Σύγκριση των ιστολογικών μεταβολών στοματικού βλεννογόνου και δέρματος μετά την χρήση μονοπολικής ηλεκτροχειρουργικής και laser CO2 σε χοίρειο πειραματικό πρότυπο

Ουρανία ΣΧΟΙΝΟΧΩΡΙΤΗ', Ευανθία ΧΡΥΣΟΜΑΛΗ², Φώτιος ΤΖΕΡΜΠΟΣ³, Αλκηστη ΠΑΝΤΟΠΟΥΛΟΥ⁴, Δέσποινα ΠΕΡΡΕΑ⁵ Ιωάννης ΙΑΤΡΟΥ⁶

Κλινική Στοματικής και Γναθοπροσωπικής Χειρουργικής, Οδοντιατρική Σχολή Πανεπιστημίου Αθηνών (Διευθυντής: Καθηγητής Κ. Αλεξανδρίδης)

Comparison of histological changes induced on oral mucosa and skin by the use of monopolar electrosurgery and CO₂ laser in a porcine experimental model

Ourania SCHOINOHORITI, Evanthia CHRYSOMALI, Fotios TZERBOS, Alkisti PANTOPOULOU, Despina PERREA, Ioannis IATROU

Oral & Maxillofacial Surgery Clinic. Dental School, University of Athens, Greece (Head: Professor C. Alexandridis)

Ερευνητική εργασία Research paper

'Οδοντίατρος, Ιατρός, ΜSc, Διδάκτωρ Οδοντιατρικής Σχολής ΕΚΠΑ ²Επίκουρη Καθηγήτρια Στοματολογίας ΕΚΠΑ ³Επίκουρος Καθηγητής ΣΓΠΧ ΕΚΠΑ ⁴Κτηνίατρος, Διδάκτωρ Ιατρικής Σχολής ΕΚΠΑ ⁵Καθηγήτρια Ιατρικής Σχολής ΕΚΠΑ ⁶Αναπληρωτής Καθηγητής ΣΓΠΧ ΕΚΠΑ ΠΕΡΙΛΗΨΗ: Εισαγωγή: Κατά την διατομή ιστών με ηλεκτροχειρουργική ή laser CO2, υψίσυχνο ρεύμα ή υπέρυθρο φως αντίστοιχα μετατρέπονται σε θερμότητα, προκαλώντας ευεργετικές και επιβλαβείς ιστικές επιδράσεις. Σκοπός: Η παρούσα μελέτη στοχεύει στην ιστολογική και ανοσοϊστοχημική διερεύνηση των επιδράσεων των ανωτέρω εργαλείων σε δέρμα και στοματικό βλεννογόνο, σε σύγκριση με εκείνες του συμβατικού μαχαιριδίου. Υλικό και μέθοδοι: Χρησιμοποιήθηκαν 5 χοίροι στους οποίους πραγματοποιήθηκαν συγκρίσιμες τομές με τα ανωτέρω εργαλεία και συμβατικό μαχαιρίδιο σε 3 ανατομικές θέσεις. Αποτελέσματα: Εκτενέστερη παράπλευρη θερμική βλάβη σημειώθηκε περιφερικά τομών laser CO2, ενώ η έκταση της φλεγμονής περιφερικά ήταν μεγαλύτερη από εκείνη τομών μονοπολικής ηλεκτροχειρουργικής και συμβατικού μαχαιριδίου αλλά δεν διέφερε σημαντικά μεταξύ των τελευταίων δύο. Συμπεράσματα: Η χρήση laser CO2 συσχετίζεται με μεγαλύτερη θερμική βλάβη και νοσηρότητα στο χειρουργικό πεδίο.

ΛΕΞΕΙΣ ΚΛΕΙΔΙΑ: μονοπολική ηλεκτροχειρουργική, laser CO2, δέρμα, στοματικός βλεννογόνος, χοίροι.

Παρελήφθη: 10/03/2011 - Έγινε δεκτή: 12/05/2011

SUMMARY: Introduction: Upon use of monopolar electrosurgery or CO₂-laser high-frequency, current or infrared light respectively are converted to heat, inducing beneficial and undesired tissue effects.

Purpose: This study aimed to investigate histologically and immunohistochemically the effects of monopolar electrosurgery and CO₂-laser upon skin and oral mucosa and to compare them with those of scalpel.

Material and methods: 5 healthy swine were used. Standardized incisions were made by scalpel and the above instruments at 3 surgical sites.

Results: Lateral thermal damage to CO₂-laser-incisions and the inflammatory extent in skin sections were significantly greater than scalpel incisions but inflammation did not differ significantly between electrosurgical and scalpel incisions.

Conclusions: CO₂-laser was associated with greater thermal damage, impinging or epithelial proliferation and postoperative inflammation.

KEY WORDS: monopolar electrosurgery, CO₂-laser, skin, oral mucosa, pigs.

Paper received: 10/03/2011 - Accepted: 12/05/2011

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Το συμβατικό μαχαιρίδιο έχει υποκατασταθεί σε πλήθος εφαρμογών της Στοματικής και Γναθοπροσωπικής Χειρουργικής από εργαλεία ιστικής διατομής, όπως το laser CO2 και η μονοπολική ηλεκτροχειρουργική (MHX). Αυτή λειτουργεί σε πλήθος συχνοτήτων, από την συμβατική των 0.5-1 MHz μέχρι την σημαντικά υψηλότερη των 3.8-4 MHz. Για την περιγραφή της τελευταίας χρησιμοποιούνται οι όροι «μονοπολική ραδιοχειρουργική» ή «ραδιοσυχνότητες» αλλά ο όρος «υψίσυχνη μονοπολική ηλεκτροχειρουργική» προτιμάται στην παρούσα μελέτη προς αποφυγή σύγχυσης, σχετικά με τις αρχές λειτουργίας του εν λόγω εργαλείου.

Κατά την διατομή των ιστών με MHX ή laser CO2 μια μορφή ενέργειας (υψίσυχνο ηλεκτρικό ρεύμα ή υπέρυθρο φως αντίστοιχα) μετατρέπονται σε ενδοϊστικά παραγόμενη θερμότητα, εξασφαλίζοντας άριστη αιμόσταση. Επιπλέον, η διαχεόμενη στο χειρουργικό πεδίο θερμότητα ελαττώνει τον κίνδυνο επιμόλυνσης (μέσω περιορισμού του μικροβιακού φορτίου) και μικρομεταστάσεων (λόγω διεγχειρητικής διασποράς κακοήθων κυττάρων) κατά την χειρουργική θεραπεία κακοήθων εξεργασιών (Arashiro και συν. 1996, Sinha και Gallagher, 2003, Bornstein και συν. 2005).

Ωστόσο, η διαχεόμενη θερμότητα συνεπάγεται βλάβη των προσκείμενων ιστών, λόγω της μετουσίωσης ενδοκυττάριων και εξωκυττάριων πρωτεϊνών και της ανάπτυξης αλλοιώσεων τύπου πηκτικής νέκρωσης σε άλλοτε άλλη απόσταση από την τομή. Τα φαινόμενα αυτά περιγράφονται ως «παράπλευρη θερμική βλάβη» (ΠΘΒ), που θεωρείται υπεύθυνη για την διεγχειρητική (δυσανεξία ή πόνος) και μετεγχειρητική (διαταραχή λειτουργικότητας παρακειμένων δομών όπως ο οδοντικός πολφός, επιβράδυνση ή/και έκπτωση της επούλωσης, αντιαισθητική ουλή) νοσηρότητα, που συσχετίζεται με την χρήση των εργαλείων αυτών. Επιπλέον, η ΠΘΒ επηρεάζει την ευκρίνεια των ιστολογικών ορίων, περιορίζοντας σημαντικά την χρήση MHX και laser CO2 για την λήψη υλικού βιοψίας (Turner και συν. 1992, Wilder-Smith каг συν. 1997, Carew каг συν. 1998, Converse кај συν. 2001, Mison кај συν. 2003, Sinha kai Gallagher, 2003, Rizzo kai ouv. 2004, Silverman και συν. 2007, Kakarala και συν. 2010). Έτσι, κατά την εφαρμογή MHX και laser CO2 επιδιώκεται η όσο το δυνατόν πιο περιορισμένη διάχυση θερμότητας στο χειρουργικό πεδίο για την ελαχιστοποίηση της ΠΘΒ και της επακόλουθης νοσηρότητας.

Σκοπός της παρούσας ερευνητικής μελέτης είναι να αξιολογήσει και να συγκρίνει την έκταση της ΠΘΒ (εκφρασμένης ως απόστασης από την χειρουργική τομή, όπου διακρίνονταν αλλοιώσεις τύπου πηκτικής νέκρωσης) και τις επιπτώσεις της στην επούλωση (στον ρυθμό κυτταρικού πολλαπλασιασμού του καλυπτικού

INTRODUCTION

Steel scalpel has been substituted in many applications of Oral and Maxillofacial Surgery by tissue-incisional and/or ablative instruments. These include CO₂-laser and monopolar electrosurgery (MES), operating at various frequencies, from the conventional 0.5-1 MHz to the considerably higher 3.8-4.0 MHz. To differentiate the latter, the terms "monopolar radiosurgery" or radiofrequency" are used in the pertinent literature but the term "high-frequency monopolar electrosurgery" is preferred in the present study, to avoid possible confusion regarding the operating principles of this instrument.

