273.
107. Ioannovits I, Alexakis D, Mantas N, (1989). Parkland Formula as a guide for Resuscitation. *Anal of the MBC-vol2-n´-1*
108. Ishihara K, (1987). Skin malignant tumor. High – risk groups. *Gan To Kaqaku Ryoho* 14 (9): 2667-71

109. Ishizawa K, Izawa-Ishizawa Y, Ohnishi S, et al (2009). Quercetin glucuronide inhibits cell migration and proliferation by platelet-derived growth factor in vascular smooth muscle cells. *J Pharmacol Sci* 109 (2): 257-64.
110. Jeschke MG, Rose C, Angele P, et al (2004). Development of new reconstructive techniques: use of Integra in combination with Fibrin glue and negative – pressure therapy for reconstruction of acute and chronic wounds. *Plast Reconstr.* 113 (2): 525 – 530.
111. Jiang CK, Magnaldo T, Ohtsuki M, et al (1993). Epidermal growth factor and transforming growth factor alpha specifically induce the activation- and hyperproliferation-associated keratins 6 and 16. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 90 (14): 6786-90.
112. Kagan RJ, Naraqi S, Matsuda T, et al (1985). Herpes simplex virus and cytomegalovirus infections in burned patients. *J Trauma.* 25 (1): 40-5.
113. Karantza V, Baxevanis AD, Freire E, et al (1995). Thermodynamic studies of the core histones: ionic strength and pH dependence of H2A-H2B dimer stability. *Biochemistry* 34(17): 5988–5996.
114. Kasse AA, Betel E, Dem A, et al (1999). Cancers in scars of thermal burns (apropos of 67 cases). *Dakar Med* 44 (2): 206-10
115. Katsarou A, Davoy E, Xenos K, et al (2000). Effect of an antioxidant (quercetin) on sodiumlauryl-sulfate-induced skin irritation. *Contact Dermatitis* 42 (2): 85–89
116. Khavari PA, (1997). Therapeutic gene delivery to the skin. *Mol Med Today* 3 (12): 533–538
117. Khodr B, Khalil Z, (2001). Modulation of inflammation by reactive oxygen species: implications for aging and tissue repair. *Free Radic Biol Med* 30 (1): 1-8.

118. Kibe Y, Takenaka H, Kishimoto S, (2000). Spatial and temporal expression of basic fibroblast growth factor protein during wound healing of rat skin. *Br. J. Dermatol* 143 (4): 720-70.
119. Klotz KN, (2000). Adenosine receptors and their ligands. *Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharmacol* 362(4-5): 382-391
120. Kobayashi M, Takahashi H, Herndon DN, et al (2002). Effect of a combination therapy between IL-12 and soluble IL-4 receptor (sIL-4R) on *Candida albicans* and herpes simplex virus type I infections in thermally injured mice. *Can J Microbiol.* 48 (10): 886-94.
121. Komine M, Rao LS, Freedberg IM, et al (2001). Interleukin-1 induces transcription of keratin K6 in human epidermal keratinocytes. *J Invest Dermatol.* 116 (2): 330-8
122. Komine M, Rao LS, Kaneko T, et al (2000). Inflammatory versus proliferative processes in epidermis. Tumor necrosis factor alpha induces K6b keratin synthesis through a transcriptional complex containing NFkappa B and C/EBPbeta. *J Biol Chem.* 275 (41): 32077-88.
123. Kononas TK, (2000). Χειρουργική Θεραπεία Εγκαύματος. *Τραύμα* 4, : 5-6
124. Kononas TK, (1998). «Εγκαυμα». Β' τόμος Σημειώσεων Κοινοτικού προγράμματος «Φροντίδα βαρέως πασχόντων», Εκπαιδευτική Υπηρεσία Νοσηλευτικού προσωπικού ΠΓΝΑ «Ιπποκράτειο», : 1-13
125. Kowal-Vern A, Criswel BK, (2005). Burn scar neoplasms: A literature review and statistical analysis. *Burns* 31 (4): 403-13
126. Kuroyanagi Y, Kubo K, Matsui H, et al (2004). Establishment of Banking System For Allogeneic Cultured Dermal Substitute. *Artificial Organs* 28 (1): 13 – 21

