The page features a decorative graphic consisting of several overlapping blue circles of varying sizes and shades, connected by thin blue lines that create a sense of movement and depth. The circles are positioned in the upper right and lower right areas of the page.

Behandling av kroniska ben- och fotsår hos diabetespatienter med vakum förband (VAC, vacuum assisted closure)

Studie på polikliniska patienter

VAC-behandling har använts en längre tid i kliniken för behandling av akuta- och kroniska sår och rapporterats ha goda effekter på sårhäkningsprocessen. Mekanismerna för denna effekt är ännu oklara. I denna kliniska randomiserade studie kommer sår som inte läker normalt (>2 mån) att behandlas under 3 veckor med ett vakuumförband alternativt hydrofiber/polyurethan förband som läggs om 3 gånger/vecka. Vi kommer att följa det kliniska läkningsförloppet samt dokumentera såret med digitala bilder som analyseras med DICA-teknik (digital colour image analysis). Vidare kommer vi att samla sårvätska/vävnad och venblod som kommer att analyseras med hjälp av biochip teknologi som gör det möjligt att studera parallellt flera kaskadsystem involverade i sårhäkningsprocessen för att dels söka kartlägga verkningsmekanismerna bakom de positiva effekterna rapporterade med VAC och dels öka vår förståelse för vilka faktorer som är av betydelse för en normal sårhäkning.

Jean Cassuto
2007-05-04

Protokoll ID: VAC DS 07

Investigator: ÖL Agnetha Folestad
Adress: Ortopedkliniken, SU/Möndal, 431 80 Möndal
Tel/Fax/mail: 031-3430759/agnetha.folestad@vgregion.se

Co-investigator and supervisor: Prof. Jean Cassuto
Adress: Anestesikliniken, SU/Möndal, 431 80 Möndal
Tel/Fax/mail: [031-3431882/3431882/jean.cassuto@aniv.gu.se](tel:031-3431882/3431882/jean.cassuto@aniv.gu.se)

Co-investigator: Forskningsköterska Susanne Asteberg
Adress: Ortopedkliniken, SU/Möndal, 431 80 Möndal
Tel/Fax/mail: 031-3431732/susanne.asteberg@vgregion.se

Co-investigator: ÖL Håkan Hallberg
Adress: Kirurgkliniken, Kärnsjukhuset KSS, 541 85 Skövde
Tel/Fax/mail: 0708-591203/hakan.p.hallberg@vgregion.se

Co-investigator: Prof. Jan Göthlin
Adress: Radiologiska Kliniken, SU/Möndal, 431 80 Möndal
Tel/Fax/mail: 031-3430117/jan.gothlin@vgregion.se

Sponsor: KCI Medical AB, Pyramidvägen 9A, 169 56 Solna
Tel/mobil/Fax/mail: [08-54499690/070-3055270/54499691/jandreas@kci-medical.com](tel:08-54499690/070-3055270/54499691/jandreas@kci-medical.com).

Kontaktperson: Jonas Andreasson

Signature list

Authorized participants

signature

Agnetha Folestad

.....

Jean Cassuto

.....

Håkan Hallberg

.....

Jan Göthlin

.....

Susanne Asteberg

.....

Bakgrund

Sårläkning kan sägas vara ett resultat av tre överlappande faser: inflammation, tillväxt (proliferation) och omkonstruktion (remodelling). Fibroblaster (hudceller) i sårets utkanter måste därvid genomgå en omvandling (phenotypic modulation) med kraftigt ökad celledelning under 3 dagar för att därefter börja vandra in i sårområdet där de producerar komponenter som bygger hudens skelett (typ I procollagen och matrix molekyler) i sårområdet. Omkring dag 7, när sårområdet är fyllt med matrix, omvandlas fibroblasterna till myofibroblaster som liknar muskelceller genom sitt rikliga innehåll av actinfillament (fjäderliknande trådar med förmåga att dra ihop sig). Sårläkning är en av de mest komplicerade biologiska processer i människokroppen och är ett resultat av ett samspel mellan olika vävnadsstrukturer och ett stort antal vävnadslokala celler och invandrande celler. De senare utgörs fr.a. av olika subgrupper av vita blodceller, ss neutrofiler, macrofager, mast celler och lymfocyter, som fungerar som immunologiska effektorceller (skydd mot främmande kroppar) samt en källa till bildning och frisättning av ett stort antal inflammationsmediatorer och cytokiner. Dessa mediatorer frisätts även från hudceller ss keratinocyter och endotelceller och styr alla viktiga funktioner vid sårläkning: rekrytering av vita blodkroppar, nybildning av hudceller i såret (epitelialisering), ombyggnad av hudskelett (remodelling) och nybildning av blodkärl (angiogenes). Trombocyter, makrofager, leukocyter, fibroblaster, kärlendotel celler och keratinocyter frisätter en rad grupper av ämnen ss interferoner, integriner, proteoglykaner, glukosaminoglykaner, matrix metalloproteinaser och en rad cytokiner. Cytokinerna är polypeptid tillväxtfaktorer som frisätts från de flesta kärnbärande celler i kroppen och har den unika rollen att samordna de inflammatoriska processerna och de reparativa processerna och är därför centrala vid sårläkning. Vi känner till effekterna av enskilda cytokiner på enskilda processer men mycket lite om hur de samverkar för att skapa en normal läkning av ett sår. Inte heller har vi tillräckliga kunskaper om varför sårläkningen avbryts hos många patienter utan yttre förklaring. **Infektion** i såret är en känd faktor som hämmar sårläkningen men är svår att diagnostisera i tidigt skede eller när den går på djupet. P.g.a. uttalad resistens utveckling hos hud bakterier (MRSA, VRE) undviker kliniker bredspektrum antibiotika annat än på säkra infektionstecken vilket ofta innebär att antibiotika inte sätts in eller i sent skede. Trots sårrevision/excision (man skär bort gammal sårvävnad ner till frisk vävnad) återgår inte sårläkningen hos vissa patienter till den normala utan att man finner någon yttre förklaring.