Upon use of the above instruments a form of energy (i.e. high-frequency current and infrared light respectively) is converted to heat, produced within the operative site. These heat-generating instruments achieve an adequate level of hemostasis, when compared to scalpel; moreover, the tissue-diffused heat reduces the risks of intraoperative contamination (by limiting the bacterial population) and micrometastases (by preventing intraoperative dissemination of cancer cells) upon surgical treatment of malignant lesions (Arashiro et al. 1996, Sinha and Gallagher, 2003, Bornstein et al. 2005). However, heat diffusion also causes damage of the adjacent tissues, due to denaturation of intracellular and extracellular proteins, producing lesions compatible with coagulative necrosis within a varying distance from the incisional margins. These changes are described as "lateral thermal damage" (LTD), resulting in intraoperative (pain or discomfort) and postoperative (disturbed function of adjoining structures such as the dental pulp, delayed and/or impaired wound healing, conspicuous scarring) morbidity, associated with the clinical application of these instruments. Moreover, lateral thermal damage causes tissue distortion, affecting the accurate assessment of surgical margins and thus substantially limiting the use of MES and CO2-laser for biopsy harvesting (Turner et al. 1992, Wilder-Smith et al. 1997, Carew et al. 1998, Converse et al. 2001, Mison et al. 2003, Sinha & Gallagher, 2003, Rizzo et al. 2004, Silverman et al. 2007, Kakarala et al. 2010). Therefore, upon use of MES and CO2-laser diminishing heat-diffusion within the operative site is mandatory, to minimize lateral thermal damage and the subsequent morbidity. The objective of the present experimental study was to evaluate and compare the extent of lateral thermal damage (assessed as the maximum distance from the incision margins, where coagulative necrosis was detected) and its effects on the healing process (rate of epithelial cell proliferation and extent of inflammatory infiltration) of incisional wounds, created on porcine skin and oral mucosa by conventional monopolar electrosurgery (CMES), operating at IMHz, high-frequency

επιθηλίου και στην έκταση και ένταση της φλεγμονώδους διήθησης) του δέρματος και του στοματικού βλεννογόνου ανάμεσα σε συμβατική μονοπολική ηλεκτροχειρουργική (ΣΜΗΧ) συχνότητας Ι ΜΗΖ, υψίσυχνη μονοπολική ηλεκτροχειρουργική (ΥΜΗΧ) συχνότητας 3.8 MHZ και laser CO2 σε χοίρους. Οι εξεταζόμενες παράμετροι αξιολογούνται σε σχέση με τις αντίστοιχες καταγραφόμενες περιφερικά συγκρίσιμων τομών συμβατικού μαχαιριδίου, που αποτελούν την ομάδα ελέγχου.

ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Για την πραγματοποίηση της μελέτης χρησιμοποιήθηκαν 5 υγιείς ενήλικες χοίροι (3 άρρενες και 2 θήλεις), παρόμοιου σωματικού βάρους (22.8-25kg). Στην διάρκεια του πειράματος τα ζώα στεγάζονταν και σιτίζονταν σύμφωνα με διεθνείς προδιαγραφές υπό την καθοδήγηση κτηνιάτρου.

Η πειραματική διαδικασία πραγματοποιήθηκε στο Εργαστήριο Πειραματικής Χειρουργικής και Χειρουργικής Έρευνας «Ν.Σ. Χρηστέας», κατόπιν έγκρισης του σχετικού πρωτοκόλλου από την Διεύθυνση Κτηνιατρικής της Νομαρχίας Αθηνών.

Για την διενέργεια των τομών χρησιμοποιήθηκαν οι ακόλουθες συσκευές: a) συσκευή MHX της εταιρείας Martin (Medizin Technik D-78532, Tuttlingen), τύπου MD 62, που παράγει ρεύμα συχνότητας IMHz και αναφέρεται στην παρούσα μελέτη ως «συμβατική μονοπολική ηλεκτροχειρουργική» (ΣΜΗΧ), β) συσκευή laser CO2 της ετσιρείας Deka (Medical Electronics Laser Associated), τύπου SMART US-20D, συνεχούς κυματομορφής και γ) συσκευή ΜΗΧ της εταιρείας Ellman International (Hewlett, N.Y.), τύπου Surgitron FFPF EMC-Vet Surg, που παράγει ρεύμα συχνότητας 3.8MHz και αναφέρεται στην παρούσα μελέτη ως «υψίσυχνη μονοπολική ηλεκτροχειρουργική» (YMHX). Για την διενέργεια των τομών με τις συσκευές α) και γ) χρησιμοποιήθηκαν ευθέα ηλεκτρόδια τύπου βελόνας της ίδιας διαμέτρου και επιλέχθηκε η λειτουργία «cut(ting) mode».

Η πειραματική διαδικασία περιελάμβανε τα ακόλουθα στάδια:

- Προνάρκωση, νάρκωση, χημειοπροφύλαξη, χορήγηση κορτικοστεροειδών και αντισηψία στο χειρουργικό πεδίο
- Διενέργεια συγκρίσιμων τομών με μαχαιρίδιο, ΣΜΗΧ, ΥΜΗΧ και laser CO2 σε 3 θέσεις (πλάγια κοιλιακή χώρα, ραχιαία επιφάνεια γλώσσας, ελεύθερα και προσπεφυκότα ούλα άνω γνάθου) με τυχαία σειρά (α΄ χειρουργικός χρόνος)
- Λήψη δια συμβατικού μαχαιριδίου παρασκευασμάτων α΄ χειρουργικού χρόνου, εκτεινόμενων συμμετρικά γύρω από το ½ όλων των χειρουργικών τομών (ΣΜΗΧ, YMHX, laser CO2 και μαχαιριδίου) (Εικ. Ι)

monopolar electrosurgery (HFMES), operating at 3.8 MHz and CO₂-laser. All evaluated variables were investigated in comparison with the respective ones, registered adjacently to comparable steel scalpel incisions, acting as the control group.

MATERIAL AND METHODS

5 adult healthy swine (3 male and 2 female), of similar body weight (22.8-25kg) were used in this study. During the experimental procedure the animals were housed and fed in accordance with international standards, under the guidance of a veterinarian.

The experiment was conducted in the "N.S. Christeas" Laboratory of Experimental Surgery and Surgical Research, after approval of the relevant protocol by the Animal Care Committee of Athens' Prefecture.

Surgical incisions were performed with the following devices: a) a unit of the MD 62 type provided by Martin (Medizin Technik D-78532, Tuttlingen), operating at IMHz and described as "conventional monopolar electrosurgery" (CMES), b) a continuous wave CO2-laser unit of the SMART US-20D type provided by Deka and (Medical Electronics Laser Associated), c) a unit of the Surgitron FFPF EMC-Vet Surg provided by Ellman International (Hewlett, N.Y.), operating at 3.8 MHz and described as "high-frequency monopolar electrosurgery" (HFMES). Steel scalpel (No 15 blade) incisions were used as control group. CMES- and HFMES- incisions were performed by active electrodes of commensurate dimensions and geometry (needle-like electrodes), using the "cut(ting)" mode of both devices. Surgical procedure comprised the following stages:

- Sedation; administration of general anaesthesia, chemoprophylaxis and corticosteroids; all operative sites were cleansed and draped in a sterile fashion.
- Comparable incisions were performed by steel scalpel, CMES, HFMES and CO₂-laser in 3 predetermined sites (lateral abdominal skin, dorsal surface of the tongue, free and attached maxillary gingivae) in a randomly assigned sequence (day 1).



Εικ. Ι: Το χειρουργικό πεδίο στην πλάγια κοιλιακή χώρα αμέσως μετά την λήψη των παρασκευασμάτων του α΄ χειρουργικού χρόνου γύρω από το ήμισυ της χειρουργικής τομής.

Fig. I: The operative site at the lateral abdominal skin, immediately after specimen harvesting around the one half of the incision on day I.

- Λήψη δια συμβατικού μαχαιριδίου παρασκευασμάτων β΄ χειρουργικού χρόνου, εκτεινόμενων συμμετρικά γύρω από το άλλο ½ όλων των χειρουργικών τομών 48 ώρες μετά
- Ευθανασία των πειραματοζώων με βραδεία ΙV έγχυση προποφόλης και πεντοβαρβιτάλης και χορήγηση KCI για την πρόκληση κοιλιακής μαρμαρυγής.

Συνολικά αξιολογήθηκαν 120 παρασκευάσματα (60 του α΄ και 60 του β΄ χειρουργικού χρόνου), μονιμοποιημένα σε διάλυμα ουδέτερης φορμόλης και εγκιβωτισμένα σε blocks παραφίνης. Από καθένα λήφθηκαν 3 τομές πάχους 3-5μm, που βάφτηκαν με χρώση αιματοξυλίνης-ηωσίνης (Α-Η). Επίσης, εφαρμόσθηκε ανοσοϊστοχημική χρώση (με το μονοκλωνικό αντίσωμα MIB-1 της Dako) για την ανίχνευση της πυρηνικής πρωτεΐνης Κi-67 σε 40 ιστολογικές τομές (από δέρμα και γλώσσα) του β΄ χειρουργικού χρόνου.

Κατά την αξιολόγηση των ιστοτεμαχίων του α΄ χειρουργικού χρόνου καταγράφηκε η έκταση της ΠΘΒ, ως μέγιστη απόσταση σε μm από την χειρουργική τομή, όπου διακρίνονταν αλλοιώσεις τύπου πηκτικής νέκρωσης. Η έκφραση της Ki-67 μελετήθηκε σε ιστοτεμάχια του β΄ χειρουργικού χρόνου, ως αριθμός έντονα και μέτρια χρωσμένων πυρήνων της βασικής και υπερβασικής στιβάδας του καλυπτικού επιθηλίου, σε απόσταση μέχρι 500μm από την χειρουργική τομή. Επίσης, αξιολογήθηκε η φλεγμονώδης διήθηση στα ιστοτεμάχια δέρματος του β΄ χειρουργικού χρόνου, τόσο ως προς την έκταση (μέγιστη απόσταση σε μm από την χειρουργική τομή, όπου διακρίνονταν κύτταρα φλεγμονής), όσο και ως προς την ένταση (ως ήπιου, μέτριου και έντονου βαθμού).

