

مشاهده اثر استفاده توأم موضعی و خوراکی کمبوچا بر ترمیم جراحتهای ناشی از سوختگی درجه سوم در موشهای صحرایی بالغ

کاظم پریورا¹، پریچهر یغمایی²، نسیم حیاتی رودباری³، یرستو
محمدی محقق⁴

- ¹ استاد، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران
- ² استادیار، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران
- ³ دانشیار، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران
- ⁴ کارشناس ارشد، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران

چکیده

سابقه و هدف: شواهد زیادی مبنی بر خواص درمانی کمبوچا وجود دارند؛ از این رو در این بررسی به مشاهده اثر استفاده همزمان خوراکی و موضعی کمبوچا در ترمیم جراحتهای ناشی از سوختگیهای درجه سوم پرداخته شد.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی، تعداد 40 سر موش صحرایی بالغ به طور تصادفی در گروههای کنترل (بدون تیمار)، شم (تیمار توأم خوراکی و موضعی چای شیرین)، تجربی 1 (تیمار توأم خوراکی چای کمبوچا و موضعی همزیست کمبوچا) و تجربی 2 (تیمار توأم موضعی و خوراکی چای کمبوچا) قرار گرفتند. تحت بیهوشی عمومی با رعایت شرایط استریل، سوختگی درجه سوم در پشت هر موش صحرایی ایجاد شد. تیمار موضعی سوختگی، 4 بار در روز به مدت 21 روز صورت گرفت و بعد از پایان مدت تیمار، موشهای صحرایی به وسیله کلروفرم کشته شدند و یک نمونه از بستر زخم هر موش صحرایی تهیه و در بوئن فیکس شد و مراحل کار عملی بافتشناسی عمومی روی آن به عمل آمد. نمونهها توسط هماتوکسیلین- ائوزین رنگآمیزی شدند و مشاهدات میکروسکوپی روی آنها صورت گرفت.

یافتهها: در مشاهدات ماکروسکوپی سطح زخم سوختگی پس از دوره تیمار، جمع شدگی کامل زخم سوختگی و کاهش اسکار در گروههای تیماری کمبوچا نسبت به گروههای شم و کنترل مشاهده شد. در بررسیهای میکروسکوپی، افزایش معنی دار ($p < 0/0001$) ضخامت کل پوست، لایه کراتینه، اپی‌درم و هیپودرم، تعداد و قطر فولیکولهای مو در گروه تجربی 1 نسبت به گروه کنترل مشاهده شد.

نتیجه‌گیری: تجویز خوراکی چای کمبوچا به همراه مصرف موضعی چای کمبوچا یا سمبیوز هموژن کمبوچا موجب تسریع جمع شدگی و التیام زخمهای ناشی از سوختگیهای درجه سوم می‌گردد. استفاده موضعی کمبوچا در تیمار توأم، مفیدتر است.

واژگان کلیدی: جای کمبوچا، همزیست کمبوچا، موش صحرایی، سوختگی درجه سوم، ترمیم زخم.

مقدمه

کمبوچا درمانی سنتی است که استفاده از آن در قرن‌های گذشته از جایی در شرق دور آغاز گردیده است و شامل یک کشت سمبیوتیک از مخمر و تعدادی از سویه‌های متفاوت از باکتری‌ها می‌باشد که در چای سیاه یا سبز شیرین شده رشد می‌یابد. همزیست کمبوچا شبیه به یک کلوچه ارتجاعی است. کشت کمبوچا در چای شیرین به مدت 7 تا 10 روز، تخمیر می‌یابد. نوشیدن 150 تا 250 میلی‌لیتر از چای تخمیر یافته کمبوچا برای سم زدایی بدن مفید است. این چای کمی ترش است و طعمی همچون طعم سرکه سبب دارد. مایع نهایی شامل اسید گلوکورونیک، اسید لاکتیک، اسید استیک، ویتامین‌ها و دیگر ترکیبات می‌باشد. اسید گلوکورونیک توسط کبد جهت سم زدایی ترکیبات معینی به کار می‌رود و این اسید در بیشتر موارد به عنوان مفیدترین ترکیب چای کمبوچا شناخته شده است (1). گفته می‌شود کمبوچا برای افزایش طول عمر، درمان سرطان، مبارزه با آکنه، از بین بردن چین و چروک، درمان رماتیسم، افزایش تعداد T-cell ها، درمان آسم، افزایش نیروی حیات و برگرداندن رنگ موهای سفید به رنگ طبیعی‌شان مفید می‌باشد (2). ترکیب کمبوچا از نظر میکروبیولوژی مورد بررسی قرار گرفته است. باکتری‌ها و مخمر موجود در کمبوچا همزیست قدرتمندی را ایجاد می‌کنند که قادر به مهار رشد باکتری‌های بیماری‌زا و آلوده کننده احتمالی می‌باشد (3،4). *Acetobacter xylinum* اصلی‌ترین باکتری موجود در کمبوچا است و دارای قدرت ساخت شبکه سلولز شناور می‌باشد که پیوستگی

