

PARTICULARITĂȚI HISTOLOGICE ȘI ULTRASTRUCTURALE ALE ȚESUTURILOR EXPANDATE LA BOLNAVII CU SECHELE CICATRICEALE POSTCOMBUSTIONALE

THE HISTOLOGICAL AND ULTRASTRUCTURAL PECULIARITY OF THE TISSUE EXPANSION AT THE PATIENTS WITH POSTBURN SCAR SEQUELAE

Octavian CIRIMPEI², Valentina ANDRONIC³, Ion MARIN¹, Ion BACIU², Dumitru TERTEAC⁴

¹ Catedra Traumatologie și Ortopedie, Chirurgie de Campanie, USMF „N. Testemițanu”;

² IMSP Spitalul Clinic de Traumatologie și Ortopedie;

³ Catedra Biologie, USM;

⁴ Institutul de Genetică și Fiziologie a plantelor, AȘRM

Rezumat

Expansiunea tisulară este o metodă de perspectivă în vederea reconstrucțiilor sechelelor postcombustionale, substituind defectele cicatriceale cu un țesut calitativ de aceeași structură, elasticitate, textură, culoare. Scopul studiului a fost de a analiza comparativ schimbările morfologice și ultrastructurale ale tegumentelor normale, expandate prin metode tradiționale, expandate și suplimentar expuse la lumină polarizată policromată incoerentă BIOPTRON. Pentru studiul histologic și electronmicroscopic au fost folosite țesuturi dermice neexpandate, tegumente expandate obișnuit și țesuturi expandate, dar suplimentar expuse fototerapiei. Țesuturile au fost colectate de la aceleași persoane, de pe cupolă și de la baza țesutului tensionat. Tegumentele expandate și totodată expuse fototerapiei prezintă mecanisme adaptiv-compensatorii mai accentuate ale metabolismului tisular și ale vascularizării lamourilor dermice. Caracterul schimbărilor intracelulare atestă reacții compensatorii mai pronunțate de adaptare și ameliorare a metabolismului intracelular în cazul expandării combinate cu terapie BIOPTRON comparativ cu expandarea tradițională. Rezultatele obținute denotă o accelerare a proceselor de regenerare tisulară, cicatrizare fină și rezultate funcționale și estetice mai bune în cazul terapiei adjuvante cu lumină BIOPTRON.

Cuvinte-cheie: Expandare tisulară, microscopie electronică, BIOPTRON

Summary

Tissue expansion is a perspective method in reconstruction of post burn scars, by the substitution of scar defects with a new qualitative tissue with the same structure, elasticity, texture and color. The aim of the study was the comparative analysis of the morphological changes as well as the ultra structural of the normal tissues, expanded by the traditional methods, expanded and supplementary exposed at the polarized incoherent polychromatic BIOPTRON light. For the histological and electron microscopy study the no expanded dermis tissues were used, but supplementary exposed to phototherapy. Tissues were collected from the same individuals, from the cupolas and the base of the tensioned tissue. Tissues which were expanded and at the same time exposed to phototherapy present mechanism adapt-compensate with a more accentuated tissue metabolism and vascularized of dermis flaps. The changes in intracellular changes present a better compensate reactions in adaptation and normalizing of intracellular metabolism in cases of combined expansion with BIOPTRON therapy related to traditional expansion. The results present an acceleration in tissue regeneration process, fine scarring and functional-esthetical results much better in the case of supplemental therapy with BIOPTRON light.

Key words: Tissue expansion, electron microscopy, BIOPTRON.

Introducere

Pe parcursul ultimelor decenii succesele reabilitării bolnavilor arși datorează metodelor noi de tratament: procedeele microchirurgicale, distracție cu aparate, crio-chirurgie, presoterapie, expandare tisulară, etc. [1]. Aceste metode completează metodele tradiționale: plastii cu țesuturi locale, grefări, plastii combinate, plastii prin metoda Filatov-Gillis etc. [2, 3]. Expansiunea tisulară este totuși cea mai de perspectivă metodă de reconstrucție a sechelelor postcombustionale, reducând sau înlăturând complet suprafețele cicatricelor, substituind defectele cicatriceale cu un țesut calitativ de aceeași structură,

elasticitate, textură, culoare, și ocupă un loc tot mai important în reabilitarea chirurgicală a reconvașcentului ars [3].

Totodată, fototerapia este cunoscută ca metodă de tratament încă din timpurile antice și se utilizează în diverse sfere medicale. În legătură cu motivarea acțiunii imunosupresive și procancerigene ale radiației ultraviolete o atenție sporită în ultimul timp se acordă potențialului terapeutic al spectrului solar vizibil și al radiației infraroșii, care sugerează că tratamentul cu laser de frecvență joasă și lumina polarizantă accelerează vindecarea plăgilor [4, 5]. Utilizarea benefică a laserului de frecvență joasă și a luminii polarizate în procesul de vindecare este determinată de efectul biologic al fototerapiei prin sporirea activității funcției leucocitelor, reducerea cantitativă a

citochinelor antiinflamatoare plasmatice (IL-6, IL-12, TNF- α , IFN- γ), producerea factorilor de creștere (TGF- β 1, PDGF-AB, IL-10), care duc la stimularea proliferării celulelor: keratinocite, endoteliocite, fibroblaști. Proliferarea fibroblaștilor este de mult mai puțin pronunțată decât a celulelor epiteliale [6, 7]. Mai multe studii clinice au relevat accelerarea rezolvării plăgilor, inclusiv celor postcombustionale prin sporirea epitelizării, cicatrizării fine și îmbunătățirea caracteristicilor cicatricelor ulterioare [8, 9].