Στατιστική ανάλυση

Για την διερεύνηση της συσχέτισης μεταξύ έκτασης ΠΘΒ και χρησιμοποιούμενου εργαλείου εφαρμόσθηκε ένα μοντέλο πολλαπλής γραμμικής παλινδρόμησης, με προσαρμογή των τιμών ανάλογα με την ανατομική θέση λήψης των ιστοτεμαχίων. Για την διερεύνηση της συσχέτισης μεταξύ έκφρασης της πρωτεΐνης Κi-67 στο καλυπτικό επιθήλιο και χρησιμοποιούμενου εργαλείου εφαρμόσθηκε ανάλογο μοντέλο πολλαπλής γραμμικής παλινδρόμησης, με προσαρμογή των τιμών ανάλογα με την ανατομική θέση λήψης των ιστοτεμαχίων. Για την διερεύνηση της συσχέτισης μεταξύ έκτασης φλεγμονής και χρησιμοποιούμενου εργαλείου στα ιστοτεμάχια δέρματος εφαρμόσθηκε το στατιστικό κριτήριο ΑΝΟΥΑ. Επιπλέον, η έκταση της προκαλούμενης από το συμβατικό μαχαιρίδιο φλεγμονής συγκρίθηκε με καθεμία χωριστά από τις αντίστοιχες μετρήσεις για ΣΜΗΧ, YMHX και laser CO2 με το κριτήριο Student's t-test.

- Specimens, symmetrically extending around one half of all the incisions (performed previously by steel scalpel, CMES, HFMES and CO₂-laser), were harvested by steel scalpel immediately afterwards (Fig. 1).
- Similar specimens, symmetrically extending around the other half of the incisions were harvested by steel scalpel 48 hours afterwards (day 3).
- The animals were euthanized by intravenous infusion of propophol and pentobarbital and KCL was administered to induce ventricular fibrillation.

120 specimens (60 harvested on day 1 and 60 harvested on day 3), fixed in 10% neutral-buffered formalin solution and embedded in paraffin were evaluated. 3 tissue sections of each specimen, 3-5µm thick were stained with hematoxylin-eosin (H-E). Moreover, appropriate immunohistochemical staining (using the MIB-1 monoclonal antibody, provided by Dako) was applied to detect the Ki-67 nuclear protein in sections, derived from skin and tongue specimens of day 3.

Upon evaluation of specimens harvested on day I the extent of LTD was assessed, by measuring the distance in μ m from the incision margins, where lesions compatible with coagulative necrosis were detected. Ki-67 expression was assessed in specimens harvested on day 3, by measuring the number of intensely and moderately stained nuclei in the basal and parabasal layers of the epidermis/epithelium within 500µm from the incision margins. Furthermore, the inflammatory infiltration was evaluated in skin specimens, harvested on day 3, as far as the extent (assessed as the maximum distance in µm from the incision margins, where inflammatory cells were detected) and intensity (classified as mild, moderate or intense, depending on the density of migrating inflammatory cells) were concerned.

Statistical analysis

To investigate the correlation between extent of LTD and applied instrument, a multiple linear regression model was used, after adjustment for the operative site (abdominal skin, tongue and gingivae). To investigate the correlation between epidermal/epithelial Ki-67 expression and applied instrument, a multiple linear regression model was also used, after adjustment for the operative site (abdominal skin and tongue). To determine the correlation between extent of inflammatory infiltration and applied instrument for skin specimens, an analysis of variance (ANOVA) was used. Moreover, the extent of inflammatory infiltration, produced by steel scalpel, was compared separately with each of the respective variables for CMES, HFMES and CO₂-laser, by using Student's t-test.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Α΄ Χειρουργικός χρόνος

Η μικροσκοπική εξέταση των χρωσμένων με Α-Η ιστοτεμαχίων του α΄ χειρουργικού χρόνου κατέδειξε αλλοιώσεις τύπου πηκτικής νέκρωσης περιφερικά των τομών ΣΜΗΧ, ΥΜΗΧ και laser CO2 (Εικ. 2). Οι αντιπροσωπευτικές τιμές της έκτασης της ΠΘΒ (εκφρασμένης ως μέγιστης απόστασης σε μm από την χειρουργική τομή, όπου διακρίνονταν αλλοιώσεις τύπου πηκτικής νέκρωσης στην μεγέθυνση x10) ανά εργαλείο ιστικής διατομής και ανατομική θέση λήψης των ιστοτεμαχίων παρουσιάζονται στον Πίνακα Ι. Τα αποτελέσματα της πολλαπλής γραμμικής παλινδρόμησης για την διερεύνηση της συσχέτισης μεταξύ ΠΘΒ και χρησιμοποιούμενου εργαλείου παρατίθενται στον Πίνακα 2.

Β΄ Χειρουργικός χρόνος

Εκτίμηση της έκφρασης της πυρηνικής πρωτεΐνης Ki-67 Η μικροσκοπική εξέταση των ανοσοϊστοχημικά χρωσμένων για την ανίχνευση της πρωτεΐνης Κί-67 ιστοτεμαχίων του β΄ χειρουργικού χρόνου κατέδειξε έντονη έκφρασή της στην βασική και υπερβασική στιβάδα του επιθηλίου ενώ στο υποκείμενο χόριο παρατηρήθηκαν θετικά για την Ki-67 κύτταρα, που περιελάμβαναν κυρίως φλεγμονώδη και ενδοθηλιακά κύτταρα, ινοβλάστες και γραμμωτές μυϊκές ίνες (Εικ. 3). Οι αντιπροσωπευτικές τιμές της έκφρασης της Κί-67 (ως αριθμού έντονα και μέτρια χρωσμένων πυρήνων βασικής και υπερβασικής στιβάδας καλυπτικού επιθηλίου σε απόσταση 500μm από την χειρουργική τομή στην μεγέθυνση x20) ανά εργαλείο ιστικής διατομής και ανατομική θέση λήψης των ιστοτεμαχίων παρουσιάζονται στον Πίνακα 3. Τα αποτελέσματα της πολλαπλής γραμμικής παλινδρόμησης για την διερεύνηση συσχέτισης μεταξύ έκφρασης Ki-67 και χρησιμοποιούμενου εργαλείου παρατίθενται στον Πίνακα 4.



Εικ. 2: Ιστοπαθολογικές αλλοιώσεις τύπου πηκτικής νέκρωσης σε: α) ιστοτεμάχιο δέρματος, όπου είχε πραγματοποιηθεί χειρουργική τομή με laser CO2 (μεγέθυνση x100, A-H) και β) ιστοτεμάχιο «ούλων», όπου είχε πραγματοποιηθεί χειρουργική τομή με laser CO2 (μεγέθυνση x400, A-H).

Fig. 2: Histopathologic lesions compatible with coagulative necrosis (arrows) in a) specimen, harvested from the skin on day I, where a CO2-laser-incision had been performed (magnification $\times 100$, H-E) and b) specimen, harvested from the gingivae on day I, where a CO2-laser-incision had been performed (magnification $\times 400$, H-E).

RESULTS

Day I

Histologic evaluation of the H-E stained sections from specimens harvested on day I revealed lesions compatible with coagulative necrosis, adjacently to incisions performed by CMES, HFMES and CO₂-laser (Fig. 2). The representative values of LTD-extent (assessed as the maximum distance in µm from the incision margins, where coagulative necrosis was detected at a magnification ×10), depending on the applied instrument and the operative site are presented in Table I. Multiple linear regression results regarding the correlation between LTD-extent and applied instrument are presented in Table 2.

Day 3

Evaluation of Ki-67 expression

Histologic evaluation of the immunohistochemically stained for the detection of Ki-67 nuclear protein sections of day 3 revealed intense expression of the marker in the basal and parabasal layer of the epidermis/epithelium; Ki-67 stained cells, mostly comprising inflammatory and endothelial cells, fibroblasts and muscle fibers were also detected in the sub-epithelial connective tissue (Fig. 3). The representative values of Ki-67 expression (assessed as the number of intensely and moderately stained nuclei in the basal and parabasal layers of the epidermis/epithelium within 500µm from the incision margins), depending on the applied instrument and the operative site are presented in Table 3. Multiple linear regression results regarding the correlation between Ki-67 expression and applied instrument are presented in Table 4.



Εικ. 3: α) Ιστοτεμάχιο δέρματος του β΄ χειρουργικού χρόνου, όπου διακρίνεται η έκφραση της πρωτεΐνης Κι-67 στο καλυπτικό επιθήλιο και κατά τόπους σε φλεγμονώδη κύτταρα του χορίου (μεγέθυνση x40, ανοσοϊστοχημική χρώση με αντίσωμα MIB-1) και β) ιστοτεμάχιο γλώσσας του β΄ χειρουργικού χρόνου, όπου διακρίνεται η έκφραση της πρωτεΐνης Ki-67 (μεγέθυνση x100, ανοσοϊστοχημική χρώση με αντίσωμα MIB-1).

Fig. 3: a) Specimen harvested from the abdominal skin on day 3, where Ki-67 protein is expressed in the epidemis and focally in inflammatory cells of the sub-epithelial connective tissue (magnification x40, staining with the MIB-1 antibody) and b) Specimen harvested from the tongue on day 3, where Ki-67 expression is evident (magnification x40, staining with the MIB-1 antibody).

Πίνακας 1.

Αντιπροσωπευτικές τιμές της έκτασης της παράπλευρης θερμικής βλάβης (εκφρασμένης ως μέγιστης απόστασης σε μm από την τομή, όπου διακρίνονταν αλλοιώσεις τύπου πηκτικής νέκρωσης στην μεγέθυνση x10) ανά εργαλείο ιστικής διατομής και ανατομική θέση λήψης των ιστοτεμαχίων.

Ανατομική θέση/ιστός	Εργαλείο	N	Ελάχιστη (μm)	25% (μm)	Διάμεση (μm)	75% (μm)	Μέγιστη (μm)	SD (µm)	Μέση (μm)
Κοιλιά	Μαχαιρίδιο	5	0	0	0	0	0	0	0
	ΣΜΗΧ	5	45	120	150	200	380	126	179
	Laser CO ₂	4	250	250	260	460	650	197	355
	YMHX	5	120	120	150	180	300	75	174
Γλώσσα	Μαχαιρίδιο	5	0	0	0	0	0	0	0
	ΣΜΗΧ	5	50	120	180	180	210	64	148
	Laser CO ₂	5	180	190	200	250	250	34	214
	YMHX	5	160	160	190	200	220	26	186
Ούλα	Μαχαιρίδιο	5	0	0	0	0	0	0	0
	ΣΜΗΧ	5	130	150	170	180	250	46	176
	Laser CO ₂	5	220	230	250	310	500	116	302
	YMHX	5	130	160	170	200	200	29	172

(ΣΜΗΧ = συμβατική μονοπολική ηλεκτροχειρουργική, ΥΜΗΧ = υψίσυχνη μονοπολική ηλεκτροχειρουργική)

Table 1.