باکتری‌ها و مخمرها را تقویت می‌کند (3). سلول‌های مخمر سوکروز را به فروکتوز و گلوکز تبدیل می‌کنند و تولید اتانول می‌نمایند (5،6). باکتری‌های اسید استیک گلوکز را به گلوکورونیک اسید و فروکتوز را به اسید استیک تبدیل می‌نمایند. کافئین و گزانتین‌های موجود در چای دم کرده، ساخت سلولز را توسط باکتری‌ها تحریک می‌کنند (3). اسید استیک باعث تحریک مخمر برای تولید اتانول می‌شود و در عوض اتانول نیز می‌تواند برای رشد باکتری‌های استیک اسید مفید باشد (4). اتانول و اسید استیک هر دو می‌توانند فعالیت ضد میکروبی بر ضد باکتری‌های بیماری‌زا داشته باشند که خود سدی جهت محافظت علیه آلودگی‌های کمبوچا می‌باشد (4).

پوست نقش مهمی را در حفظ محیط داخلی بدن بر عهده دارد، بزرگ‌ترین عضو بدن انسان است و صدمه شدید به این اندام باعث ایجاد مشکلاتی در تداوم حیات می‌گردد. پوست شامل دو لایه اپی‌درم و درم است که روی چربی زیر پوستی قرار می‌گیرد. اپی‌درم به طور عمده شامل لایه‌های کراتینوسیتی است که در آن انواع دیگر سلولی از جمله ملانوسیت‌ها و سلول‌های لانگرهانس پراکنده شده‌اند. اپی‌درم توسط غشاء قاعده‌ای از درم تفکیک شده است. درم از قسمت‌های پاپیلار و رتیکولار تشکیل شده است که شامل ماتریکس خارج سلولی یا ماده زمینه‌ای متشکل از کلاژن، فیبرهای شبک‌ای، الیاف کلاژن و گلوکزآمینوگلیکان‌ها می‌باشند (7). سوختگی به صورت آسیب بافتی به وجود آمده در اثر عواملی همچون حرارت، مواد شیمیایی، الکتریسته، نور خورشید یا تشعشع هسته‌ای تعریف می‌شود. بیشتر سوختگی‌ها ناشی از آتش‌سوزی‌های ساختمان، تماس با آب جوش، بخار آب، مایعات و گازهای قابل

در محدوده وزنی 200 تا 250 گرم استفاده شد. برای حصول اطمینان از عدم وجود هر گونه عفونت در بدن، حیوانات به خوبی مورد معاینه قرار گرفتند. موش‌های صحرایی در اتاق حیوانات با شرایط مناسب، درجه حرارت 22 ± 2 درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی 40 تا 60 درصد و سیکل 12 ساعته روشنایی-تاریکی در شبانه روز نگهداری شدند و تغذیه آنها با حبه‌های (pellet) مخصوص حیوانات آزمایشگاهی و آب آشامیدنی لوله-کشی صورت می‌گرفت.

برای تهیه کمبوچا، از ظرف سه لیتری با دهانه گشاد استفاده شد. 100 میلی‌لیتر چای دم کرده صاف شده به 800 میلی‌لیتر آب مقطر اضافه گردید و 60 گرم شکر سفید به آن افزوده شد و جهت حل شدن کامل شکر در آب، ظرف حاوی آن روی هم‌زن مغناطیسی قرار داده شد. سپس 100 میلی‌لیتر چای کمبوچا و نیز یک همزیست کمبوچا به عنوان آغازکننده تخمیر به ظرف کشت اضافه گردید. پس از آن، دهانه ظرف به وسیله یک پارچه کتان تمیز پوشانده شد تا ضمن عبور هوا به داخل ظرف از ورود آلودگی به آن جلوگیری شود. ظرف به انکوباتور منتقل شد و دمای آن روی 27 درجه سانتی‌گراد تنظیم گردید. بعد از یک هفته، ظرف حاوی کشت کمبوچا از انکوباتور خارج شد. سپس محصولات این کشت شامل سمبیوزها - سمبیوز مادر و فرزند- و نیز چای تخمیری کمبوچا به یخچال 4 درجه سانتی‌گراد منتقل گردیدند. جهت تهیه ماده تیمار موضعی گروه تجربی 1، سمبیوز کمبوچا خرد و سپس در دستگاه مخلوط‌کن به صورت هموژن درآمد.

موش‌های صحرایی به صورت تصادفی در 4 گروه آزمایشی تقسیم شدند که هر گروه شامل 10 سر رت بود. ابتدا هرکدام از رت‌ها توسط تزریق درون صفاقی کتامین و زایلازین بیهوش شدند. هریک از آنها پس از بیهوش شدن، از ناحیه شکم روی تشتک تشریح قرار داده شدند و موهای

