

Miha Ciringer¹, Ciril Triller², Dragica Maja Smrke³

Terapija s kontroliranim negativnim tlakom

Negative Wound Pressure Therapy

IZVLEČEK

KLJUČNE BESEDE: terapija s kontroliranim negativnim tlakom, rane, celjenje ran, sodobni materiali za oskrbo ran

Zdravljenje vseh vrst ran predstavlja velik zdravstveni problem in breme za bolnike. Poglobljeno razumevanje celjenja ran na celičnem in molekularnem nivoju je omogočilo nedavni razvoj sodobnih materialov za oskrbo ran. Med te materiale prištevamo tudi terapijo s kontroliranim negativnim tlakom. Pri tej metodi kontroliramo pogoje s pomočjo mikroprocesorsko vodene črpalke, ki preko drenažnih cevi ustvarja podtlak v rani izpolnjeni s posebno peno ali gazo. Terapija s kontroliranim negativnim tlakom ugodno vpliva na celjenje ran. Ta metoda ima posebej pomembno vlogo pri pospeševanju celjenja kroničnih in okuženih ran ter akutnih travmatskih ran z obsežno poškodbo mehkih tkiv. Metoda se je izkazala za učinkovito in varno, ima široko klinično uporabnost ter je hkrati ob pravilni uporabi ekonomsko opravičljiva.

ABSTRACT

KEY WORDS: negative wound pressure therapy, wound, wound healing, wound dressings

Wound management represents a great burden for the patients' quality of life and also for the healthcare expenditures. The understanding of the complex cellular and molecular mechanisms involved in the healing process enabled the recent development in the field of wound dressing. One of the recent advances in the field is the negative wound pressure therapy. This modern wound dressing consists of a special foam or gauze that fills the entire wound volume and a microprocessor guided pump that controls the wound parameters and exerts negative pressure on the wound. The pump is connected to the wound compartment through a set of draining tubes. Negative pressure wound therapy accelerates the wound healing process. This new method is especially well suited for the treatment of chronic and infected wounds and also acute traumatic wounds with extensive soft tissue damage. Usage of negative pressure wound therapy in the management of acute and chronic wounds has shown to be safe and efficient. It has broad clinical applications and it is economically justified when used optimally.

¹ Miha Ciringer, štud. med., Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Vrazov trg 2, 1000 Ljubljana; mihaciringer@gmail.com

² Prim. asist. Ciril Triller, dr. med., Klinični oddelek za kirurške okužbe, Univerzitetni klinični center Ljubljana, Zaloška cesta 7, 1525 Ljubljana

³ Prof. dr. Dragica Maja Smrke, dr. med., Klinični oddelek za travmatologijo, Univerzitetni klinični center Ljubljana, Zaloška cesta 7, 1525 Ljubljana; Klinični oddelek za kirurške okužbe, Univerzitetni klinični center Ljubljana, Zaloška cesta 7, 1525 Ljubljana

UVOD

Zdravljenje ran, tako akutnih kot tudi kroničnih, predstavlja velik terapevtski izziv. Naraščajoča incidenca ran, predvsem tistih z motnjami pri celjenju, predstavlja veliko breme za bolnike, pa tudi finančno breme za zdravstvo. Osnovo zdravljenja ran predstavlja dobro planiranje izbranih postopkov ter zdravljenje osnovne bolezni, ki lahko zavira celjenje. Lokalni postopki za zdravljenje ran obsegajo različne kirurške postopke ter uporabo sodobnih materialov za oskrbo ran. Celjenje rane je kompleksen proces, ki predstavlja zapleteno medsebojno delovanje različnih celic, citokinov, rastnih dejavnikov in tkivnih proteinaz (1). Osnovne faze celjenja so vnetje, proliferacija in remodelacija. Celjenje akutnih ran poteka v pravilnem zaporedju. Povsem drugače je pri kroničnih ranah, kjer celjenje ne poteka v pravilnem sosedju, posamezne faze so podaljšane, se prepletajo in se ne zaključijo (2). Poglobljeno celično in molekularno razumevanje tako kompleksnega procesa, kot je celjenje, je omogočilo razvoj modernih materialov za oskrbo ran. Lastnosti, ki jih ti materiali imajo, so uravnavanje vlažnosti, temperature in pH, absorpcija eksudata, zaviranje okužbe, ne dražijo, so nealergeni in neadherentni (3, 4).