127. Kyros L, Kourkoumelis N, Kubicki M, et al (2010) Structural Properties, Cytotoxicity, and anti-Inflammatory activity of Silver (I) Complexes with tris (p-tolyl) Phosphine and 5-Chloro-2-Mercapto-benzothiazole. *Bioinorganic Chemistry and Applications* Article ID 386860
128. Lam PK, Chan ES, To EW, et al (1999). Development and Evaluation of a New Composite Laserskin Graft. *J Trauma* 47 (5): 918 – 922.
129. Lambert JD, Hong J, Yang GY, et al (2005). Inhibition of carcinogenesis by polyphenols: evidence from laboratory investigations. *American Journal of Clinical Nutrition* 81 (1 Suppl): 284S-291S
130. Latha B, Ramakrishnan M, Jayaraman V, et al (1998). The efficacy of Trypsin: Chymotrypsin preparation in the reduction of oxidative damage during burn injury. *Burns* 24 (6): 532-538.
131. Lavker RM, Sun TT, (2000). Epidermal stem cells: properties, markers, location. *Proc Natl Acad Sci USA* 97 (25): 13473-13475.
132. Lee JY, Choi JW, Kim H, (2008). Determination of body surface area and formulas to estimate body surface area using the alginate method. *J Physiol Anthropol.* 27 (2): 71-82.
133. Lee MO, (1929). Determination of the surface area of the white rat with its application to the expression of metabolic results. *Am J. Physiol* 89: 24-33.
134. Leikina E, Merts MV, Kuznetsova N, et al (2002). Type I collagen is thermally unstable at body temperature. *Proc Natl Acad Sci USA* 99 (3): 1314–1318.
135. Lepock JR, (2003). Cellular effects of hyperthermia: relevance to the minimum dose for thermal damage. *Int J Hyperthermia* 19(3): 252–266.
136. Lesseva MI, Hadjiiski OG, (1996). Staphylococcal infections in the Sofia Burn Centre, Bulgaria. *Burns* 22(4): 279-82

137. Li J, Zhang S, Wang C, (2001). Effects of macromolecular crowding on the refolding of glucose-6-phosphate dehydrogenase and protein disulfide isomerase. *J Biol Chem* 37 (14): 34396–34401.
138. Li Y, Hindi K, Watts KM, et al (2010). Shell crosslinked nanoparticulates carrying silver antimicrobials as therapeutics. *Chem Commun* 46 (1): 121-123
139. Liebau J, Pallua N, (1995). Scar carcinoma as a late complication after burns. *Langenbecks Arch Chir* 380 (3): 158-61
140. Liggins JR, Lo TP, Brayer GD, et al (1999). Thermal stability of hydrophobic heme pocket variants of oxidized cytochrome c. *Protein Sci* 8(12): 2645–2654.
141. Lin MT, (1976). Surface area of the Taiwan monkey. *Chin. J. Physiol* 22: 73
142. Linares HA, (1982). A report of 115 consecutive autopsies in burned children: 1966-80. *Burns Incl Therm Inj* 8 (4): 263-70.
143. Liu JJ, Galettis P, Farr A, et al (2008). In vitro antitumour and hepatotoxicity profiles of Au (I) and Ag (I) bidentate pyridyl phosphine complexes and relationships to cellular uptake. *Journal of Inorganic Biochemistry* 102 (2): 303-310
144. Liu R, Xing J, Miao N, et al (2009). The myocardial protective effect of adenosine as an adjunct to intermitted blood cardioplegia during open heart surgery. *Eur J Cardiothorac Surg* 36 (6): 1018-23
145. Loebl EC, Marvin JA, Heck EL, et al (1974). The method of quantitative burn-wound biopsy cultures and its routine use in the care of the burned patient. *Am J Clin Pathol* 61 (1): 20–24
146. Lund T, Onarheim H, Reed RK, (1992). Pathogenesis of edema formation in burn injury. *World J Surg* 16: 2-9
147. Lye I, Edgar DW, Wood FM, et al (2006). Tissue tonometry is a simple, objective measure for pliability of burn scar: is it reliable? *J Burn Care Res* 27(1): 82-5