اشتعال می‌باشند (8). سوختگی‌های حرارتی و سوانح مانند آن از مهم‌ترین علل مرگ و معلولیت در افراد هستند (9). سالانه دو میلیون نفر به علت آسیب‌های سوختگی، درمان‌های پزشکی دریافت می‌کنند. بسیاری از درمان‌های اولیه از جمله استعمال موضعی دارو جهت جلوگیری از ورود مواد عفونی به داخل زخم می‌باشند. بهبود روش‌های درمان زخم و ترمیم بافت باعث افزایش کیفیت زندگی در بیماران دچار ترومای سوختگی می‌گردد و همچنین ممکن است به کاهش هزینه‌های درمانی کمک نماید (10). بهبود زخم‌های پوستی فرایند پیچیده‌ای است که حاصل عملکرد مشترک بافت‌های مختلف با دودمان سلولی متفاوت می‌باشد. رفتار هر کدام از انواع سلول‌های مؤثر در طول فازهای تکثیر، مهاجرت، ساخت ماتریکس و انقباض، فاکتورهای رشد و سیگنال‌های ماتریکسی موجود در محل زخم در حال حاضر به خوبی شناخته شده‌اند (11). بعد از آسیب، یک سری از وقایع معمول جهت ترمیم صدمه به وقوع می‌پیوندند. در نتیجه پاسخ التهابی ناشی از آسیب، سلول‌های زیر درم شروع به ساخت کلاژن می‌کنند که تا مرحله پایانی ساخت اپی‌تیالی ادامه می‌یابد (12).

اکثر متابولیت‌ها و ویتامین‌های موجود در کمبوچا در بهبود زخم مفید هستند. شواهد تجربی موجود از تأثیرات مثبت کمبوچا در درمان برخی از مشکلات پوستی همچون جوش‌ها و دانه‌های پوستی، چین و چروک و خشکی پوست و نیز خواص سیستمیک آنتی‌بیوتیکی و آنتی‌اکسیدانی چای کمبوچا در بدن باعث آغاز ایده بررسی علمی مشاهده تأثیر استفاده توأم موضعی و خوراکی کمبوچا بر ترمیم جراحات‌های ناشی از سوختگی درجه سوم در موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار گردید.

مواد و روشها

در این مطالعه تجربی، از 40 سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار



شکل 1- تصویر سوختگی ایجاد شده در رت

نمونه‌ها به مدت 4 ساعت در فیکساتیو بوئن قرار داده شدند و پس از انجام مراحل آب‌گیری و تهیه قالب‌های پارافینی، برش‌های 6 میکرونی از آنها تهیه شد و رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین- ائوزین روی آنها صورت گرفت. هدف از تهیه برش‌ها بررسی ضخامت لایه‌های پوست، شمارش و اندازه‌گیری تعداد و قطر فولیکول‌های مو و شفت مو بود که به صورت تصادفی 10 مقطع از هر لام از گروه‌های آزمایشی مورد بررسی قرار گرفتند (13).

داده‌ها با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه) و آزمون تعقیبی Tukey بررسی گردیدند. معیار استنتاج آماری $p < 0/001$ در نظر گرفته شد. تحلیل نتایج با استفاده از نرم افزار آماری SPSS انجام گرفت (14).

یافته‌ها

تصاویر ماکروسکوپی از محل زخم در گروه‌های آزمایشی بعد از گذشت مدت زمان تیمار، تأیید کننده جمع شدگی و بسته شدن کامل زخم در گروه‌های تیماری با کمبوچا (تجربی) (شکل 4 و شکل 5) نسبت به گروه شم (شکل 3) و کنترل (شکل 2) می‌باشد. همچنین روند بهبود و جمع شدگی زخم در گروه شم نسبت به گروه کنترل بهتر بود. گروه دریافت کننده تیمار موضعی با همزیست کمبوچا به همراه تجویز

ناحیه پشت آن با تیغ ژیلت کاملاً تراشیده شد. ناحیه تراشیده شده با پنبه آغشته به بتادین 10 درصد ضد عفونی شد و در پوست ناحیه پشت آنها در محدوده ما بین دو کتف و زیر گردن، توسط یک دستگاه هویه داغ، سوختگی شدید و عمیقی از نوع حرارتی، به قطر 5 میلی‌متر ایجاد شد (شکل 1). به محل سوختگی، بتادین زده نشد تا خواص ضد عفونی کنندگی مواد تیماری سنجیده شد. گروه‌های آزمایشی عبارت بودند از: الف) گروه کنترل: که پس از ایجاد سوختگی شدید و عمیق بدون هیچ تیماری باقی ماندند؛ ب) گروه شم: رت‌ها بعد از ایجاد سوختگی، توسط چای شیرین هم به صورت خوراکی و هم موضعی استفاده شدند؛ ج) گروه-های تجربی: گروه تجربی 1 شامل رت‌های مجروح که توسط چای کمبوچا به صورت خوراکی و همزیست هموژن کمبوچا به صورت موضعی توأمآً تیمار شدند. گروه تجربی 2 که در آن رت‌های مصدوم توسط چای کمبوچا به صورت موضعی و خوراکی توأمآً تیمار شدند. تیمارهای موضعی 4 بار در روز انجام می‌شدند و روش تیمار خوراکی به این صورت بود که روزانه بطری‌های ویژه آب آشامیدنی قفس رت‌ها از مایع تیماری پر می‌شد. بعد از اتمام مدت زمان در نظر گرفته شده (21 روز)، موش‌ها از طریق استنشاق کلروفورم در دسیکاتور دچار مرگ سریع و بدون درد (euthanasia) شدند. موهای آن قسمت از پوست پشتشان که پس از سوختگی تیمار شده بود، با تیغ ژیلت تراشیده و پس از تهیه تعدادی عکس از محل زخم، جهت مقایسه میزان و کیفیت جمع شدگی و بهبود زخم از لحاظ ماکروسکوپی، پوست ناحیه مورد نظر با به کارگیری تیغ اسکالپل جدا شد.