Representative values of the extent of lateral thermal damage (assessed as the maximum distance in μ m from the incision margins, where lesions compatible with coagulative necrosis were detected at a magnification x10), depending on the applied instrument and the operative site.

Operative site/tissue	Instrument	N	Min (µm)	25% (μm)	Median (µm)	75% (μm)	Max (µm)	SD (µm)	Mean (µm)
Abdominal	Scalpel	5	0	0	0	0	0	0	0
skin	CMES	5	45	120	150	200	380	126	179
	CO2-laser	4	250	250	260	460	650	197	355
	HFMES	5	120	120	150	180	300	75	174
Tongue	Scalpel	5	0	0	0	0	0	0	0
	CMES	5	50	120	180	180	210	64	148
	CO2-laser	5	180	190	200	250	250	34	214
	HFMES	5	160	160	190	200	220	26	186
Gingivae	Scalpel	5	0	0	0	0	0	0	0
	CMES	5	130	150	170	180	250	46	176
	CO2-laser	5	220	230	250	310	500	116	302
	HFMES	5	130	160	170	200	200	29	172

(CMES = conventional monopolar electrosurgery, HFMES = high-frequency monopolar electrosurgery)

Εκτίμηση της φλεγμονώδους διήθησης

Η μικροσκοπική εξέταση των χρωσμένων με Α-Η ιστοτεμαχίων του β΄ χειρουργικού χρόνου κατέδειξε διάχυτη ποικίλου βαθμού φλεγμονώδη διήθηση μικτού τύπου (κυρίως μονοπύρηνα-μακροφάγα και ουδετερόφιλα πολυμορφοπύρηνα, καθώς και λεμφοκύτταρα και πλασματοκύτταρα). Η φλεγμονή κατελάμβανε το χόριο και το υποκείμενο μυϊκό υπόστρωμα ενώ ενδοεπιθηλιακά διακρινόταν φλεγμονώδης διήθηση κατά περιο-

Evaluation of inflammatory infiltration

Histologic examination of H-E stained sections from specimens harvested on day 3 revealed diffuse varying inflammatory infiltration of a mixed pattern (featuring predominantly mononuclear-macrophages and polymorphonuclear cells, followed by lymphocytes and plasma cells). The inflammation extended mostly into the sub-epithelial connective tissue and subjacent muscular substrate but scattered inflammatory cells were

Πίνακας 2.

Αποτελέσματα της πολλαπλής γραμμικής παλινδρόμησης για την ανάδειξη συσχέτισης μεταξύ έκτασης παράπλευρης θερμικής βλάβης και εργαλείων ιστικής διατομής, ανάλογα με την ανατομική θέση λήψης των ιστοτεμαχίων.

Μεταβλητές	Κατηγορίες	Συντελεστής παλινδρόμησης b	SE(b)	P-value
Εργαλείο	Μαχαιρίδιο ΣΜΗΧ	baseline 0.168	0.029	< 0.0001
	Laser CO ₂ YMHX	0.287 0.177	0.029	<0.0001 <0.0001
Ανατομική	Κοιλιά	baseline		
θέση/ιστός	Γλώσσα Ούλα	-0.037 -0.012	0.025 0.025	0.143 0.638

(ΣΜΗΧ = συμβατική μονοπολική ηλεκτροχειρουργική, YMHX = υψίσυχνη μονοπολική ηλεκτροχειρουργική)

Table 2.

Multiple linear regression results, determining the correlation between extent of lateral thermal damage and applied instruments, depending on the operative site.

Variables	Categories	Regression coefficient b	SE(b)	P-value
Instrument	Scalpel	baseline	0.020	<0.0001
	CMES CO ₂ -laser	0.168	0.029	< 0.0001
	HFMES	0.177	0.029	<0.0001
Operative	Abdomen	baseline		
site/tissue	Tongue	-0.037	0.025	0.143
	Gingivae	-0.012	0.025	0.638

(CMES = conventional monopolar electrosurgery,

HFMES = high-frequency monopolar electrosurgery)

Πίνακας 3.

Αντιπροσωπευτικές τιμές της έκφρασης (δηλαδή του αριθμού των έντονα και μέτρια χρωσμένων ανοσοϊστοχημικά πυρήνων της βασικής και υπερβασικής στιβάδας του καλυπτικού επιθηλίου σε απόσταση 500μm από την τομή στην μεγέθυνση x20) της πρωτεΐνης Ki-67 ανά εργαλείο ιστικής διατομής και ανατομική θέση λήψης των ιστοτεμαχίων

Ανατομική θέση/ιστός	Εργαλείο	N	Ελάχιστη (μm)	25% (μm)	Διάμεση (μm)	75% (μm)	Μέγιστη (μm)	SD (µm)	Μέση (μm)
Κοιλιά	Μαχαιρίδιο	5	19.00	23.00	37.00	43.00	52.00	13.75	34.80
	ΣΜΗΧ	5	21.00	32.00	32.00	45.00	45.00	10.17	35.00
	Laser CO ₂	5	35.00	41.00	84.00	94.00	100.00	30.56	70.80
	YMHX	5	25.00	30.00	35.00	52.00	65.00	16.65	41.40
Γλώσσα	Μαχαιρίδιο	5	30.00	34.00	37.00	52.00	60.00	12.80	42.60
	ΣΜΗΧ	5	35.00	61.00	63.00	72.00	75.00	15.79	61.20
	Laser CO ₂	5	47.00	62.00	64.00	65.00	80.00	11.72	63.60
	YMHX	5	37.00	42.00	44.00	68.00	100.00	26.25	58.20

(ΣΜΗΧ = συμβατική μονοπολική ηλεκτροχειρουργική, ΥΜΗΧ = υψίσυχνη μονοπολική ηλεκτροχειρουργική)

Table 3.

Representative values of the Ki-67 expression (assessed as the number of intensely and moderately stained nuclei in the basal and parabasal layers of the epidermis/epithelium within 500µm from the incision margins at a magnification x20), depending on the applied instrument and the operative site

Operative site/tissue	Instrument	N	Min (µm)	25% (μm)	Median (µm)	75% (μm)	Max (µm)	SD (µm)	Mean (µm)
Abdominal	Scalpel	5	19.00	23.00	37.00	43.00	52.00	13.75	34.80
skin	CMES	5	21.00	32.00	32.00	45.00	45.00	10.17	35.00
	CO ₂ -laser	5	35.00	41.00	84.00	94.00	100.00	30.56	70.80
	HFMES	5	25.00	30.00	35.00	52.00	65.00	16.65	41.40
Tongue	Scalpel	5	30.00	34.00	37.00	52.00	60.00	12.80	42.60
	CMES	5	35.00	61.00	63.00	72.00	75.00	15.79	61.20
	CO ₂ -laser	5	47.00	62.00	64.00	65.00	80.00	11.72	63.60
	HFMES	5	37.00	42.00	44.00	68.00	100.00	26.25	58.20
(CMES = con)	ventional monopolar e	electrosurae	erv HEMES	= hiah-frea	uency mon	opolar elect	rosurgery)		

Πίνακας 4.

Αποτελέσματα της πολλαπλής γραμμικής παλινδρόμησης για την ανάδειξη συσχέτισης μεταξύ έκφρασης της πρωτεΐνης Ki-67 και εργαλείων ιστικής διατομής στο δέρμα της κοιλιάς και τον βλεννογόνο της γλώσσας

Μεταβλητές	Κατηγορίες	Συντελεστής παλινδρόμησης b	SE(b)	P-value
Εργαλείο	Μαχαιρίδιο	baseline		
	ΣΜΗΧ	9.400	8.478	0.273
	Laser CO ₂	28.500	8.478	0.002
	YMHX	11.100	8.478	0.197
Ανατομική	Κοιλιά	baseline		
θέση/ιστός	Γλώσσα	10.900	5.973	0.077
(ΣΜΗΧ = συμ	βατική μονοπολ	ική ηλεκτροχειρ	ουργική,	

YMHX = υψίσυχνη μονοπολική ηλεκτροχειρουργική)

χές (Εικ. 4). Επιπλέον, στις προερχόμενες από την γλώσσα και τα ούλα τομές παρατηρήθηκαν στις ανώτερες επιθηλιακές στιβάδες μικροαποστημάτια με πολυμορφοπύρηνα και αθροίσεις μικροοργανισμών (κυρίως κόκκων) (Εικ. 5). Αντίθετα, δεν διαπιστώθηκε αξιοσημείωτος αριθμός μικροοργανισμών ή παρουσία μικροαποστηματίων στις προερχόμενες από το δέρμα τομές. Οι αντιπροσωπευτικές τιμές των μετρήσεων (δηλαδή της μέγιστης απόστασης σε μm από την χειρουργική τομή, όπου διακρίνονταν φλεγμονώδη κύτταρα στην μεγέθυνση x20) στα ιστοτεμάχια δέρματος του β΄ χειρουργικού χρόνου παρουσιάζονται στον Πίνακα 5.

Στις περισσότερες τομές η φλεγμονώδης διήθηση ήταν διάχυτη, μέτριου και κατά τόπους έντονου βαθμού περιφερικά της τομής, μην επιτρέποντας απόλυτη κατηγοριοποίηση της μεταβλητής «ένταση φλεγμονής» και κατά συνέπεια στατιστική ανάλυση. Σε όλα τα ιστοτεμάχια, όπου είχαν πραγματοποιηθεί τομές laser CO₂,



Εικ. 4: Ιστοτεμάχιο δέρματος του β΄ χειρουργικού χρόνου, όπου διακρίνεται ήπια φλεγμονώδης διήθηση (μεγέθυνση x40, A-H). **Fig. 4:** Specimen harvested from the skin on day 3, where diffuse, moderate to intense inflammatory infiltration is evident (magnification x40, H-E).