148. Marselos M, Malamas M, (1998). Ιατρική Φαρμακολογία ΙΙ. Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, Ιατρική Σχολή,: 256-263, 270, 284, 295-297, 307-311.
149. Marselos M, Malamas M, (2000). Ιατρική Φαρμακολογία Ι. Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, Ιατρική Σχολή,: 85-86
150. Martin D, Umraw N, Gomez M, et al (2003). Changes in subjective vs objective burn scar assessment over time: does the patient agree with what we think? *J Burn Care Rehabil* 24(4): 239-44.
151. McGill SN, Cartotto RC, (2000). Herpes simplex virus infection in a paediatric burn patient: Case report and review. *Burns Volume* 26 (2): 194-199.
152. McPhee S, Moutsopoulos H, (2000). Παθολογική Φυσιολογία. Ιατρικές Εκδόσεις Λίτσας: 43 – 51.
153. Meeh K, (1879). Oberfluchenmessungen des menschlichen Körpers. *Zeitschrift Biol*, 15: 425
154. Meers P, Neville M, Malinin V, et al (2008). Biofilm penetration, triggered release and in vivo activity of inhaled liposomal amikacin in chronic *Pseudomonas aeruginosa* lung infections. *J Antimicrob. Chemother* 61 (4): 859-868.
155. Menendez M, Rivas G, Fernando Diaz J, et al (1998). Control of the structural stability of the tubulin dimer by one high affinity bound magnesium ion at nucleotide N-site. *J Biol Chem* 273 (1): 167–176.
156. Meng F, Korompai FL, Lynch DM, et al (1998). Acetylcholine-induced and Nitric oxide-Mediated Vasodilation in burns. *Journal of Surgical Research* 80 (2): 236-242
157. Mitchell HH, and Carmen GG, (1926). Estimation of the surface area of the white rat. *Amer. Jour. of Physiol* IXXV1: 380-384

158. Mizobuchi S, Minami J, Jin F, et al (1994). Comparison of the virulence of methicillin-resistant and methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus*. *Microbiol Immunol.* 38(8): 599-605.
159. Moffatt P, Salois P, St-Amant N, et al (2004). Identification of a conserved cluster of skin-specific genes encoding secreted proteins. *Gene* 334: 123–131.
160. Mojzis J, Hviscova K, Germanova D, et al (2001). Protective effect of quercetin on ischemia/ reperfusion-induced gastric mucosal injury in rats. *Physiol Res* 50 (5): 501-6
161. Montesinos MC, Desai A, Chen JF, et al (2002). Adenosine promotes wound healing and mediates angiogenesis in response to tissue injury via occupancy of A_{2A} receptors. *American Journal of Pathology* 160 (6): 2009-2018.
162. Morand C, Crespy V, Manach C, et al (1998). Plasma metabolites of quercetin and their antioxidant properties. *Am J Physiol* 275 (1Pt 2): R212-9
163. Morasso I, Tomoc-Canic M, (2005). Epidermal stem cells: the cradle of epidermal determination, differentiation and wound healing. *Biol Cell* 97(3): 173-183.
164. Morris RJ, Liu Y, Marles L, et al (2004). Capturing and profiling adult hair follicle stem cells. *Nat Biotechnol* 22 (4) 2004: 411-417
165. Mosteller RD, (1987). Simplified Calculation of body surface area. *N Engl J Med* 1987 Oct 22; 317: 1098 (letter)
166. Nagata H, Takekoshi S, Takagi T, et al (1999). Antioxidative action of flavonoids, quercetin and catechin, mediated by the activation of glutathione peroxidase. *Tokai J Exp Clin Med.* 24(1): 1-11
167. Nakade T, Yamamoto S, Aizu E, et al (1985). Inhibition of 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate-induced increase in vascular permeability in mouse skin by lipoxygenase inhibitors. *Jpn J Pharmacol* 38 (2): 161-8