خوراکی چای کمبوچا (گروه تجربی 1) نسبت به گروه دریافت کننده تیمار توأم موضعی و خوراکی چای کمبوچا (گروه تجربی 2)، اسکار کمتری بر جای گذاشت.



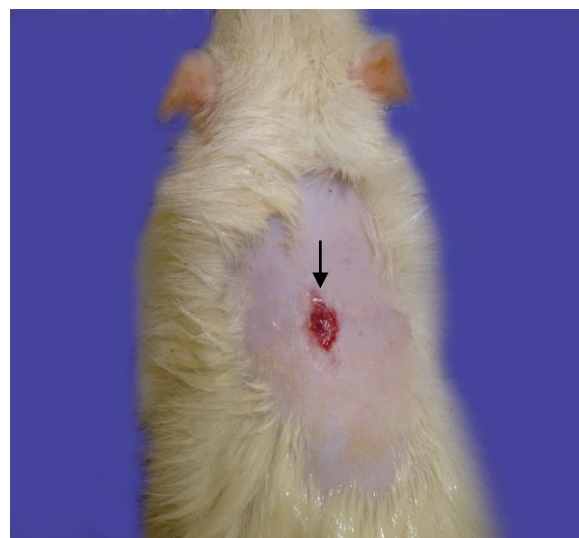
شکل 4- تصویر ماکروسکوپی جمع شدگی زخم در گروه تجربی 1. فلش محل جمع شدگی بعد از 21 روز باقی ماندن بدون تیمار را نشان می‌دهد.



شکل 2- تصویر ماکروسکوپی جمع شدگی زخم در گروه کنترل. فلش محل جمع شدگی بعد از 21 روز باقی ماندن بدون تیمار را نشان می‌دهد.

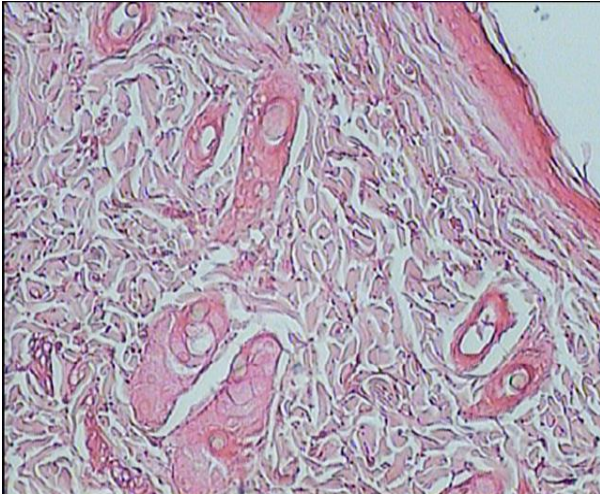


شکل 5- تصویر ماکروسکوپی جمع شدگی زخم در گروه تجربی 2. فلش محل جمع شدگی بعد از 21 روز باقی ماندن بدون تیمار را نشان می‌دهد.

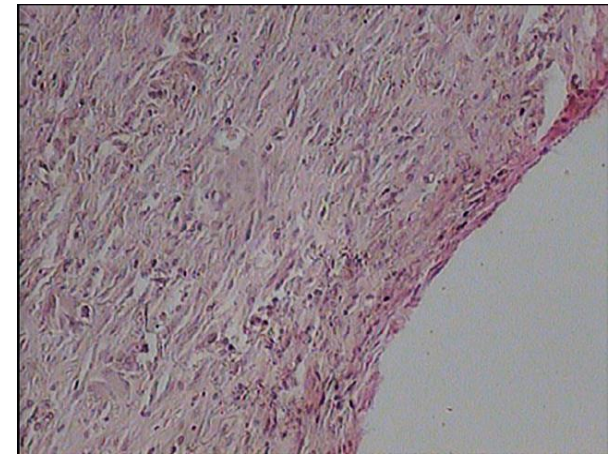


شکل 3- تصویر ماکروسکوپی جمع شدگی زخم در گروه شم. فلش محل جمع شدگی بعد از 21 روز باقی ماندن بدون تیمار را نشان می‌دهد.