Scopul lucrării

Scopul acestui studiu a fost de a face o analiza comparativă a schimbărilor morfologice și ultrastructurale ale tegumentelor normale, expandate prin metode tradiționale și suplimentar prin expunere zilnică, cu durată de 5-10 minute, la lumină polarizată policromată incoerentă BIOPTON.

Material și metode

Pentru studiul histologic și electronmicroscopic au fost folosite țesuturi dermice (lotul I – de control – tegumente fiziologice, lotul II – țesuturi expandate obișnuit, lotul III – țesuturi expandate prin metode tradiționale și suplimentar expuse la lumină polarizată policromată incoerentă BIOPTON), prelevate din zonele supuse expandării tisulare dirijate ale locomotorului. Țesuturile au fost colectate de la aceleași persoane, de pe cupolă și de la baza țesutului tensionat. Tegumentele preexpandate au fost colectate la debutul expandării (etapa de implantare a expanderului); țesuturile dermotensionate – la sfârșitul expandării (peste 2 luni de expansiune dirijată).

Examinările histologice ale preparatelor au fost efectuate la microscop luminiscent după fixare și imersie în parafină după metodele tradiționale. Pentru examinările ultrastructurale probele au fost tăiate în cuburi de 1 mm grosime [3], împărțite în 3 părți: stratul superficial, conținând epiderma și derma papilară; stratul intermediar, conținând derma reticulară și părțile superioare a țesutului subcutanat; stratul profund, conținând țesutul subcutanat și capsula deasupra expanderului. Piesele de țesuturi au fost fixate în Glutaraldehydă de 2% pe soluție tampon cacodilat 0,1 M (pH 7,4) în decurs de 4 ore. Ulterior, au fost postfixate în decurs de 2 ore în soluție de acid de osmiu de 1%. Dehidratarea probelor a fost efectuată în serie în alcool etilic cu concentrație ascendentă (50%; 70%; 90% și 100%). Pentru contrastare prealabilă în soluția de Etanol de 70% a fost adăugat Uranilacetat de 2%. După prelucrarea probelor cu oxid de propilen erau imersionate în amestecuri de rășine epoxidice de tipul Epon (Wikli, 1976).

Secțiunile semifine și ultrafine au fost preparate la ultramicrotom UMTP-4. Cu țel de contrastare, secțiunile semifine au fost prelucrate cu albastru metilen de 1%, iar cele ultrafine au fost prelucrate cu soluție apoasă de citrat de Plumb de 2% [10]. Preparatele parafinizate și cele semifine de pe blocurile eponice au fost examinate la microscopul luminiscent, iar preparatele ultrafine au fost examinate la microscopul electronic TESLA BS-500. Preparatele au fost fotografiate cu ajutorul camerelor digitale CMEX 1300 și TS-800 SCIENCLAB.

Au fost axate următoarele întrebări: Ce schimbări survin în epiderma tegumentelor expandate? Caracterul modificărilor dermice și ale țesutului subcutanat? Particularitățile fibrelor elastice și de colagen? Modificările membranei bazale?

Rezultate și discuții

Analiza preparatelor histologice relevă că în cazul expandării tisulare derma se subțiază, iar epiderma nu suferă careva schimbări esențiale, dar prezintă o tendință spre îngroșare, preponderent în perioada precoce de gonflare a implantelor de latex. Peste două luni de expandare diferențele se atenuiază. Procesele reparative au fost mai pronunțate în cazul expunerii la lumină polarizată policromată incoerentă BIOPTON (Figurile 1, 2, 3).

Examinarea comparativă la nivel ultrasuctural al straturilor epidermale, atât în cazul țesuturilor expandate tradițional, cât și în cazul expunerii la BIOPTON, au determinat spații

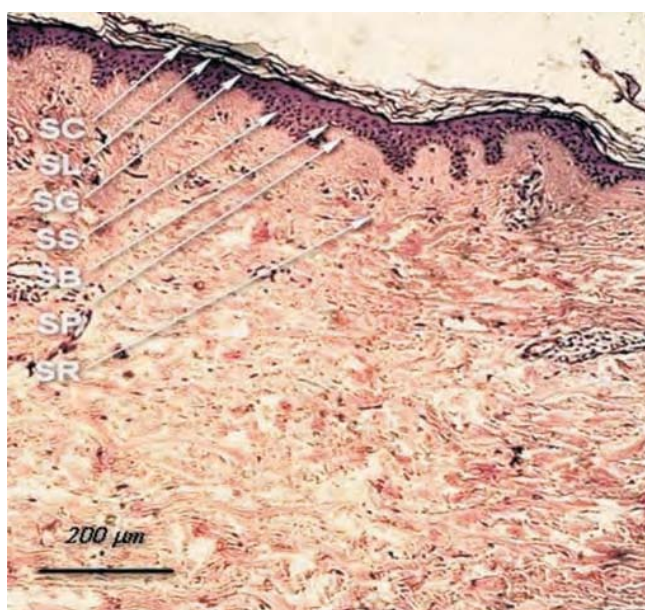


Figura 1. Tegument normal: SC – stratul cornos; SL – stratul lucid; SG – stratul granular; SS – stratul spinos; SB – stratul basal; SP – stratul papillar; SR – stratul reticular

