



Italian Accademy Wound Care
Tesi di diploma

Direttore Prof. Claudio Ligresti

**Uso della risonanza quantica molecolare
nel trattamento delle ferite difficili:
dati clinici e di laboratorio**

Docente: Dott. Marco Fraccalvieri

Candidato: Dott. Marco Salomone

Introduzione alle ferite difficili

Il processo di cicatrizzazione delle ferite è caratterizzato da tre fasi: a) infiammazione, b) proliferazione (o fibroplasia), c) maturazione (o rimodellamento) (1) (2). Anche se descritte come distinte, queste fasi in realtà si sovrappongono durante il processo di cicatrizzazione. Le ferite che cicatrizzano in maniera appropriata progrediscono ordinatamente attraverso queste fasi nel giro di 8 settimane circa. Le ferite con problemi di cicatrizzazione sono spesso “bloccate” in una di queste fasi, il più delle volte nella fase infiammatoria e proliferativa (3) (4), trasformando la ferita in cronica, caratterizzata da tessuto senescente.

Esiste un gran numero di fattori in grado di ostacolare la cicatrizzazione e predisporre il paziente allo sviluppo di lesioni croniche (1) (5). Questi includono sia fattori sistemici come malnutrizione, disordini metabolici e farmaci, sia fattori locali come ipossia tissutale, infezione, scarsa idratazione del letto della ferita (6).

La gran parte delle ferite croniche condividono aspetti comuni quali i) invecchiamento cellulare locale e sistemico, ii) danneggiamento da ripetuta ischemia-riperfusion, iii) colonizzazione batterica con conseguente risposta infiammatoria (7). Inoltre le ferite croniche sono caratterizzate da difetto di rimodellamento della matrice extracellulare e da arresto della fase di riepitelizzazione, il che comporta un prolungamento dello stato infiammatorio. Il perdurare dell'infiammazione impedisce il passaggio alla fase proliferativa e quindi alla guarigione.

Diventa fondamentale riportare un'ulcera cronica ad una fase attiva, rimuovendo il tessuto senescente e riattivando le fasi del processo di cicatrizzazione.

Qualità di vita del paziente con ferite difficili, importanza del dolore ad esse associato

Le ferite croniche sono una fonte importante di morbilità per il paziente, che ha bisogno di frequenti medicazioni, e conseguente notevole impegno per recarsi spesso presso l'ambulatorio di riferimento. Le ferite difficili portano a una considerevole disabilità, in particolare quando associate a dolore cronico nella sede della ferita. Per questi motivi hanno dunque un impatto significativo sulla salute pubblica e sul dispendio di risorse sanitarie (8).

Vi è un costante incremento della coscienza dell'importanza nel trattamento del dolore associato ai pazienti con ulcere agli arti inferiori. Talvolta il dolore richiede terapia farmacologica, spesso responsabile di assuefazione e necessità di incremento delle dosi. Diventa importante quindi trattare il dolore anche con metodiche alternative non farmacologiche. Ad esempio si portano riferimenti sulla terapia a pressione negativa (9) e l'elettrostimolazione (10) (11)

Terapie di supporto alla preparazione del letto della ferita

Le ferite dei tessuti molli sono comunemente trattate con un'adeguata preparazione del letto della ferita attraverso *debridement* chirurgico e non-chirurgico, con l'applicazione di medicazioni avanzate e bendaggi.

A questi interventi si associano un adeguato supporto nutrizionale ed una terapia antibiotica sistemica, laddove necessario.

Qualora l'eziologia dell'ulcera cronica sia risolvibile o controllabile, diventa fondamentale una terapia mirata, per fare alcuni esempi, ri-vascularizzazione nelle ulcere di origine arteriosa, bendaggio in quelle dovute ad insufficienza venosa, compenso metabolico in quelle di origine diabetica.

Talvolta, nonostante la terapia eziologica mirata, permangono casi di difficile gestione che, oltre alla terapia chirurgica (o in preparazione a questa), richiedono terapie tecnologiche aggiuntive per accelerare la cicatrizzazione e per diminuire sia il disagio e la ridotta qualità della vita del paziente, oltre ai costi sanitari legati al tipico prolungamento dell'assistenza.

Alcune di queste tecnologie utilizzate nella comune pratica clinica sono rappresentate dalla bioingegneria, dalla medicina rigenerativa e dalla terapia a pressione negativa.

Negli ultimi anni sta crescendo l'applicazione di tecnologie, talvolta utilizzate in altri campi della medicina, come la stimolazione elettrica, gli ultrasuoni, l'ossigenoterapia e la carbossi-terapia che possono essere di supporto nel raggiungimento dell'obiettivo della guarigione delle ferite.

Introduzione all'utilizzo delle onde elettromagnetiche ed elettrostimolazione in campo vulnologico

La prima applicazione empirica dell'elettrostimolazione (ES) risale al diciassettesimo secolo, quando per la prima volta furono usate foglie d'oro per il trattamento delle ulcere cutanee (12).

La cute umana intatta possiede un potenziale endogeno che varia da 10 a 60mV, mantenuto principalmente dal corretto funzionamento della Na/K ATPase; nelle ulcere croniche si ha una perdita di questa corrente fisiologica. (13) (14)

Il razionale dell'utilizzo dell'elettrostimolazione nelle ulcere cutanee è quello di aiutare a ripristinare la corretta corrente fisiologica.