168. Nakanishi H, Tomita Y, Yoshikawa H, et al (1999). Frequent p53 gene mutations in soft tissue sarcomas arising in burn scar. *Jpn J Cancer Res* 90 (3): 726-9
169. Naziroglu M, Kokcam I, Yilmaz S, (2003). Beneficial Effects of Intraperitoneally Administrered Alfa-Tocophery Acetate on the levels of Lipid Peroxide and Activity of Glutathione Peroxidase and Superoxide Dismutase in Skin, Blood and liver of thermally injured guinea pigs. *Skin Pharmacol Appl Skin Physiol* 16 (1): 36-45.
170. Nicas TI, Iglewski BH, (1985). The contribution of exoproducts to virulence of *Pseudomonas aeruginosa*. *Can J Microbiol* 31 (4): 387-92
171. Obeng MK, McCauley RL, Barnett JR, et al (2001). Cadaveric allograft discards as a result of positive skin cultures. *Burns* 27 (3): 267-271.
172. Orgill DP, Solari MG, Barlow MS, et al (1998). A finite-element model predicts thermal damage in cutaneous contact burns. *J Burn Care Rehabil* 19(3): 203–209
173. Palao R, Gómez P, Huguet P, (2003). Burned breast reconstructive surgery with Integra dermal regeneration template. *Br J Plast Surg* 56 (3): 252–259
174. Papini RPG, Wilson APR, Steer JA, et al (1995). Wound management practices in burn centers in the United Kingdom. *Br J Surg* 82 (4): 505–509.
175. Paredes F, (1998). Marjolin Ulcer. *Acta Med Port* 11(2): 185-7
176. Pegg SP, (1992). Multiple resistant *Staphylococcus aureus*. *Ann Acad Med Singapore* 21(5): 664-6.
177. Persikov AV, Xu Y, Brodsky B, (2004). Equilibrium thermal transitions of collagen model peptides. *Protein Sci*, 13(4): 893 - 902.
178. Phan TT, Sun L, Bay BH, et al (2003). Dietary compounds inhibit proliferation and contraction of keloid and hypertrophic scar-derived fibroblasts in vitro: therapeutic implication for excessive scarring. *J Trauma* 54 (6): 1212-24.

179. Phillips TJ, Salman SM, Bhawan J, et al (1998). Burn scar carcinoma. Diagnosis and management. *Dermatol Surg* 24 (5): 561-5
180. Pietta PG, (2000). Flavonoids as antioxidants. *J Nat Prod.* 63 (7): 1035-42.
181. Polosa R, Blackburn MR, (2009). Adenosine receptors as targets for therapeutic intervention in asthma and chronic obstructive pulmonary disease. *Trends Pharmacol Sci* 30 (10): 528-35.
182. Pradier JP, Oberlin C, Bey E, (2007). Acute deep hand burns covered by a pocket flap-graft: long-term outcome based on nine cases. *J Burns Wounds* 16;6:e1
183. Pruitt BA Jr, (1984). The diagnosis and treatment of infection in the burned patient. *Burns* 11(2): 79–91.
184. Quiring DP, (1955). Surface area determination. In Glasser O (ed), *Medical Physics*, Vol. 1 Chicago: Year Book, : 1490-1494.
185. Ravishanker R, Bath AS, Roy R, (2003). «Amnion Bank» - The Use of a long term glycerol preserved amniotic membranes in the management of superficial and superficial partial thickness burns. *Burns* 29(4): 369-74
186. Rejzek A, Weyer F, Eichberger R, et al (2001). Physical changes of amniotic membranes through glycerolization for the use as an epidermal substitute. Light and electron microscopic studies. *Cell tissue Bank* 2 (2): 95-102
187. Rennekampff HO, Rabbels J, Reinhard V, et al (2006). Comparing the Vancouver Scar Scale with the cutometer in the assessment of donor site wounds treated with various dressings in a randomized trial. *J Burn Care Res*, 27(3): 345-51
188. Rose JK, Herndon DN, (1997). Advances in the treatment of burn patients. *Burns* 23 (1) 19-26