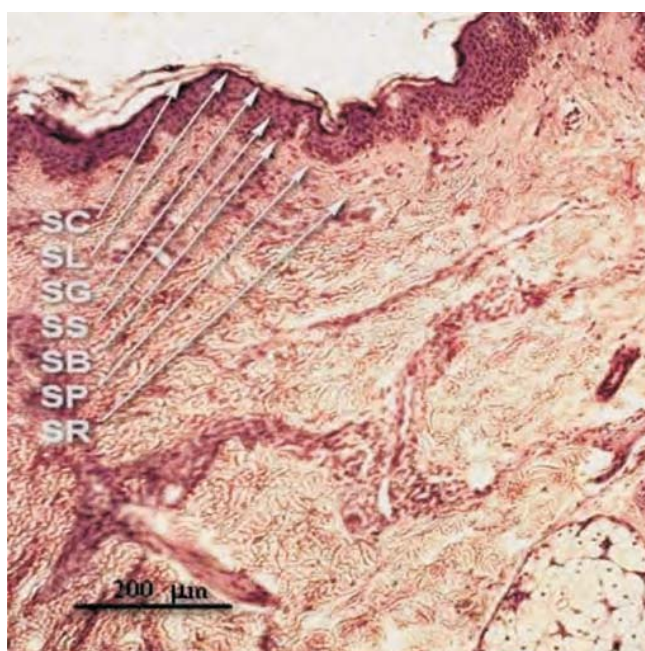


Figura 2. Tegument expandat cu durată de 2 luni: SC – stratul cornos; SL – stratul lucid; SG – stratul granular; SS – stratul spinos; SB – stratul basal; SP – stratul papillar; SR – stratul reticular

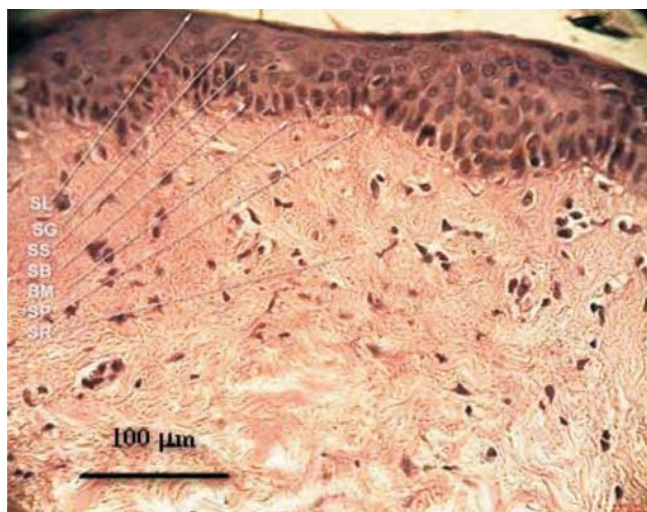


Figura 3. Tegument expandat cu durată de 2 luni și expus la lumină polarizată policromată incoerentă BIOPTRON: SC – stratul cornos; SL – stratul lucid; SG – stratul granular; SS – stratul spinos; SB – stratul basal; SP – stratul papilar; SR – stratul reticular

intercelulare mult mai reduse decât în epiderma normală. În toate cazurile ultrastructura celulelor cornificate ale stratului cornos, celulele Langerhans, celulele Merkel, keratinocitele și melanocitele nu au suferit schimbări evidente.

În stratul granulos al epidermei au fost depistate organele citoplasmice cu restructurări compensator adaptative, slab pronunțate. Celulele acestui strat, mai bine conturate în lotul III, prezintă o formă romboidă cu diametrul mare orizontal, cu nucleul situat central și o cariolemă bine conturată. Pe suprafețele externă și internă a acestor celule se concentrează o rețea osmiofilă de fibre fine. Cromatina este cumulată în formă de granule dense. Nucleul în totalitate a fost bine iluminat. Într-o serie de preparate din lotul II s-au observat invaginări profunde ale membranei nucleare. Citoplasma celulară conține o cantitate abundentă de organele citoplasmice, încă funcționale, asociate unui metabolism mai activ în celulele lotului III, cu granule bazofile de keratohialină. În unele celule din lotul II se observă carențe citoplasmice care conțin membranele rețelei endoplasmice granulare, ceea ce atestă o intensificare biosintetică înaltă. În afara acestor zone rețeaua endoplasmatică netedă și granulară este mai bine dezvoltată în celulele din lotul III, iar cisternele lor sunt mai dilatate și mai transparente electronic în celulele lotului II. Mitocondriile sunt mai puține, mai tumefiate, cu cristele solitare preponderent în lotul II. Majoritatea mitocondriilor au o formă iregulară, cu matricea transparentă. Membranele externe au structură triplă, bine conturată în toate cazurile. Ribozomii, aderați la rețeaua membranei reticulului endoplasmatic sunt puțini la număr în lotul II, comparativ cu ribozomii citoplasmatici liberi, care uneori formează polisome în lotul III. Celulele stratului granulos conțin o cantitate relativă de tonofibrile, repartizate în toată structura citoplasmatică. Spațiile intercelulare păstrează aceeași distanță pe toată suprafața plasmalemei cu intercalări periodice de desmosomi bazofili – joncțiunile Tight, mai frecvente în cazul fototerapiei (Figurile 4, 5).

