

ARTICOL ORIGINAL

Compararea diverselor tehnici de preparare a spumei sclerozante pentru tratamentul bolii varicoase a membrelor inferioare: studiu experimental

Dumitru Casian¹, Vasile Culiuc^{1*}, Eugen Guțu¹

¹Catedra de chirurgie generală-semiologie nr. 3, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemitanu”, Chișinău, Republica Moldova.

Autor corespondent:

Vasile Culiuc, dr. șt. med., asist. univ.

Catedra de chirurgie generală-semiologie nr. 3

Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemitanu”

bd. Ștefan cel Mare și Sfânt, 165, Chișinău, Republica Moldova, MD-2004

e-mail: vasile.culiuc@usmf.md

ORIGINAL ARTICLE

Comparison of various techniques of sclerosing foam preparation for treatment of varicose veins of lower limbs: an experimental study

Dumitru Casian¹, Vasile Culiuc^{1*}, Eugen Gutu¹

Chair of general surgery-semiology no. 3, Nicolae Testemitanu State University of Medicine and Pharmacy, Chisinau, Republic of Moldova.

Corresponding author:

Vasile Culiuc, PhD, assistant professor

Chair of general surgery-semiology no. 3

Nicolae Testemitanu State University of Medicine and Pharmacy

165, Stefan cel Mare si Sfânt ave., Chisinau, Republic of Moldova, MD-2004

e-mail: vasile.culiuc@usmf.md

Ce nu este cunoscut, deocamdată, la subiectul abordat

În pofida implementării vaste a scleroterapiei cu spumă în tratamentul bolii varicoase, eficiența acestei metode curative este afectată de degradarea rapidă a spumei preparate *ex tempore* în forma lichidă a agentului sclerozant. Există multiple controverse privind posibilitățile de a spori stabilitatea spumei.

Ipoteza de cercetare

Modificarea unor parametri în prepararea spumei sclerozante (tipurile și volumele seringilor, temperatura agentului sclerozant, raportul dintre volumul soluției agentului sclerozant și aer, numărul pasajelor de spumă între cele două seringi) pot contribui la creșterea stabilității acesteia.

Noutatea adusă literaturii științifice din domeniu

Utilizarea seringilor de volum mare, fără cauciuc în structura pistonului și fără silicon, răcirea agentului sclerozant înainte de prepararea spumei, raportul mai mare soluție/aer și numărul crescut de mișcări ale pistonului sunt factori care sporesc stabilitatea spumei sclerozante.

Rezumat

Introducere. Scleroterapia cu spumă reprezintă o metodă răspândită de tratament a bolii varicoase. Spuma este preparată *ex tempore* din agentul sclerozant lichid prin amestecul acestuia cu un gaz. Timpul redus de degradare a spumei înapoi în lichid reprezintă un impediment important. Scopul studiului a constituit evaluarea impactului modificării parametrilor în prepararea spumei asupra stabilității acesteia.

What is not known yet about the topic

In spite of large implementation of foam sclerotherapy in the treatment of varicose veins, the effectiveness of this curative method is negatively affected by fast degradation of the *ex tempore* prepared foam into the liquid form of sclerosing agent. There are many controversies regarding the possibilities to increase the stability of the foam.

Research hypothesis

We performed an *in vitro* experimental study of sclerosing foam stability, varying several parameters of its preparation: the type and the capacity of syringes; the temperature of sclerosing agent; the ratio between the volume of liquid sclerosing agent and air; the number of foam passages between two syringes.

Article's added novelty on this scientific topic

In experimental study was demonstrated that use of large capacity non-silicon, non-rubber disposable syringes, cooling of sclerosing agent before foam preparation, higher liquid-to-air ratio and increased number of plunger movements all increase the stability of sclerosing foam.

Abstract

Introduction. Foam sclerotherapy represents the widely used method for treatment of varicose veins. Foam is prepared *ex tempore* from liquid sclerosing agent by mixing it with a gas. Short time of foam degradation back to the liquid represents the important drawback. The aim of study was evaluation of impact of modifications in parameters of foam preparation upon the foam stability.

Material și metode. A fost efectuat un studiu experimental *in vitro* al stabilității spumei preparate din tetradecil sulfat de sodiu prin metoda Tessari. „Timpul de înjumătățire al spumei” (TÎS) a fost estimat în calitate de indicator surrogat al stabilității spumei. S-au efectuat cinci serii consecutive de experimente prin modificarea următorilor parametri în prepararea spumei: (1) tipul seringii; (2) volumul seringii; (3) temperatura agentului sclerozant; (4) raportul soluției sclerozante către aer; (5) numărul pasajelor spumei între seringi.

Rezultate. TÎS al spumei create, utilizând seringi fără latex, a fost semnificativ mai mare comparativ cu valorile înregistrate pentru prepararea spumei, utilizând seringi cu piston de cauciuc. Stabilitatea spumei a crescut, progresiv, la utilizarea seringilor de 5 ml, 10 ml și 20 ml, TÎS constituind $84,3 \pm 1,8$; $93,2 \pm 4,0$ și $132,0 \pm 10,4$ de secunde, respectiv. Răcirea agentului sclerozant, anterior preparării spumei, a rezultat într-o creștere statistic ne semnificativă a TÎS. A fost determinată o corelare pozitivă puternică între timpul stabilității spumei și fiecare dintre următorii factori: raportul soluției de sclerozant către aer (coeficientul *rho* Spearman – 0,77) și numărul mișcărilor de plonjare a pistonului în fiecare seringă (coeficientul *rho* Spearman – 0,86).

Concluzii. Stabilitatea spumei poate fi influențată semnificativ prin modificarea metodei originale Tessari. Degradarea spumei este accelerată de contactul agentului sclerozant cu siliconul și cauciucul natural din componența seringii. Atunci când pentru tratament este necesar un volum mare de spumă, pare rațională utilizarea pentru prepararea ultimei a seringilor de volum sporit. Reducerea raportului agent sclerozant lichid către aer sub 1:3, precum și diminuarea numerică a mișcărilor de plonjare cu pistonul seringii sub 20 pot compromite stabilitatea spumei și necesită a fi evitate.

Cuvinte cheie: scleroterapie cu spumă, vene varicoase, timpul de înjumătățire al spumei, tetradecil sulfat de sodiu.

Introducere

Scleroterapia cu spumă reprezintă o metodă curativă vast aplicată în tratamentul tributarelor varicoase și a trunchiului refluxiv al venei safene la pacienții cu boala varicoasă a membrilor inferioare. S-a demonstrat că această metodă este mai eficientă comparativ cu scleroterapia prin injectarea substanței sclerozante în formă lichidă datorită posibilității spumei de a disloca sângele din lumenul venei tratate, intensificând contactul sclerozantului cu endoteliul. Adițional, răspândirea intravenoasă a agentului sclerozant poate fi ușor monitorizată prin ultrasonografie datorită proprietăților echo-contrastante excelente ale spumei. Ghidurile actuale recomandă scleroterapia cu spumă în calitate de tratament primar al varicelor recurente și tratament de linia a doua în ablația safeniană la pacienții ineligibili pentru *stripping* chirurgical sau ablație termică endovenoasă [1].