Tipologie differenti di correnti elettriche sono state utilizzate e studiate: corrente diretta, corrente pulsata a bassa frequenza, corrente pulsata ad alto voltaggio, campi elettromagnetici pulsati e correnti alternate. (15) La caratteristica peculiare dell'utilizzo dei campi elettromagnetici ed il suo successo si esprime proprio in quelle ulcere non responsive alle terapie convenzionali (16)

Sperimentalmente i campi elettromagnetici aumentano l'attività proliferativa e diminuiscono la secrezione di chemochine infiammatorie (17). Le cellule endoteliali mostrano un riarrangiamento di alcune componenti del citoscheletro con un incremento nell'espressione di VEGFR- 2, coinvolto nell'angiogenesi. (18)

In considerazione dei possibili effetti sugli organismi viventi, sono aumentati negli ultimi anni gli studi sugli effetti e le applicazioni dei campi elettromagnetici (19) in ambito biomedico, soprattutto nella medicina rigenerativa. Infatti, la manipolazione dell'ambiente elettromagnetico sembrerebbe favorire il processo di riparazione a seguito di un trauma, l'attenuazione dello stato infiammatorio, l'angiogenesi e la sintesi di matrice extracellulare (20)

In clinica i campi elettromagnetici sono stati utilizzati principalmente nella terapia delle ulcere cutanee con buoni risultati, ma non ancora ottimali. In alcuni studi (21), dove pazienti affetti da ulcere varicose croniche alla gamba erano trattati con onde elettromagnetiche a bassissima frequenza per 15 minuti 2 volte a settimana, non si riscontravano significative differenze rispetto ai pazienti sottoposti alla terapia convenzionale, a parte un calo delle dimensioni delle lesioni e della circonferenza della gamba. Al contrario, uno studio (22) riporta che dopo trattamento con onde elettromagnetiche per 2-3 ore al giorno per tre volte a settimana, il 69% delle lesioni venivano curate e più del 50% dei pazienti guariva nell'arco di 4 mesi.

È possibile che questi diversi risultati ottenuti siano dovuti all'utilizzo di differenti tipi correnti elettromagnetiche, numero di applicazioni, apparecchiature, e altro ancora.

Nonostante ciò, a tutt'oggi *l'International Pressure Ulcer Panel* (23) ritiene l'elettrostimolazione uno dei trattamenti delle ulcere da pressione con più alto livello di prove di efficacia.

Alcune correnti dirette o pulsate monofasiche stimolano principalmente il fenomeno della galvanotassi. (24) La galvanotassi è la proprietà dei cheratinociti di migrare verso la ferita sotto un gradiente di potenziale, attratti dalle cariche di polarità opposte. (25) Questo fenomeno aumenta la migrazione dei leucociti, fibroblasti e permette la riepitelizzazione. (26)

Altre correnti alternate invece stimolano nervi cutanei sensitivi, (24) che possono giocare un ruolo importante nella riparazione tissutale, tramite l'incremento del flusso ematico e la sensibilità del tessuto circostante la ferita.

Altre proprietà attribuite all'applicazione di onde elettromagnetiche sono: (26) Sintesi di DNA e proteine, regolando i recettori dell'insulina e del TGF- β sui fibroblasti

- a) Effetti antibatterici tramite meccanismo batteriostatico o battericida (presenza di cationi d'argento depositati in vivo, variazione del pH, reclutamento elettroforetico di fattori antimicrobici, generazione locale di calore)
- b) Angiogenesi, ossigenazione tissutale e attivazione della cascata del complemento.

Da queste applicazioni e studi nasce la ricerca della risonanza quantica molecolare.

La differenza fondamentale risiede nella tipologia della stimolazione elettromagnetica, che impiega alte frequenze con bassa potenza.

Obiettivo dello studio sperimentale

In questo lavoro viene presentato uno studio preliminare e la valutazione di un protocollo sull'utilizzo di un presidio medico basato sul principio della risonanza quantica molecolare, di nuova introduzione nel campo vulnologico.

Teoria della Risonanza Quantica Molecolare

La teoria della Risonanza Quantica Molecolare (RQM) si basa sulla teoria dei quanti e parte dal presupposto che esiste un valore quantico di energia capace di rompere qualsiasi tipo di legame senza far aumentare l'energia cinetica delle molecole colpite, e quindi senza provocare aumento di temperatura. (27)

Un quanto di un'onda elettromagnetica possiede un'energia pari a $E = h \times f$, dove (h) è la costante di Plank e (f) la frequenza dell'onda. (19) Poiché dalla fisica quantistica è noto che un sistema assorbe energia per quantità discrete dette quanti di energia, si può dedurre che anche un legame molecolare assorba un'energia quantizzata, il cui valore dipende dalla frequenza dell'onda. La teoria afferma che per permettere la rottura di un legame molecolare, l'energia deve essere in risonanza ossia avere uguale valore con l'energia di quel legame pari a $E_m = k \times f$, dove (k) è una costante che dipende dal tipo di onda ed (f) è la frequenza dell'onda. (19)

Al fine di ottimizzare l'efficienza della RQM, intesa come capacità di scindere il maggior numero di legami chimici, è necessario generare più frequenze col fine di produrre più quanti a diversa energia in grado di entrare in risonanza con i legami. Per questa ragione la RQM viene generata mediante correnti che producono campi elettrici oscillanti con emissione di onde non ionizzanti ad alta frequenza (4-64 MHz) e bassa intensità.

Da questo razionale viene intuitiva l'applicazione al bisturi a risonanza quantica molecolare chiamato Vesalius® (27)

Dispositivo medico Rexion-age®

Il dispositivo medico Rexion-age® (Telea Electronic Engineering s.r.l., Quinto Vicentino, Italia) nasce allo scopo di favorire la rigenerazione tissutale post-traumatica, in particolare in campo fisioterapico e ortopedico (Figura 1)

Al contrario del Vesalius che utilizza un'elevata densità di potenza concentrata sulla punta dello strumento, il Rexion-age distribuisce la stessa sulla superficie degli elettrodi che vengono fatti aderire alle aree d'interesse. Lo spettro di frequenze è più ampio (4-64 MHz) ed il campo elettrico minore. Ad oggi è utilizzato principalmente per trattamenti rigenerativi in patologie muscolo-scheletriche, per trattamenti antalgici nella riduzione del dolore dovuto ad infiammazioni, strappi muscolari e dolori articolari (28) (29) e in Medicina Estetica. (30) La sua applicazione dopo trattamento chirurgico a carico delle articolazioni sembra comportare una riduzione delle zone edematose (31)



Figura 1. Dispositivo medico Rexionage®

Razionale nell'utilizzo in campo vulnologico

Studi presso l'università di Padova (19) stanno portando prove d'efficacia e dimostrazione dei principi d'azione del dispositivo Rexionage a livello molecolare, cellulare e tissutale.