În celulele stratului spinos (zona Malpighi) din lotul III sunt depistate fenomene de activitate înaltă a proceselor sintetice. La expandarea tradițională (lotul II) s-a determinat

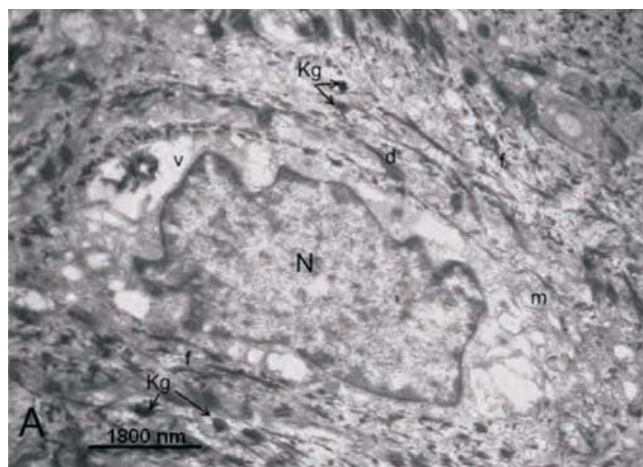


Figura 4. Fragment de celulă din stratul granular (lotul II peste două luni de expandare): N – nucleu; m – mitocondrii; f – tonofibrile; v – vacuole; Kg – keratinosome, granule de keratină; d – desmosomi; s – spații intercelulare

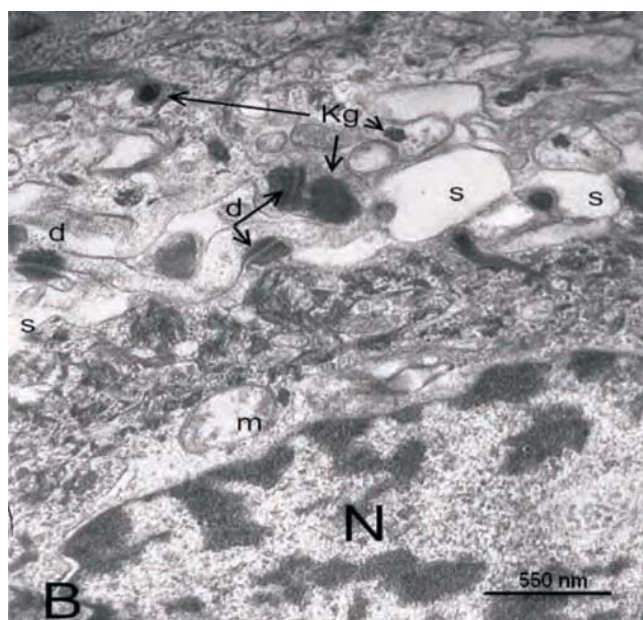


Figura 5. Fragment de celulă din stratul granular (lotul III peste două luni de expandare), ilustrând procese reparatorii mai intensive: N – nucleu; m – mitocondrii; f – tonofibrile; v – vacuole; Kg – keratinosome, granule de keratină; d – desmosomi; s – spații intercelulare

o restructurare a organelor celulare. O parte din nucleu prezintă o formă iregulară cu invaginări nesemnificative ale membranei. Spațiile perinucleare prezintă o distanță constantă, însă pealocuri, preponderent în lotul II, prezentau dizolvarea membranei nucleare. Mitocondriile sunt semnificativ tumefiate și cu matricea mai bine luminată în lotul III. Membranele celulelor sunt mai bine conturate în lotul III. Cisternele rețelei endoplasmice sunt semnificativ dilatate, uneori chiar vacuolizate în celulele lotului II. Complexul citoplasmatic este bine dezvoltat în toate cazurile. În citoplasma celulară se vizualizează cumulări relative de tonofibrile în țesuturile expuse fototerapiei (lotul III) și cumulări considerabile în cazurile tegumentelor expandate tradițional (lotul II). Membranele celulare sunt păstrate pe toată suprafața și legate de celulele adiacente prin desmosomi repartizați regulat și uniform, dar mai pronunțat în lotul III. Regimul tradițional de dilatare a tegumentelor (lotul

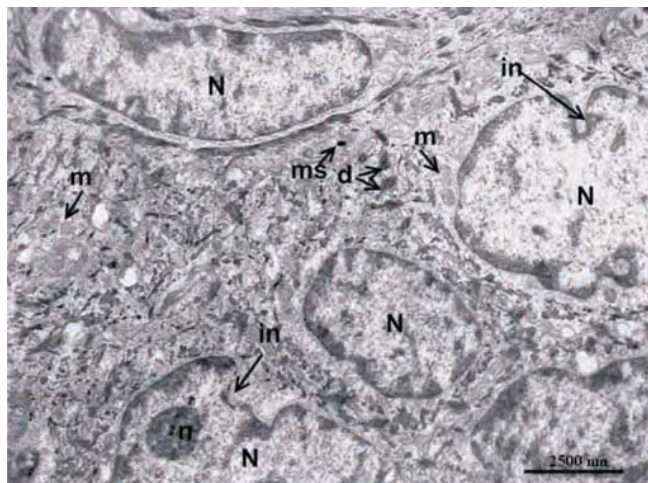


Figura 6. Fragment din celula stratului spinos (lotul III peste 2 luni de expandare): N – nucleu; m – mitondrie; d – desmosomă; sp – spații perinucleare; Mc – fragment melanocit; ms – melanosomă

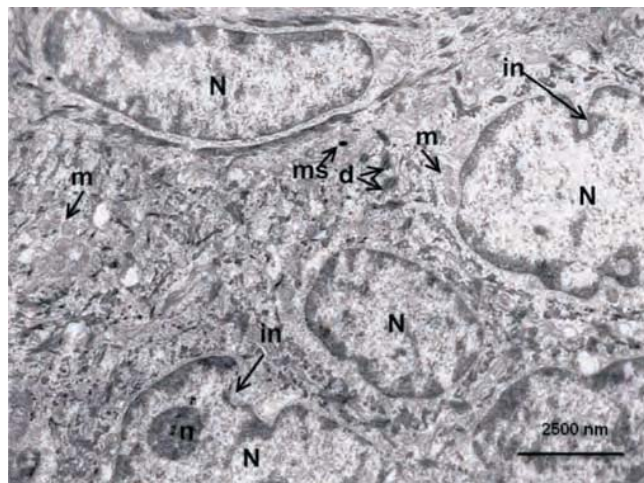


Figura 7. Fragment din celula stratului spinos (lotul II peste două luni de expandare): N – nucleu; n – nucleol; m – mitondrie; in – invaginarea membranei nucleare; d – desmosomă; sp – spații perinucleare; ms – melanosomă

II) a generat mai multe modificări în ultrastructura stratului spinos, profunzimea și accentuarea cărora în unele celule erau aproape destructive. (Imaginile 6, 7).