De obicei, spuma este preparată *ex tempore* din agentul sclerozant lichid prin amestecul acestuia cu aerul atmosferic. Mixarea este efectuată prin alternarea apăsării pistoanelor în-

Material and methods. *In vitro* experimental study of the stability of foam prepared from sodium tetradecyl sulfate by Tessari method was conducted. The “foam half-life” (FHL) was measured as a surrogate marker of foam stability. Five consecutive series of experiments were performed modifying the following parameters of the foam preparation: (1) the type of syringe; (2) the syringe capacity; (3) the temperature of sclerosing agent; (4) sclerosing solution to air ratio; (5) number of foam passages between syringes.

Results. The FHL of the foam created using latex-free syringes was significantly longer comparing to the values registered after foam preparation using rubber-tipped syringes. Foam stability progressively increased with use of syringes with 5.0 mL, 10.0 mL and 20.0 mL capacity, the FHL being 84.3 ± 1.8 ; 93.2 ± 4.0 and 132.0 ± 10.4 seconds, respectively. Cooling of sclerosing agent before foam preparation resulted in statistically insignificant increase in FHL. Strong positive correlation was determined between the time of foam stability and either: sclerosing liquid-to-air ratio (Spearman's *rho* – 0.77) and number of plunger movements in each syringe (Spearman's *rho* – 0.86).

Conclusions. The stability of foam can be significantly influenced by modification of original Tessari method. Degradation of the foam is accelerated by the contact of sclerosing agent with silicon and natural rubber inside the syringes. If large volume of foam is required for treatment it seems rational to use the large capacity syringes for foam preparation. Reduction of sclerosing agent liquid-to-air ratio below 1:3, as well as decrease in number of plunger movements to less than 20 can compromise the stability of foam and should be avoided.

Key words: foam sclerotherapy, varicose veins, foam half-life, sodium tetradecyl sulphate.

Introduction

Foam sclerotherapy represents the widely used curative method for treatment of varicose tributaries and refluxing saphenous vein trunk in patients with varicose veins of lower limbs. This method was proved to be more effective comparing to liquid sclerotherapy due to possibility of foam to displace the blood from the treated vein enhancing the contact of sclerosing drug with endothelium. Moreover, intravenous spreading of sclerosing agent can be easily monitored by ultrasound scanning owing to excellent echo-contrast properties of foam. Latest guidelines recommend foam sclerotherapy as a primary treatment for recurrent varicose veins and as a second choice approach for saphenous ablation in patients not eligible for surgical stripping or endovenous thermal ablation [1].

Routinely, foam is prepared *ex tempore* from liquid sclerosing agent by mixing it with atmospheric air. Mixing is performed by alternate pushing of plungers in two syringes connected via three-way-stopcock – the method described for the

tre cele două seringi, conectate printr-un conector cu robinet și trei căi, metodă descrisă pentru prima dată în 2000 de către Tessari L. [2]. Timpul scurt al „vieții” spumei, cu degradarea rapidă spre forma lichidă, reprezintă un impediment important al acestei metode. Scopul studiului a fost de a evalua posibilitatea sporirii stabilității spumei prin modificarea unor parametri în metoda Tessari originală.

Material și metode

Metodologia generală de studiu

Studiul experimental *in vitro* al stabilității spumei sclerozante a fost realizat în condițiile unei săli cu temperatura constantă de $21 \pm 0,5^\circ\text{C}$ și umiditate relativă de 90%, monitorizate cu ajutorul termometrului digital și al higrometrului psihrometric. Spuma sclerozantă a fost preparată de către aceeași persoană (VC), cu experiență vastă în utilizarea metodei Tessari. Un mililitru de agent sclerozant lichid – tetradecil sulfat de sodiu (TSS), produs de *Laboratoires Innothéra* (Arcueil, Franța) cu denumirea comercială *Trombovar*[®], a fost amestecat cu aer atmosferic, utilizând două seringi conectate prin conectorul cu trei căi și un tub de extensie de 7,0 cm și valvă (CE0086; *BD Connecta*[™], *Luer-Lok*[™], Becton Dickinson Infusion Therapy AB, Helsingborg, Suedia) (Figura 1). Robinetul conectorului nu a fost rotit între experimente pentru a nu modifica diametrul intern și, astfel, a nu influența rezultatele evaluărilor repetate. Către sfârșitul preparării spumei, întregul volum al acesteia a fost pompat într-una dintre cele două seringi, ultima fiind decuplată cu precauție de la conectorul cu trei căi. În acel moment, pistonul seringii era ușor tras înapoi pentru a preveni scurgerea spontană a spumei. Imediat, seringă era plasată pe o suprafață dură în poziție verticală, cu pistonul orientat în jos și se înregistra „timpul înjumătățirii spumei” (TÎS) în secunde, utilizând același cronometru digital în cadrul tuturor experimentelor. TÎS a fost definit drept

first time in 2000 by Tessari L. [2]. Short time of foam “life” with fast degradation back to the liquid form represents the important drawback of this method. The aim of study was evaluation of possibility to increase the foam stability by modification of several parameters of original Tessari method.

Material and methods

General study methodology

In vitro experimental study of the stability of sclerosing foam was conducted in the room with constant temperature of $21 \pm 0.5^\circ\text{C}$ and relative humidity of 90%, monitored by digital thermometer and psychrometric hygrometer. Sclerosing foam was prepared by the same person (VC), with large experience in utilization of the Tessari method. One millilitre of liquid sclerosing agent – sodium tetradecyl sulfate (STS), produced by *Laboratoires Innothéra* (Arcueil, France) under the brand name *Trombovar*[®], was mixed with atmospheric air using two syringes connected via three-way-stopcock with 7.0 cm extension tube and valve (CE0086; *BD Connecta*[™], *Luer-Lok*[™], Becton Dickinson Infusion Therapy AB, Helsingborg, Sweden) (Figure 1). The tap of connector was not rotated between experiments in order to not change the inner diameter and thus not influence the results of repeated evaluations. At the end of foam preparation the entire volume of foam was pumped in one from two syringes and this one was cautiously disconnected from the three-way-stopcock. At that moment the plunger was slightly pulled back to prevent the spontaneous leakage of the foam. Immediately, syringe was placed on a rough surface in a vertical position with plunger down and “foam half-life” (FHL) was recorded in seconds using the same digital chronometer for all experiments. The FHL was defined as a time interval from the moment of stopping the foam preparation till transformation of the foam into the sy-



Fig. 1 Prepararea spumei sclerozante după metoda Tessari.