Terapija s kontroliranim negativnim pritiskom (TNP) je oblika sodobnih materialov za oskrbo ran, pri kateri z mikroprocesorsko vodeno črpalko ustvarjamo negativni tlak v rani (5). S pionirskim delom so raziskovalci dokazali učinkovitost TNP, kasnejše študije pa so potrdile njeno uspešnost (6–10). Čeprav so podrobnosti o mehanizmu delovanja še neznanane, so znani ugodni vplivi TNP na celjenje ran. Indikacije TNP so široke, metoda je ob pravilni uporabi varna za bolnika in učinkovita tudi v ekonomskem pogledu (9, 11).

ZGRADBA SISTEMA ZA TERAPIJO S KONTROLIRANIM NEGATIVNIM TLAKOM

TNP obstaja v različnih izvedbah, saj gre za različne lastniške izdelke. V osnovi so sistemi TNP sestavljeni iz pene ali sterilne gaze, ki je ročno oblikovana po tkivnem defektu ali rani, drenažne cevi, ki povezuje peno s črpal-

ko, poliuretanske folije, ki se prelepi preko rane ali tkivnega defekta, izpolnjenega s peno ali gazo, in črpalke, ki ustvarja podtlak ter ima vgrajeno zbiralno posodo za eksudat.

Klasična namestitev sistema TNP omogoča zgolj vzpostavitev podtlaka. Obstajajo različice sistemov, ki omogočajo perfuzijo rane z Ringerjevim laktatom in antiseptiki. Takšna uporaba je različica perfuzijskih sistemov za rane. V primeru okuženih ran je možna uporaba posebnih oblog pod samo peno, npr. srebrovih oblog, ki delujejo protibakterijsko.

Peni, ki se uporabljata pri TNP, sta iz različnih materialov, razlikujeta pa se v velikosti por in elektrokemijski zgradbi. Zaradi teh razlik imata tudi drugačno uporabnost. Bela pena je polivinilalkoholna (PVA), črna je poliuretanska (PU).

PVA pena ima pore manjših dimenzij, nima mrežaste zgradbe in je hidrofilna. PU pena ima pore večjih dimenzij, mrežasto zgradbo ter je hidrofobna. Pomembne lastnosti pene so zmanjševanje količine eksudata, edema rane, kolonizacije z mikroorganizmi in pozitiven vpliv na hemodinamske parametre kapilarne mreže (zvišanje perfuzijskega tlaka, zmanjšanje venskega zastoja, zvišanje pretoka krvi). Pena okolne kože ne draži, ne poškoduje ter pospešuje razraščanje granulacijskega tkiva. Granulacijsko tkivo je primerno ležišče za presadke, režnje in tkivne nadomestke, prav tako pa je pena primerna za fiksiranje le-teh (12, 13).

Za polnitev ran se namesto pen uporabljajo tudi posebne sterilne gaze, ki so prepojene z antiseptiki. Tako pripravljene gaze omogočajo daljši čas namestitve, brez vzpostavitve podtlaka, tudi do 72 ur. Zaradi grozdečega septičnega stanja je lahko sistem TNP z nameščeno peno v rani brez vzpostavljenega podtlaka zgolj 2 uri. Teh navodil se je potrebno strogo držati.

Drenažne cevi, ki povezujejo rano s črpalko, morajo biti sterilne, prav tako tudi vsi ostali deli, ki pridejo v stik z rano. K cevem spadajo razni priključki za lažje sestavljanje in zagotavljanje robustnosti ter zanesljivosti. Določeni sistemi uporabljajo drene različnih oblik z različnimi vzorci perforiranosti, ki omogočajo optimalnejšo drenažo.