Nel dettaglio le ipotesi attuali sono: (32)

- deformazione meccanica della membrana cellulare
- modificazione del potenziale di membrana
- liberazione di ioni calcio da parte del reticolo sarcoplasmatico.

Gli effetti di un campo elettromagnetico a livello cellulare dipendono dalla frequenza. Un campo oscillante di frequenza dei MHz provoca una deformazione della membrana che può portare a danno o stimolazione, (32) fenomeno ben studiato negli eritrociti. (33)

Lo studio condotto da Del Maschio et al. (32) analizza il comportamento di cellule muscolari striate quando viene applicato il dispositivo Rexonage. A livello della singola cellula si ha una focale depolarizzazione della membrana citoplasmatica senza innescare un potenziale d'azione, incrementando il calcio intracitoplasmatico proveniente dal reticolo sarcoplasmatico. Queste alterazioni focali, reversibili, potrebbero essere alla base della rigenerazione/riparazione tessutale attraverso l'innescamento delle vie di proliferazione del ciclo cellulare calcio-mediate.

Non esiste attualmente letteratura riguardo all'applicazione della risonanza quantica molecolare in campo vulnologico. Il rationale del suo utilizzo è la presenza di studi a favore della rigenerazione tessutale. (34)

Materiali e metodi

Dal Aprile 2014 al Aprile 2015 sono stati reclutati in questo studio preliminare 11 pazienti presso l'Istituto di Chirurgia Plastica, Ricostruttiva ed Estetica dell'Università degli studi di Torino (Direttore Prof. Stefano Bruschi) della Azienda Città della Salute e della Scienza di Torino.

I criteri di inclusione sono: ulcere cutanee che, indagate dal punto di vista diagnostico, abbiano subito un trattamento o terapia eziologica mirata ed adeguata ma non responsive alle comuni medicazioni avanzate oltre i tre mesi da questa. È stato inserito un criterio dimensionale per le ferite, che non superassero circa i 100 cm². Per i pazienti che hanno riferito dolore prima dell'inizio del trattamento con Rexonage, sono stati inclusi in un sottogruppo di studio.

I criteri di esclusione comprendono pazienti in itinere per terapia eziologica (interventi chirurgici vascolari), impossibilità a recarsi presso l'Istituto per 1-2 volte alla settimana, e paziente in gravidanza.

La media dell'età dei pazienti è di 74,5 anni (SD, Standard Deviation = 11,0); 7 femmine e 6 maschi, peso medio 66,8 kg (SD = 14,0), altezza media 1,65 metri (SD = 0,07), Body Mass Index medio 24,45 (SD = 5,36).

Tre pazienti hanno NIDDM (non insulinodipendente diabete mellito) tipo 2 in trattamento con ipoglicemizzanti orali.

Sei pazienti (i tre diabetici) hanno una eziologia arteriosa fibrocalcifica diffusa, quattro dei quali hanno subito una rivascularizzazione con bypass. Due pazienti hanno insufficienza venosa, una post-traumatica, una lesione da pressione recidiva (fistolizzazione) e una lesione oltre che arteriosa anche con eziologia sclerodermica.

La media di mesi intercorsi tra la comparsa dell'ulcera ed il primo trattamento con Rexonage è stato di 37,8 mesi (SD = 36,6).

Lo scopo di questo studio è stato quello di valutare l'applicazione della Rexonage per la prima volta in campo vulnologico.

Per raggiungere questo obiettivo primario è stato creato un gruppo eterogeneo di pazienti.

La valutazione è stata clinica, con outcome primari:

- La valutazione del miglioramento/guarigione delle ferite (contrazione della ferita e riduzione delle dimensioni)
- Comparsa di tessuto di granulazione valido e mantenuto nel tempo in previsione di eventuale innesto dermo-epidermico.
- Rilevazione del dolore legato all'ulcera.

Dal punto di vista anatomopatologico, sono state eseguite biopsie pre e post-trattamento sul fondo dell'ulcera, per una caratterizzazione istologica.

Lo studio è stato approvato da un comitato etico, ed è conforme alla dichiarazione di Helsinki 1976 e successivi emendamenti.

Per ogni paziente è stato raccolto un consenso informato per il trattamento, le biopsie e per la raccolta della documentazione fotografica.

Sono stati raccolti dati relativi all'età, genere, peso, altezza, comorbidità, terapie farmacologiche, terapie precedenti riguardanti la lesione.

Inoltre fattori locali relativi all'ulcera: eziologia, tempo di comparsa della lesione fino al primo trattamento, dimensioni della lesione, fondo, essudato, bordi e margini, profondità e sede della lesione. Inoltre è stata raccolta una valutazione soggettiva del dolore pre e fine trattamento del dolore tramite la VAS.

Protocollo di trattamento

Il protocollo sperimentale ha previsto l'applicazione della terapia 1-2 volte alla settimana.

L'ulcera cutanea ad ogni medicazione è stata toelettata quando necessario.

La terapia ha previsto l'applicazione di placche sul fondo della ferita (coperta da un cerotto adesivo trasparente, Figura 2) con parametri di 70-120 $\mu\text{J}/\text{cm}^2$ per 120 secondi per 3 cicli. Successivamente l'applicazione della terapia con manipolo 70-120 $\mu\text{J}/\text{cm}^2$ per 120 secondi per 3 cicli.

Il range di potenza fornito deriva dalla sensazione di calore piacevole (diminuendo se sensazione di bruciore) e consecutivamente dall'aumento progressivo previsto nelle applicazioni successive.

Il protocollo ha previsto l'applicazione della terapia per 10 volte in media.

La medicazione dopo trattamento ha previsto l'utilizzo di medicazioni con garza non aderente e garze sterili asciutte, dove possibile. Questo per introdurre il meno possibile fattori di confondimento.