Trots att man i ett flertal studier funnit goda effekter på sårläkningen med vakuumband, finns det idag ingen kunskap om hur tekniken vars användning ökar påverkar de processer som styr sårläkningen. Alla processer som är aktiva vid sårläkning, såväl positiva som negativa, går att följa genom att analysera de biomarkörer som frisätts från såret till plasma och sårvätska. Därigenom kan man kartlägga hur positiva resp. negativa processer vid sårläkningen förstärks eller försvagas som resultat av denna sårbehandling. Målet med denna studie är att kartlägga om, och i så fall hur, **VAKUUMFÖRBAND** påverkar:

- **LÄKNINGSPROCESSEN** i svårläkta sår vilket uppmäts genom att följa förändring av **KLINISKA VARIABLER** dvs. **SÅRYTANS STORLEK** och **YTAN PÅ GRANULATIONSVÄVNAD** under studieperioden.
- **INFEKTIONSPREVALENS** som mäts med hjälp av **VÄVNADSODLING** från sårets ytliga och djupa delar samt genom **ANALYS AV CYTOKINER** som aktiveras vid infektion.
- **LÄKNINGSPROCESSEN** uppmäts genom att följa förändring av **BIOMARKÖRER** i sårvätska och plasma. Det ger oss möjlighet att på djupet studera störningar i sår-läkningsprocessen och dra lärdomar av dessa som kan användas för att förbättra behandlingen av kroniska, svårläkta sår.
- **LÄKNINGSPROCESSEN** uppmäts genom att följa förändring i såret med hjälp av **DIGITAL IMAGE COLOR ANALYSIS** som möjliggör en tidig analys av även små förändringar i såret (cirkulationsförändringar, ödem, infektion) utan att interferera med såret.

Vilka biomarkörer kommer att studeras?

Tillväxtfaktorer från *Leukocyter, fibroblaster, keratinocyter och trombocyter* som befrämjar vävnadsreparation och påverkar hos kärl- och blodceller vid kärlnybildning: ex. **PDGF, TGF-beta, VEGF, FGF, m.fl.**

Tillväxthämmande faktorer från *Leukocyter, fibroblaster, keratinocyter* som bryter ner matrix i såret matrix metalloproteinaser (**MMP-2, MMP-3**) samt vävnadsanatomer mot dessa enzymer Tissue Inhibitor of Metalloproteinaser (**TIMP-1**).

Inflammationsmediatorer från *Leukocyter, fibroblaster, keratinocyter* som befrämjar invandring av vita blodkroppar in till såret och stimulerar dessa att frisätta andra inflammationsmediatorer stimulerar olika skeden i sår-läkningen: ex. **prostaglandiner, leukotriener, tromboxaner, ICAMs, VCAMs, m.fl.**

Infektionsmarkörer: Dessa substanser frisätts av olika celler i såret i samband med en bakteriell infektion. Preliminära studier utförda av oss visar att olika markörer signalerar olika grader av sårinfektion från *ytlig* till *djup* till *blodinfektion* (sepsis): ex. **IL 1RA, IL 6, IL 8, CSGF, MIP, MCP-1**. Dessutom frisätts dessa signalämnen redan inom ett dygn efter att en patologisk sårinfektion uppstått och långt innan kliniska tecken eller odlingsresultat kan visas. Genom att följa dessa biomarkörer kan en oönskad (patologisk) infektion skiljas från normal bakteriekolonisation med samma typ av bakterier (vilket en odling inte kan skilja åt). Detta beror på att normala hudbakterier inte utlöser frisättning av försvarsämnen medan samma typ av bakterie som har blivit vävnadsfientlig gör det.

Cytokiner: Denna växande grupp av mediatorer (vi identifierar allt fler) utgör en central del i alla delar av sår-läkningsprocessen inklusive infektionsförsvaret. Vi kommer att mäta ett

stort antal cytokiner för att därigenom kunna få en bred uppfattning av vad som händer under hela sårhelingsfaserna och även kunna identifiera faktorer som bromsar sårhelningen. Ex. **Eotaxin, IFN-beta, IFN-gamma, IL-1beta, IL-2, IL-4, IL-6, IL-6R, IL-8, IL-10, IL-12, IL-12p40, IL-12p70, IL-13, IL-17, IP-10, MCP-1, MCP4, MDC, MIP-1alfa, MIP-1beta, MIP-3alfa, RANTES, TARC, TNF-alfa, TNF-RI, TNF-RII**

STUDIEDESIGN

Titel: VAC-behandling av polikliniska diabetes patienter med kroniska ben- och fotsår

Studieort: Ortopedkliniken, SU/Möln dal, 431 80 Möln dal

Studieansvariga: Agnetha Folestad, Jean Cassuto, Håkan Hallberg,
Susanne Asteberg

Studiemål:

Primära:

1. Effekterna av VAC på sårhelningen uppmätt med **kliniska metoder**:
 - a. Granulationsytans utbredning i såret utfördes med **VISITRAC®** och baserades på klinisk bedömning av sköterska/läkare samt på digitala fotografier av såret. Utbredningen av granulationsvävnad uppskattades till 0-25%, 26-50%, 51-75%, 76-100%.
 - b. Sår ytans storlek (graden av sammandragning) med **VISITRAC®**
 - c. Infektionstecken i såret
2. Effekterna av VAC på sårhelningen uppmätt med **digital färganalys**:
 - d. Granulationsytans utbredning i såret
 - e. Cirkulationen och ödem i såret
 - f. Infektionstecken i såret

3. Analys av sårvätska, sårvävnad och venblod med avseende på **biomarkörer** för återbildning av hudens proteinskelett (matrixbildning), inväxt av hudceller (reepitelialisering) och kärlnybildning (angioneogenes).
4. Analys av sårvätska, sårvävnad och venblod med avseende på **mediatorer** som verkar hämmande på sårhelingsprocessen (ex metalloproteinaser, syndecaner, m.fl.).

Sekundära:

1. Effekten av VAC på primära sårinfektioner (sårodling vid inklusion kontra dag 7 efter påbörjad VAC behandling)
2. Effekten av VAC på uppkomsten av sekundära sårinfektioner
3. Effekten på sårsmärta med visuell analog smärtskala (VAS)

Studiedesign

Öppen randomiserad prospektiv studie på polikliniska patienter med kroniska sår inkluderande två behandlingsgrupper (se även flödesschema bilaga 1):

Grupp 1 (VAC-behandling, n= 65):

- Patienten behandlas med kontinuerlig VAC (tekniska specifikationer se bilaga X) från dag 0 (inkomstdagen) fram till dag 22 om inget avbrottskriterium uppkommit (se nedan). Såromläggning sker varannan dag på mottagningen.
- Sårvätska i VAC-behållare (se bild bilaga) samlas från dag 2 och sedan 3 ggr/vecka i samband med såromläggning fram till dag 22. Vid såromläggningen byts sårvätskebehållaren mot ny tom behållare och behållaren med vätska märks och fryses. Hos några patienter med riklig

vätskebildning från såret (n= 10), kommer sårvätska att samlas som ovan men även 2, 4 och 6 timmar efter VAC-behandlingens start (patienten ombedes stanna kvar på mottagningen och erbjuds fri måltid/fika). Avsikten med denna tidiga mätning är att utvärdera hur tidigt VAC-behandlingens effekt på såret kan identifieras.

- Sårets granuleringsgrad följes vid varje såromläggning. Vid granulationsvävnad i nivå med hudytan placeras Mepitel® förband mellan sårytan och VAC svampen för att sakta ner granulationsväxten.
- Vid blödning i samband med såromläggning (inväxt av granulationsvävnad i svampen) läggs Mepitel® förband mellan sårytan och svampen för att förhindra inväxt.

Grupp 2 (kontroll, n= 65):

- Såret behandlas i enlighet med klinisk praxis d.v.s. täcks med polyurethan förband (Allewyn®, Mepilex®) vid låg-måttlig sårvätskning eller med hydrofiber förband (Aquacel®) vid riklig sårvätskning. Byte mellan förbanden kan ske hos samma patient vid förändring av sårvätskemängden. Byte av förband sker på mottagningen 3 gånger per vecka fram till dag 22.

Gemensamma procedurer för båda patientgrupperna

- **Stansbiopsi** (6 mm) från sårkanten dag 0 och 7. Biopsierna läggs i kryorör, fryses i flytande kväve och överförs omedelbart till -85° C frys.
- **Vävnadsodling** (ytlig och djup) från såret dag 0 och 7 som sänds till bakt.lab. för odling och resistensbestämning
- **Venprov** (5 ml) dag 0 och sedan varannan dag i samband med såromläggning fram till dag 21. Proverna centrifugeras i kylcentrifug och plasma (ca 2 ml) överförs till kryorör som sparas i -85° C frys.
- Såret **fotograferas** med digitalkamera under standardiserade ljusbetingelser dag 0 och sedan varannan dag vid såromläggning fram till dag 22. Bilderna sparas i PICSARA kopplat till patientens journal (se Melior för elektronisk journalhantering). Bilderna kommer även att överföras till extern hårddisk för analys i DICA systemet (se bilaga 3). Den

externa hårddisken förvaras i kassaskåp i låst rum där analys av bilderna sker på dator utan nätverkskoppling.

- **Tåtryck** uppmättes vid dag 0 och 22 för att erhålla ett mått på cirkulationen i benet.

Inklusionskriterier

- Patienter av båda könen med diabetiska ben/fotsår som inte läkt inom 2 månader
- Ålder >18år
- Skriftligt medgivande efter skriftlig och muntlig information

Exklusionskriterier

- Patient med allvarlig hudsjukdom
- Immunosuppressiv behandling (cytostatika, steroider)

Avbrottskriterier för VAC

- När såret är moget för ett delhudstransplantat eller annan rekonstruktiv kirurgi
- När en tillfredställande granulering av såret skett före dag 22
- Vid kliniska tecken på infektion i såret
- När såret är färdigläkt

Studieduration

22 dagar

Tidsplan

070401-080401

Randomisering

Studien kommer att randomiseras av sjukhusapoteket. Randomiseringen kommer att blockas i grupper om 4 eller 6 patienter där även ordningen på blocken randomiseras.

