DOI: 10.22041/ijbme.2004.13519

Skin Response to Applied Pressure in Model of Guinea Pig

G. Torkaman[1*], A. A. Sharafi [2], A. Fallah[3], H. R. Katoozian[3], M. Mofeed[4]

[1]**Physical Therapy Department, Tarbiat Modarres University**

[2]**Department of Radiology, Iran University of Medical Sciences**

[3]**Department of Biomedical Engineering, AmirKabir University of Technology**

[4]**Department of Anatomy, Baghiyatollah University of Medical Sciences**

Received 28 October 2003; received in revised form 6 October 2004; accepted 25 October 2004

Abstract

Pressure ulcers are areas of tissue necrosis that tend to develop when tissue is compressed between a bony prominence and an external surface. Normal structure and physiological function of tissue viability are recognized but mechanism of tissue breakdown is unknown. In this study, an attempt has been made to recognize the tissue mechanical changes after pressure application using 61 male albino guinea pigs, 4-6 months old, weighing 300-450 g. A computer controlled indentor system was developed to induce pressure sore. This system is capable of monitoring and adjusting the applied pressure, friction and shearing force throughout the experiment. The applied force remained within ±10g of desired target force. The applied pressures were at 291 and 387 mmHg for 1, 3 or 5 hours over the trochanter region of animal hind limb. The tissue was removed and blood was taken immediately, 2 and 7 days after pressure release. Uniaxial tensile test was performed using deformation rate of 20 mm/min. In this test, the contralateral site on the experimental animal served as intra-animal control. Full- thickness biopsy was taken and stained with H & E, trichrome and orcein for histological examination. Results of tensile tests showed that the maximum tensile strength (F_{max}), stress and the area under load-deformation curve (work) have decreased significantly 7 days after pressure application ($P<0.05$). Histological study immediately and 2 days after force release, showed an increase in cellularity and inflammatory cells infiltration. Muscle necrosis and reduction of the skin fibers density were observed 7 days after load release. Serum CPK (2 days after) was increased. The amount of lactic acid as well as phosphorus immediately and 2 days after pressure also increased ($P<0.05$). Finally it was distinguished that pressure changed the biomechanical properties of skin and muscle. Decrease of tissue resistance was consistent with the histological findings as well as elevation of muscle specific enzymes in blood. It was also observed that pressure resulted in the tissue ischemia and breakdown.

Keywords: **Pressure Sore; Uniaxial Tensile Test; Ischemia; Tissue necrosis; Guinea Pig**

***Corresponding author**
Address: *Physical Therapy Department, Tarbiat Modarres University, Tehran, I.R.Iran*
Tel: *+9821 8011001 (3559)*
Fax: *+9821 8006544*
E-mail: *torkamg@modares.ac.ir*

DOI: 10.22041/ijbme.2004.13519

پاسخ پوست به نيروهاي فشاري اعمال شده در مدل خوكچة هندي

گيتي تركمان[۱]*، علي اكبر شرفي[۲]، علي فلاح[۳]، حميدرضا كاتوزيان[۳]، محمود مفيد[۴]

[۱]دانشگاه تربيت مدرس، دانشكده علوم پزشكي، گروه فيزيوتراپي
[۲]دانشگاه علوم پزشكي ايران، گروه راديولوژي
[۳]دانشگاه صنعتي اميركبير، دانشكده مهندسي پزشكي
[۴]دانشگاه علوم پزشكي بقيه الله، دانشكده پزشكي، گروه علوم تشريح

تاریخ ثبت اولیه: ۱۳۸۲/۹/۷، تاریخ دریافت نسخه اصلاح شده: ۱۳۸۳/۷/۱۵، تاریخ پذیرش قطعی: ۱۳۸۳/۸/۴

چکیده

اعمال فشار بر بافت به خصوص در محل برجستگيهاي استخواني سبب ايسكمي و نكروز بافت مي‌شود. ساختمان طبيعي پوست و فرآيند فيزيولوژيك، مسؤول نگهداري و حفظ سلامت بافت شناخته شده است، اما مكانيزم شكست بافتي در زخمهاي فشاري بـه خوبي مشخص نيست. در پژوهش حاضر سعي شده است اثر فشار بر پارامترهاي بيومكانيكي بافت بررسي شود. اين مطالعه روي ۶۱ خوكچه هندي نر ۴-۶ ماهه از نژاد آلبينو، با وزن ۳۰۰-۴۵۰ گرم انجام شد. ابتدا دستگاهي مجهز بـه كنترل كامپيوتري همراه با پس خور طراحي و ساخته شد كـه كنترل و ثبت همزمان فشار اعمال شده را با حداكثر خطاي ۱۰± گرم از مقدار تعيين شده در طول آزمايش فراهم نمود. دو فشار ۲۹۱ و ۳۸۷ ميلي‌متر جيوه به مدت ۱، ۳ يـا ۵ ساعت بـر نـاحيه برجستگي استخوان ران اندام عقبي حيوان اعمال شد و پس از آن در سه مرحلة بلافاصله، دو و هفت روز بعد از اعمال فشار، نمونه خـون حيوان از طريق قلب و سپس نمونة بافتي براي آزمايشهاي كشش تك محوري و مطالعات بافت شناسي برداشت شـد. ميزان آنزيم **AST** و **CPK** با اعمال فشار افزايش يافت كه اين افزايش در مورد **AST** نسبت به دو روز و بلافاصله بعد از اعمـال فشار معنادار بـود ($p<۰/۰۵$). ميزان اسيد لاكتيك و فسفر خون به ترتيب در نمونه‌هاي بلافاصله و دو روز بعد از فشار نيز معنادار بود ($p<۰/۰۵$). نتـايج آزمـايش كشش، كـاهش حداكثر نيرو و تنش تحمل شده بافت (σ_{max}, F_{max}) و كـار انجـام شده يا سطح زير منحني نيرو- تغيير طول را در روز هفتم پس از اعمـال فشار نشان داد. ايـن نتايج با بخشي از يـافته‌هاي بـافت شناسي مطابقت داشت. در نمونه‌هاي روز هفتم (بـا زمان اعمال فشار ۳ و ۵ ساعت)، نكروز عضله و كاهش دانسيته فيبرهاي كلاژن مشهود بود. نهايتاً مشخص شد اعمـال فشار بـر بافت، سبب تغيير آرايش، تخريب و نكروز المانهاي تحمل كنندة فشار در پـوست و عضلة زيرين شده است. بـا توجه بـه عدم انطباق كامل يافته‌هاي بيومكانيكي و بافت شناسي بهتر است در بررسي روند ايجاد و ترميم زخم اين دو روش به طور توأم در ارزيابيها مورد استفاده قرار گيرد.