189. Ross R, Benditt EP, (1961). Wound Healing and Collagen Formation I. Sequential Changes in Components of Guinea pig skin wounds observed in the electron Microscope. *J Biophys Biochem Cytol* 11: 677-700
190. Rubner M, (1883). Über den einfluss der körpergrösse auf stoff- und kraftwechsel. *Zeitschrift für Biologie* 19: 536–562.
191. Rumbaugh KP, Colmer JA, Griswold JA, et al (2001). The effects of infection of thermal injury by *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 on the murine cytokine response. *Cytokine* 16 (4): 160-8
192. Rumbaugh KP, Hamood AN, Griswold JA, (2004). Cytokine induction by the *P. aeruginosa* quorum sensing system during thermal injury. *J Surg Res.* 116 (1): 137-44.
193. Sabeh F, Hockberger P, Sayeed MN, (1998). Signaling mechanism of elevated neutrophil O₂-generation after burn injury. *Am J Physiol* 274: R476-R485
194. Sakurai M, Tanaka H, Matsuda T, et al (1997). Reduced Resuscitation fluid volume for second-degree experimental burns with delayed initiation of vitamin C therapy (Beginning 6 h after injury). *Journal of Surgical Research* 73 (1): 24-27
195. Sbarounis HN, 1989. Γενική Χειρουργική, Γενικό μέρος Α' τόμος, 1989: 322, 331
196. Schlager A, Oehler K, Huebner KU, et al (2000). Healing of Burns after Treatment with 670-Nanometer Low-Power Laser Light. *Plastic and Reconstructive Surgery* 105 (5): 1635-1638
197. Schuster MG, Norris AH, (1994). Community-acquired *Pseudomonas aeruginosa* pneumonia in patients with HIV infection. *Aids* 8 (10): 1437-41
198. Seetharam A, Tiriveedhi V, Mohanakumar T, (2010). Alloimmunity and autoimmunity in chronic rejection. *Curr Opin Organ Transplant.* 15 (4):531-6.

199. Shaked G, Gunfinkel R, Creiger D, et al (2007). Adenosine in burn blister fluid. *Burns* 33 (3): 352-4
200. Shanmugasundaram N, Uma TS, Lakshmi R, et al (2008). Efficiency of controlled topical delivery of silver sulfadiazine in infected burn wounds. *Journal of Biomedical Materials Research Part A* 89 (2): 472-482
201. Sheridan RL, Weber JM, Pasternak MM, et al (1999). A 15-year experience with varicella infections in a pediatric burn unit. *Burns* 25 (4) pp: 353-356.
202. Sin BY, Kim HP, (2005). Inhibition of collagenase by naturally-occurring flavonoids. *Arch Pharm* 28 (10): 1152-5
203. Singer AJ, Thode HC Jr, McClain SA, (2000). Development of Histomorphologic Scale to Quantify Cutaneous Scars after Burns. *Academic Emergency Medicine* 7 (10): 1083-1088.
204. Sivanandam A, Siva S, Bhandari M, et al (2008). Variance inflation in sequential calculations of body surface area, plasma volume, and prostate-specific antigen mass. *Br J Urol* 102(11): 1573-1580
205. Sjölund KF, Segerdahl M, Sollevi A, (1999). Karl-Fredrik Sjolund, Marta Segerdahl, Alf Sollevi. Adenosine reduces secondary hyperalgesia in two human models of cutaneous inflammatory pain. *Anesth Analg* 88 (3): 605-10.
206. Sneddon JC, Walton R, Bond A, (2003). A simple field technique for estimation of body surface area in horses and ponies. *Equine and Comparative Exercise Physiology* 1(1): 51-60
207. Steer JA, Papini RP, Wilson AP, et al (1996). Quantitative microbiology in the management of burn patients. II. Relationship between bacterial counts obtained by burn wound biopsy culture and surface alginate swab culture, with clinical outcome following burn surgery and change of dressings. *Burns*. 22(3): 177-81.