Statistiska metoder

För skillnader i SÅRYTA vid studiens slut (dag 21) relativt studiens början (dag 0) beräknar vi minsta kliniskt relevanta skillnad i såryta mellan grupperna (d) till 20%, α -nivån väljs till 0.05, och statistisk power ($1 - \beta$) till 0.8 vilket ger ett PI-värde (koefficienten för signifikansnivån och styrkan) på 2.8 vid ett konfidensintervall på 95%. Beräkning av stickprovets storlek i varje grupp gjordes med hjälp av nomogram baserat på *power och standardized difference* som ger ett mått på det totala stickprovet i studien (Altman, DG. How large a sample? In: *Statistics in practice* (eds. SM Gore and DG Altman, London, British Medical Association, 6-8, 1982). Vi beräknar *Standardized difference* med hjälp av data från tidigare artikel (Mouës, CM et al. Wound rep reg 2004; 12: 11-17) där man jämfört effekten av VAC-behandling på sårytans storlek kontra koksalt förband. Författarna fann en minskning av sårytan på 3.8 %/dag (SD=1.93) i VAC-gruppen och 1.7 %/dag (SD=2.16) i kontrollgruppen vilket motsvarar 79.8% (P_1) resp. 35.7% (P_2) läkning efter 21 dagar. Vi beräknar n (antalet patienter i varje grupp) för proportioner (*categorical data*) dvs. för skillnader i sårytan vid dag 0 jämfört med dag 21 till $n=48$ patienter i varje grupp. För att säkerställa povernivån och kompensera för patientbortfall ökas patientunderlaget med 30% till 62 patienter i varje grupp. Skillnader i såryta vid studiens slut mellan grupperna kommer att jämföras med Wilcoxon's rank-sum test. Granulationsvävnadens utbredning kommer att analyseras med en *time-to-event* strategi med Kaplan-Meiers test följt av log-rank test. Demografiska data kommer att jämföras mellan grupperna med hjälp av *two-sample t-test*.

Det finns få studier på människa där man jämfört VAC med traditionell förbandsbehandling när det gäller skillnader mellan grupperna avseende biomarkörer och mediatorer (cytokiner, tillväxtfaktorer, metalloproteinaser, etc). I en studie som endast omfattade 6 patienter med trycksår, behandlades patienterna med VAC och plasma nivåerna av TNF α , IL-1 β , MMP och TIMP följdes under 7 dagar. Ingen fristående kontrollgrupp inkluderades (Stechmiller, JK et al. wound rep regen 2006; 14: 371-374). Vi använde studien ovan för beräkning av ett medelvärde för SD för TNF α och IL-1 β till 2.0725. Skillnader över tiden (dag 0 till dag 7) var för TNF α = 22% medan motsvarande skillnad för IL-1 β var 60%. För jämförelse mellan grupperna i denna studie avseende biomarkörer beräknar vi på en minsta skillnad på 20% mellan grupperna över studietiden (dag 0 till dag 21). Power anges till 0.8 och α -nivån väljs till 0.05, vilket vid beräkning av gruppstorlek (n) för kategoriska data ger $n=50$ patienter/grupp. För att säkerställa povernivån och kompensera för patientbortfall ökas patientunderlaget med 30% till 65 patienter i varje grupp.

Vi väljer därför studiens stickprov till $N=65$ (65 patienter i varje grupp) för att tillgodose samma power för alla studievariabler. Det ackumulerade medelvärdet för varje biomarkör över tiden (22 dagar) kommer att beräknas för alla patienter i respektive grupp (estimated mean of accumulated mean values). Skillnader i medelvärden för individer i VAC resp. kontrollgruppen kommer att analyseras med Wilcoxon rank-sum test. ANOVA kommer att användas för att bestämma skillnader mellan grupperna vid enskilda tidpunkter och där skillnader påvisas kommer multipla jämförelser att göras med Student-Newman-Keuls test.

Märkning av plasma- och vävnadsprover

- Patientens ID kod
- Studietitel
- Studienummer
- Datum för provtagning

Randomiseringsprocedur

Apoteket AB (det lokala sjukhusapoteket) randomiserar patienterna och förser proverna med randomiseringslista.

Blindning av studie

P.g.a. studiens utformning med en VAC-utrustning i de ena behandlingsgruppen är det inte möjligt att blinda patienterna. Däremot kommer analys av plasma- och sårvätska samt av vävnadsprover att ske av medarbetare blindad för studieprotokollet. Resultat från analyserna kommer att utföras med biochip teknologi (MSD Sector Investigator 2400) och alla data sparas i särskild mapp i rotkatalogen som **inte** kan ändras av proverna. Data kommer även att sparas i annan mapp tillgänglig för proverna och som kan bearbetas för analys och presentation av resultat. Odling och resistensbestämning från sår sker på annat lab. (bakt.lab. SU/SS). Digital mätning av såryta och utbredning av granulationsvävnad (Picsara, Visitrac, DICA) kommer att utföras av medarbetare som är blindade för patientprotokollet.

Patientlog

Försöksledarna noterar alla patienter som kan tänkas inkluderas i studien. Detta görs för att säkerställa att inkluderade patienter inte skiljer sig från övriga patientpopulationen. Anledningen till att en patient därefter inte inkluderas i studien skall särskilt anges för varje individ.

Etisk prövning

Studien startar först efter att godkännande har erhållits från Regionala Etiknämnden i Göteborg.

Helsingfors deklARATIONEN

Studie utförs enligt rekommendationer för biomedicinsk forskning involverande människor som antogs vid 18th World Medical Assembly, Helsingfors, Finland 1964 och de senare tilläggen.