واژه‌هاي كليدي: زخم فشاري؛ آزمايش كششي تك محوري؛ ايسكمي؛ نكروز بافتي؛ خوكچه هندي

*عهده‌دار مكاتبات
نشاني: دانشگاه تربيت مدرس، دانشگاه علوم پزشكي، گروه فيزيوتراپي
تلفن: ۰۲۱-۸۰۱۱۰۰۱ (داخلي ۳۵۵۹)، دورنگار: ۰۲۱-۸۰۰۶۵۴۴، پيام نگار: torkamg@modares.ac.ir

۱- مقدمه

زخم فشاري، مناطق لوكاليزة نكروز سلولي است كـه بسياري از بيماران، افراد ناتوان و جانبازان ضايعات نخاعي از آن رنج مي‌بـرنـد. مكانيزم‌هـاي متعـدد اتيولوژيـك، پاتومكانيكـال و پـــاتوفيزيولوژيك در ايجـاد و گسـترش زخمهـاي فشـاري دخالت دارند. عواملي مانند اختلالات نورولوژيك، بي‌حركتي و مـدت زمان بي‌حركتي، نيروهاي فشـاري، سايشي و برشي، تغذية نامناسب، تحليل رفتن بـافتها، ايسكمي، سن، عفونـت، اختلالات ايمنـي، رطوبـت، اخـتلالات حسـي و فاكتورهـاي سايكولوژيك مي‌تواند در ايجـاد زخم فشاري مـــؤثر بـــاشد [۱-۴].

اطلاعات بدست آمده از آزمايشهاي مختلـف بيومكـانيكي در شرايط *in vitro* و *in vivo* و مطالعات بـافتي پوسـت تحـت تنش، ما را به سـمت شـناخت خـواص مكـانيكي پوسـت و ارتباط اين خواص با ساختمان شبكه‌هاي الاسـتين و كـلاژن درم هـدايـت مي‌كند. خـواص مكـانيكي، قابليـت تطـابق بـا عملكرد مكـانيكي درم را دارا هستند. عليرغم اينكه در مـورد ارتباط شدت زخمهاي فشاري و خصوصيات بيومكانيكي آن تحقيقاتي ارائـه نشده امـا سعي شـده است بـا ارائه مـدلهاي رياضي و استفاده از روش اجزاء محدود[1] ارتباط بين ميزان و مدت نيروهاي اعمال شـده بـر بافت و برخـي خصوصـيات بيومكانيكي مشخص شـود. Reddy [۵] نشان داد توزيع فشار ميان بـافتي در شرايط پـايدار، به وسـيلة معادلـة يـك بعـدي لاپلاس قـابـل تفسير است. او نشان داد اعمال فشار بر بافت سبب خروج مـايـع ميان بافتي به قسمتهاي مجاور مي‌شود و تماس مستقيم سلولها در منطقة تحـت فشـار يـا قطـع سـنتز كلاژن، قطع مويرگها و آسيب سيستم لنفي موجب بروز زخم فـشـاري مي‌شود [۵]. Sacks فـشـار لازم براي ايجـاد زخـم فشاري را بـه عنوان تابعي از زمان اعمال نيرو، دانسيتة بافت، جريان خون موضعي و مدول الاستيك بافت معرفي كرد [۶]. Zhang و همكـارانش نيز مدلي بيومكانيكي بـراي زخمهـاي فشاري بيان كـردند كه طبق آن ميـزان فشـردگي در بافتهـاي عمقي بيشتر است و بـافتهاي مياني بيشترين تـنش برشـي را تحمل مي‌كنند [۷].

بـررسي بيومكانيك زخم فشاري به صورت بسيار محدود در مقايسة روشهاي درماني مختلف استفاده شده اما رابطة شدت زخم بـا پـارامترهاي بيومكـــانيك بافـت و همخـواني آن بـا يافته‌هاي بافـت‌شناسي مورد توجـه قرار نگرفته است. در اين مقـاله از آزمايش كشـش تـك محوري بـراي بـررسي ارتباط ميزان فشار و مـدت زمان اعمال آن بـا خواص بيومكانيكي و مقايسه بـا يافته‌هاي بيوشيميايي و بـافت‌شناسي استفـاده شده است.

۲- مواد و روشها

در اين بررسي از ۶۱ خوكچه هندي نر ۴-۶ ماهه نژاد آلبينـو بـه وزن ۳۰۰-۴۵۰ گرم استفاده شد. حيـوان ۱۰-۱۲ سـاعت قبل از آزمايش از خوردن غـذا منع شد. براي بيهـوش كـردن حيوان از ديازپام بـه عنوان ضد درد و شـل كننـده بـه ميـزان ۸ mg/kg بـه صورت داخل عضلاني و نسـدونال بـه ميـزان ۳۵ mg/kg به عنوان داروي اصلي بيهوشي استفاده شد.