208. Stevens A, Lowe J, (1998). Ιστολογία του ανθρώπου. Μετάφραση Χρήστος Κήττας, Ιατρικές Εκδόσεις Πασχαλίδης, Δεύτερη έκδοση, pp: 358-359
209. Stieritz DD, Holder IA, (1975). Experimental studies of the pathogenesis of infections due to *Pseudomonas aeruginosa*: Description of a burned mouse model. *J. Infect. Dis* 131 (6): 688.
210. Stillman MJ, Presta A, Gyi Z., et al (1994). Spectroscopic studies of cooper, silver and gold metallothioneins. *Metal- Based Drugs* 1 (5-6): 375-94
211. Struzyna J, Pojda Z, Braun B, et al (1995). Serum cytokine levels (IL-4, IL-6, IL-8, G-CSF GM-CSF) in burned patients. *Burns* 21 (6): 437-40
212. Taddonio TE, Thomson PD, Smith DJ Jr., et al (1990). A survey of wound monitoring and topical antimicrobial therapy practices in the treatment of burn injury. *J Burn Care Rehabil* 11 (5): 423–427.
213. Taddonio TE, Thomson PD, Tait MJ, et al (1988). Rapid quantification of bacterial and fungal growth in burn wounds: biopsy homogenate Gram stain versus microbial culture results. *Burns* 14 (3): 180–184.
214. Takeyama R, Takekoshi S, Negata H, et al (2004). Quercetin-induced melanogenesis in a reconstituted three-dimensional human epithelial model. *Journal of molecular histology* 35 (2):157-165
215. Tanaka H, Wiig H, Reed RK, et al (1999). High dose Vitamin C counteracts the negative interstitial fluid hydrostatic pressure and early edema generation in thermally injured rats. *Burns* 25 (7): 569-574
216. Taylor G, Lehrer MS, Jensen PJ, et al (2000). Involvement of follicular Stem Cells in Forming not only the Follicle but also the Epidermis. *Cell* 102 (4): 451-461.
217. Tellam RL, Sculley MJ, Nichol LV, et al (1983). Influence of poly (ethylene glycol) 6000 on the properties of skeletal-muscle actin. *Biochem J* 213 (3): 651–659.

218. Thati B, Noble A, Creaven BS, et al (2007). *In vitro* antitumor and cyto-selective effects of coumarin-3-carboxylic acid and three of its hydroxylated derivatives, along with their silver-based complexes, using human epithelial carcinoma cells. *Cancer letters* 248: 321-331.
219. Timofeev AA, Maksjutina NP, Voitenko GN, et al (1989). The use of quercetin granules for treating suppurative soft-tissue wounds of the maxillofacial area and neck. *Stomatologija (Mosk)* 68 (6): 11-13.
220. Tomaselli N, (2006). The role of topical silver preparations in wound healing *J Wound Ostomy Continence Nurs* 33 (4): 367-380
221. Tomaz FJ, (1999). Then and Now: 25 years at the Ljubljana Burns Unit Skin Bank. *Burns* 25: 599-602.
222. Tomic-Canic M, Komine M, Freedberg IM, et al (1988). Epidermal signal transduction and transcription factor activation in activated keratinocytes. *J Dermatol Sci* 17 (3): 167-81.
223. Trop M, Novak M, Rodl S, et al (2006). Silver-Coated Dressing Anticoat caused Raised Liver enzymes and Argyria-like symptoms in burn patient. *Trauma* 60 (3): 648-652.
224. Truong PT, Abnoui F, Yong CM, et al (2005). Standardized assessment of breast cancer surgical scars integrating the Vancouver Scar Scale, Short-Form McGill Pain Questionnaire, and patients' perspectives. *Plast Reconstr Surg* 116(5): 1291-9
225. Ueda A, Suda K, Matsumoto T, et al (2006). A clinicopathological and immunohistochemical comparison of SCC arising in scar versus non scar in Japanese patients. *Am J Dermatol* 28 (6): 472-7