Celoten sistem mora tesniti, za kar se uporabljajo adhezivne poliuretanske folije. Te ima

jo lastnosti polprepustne pregrade, omogočajo ohranjanje konstantnega mikrookolja rane in prehajanje vodne pare v obe smeri, ne pa tudi vodnih kapljic in bakterij (14).

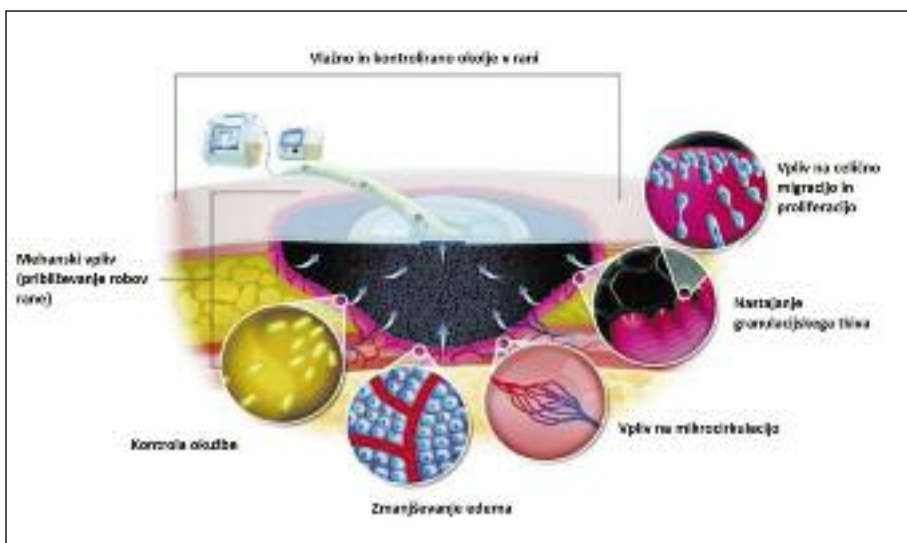
Črpalke so napredne, mikroprocesorsko vodene naprave, ki so danes tudi v prenosni izvedbi. Služijo izvajanju kontroliranega podtlaka, programiranju režimov izvajanja podtlakov in nadzoru tesnjenja sistema. Možne so manipulacije jakosti podtlaka in trajanje posameznih faz, torej trajanje izvajanja podtlaka in trajanje intervalov brez podtlaka. Vrednosti podtlakov, ki se uporabljajo, so običajno okoli 125 mmHg, eksperimentalno so preizkušali tudi višje vrednosti podtlakov. Negativni tlak se lahko izvaja kontinuirano (konstantna vrednost podtlaka čez celotno terapijo) ali intermitentno (izmenjujoči intervali podtlaka in brez njega) (12). V literaturi so objavljeni različni režimi izvajanja negativnega tlaka, vendar večinoma še niso optimizirani za posamezne indikacije (14). Granulacijsko tkivo se najbolj optimalno tvori z intermitentnim izvajanjem podtlaka: 5 min izvajanja podtlaka v vrednosti 125 mmHg in 2 min premora v prvih 48 urah po aplikaciji (15). Črpalke imajo nameščene posebne zbiralne posode za eksudat in omogočajo njegovo analizo – mikrobiološke preiskave, molekularne preiskave in preiskave v raziskovalne namene.

MEHANIZEM DELOVANJA

TNP pospešuje celjenje preko različnih celičnih, zunajceličnih in kompleksnih sistemskih mehanizmov, ki so prikazani na sliki 1 (14, 16).

TNP pozitivno vpliva na hemodinamske razmere v mikrocirkulaciji, pospešuje odstranjevanje zaviralnih dejavnikov celjenja (proteaz, kot so katepsini, elastaze, matriksne metaloproteinaze) in bakterijskih endotoksinov. Podtlak pasivno dilatira kapilare, vpliva na povečan pretok krvi in limfe, zvišuje perfuzijski tlak, znižuje intersticijski tlak ter zmanjšuje edem rane (15). Pomembno vlogo ima tudi pri odstranjevanju eksudata, preprečevanju nastanka hematovom in drugih tekočinskih kolekcij, ki lahko negativno vplivajo na celjenje (17).