به منظور ايجاد زخم فشاري كنترل شده در حيوان از سيسـتم ايجاد زخم با كنتـرل كـامپيوتري استفـــاده شـد [۸]. سيسـتم طراحي شده شامل دو موتور ۱۲ ولتيDC[2] كامپيوتر ۴۸۶، برد واسـطه و راه انداز موتورهاي DC است. موتورها با تكنيـك مدولاسيون پهنـاي پـالس[3] كنترل مي‌شوند. موتوري كه روي بـازوي عمودي سيستم قـرار گرفته در انتهاي پاييني به يـك ديـسك ۱۰ ميلي‌متري ختم مـي‌شـود كـه روي حيـوان قـرار مي‌گيرد.

ثبت و كنتـرل نيـروي اعمـال شـده بـر حيـوان از طريـق دو كرنش سنج[4] سـاخت كارخانة HBM[5]، كه روي محور واسط در نزديكي ديسك انتهايي (ايندنتور) به صورت پـل متعـادل قرار گرفته‌اند انجـام شد. كرنش‌سنجها توسط ولتاژ ۲/۵ ولتي تغذيه مي‌شوند و بـه وسـيله يـك تـرازوي الـكترونيكي بـا حساسيت ۰/۰۱g كاليبره شـدنـد. بـه علـت غيرخطـي بـودن خروجي پل، خطي سـازي از طريـق تشـكيل look up table انجـام پذيرفت. نـرم‌افـزار، نيروي متناسب با ولتاژ ورودي به كـارت A/D را قرائت كـرده و پـس از مقـايسه آن بـا نيروي تعيين شـده، سيگنال كنترلي را بـر مبناي مـدل كنترلـيPID[6]

[1] Finite element
[2] **D**irect **C**urrent Micro Motor
[3] Pulse Width Modulation
[4] Strain Gauge
[5] **H**ottinger **B**oldi win **M**esstechnik
[6] **P**roportion **I**ntegral **D**ifferential

مهيا مي‌كند. حداكثر خطاي محاسبه شدة دستگاه در تثبيت مقدار فشار تعيين شده روي حيوان، ۱۰± گرم بود.

حيوان پس از بيهوشي كامل براي اعمال فشار آماده شد. موهاي حيوان در ناحيه برجستگي استخوان ران اندام عقبي سمت راست به وسيلة قيچي به آرامي كوتاه شد و ديسك فشارنده در آن محل قرار داده شد. براي جلوگيري از ايجاد هر گونه آسيب مضاعف پوستي از وسايل برنده مثل تيغ استفاده نشد. دو فشار ۲۹۱ و ۳۸۷ ميلي متر جيوه با توجه به شرايط جسمي و تحمل خوكچه هندي و نتايج آزمايشهاي اوليه، براي اعمال بر حيوان انتخاب شد. مدت زمان اعمال فشار ۱، ۳ يا ۵ ساعت در گروههاي مختلف حيواني در نظر گرفته شد. بيهوشي بيشتر از ۵ ساعت با توجه به شرايط خوكچه‌هاي هندي ممكن نبود و موجب مرگ حيوان مي‌شد. بعد از اتمام زمان اعمال فشار، اطلاعات در كامپيوتر ذخيره شد تا قابل بررسي در نرم‌افزار MATLAB باشد. حيوان از زير دستگاه برداشته و جهت تسريع ريكاوري، ml ۶-۴ سرم قندي نمكي به صورت زير صفاقي تزريق شد. حيوان به مدت ۱۲-۲۴ ساعت در داماي اتاق نگهداري و پس از بازگشت به شرايط طبيعي قبل از آزمايش، به محل نگهداري حيوانات منتقل شد و تا زمان نمونه‌برداري تحت مراقبتهاي استاندارد قرار گرفت.

ارزيابي زخم از طريق بررسي تغييرات پارامترهاي بيوشيمي خون، تست كشش تك محوري و مطالعات بافت شناسي، بلافاصله، دو و هفت روز پس از اعمال فشار انجام شد. در زمان نمونه‌برداري، حيوان به وسيله استنشاق كلروفرم قرباني شد و خونگيري از طريق قلب باز انجام گرفت. بدين ترتيب در مجموع ۱۸ گروه آزمايشي تشكيل شد كه حيوانات هر گروه (۳-۴ حيوان در هر گروه) تركيب متفاوتي از نظر ميزان فشار، مدت زمان اعمال فشار و زمان نمونه‌برداري نسبت به گروههاي ديگر داشتند.

۲-۱- نمونه‌برداري

۲-۱-۱- جمع‌آوري نمونة خون

پس از تخلية خون حيوان از ناحية قلب، نمونة خوني با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقيقه به مدت ۱۰ دقيقه سانتريفوژ شد و سرم آن جدا شد. فاكتورهاي خوني اندازه‌گيري شده شامل آنزيمهاي كراتين فسفوكيناز (CPK)، لاكتات دهيدروژناز (LDH)، آلانين آمينوترانسفراز (ALT)، آسپارتات آمينوترانسفراز (AST) و ميزان اسيد لاكتيك، فسفر، اوره، بيليروبين، كراتينين، قند، پروتئين، آلبومين و يونهاي كلسيم، سديم، پتاسيم و كلر بود. به علت تأثير احتمالي تزريق (به خصوص تزريق عضلاني) و كاربرد مواد بيهوشي در تغيير پارامترهاي خوني، (آزمايشهاي پايلوت اثر اين دو عامل را بر ميزان آنزيمهاي خون نشان داد.) با استفاده از گروه Sham، ميزان آنزيمهاي خون در گروه آزمايش، پس از نرمالايز شدن مورد تجزيه و تحليل قرار گرفت.