Fig. 1 The sclerosing foam preparation according to Tessari method.

intervalul de timp din momentul finalizării preparării spumei până la transformarea acesteia în interiorul seringii în 0,5 ml de lichid – adică, jumătate din volumul inițial al soluției agentului sclerozant.

Pentru prepararea experimentală a spumei au fost selectați următorii parametri tehnici variabili: (1) tipul seringii; (2) volumul seringii; (3) temperatura agentului sclerozant; (4) raportul dintre sclerozantul lichid și aer; (5) numărul pasajelor spumei între seringi. Corespunzător, au fost efectuate cinci serii consecutive de experimente. În timpul fiecărei serii de experimente, TÎS a fost măsurat de 3 ori. Parametrii preparării spumei, nesupuși evaluării experimentale în fiecare serie de experimente consecutive, au fost selectați în corespundere cu recomandările ghidurilor curente: temperatura soluției sclerozante corespunzătoare celei a mediului, raportul lichid/aer de 1:4, seringi cu volum de 5 ml, 20 de mișcări înainte și înapoi a fiecărui piston.

Prima serie de experimente

Trei tipuri diferite de seringi apirogene, non-toxice, de unică folosință, au fost utilizate consecutiv pentru prepararea spumei:

- ♦ seringă din 2 piese (CE0318; *BD Discardit*™ II, Becton Dickinson S.A., Fraga, Spania), care este fără latex, clorură de polivinil sau ulei de silicon; oleamida servind drept lubrifiant al pistonului. Acest tip de seringă a fost, ulterior, notat ca „B” – corespunzător numelui producătorului.
- ♦ seringă din 3 piese (CE0123; Shandong Aode Medical Device Co., Ltd, China), caracterizată prin prezența unei tratări speciale cu silicon medical și cauciuc natural la extremitatea internă a pistonului. Acest tip de seringă a fost codificat cu „S”.
- ♦ seringă din 2 piese (CE0123; Jiangxi Hongda Medical Equipment Group Ltd., Nanchang, China). Sigiliul acestei seringi este confecționat din cauciuc sintetic (fără latex), iar pistonul – din polipropilenă. Uleiul de silicon este utilizat ca lubrifiant. Acest tip de seringă a fost codificat cu „J”.

A doua serie de experimente

Trei perechi de seringi non-toxice, apirogene, tri-componente, de unică folosință (CE0123; Shandong Aode Medical Device Co., Ltd, China), cu diverse volume – 20 ml, 10 ml și 5 ml, au fost utilizate pentru prepararea spumei.

A treia serie de experimente

Au fost preparate două tipuri de spumă sclerozantă: utilizând soluția de TSS păstrată la temperatura camerei și din soluția de TSS, stocată în frigider la $10 \pm 1,5^\circ\text{C}$ timp de o oră înainte de experiment.

A patra serie de experimente

Patru tipuri de spumă sclerozantă au fost preparate, utilizând următoarele raporturi de soluție de TSS către volum de aer: 1 la 2, 1 la 3, 1 la 4 și 1 la 5.

A cincea serie de experimente

Au fost testate diferite numere de mișcări ale pistonului înainte/înapoi (care corespunde cu numărul de pasaje ale

ringe în liquid form în the volume of 0.5 mL – a half of initial sclerosing agent volume.

The following variable technical parameters of the foam preparation were selected for experimental testing: (1) the type of syringe; (2) the syringe capacity; (3) the temperature of sclerosing agent; (4) sclerosing liquid-to-air ratio; (5) number of foam passages between syringes. Five consecutive series of experiments were performed accordingly. During each experimental series the time of FHL was measured three times. Parameters of foam preparation, not supposed to experimental evaluation in each consecutive experimental series, were selected according to the recommendations of current guidelines: ambient temperature of sclerosing solution, liquid-to-air ratio of 1:4, syringes with capacity of 5 mL, 20 forward and backward movements of each plunger.

First series of experiments

Three different types of non-pyrogenic, non-toxic disposable syringes were used consecutively for foam preparation:

- ♦ two-piece syringe (CE0318; *BD Discardit*™ II, Becton Dickinson S.A., Fraga, Spain) which is latex-free, polyvinyl chloride-free and silicone oil-free, oleamide being used as plunger lubricant. This syringe, hereinafter referred to as “B” – from the name of manufacturer;
- ♦ three-parts syringe (CE0123; Shandong Aode Medical Device Co., Ltd, China) characterized by presence of special treatment by medical silicone and natural rubber at the tip of plunger. This syringe type was coded as “S”;
- ♦ two-piece syringe (CE0123; Jiangxi Hongda Medical Equipment Group Ltd., Nanchang, China). Sealing gasket of this syringe is made from synthetic rubber (latex-free) and plunger is made of polypropylene. Silicone oil is used as a lubricant. This type of syringe was coded as “J”.

Second series of experiments

Three pairs of non-toxic, non-pyrogenic, three-parts disposable syringe (CE0123; Shandong Aode Medical Device Co., Ltd, China) with different capacity – 20, 10 and 5 mL were used for foam preparation.

Third series of experiments

The two types of sclerosing foam were prepared: using the STS solution stored at the room temperature and from STS solution kept in refrigerator at $10 \pm 1.5^\circ\text{C}$ during one hour before experiment.

Forth series of experiments

Four types of sclerosing foam were prepared using the following ratios of STS solution to air volume: 1 to 2, 1 to 3, 1 to 4 and 1 to 5.

Fifth series of experiments

The different number of forward and backward movements of the plungers (which corresponds to the number of passages of foam from one syringe to another) was tested for

spumei dintr-o seringă în alta): 10, 20 și 30 de mișcări, efectuate cu frecvența de 1 mișcare *per secundă*.

Analiza statistică a datelor

Valorile înregistrate ale TÎS sunt prezentate ca medii, urmate de eroarea standard a mediei. Mediile au fost comparate, utilizând testul parametric *t*-Student bicaudal. Diferențele cu un $p < 0,05$ au fost considerate statistic semnificative. Coeficientul de corelație Spearman (r) a fost utilizat pentru testarea asocierii dintre câteva variabile de rang (raportul soluției sclerozante către aer, numărul mișcărilor pistonului de tip înainte/înapoi) și o variabilă de măsură (TÎS). Valoarea coeficientului de corelație ρ sub $\pm 0,3$ a fost interpretată ca slabă, peste $\pm 0,5$ – moderată, iar ρ peste $\pm 0,7$ – corelație puternică între variabile.