Table 4.

Multiple linear regression results, determining the correlation between Ki-67 expression and applied instruments for the abdominal skin and the tongue oral mucosa.

Variables	Categories	Regression coefficient b	SE(b)	P-value
Instrument	Scalpel	baseline		
	CMES	9.400	8.478	0.273
	CO ₂ -laser	28.500	8.478	0.002
	HFMES	11.100	8.478	0.197
Operative	Abdomen	baseline		
site/tissue	Tongue	10.900	5.973	0.077
(CMES = con	ventional monop	olar electrosurg	ery,	

HFMES = high-frequency monopolar electrosurgery)

also evident in the epidermis / epithelium (Fig. 4). Moreover, in specimens harvested from the tongue and gingivae micro-abscesses with polymorphonuclear cells and accumulations of microorganisms (mostly of cocci) were detected in the upper epithelial layers (Fig. 5). On the contrary, no bacterial contamination or micro-abscesses were detected in skin specimens. The representative values of the inflammatory extent (expressed as the maximum distance in μ m from the incision margins, where inflammatory cells were detected at a magnification x20) for skin specimens harvested on day 3 are presented in Table 5.

In most sections the inflammatory infiltration was diffuse, moderate or focally intense at the incision margins, thus not allowing either accurate grading of the variable "inflammatory intensity" or subsequent statistical analysis. In all specimens, concerning incisions performed by CO₂-laser, inflammation was focally intense. The analysis of variance (ANOVA), with a p-value of 0.0049



Εικ. 5: Ιστοτεμάχιο γλώσσας του β΄ χειρουργικού χρόνου, όπου διακρίνεται φλεγμονώδης διήθηση και μικροαποστημάτια (μεγέθυνση x1200, Α-Η).

Fig. 5: Specimen harvested from the tongue on day 3, where inflammatory infiltration is evident and intra-epithelial microabscesses (arrows) are noted (magnification ×1200, H-E).

Πίνακας 5.

Αντιπροσωπευτικές τιμές της έκτασης της φλεγμονώδους διήθησης (εκφρασμένης ως μέγιστης απόστασης σε μm από την τομή, όπου διακρίνονται φλεγμονώδη κύτταρα στην μεγέθυνση x20 στα ιστοτεμάχια δέρματος του β χειρουργικού χρόνου) ανά εργαλείο ιστικής διατομής

Εργαλείο	N	Ελάχιστη (μm)	Διάμεση (μm)	Μέγιστη (μm)	SD (µm)	Μέση (μm)
Μαχαιρίδιο	5	90	190	250	63.3	180
ΣΜΗΧ	5	70	215	350	99.4	215
Laser CO ₂	5	300	310	350	19.4	317
YMHX	5	80	145	210	49.1	150

(ΣΜΗΧ = συμβατική μονοπολική ηλεκτροχειρουργική, YMHX = υψίσυχνη μονοπολική ηλεκτροχειρουργική)

η φλεγμονή ήταν εστιακά έντονου βαθμού. Το στατιστικό κριτήριο ΑΝΟVΑ, δίνοντας τιμή p = 0.0049, κατέδειξε στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ έκτασης φλεγμονής και χρησιμοποιούμενου εργαλείου στα ιστοτεμάχια δέρματος. Η διαφορά μεταξύ μαχαιριδίου και laser CO₂ βρέθηκε στατιστικά σημαντική (p = 0.0017). Δεν διαπιστώθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ μαχαιριδίου και ΣΜΗΧ (p = 0.525) ή μαχαιριδίου και YMHX (p = 0.427). Τα αποτελέσματα απεικονίζονται στο διάγραμμα της Εικόνας 6.

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η διεθνής βιβλιογραφία βρίθει κλινικών και πειραματικών μελετών, που μελετούν τις ιστικές επιδράσεις διαφόρων εναλλακτικών εργαλείων ιστικής διατομής, όπως η μονοπολική ηλεκτροχειρουργική (MHX) ποικίλων συχνοτήτων και το laser CO₂, σε σύγκριση με εκείνες του συμβατικού μαχαιριδίου (Turner και συν. 1992, Courey και συν. 1999, Silverman και συν. 2007, Hemández-Divers και συν. 2008 και 2009)

Η μονοπολική ηλεκτροχειρουργική έχει χρησιμοποιηθεί ως εργαλείο ιστικής διατομής με πλήθος συχνοτήτων, από την συμβατική των 0.5-1 MHz έως την σημαντικά υψηλότερη των 3.8-4.0 MHz. Η τελευταία εισήχθη σχετικά πρόσφατα στην κλινική πράξη, περιγράφεται συνήθως ως «μονοπολική ραδιοχειρουργική» ή «ραδιοσυχνότητες» και έχει συσχετισθεί με ελάχιστη παράπλευρη θερμική βλάβη (Powell και συν. 1997, Weber και συν. 2002, Laeseke και συν. 2005). Προκειμένου να διευκρινισθούν τα πιθανά πλεονεκτήματα του εν λόγω εργαλείου έναντι της συμβατικής μονοπολικής ηλεκτροχειρουργικής, αποφασίσθηκε η συγκριτική αξιολόγηση των ιστικών επιδράσεών τους αλλά προτιμήθηκε η χρήση του όρου «υψίσυχνη μονοπολική ηλεκτροχειρουργική» προς αποφυγή σύγχυσης, όσον α-

Table 5.

Representative values of the inflammatory extent (assessed as the maximum distance in μ m from the incision margins,

where inflammatory cells in skin specimens of day 3 were detected at a magnification x20), depending on the applied instrument

Instrument	N	Min (in µm)	Median (in µm)	Max (in µm)	SD (µm)	Mean (in µm)
Scalpel	5	90	190	250	63.3	180
CMES	5	70	215	350	99.4	215
CO ₂ -laser	5	300	310	350	19.4	317
HFMES	5	80	145	210	49.1	150

(CMES = conventional monopolar electrosurgery, HFMES = high-frequency monopolar electrosurgery)

(p = 0.0049), demonstrated a statistically significant correlation between inflammatory extent and applied instrument for skin specimens. The difference of the variable between steel scalpel and CO₂-laser was also found statistically significant (p = 0.0017). However, no statistically significant differences were found regarding the inflammatory extent between steel scalpel and CMES (p = 0.525) or steel scalpel and HFMES (p = 0.427). The results are depicted in the chart of Figure 6.



Εικ. 6: Γράφημα, όπου απεικονίζεται η σύγκριση των αντιπροσωπευτικών τιμών της έκτασης της φλεγμονώδους διήθησης (απόστασης σε μm από την τομή, όπου διακρίνονταν κύτταρα φλεγμονής στην μεγέθυνση x20) μεταξύ των διαφόρων εργαλείων ιστικής διατομής στα ιστοτεμάχια δέρματος του β΄ χειρουργικού χρόνου (όπου: ΣΜΗΧ= συμβατική μονοπολική ηλεκτροχειρουργική, YMHX= υψίσυχνη μονοπολική ηλεκτροχειρουργική). Fig. 6: Chart, depicting a comparison of the representative values of the inflammatory extent (maximum distance from the incision in μm, where inflammatory cells were detected at a magnification x20) among the investigated instruments for skin specimens, harvested on day 3 (CMES = conventional monopolar electrosurgery, HFMES = high-frequency monopolar electrosurgery). φορά την «φύση» και τις αρχές λειτουργίας του συγκεκριμένου εργαλείου.

Η παρούσα μελέτη αποτελεί την πρώτη προσπάθεια σύγκρισης συμβατικής μονοπολικής ηλεκτροχειρουργικής (ΣΜΗΧ), υψίσυχνης μονοπολικής ηλεκτροχειρουργικής (YMHX) και laser CO2, όσον αφορά την παράπλευρη θερμική βλάβη (ΠΘΒ) δέρματος και στοματικού βλεννογόνου και τις επιπτώσεις της στην επούλωση σε χοίρειο πειραματικό πρότυπο. Η αδυναμία απόλυτης τυποποίησης του βάθους των τομών επέβαλε την αξιολόγηση μόνο στοματικού επιθηλίου/επιδερμίδας και συνδετικού ιστού και όχι της υποκείμενης μυϊκής στιβάδας. Επιπλέον, καθώς κατά την χρήση laser CO2 δεν υπάρχει επαφή μεταξύ εργαλείου διατομής και ιστικής επιφάνειας αλλά σημείο εστίασης της δέσμης, το εύρος των τομών laser CO2 δεν ήταν συγκρίσιμο με των υπολοίπων τομών. Αν και σκοπός της μελέτης δεν ήταν η αξιολόγηση των χαρακτηριστικών της χειρουργικής τομής αλλά της ΠΘΒ πέραν αυτής, όπως επισημαίνουν οι Rizzo και συν. (2004), οι προκαλούμενες από το laser CO2 παράπλευρες φωτοθερμικές μεταβολές διαφοροποιούνται ανάλογα με την διάμετρο του σημείου εστίασης της δέσμης.

Η εφαρμογή πειραματικού πρωτοκόλλου για την επίτευξη του σκοπού της μελέτης επιβάλλεται για λόγους ηθικής και δεοντολογίας, καθώς και για θέματα πρακτικής ευκολίας. Η επιλογή του συγκεκριμένου ζωικού προτύπου βασίσθηκε στην διαπιστωμένη ύπαρξη σημαντικών αναλογιών ως προς τα χαρακτηριστικά δέρματος και βλεννογόνων και τους μηχανισμούς επούλωσης μεταξύ ανθρώπου και χοίρου. Κατά συνέπεια, τα συναγόμενα βάσει χοίρειου προτύπου συμπεράσματα ισχύουν σε κάποιο βαθμό για τους ανθρώπους, χωρίς να αποτελούν «άμεσα μεταβιβάσιμα προγνωστικά» των αντιστοίχων επιδράσεων σ' αυτούς (Wilder-Smith και συν. 1997, Wang kai ouv. 2009, Cercadillo-Ibarguren kai ouv. 2010). Η ιστολογική εξέταση των παρασκευασμάτων του α΄ χειρουργικού χρόνου κατέδειξε μεγαλύτερη έκταση ΠΘΒ περιφερικά τομών laser CO2 σε σύγκριση με την καταγραφόμενη περιφερικά τομών ΣΜΗΧ και ΥΜΗΧ, που ήταν συγκρίσιμες μεταξύ τους. Τα αποτελέσματα αυτά βρίσκονται σε συμφωνία με εκείνα αρκετών μελετών (Turner και συν. 1992, Molgat και συν. 1995, Schemmel каг συν. 1997, Courey каг συν. 1999, Hernández-Divers και συν. 2008 και 2009) αλλά διαφοροποιούνται από τα αντίστοιχα άλλων (Basu και συν. 1988, Pogrel кал оиу. 1990, Palmer кал McGill, 1992, Arashiro και συν. 1996, Liboon και συν. 1997, Silverman ка оич. 2007).