۲-۱-۲- نمونه‌برداري بافتي براي انجام آزمايش كشش تك محوري

در روز معين پس از كشتن حيوان به وسيله كلروفرم، بافتي به طول ۵-۷ و عرض ۱/۵-۲ سانتي‌متر تهيه شد به گونه‌اي كه قسمت تحت فشار (زخم) در مركز نمونة بافتي قرار گرفت. طول نمونه در راستاي ستون فقرات حيوان بود. براي پيشگيري از ايجاد هر آسيب مضاعف به بافت در حين نمونه‌برداري، برش از سطح تا محل استخوان داده شد كه بدين ترتيب، بافت تركيبي از پوست، فاسيا و عضله بود و به عنوان يك بافت مركب مورد بررسي قرار گرفت. بافت قرينه سمت مقابل زخم نيز با همان ابعاد تهيه شد و به عنوان نمونه كنترل[7] براي نرمالايز كردن نمونة آزمايش مورد استفاده قرار گرفت. نمونه‌ها در شيشه‌هاي مخصوص دريوش‌دار محتوي محلول نرمال سالين ۰/۹% نگهداري شدند و حداكثر ۲-۶ ساعت بعد، تحت آزمايش كشش قرار گرفتند. دما و رطوبت نسبي آزمايشگاه هنگام آزمايش به ترتيب ۰/۹۰ ± ۲۳/۷۶ °C و ۰/۵ ± ۴۵/۳% بود.

ابعاد نمونه به وسيله كوليس با دقت ۰/۱ ميلي‌متر اندازه‌گيري شد و آزمايش كشش به وسيله دستگاه كشش يونيورسال[8] انجام شد. پس از اتصال دو طرف نمونه به فكهاي دستگاه، بافت با سرعت cm/min ۲ تحت كشش قرار گرفت. با

[7] Intra-Animal Control

[8] Zwick 1494 Universal testing Machine

شروع کشش، مقاومت بافت افـزایش یافـت تـا بـه حـداکثر نیروي تحمل شده رسید. کشش تا ۸۰% این نقطه ادامه یافت و منحني نیرو – تغییر طول بـه وسـیلة دسـتگاه ترسـیم شـد. حداکثر نیروي تحمل شده توسط بافت (F_{max}) بر حسب گرم نیرو، تنش بر حسب نیوتن بـر میلـي‌مترمربـع، درصـد تغییـر طـول در نقطه F_{max} و نقطة انتهایي کشش، سطح زیر منحنـي یـا کار انجام شده بـر حسب ژول بر مترمربع و میزان سختي بافت یـا شیب قسمت خـطي منحني نیرو – تغییـر طـول (در محدودة ۴۰ – ۸۰% تغییر طول در نقطه F_{max}) محاسبه شد.

۲-۱-۳- نمونه‌برداري بافتي براي مطالعات بافت شناسي بـه دلیل اینکه نمونـه‌هـا پـس از انجـام آزمـون کشـش تـک محوری بـراي مطالعات بافتي مناسب نبود لـذا در هـر گـروه حداقل یك حیوان بـراي مطالعه بـافتي کنار گذاشته شـد. در روز نمونه‌برداري از محـل تـحـت فشار، نمونة بـافتي تمـام ضخامت (از سطح پوست تا محل چسبندگي به استخوان) به ابـعـاد ۱ سانتي‌مترمربع برداشته شد و در محلـول فیکسـاتیو فرمالین سالین ۱۰% قرار داده شد. نمونه‌ها پس از طي مراحل آمـاده‌سازي بافت در بلوکهاي پارافیني قالب‌گیري شدند و با استفاده از میکروتوم روتاري، مقاطع ۵ میکروني سریال تهیـه شد. سپس جهت مطالعات بـافـت شنـاسي رنـگ آمیزیهـاي هماتوکسیلین- ائوزین، تري کروم مـاسون و ارسـئین انجـام شد.

۳- روشهاي آماري

همـان طور که اشاره شد در آزمـایش کششي تـك محـوري براي به حداقل رساندن اختلافات بین حیواني، از بافت قرینه سـمت مقـابل فشـار در هـر حیـوان بـه عنـوان کنتـرل intra-animal استفـاده شد، لذا پارامترهاي بـدست آمـده در هر حیوان با کنترل خودش نرمالایز گردید. میـزان آنزیمهـاي خون نیز با استفاده از مقادیر گروه Sham نرمالیز شـد. بـراي نرمالایز کردن از رابطه ۱ استفاده شد:

$$K_i = \frac{\text{نمونه آزمایش-} \quad \text{نمونه کنترل}}{\text{نمونه کنترل}} \qquad (۱)$$

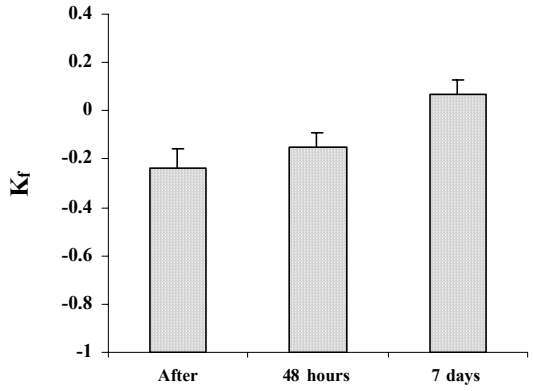
پـس از استخراج و محاسبة اطلاعات نرمالایز شده مربوط به پـارامترهاي بیومکانیکي و خـونـي بـدست آمده، بـه کمـك نرم‌افزار SPSS، بـا استفـاده از آزمون آمـاري آنـالیز واریانس فاکتوریال، تجزیه و تحلیل آماري انجام شد. سطح معنـاداري در تمام آزمونها ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