Analiza statistică a fost efectuată utilizând *Quick Calcs* a programului *GraphPad Software*® (*GraphPad Software, Inc.; La Jolla, CA, USA*) și *StatsDirect Statistical Software*, versiunea 2.8.0 (*StatsDirect Ltd; Altrincham, Marea Britanie*).

Etica

Aprobarea din partea Comitetului de Etică a Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”, Chișinău, Republica Moldova, nu a fost necesară pentru acest tip de studiu.

Rezultate

Prima serie de experimente

Analizând TÎS a spumei create cu utilizarea seringilor de tip B în comparație cu media valorii TÎS, înregistrate în urma utilizării seringilor de tip S, s-a determinat o diferență statistic semnificativă: $141,0 \pm 18,3$ vs $69,0 \pm 9,1$ secunde ($p = 0,004$). Astfel, utilizarea seringilor fără silicon și fără cauciuc în componența structurală, a rezultat cu formarea unei spume mai stabile. Rezultate similare au fost observate, comparând stabilitatea spumei create cu ajutorul seringilor de tip S vs seringilor de tip J. Deoarece TÎS a spumei preparate cu seringi de tip J a constituit $228,0 \pm 68,0$ secunde, a fost determinată o diferență semnificativă între valorile comparate ($p = 0,005$). Reamintim, seringile comparate s-au deosebit prin conținutul diferit al siliconului și prezența sau absența cauciucului natural la vârful pistonului. Comparând stabilitatea spumei obținute, utilizând seringile de tip B, cu cea după folosirea seringilor de tip J, ambele fiind fără latex, nu au fost determinate diferențe statistic semnificative. Cu scopul de a evalua impactul izolat al compoziției vârfului pistonului asupra TÎS, prepararea spumei a fost realizată, utilizând seringă combinată: plasarea pistonului fără cauciuc din seringă de tip J în cilindrul seringii de tip S, care conține silicon medical. Spre regret, s-a depistat o ușoară scurgere de conținut în timpul creării spumei, din cauza etanșietății imperfecte a seringii asamblate, ce a rezultat în cel mai scurt TÎS – $55,5 \pm 16,5$ secunde. Într-un mod similar, când pistonul cu vârf de cauciuc din seringă de tip S a fost plasat în cilindrul seringii de tip J, stabilitatea spumei nu a crescut, TÎS constituind $53,0 \pm 5,0$ secunde. Mai mult decât atât, prepararea spumei a devenit foarte dificilă, din cauza fricției crescute între piston și cilindru.

foam preparation: 10, 20 and 30 movements, performed with frequency of 1 movement per second.

Statistical analysis of data

The registered values of FHL are presented as means, followed by standard error of mean. The means were compared using parametric paired two-tailed *t*-test. Differences with a $p < 0.05$ were considered statistically significant. Spearman rank correlation coefficient (r) was used to test the association between several ranked variables (sclerosing solution to air ratio, number of forward and backward movements of the plungers) and one measurement variable (FHL). The correlation coefficient ρ values over ± 0.3 were interpreted as weak, ρ values over ± 0.5 – as moderate and ρ values over ± 0.7 – as strong linear relationship between variables. Statistical analysis was performed using the *Quick Calcs* provided by *GraphPad Software*® (*GraphPad Software, Inc.; La Jolla, CA, USA*) and *StatsDirect Statistical Software*, version 2.8.0 (*StatsDirect Ltd; Altrincham, UK*).

Ethics

The approval of the Ethics Committee of *Nicolae Testemițanu* State University of Medicine and Pharmacy, Chisinau, Republic of Moldova was not required for this type of study.

Results

First series of experiments

Analysing the FHL of the foam created using syringes of type “B” in comparison with the mean FHL value recorded when “S” syringes have been used a significant difference was determined: 141.0 ± 18.3 vs 69 ± 9.1 seconds ($p = 0.004$). Therefore, using silicone-free syringes without rubber in the structure of plunger resulted in significantly more stable foam. Similar results were observed comparing the stability of foam created with syringes type “S” vs syringes type “J”. Since the FHL of the foam prepared with syringes “J” constituted 228.0 ± 68.0 seconds, a significant difference was found between compared values ($p = 0.005$). Again, compared syringes were differentiated by various content of silicone and the presence or not of the natural rubber at the tip of the plunger. Comparing the stability of the foam obtained using type “B” syringes with those referred as “J”, both kinds being latex-free, statistically significant differences in FHL were not found. With purpose to evaluate the isolated impact of plunger tip composition on FHL, the foam preparation was done using the combined syringe: placing the rubber-free plunger from the syringe type “J” into the barrel of syringe type “S”, which contains medical silicone. Unfortunately, slight leakage of content was observed during the creation of foam due to an imperfect tightness of assembled syringe that resulted in shortest FHL of 55.5 ± 16.5 seconds. In a similar manner, when rubber-tipped plunger from the syringe type “S” was placed inside of the barrel belonging to syringe type “J” stability of the foam was not enhanced, FHL being of 53.0 ± 5.0 seconds. Moreover, preparation of foam was very difficult, because of an increased friction force between the plunger and barrel.

A doua serie de experimente

Precum și s-a presupus, rezultatele TÎS, înregistrate în timpul degradării spumei create cu seringi de divers volum, diferă substanțial. S-a determinat, că stabilitatea spumei variază direct proporțional cu volumul seringii (diametrul cilindrului). TÎS a spumei preparate cu seringi de volum de 10 ml a fost $93,2 \pm 4,0$ secunde, comparativ cu TÎS de $84,3 \pm 1,8$ secunde – înregistrat la utilizarea seringilor de 5 ml ($p=0,053$). Deși rezultatul este considerat la limita semnificației statistice, diferența devine mai evidentă în timpul comparării valorilor înregistrate la utilizarea seringilor cu volum de 20 ml vs cele de 10 ml: $132,0 \pm 10,4$ secunde vs $93,2 \pm 4,0$ secunde, respectiv ($p=0,013$).

A treia serie de experimente

S-a observat că în timpul utilizării soluției sclerozante reci, stabilitatea spumei ușor crește. Astfel, valoarea TÎS de $83,2 \pm 4,6$ secunde a fost înregistrată, utilizând soluția stocată la temperatura camerei, comparativ cu TÎS de $101,8 \pm 10,4$ secunde, obținut după prepararea spumei din agent sclerozant refrigerat ($p=0,2$). Deși diferența dintre valori nu poate fi interpretată ca semnificativă, bazându-ne pe tendința observată, experimentul a fost repetat, similar, cu înregistrarea timpului necesar pentru degradarea completă a bulelor de spumă, în loc de TÎS. Astfel, timpul degradării complete a spumei a constituit $299,0 \pm 16,3$ secunde pentru soluția sclerozantă, păstrată la temperatura mediului ambiant vs $397,7 \pm 12,5$ secunde – în cazul răcirii agentului sclerozant ($p=0,003$).