Le biopsie sono state eseguite sul fondo della ferita all'inizio del trattamento e alla fine dello stesso (dopo circa 5 settimane).

I parametri valutati nell'istologico sono stati: quantità di cellule infiammatorie, qualità dei vasi capillari, ed attraverso immunoistochimica espressione delle metalloproteinasi e del fattore VEGF.

Risultati

I risultati e le informazioni sui pazienti sono riassunti nelle Tabelle 1 e 2.

Tre pazienti sono usciti dallo studio: una paziente paraplegica per via della sclerosi multipla è uscita dallo studio per un'ustione di secondo grado superficiale indotta dalla terapia (una delle prime pazienti trattate). L'operatore non ha avuto il feedback della sensazione piacevole di calore per via dell'insensibilità della zona trattata. Questo è stato motivo di riflessione e futura esclusione dal gruppo di studio di pazienti che non potevano dare un adeguato feedback per la regolazione della potenza. Gli altri due pazienti sono usciti dal gruppo di studio per via dell'aggravamento delle condizioni vascolari degli arti inferiori: uno per occlusione del bypass, uno per la insorgenza di una fistola arterovenosa.

Il sottogruppo formato da sette pazienti che riportavano dolore in sede della lesione all'inizio del trattamento è stato seguito e valutato per la variazione del parametro VAS sino alla fine del trattamento.

Il trattamento con Rexionage ha permesso la sospensione dei farmaci assunti per via orale (Paracetamolo), pur mantenendo una VAS intorno a 5.

Gli altri cinque pazienti hanno ottenuto una riduzione importante della componente dolorifica: due pazienti hanno avuto una riduzione di oltre il 60% del dolore, un paziente dell'80% circa e in due pazienti il dolore è scomparso. L'effetto antidolorifico è stato progressivo, duraturo anche a distanza di tempo nei controlli.

Dal punto di vista istologico rispetto ai controlli pre-trattamento è stato osservato una riduzione delle cellule infiammatorie, aumento della obliterazione dei capillari, una riduzione dell'espressione delle metalloproteinasi (MMP9) e un aumento dell'espressione del VEGF, in tutti i campioni analizzati (biopsie effettuate su 9 pazienti).

I risultati relativi alla guarigione o contrazione della ferita sono stati:

- 1 caso guarigione al 100%

- 1 caso 70%
 - 3 casi 60%
 - 1 caso 50%
 - 1 caso 40%
 - 5 casi non risposta significativa (una paziente uscita dal gruppo per ustione)
- Per quanto riguarda il miglioramento del tessuto di granulazione:
- 4 casi 100%
 - 2 caso 80%
 - 1 caso 60%
 - 1 caso 20%
 - 3 casi non risposta significativa (una paziente uscita dal gruppo per ustione)

Caso Clinico N°1



Figure 2, 3 e 4. Paziente PB, maschio, 80 anni, cardiopatico ed arteriopatico. Ulcera malleolare esterna destra, di tipo arterioso precedentemente trattata con by pass 1 anno fa e concomitante comparsa di ulcera. Precedentamente trattato con medicazioni avanzate. Figura 2 prima del trattamento con Rexonage. Figura 3 placche in sede durante il trattamento. Figura 4 alla fine del trattamento (11 settimane, 1 volta a settimana): miglioramento del tessuto di granulazione e contrazione delle dimensioni della ferita. Paziente pronto per intervento di innesto dermo-epidermico.