٤- نتایج

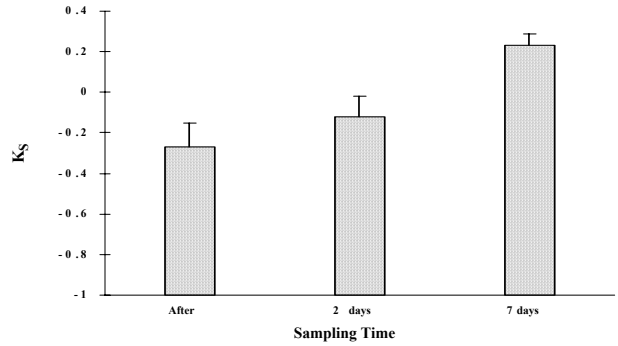
آنـالیز اطلاعات نشان داد بین مقادیر نرمـالایز شـدة حـداکثر نیروي تحمل شدة بافت (K_f)، کار انجام شده یـا سـطح زیـر منحني (K_w) و حداکثر تنش تحمل شده توسط بافـت (K_s)، اخـتلاف معنـاداري در گـــروههاي آزمـــایشي وجـود دارد (شکلهاي ۲،۱و۳). علت معنادار بودن ایـن اختلاف در مـورد همة پارامترهاي تـأثیرگذار (شامل مقدار فشـار، مـدت زمـان اعمال فشـار و زمان نمونه‌برداري و بر هم کنش آنها) بررسي شد. زمـان نمونه‌برداري، مؤثرترین عامل ایجاد اختلاف بـود. نمونه‌هایي که روز هفتم پس از اعمال فشار تحت کشش قرار گرفتند بیشترین آسیب را نشان دادنـد. میـزان فشـار و زمـان اعمال فشار بـه تنهایي اختلاف معناداري بـه وجـود نیـاورد. درصد تغییر طول و شیب قسمت خطي منحني نیـرو- تغییـر طول نیز علیرغم اینکـه در نمونـه‌هـاي آزمـایش نسـبت بـــه کنترل، تغییرات مشخصي داشتند امـــا اخـتلاف آنهـا معنـادار نبود. در بررسي بافتي نمونه‌هایي که بلافاصـلـه پـس از فشـار تهیه شدند، هیچگونه آثار تخریب در پوست و عضله مشاهده نشد. آنچه در این زمـــان مشـهود بـود شـروع انفیلتراسـیون سلولهاي التهابي بود که بـا افزایش زمان اعمـال فشار، تهاجم سلولهاي التهابي بیشتر بود (شکل ۴).

دو روز بعد از اعمـال فشار، افـزایش انفیلتـره شـدن سـلولها بارزتر بود و تخریب اولیه در پـوست و عضله دیده شـد. در اینجا نیز افزایش زمان اعمال فشار با ضایعات شدیدتر همراه بود. هفت روز بعد از اعمال فشار تخریب رشته‌هاي کلاژن و فیبرهاي عضله کاملاً مشخص شد. نکروز در عضله و قسمت عمقي درم در مجاورت با عضله شدید بود و تراکم رشته‌هاي کلاژن کاهش یـافته بود (شکل ۵). اعمال فشار سبب افزایش میـزان آنـزیـم AST، CPK و LDH در خون شـــد امـا ایـن

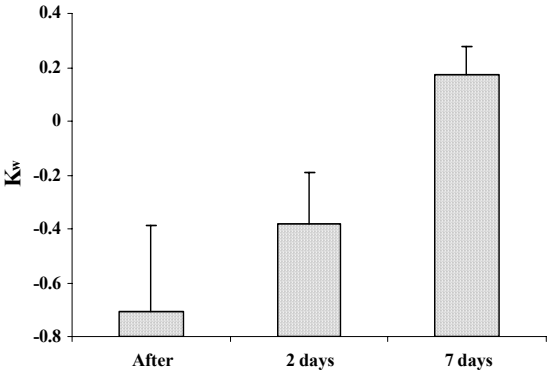
افزایش فقط در مورد آنزیم **AST** اختلاف معناداري را نشـان داد و افـزایش آن در روز دوم پس از آزمایش نسـبت بـه دو زمان بلافاصله و هفت روز بعد از فشار، معنـادار بود (شـکل ۶). میزان اسید لاکتیك خون نیز با اعمال فشار افزایش یافت. ایـن افزایش در نمونه‌هاي خوني بلافاصله بعد از اعمال فشار نسبت به دو و هفت روز بعد و در زمـان یـك ساعت فشـار نسبت به ۳ و ۵ ساعت اعمال فشار معنـادار بـود (شـکل ۷). میزان فسفر نیز در نمونه‌هایي کـه دو روز بعد از فشـار تهیـه شد نسبت به بلافاصله و هفت روز بـعـد، افزایش معنـاداري نشـان داد (شکل ۸).



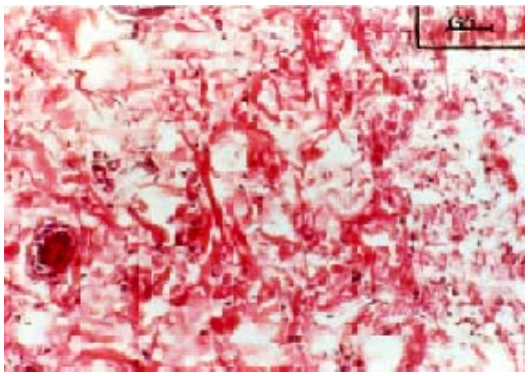
شکل۱- نمودار ستوني میانگین K_f (حداکثر نیروي تحملي نرمالایز شده در بافت) در گـروه اعمـال فشار با زمانهاي مختلف نمونه برداري