Η ανίχνευση της πρωτεΐνης Ki-67 χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα μελέτη με σκοπό την εκτίμηση του κυτταρικού πολλαπλασιασμού του καλυπτικού επιθηλίου περιφερικά χειρουργικών τομών, που είχαν πραγματοποιηθεί με τα εξεταζόμενα εργαλεία. Διαφορές ως προς την έκφραση αυτού του δείκτη κυτταρικού πολ-

DISCUSSION

Current literature abounds in clinical and experimental studies, investigating the effects of various alternative surgical and/or ablative instruments, such as monopolar electrosurgery and CO₂-laser, in comparison to those of steel scalpel (Turner et al. 1992, Courey et al. 1999, Silverman et al. 2007, Hernández-Divers et al. 2008, and 2009).

Monopolar electrosurgery has been applied in a variety of frequencies, ranging from the conventional 0.5-1 MHz to the considerably higher 3.8-4.0MHz. The latter has been relatively recently introduced in the clinical practice, usually described as "monopolar electrosurgery" or "radiofrequency" and has been demonstrated to produce minimal lateral thermal damage (Powell et al. 1997, Weber et al. 2002, Laeseke et al. 2005). In order to elucidate the potential advantages of this instrument over the conventional monopolar electrosurgery, we decided to comparatively investigate their tissue effects but preferred the term "high-frequency monopolar electrosurgery" over "monopolar radiosurgery" to avoid confusion, regarding the "nature" and operative principles of this instrument.

The present study constitutes an attempt to compare conventional monopolar electrosurgery (CMES), highfrequency monopolar electrosurgery (HFMES) and CO2-laser regarding the lateral thermal damage (LTD), produced in skin and oral mucosa and its impact on wound healing in a porcine experimental model. The impossibility to absolutely standardize the incision depth imposed evaluation of only the epidermis/oral epithelium and sub-epithelial connective tissue, omitting assessment of the underlying muscular substrate. Furthermore, due to the lack of contact between the surgical instrument and the tissue surface during the non-contact CO2-laser surgery, the depth of the incisions, performed by this instrument was not comparable to the one of those, performed by the other investigated instruments. Though the study aimed to evaluate LTD at the incision margins, regardless of the incision characteristics, Rizzo et al (2004) have pointed out that CO2-laser-induced lateral photothermal changes may depend on the spot size of the laser beam, thus differentiating the CO2-laser-group from the other experimental groups.

The experimental design of the study was indicated for both ethical and practical reasons. The specific animal model was chosen thanks to the similarity of structural characteristics and wound healing mechanisms between porcine and human tissues. Nevertheless, conclusions deduced on the basis of animal models should only be considered as useful indicators rather than directly transferable predictors of potential effects in humans (Wilder-Smith et al. 1997, Wang et al. 2009, λαπλασιασμού στην παρυφή των διαφόρων χειρουργικών τομών ερμηνεύθηκαν ως αποτέλεσμα της διαφορετικής έκτασης της ΠΘΒ, που προκλήθηκε από καθένα από τα εξεταζόμενα εργαλεία.

Η ανίχνευση της πρωτεΐνης Κί-67 μόνο στις προερχόμενες από την γλώσσα (και όχι από τα ούλα) ιστολογικές τομές αποφασίσθηκε για την εξάλειψη πιθανών συγχυτικών παραγόντων. Οι επικρατούσες στα ούλα μηχανολειτουργικές επιβαρύνσεις κατά την μάσηση είναι δυνατόν να αποτελούν συγχυτικό παράγοντα, όσον αφορά την μετεγχειρητική φλεγμονή και την εξέλιξη της επανεπιθηλιοποίησης. Παρά τις σχετικά ελεγχόμενες συνθήκες σίτισης η διάρκεια της μάσησης ήταν αδύνατο να τυποποιηθεί ή να προσδιορισθεί ακριβώς και εκτεινόταν σε αρκετές ώρες ανά 24ωρο. Ανάλογες μηχανολειτουργικές επιβαρύνσεις απουσιάζουν εντελώς ή θεωρούνται αμελητέες στον βλεννογόνο της γλώσσας. Ακόμη, η απουσία χειλέων και ουλοπαρειακής αύλακας στα πειραματόζωα οδήγησε σε επέκταση των χειρουργικών τομών του «ούλων» μέχρι το δέρμα, δυσχεραίνοντας σε ορισμένες θέσεις την συρραφή του τραύματος κατά τον α΄ χειρουργικό χρόνο. Έτσι, κατέστη αναγκαία η επούλωση κατά β΄ σκοπό με ενδεχόμενες σημαντικές επιπτώσεις στην μετεγχειρητική φλεγμονή και την εξέλιξη της επανεπιθηλιοποίησης.

Η έκφραση της πρωτεΐνης Κi-67 στο καλυπτικό επιθήλιο περιφερικά τομών laser CO₂, βρέθηκε πολύ μεγαλύτερη της αντίστοιχης περιφερικά τομών ΣΜΗΧ ή ΥΜΗΧ, οι οποίες δεν διέφεραν σε βαθμό στατιστικά σημαντικό μεταξύ τους. Αυτό βρίσκεται σε συμφωνία με τα αποτελέσματα του α΄ χειρουργικού χρόνου, καθώς ο πολλαπλασιασμός των επιθηλιακών κυττάρων περιφερικά της χειρουργικής τομής ως απάντηση στο θερμικό τραύμα ΜΗΧ και laser CO₂ αναμένεται ανάλογος της έκτασης της θερμικής βλάβης. Δεδομένου ότι η προκαλούμενη από το laser CO₂ ΠΘΒ είναι εκτενέστερη, οι μηχανισμοί αποκατάστασής της, εφόσον δεν συντρέχουν ανασταλτικοί παράγοντες (π.χ. λοίμωξη), είναι εύλογο να κινητοποιούνται σε διαφορετικό βαθμό.

Σύμφωνα με κάποιους ερευνητές η επανεπιθηλιοποίηση τομών συμβατικού μαχαιριδίου προηγείται χρονικά εκείνης τομών MHX και laser CO2 (Hambley και συν. 1988, Sanders ка Reinisch, 2000, Sinha ка Gallagher, 2003). Ωστόσο, άλλοι δεν διαπιστώνουν στατιστικά σημαντικές διαφορές στην εξέλιξη της επανεπιθηλιοποίησης τομών, που πραγματοποιήθηκαν με αυτά τα εργαλεία (Luomanen και συν. 1994, Schemmel και συν. 1997). Κατά την άποψη ορισμένων ερευνητών η παρατηρούμενη άμεσα μετεγχειρητικά σχετική επιβράδυνση της επανεπιθηλιοποίησης υπεραντισταθμίζεται μέσω επιτάχυνσης των επουλωτικών μηχανισμών στην συνέχεια, ώστε τελικά η ολοκλήρωση της επανεπιθηλιοποίησης τομών MHX ή laser CO2 να μην υπολείπεται χρονικά εκείνης τομών συμβατικού μαχαιριδίου (Molgat και συν. 1995, Converse кан σич. 2001, Mison кан σич. 2003).

Cercadillo-Ibarguren et al. 2010).

Histologic evaluation of specimens harvested on day I demonstrated a more extensive LTD adjacently to CO₂-laser-incisions in comparison with similar CMESand HFMES- incisions. These results are in accordance with those of several studies (Turner et al. 1992, Molgat et al. 1995, Schemmel et al. 1997, Courey et al. 1999, Hernández-Divers et al. 2008 and 2009) but differ from those of others (Basu koi al. 1988, Pogrel et al. 1990, Palmer and McGill, 1992, Arashiro et al. 1996, Liboon et al. 1997, Silverman et al. 2007).

Detection of the Ki-67 nuclear protein was used in the present study, in order to evaluate the epithelial cell proliferation adjacently to incisions, performed by the investigated instruments. Differences regarding the expression of this cell proliferation marker at the incision margins were ascribed to the varying extent of LTD, produced by each investigated instrument.

Detection of the Ki-67 nuclear protein only in specimens harvested from the abdominal skin and the tongue (= intentional exclusion of the specimens harvested from the gingivae) was considered mandatory, to obliterate potential confusing factors. The prevailing in the gingivae masticatory mechano-functional forces may act as a confusing factor, as far as the postoperative inflammation and re-epithelialization process are concerned. Despite the relatively controlled feeding of the experimental animals it was impossible to standardize or accurately quantitate the mastication that lasted several hours per day. Mechano-functional forces of this sort are absent or considered negligible at the dorsal surface of the tongue. Moreover, the lack of either vermillion or gingivo-buccal groove led to an extension of the gingival incisions to the peri-oral skin, making suturing of the resulting incisional wounds of day I extremely difficult. Thus, closure by secondary intention was warranted focally, with a potential impact on the postoperative inflammation and re-epithelialization progress.

Epidermal/epithelial Ki-67 expression, adjacently to CO₂-laser-incisions, was found to be significantly more extensive than the ones, adjacently to CMES- or HFMES- incisions that did not differ significantly. This observation is in accordance with the results regarding the extent of LTD of day I, because the epithelial cell proliferation at the incision margins, instigated by the thermal trauma of monopolar electrosurgery and CO₂-laser should be proportional to the extent of LTD; given the more extensive LTD, produced by CO₂-laser, rehabilitory mechanisms are prone to be activated differently (more intensely), in the absence of inhibitory factors, such as bacterial contamination.