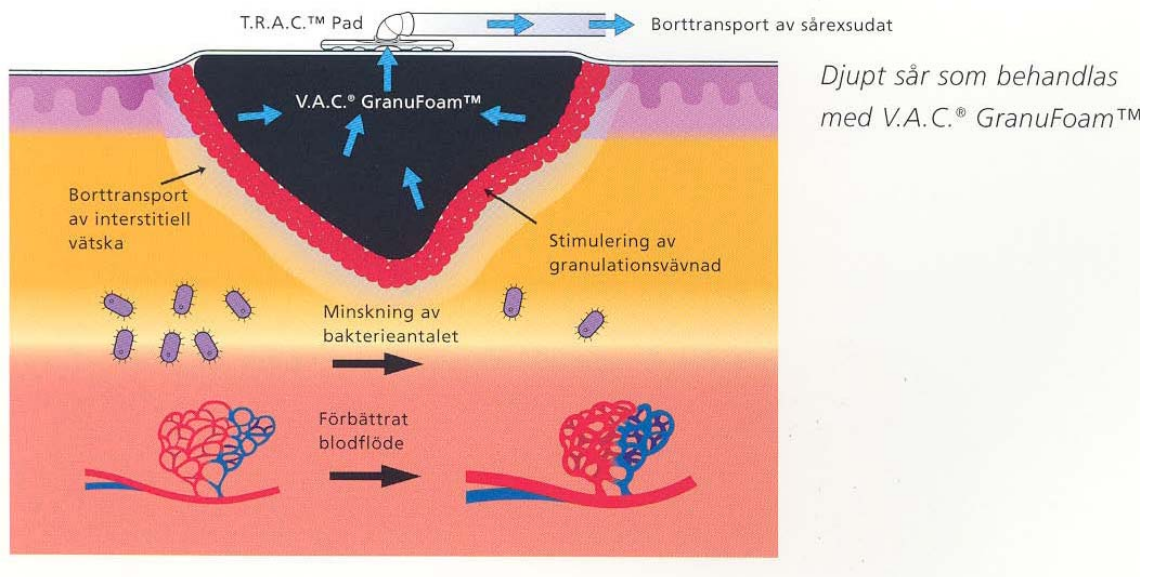
Finansiering

Studien finansieras med forskningsanslag och sponsring från KCI Medical AB.

Försäkring

Patienter är försäkrade enligt "Allmänna patientförsäkringen".

FIG. 1 Illustrationen visar hur vakumförbandet (svart och vit, se nedan) genom sin eftergivlighet fyller ut sårområdets ojämnheter och transporterar bort överflödigt sårsvätska till en extern behållare. Förbandet och behållaren byts ut varannan dag.



Olika former och storlekar att välja bland, beroende på såret. Finns i small, medium, large och extra large.



Två olika förbandsstorlekar att välja bland beroende på såret. Finns i small och large.



V.A.C.® GranuFoam tillverkas av öppet, nätliknande polyuretanskum (PU).



V.A.C.® VersFoam tillverkas av ett mikro-poröst, polyvinylalkoholmaterial (PVA).

Vit förband är ytbehandlat för att ytterligare minska risken för att sårvävnad fastnar i förbandet.