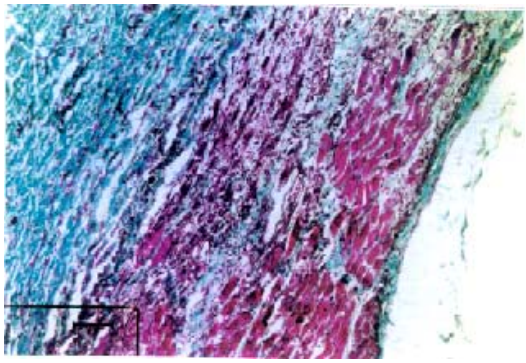
شکل ۲- نمودار ستوني میانگین K_s (میزان تنش نرمالایز شده) در گروه اعمال فشار با زمانهاي مختلف نمونه برداري



شکل۳- نمودار ستوني میانگین K_w (مقدار نرمالایزه شده کار انجام شده یـا سطح زیر منحني نیرو- تغییر طول) در گروه اعمـال فشار با زمانهاي مختلف نمونه برداري



شـکـل۴- هجوم سلولهاي التهابي در درم، (رنـگ آمیزي H &E با بزرگنمایي ۱۰۰×)

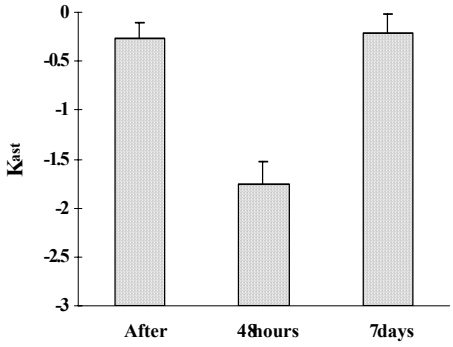


شکـل ۵- نکـروز عضله و کـاهش دانسیته کلاژنها درم هفت روز بعد از اعمـال فشار ۲۹۱ mmHg بـه مـدت ۵ ساعت، (رنگ آمیزي تري کروم با بزرگنمایي ۱۰۰×)

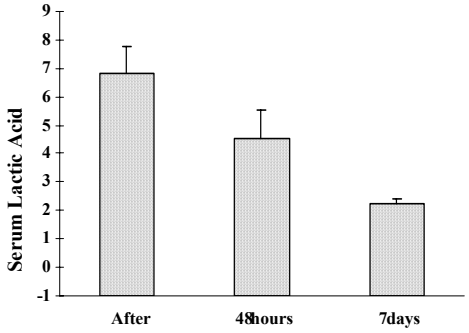
۵ - بحث

نتـايج نشان داد حساسيت بـرخـي از پارامترهاي بيومكانيكي براي تعيين آسيبها بيشتر است كـه شامل F_{max}، تنش و انرژي جـذب شده يـا سطح زير منحني نيرو – تغيير طول مي‌باشند. ايـن بـرداشت بـا بخشي از نتـايـج غياثي و كـامبيك [۱۰،۹] مطابقت دارد. نمونه‌هايي كه بلافاصله بـعـد از فشار، تـحـت كشش قرار گرفتند نسبت به نمونة كنترل، سختي كاذبي نشان دادند. بـه نظر مي‌رسد بـه علت خروج مـايـع ميـان بافتي از منطقه تـحـت فشـار، حالت رواني[9] حركت بين فيبرهاي درم كـاهـش مي‌يابد. چنين پديده‌اي در افراد مسن گزارش شـده كـه در آنها نيز فيبرهاي كلاژن تغيير نمي‌كند اما به دليل تغيير مـواد زمينه، شبكه كلاژني تـحـت تـأثـيـر قرار مي‌گيرد. ايـن موضوع مي‌تواند توجيه‌كنندة سختي پوست بـاشـد [۱۲،۱۱]. البته بـا گذشت زمان، برخورد مستقيم سلولها بـا يكديگر (به دليل كـاهش مواد زمينه و مايعات ميان بافتي) منجر بـه بروز آسيـب و نكروز خـواهـد شد [۱۳،۵]. در آزمـايشهاي انجـام شده معمولاً ۲۴-۴۸ ساعت پـس از اعمال فشار، علائم زخم در سطح پوست ظاهر شد. ليز و نكروز سلولي در نمونه‌هايي كه هفت روز بـعـد تهيه شـد، مشخص بـود؛ بـه همين علت، F_{max}، تنش و كـار انجام شده در اين نمونه‌ها نسبت به نمونة كنترل كـاهش نـشـان داد. روز هفتم بـراي بـررسي ضايعات بيومكانيكي و بافتي مناسب است و تـأخير بيشتر ممكن است به دليل انجـام ترميم بـافتي، بـه خصوص در زخمهاي خفيف‌تر كه برگشت پذيرند، منـاسب نبـاشد [۱٤].

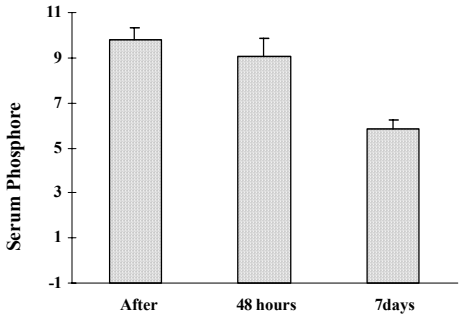
در زمانهاي ۱ و ۳ ساعت اعمال فشار، آثـار زخـم در سـطح پوست ديده نشد بـه جز قرمزي سطح پوست كه آن هـم بـه تدريج برطرف شد. البته ايـن دليلي بر عدم وجـود آسـيبهاي ميكروسكوپي در بافتهـا نبـود و در بررسـي بـافـت نـواحي تحت فشار، مشخص شد كه بسته بـه روز نمونه‌برداري، آثار التهابي و نكروز سلولي وجود دارد. در زمانهاي ۱ و ۳ ساعت اعمال فشار، در سطح پوست فقط قرمزي ايجـاد شـد كـه در شديدترين حـالـت، ۱ روز پس از آزمايش برطرف شـد. امـا وقتي همين نـمونـه‌هاي ۱ و ۳ ساعتي در روز هفتم بـعـد از