A patra serie de experimente

Rezultatele, ce reflectă stabilitatea spumei corespunzător raportului soluției de sclerozant către volumul utilizat de aer, sunt menționate în Tabelul 1. Deși, o diferență statistic semnificativă între valorile TÎS a fost depistată doar comparând raporturile 1:2 vs 1:3, se observă că mărirea proporției aerului în amestec este asociată cu prolongarea stabilității spumei. Această tendință poate fi demonstrată mai evident prin determinarea coeficientului de corelație Spearman (Figura 2). Coeficientul Spearman *rho* a constituit 0,77, generând valoarea *p* bicaudală de 0,0004 (asociația între variabile fiind considerată statistic semnificativă). Aceasta semnifică o corelație pozitivă puternică între variabile, care relevă că raportul mai mare al sclerozantului lichid către aer crește valoarea TÎS.

Tabelul 1. Timpul înjumătățirii spumei (TÎS) în funcție de raportul agent sclerozant lichid către aer.

Raportul sclerozant lichid / aer	TÎS, secunde	valoarea <i>p</i> [‡]
1 ml TSS* / 2 ml	$32,0 \pm 5,3$	–
1 ml TSS* / 3 ml	$74,0 \pm 8,4$	0,0058 [†]
1 ml TSS* / 4 ml	$83,3 \pm 4,6$	> 0,05 [†]
1 ml TSS* / 5 ml	$93,5 \pm 11,1$	> 0,05 [†]

Notă: * – tetradecil sulfatul de sodiu. † – comparativ cu valoarea precedentă. Testul statistic: ‡ – testul *t* pereche bicaudal.

Second series of experiments

As it was assumed the results of FHL registered during the degradation of the foam created with syringes of various capacities differ substantially. It was observed, that the foam stability varied directly proportional to the capacity of syringe (diameter of the barrel). The FHL of the foam prepared with the syringes which possess a capacity of 10 mL was 93.2 ± 4.0 seconds comparing with FHL of 84.3 ± 1.8 seconds registered when syringes with the volume of 5 mL was used ($p=0.053$). Although the result is considered to be at the limit of statistical significance, the difference becomes more evident during the comparison of the values registered with use of the syringes with a capacity of 20 mL versus those of 10 mL: 132.0 ± 10.4 seconds vs 93.2 ± 4.0 seconds, respectively ($p=0.013$).

Third series of experiments

It was observed that use of cold sclerosing solution slightly increase the foam stability. Thus, the FHL value of 83.2 ± 4.6 seconds was registered using solution of ambient temperature comparing to FHL of 101.8 ± 10.4 seconds obtained after preparation of foam from previously refrigerated sclerosing agent ($p=0.2$). Although the difference between values cannot be interpreted as significant, basing on observed tendency the experiment was repeated in the similar way with registration of time required for complete degradation of the foam bubbles instead of FHL. Thus, the full time of foam degeneration was 299.0 ± 16.3 seconds for ambient temperature of sclerosing solution vs 397.7 ± 12.5 seconds in case of previously refrigerated sclerosing agent ($p=0.003$).

Forth series of experiments

The results reflecting the stability of the foam according to the sclerosing solution/air ratio are shown in Table 1. Although a statistically significant difference in value of FHL was found only comparing 1:2 with 1:3 ratios, it can be observed that the increase of proportion of air in mixture is associated with prolongation of the foam stability. This tendency can be demonstrated more apparent by determination of Spearman's correlation coefficient (Figure 2). The Spearman's *rho* coefficient accounted 0.77, generating a two-tailed *p* value of 0.0004 (association between variables being considered statistically significant). This signifies a strong positive correlation between variables, which means that higher sclerosing liquid-to-air ratio increases the value of FHL.

Table 1. The foam half-life (FHL) time depending on sclerosing liquid-to-air ratio.

Sclerosing liquid-to-air ratio	FHL, seconds	<i>p</i> -value [‡]
1 mL STS* / 2 ml	32.0 ± 5.3	–
1 mL STS* / 3 ml	74.0 ± 8.4	0.0058 [†]
1 mL STS* / 4 ml	83.3 ± 4.6	> 0.05 [†]
1 mL STS* / 5 ml	93.5 ± 11.1	> 0.05 [†]

Note: * – sodium tetradecyl sulphate. † – comparing to value from above. Statistical tests: ‡ – paired two-tailed *t*-test.

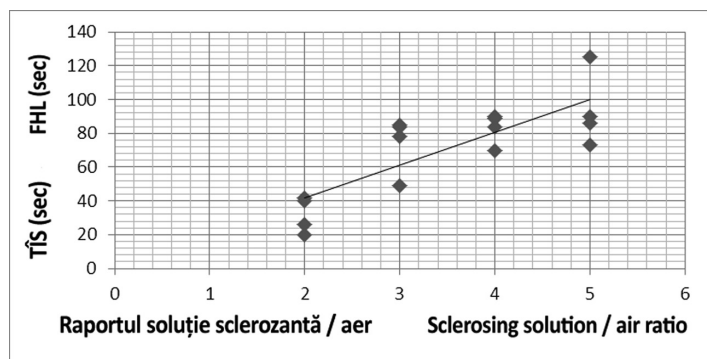


Fig. 2 Modificările timpului de înjumătățire a spumei (FHL) în funcție de variațiile raportului sclerozant lichid/aer în timpul preparării spumei.

Fig. 2 Changes in FHL values against changes in the sclerosing liquid-to-air ratio during foam preparation.

A cincea serie de experimente

Datele, obținute în experiment, sunt prezentate în Tabelul 2. S-a determinat că, sporind numărul mișcărilor pistonului înainte/înapoi, se poate obține creșterea TÎS. Figura 3 demonstrează corelația liniară pozitivă între TÎS și numărul pasajelor spumei dintr-o seringă în cealaltă. Coeficientul Spearman a constituit 0,86, indicând o corelație pozitivă puternică între variabile ($p=0,0006$).

Tabelul 2. Timpul înjumătățirii spumei (TÎS) în funcție de numărul mișcărilor pistonului seringii.

Numărul total de mișcări ale pistonului în fiecare seringă	TÎS, secunde	valoarea p^\ddagger
10 (5 înainte + 5 înapoi)	65,2±4,8	-
20 (10 înainte + 10 înapoi)	116,2±9,9	0,0037 [†]
30 (15 înainte + 15 înapoi)	123,7±6,6	>0,05 [†]

Notă: [†] – comparativ cu valoarea precedentă. Teste statistice: [‡] – testul t pereche bicaudal.