According to some authors re-epithelialization of steel scalpel incisions occurs faster than the one of electrosurgical or CO₂-laser- incisions (Hambley et al. 1988, Η καταγραφόμενη στον β΄ χειρουργικό χρόνο της παρούσας μελέτης εντονότερη και εκτενέστερη φλεγμονώδης διήθηση περιφερικά τομών laser CO2 σε ιστοτεμάχια δέρματος ήταν αναμενόμενη με βάση τα αποτελέσματα του πρώτου χειρουργικού χρόνου, δηλαδή δεδομένης της εκτενέστερης ΠΘΒ περιφερικά τομών laser CO2. Καθώς η πειραματική διαδικασία ολοκληρώθηκε την τρίτη μετεγχειρητική ημέρα, δεν κατέστησαν δυνατές, αφενός η διερεύνηση πιθανών περαιτέρω διαφορών ως προς τα φλεγμονώδη φαινόμενα και αφετέρου η συνολική εκτίμηση της επούλωσης με βάση τα ευρήματα που αξιολογήθηκαν.

Αρκετές μελέτες καταγράφουν εντονότερα φλεγμονώδη φαινόμενα περιφερικά τομών laser CO2 σε σύγκριση με τα παρατηρούμενα περιφερικά τομών συμβατικού μαχαιριδίου (Johnson και συν. 1997, Liboon και συν. 1997, Romanos και συν. 1999, Converse και συν. 2001, Mison και συν. 2003). Αντίθετα, μικρότερης έκτασης φλεγμονώδης διήθηση περιφερικά τομών laser CO2 και MHX έναντι τομών συμβατικού μαχαιριδίου σημειώνεται από άλλους ερευνητές κατά την πρώιμη μετεγχειρητική περίοδο (Pogrel και συν. 1990 και 1993, Arashiro και συν. 1996). Ωστόσο, σημαντικός αριθμός μελετών δεν διαπιστώνει στατιστικά σημαντικές διαφορές με βάση ιστολογικά, ιστοχημικά και ανοσοϊστοχημικά κριτήρια ως προς την ένταση/έκταση και ποιότητα των φλεγμονωδών διεργασιών (σχετική αναλογία πληθυσμών και λειτουργικότητα φλεγμονωδών κυττάρων), που λαμβάνουν χώρα κατόπιν διατομής ποικίλων ιστών με τα προαναφερθέντα εργαλεία (Mison και συν. 2003, Zaffe кан оиу. 2004, Azevedo кан оиу. 2009).

Επιπλέον, στην πλειονότητα των προερχόμενων από τον στοματικό βλεννογόνο ιστοτεμαχίων της μελέτης διαπιστώθηκε κατά τόπους έντονου βαθμού φλεγμονώδης διήθηση και παρουσία μικροαποστηματίων σε άμεση γειτνίαση με αθροίσεις μικροοργανισμών, κυρίως κόκκων. Έτσι, φαίνεται ότι τα εξελισσόμενα στον στοματικό βλεννογόνο φλεγμονώδη φαινόμενα συσχετίζονταν όχι μόνο με το μηχανικό ή/και θερμικό τραύμα των χειρουργικών τομών αλλά και με την επιμόλυνση του χειρουργικού πεδίου. Αντίθετα, παρόμοια ευρήματα απουσίαζαν από τα ιστοτεμάχια δέρματος χάρη στην σχετική αντισηψία, που επιτεύχθηκε μετεγχειρητικά με την τοποθέτηση αποστειρωμένου συγκολλούμενου προστατευτικού επιδέσμου. Αντίστοιχα μέτρα αντισηψίας δεν κατέστη εφικτό να εφαρμοσθούν ενδοστοματικά, όπου το χειρουργικό πεδίο ήταν εξαιρετικά μικροβιοβριθές, λόγω της συνεχιζόμενης σίτισης των πειραματοζώων από το στόμα. Δεδομένου ότι σκοπός της μελέτης ήταν η εκτίμηση της προκαλούμενης από το μηχανικό/θερμικό τραύμα φλεγμονής, κρίθηκε σκόπιμη η αξιολόγηση της φλεγμονώδους διήθησης μόνο στα ιστοτεμάχια δέρματος.

Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης, όσον αφορά την προκαλούμενη από τα εξεταζόμενα εργαλεία Sanders and Reinisch, 2000, Sinha and Gallagher, 2003). However, other studies have not proved statistically significant differences regarding the progress of reepithelialization among these instruments (Luomanen et al. 1994, Schemmel et al. 1997). According to several studies the relatively slow epithelial cell proliferation observed during early wound healing of electrosurgical and CO₂-laser-incisions is over-compensated in the following stages; thus, the overall time to complete reepithelialization does not seem to differ significantly between electrosurgical or CO₂-laser- and steel scalpel incisions (Molgat et al. 1995, Converse et al. 2001, Mison et al. 2003).

The demonstrated in the present study more extensive inflammatory infiltration, adjacently to incisions performed by CO₂-laser in skin specimens, was anticipated given the more extensive LTD, produced by this instrument on day I. As the observation period ended 48 hours after performance of the incisions, further investigation of potential differences among the instruments, concerning the progress and resolution of inflammation or the overall evaluation of wound healing was impossible.

Several studies have demonstrated a more extensive inflammatory process adjacently to CO2-laser incisions, when compared with steel scalpel incisions (Johnson et al. 1997, Liboon et al. 1997, Romanos et al. 1999, Converse et al. 2001, Mison et al. 2003). Conversely, a less extensive inflammatory infiltration was detected during the early postoperative period adjacently to electrosurgical and CO2-laser-incisions, when compared with steel scalpel incisions (Pogrel et al. 1990 and 1993, Arashiro et al. 1996). Nevertheless, a multitude of studies has not affirmed statistically significant differences regarding the intensity/extent or the quality of the inflammatory process (relative proportion and function of inflammatory cell populations), activated after the creation of incisional wounds in various tissuetypes by the above-mentioned instruments (Mison et al. 2003, Zaffe et al. 2004, Azevedo et al. 2009).

Moreover, the majority of oral mucosa specimens of the present study exhibited a focally intense inflammatory infiltration, with evident micro-abscesses in close proximity to accumulations of microorganisms (mostly cocci of the oral flora). Thus, the inflammatory process taking place at the oral mucosa was not instigated solely by the mechanic and/or thermal trauma of the incisions but also by the bacterial contamination of the operative site. On the contrary no contamination was noted in specimens harvested from the skin, thanks to the postoperatively placed sterile dressing. The application of similar antiseptical measures was impossible intraorally, where the operative sites were exposed to the bacterial flora, due to the per os feeding of the experimental animals. Since the aim of the study was to ΠΘΒ, διαφέρουν σε άλλοτε άλλο βαθμό από εκείνα μελετών αντίστοιχου σχεδιασμού (διπλά τυφλά τυχαιοποιημένων μελετών σε ποικίλα ζωικά πρότυπα) και συγκρίσιμης μεθοδολογίας. Τα αντικρουόμενα αποτελέσματα των μελετών αυτών αποδίδονται σε πλήθος παραγόντων, που σχετίζονται με: α) τα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά και τις παραμέτρους λειτουργίας των χρησιμοποιούμενων εργαλείων ιστικής διατομής, β) το είδος των διατεμνόμενων ιστών, από το οποίο προσδιορίζονται πλήθος παραγόντων όπως η περιεκτικότητα σε νερό κι άλλα χρωμοφόρα, η ηλεκτρική αγωγιμότητα, η κυτταροβρίθεια, η αγγειοβρίθεια και κυρίως η θερμική αγωγιμότητα, γ) το επιλεγέν ζωικό πρότυπο ή και δ) αδιευκρίνιστους μέχρι στιγμής παράγοντες (Wilder-Smith ка συν. 1995, Arashiro ка συν. 1996, Wilder-Smith кан συν. 1997, Coolen кан συν. 2008, Wang кан συν. 2009, Cercadillo-Ibarguren και συν. 2010).

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Με βάση τα αποτελέσματα της μελέτης συνάγονται τα εξής συμπεράσματα:

- Η προκαλούμενη από το laser CO2 παράπλευρη θερμική βλάβη είναι σημαντικά μεγαλύτερη από εκείνη, που προκαλείται από την μονοπολική ηλεκτροχειρουργική, συμβατική ή υψίσυχνη.
- 2. Η εξέλιξη της επανεπιθηλιοποίησης παρουσιάζει διαφορές ανάμεσα στα εξεταζόμενα εργαλεία ιστικής διατομής: ο κυτταρικός πολλαπλασιασμός του καλυπτικού επιθηλίου είναι μεγαλύτερος σε βαθμό στατιστικά σημαντικό περιφερικά τομών laser CO2 σε σύγκριση με τον παρατηρούμενο περιφερικά τομών μονοπολικής ηλεκτροχειρουργικής, συμβατικής ή υψίσυχνης.
- 3. Στα παρασκευάσματα δέρματος η έκταση και ένταση της φλεγμονώδους διήθησης είναι μεγαλύτερη σε βαθμό στατιστικά σημαντικό περιφερικά τομών laser CO2. Ωστόσο, η φλεγμονή είναι συγκρίσιμη περιφερικά τομών συμβατικού μαχαιριδίου και μονοπολικής ηλεκτροχειρουργικής, συμβατικής ή υψίσυχνης. Ακόμη, η ένταση και έκταση της φλεγμονής διαφέρουν σημαντικά μεταξύ δέρματος και στοματικού βλεννογόνου λόγω της παρουσίας λοιμογόνων παραγόντων στην στοματική κοιλότητα.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ/REFERENCES

- Arashiro DS, Rapley JW, Cobb CM, Killoy WJ: Histologic evaluation of porcine skin incisions produced by CO₂ laser, electrosurgery and scalpel. Int J Periodontics Restorative Dent 16: 479-491, 1996
- Azevedo LH, de Sousa SC, Correa L, de Paula Eduardo C, Dagli ML, Romanos G, Migliari DA: Mast cell concentration in the wound

compare the inflammatory process, induced by the mechanic/thermal injury of the incisions, the evaluation of the inflammatory extent was considered purposeful, only in specimens harvested from the abdominal skin. The results of the present study, regarding LTD produced by the investigated tools, may differ in a varying extent from those of methodologically comparable and similarly designed studies (double-blind randomized controlled experimental studies in various animal models). These conflicting data may be attributed to numerous factors, such as: a) different parameter configurations of the operating devices, investigated in each study, b) different tissue-types, determining various factors such as water and pigment content, electric conductivity, cellularity, vascularity and most importantly thermal conductivity, c) different animal models, used in each study and d) other unidentified to date factors (Wilder-Smith et al. 1995, Arashiro et al. 1996, Wilder-Smith et al. 1997, Coolen et al. 2008, Wang et al. 2009, Cercadillo-Ibarguren et al. 2010).