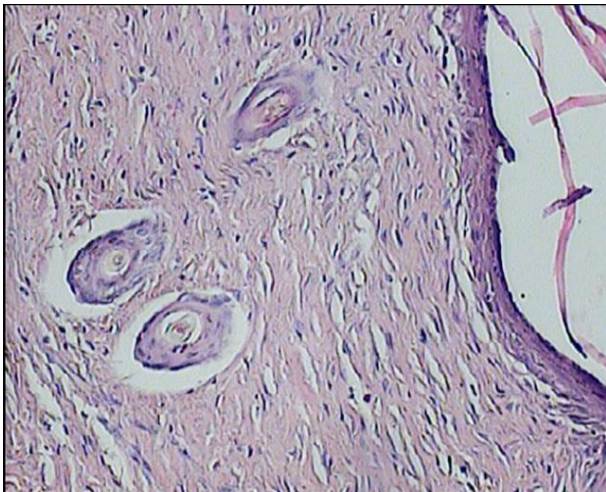
در بررسی میکروسکوپی برش‌های بافتی، بافت گرانوله و اپیتلیوم نازک، عدم تشکیل لایه کراتینه، بافت چربی و فولیکول‌های مو در گروه‌های کنترل (شکل 6) و شم (شکل 7) مشاهده شد. ولی در محل ترمیم زخم گروه‌های تجربی 1 (شکل 8) و تجربی 2 (شکل 9) بافتهای تمایز یافته اپی‌درم، درم، هیپودرم و فولیکول‌های تازه تشکیل یافته مو دیده شد. در نتیجه، در رسم



شکل 8- فتومیکروگراف نمونه پوستی در گروه تجربی 1 (بزرگنمایی نهایی میکروسکوپی $\times 100$).

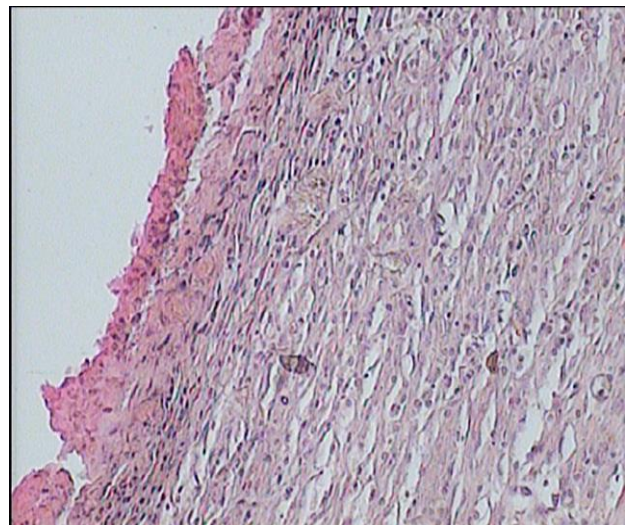


شکل 6- فتومیکروگراف نمونه پوستی در گروه کنترل مجروح (بزرگنمایی نهایی میکروسکوپی $\times 100$).



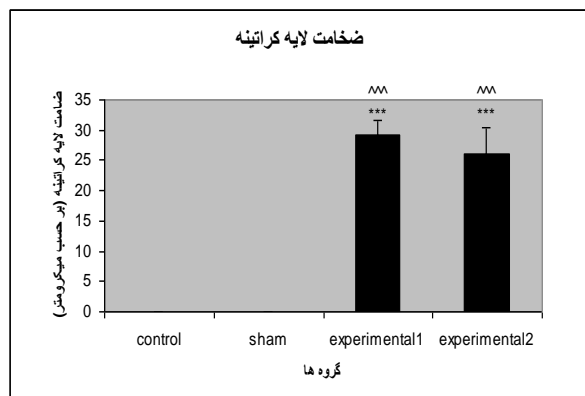
شکل 9- فتومیکروگراف نمونه پوستی در گروه تجربی 2 (بزرگنمایی نهایی میکروسکوپی $\times 100$).

ضخامت کل پوست در گروه های شم و تجربی نسبت به گروه کنترل افزایش معنی داری را نشان داد ($p < 0/001$). همچنین افزایش معنی دار ضخامت کل پوست در گروه های تجربی 1 و 2 (گروه های دریافت کننده تیمار کمبوچا) نسبت به گروه شم مشاهده شد ($p < 0/001$). ضخامت کل پوست در گروه تجربی 2 (گروه تجربی دریافت کننده تیمار توأم موضعی و خوراکی چای کمبوچا) نسبت به گروه تجربی 1 (گروه تجربی دریافت کننده تیمار موضعی همزیست کمبوچا به همراه تجویز خوراکی چای کمبوچا)، کاهش معنی داری داشت ($p < 0/001$) (نمودار 1).



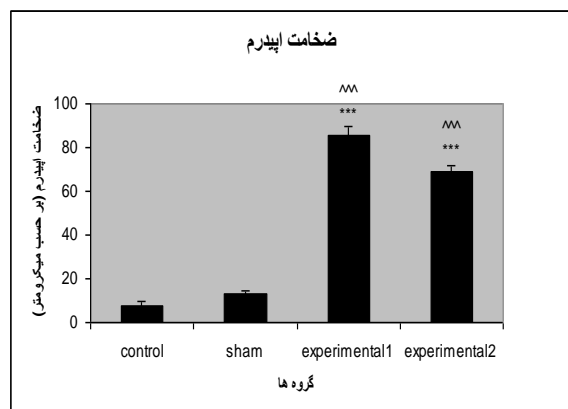
شکل 7- فتومیکروگراف نمونه پوستی در گروه شم (بزرگنمایی نهایی میکروسکوپی $\times 100$).

دارای کاهش معنی‌داری بود
($p < 0/001$) (نمودار 5).