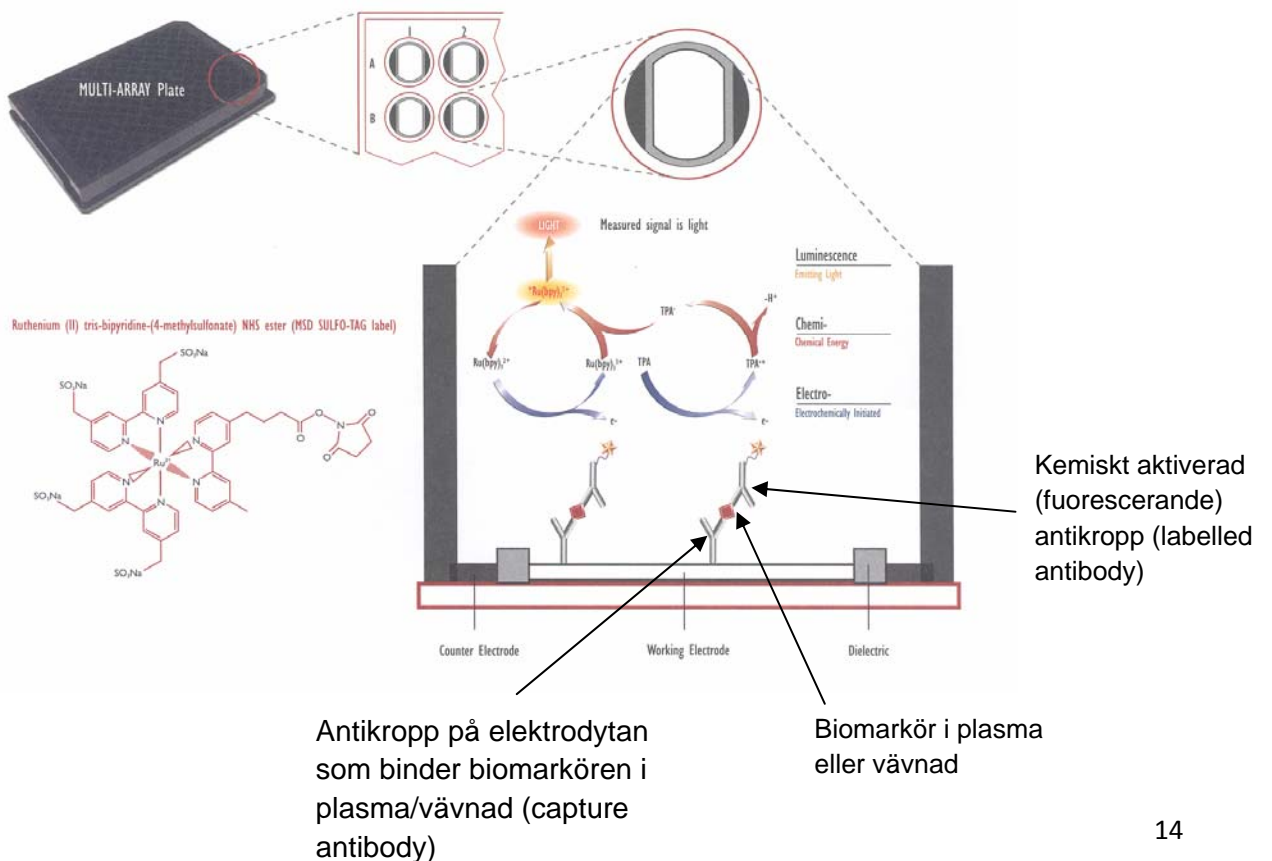
Biochip Multi-Array Technology

Tekniken är baserad på elektrokemisk stimulering aktiverad på elektrodytan på multi-array och multi-spot mikroplattor. Antikroppar mot den biomarkör man vill mäta binds till en icke-ledande yta av rent kol som eliminerar störande bakgrundsaktivitet (Fig 1) varefter signalen (bioluminescens) aktiveras med elektrisk ström (Fig 2).



Fig 1 Antikroppar mot specifika biomarkörer (ex olika cytokiner) bundna till plattans kolyta

Fig 2 Beskrivning av aktivering av biomarkörens bindning och aktivering



MSD Human TH1/TH2 Cytokine Assay

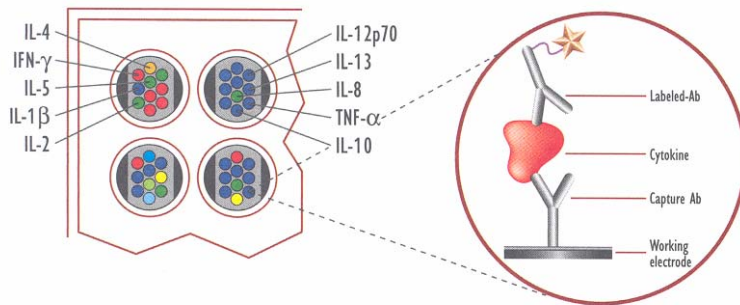
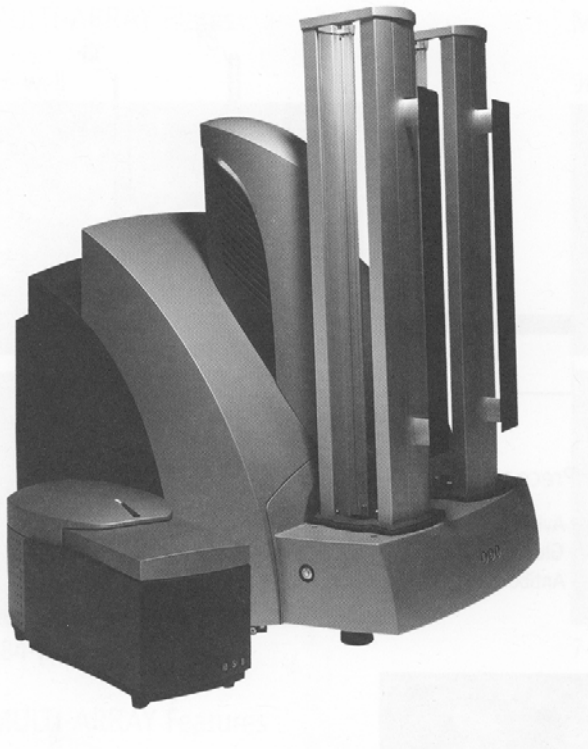


Fig 3. Varje brunn på multi-array plattan (96 stycken) kan innehålla upp till 10 olika antikroppar. Genom att de är isolerade från varandra av kolvävnad kan de identifieras var för sig med mycket hög känslighet och deras aktivitet läsas specifikt. Bara signaler nära elektrodytan registreras vilket innebär att grumlingar i plasma är av underordnad betydelse med denna teknik (men utgör ett viktigt störmoment vid tex ELISA-teknik). Signalen fångas individuellt med CCD (charge coupled device) kamera och omvandlas genom image processing till ett absolutvärde (mot standardkurva) för varje individuell biomarkör på biochipet. Med 100 µl plasma erhålls analys av 1 markör med ELISA-teknik medan biochip tekniken ger 40 olika analyser med samma mängd plasma.

Fig 4 . MSD Sectors Imager 2400 (USA) är den biochip enhet vi använder på vårt lab. Enheten genomför en komplett analys av en platta (960 analyser = prover) på 3 minuter och kan analysera 20 plattor efter varandra motsvarande 19.200 analyser på 1 timme.