Mehanske sile pospešujejo endotelijsko proliferacijo ter angiogenezo, kar se kaže s povečano volumsko gostoto kapilar v tkivu robov rane. Z metodo Western blot so na živalskem modelu ugotavljali povečano gensko izražanje endotelijskega označevalca CD31 in angiogenih rastnih dejavnikov žilnega epitelijskega rastnega faktorja 2 (angl. *vascular epithelial growth factor 2*, VEGF-2) ter fibroblastnega rastnega faktorja 2 (angl. *fibroblast growth factor*, FGF-2) (18). Elementi citoskeleta imajo vlogo mehanoreceptorjev, ki posredno preko



Slika 1. Shematski prikaz mehanizma delovanja terapije s kontroliranim negativnim tlakom (14, 16).

transmembranskih receptorjev iz družine integrinov pospešujejo celično aktivnost. Celično signaliziranje posredujejo intracelularni sekundarni obveščevalci (kalcijevi ioni), inozitol-3-fosfat (IP3), proteinska kinaza C (PKC) in prostaglandini (17, 19).

TNP pospešuje sintezo kolagena v fibroblastih in posledično nastajanje granulacijskega tkiva, ki histološko kaže dobro organizacijo kolagenskih vlaken (18). Rana, ki je pokrita s čistimi granulacijami, je primerna za zapiranje, kritje z režnji, presadki ali tkivnimi nadomestki (14).

PU folija pomaga ohranjati primerno vlažnost rane. Vlažnost pospešuje epitelizacijo, pospešuje neboleče avtolitično odstranjevanje nekrotičnih mas s fagocitnimi celicami (makrofagi, polimorfonuklearni levkociti) in pomembno vpliva na zmanjšanje bolečine (20).

V študijah so ugotovili zmanjšanje bakterijskega bremena v ranah, ki so bile zdravljene s TNP (21). Vpliv pripisujejo kombinaciji ugodnih vplivov na mikrocirkulacijo, odstranjevanju eksudata in izboljšanju funkcije nevtrofilcev zaradi boljše oksigenacije rane.

Zaradi lokalne kontrole okužbe TNP vpliva na sistemske znake vnetja. Ugodne sistemske učinke so ugotavljali že na živalskih modelih. V eni izmed eksperimentalnih študij so pri uporabi TNP za pokrivanje opeklinjskih ran ugotovili zmanjšanje vrednosti tromboksana A₂ (TbXA₂), ki je potenten vazokonstriktor in deluje protrombogeno, in konast prostaciklina (PGI₂), ki deluje vazodilatatorno in protivnetno, v mezenterialnem žilju (14). Ob uporabi TNP pri travmatski rhabdomiolizi («crush» poškodbah) so na živalskih modelih ugotavljali pomembno znižanje nivoja serumskega mioglobina, kar lahko ugodno vpliva na preprečevanje razvoja akutne ledvične odpovedi (22). Učinek terapije TNP se zaradi sistemskih učinkov lahko nadzoruje z nivojem C-reaktivne beljakovine (CRP) v krvi bolnikov (23).

INDIKACIJE IN KONTRAINDIKACIJE

TNP se je izkazala za učinkovito metodo pri primarni oskrbi poškodb z obsežnim defektom mehkih tkiv. Uporablja se za začasno pokrivanje primanjkljajev mehkih tkiv pred

zaključnim zdravljenjem, ko se le-te pokrije z režnji ali dokončno zapre z zapoznelimi šivi. To so tako imenovani posegi za obvladovanje življensko ogrožujočih poškodb (angl. *damage control*). TNP se tako uporablja za pokrivanje primanjkljajev mehkih tkiv pri težjih oblikah odprtih zlomov ter pri oskrbi zmečkanin in raztrganin, ki jih ob primarni oskrbi ni mogoče zapreti. TNP je prav tako primerna metoda za pokrivanje ran po fasciotomijah pri kompartment sindromu (12).