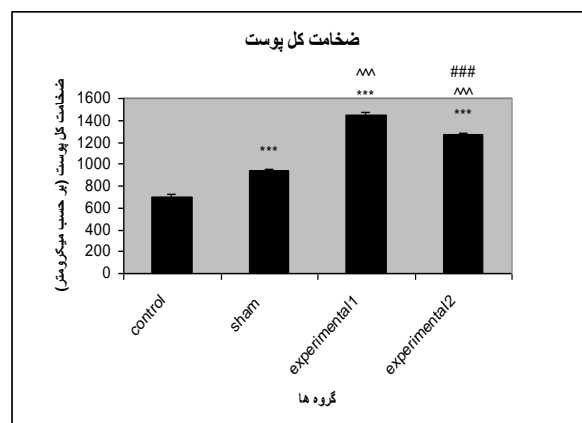


نمودار 2- مقایسه ضخامت لایه کراتینه در گروه‌های کنترل، شم، تجربی 1 و تجربی 2. افزایش معنی‌دار ($p < 0/001$ ***) ضخامت لایه کراتینه در گروه‌های تجربی نسبت به گروه کنترل، افزایش معنی‌دار ($p < 0/001$ ^^) لایه کراتینه در گروه‌های تجربی نسبت به گروه شم.

تعداد فولیکول‌های مو در گروه تجربی 1 نسبت به گروه کنترل و شم افزایش معنی‌داری را نشان داد ($p < 0/001$), ولی در گروه تجربی 2 نسبت به گروه کنترل و شم افزایش معنی‌داری نداشت. همچنین کاهش معنی‌دار تعداد فولیکول‌های مو در گروه تجربی 2 نسبت به گروه تجربی 1 مشاهده شد ($p < 0/001$) (نمودار 6).



نمودار 3- مقایسه ضخامت اپیدرم در گروه‌های کنترل، شم، تجربی 1 و تجربی 2. افزایش معنی‌دار ($p < 0/001$ ***) ضخامت اپیدرم در گروه‌های تجربی نسبت به گروه کنترل، افزایش معنی‌دار ($p < 0/001$ ^^) ضخامت



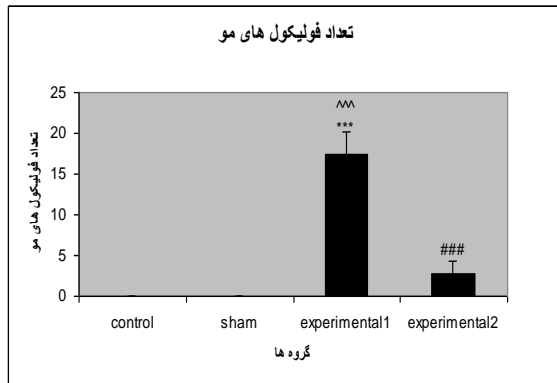
نمودار 1- مقایسه ضخامت کل پوست در گروه‌های کنترل، شم، تجربی 1 و تجربی 2. افزایش معنی‌دار ($p < 0/001$ ***) ضخامت کل پوست در گروه شم و گروه‌های تجربی نسبت به گروه کنترل، افزایش معنی‌دار ($p < 0/001$ ^^) ضخامت کل پوست در گروه‌های تجربی نسبت به گروه شم و کاهش معنی‌دار ($p < 0/001$ ###) ضخامت کل پوست در گروه تجربی 2 نسبت به گروه تجربی 1.

ضخامت لایه کراتینه و اپیدرم در گروه‌های تجربی نسبت به گروه کنترل و شم افزایش معنی‌داری را نشان داد ($p < 0/001$). همچنین افزایش معنی‌دار ضخامت لایه کراتینه و اپیدرم در گروه‌های تجربی 1 و 2 نسبت به گروه شم مشاهده شد ($p < 0/001$). کاهش مشاهده شده در ضخامت لایه کراتینه و اپیدرم در گروه تجربی 2 نسبت به گروه تجربی 1 معنی‌دار نبود (نمودار 2 و 3).

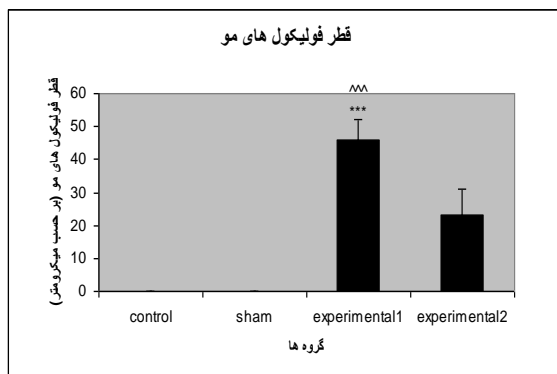
ضخامت درم در گروه‌های شم و تجربی نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌داری را نشان داد ($p < 0/001$), ولی تغییر معنی‌دار ضخامت درم در گروه‌های تجربی 1 و 2 نسبت به گروه شم مشاهده نشد. ضخامت درم در گروه تجربی 2 نسبت به گروه تجربی 1 تغییر معنی‌داری نداشت (نمودار 4).