Discuții

Există câteva studii experimentale publicate, dedicate problemei stabilității spumei sclerozante, în cadrul cărora autorii cercetează diverse modificări ale tehnicii preparării spumei. Din păcate, rezultatele raportate sunt neuniforme, uneori controversate.

Cu intenția de a spori stabilitatea spumei preparate din 0,5% TSS, unii autori au înlocuit conectorul cu două căi pentru seringi cu un filtru de distribuție de 5- μ m (B. Braun Medical, FH5000). Datorită filtrului respectiv, TÎS a crescut, conform studiului dat, de la 59 la 106 secunde. Prezintă interes faptul, că aceiași autori concluzionează precum că, pentru prepararea spumei ar trebui să fie utilizate seringi cu capacitate mică (preferențial, 3,0 ml), deoarece cantitatea mai mare de silicon în cilindrul seringii poate afecta stabilitatea spumei [3]. Rezultatele primelor noastre serii de experimente susțin aceste concluzii. Din contră, în seria a doua, noi am demonstrat clar, că o spumă stabilă poate fi obținută prin utilizarea seringilor de 10 ml și, chiar de 20 ml. Am putea presupune

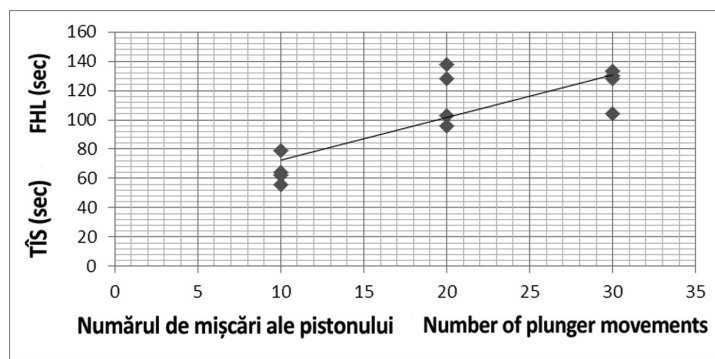


Fig. 3 Modificările timpului de înjumătățire a spumei (TÎS) în funcție de numărul mișcărilor pistonului.

Fig. 3 Changes in FHL values against the number of plunger movements.

Fifth series of experiments

Data acquired in the experiment are presented in the Table 2. It was identified that with increasing number of forward and backward movements of the plungers in the syringes the FHL increases. Figure 3 demonstrates the positive linear correlation of FHL with the number of passages of foam from one syringe to another. The Spearman's ρ coefficient accounted 0.86, indicating strong positive correlation of variables ($p=0.0006$).

Table 2. The foam half-life (FHL) time depending on the number of plunger movements.

Total number of plunger movements in each syringe	FHL, seconds	p -value [‡]
10 (5 forward + 5 backward)	65.2±4.8	-
20 (10 forward + 10 backward)	116.2±9.9	0.0037 [†]
30 (15 forward + 15 backward)	123.7±6.6	> 0.05 [†]

Note: [†] – comparing to value from above. Statistical tests: [‡] – paired two-tailed t -test.

Discussion

There are several published experimental studies dedicated to the issue of sclerosing foam stability where authors had tested the various modifications in the foam preparation technique, reporting non-uniform and sometime even controversial results.

Trying to increase the stability of foam prepared from 0.5% STS some authors replaced the two-way connector for syringes with a 5- μ m filter hub (B. Braun Medical, FH5000). Measured half-time of foam degradation increased in this study from 59 to 106 seconds due to filter use. It is interesting to note what the same authors concluded that the small capacity syringes (preferably of 3.0 mL) should be used for foam preparation, because the larger amount of silicon inside of syringes barrel can negatively influence the foam stability [3]. Results of our first series of experiments comply well with this finding. Contrarily, in the second series we clearly demonstrated that stable foam can be obtained using 10.0 mL and

că, datorită diametrului mai mare al seringii ce posedă un volum mai mare, fenomenul turbulenței, generat în timpul pompării amestecului compus din aer și soluție sclerozantă între două seringi, printr-un conector îngust cu trei căi, devine mai pronunțat și, în consecință, crește stabilitatea spumei. Acest fapt are importanță practică, deoarece ablația chimică a venei safene mari poate necesita o cantitate mare de spumă sclerozantă, care trebuie administrată cât mai rapid posibil după preparare. Orice pauză, necesară pentru prepararea și injectarea repetată a volumelor mici de spumă, complică procedura și poate condiționa un rezultat clinic suboptimal.

Spre deosebire de studiul nostru, Van Deurzen și coaut. (2011), au raportat absența modificărilor în stabilitatea spumei, preparate după metoda Tessari, la utilizarea seringilor de diferite volume, variind raportul între lichid și aer, precum și numărul ciclurilor de pompare [4]. Presupunem că, discrepanța dintre rezultatele studiilor poate fi explicată prin metodologia diferită a experimentelor. Van Deurzen a utilizat doar seringi cu volum relativ mic, de 3 ml și 5 ml, iar câteva tehnici de preparare (raportul lichid:aer de 1:2 și 1:5, și 20 de mișcări ale pistonului) nu au fost testate. Mai mult decât atât, autorii au studiat stabilitatea spumei preparate din polidocanol și nu TSS. În același timp, într-un alt studiu, a fost demonstrat că polidocanolul, în special, în concentrația de 0,5% și 1%, este mult mai stabil decât TSS [5].

Prepararea spumei este posibilă prin amestecul soluției sclerozante nu doar cu aer atmosferic, dar și cu oxigen sau CO₂. În anul 2011, Peterson și Goldman, au studiat diferențele în stabilitatea spumei, în funcție de utilizarea variatelor gaze: aer atmosferic, CO₂ sau O₂ pentru mixare cu agentul sclerozant. Cea mai stabilă spumă (până la 90,7 secunde) a fost obținută prin utilizarea aerului atmosferic. Rezultatele acestui studiu susțin practica curentă standard, deoarece majoritatea specialiștilor în scleroterapie utilizează aerul din sală pentru prepararea spumei. Deși, anterior, se presupunea că dimensiunile mai mici ale bulelor de spumă, preparate cu CO₂, pot reduce numărul complicațiilor neurologice, studiile recente explică patogeniza efectelor adverse nu prin teoria embolică, ci prin activarea eliberării de endotelină, din cauza iritării endotelului venei tratate [7]. Adicional, prepararea spumei cu CO₂ este tehnic mai dificilă, necesitând aparataj special pentru umplerea seringii cu gaz.