Metoda je primerna tudi za zdravljenje okuženih kirurških in travmatskih ran. Uporablja se za zdravljenje okuženih sternotomijskih in laparotomijskih ran, za zdravljenje ugriznih ran, osteitsov ter za pokrivanje primanjkljajev mehkih tkiv, ki nastanejo pri zdravljenju nekrotizirajočega fasciitisa. Možna je tudi uporaba za zdravljenje okuženih ran po odstranitvi endoprotez in osteosinteznega materiala.

Kronične travmatske in kronične kirurške rane ter razjede se z običajnimi postopki velikokrat ne celijo. Ob ustreznem zdravljenju osnovne bolezni TNP med drugim pospešuje celjenje ran v sklopu sindroma diabetičnega stopala, preležanin, golenskih razjed zaradi periferne arterijske bolezni ter kroničnih venskih razjed.

Zraven naštetega je TNP nepogrešljiva metoda za fiksiranje presadkov, režnjev in tkivnih nadomestkov ter pokrivanje in zdravljenje subdermalnih opeklinjskih ran (12).

Kontraindikacij sicer ni veliko, vendar lahko ob neupoštevanju pride tudi do resnejših zapletov. TNP se nikoli ne namešča neposredno na izpostavljene večje žile ali žilne anastomoze in se ne uporablja pri bolnikih z motnjami strjevanja krvi (tudi antikoagulantno zdravljenje s kumarinskimi pripravki je kontraindikacija) ali aktivnimi krvavitvami po nekrektomijah. Prav tako se TNP ne uporablja za zdravljenje onkoloških kroničnih ran (razen v stadiju paliativne oskrbe), neraziskanih fistul, nezdravljenih osteitsov ali ran z nekrotičnim tkivom (12).

NAMESTITEV SISTEMA

Pred namestitvijo je potrebna ustrezna kirurška oskrba rane, predvsem v rani ne smejo biti prisotni tujki ali nekrotične mase. Pri kroničnih ranah je potrebno posebno skrb posvetiti



Slika 2. Pokrivanje kronične rane na goleni (levo) in amputacijskega krna (desno) s črno poliuretansko peno (fotografije so iz arhiva avtorjev).



Slika 3. Vstavljanje gaze v tkivni defekt (levo) in povrhnje pokrivanje rane z gazo (desno) (fotografije so iz arhiva avtorjev).



Slika 4. Pokrivanje ran s poliuretansko folijo (fotografije so iz arhiva avtorjev).



Slika 5. Rana z nameščenim sistemom za terapijo s kontroliranim negativnim tlakom in vzpostavljenim podtlakom na goleni (levo) in po amputaciji (desno) (fotografije so iz arhiva avtorjev).

koži na robu rane, saj je lahko trofično spremenjena ali macerirana (12).

Ustrezno peno ali gazo se izbere glede na vrsto rane in oblikuje po njeni prostornini (slika 2, slika 3). Pene se na rob rane ne sme pritrditi s šivi ali sponkami. Prav tako se v času zdravljenja s TNP rane ne zapira s šivi. Ko je pena ali gaza nameščena v rano, sledi namestitev drenažne cevi s prilegajočimi priključki in pokrivanje rane s PU folijo (slika 4), ki mora segati vsaj 3–5 cm čez robove rane. Cev priključimo tudi na črpalko in z vzpostavitvijo podtlaka preverimo tesnjenje sistema (slika 5). Potrebna je še nastavitev optimalnega programa za zdravljenje, torej režim vzpostavljanja podtlaka – čas in vrednosti podtlaka (12).

Sistem se menjuje na 2–4 dni, čas med menjavami se lahko tudi podaljša, kadar rana ni okužena. Zbiralne posode za eksudat menjujemo po potrebi. Postopek menjave sistema je načeloma neboleč za bolnika, zato uporaba anestetikov največkrat ni potrebna. Anestezija je potrebna zgolj v primerih, ko je potrebna dodatna nekrektomija rane. Če ima bolnik težave s prenašanjem sistema zaradi bolečine, lahko uvedemo terapijo s kontinuiranim podtlakom ali nekoliko nižjimi vrednostmi podtlaka. Po odstranitvi pene ali gaze rano obilno izperemo s fiziološko raztopino, lahko se opravi dodatna nekrektomija in ponovno namesti sistem (12).