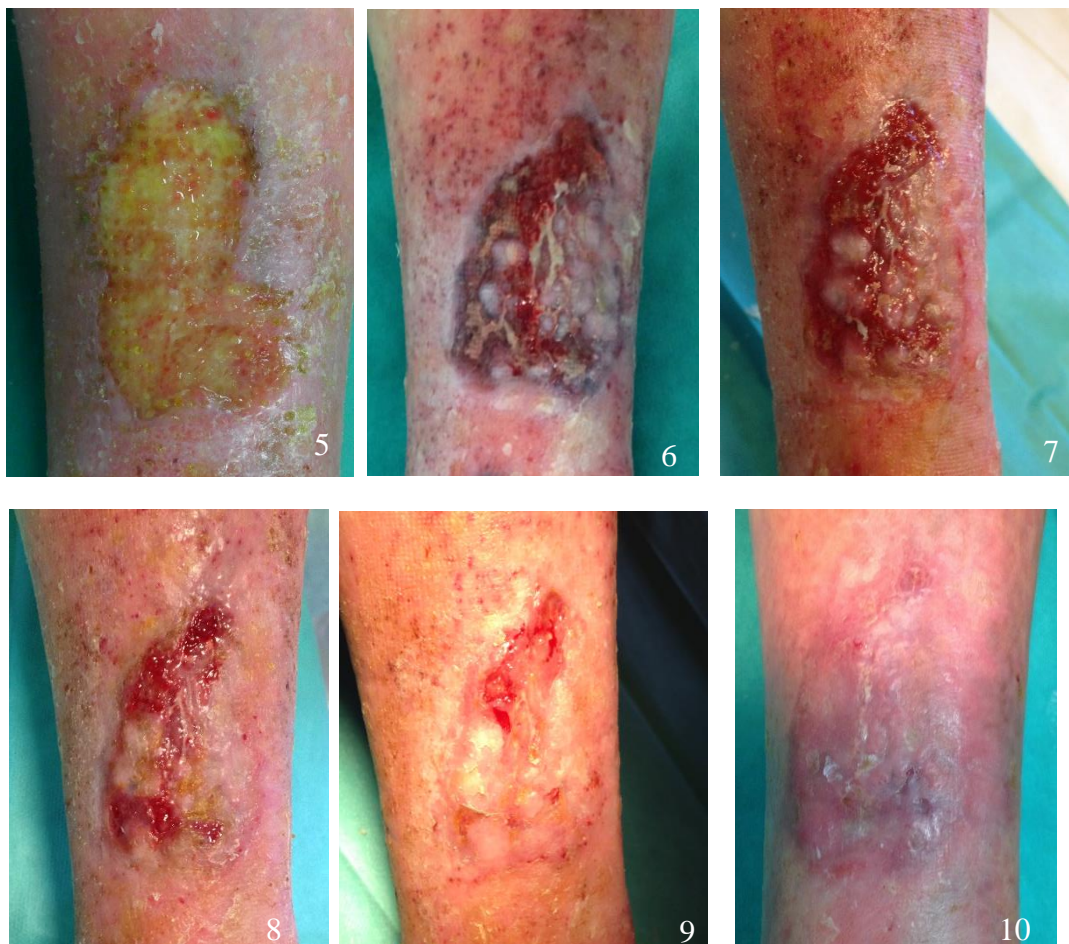
	Età	Genere	Peso	Altezza	Comorbidità	Farmaci	Pregressi trattamenti	Note
AE	92	F	70	1,68	NIDDM tipo 2, Ictus, arteriopatia fibrocalcica diffusa	Anti ipertensivi, anticoagulanti, ipoglicemizzanti orali	Toelette	
CA	74	F	78	1,65	Nega	Ansiolitici	Medicazioni avanzate	
MM	76	F	94	1,62	NIDDM tipo 2 ipertiroidismo, insuff venosa	Ipoglicemizzanti orali, ormoni tiroidei	Toelette, innesti autologhi, NPWT	
GbG	83	M	72	1,70	Arteriopatia fibrocalcica diffusa, Cardiopatia ipertensiva, NIDDM tipo 2, MGUS, K prostatico, polimialgia reumatica	Anticoagulanti, ipoglicemizzanti orali, antipertensivi, antidolorifici	Toelette	
LL	84	F	58	1,65	Ipertensione arteriosa insuff venosa	Antipertensivi, anticoagulanti	Toelette ed innesti autologhi	
PB	80	M	53	1,76	K prostata, arteriopatie carotidea, aneurisma aorta addominale, AOCP IV stadio	Antipertensivi, antiaggreganti	Medicazioni avanzate	
LC	51	F	62	1,50	Sclerosi multipla	Cortisonici	Lembi muscolocutanei	Stop per ustione
FVM	69	F	65	1,70	Leucemia mieloide acuta con autotrapianto, ipertensione arteriosa	Antipertensivi, antiaggreganti	Toelette	Aggravamento e fistola arterovenosa
ZG	73	M	60	1,60	Ipertensione arteriosa, cardiopatia ipertensiva, AOCP IV stadio	Antipertensivi, antiaggreganti	Medicazioni avanzate	
AC	75	F	43	1,60	Insufficienza venosa	Nega	Toelette, derma rigenerativo ed innesti autologhi	
GmG	63	M	80	1,75	Ipertensione arteriosa, sclerodermia a bande, arteriopatia fibrocalcica diffusa	Antipertensivi, cortisonici	Medicazioni avanzate	

Tabella 1. Caratteristiche del campione di studio. (NIDDM: Diabete mellito non insulino dipendente; NPWT: Negative wound pressure therapy; AOCP: Arteriopatia ostruttiva cronica periferica)

	Comparsa ulcera	Eziologia	Sede	Dimensioni inizio	Dimensioni fine	Dolore inizio	Dolore fine	Numero trattamenti
AE	7aa	Diabetica e arteriosa con bypass	Tibiale destra	14 x 5 x 0,5	13 x 5 x 0,4	5 con Paracetamolo	4 senza paracetamolo	4
CA	3 mesi	Post-traumatica	Perimalleolare esterna destra	2x 1 x 0,5	1,8 x 0,8 x 0,3	Nega	Nega	8
MM	3aa	Diabetica e insuff venosa	Malleolare interna sinistra	8,5 x 4,5 x 0,5	7,5 x 3 x 0,4	Nega	Nega	14
GbG	3aa	Diabetica e arteriosa	Perimalleolare mediale sinistra	7x 4 x 0,4	5 x 4 x 0,4	5 con Paracetamolo	5 senza paracetamolo	10
LL	11aa	Insuff. Venosa	Perimalleolare mediale sinistra	8,5 x 6,5 x 0,4	8,5 x 6 x 0,4	8	3	10
PB	1aa	Arteriosa con bypass	Malleolare esterna destra	12 x 9 x 0,4	6 x 5 x 0,3	8	4	11
LC	2aa	Recidiva lesione da pressione	Ischiatica sinistra	1 x 0,5 x 5	-	Nega	Nega	2
FVM	1aa	Arteriosa con bypass	Tibiale destra	9,5 x 8,5 x 0,2	8 x 7 x 0,2	Nega	Nega	12
ZG	5 mesi	Arteriosa con bypass	Tibiale dx	6 x 1,5 x 0,3	4 x 1,5 x 0,3	5	1	6
AC	2aa	Insufficienza venosa	Tibiale destra	10 x 5 x 0,2	2 x 1 x 0	7	0	7
GmG	5aa	Sclerodermica ed arteriosa	Dorso piede sinistro	8 x 4 x 0,2	8 x 3 x 0,1	6	0	4

Tabella 2. Caratteristiche locali delle lesioni.

Caso Clinico N°2



Figura, 5, 6, 7, 8, 9, 10. Paziente AC, femmina 75 anni. Presenta ulcera comparsa 2 anni fa a carattere flebostatico trattata con gambaletto elastocompressivo di Classe 2. Precedentemente trattata con medicazioni avanzate, toelette in sala operatorie e apposizione di derma acellulare rigenerativo, seguito da innesto autologo. Figura 5, prima di adeguata toeletta approfondita con riattivazione dei margini e successive medicazioni avanzate; figura 6 dopo 2 settimane di trattamento con Rexionage, notare i gettoni di riepitelizzazione anche dal centro della ferita, ed il cambiamento da tessuto fibrinoso a deterso. Figure seguenti ad ogni settimana di trattamento (figura 10 a 8 settimane, 8 trattamenti).