226. Ueta M, Kweon MN, Sano Y, et al (2002). Immunosuppressive properties of human amniotic membrane for mixed lymphocyte reaction. *Clin Exp Immunol* 129 (3): 464-470
227. Vaughan JA, Adams T, (1967). Surface area of the cat. *J Appl Physiol* 22: 956
228. Victor-Vega C, Desai A, Montesinos MC, et al (2002). Adenosine A_{2A} receptor agonists promote more rapid wound healing than recombinant human platelet-derived growth factor (Becaplermin gel). *Inflammation* 26 (1): 19-24.
229. Volz A, Korge BP, Compton JG, et al (1993). Physical mapping of a functional cluster of epidermal differentiation genes on chromosome 1q21. *Genomics*. 18 (1): 92-99.
230. Walker HL, Mason AD, (1968). A standard animal burn. *J Trauma* 8: 1049-1051.
231. Wang J, Hihara E, (2004). A unified formula for calculating body surface area of humans and animals. *Eur J Appl Physiol* 92 (1-2): 13-17
232. Wang ZY, Freire E, McCarty RE, (1993). Influence of nucleotide binding site occupancy on the thermal stability of the F1 portion of the chloroplast ATP synthase. *J Biol Chem* 268(28): 20785-20790.
233. Wheeler EL, Berry DL, (1986). In vitro inhibition of mouse cell lipoxygenase by flavonoids: structure-activity relationships. *Carcinogenesis* 7 (1): 33-6.
234. Widdowson EM, (1983). How much food does man require? An evaluation of human energy needs. *Experientia* 1983; 44 (Suppl): 11
235. Winter GD, (2006). Some factors affecting skin and wound healing. *J. Tissue Viability*, 16(2): 20-3.
236. Wong P, Coulombe PA, (2003). Loss of keratin 6 (K6) proteins reveals a function for intermediate filaments during wound repair *J Cell Biol.* 163(2): 327-37

237. Wu P, Nakano S, Sugimoto N, (2002). Temperature dependence of thermodynamic properties for DNA/DNA and RNA/DNA duplex formation. *Eur J Biochem* 269 (12): 2821–2830.
238. Xia T, SantaLucia J Jr, Burkard ME, et al (1998). Thermodynamic parameters for an expanded nearest-neighbor model for formation of RNA duplexes with Watson-Crick base pairs. *Biochemistry* 37(42): 14719-35.
239. Yang Q, Chen S, Gao S, (2007). Synthesis and thermal properties of some complexes with 2-mercaptopyridine-3-carboxylic acid. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry* 90 (3): 881–885
240. Yeh FL, Lin WL, Shen HD, et al (1999). Changes in circulating levels of interleukin 6 in burned patients. *Burns* 25 (2): 131-6
241. Young SR, and Dyson M, (1990). Effect of therapeutic ultrasound on the healing of full-thickness excised skin lesions. *Ultrasonics* 28 (3): 175-180.
242. Zachariadis PC, Hadjikakou KS, Hadjiliadis N, et al (2003). Synthesis, study and structural characterization of new water soluble hexanuclear silver (I) cluster with the 2-mercapto-nicotinic acid with possible antiviral activity. *Inorganica Chimica Acta* 343: 361-365.
243. Zawacki BE, (1974). The natural history of reversible burn injury. *Surg Gynecol Obstet* 139: 867-872
244. Zhang HQ, Yip TP, Hui I, et al (2005). Efficacy of Moist Exposed Burn Ointment On Burns. *Journal of Burn Care and Rehabilitation* 26 (3): 247-251