شكل ۶- مقـايسة ميانگين K_{ast} در گـروه اعمـال فشـار نسبت بـه زمانهاي مختلف نمونه برداري



شكل ۷- مقـايسة ميـانگين مقدار اسيد لاكتيك خـون در حيوانات تحت فشار نسبت به زمانهاي مختلف نمونه برداري



شكل ۸ - مقـايسة ميـانگين فسفر خون در حيوانـات تحت فشـار نسبت به زمانـهاي مختلف نمونه‌برداري

[9] Lubrication

اعمال فشار، تحت آزمايش كشش تك محوري قرار گرفتند نسبت به نمونه‌هاي كنترل خود مقاومت كمتري نشان دادند. درصد تغيير طول در دو نقطة F_{max} و شكست (نقطة پاياني منحني تنش- كرنش) در نمونه‌هاي تحت فشار نسبت به كنترل افزايش داشت و شيب قسمت خطي منحني نيز در نمونه‌هاي آزمايش كمتر از كنترل بود. اگر چه اين تغييرات معنادار نبود اما نشان دهندة آسيب بافت در اثر اعمال فشار بود. Edsberg [۱۵] نيز نشان داد نمونه‌هاي پوستي تحت فشار، در آزمايش كشش تك محوري همواره نسبت به نمونه‌هاي كنترل شل‌ترند و درصد تغيير طول در آنها بيشتر است.

زمان اعمال فشار، اختلاف معناداري در پارامترهاي بيومكانيكي ايجاد نكرد اما در مطالعة بافت شناسي، با افزايش زمان اعمال فشار، آسيبهاي بافتي افزايش يافت. نمونه‌هايي كه ۵ ساعت تحت فشار بودند، نسبت به نمونه‌هاي ۱ و ۳ ساعت، نكروز وسيع عضله را نشان دادند. احتمالاً يكي از دلايل عدم همخواني آزمايش كشش و مطالعات بافت شناسي اين است كه تغيير خصوصيات بيومكانيكي بافت فقط ناشي از تخريب پوست يا عضله نيست بلكه ايجاد اغتشاشات به وجود آمده به دنبال اعمال نيروي خارجي به بافت (مانند جابجايي مايعات ميان بافتي، تغييرات شبكه كلاژني و الاستين و تغيير ويسكوزيتي بافت)، قطعاً رفتار مكانيكي بافت را تحت تأثير قرار مي‌دهد [۱۶،۱۵].

روند نكروز از عمق به سطح بود و ابتدا عضلات دچار نكروز شدند و سپس تراكم فيبرهاي درم كاهش يافت. افزايش ميزان فشار از ۲۹۱ به ۳۸۷ ميلي‌متر جيوه، پارامترهاي بيومكانيكي و بافتي را تشديد نكرد و اختلاف معناداري را بوجود نياورد كه با يافته‌هاي Hyodo موافقت داشت [۱۷]. Hyodo نيز دريافت كه افزايش فشار از ۶۰۰ به ۹۰۰ ميلي‌متر جيوه سبب افزايش آسيبهاي بافتي نمي‌شود.

افزايش معنادار ميزان آنزيم آسپارتات آمينوترانسفراز در نمونه‌هاي دو روز بعد از اعمال فشار و افزايش آنزيم CPK و LDH نسبت به گروه Sham، نيز مؤيد آثار تخريب در عضله است. Hgisawa [۱۸] نيز با اعمال فشار بر ناحية استخوان كتف و پشت خوك، افزايش معنادار آنزيم CPK را نشان داد. در آزمايشهاي او نيز افزايش LDH معنادار نبود.

ميزان اسيد لاكتيك خون نيز بلافاصله بعد از اعمال فشار افزايش يافت كه نشان داد بافت به سمت متابوليسم بي‌هوازي رفته است يعني اعمال فشار سبب ايجاد ايسكمي شده و اكسيژن رساني بافت مختل شده است لذا انرژي سلولي از طريق روند بي‌هوازي فراهم شده كه محصول اين متابوليسم، اسيد لاكتيك است. نمونه‌هايي كه يك ساعت تحت فشار بودند بيشترين افزايش اسيد لاكتيك را نشان دادند. احتمالاً هر چه مدت اعمال فشار افزايش يابد، عمق بيهوشي بيشتر شده است و نوعي تطابق در حيوان به وجود آمده تا با پايين آوردن متابوليسم سلولي، سازگاري با شرايط آزمايش فراهم شود.

ميزان فسفر نيز با اعمال فشار افزايش يافت و در روز هفتم به ميزان طبيعي بازگشت. فسفر نيز از فرآورده‌هاي متابوليسم انرژي سلولي است كه به دنبال هيدروليز ATP به وجود مي‌آيد. Polliack وHgisawa [۱۹،۱۸] نيز نشان دادند اعمال فشار بر بافت انساني سبب افزايش ميزان ترشح اسيد لاكتيك در عرق مي‌شود. آنها افزايش اسيد لاكتيك در عرق را انعكاسي از شرايط بوجود آمده در نتيجه ايسكمي و افزايش سطح اسيد لاكتيك خون دانستند. عدم تغيير معنادار در ديگر پارامترهاي خوني اندازه‌گيري شده نيز با بخشي از نتايج Vaziri و Cullum موافقت دارد [۲۱،۲۰]. در نهايت مشخص شد اعمال فشار بر بافت سبب تغيير ويژگيهاي بيومكانيكي، تخريب بافتي و تغيير پارامترهاي خوني مرتبط مي‌شود كه اين امر منجر به بروز پديدة زخم فشاري خواهد شد. با توجه به نتايج بدست آمده پيشنهاد مي‌شود در بررسي روند ايجاد زخم و ترميم آن به روشهاي مختلف فيزيكي، آزمايشهاي بافت شناسي و ارزيابي مقاومت بافت در برابر كشش به طور توأم انجام شود تا اطلاعات دقيق‌تري از وضعيت زخم بدست آيد.