ضخامت هیپودرم در گروه‌های تجربی 1 و 2 نسبت به گروه کنترل و شم افزایش معنی‌داری را نشان داد ($p < 0/001$). ضخامت هیپودرم در گروه تجربی 2 نسبت به گروه تجربی 1

اپی‌درم در گروه‌های تجربی نسبت به گروه شم. قطر فولیکول‌های مو در گروه تجربی 1 نسبت به گروه کنترل و شم افزایش معنی‌داری را نشان داد ($p < 0/001$)، ولی افزایش مشاهده شده در گروه تجربی 2 نسبت به گروه‌های کنترل و شم معنی‌دار نبود. کاهش مشاهده شده در قطر فولیکول‌های مو در گروه تجربی 2 نسبت به گروه تجربی 1 معنی‌دار نبود (نمودار 7).

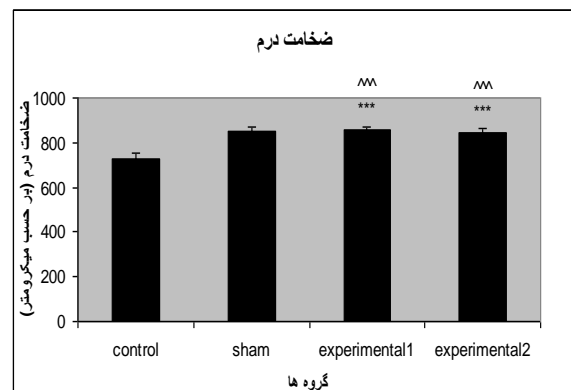


اپی‌درم در گروه‌های تجربی نسبت به گروه شم. قطر فولیکول‌های مو در گروه تجربی 1 نسبت به گروه کنترل و شم افزایش معنی‌داری را نشان داد ($p < 0/001$)، ولی افزایش مشاهده شده در گروه تجربی 2 نسبت به گروه‌های کنترل و شم معنی‌دار نبود. کاهش مشاهده شده در قطر فولیکول‌های مو در گروه تجربی 2 نسبت به گروه تجربی 1 معنی‌دار نبود (نمودار 7).



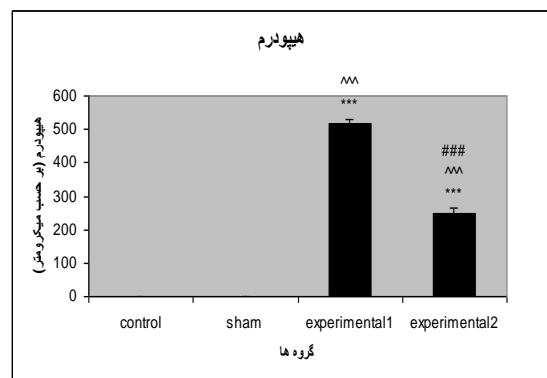
اپی‌درم در گروه‌های تجربی نسبت به گروه شم. قطر فولیکول‌های مو در گروه تجربی 1 نسبت به گروه کنترل و شم افزایش معنی‌داری را نشان داد ($p < 0/001$)، ولی افزایش مشاهده شده در گروه تجربی 2 نسبت به گروه‌های کنترل و شم معنی‌دار نبود. کاهش مشاهده شده در قطر فولیکول‌های مو در گروه تجربی 2 نسبت به گروه تجربی 1 معنی‌دار نبود (نمودار 7).

اپی‌درم در گروه‌های تجربی نسبت به گروه شم. قطر فولیکول‌های مو در گروه تجربی 1 نسبت به گروه کنترل و شم افزایش معنی‌داری را نشان داد ($p < 0/001$)، ولی افزایش مشاهده شده در گروه تجربی 2 نسبت به گروه‌های کنترل و شم معنی‌دار نبود. کاهش مشاهده شده در قطر فولیکول‌های مو در گروه تجربی 2 نسبت به گروه تجربی 1 معنی‌دار نبود (نمودار 7).



اپی‌درم در گروه‌های تجربی نسبت به گروه شم. قطر فولیکول‌های مو در گروه تجربی 1 نسبت به گروه کنترل و شم افزایش معنی‌داری را نشان داد ($p < 0/001$)، ولی افزایش مشاهده شده در گروه تجربی 2 نسبت به گروه‌های کنترل و شم معنی‌دار نبود. کاهش مشاهده شده در قطر فولیکول‌های مو در گروه تجربی 2 نسبت به گروه تجربی 1 معنی‌دار نبود (نمودار 7).

اپی‌درم در گروه‌های تجربی نسبت به گروه شم. قطر فولیکول‌های مو در گروه تجربی 1 نسبت به گروه کنترل و شم افزایش معنی‌داری را نشان داد ($p < 0/001$)، ولی افزایش مشاهده شده در گروه تجربی 2 نسبت به گروه‌های کنترل و شم معنی‌دار نبود. کاهش مشاهده شده در قطر فولیکول‌های مو در گروه تجربی 2 نسبت به گروه تجربی 1 معنی‌دار نبود (نمودار 7).