CONCLUSIONS

Based on the results of this study the following conclusions may be deduced:

- I CO₂-laser produced a significantly more extensive lateral thermal damage than monopolar electrosurgery, either conventional or high-frequency.
- 2. The re-epithelialization progress exhibited significant differences among the investigated instruments: epithelial cell proliferation rate was significantly greater adjacently to CO₂-laser-incisions, when compared with monopolar electrosurgery-incisions, either conventional or high-frequency.
- 3. The extent and intensity of inflammatory infiltration was significantly greater adjacently to CO₂-laser-incisions, performed on the abdominal skin. However, the same variables were comparable between steel scalpel and electrosurgical incisions. Moreover, the extent and intensity of inflammatory infiltration differed between skin and oral mucosa, due to the bacterial contamination of the latter.

healing process of incisions made by different instruments. Lasers Med Sci 24: 585-590, 2009

Basu MK, Frame JW, Rhys Evans PH: Wound healing following partial glossectomy using the CO2 laser, diathermy and scalpel: A histological study in rats. J Laryngol Otol 102: 322-327, 1988

Bornstein MM, Winzap-Kälin C, Cochran DL, Buser D: The CO2 laser for excisional biopsies of oral lesions: A case series study. Int J Periodontics Restorative Dent 25: 221-229, 2005

Carew JF, Ward RF, LaBruna A, Torzilli PA, Schley WS: Effects of

scalpel, electrocautery and CO2 and KTP lasers on wound healing in rat tongues. Laryngoscope 108: 373-380, 1998

- Cercadillo-Ibarguren I, España-Tost A, Arnabat-Domínguez J, Valmaseda-Castellón E, Berini-Aytés L, Gay-Escoda C: Histologic evaluation of thermal damage produced on soft tissues by CO₂, Er,Cr:YSGG and diode lasers. Med Oral Patol Oral Cir Bucal 15: e912-918, 2010
- Converse GM IV, Ries WR, Reinisch L: Comparison of wound healing using the CO₂ laser at 10.6 µm and 9.55 µm. Laryngoscope 111: 1231-1236, 2001
- Coolen NA, Vlig M, van den Bogaerdt AJ, Middelkoop E, Ulrich MM: Development of an in vitro burn wound model. Wound Repair Regen 16: 559-567, 2008
- Courey MS, Fomin D, Smith T, Huang S, Sanders D, Reinisch L: Histologic and physiologic effects of electrocautery, CO₂ laser and radiofrequency injury in the porcine soft palate. Laryngoscope 109: 1316-1319, 1999
- Hambley R, Hebda PA, Abell E, Cohen BA, Jegasothy BV: Wound healing of skin incisions produced by ultrasonically vibrating knife, scalpel, electrosurgery, and carbon dioxide laser. J Dermatol Surg Oncol 14: 1213-1217, 1988
- Hernández-Divers S, Stahl SJ, Cooper T, Blas-Machado U: Comparison between CO₂ laser and 4.0 MHz radiosurgery for incising skin in white Carneau pigeons (Columba livia). J Avian Med Surg 22: 103-107, 2008
- Hernández-Divers SJ, Stahl SJ, Rakich PM, Blas-Machado U: Comparison of CO₂ laser and 4.0 MHz radiosurgery for making incisions in the skin and muscles of green iguanas (Iguana iguana). Vet Rec 164: 13-16, 2009
- Johnson MA, Gadacz TR, Pfeifer EA, Given KS, Gao X: Comparison of CO₂ laser, electrocautery, and scalpel incisions on acutephase reactants in rat skin. Am Surg 63: 13-16, 1997
- Kakarala K, Faquin WC, Deschler DG: A comparison of histopathologic margin assessment after steel scalpel, monopolar electrosurgery, and ultrasonic scalpel glossectomy in a rat model. Laryngoscope 120: S155, 2010
- Laeseke PF, Sampson LA, Haemmerich D, Brace CL, Fine JP, Frey TM, Winter TC, Lee FT Jr: Multiple-electrode radiofrequency ablation: simultaneous production of separate zones of coagulation in an in vivo porcine liver model. J Vasc Interv Radiol 16: 1727-1735, 2005
- Liboon J, Funkhouser W, Terris DJ: A comparison of mucosal incisions made by scalpel, CO₂ laser, electrocautery and constantvoltage electrocautery. Otolaryngol Head Neck Surg 116: 379-385, 1997
- Luomanen M, Rauhamaa-Makinene R, Meurman JH, Kosloff T, Tiitta O: Healing of rat mouth mucosa after irradiation with CO₂, Nd:YAG and CO₂-Nd:YAG combination lasers. Scand J Dent Res 102: 223-228, 1994
- Mison MB, Steficek B, Lavagnino M, Teunissen BD, Hauptman JG, Walshaw R: Comparison of the effects of the CO₂ surgical laser and conventional surgical techniques on healing and wound tensile strength of skin flaps in the dog. Vet Surg 32(2): 153-160, 2003
- Molgat YM, Pollack SV, Hurwitz JJ, Bunas SJ, Manning T, McCormack KM, Pinnell SR: Comparative study of wound healing in porcine skin with CO₂ laser and other surgical modalities: preliminary findings. Int J Dermatol 34: 42-47, 1995

Διεύθυνση επικοινωνίας: **Σχοινοχωρίτη Ουρανία** Αρκαδίας 12 153 44 Γέρακας Αττικής e-mail: schoinohoriti@yahoo.com

- Palmer SE, McGill LD: Thermal injury by in vitro incision of equine skin with electrosurgery, radiosurgery, and a carbon dioxide laser. Vet Surg 21: 348-350, 1992
- Pogrel MA, McCracken KJ, Daniels TE: Histologic evaluation of the width of soft tissue necrosis adjacent to carbon dioxide laser incisions. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 70: 564-568, 1990
- Pogrel MA, Pham HD, Guntenhöner M, Stem R: Profile of hyaluronidase activity distinguishes carbon dioxide laser from scalpel wound healing. Ann Surg 217: 196-200, 1993
- Powell NB, Riley RW, Troel RJ, Blumen MB,Guilleminault C: Radiofrequency volumetric reduction of the tongue. A Porcine pilot study for the treatment of obstructive sleep apnea syndrome. Chest 111: 1348-1355, 1997.
- Rizzo LB, Ritchey JW, Higbee RG: Histologic comparison of skin biopsy specimens collected by use of carbon dioxide or 810-nm diode lasers from dogs. J Am Vet Med Assoc 225: 1562-1566, 2004
- Romanos G, Chong Huat Siar, Ng K, Chooi Gait Toh: A preliminary study of healing of superpulsed carbon dioxide laser incisions in the hard palate of monkeys. Lasers Surg Med 24: 368-374, 1999
- Sanders DL, Reinisch L: Wound healing and collagen thermal damage in 7.5-microsec CO₂ laser skin incisions. Laser Surg Med 26: 22-32, 2000
- Schemmel M, Haefner HK, Selvaggi SM, Warren JS, Termin CS, Hurd WW: Comparison of the ultrasonic scalpel to CO₂ laser and electrosurgery in terms of tissue injury and adhesion formation in a rabbit model. Fertil Steril 67: 382-386, 1997
- Silverman EB, Read RW, Boyle CR, Cooper R, Miller WW, McLaughlin RM: Histologic comparison of canine skin biopsies collected using monopolar electrosurgery, CO₂ laser, radiowave surgery, skin biopsy punch and scalpel. Vet Surg 36(1): 50-56, 2007
- Sinha U, Gallagher LA: Effects of steel scalpel, ultrasonic scalpel, CO2 laser and monopolar and bipolar electrosurgery on wound healing in Guinea pig oral mucosa. Laryngoscope 113: 228-236, 2003
- Turner RJ, Cohen RA, Voet RL, Stephens SR, Weinstein SA: Analysis of tissue margins of cone biopsy specimens obtained with "cold knife", CO₂ and Nd:YAG lasers and a radiofrequency surgical unit. J Reprod Med 37: 607-610, 1992
- Wang XQ, Liu PY, Kempf M, Cuttle L, Chang AH, Wong M, Kravchuk O, Mill J, Kimble RM: Burn healing is dependent on burn site: a quantitative analysis from a porcine burn model. Burns 35: 264-269, 2009
- Weber JC, Navarra G, Jiao LR, Nicholls JP, Jensen SL, Habib NA: New technique for liver resection using heat coagulative necrosis. Ann Surg 236: 560-563, 2002
- Wilder-Smith P, Dang J, Kurosaki T, Neev J: The influence of laser parameter configurations at 9.3 microns on incisional and collateral effects in soft tissue. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 84: 22-27, 1997
- Zaffe D, Vitale MC, Martignone A, Scarpelli F, Botticelli AR: Morphological, histochemical, and immunocytochemical study of CO₂ and Er:YAG laser effect on oral soft tissues. Photomed Laser Surg 22: 185-189, 2004

Address:

Schoinohoriti Ourania

- 12 Arkadias str. 153 44 Gerakas, Athens - Greece
- e-mail: schoinohoriti@yahoo.com

92

Αρχεία Ελληνικής Στοματικής & Γναθοπροσωπικής Χειρουργικής/ Hellenic Archives of Oral and Maxillofacial Surgery