Organizarea microscopică a stratului bazal depinde de regimul expandării tegumentare, demonstrând devieri mari de la țesuturile de control. Nucleele celulelor acestui strat la expandarea cu terapia cu lumina BIOPTON (lotul III) sunt polimorfe, de formă predominant cilindrică, dar o parte din celule au o formă iregulară. Membranele sunt bine conturate și se caracterizează prin densitate electronică sporită. Matricea nucleară prezintă o densitate electronică moderată, cromatina uniform situată pe toată suprafața nucleului. Spațiile perinucleare au aceeași distanță pe toată suprafața. Mitocondriile celulelor sunt mai bine conturate, cu matrice mai bine luminată, membrana celulară mai clară. În citoplasma celulelor se conține un număr mai sporit de ribozomi și polisomi liberi, tonofibrile concentrate în fascicule. (Imaginile 8, 9)

În tegumentul expandat (lotul II și lotul III), membrana bazală prezenta o iregularitate și o ondulare mai pronunțată decât în cea de control (lotul I) (Imaginile 10, 11).

Probabil, „comprimarea” epidermei și ondurea mai pronunțată a membranei bazale, observate în preparatele tegumentului expandat, sunt rezultatul accelerării activității mitotice în aceste straturi, iar expunerea la lumină polarizată policromată incoerentă BIOPTON stimulează aceste procese.

Derma expandată, în special stratul reticular, conține multe fâșii compacte de fibre de collagen, care se grupează și se orientează cu o periodicitate mai pronunțată în lotul III. Aceste fibre de collagen au o medie de grosime cuprinsă între 200 și 350 Å, fiind mai fine în lotul II. (Figura 12). Fibrele elastice, asociate celor de collagen, nu prezintă careva schimbări evidente în structura dermei tegumentelor expandate.

În derma tegumentului expandat fibroblaștii au fost găsiți mai frecvent decât în tegumentul fiziologic. Aceste celule prezentau o activitate sporită a cisternelor rețelei endoplasmice granulare, mai ales în lotul III (Figura 13).

Sporirea numărului fibroblaștilor activi au dus la formarea fasciculelor de fibre de collagen mai compacte și mai numeroase (Figura 14).

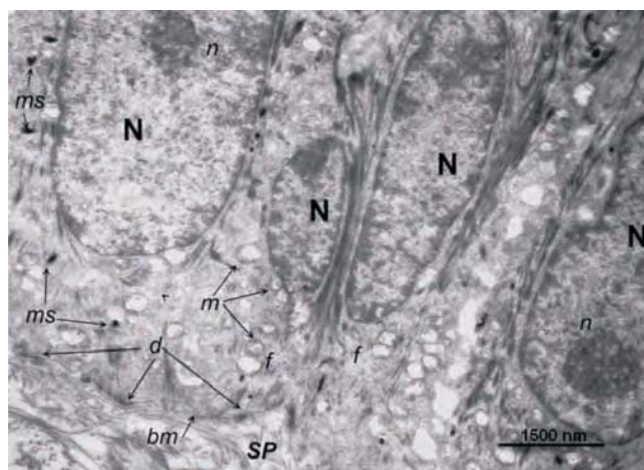


Figura 8. Epidermocyte bazale (lotul I - de control): N – nucleu; n - nucleol; m – mitondrie; d – desmosomă; ms – melanosomă; f - tonofibrilă; bm – membrană bazală; SP – strat papilar

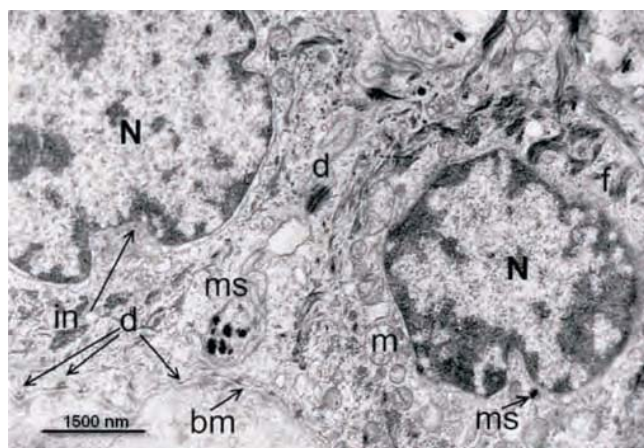


Figura 9. Epidermocyte bazale (lotul III peste două luni de expandare): N – nucleu; n - nucleol; m – mitondrie; d – desmosomă; ms – melanosomă; f - tonofibrilă; bm – membrană bazală; SP – strat papilar; in – membrană nucleară invaginată