Valutazione Istologica

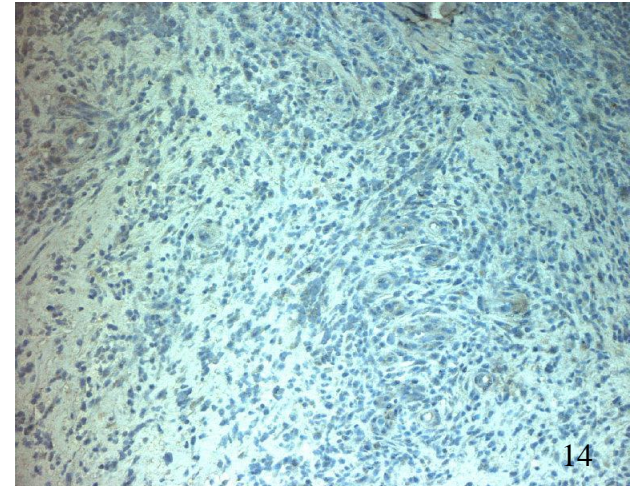
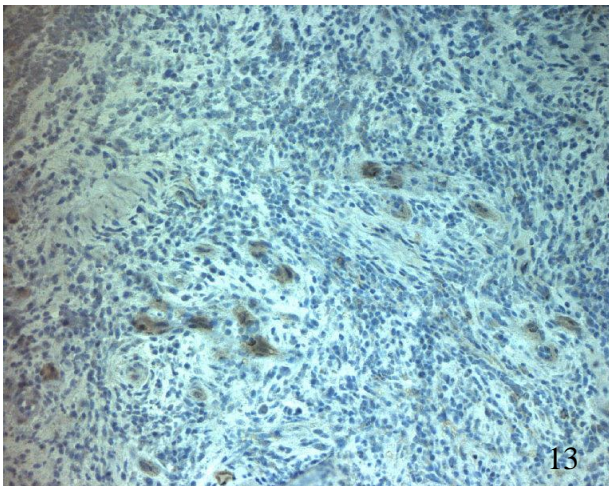
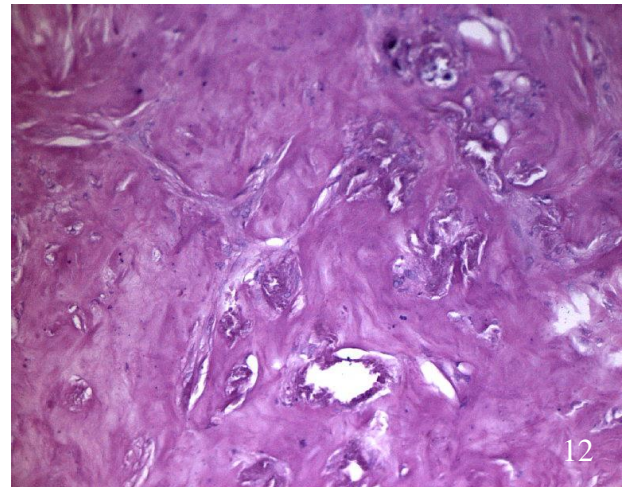
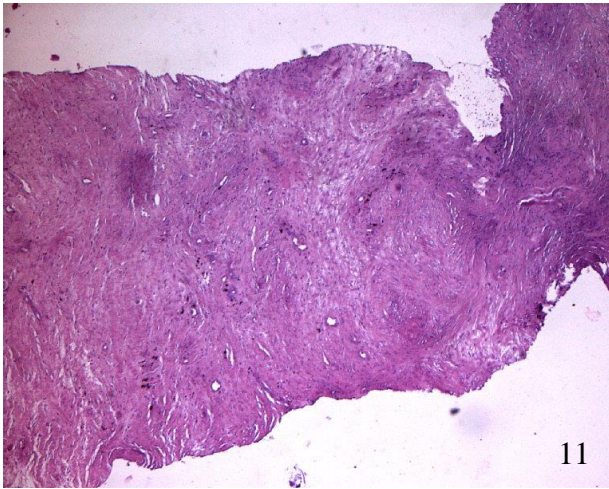


Figura 11 e 12. A sinistra immagine istologica con riduzione delle cellule infiammatorie rispetto al controllo. A destra, trombosi dei piccoli vasi. Colorazione con ematossilina ed eosina.

Figura 13 e 14. A sinistra Immunohistochimica con anticorpi monoclonali contro MMP9, con riduzione rispetto al controllo. A destra immunohistochimica con anticorpi monoclonali murini anti VEGF umano, riduzione quantitativa rispetto al controllo.

Discussione

Non essendo mai stata impiegata la Rexionage in campo vulnologico non è stato possibile un confronto con la letteratura su questo specifico trattamento. Il protocollo di trattamento è derivato in prima battuta da quello utilizzato in campo del ringiovanimento in Medicina Estetica, variando e aumentando in parte la potenza erogata.

Gli studi preliminari hanno proposto un effetto rigenerativo del tessuto, ma nel nostro studio è stato osservato un effetto riparativo, con apposizione di tessuto fibro-cicatriziale.

Si è osservata una risposta variabile per quanto riguarda le dimensioni delle ferite: alcuni pazienti hanno risposto molto bene con miglioramento netto della lesione, altri il miglioramento non ha raggiunto il risultato atteso o non si sono osservate riduzioni delle dimensioni. Nonostante la mancanza di contrazione della ferita, è stata notata una riattivazione della ferita con detersione del fondo persistente ai controlli e aumento del tessuto di granulazione (in percentuali variabili). Lo studio necessita di una numerosità maggiore del campione di pazienti per meglio analizzare le variabili di risposta tra i pazienti. A livello osservazionale, dall'esperienza sin ora acquisita, l'efficacia sembra essere maggiore nelle ulcere di tipo vascolare venoso, dove è possibile che l'effetto locale antiedemigeno di questo dispositivo medico possa sommarsi ad un bendaggio elastocompressivo che probabilmente non era da solo sufficiente. (Vedi caso AC, Figure 5-10, che mostrano in sequenza temporale la progressione verso la guarigione per seconda intenzione, paziente trattata 1 volta a settimana per 7 settimane)

Le dimensioni delle ferite difficili fornite in questo studio sono quelle riportate a fine trattamento: è stato osservato che anche nei controlli successivi a distanza di tempo dal trattamento si è mantenuto l'effetto, con continui miglioramenti della ferita, con riduzione delle dimensioni.