Digital bildanalys (Digital Image Colour Analysis)

När man gör en klinisk bedömning av förändringar i huden blir den inter- och intra-individuella variationen ofta stor. Dessutom har det nästan ögat svårt att urskilja enskilda processer i huden (t.ex. rodnad som kan vara hyperemi eller stas och blekhet som kan vara orsakad av ischemi eller ödem), dvs ögat uppfattar en summafärg som kan vara uttryck för helt motsatta processer i huden. Därför har man inom flera medicinska områden utvecklat en teknik baserad på digital färganalys av huden som möjliggör en objektiv och kvantitativ mätning av olika fysiologiska och patologiska förändringar. Metodens grunder är presenterad i två avhandlingar från vår forskningsgrupp (Mattsson, U. Computer-assisted image analysis of skin erythema and oral mucosal lesions in humans, Göteborg University 1996 samt Jönsson, A. Burns and local anesthetics, Göteborg university 1996). Metoden och dess styrka har utvecklats vidare, och kommer att redovisas vid klinisk tillämpning på brännskadesår samt andra typer av hudsår s.s. fallet är i denna studie.

I ett antal studier på friska frivilliga försökspersoner utvecklade vi en standardiserad brännskademodell som har möjliggjort studier av förändringar i brännskadad intakt hud (Fig 5) vilket gjort det möjligt att identifiera olika processer i huden i samband med sårutveckling. Parallellt med de humana studierna har vi även genomfört experimentella djurstudier där vi utlöst en djup delhudsbrännskada och sedan följt läkningen under 3 veckor. Tekniken bygger på datorbaserad analys av färgförändringar i huden med hjälp av två system: *normaliserad RGB* (n-RGB) samt *Hue-saturation-Intensity* (HSI) (Fig 6).



Fig 5. Ytlig delhudsbrännskada (1 cm²) på underarmens insida som läker utan resttillstånd



Fig 6. Schematisk illustration av de färgsystem som används för analys av färgförändringar i vävnad.

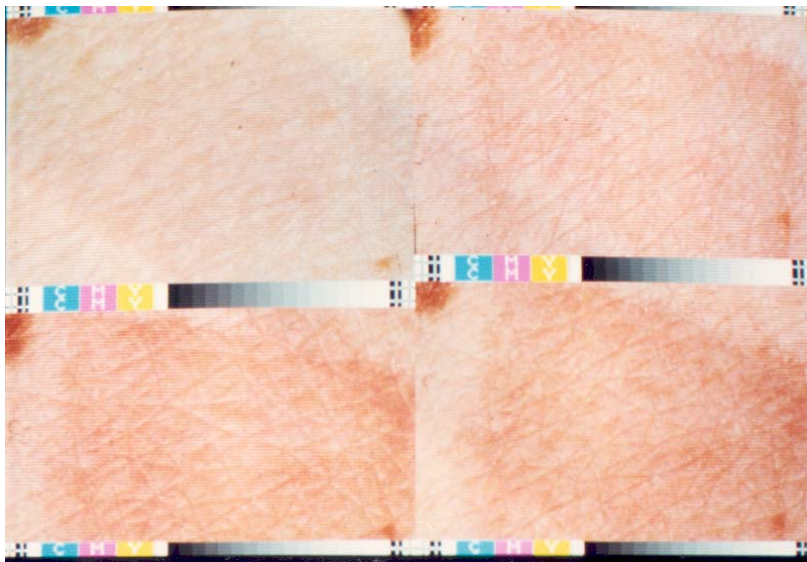


Fig 7. Det digitala systemet kan skilja olika processer i ett sårområde eftersom dessa har helt unik färgsammansättning. Ovan illustreras en bildsekvens där en frivillig försöksperson fått en ytlig delhudsbrännskada som följs under 12 timmar (överst vänster **preburn**, översthöger **5 minuter postburn**, nederstvänster **4 tim postburn**, nedersthöger **12 tim postburn**).

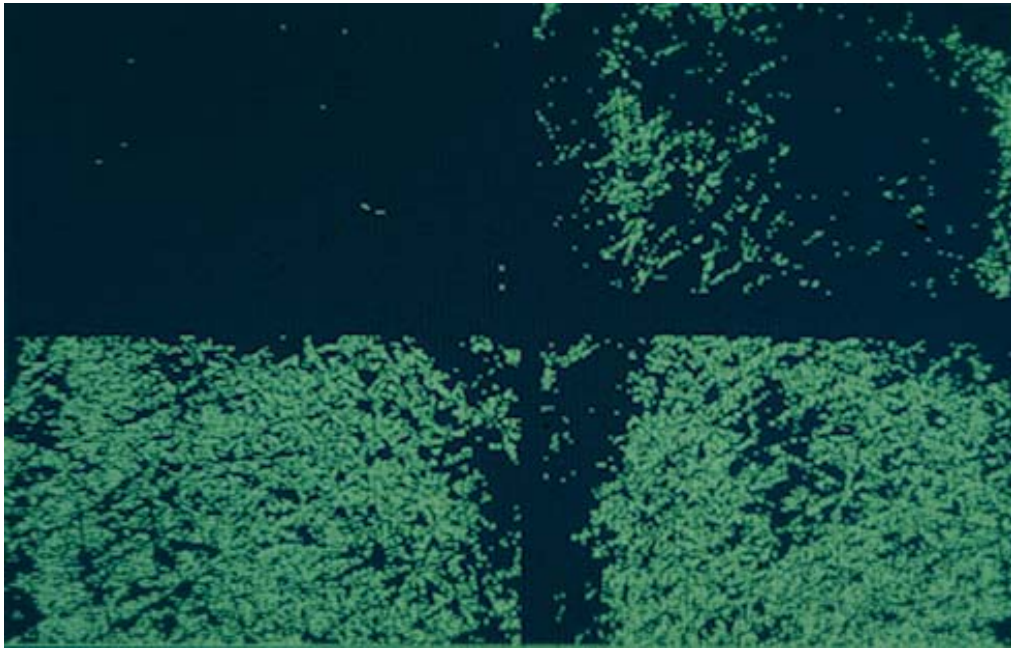


Fig 8. I bildserien ovan har vi isolerat den färg som är specifik för *väl syresatt blod* (hyperemi) från andra färger som representerar andra processer i huden. Överst till vänster ser vi blodflödet i obränd hud som bildar en nollpunkt (basic level), överst till höger ser vi blodflödet i brännskadan 5 minuter efter brännskadan (grön fluorescens), nederst till vänster 4 timmar efter skadan och nederst till höger 12 timmar efter skadan.