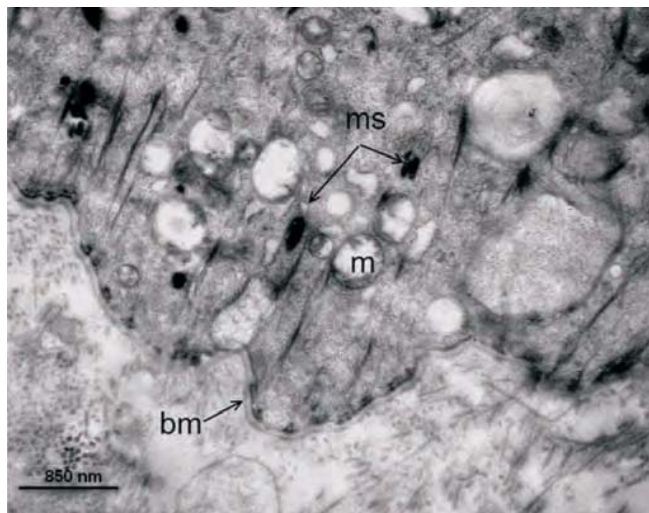


Figura 10. Ireregularitatea membranei bazale (lotul I de control): bm – membrană bazală; m – mitocondrie; ms - melanosomă

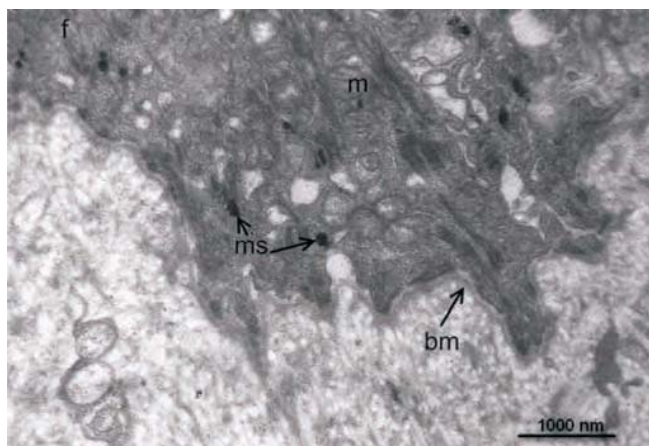


Figura 11. Ireregularitatea membranei bazale (lotul III): bm – membrană bazală; m – mitocondrie; ms – melanosomă

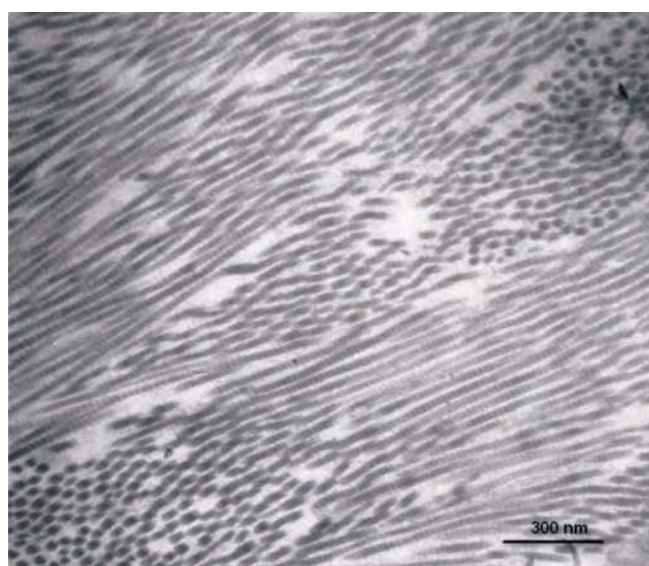


Figura 12. Secțiune oblică a fibrelor de collagen, cu grosimea de 200 și 350 Å. (lotul III după două luni de expandare)

Formarea și organizarea fasciculelor fibrelor de collagen în tegumentul expandat se datorează, probabil, efectului de tensionare tegumentară, ca urmare a extinderii expanderului de latex, iar utilizarea luminii BIOPTRON accentuează acest fenomen. În straturile mai profunde ale dermei expandate din ambele loturi (II și III) se găsesc frecvent miofibroblaști cu nuclee celulare polimorfe, citoplasme cu abundență de reticul endoplasmatic, numeroase mitocondrii și microfilamente alungite, care se agregă în grupuri, prezentând „corpuri dense” (Figura 15).

Derivatele pielii, foliculii piloși, vasele sangvine de calibru mic, capilarele, nervii nu prezintă alterări. Excepție fac vasele sangvine și capilarele, care sunt întâlnite mai frecvent în lotul II și III, manifestându-se într-o rețea mai bogată în lotul tegumentelor supuse terapiei cu lumina BIOPTRON.

O particularitate a variantei cu utilizarea luminii BIOPTRON este prezența frecventă în zonele papilară și reticulară a celulelor de tip fagocitar cu caracteristici ultrastructurale ale macrofagilor. (Figurile 16, 17).

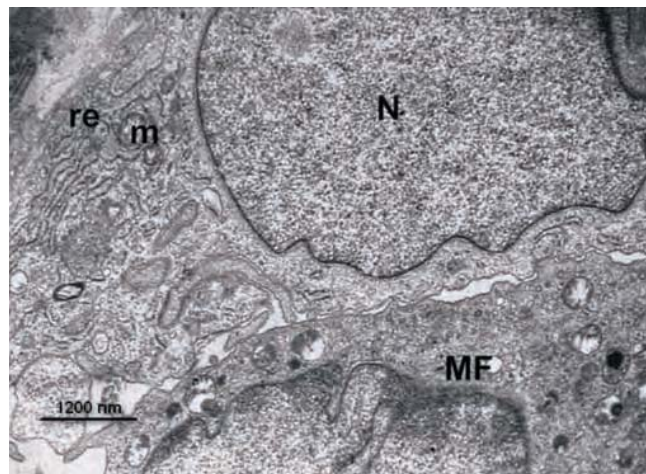


Figura 13. Fragment din fibroblast (lotul III peste două luni de la debutul expandării): N – nucleu; m – mitocondrie; re – reticul endoplasmatic granular; MF – fragment din macrofag