۶- نتيجه گيري

اعمال فشار بر بافت سبب تغيير آرايش، تخريب و نكروز

المـانهاي تحمل كنندة فشـار در پـوسـت و عضـلة زيـرين مي‌شود. تغيير زود هنگـام بـرخـي آنزيمهاي اختصـاصي در خون كـه بـه دليل تخريب بافـت عضـلات ايجـاد مـي‌شـود پيش آگهي هشداردهنده اي براي ضايعات ايسكميك و وقوع زخم فشاري است. افزايش مقدار و به خصوص مدت زمـان اعمال فشار، آسيبهاي شديدتري در بـافت ايجاد مي‌كنـد كـه در مورد بيماران بستري و بي‌حركت بايد به آن توجه شود.

مراجع

[1] Kanj LF, Wilkings SV, Philips TJ; Pressure ulcers; J Am Acad Dermatol 1998; 38(4):517-36.

[2] Alvarez OM, Jarczynski E; Pressure ulcers physical supportive and local aspect of management; Clin in Pediatr Med Surg 1991; 8(4):869- 89.

[3] Feldman D; New intervention in pressure ulcers treatment: Regenerative skin healing; An annual publication of the Med Rehabil Res Training center in secondary complication in spinal cord injury; UAB; Spain Rehabilitation Center 1994; 1-4.

[4] Seiler WO, Staehelin HB; Skin oxygen tension as a function of imposed skin pressure implication for decubitus ulcers formation; J Am Geriatr Soc 1979; 27(7):298-301.

[5] Reddy NP; Interstitial fluid flow as a factor in decubitus ulcer formation; Biomechanics 1981; 14(12):879-81.

[6] Sacks AH; Theoretical prediction of a time - at - pressure curve for avoiding pressure sores; J Rehabil Res Dev 1989; 26(3):27-34.

[7] Zhang JD, Mak AF, Huang LD; A large deformation biomechanical model for pressure ulcers; J Biomech Eng 1997; 119:406-8.

[۸] تركمـان گيتـي، فـلاح علـي، شـرفي علـي اكبـر، كاتوزيـان حميدرضـا و همكـاران؛ طراحـي و سـاخت دستگـاه توليـدكننده نيروهاي مكـانيكي به منظور ايجاد زخم فشـاري كنترل شـده در حيوانـات آزمايشـگاهي؛ دانشـور۱۳۷۸؛ ۲۴، ۵۹-۶۴ .

[۹] غيـاثي صديقه، تركمـان گيتي، حـاجي زاده سهراب، شـرفي علي اكبر، فقيـه زاده سـقراط؛ مقـايسه اثـر امـواج پالسـي فراصـوتي بـا فركـانس MHz ۱ و فنوفـورزيس اسـيد اسكوربيك در درمان زخم فشـاري ايجـاد شـده در خوكچه هندي؛ نهمين كنفرانس مهندسي پزشكي ايـران ۱۳۷۸؛ ۴۷۱-۴۷۵.

[10] Kambic HE, Reyes E, Manning T, Waters KC, Reyes SI; Influence of AC and DC electrical stimulation on wound healing in pigs: A biomechanical analysis; J Invest Surg 1993; 6:535-43.

[11] Daly CH, Odland GF; Age-related changes in the mechanical properties of human skin; J Invest Dermatol 1979; 73:84-7.

[12] Escofier C, Pharm M, Rigal J; Related mechanical properties of human skin: An *in vivo* study; J Invest Dermatol 1989; 93(3):353-7.

[13] Kroushop TA; A synthesis of the factors that contribute to pressure sore formation; Med Hypotheses 1983; 11:255-67.

[14] Goldstein B, Sanders J; Skin response to repetitive mechanical stress: A new experimental model in pig; Arch phys Med Rehabil 1998; 79:265-72.

[15] Edsberg LE, Mates RE, Baier RE, Lauren M; Mechanical characteristices of human skin subjected to static versus cyclic normal pressures; J Rehabil Res Dev 1999; 36(2): 133-141.

[16] Sanders JE, Goldstein BS, Leotta DF; Skin response to mechanical stress: Adoptation rather than breakdown - A review of the literature; Rehabil Res Dev 1995; 32(3):214-26.

[17] Hyodo A, Reger SI, Negami S, Kambic HE; Evaluation of a pressure sore model using monoplegic pigs; Plast Recontr Surg 1995; 96(2):421-28.

[18] Hagistawa S, Martin RN, Ferguson-Pell M, Palmieri VR, Cochran VB; Pressure sores: A biochemical test for early detection of tissue damage; Arch phys Med Rehabil 1988; 69:668-71.

[19] Polliack A, Taylor R, Bader D; Sweat analysis following pressure ischemia in a group of debilitated subjects; J Rehabil Res Dev 1997; 34(3):303-8.

[20] Vaziri ND, Eltoria E, Gonzales E, Winer RL, Pham H, Bui TD, Said S; Pressure ulcer fibronection and related protein in spinal cord injury patients; Arch Phys Med Rehabil 1992; 73:803-6.

[21] Cullum N, Clark M; Intrinsic factors associated with pressure sores in elderly people; J Adv Nurs 1992; 17:427-31.