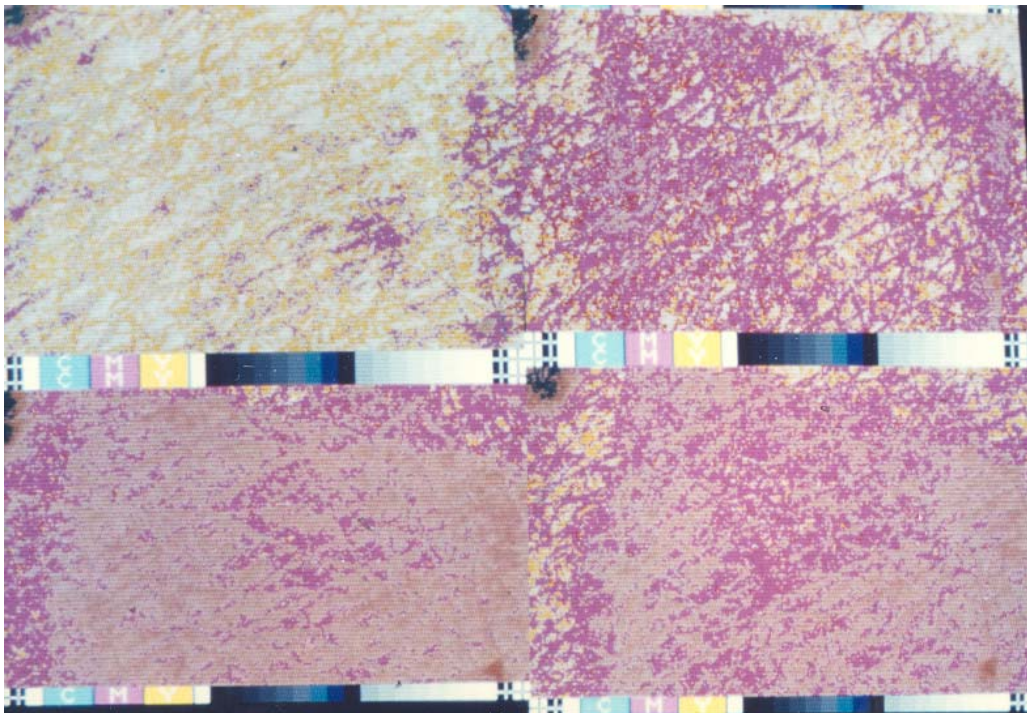


Fig 9. Samma individ som Fig 7 & 8, men här har vi låtit datorn separera ödem (brun) från hyperemi (rött). Nedan har ödemet isolerats från hyperemin (Fig 10) och KVANTIFIERATS (Fig 11) vilket ger möjlighet till kvantitativ jämförelse mellan olika behandlingsgrupper.



Fig 10

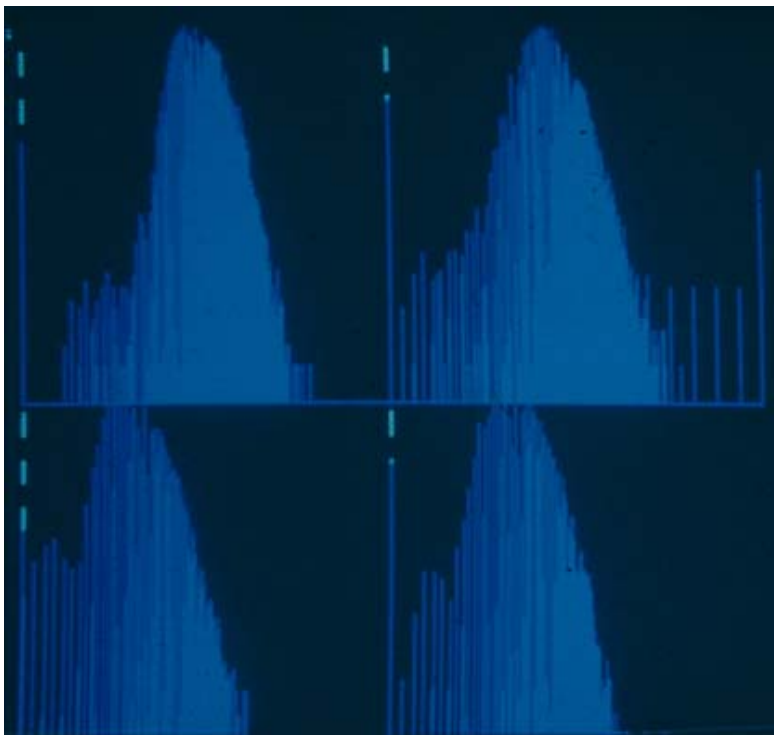


Fig 11