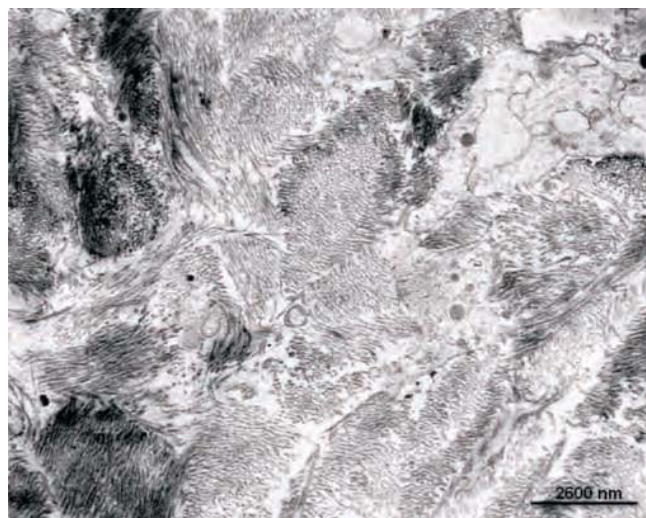


Figura 14. Fibre de collagen (lotul III peste două luni de la debutul expandării)

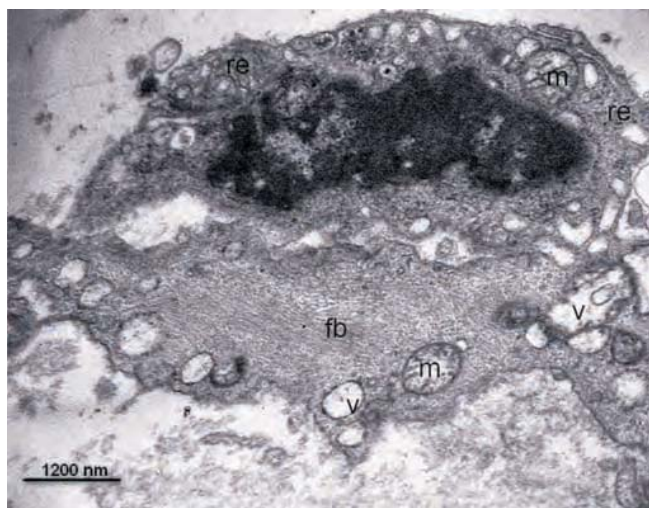


Figura 15. Fragment de miofibroblast din derma tegumentului expandat (lotul III): N – nucleu; m – mitocondrie; v – vacuolă; re – reticul endoplasmatic; fb – corp fibrilar

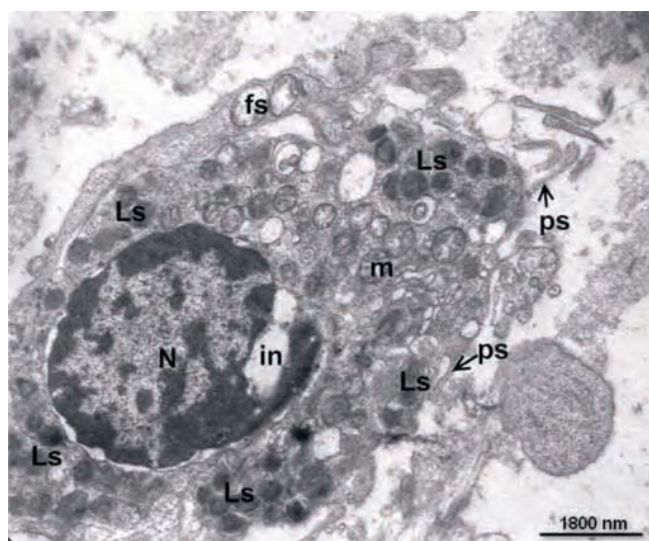


Figura 16. Macrofag din stratul papilar a tegumentului (lotul III): N – nucleu; m – mitocondrie; Ls – lizosomă; fs – fagosomă; ps – pseudopodium; in – invaginarea membranei nucleare

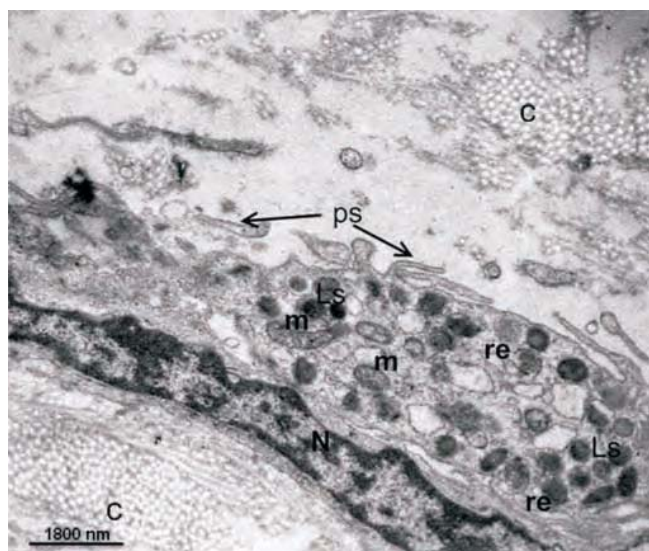


Figura 17. Macrofag din stratul reticular a tegumentului (lotul III) N – nucleu; m – mitocondrie; Ls – lizosomă; ps – pseudopodium; re – reticul endoplasmatic granular; c – fibre de collagen

Probabil, expunerea la lumină polarizată policromată incoerentă BIOPTRON a tegumentului expandat intensifică activitatea macrofagilor, care asigură o activitate fagocitară, iar producerea citochinelor ameliorează funcțiile lor reglatoare și efectoare. Aceasta și explică decurgerea mai favorabilă a proceselor reparatorii în cazul fototerapiei BIOPTRON.