Cei mai utilizați agenți sclerozanți sunt polidocanolul și TSS, ambii fiind atribuiți grupului chimic de agenți activi de suprafață (surfactanți), iar proprietățile fizice și chimice ale acestora pot fi influențate de temperatură. Încălzirea surfactanților poate rezulta în diminuarea tensiunii de suprafață și destabilizarea interfeței gaz-lichid a bulelor [8]. A fost demonstrat de către Valenzuela și coaut. (2013) că, creșterea progresivă a temperaturii reduce „viața” spumei create din polidocanol și TSS. Cea mai stabilă spumă a fost preparată din agentul lichid cu temperatura de 10°C [9]. Noi, de asemenea, am observat diferența între valorile TÎS, înregistrate la utilizarea agentului sclerozant răcit vs cele de la temperatura camerei. Totuși, în studiul nostru, o diferență semnificativă a fost înregistrată doar la măsurarea timpului complet de degradare a spumei. Probabil, această diferență ar

even 20.0 mL syringes. We can hypothesize that due to a larger diameter of the syringe with higher capacity the phenomenon of turbulence generated during the pumping of air and sclerosing solution mixture between two syringes through narrow three-way-stopcock become more pronounced that results in increased foam stability. This finding has the practical importance because the chemical ablation of great saphenous vein can require large amount of sclerosing foam which should be administrated as soon as possible after preparation. Any pause, required for preparation and injection of repeated small volumes of foam, makes procedure more complicated and can lead to suboptimal clinical result.

In contrast with our study, Van Deurzen *et al.* (2011), reported no modifications in sclerosing foam stability prepared by Tessari method, using the syringes of various capacities, changing the liquid-to-air ratio, and the number of pump cycles [4]. We suppose, that discrepancy between results of studies can be explained by different methodology of experiment. Only the syringes with relative small capacity of 3 and 5 mL were used by Van Deurzen, and several technical variants of preparation (1:2, 1:5 liquid-to-air ratio and 20 movements of plunger) were not tested. Moreover, the authors studied the stability of foam prepared from Polidocanol and not STS. It was demonstrated in another study that Polidocanol, especially in concentrations of 0.5% and 1% is more stable comparing to STS [5].

Preparation of foam is possible by mixing of sclerosing solution not only with atmospheric air, but also with oxygen or CO₂. In 2011, Peterson and Goldman studied the differences in the foam stability depending from the use of various gases: atmospheric air, CO₂ and O₂ for mixing with sclerosing agent. The most stable foam (up to 90.7 seconds) was obtained when atmospheric air was used for preparation [6]. The results of this study support the standard current practice, because the majority of specialists in sclerotherapy use the room air for foam preparation. Although it was supposed early, that smaller size of bubbles of foam prepared with CO₂ may reduce the number of neurological complications, the recent studies explain the pathogenesis of adverse events not by embolic theory but by activation of endothelin release due to irritation of endothelium of the treated vein [7]. Moreover, foam preparation with CO₂ is technically more difficult, requiring special device for filling the syringe with gas.

The most widely used sclerosing agents: Polidocanol and STS, both refer to the chemical group of surface active agents (surfactants) and their physical and chemical properties can be influenced by the temperature. Warming of surfactants can result in the significant decrease in the surface tension and destabilization of gas-liquid interface of the bubbles [8]. It was demonstrated by Valenzuela *et al.* (2013) that increased temperature progressively reduces the half-life of the Polidocanol and STS foams. The most stable foam was prepared from the liquid agent with a temperature of 10°C [9]. We also observed the difference of FHL between the samples prepared from cooled sclerosing agent vs agent stored at ambient temperature. However, in our study the significant difference was registered only when full time of foam degeneration was mea-

putea fi explicată prin faptul că TSS este un surfactant anionic, care formează un bistrat electrostatic în lamelă îngustă, ce separă bulele, pe când surfactanții non-anionici (polidocanol) stabilizează peliculele lichide prin forțe sterice [10]. Se poate presupune, de asemenea, că influența răcirii soluției sclerozante asupra stabilității spumei crește în timpul degradării spumei.

Până în prezent, cel mai amplu studiu al stabilității spumei a fost efectuat de către Wollmann J. în 2010 [11]. Autorul a efectuat o mulțime de experimente, testând raportul dintre agentul sclerozant și gaz de la 1:1 către 1:9, seringi de variate volume: 2,0 ml, 5,0 ml, 10,0 ml, 20,0 ml, agenți sclerozanți cu concentrația de la 0,25% până la 3%, aerul din mediu vs CO₂ sau amestecul acestor gaze, metoda Tessari clasică vs sistemul de seringi duble, poziția complet deschisă vs semi-deschisă a robinetului cu trei căi și diverse viteze ale mișcării pistonului. Rezultatele studiului sunt dificil de interpretat datorită numărului imens de combinații inter-parametrice. De exemplu, spuma preparată prin metoda Tessari din 1% polidocanol cu raportul lichid către aer de 1:4 a demonstrat aproape aceeași stabilitate ca și spuma creată prin sistemul seringilor duble din 3% polidocanol, cu un raport lichid către aer de 1:1. În general, autorul a concluzionat, că cea mai lungă semivie a spumei poate fi obținută, utilizând sistemul seringilor duble și concentrații înalte de agent sclerozant. Concomitent, a fost menționat că, pentru evaluarea stabilității spumei, estimarea doar a TÎS poate fi insuficientă, deoarece degradarea spumei reprezintă nu doar separarea acesteia în fazele inițiale (lichid și gaz), dar și apariția debutului drenării și a bulelor largi în spumă. Luând în considerație acest parametru, Wollmann J. a depistat că spuma preparată cu sistemul seringilor duble, cu raportul 1:4 sau 1:5 între lichid și aer, a prezentat cea mai înaltă stabilitate.

În studiul actual, noi, de asemenea, am observat impactul pozitiv al raportului crescut de lichid către aer și al numărului pasajelor spumei între seringi asupra stabilității ei. Prezintă importanță practică diferența statistic semnificativă între valorile TÎS doar la compararea raporturilor 1:2 cu 1:3. Modificarea raportului standard lichid către aer de la 1:4 la 1:3, va rezulta într-o concentrație mai mare a agentului sclerozant în spumă, fără pierderi majore în stabilitatea acesteia.

Câteva limitări ale studiului nostru necesită a fi menționate. Toate seriile experimentale au fost efectuate, utilizând TSS, astfel că aceste rezultate nu pot fi direct extrapolate către cazurile, când spumele au fost preparate din polidocanol. De asemenea, noi nu am avut posibilitatea tehnică de a măsura alți parametri, care ar reflecta stabilitatea spumei, precum numărul bulelor și diametrul acestora, rata înăsprii spumei, timpul drenajului lichidian și tensiunea de suprafață. Studiul suplimentare necesită a fi efectuate pentru determinarea tehnicii optime de preparare a spumei sclerozante.