Dal punto di vista clinico, è stato peculiare osservare in una paziente la comparsa di "gettoni di riepitelizzazione" dal centro della lesione ulcerativa. (Figura 7) Questo fenomeno merita maggior approfondimento nei prossimi studi clinici.

La riduzione sul dolore relativo alla ferita è confermato anche da studi fisioterapici a livello delle articolazioni. (35)

Non è chiaro quale sia il meccanismo che contribuisca alla riduzione del dolore, ma alcune ipotesi possono essere proposte:

- Effetti locali: per esempio un aumento dell'ossigenazione, riequilibrio del PH, riduzione dell'edema e dei fenomeni infiammatori.
- Effetti a distanza: per esempio stimolazione del sistema nervoso periferico e centrale, attraverso una stimolazione delle fibre β che chiudono il "gate control" con inibizione a livello del sistema nervoso centrale delle fibre C nocicettive. (36)

L'effetto antidolorifico è duraturo nel tempo quindi è possibile che uno dei meccanismi più probabili sia una riduzione dell'infiammazione.

L'infiammazione è un meccanismo di difesa non specifico ed innato dell'organismo. La sua insorgenza è caratterizzata dalla comparsa di vasodilatazione ed aumento della permeabilità dei vasi sanguigni con conseguente rilascio di liquido al tessuto lesa (edema) ed infiltrazione leucocitaria. L'obiettivo ultimo è infatti quello di diluire ed eliminare l'agente lesivo promuovendo contemporaneamente una serie di meccanismi di riparazione e rigenerazione tissutale.

Il tessuto coinvolto dall'infiammazione ha generalmente un abbassamento del pH. Tale condizione di acidosi è attribuibile principalmente a un calo dell'ossigeno disponibile, a causa di un'alterata vascolarizzazione e alla glicolisi anaerobia, con conseguente produzione di CO₂ e acido lattico. (37) È stato studiato (19) come la Rexionage possa aumentare la vitalità delle cellule in ambiente acido rispetto al controllo. I dati istologici forniti dal nostro studio sono a favore di una riduzione dell'infiammazione con riduzione delle cellule leucocitarie.

Recenti studi hanno dimostrato anche il coinvolgimento di cellule senescenti nel processo infiammatorio e riparativo del tessuto danneggiato. (38) Le cellule coinvolte nella riparazione, in un primo momento proliferano e secernono matrice extracellulare (39) (secernendo solo nelle prime fasi della riparazione alte concentrazioni di metalloproteinasi, riducendosi in seguito). Queste cellule in seguito vanno incontro a senescenza. In questa condizione di senescenza, rilasciano nuovamente metalloproteinasi, fondamentali nel rimodellamento della matrice al fine di ridurre la componente cicatriziale. (40) La senescenza potrebbe quindi essere necessaria per risolvere un normale danno tissutale. (41) Nella ferita cronica le cellule senescenti ostacolano la riparazione tissutale ed è necessaria una riattivazione della ferita.

Nel nostro studio è stata osservata una riattivazione della ferita con ripresa della riepitelizzazione dai margini e un incremento del tessuto di granulazione del fondo: la conferma istologica si è ottenuta con il segno della trombosi ed obliterazione dei neocapillari, segno indiretto della riacutizzazione della ferita cutanea per passaggio di uno stato senescente al primo stato della riparazione della ferita (emostasi ed infiammazione). (42)

Conclusioni

Nonostante questo sia da considerarsi uno studio preliminare sugli effetti del dispositivo medico Rexonage, è stato possibile osservare degli effetti positivi che riguardano sia il miglioramento della lesione dal punto di vista clinico con riduzione delle dimensioni delle lesioni e riattivazione delle stesse, sia dal punto di vista della qualità di vita legata alla componente algica associata alla lesione cutanea.

Riferimenti

1. Steed DL. Wound-healing trajectories. *Surg Clin N Am* 2003; 83(3):206-208.
2. Harding, KG, Morris, HL and Patel, GK. Science, medicine and the future: healing chronic wounds. *BMJ* 2002; 324(7330):160-3.
3. Douglass J. Wound bed preparation: a systematic approach to chronic wounds. *Br J Community Nurs* 2003 Jun;8(6 Suppl):S26-34.
4. Henry G and Garner WL. Inflammatory mediators in wound healing. *Surg Clin N Am* 2003; 83(3):200-201.
5. Williams JZ and Barbul A. Nutrition and wound healing. *Surg Clin N Am* 2003; 83(3):193-197.
6. Stadelman WK, Digenis AG and Tobin GR. Impediments to wound healing. *Am J Surg* 1998; 176(Suppl 2A):39S- 47S.
7. Mustoe T. Understanding chronic wounds: a unifying hypothesis on their pathogenesis and implications for therapy. *Am J Surg* 2004; 187S:65S-70S.
8. Petri, NC, Yao F and Eriksson E. Gene therapy in wound healing. *Surg Clin N Am*. 2003;83(3):194–9.
9. Fraccalvieri M, et al. Gauze-based negative pressure wound therapy: a valid method to manage pyoderma gangrenosum. *Int Wound J*. 2014 Apr;11(2):164-8. doi: 10.1111/j.1742-481X.2012.01058.x. Epub 2012 Aug 14.
10. Kitajo K, et al. Behavioral stochastic resonance within the human brain. *Phys Rev Lett* 2003;90: 218103.
11. Fraccalvieri M, et al. Electrical stimulation for difficult wounds: only an alternative procedure? *Int Wound J* 2014; doi: 10.1111/iwj.12194.
12. Karnof N. Gold leaf in treatment of cutaneous ulcers. *J Invest Dermatol* 1964;43:441 – 2.
13. Baker L, et al. Effects of electrical stimulation on wound healing in patients with diabetic ulcers. *Diabetes Care* 1997;20:405 – 12.
14. Nishimura K, Isseroff R and Nuccitelli R. Human keratinocytes migrate to the negative pole in direct current electric fields comparable to those measured in mammalian wounds. *J Cell Sci* 1996;109:199 – 207.
15. Hess C, Howard M and Attinger C. A review of mechanical adjuncts in wound healing: hydrotherapy, ultrasound, negative pressure therapy, hyperbaric oxygen, and electrostimulation. *Ann Plast Surg* 2003;51:210 – 8.
16. Bogie K, et al. Electrical stimulation for pressure sore prevention and wound healing. *Assist Technol* 2000;12:50 – 66.
17. Vianale G, Reale M and Amerlo P. Extremely low frequency electromagnetic field enhances human keratinocyte cell growth and decreases proinflammatory chemokine production. *Br J Dermatol* (2008) 158: 1189-1196.
18. Delle Monache S, Alessandro R and Iorio R. Extremely low frequency electromagnetic fields (ELF-EMFs) induce in vitro angiogenesis process in human endothelial cells. *Bioelectromagnetics* (2008) 29: 640-648.