Slika 6, slika 7 in slika 8 prikazujejo primer zdravljenja potravmatske kronične rane



Slika 6. Kronična rana s fibrinskimi oblogami in mrtvinami pred začetkom zdravljenja (fotografija je iz arhiva avtorjev).



Slika 7. Rana na nameščenim sistemom za terapijo s kontroliranim negativnim tlakom (fotografija je iz arhiva avtorjev).



Slika 8. Stanje po končani terapiji s kontroliranim negativnim tlakom (fotografija je iz arhiva avtorjev).

s sistemom TNP. Rana se je celila regenerativno, torej z obsežnim tvorjenjem granulacijskega tkiva in epitelizacijo z robov rane.

ZAPLETI ZDRAVLJENJA

Zapleti so ob pravilni namestitvi načeloma redki. Metoda velja za varno ob pravilni uporabi. Kljub temu se lahko pojavijo težave, kot so bolečina, krvavitev, okužba, sepsa in izguba tekočine. Rane, pri katerih se uporablja TNP, so lahko same po sebi boleče (npr. opekline), zato vsaka menjava predstavlja obremenitev za bolnika. Prednost TNP je, da menjave niso prepogoste, kar olajša njeno uporabo. V primeru bolečin je potrebna uporaba analgetikov. Če so rane večje, je včasih potrebna tudi splošna anestezija (17). Čeprav TNP dokaza

no zmanjšuje kolonizacijo rane in možnost okužbe, so poročali o primeru sindroma toksičnega šoka, domnevno zaradi uporabe TNP (24). Prekinitev terapije je nujna ob pojavu sveže krvi v zbiralni posodi sistema. Pri ranah z obilnim eksudatom je potreben nadzor vnosa tekočin, še posebno pri ogroženih bolnikih in bolnikih z opeklinskimi ranami zaradi večjega deleža skupne telesne površine (17).

ZAKLJUČEK

Zdravljenje poškodb in kroničnih ran predstavlja veliko breme za bolnika ter ne nazadnje tudi finančni zalogaj za zdravstvo, zato je hitrejše in uspešno zdravljenje zaželeno. Pri ustrezno postavljeni indikaciji je TNP primerna

metoda za zdravljenje različnih ran, prav tako je tudi ekonomsko opravičljiva. Ob pravilni uporabi omogoča TNP hitrejšo in uspešnejšo zdravljenje ter zmanjša potrebo po operacijskih in drugih zdravniških posegih. TNP daje možnost ambulantnega zdravljenja in

omogoča večjo mobilnost bolnika med zdravljenjem. Uspešno sodobno zdravljenje ran se posredno pozna tudi na socialnem in ekonomskem področju, saj pripomore k skrajšanju časa bolniškega staleža ter ugodno prispeva k čim hitrejši in boljši zmožnosti za delo.