Țesutul subcutan conține o cantitate redusă de țesut celular adipos și fibre de collagen îngroșate. Vasele acestui strat nu suferă schimbări.

Capsula reprezintă o bandă de țesut de legătură ce înconjoară expanderul. Capsula este compusă dintr-un țesut dens și compact de fibronectină cu conținut bogat de fibroblaști activi și fibre de collagen, orientate paralel suprafeței implantului. Fasciculele de fibre de collagen au dimensiuni diametrice diferite. Printre aceste fibre se depistează fibroblaști alungiți și aplatizați, cu o bogată rețea endoplasmatică și cisterne proeminente, ceea ce atestă că activitatea funcțională a lor este în creștere. Citoplasma acestor fibroblaști conțin numeroase vacuole de diferite dimensiuni, cu mai mult material osmofil capturat în cazul lotului III. Miofibroblaștii sunt adesea întâlniți în capsula țesuturilor expandate cu lumina BIOPTRON. Nucleele acestor miofibroblaști demonstrează numeroase cute și creșteri. Citoplasma lor conține un număr sporit de vezicule pinocitice. Numeroase microfilamente sunt observate în apropierea membranei celulare, preponderent în capsula lotului III. Celule inflamatorii nu au fost observate în nici o capsulă a vreunui lot examinat. Rețeaua vaselor de calibr mic și a capilarelor relevă o expresie mai intensă în cazul lotului III și evident prevalează în lotul de control.

Concluzii

Ultrastructura tegumentului expandat tradițional diferă de cel expus la lumină polarizată policromată incoerentă BIOPTRON.

Procesul de diferențiere terminală – keratinizarea, în cazul terapiei cu lumina BIOPTRON, creează o premisă de protecție a celulelor viabile intradermice de mediul extern.

Spațiile intercelulare păstrează aceeași distanță pe toată suprafața plasmalemei, dar cu intercalări de desmosomi, mai frecvente în cazul fototerapiei.

Regimul tradițional de dilatare a tegumentelor (lotul II) generează modificări în ultrastructura stratului spinos, profunzimea și accentuarea cărora în unele celule erau aproape destructive.

Keratinocitele bazale relevă un proces mitotic mai activ în cazul expunerii dirijate la lumină polarizată policromată incoerentă BIOPTRON.

Tegumentele expandate și totodată expuse fototerapiei prezintă mecanisme adaptiv-compensatorii mai accentuate ale metabolismului tisular și a vascularizării lambourilor dermice, manifestate prin: organizarea mai clară ale ultrastructurii tisulare, sporirea numărului și diametrului vaselor noi formate, preponderent al capsulei ce înconjoară expanderul.

Astfel, în cazul expandării combinate cu terapie BIOPTRON, caracterul schimbărilor intracelulare atestă reacții compensatorii mai pronunțate de adaptare și ameliorare a metabolismului intracelular, comparativ cu expandarea tradițională unde, uneori, sunt manifestări de procese degenerative instabile, caracteristice dereglării proceselor metabolice intracelulare.

Bibliografie

1. BARROSO M. DA LUZ FERREIRA - Tissue expansion in the reconstruction of burns sequelae. . *Ann. of Burns and Fire Disasters*, 2002, Sep., 15(3): 138-142.
 2. PASYK K.A., AUSTAD E.D., MCCLATCHEY K.D. - Electron microscopic evaluation of guinea pig skin and soft tissues "expanded" with a self-inflating silicone implant. *Plast. Reconstr. Surg.* 1982, 70(1): 37-45.
 3. PASYK K.A., ARGENTA L.C., HASSETT C. - Quantitative analysis of the thickness of human skin and subcutaneous tissue following controlled expansion with a silicone implant. *Plast. Reconstr. Surg.* 1988, 81(4): 516-523.
 4. MEENAKSHI J., JAYARAMAN V., RAMAKRISHNAN K.M., BABU M. - Ultrastructural differentiation of abnormal scars. *Ann. of Burns and Fire Disasters*, 2005, Jun., 18(2): 83-87.
 5. CHIOTAN N., MATUSZ P., FLORESCU I. - Cicatrizarea, biologie clinică și tratament. Editura „Național”, 1999: 826 p.
 6. SAMOILOVA K.A., OBOLENSKAYA K.D., VOLOGDINA A.V., SNOPOV S.A. AND SHEVCHENKO E.V. - Single skin exposure to visible light induces rapid modification of entire circulation blood - 1. Improvement of rheologic and immune parameters. *Progress in Biomedical Optics/Proceedings of Low-Power Light on Biological Systems*, 1998, IV: 90- 103.
 7. KUBASOVA T., HORVATH M., KOCSIS K. AND FENYÖ M. - Effect of visible light on some cellular and immune parameters. *Immunology and Cell Biology*, 1995, 73; 239-244.
 8. MONSTREY S., HOEKSEMA H., DEPUYDT K., VAN MAELE G., VAN LANDUYT K., BLONDEEL P. - The effect of polarized light on wound healing. *European Journal of Plastic Surgery*, 2002, 24(8): 377-382.
 9. IORDANOU P., BALTOPOULOS G., GIANNAKOPOULOU M., BELLOU P., KTENAS A. - Effect of polarized light in the healing process of pressure ulcers. *International Journal of Nursing Practice*, 2002, 8 (1): 49-55.
 10. REYNOLDS E.S. - The use of lead citrate at high pH as an electronopaque stain in electron microscopy. *Jornal of Cell Biology*, 1963, 17: 208- 212.
-