Concluzii

Rezultatele studiului nostru experimental au demonstrat că stabilitatea spumei sclerozante poate fi crescută prin modificarea metodei originale Tessari de preparare a acesteia. Degradarea spumei este accelerată de contactul agentului

sclerosant. This difference can probably be explained by the fact that STS is an anionic surfactant which forms an electrostatic double-layer in the thin liquid lamella separating the foam bubbles, whereas non-ionic surfactants (Polidocanol) stabilize the liquid films by steric forces [10]. It can be supposed also that influence of cooling of sclerosing solution upon foam stability increases during the process of foam degradation.

Up to date the most comprehensive study of foam stability was performed by Wollmann J. in 2010 [11]. Author performed a large set of experiments, testing the ratio between sclerosing agent and gas from 1:1 till 1:9; the syringes with capacities of 2.0, 5.0, 10.0, 20.0 ml; sclerosing agent with concentrations from 0.25% up to 3%; room air vs CO₂ as a gas for mixing; classic Tessari method of preparation vs double syringe system; completely open vs half-open position of 3-way stopcock and different speed of plungers movements. The study results are difficult to interpret due to a huge number of inter-parameter combinations. For example, the foam prepared by Tessari method from 1% Polidocanol with liquid-to-air ratio 1:4 demonstrated nearly the same stability as the foam prepared by double syringe system method from 3% Polidocanol with liquid-to-air ratio 1:1. Generally, author concluded that the longest foam half-life time can be obtained using the double syringe system and high concentration of sclerosing agent. At the same time, it was noted that for the evaluation of the stability of foam, assessment of its FHL only may be not sufficient since foam destruction is not only its separation into its initial phases (liquid and gas) but also becomes apparent with regards to the time of onset of drainage and the occurrence of visible large bubbles within the foam. Using this parameter, Wollmann found that foams prepared with the double syringe system technique at liquid-to-air ratio of 1:4 or 1:5 showed highest stability.

In the present study we also observed the positive impact of increased liquid-to-air ratio and number of foam passages between the syringes upon stability of foam. It is of practical importance to note, that statistically significant difference in value of FHL was found only comparing 1:2 with 1:3 ratios. Modification of the standard liquid-to-air ratio from 1:4 to 1:3 will result in higher concentration of sclerosing agent in the foam without major decrease in foam stability.

Several limitations of our study should be mentioned. All experimental series was performed using STS, and their results can not be directly extrapolated to the foams prepared from Polidocanol. We also have not technical possibility for measurement of other parameters which reflects the stability of foam – bubble count and bubble diameters, rate of foam coarsening, time of liquid drainage and surface tension. Further studies should be performed to find the optimal technique of sclerosing foam preparation.

Conclusions

The results of our experimental study demonstrated that stability of sclerosing foam can be increased by modification of original Tessari method of foam preparation. Degradation of the foam is accelerated by the contact of sclerosing agent with silicon and natural rubber present inside the syringes.

sclerozant cu siliconul sau cauciucul natural, prezent în interiorul seringii. În cazurile necesității unei cantități mari de spumă pentru sesiunea de tratament, este rațional de a utiliza seringi de volum mare (10-20 ml) pentru prepararea spumei. Deși răcirea agentului sclerozant înaintea preparării spumei nu a fost asociată cu prelungirea semnificativă a semi-vieții spumei, noi presupunem că efectul răcirii crește progresiv în timpul degradării spumei. Reducerea raportului agent sclerozant în formă lichidă către aer sub 1:3, precum și diminuarea numărului mișcărilor fiecărui piston sub 20, pot compromite stabilitatea spumei și necesită a fi evitate.

Contribuția autorilor

Conceperea modelului de cercetare (VC, DC, EG), lucrul experimental (VC), interpretarea datelor și analiza statistică (VS, DC), prepararea manuscrisului (DC), revizuirea critică a manuscrisului (VC, EG). Versiunea finală a manuscrisului a fost citită și aprobată de către toți autorii.

Declarația de conflict de interes

Autorii declară absența conflictelor de interes de ordin financiar sau non-financiar.

Referințe / references

1. Wittens C., Davies A., Bækgaard N. *et al.* Management of chronic venous disease. Clinical practice guidelines of the European Society for Vascular Surgery (ESVS). *Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg.*, 2015; 49: 678-737.
2. Tessari L. Nouvelle technique d'obtention de la scléro-mousse. *Phlébologie*, 2000; 53: 129.
3. Shirazi A., Goldman M. The use of a 5- μ m filter hub increases foam stability when using the double-syringe technique. *Dermatol. Surg.*, 2008; 34: 91-92.
4. Van Deurzen B., Ceulen R., Tellings S., Van der Geld C., Nijsten T. Polidocanol concentration and time affect the properties of foam used for sclerotherapy. *Dermatol. Surg.*, 2011; 37: 1448-1455.
5. Rao J., Goldman M. Stability of foam in sclerotherapy: difference between sodium tetradecyl sulfate and polidocanol and the type of connector used in the double syringe system (DSS) technique. *Dermatol. Surg.*, 2005; 31: 19-22.

If large volume of foam is required for treatment session it seems to be rational to use the large capacity syringes (10-20 ml) for foam preparation. Although refrigeration of liquid sclerosing agent before foam preparation was not associated with statistically significant prolongation of foam half-life we suppose that effect of cooling increase progressively during the process of foam degradation. Reduction of sclerosing agent liquid-to-air ratio below 1:3 ratio, as well as decrease in number of each plunger movements to less of 20 can compromise the stability of foam and thus should be avoided.

Authors' contribution

Study designing (VC, DC, EG), experimental work (VC), data interpretation and statistical analysis (VC, DC), manuscript preparation (DC), critical review of manuscript (VC, EG). Final version of manuscript was read and approved by all authors.

Declaration of conflicting interests

Authors declare no financial or non-financial conflict of interest.

6. Peterson J., Goldman M. An investigation into the influence of various gases and concentrations of sclerosants on foam stability. *Dermatol. Surg.*, 2011; 37: 12-18.
7. Frullini A., Felice F., Burchielli S., Di Stefano R. High production of endothelin after foam sclerotherapy: a new pathogenetic hypothesis for neurological and visual disturbances after sclerotherapy. *Phlebology*, 2011; 26: 203-208.
8. Toerne K., Rogers R., Wandruszka R. Thermal stability of non-ionic surfactant aggregates. *Langmuir*, 2001; 17: 6119-6121.
9. Valenzuela G., Wong K., Connor D., Behnia M., Parsi K. Foam sclerosants are more stable at lower temperatures. *Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg.*, 2013; 46: 593-599.
10. Samanta S., Ghosh P. Coalescence of air bubbles in aqueous solutions of alcohols and non-ionic surfactants. *Chem. Eng. Sci.*, 2011; 66: 4824-4837.
11. Wollmann J. Sclerosant foams: stabilities, physical properties and rheological behavior. *Phlebologie*, 2010; 39: 208-217.