LITERATURA

1. Stadelmann WK, Digenis AG, Tobin GR. Physiology and healing dynamics of chronic cutaneous wounds. *Am J Surg*. 1998; 176 Suppl 2A: 26–38.
2. Falanga V. Wound healing and its impairment in the diabetic foot. *Lancet*. 2005; 366 (9498): 1736–43.
3. Townsend CM, Beauchamp RD, Evers BM, et al. Sabiston textbook of surgery. 18th ed. Philadelphia: Saunders; 2007.
4. Shai A, Maibach HI. Wound healing and ulcers of the skin: diagnosis and therapy – practical approach. Heidelberg: Springer-Verlag Berlin; 2005.
5. Triller C, Smrke D, Tonin M. Zdravljenje ran s terapijo V. A. C. In: Tonin M. Zbornik predavanj XLII. podiplomskega tečaja kirurgije; 2007 Feb 2–3; Ljubljana, Slovenija. Ljubljana (Slovenia); Slovensko zdravniško društvo, Združenje kirurgov Slovenije, c2007.
6. Morykwas MJ, Argenta LC. Nonsurgical modalities to enhance healing and care of soft tissue wounds. *J South Orthop Assoc*. 1997; 6 (4): 279–88.
7. Moues CM, Bemd GJCM, Heule F, et al. Comparing conventional gauze therapy to vacuum-assisted closure wound therapy: a prospective randomised trial. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*. 2007; 60 (6): 672–81.
8. Kanakaris NK, Thanasis C, Keramaris N, et al. The efficacy of negative pressure wound therapy in the management of lower extremity trauma: review of clinical evidence. *Injury*. 2007; 38 Suppl 5: 9–18.
9. Apelqvist J, Armstrong DG, Lavery LA, et al. Resource utilization and economic costs of care based on a randomized trial of vacuum-assisted closure therapy in the treatment of diabetic foot wounds. *Am J Surg*. 2008; 195 (6): 782–8.
10. Wild T, Stremitzer S, Budzanowski A, et al. Definition of efficiency in vacuum therapy – a randomised controlled trial comparing Redon drains with V. A. C. Therapy. *Int Wound J*. 2008; 5 (5): 641–7.
11. Wild T, Otto F, Mojarrad L, et al. Vacuum therapy – basics, indication, contraindication and cost listing. *Ther Umsch*. 2007; 64 (9): 495–503.
12. Triller C, Smrke D. V.A.C. terapija. In: Smrke D, ed. Simpozij o ranah z mednarodno udeležbo. Sodobni pristopi k zdravljenju akutne in kronične rane; 2006 Jun 2–3; Portorož, Slovenija; c2006. p. 61–71.
13. Willy C. Die Vakuumtherapie: Grundlagen, Indikationen, Fallbeispiele, praktische Tipps. Kiel: Willy; 2005.
14. Schintler MV, Prandl EC. Vacuum-assisted closure – what is evidence based?. *Eur Surg*. 2008; 40 (1): 11–8.
15. Potter MJ, Banwell P, Baldwin C, et al. In vitro optimisation of topical negative pressure regimens for angiogenesis into synthetic dermal replacements. *Burns*. 2008; 34 (2): 164–74.
16. Baharestani M, Amjad I, Bookout K, et al. V.A.C. Therapy in the management of paediatric wounds: clinical review and experience. *Int Wound J*. 2009; 6 Suppl 1: 1–26.
17. Lambert KV, Hayes P, McCarthy M. Vacuum assisted closure: A review of development and current applications. *Eur J Vasc Endovasc Surg*. 2005; 29 (3): 219–26.
18. Jacobs S, Simhae DA, Marsano A, et al. Efficacy and mechanisms of vacuum-assisted closure (VAC) therapy in promoting wound healing: a rodent model. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*. 2009; 62 (10): 1331–8.
19. Chen ZS, Li J, Li XY, et al. Effects of vacuum-assisted closure on wound microcirculation: An experimental study. *Asian J Surg*. 2005; 28 (3): 211–7.
20. Wolff K, Goldsmith LA, Katz SI, et al. Fitzpatrick's dermatology in general medicine. 7th ed. New York: McGraw Hill; 2008.
21. Morykwas MJ, Argenta LC, Shelton-Brown EI, et al. Vacuum-assisted closure: a new method for wound control and treatment: animal studies and basic foundation. *Ann Plast Surg*. 1997; 38 (6): 553–62.
22. Morykwas MJ, Howell H, Bleyer AJ, et al. The effect of externally applied subatmospheric pressure on serum myoglobin levels after a prolonged crush/ischemia injury. *J Trauma*. 2002; 53 (3): 537–40.
23. Gustafsson R, Johnsson P, Algotsson L, et al. Vacuum-assisted closure therapy guided by C-reactive protein level in patients with deep sternal wound infection. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2002; 123 (5): 895–900.
24. Gwan-Nulla DN, Casal RS. Toxic shock syndrome associated with the use of the vacuum assisted closure device. *Ann Plast Surg*. 2001; 47 (5): 552–4.