19. Sella S. tesi di laurea in Biologia Sanitaria, effetti della risonanza quantica molecolare su cellule umane in coltura: sicurezza ed efficacia del trattamento, università degli studi di Padova, anno accademico 2012/2013.
20. Costin G, Birlea S and Norris D. Trends in wound repair: cellular and molecular basis of regenerative therapy using electromagnetic fields. *Current Molecular Medicine* (2012) 12: 14-26.
21. Todd DJ, Heylings DJ and Allen DJ. Treatment of chronic varicose ulcers with pulsed electromagnetic fields: a controlled pilot study. *Ir med J* (1991) 84: 54-55.
22. Canedo-Dorantes L, Garcia-Cantu R and Barrera R. Healing of chronic arterial and venous leg ulcers through systemic electromagnetic fields. *Arch Med Res* (2002) 33: 281-289.
23. EPUAP and NPUAP. Treatment of pressure ulcers: quick reference guide. Washington: National Pressure Ulcer Advisory Panel, 2009.
24. Junger M, et al. Local therapy and treatment costs of chronic, venous leg ulcers with electrical stimulation (Dermapulse): a prospective, placebo controlled, double blind trial. *Wound Repair Regen* 2008;16:480 – 7.
25. Kitajo K, et al. Behavioral stochastic resonance within the human brain. *Phys Rev Lett* 2003;90: 218103.
26. Kloth L. Electrical stimulation for wound healing: a review of evidence from in vitro studies, animal experiments, and clinical trials. *Int J Low Extrem Wounds* 2005;4:23 – 44.
27. Pozzato G and Vignato G. Teoria della risonanza quantica molecolare nella realizzazione del bisturi elettronico “Vesalius”. *Quintessence International* (2003) 5/6: 153-155.
28. Trobinger V. Esperienza clinica nell’impiego del dispositivo Rexon-Age (2009). <http://teleamedical.com/telea2013/wp-content/uploads/fisioterapia-04.pdf>.
29. Rossetti R. Risultati ottenuti in terapia analgico-riabilitativa attraverso l’impiego del Rexon-age (2008). <http://teleamedical.com/telea2013/wp-content/uploads/fisioterapia-07.pdf>.
30. Tutino, M, Bodian A and Oddenino R. Melatonin cream and melatonin resveratrol LAA 15% serum and Quantum Molecular Resonance technology as ideal treatment for age related skin diseases. *Journal of Plastic Dermatology* (2010): 6, 2.
31. Lopresti M, et al. Studio clinico sull’efficacia della risonanza quantica molecolare nel trattamento dell’edema post-chirurgico in pazienti sottoposti a intervento di artroprotesi di ginocchio. *Aggiornamenti in fisioterapia* (2011) 112(1): 34- 35.
32. Dal Maschio M, Canato M and Pigozzo FM. Biophysical effects of high frequency electrical field (4 MHz) on muscle fibers in culture. *Basic Applied Myology* 2009. 19:49-56.
33. Engelhardt H, Gaub, H et al. Viscoelastic properties of erythrocyte membranes in high frequency electric fields. *Nature* 1984; 307: 378- 380.
34. Reggiani C. Effetti di correnti ad alta frequenza e bassa intensità: biostimolazione e rigenerazione cellulare. Dipartimento di Anatomia e Fisiologia, Università di Padova, 2005 <http://teleamedical.com/telea2013/wp-content/uploads/fisioterapia-05.pdf>.
35. Carniel R. Treatment of the non traumatic sore shoulder, using low power current at extremely high frequency, based on the quantum molecular resonance (QMR) technology <http://teleamedical.com/elettromedicali/wp-content/uploads/Physion-Dr.-Carniel.pdf>.
36. Bartsch T and Goadsby P. Central mechanisms of peripheral nerve stimulation in headache disorders. *Prog Neurol Surg* 2011;24: 16–26.
37. Lardner A. The effects of extracellular pH on immune function. *Journal of Leukocyte Biology* (2001) 69: 522-530.
38. Krizhanovsky V, Yon M and Dickins RA. Senescence of activated stellate cells limits liver fibrosis. *Cell* (2008) 134(4): 657–667.
39. Gawronka-Kozak B. Scarless skin wound healing in FOXN1 deficient (nude) mice is associated with distinctive matrix metalloproteinase expression. *Matrix Biol*, 2011; 30(4):290-300.
40. Martins VL, Caley M and O’Toole EA. Matrix metalloproteinases and epidermal wound repair. *Cell Tissue Res*, 2013; 351:255-268.
41. Rodier F and Campisi J. Four faces of cellular senescence. *J Cell Biol* (2011) 192(4): 547-556.
42. Broughton G 2nd, Janis JE and Attinger CE. Wound healing: an overview. *Plast Reconstr Surg* 2006; 117: 1e-S–32e-S.