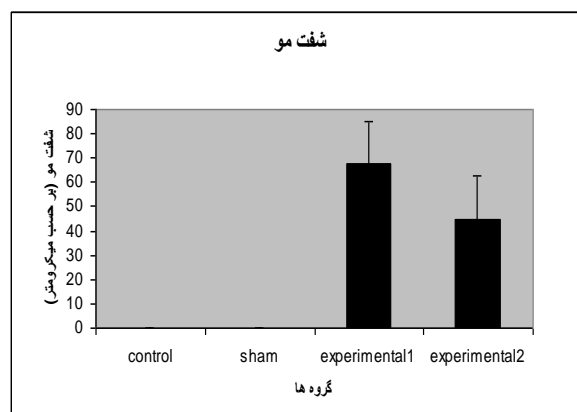


اپی‌درم در گروه‌های تجربی نسبت به گروه شم. قطر فولیکول‌های مو در گروه تجربی 1 نسبت به گروه کنترل و شم افزایش معنی‌داری را نشان داد ($p < 0/001$)، ولی افزایش مشاهده شده در گروه تجربی 2 نسبت به گروه‌های کنترل و شم معنی‌دار نبود. کاهش مشاهده شده در قطر فولیکول‌های مو در گروه تجربی 2 نسبت به گروه تجربی 1 معنی‌دار نبود (نمودار 7).

مؤلفه‌هایی است که می‌تواند نوع درمان را مشخص سازد. در نتیجه اولین مؤلفه مؤثر در بهبود زخم جلوگیری از عفونت از طریق استفاده از موضعی و یا خوراکی داروهای ضد میکروبی می‌باشد. مطالعات علمی صورت گرفته توسط Cetojevic-Simin و همکارانش در سال 2008 و Sreeramulu و همکارانش در سال 2000 خواص درمانی ضد میکروبی کمبوچا را اثبات نموده‌اند (15، 16).

بعد از ایجاد آسیب، به خصوص صدمه شدید به بافت‌ها، رادیکال‌های آزاد در بدن افزایش می‌یابند. این رادیکال‌ها باعث آسیب بیشتر به بافت‌های صدمه دیده مانند بافت‌های اطراف پوست آسیب دیده می‌شوند. بر اساس مطالعات Hallivell و Gutteridge در سال 1990، Aruoma در سال 1998 و Postselueva و همکارانش در سال 1999 مشخص شده است که انواع تروما از جمله سوختگی‌ها، با عدم توازن در تولید رادیکال‌های آزاد زاید و فعالیت عملکردی سیستم آنتی‌اکسیدانی همراه هستند (19-17). Yogesh در سال 2003 با تیمار خوراکی موش‌های صحرایی به مدت 45 روز با چای تخمیری کمبوچا، افزایش سیستم دفاعی آنتی-اکسیدانی بدن و در نتیجه خواص آنتی‌اکسیدانی کمبوچا را به اثبات رساندند (20). همچنین با در نظر گرفتن یافته‌های Sai Ram و همکارانش در سال 2000 و Dipti و همکاران در سال 2003 مبنی بر خواص آنتی‌اکسیدانی نوشیدنی تخمیری کمبوچا در کاهش میزان اکسیداسیون لیپید و قطعه قطعه شدن DNA (21، 22)، می‌توان یکی از علل تسریع التیام زخم در گروه‌های آزمایشی کمبوچا را به وجود خواص آنتی‌اکسیدانی کمبوچا مرتبط دانست.

وجود اسید گلوکورونیک، اسید هیالورونیک، کندروتین سولفات و هیپارین در کمبوچا ثابت شده است. اسید گلوکورونیک یکی از مهم‌ترین متابولیت‌های درمانی است که بر



نمودار 8- مقایسه ضخامت هیپودرم در گروه‌های کنترل، شام، تجربی 1 و تجربی 2

بحث

جمع شدگی کامل زخم سوختگی و کاهش اسکار بعد از بهبود زخم، افزایش معنی‌دار ($p < 0/001$) ضخامت کل پوست، لایه کراتینه، اپی‌درم و هیپودرم و افزایش غیرمعنی‌دار شفت مو در گروه‌های تجربی 1 و 2 (گروه‌های تجربی تیمار شده با کمبوچا)، افزایش معنی‌دار ($p < 0/001$) تعداد و قطر فولیکول‌های مو در گروه تجربی 1 (گروه تجربی دریافت کننده تیمار توأم خوراکی چای کمبوچا و موضعی همزیست کمبوچا) و افزایش غیرمعنی‌دار تعداد و قطر فولیکول‌های مو در گروه تجربی 2 نسبت به گروه‌های کنترل و شام، همچنین افزایش معنی‌دار ($p < 0/001$) ضخامت درم نسبت به گروه کنترل حاکی از اثرات مثبت کمبوچا در تسریع جمع شدگی زخم‌های سوختگی عمیق و سرعت بخشیدن به ترمیم و تمایز لایه‌ها و ضمائم پوست می‌باشد. مشاهده نشدن اختلاف معنی‌دار در ضخامت درم گروه شام نسبت به گروه‌های تجربی به علت تأخیر در شروع تمایز لایه پوست و حضور بافت درم دانه‌دار در گروه شام می‌باشد.

زخم سوختگی یکی از مشکلات اساسی مغل سلامتی افراد است. عفونت زخم‌های سوختگی یکی از پیچیده‌ترین مشکلاتی است که بیماران را گرفتار می‌کند و می‌تواند موجب مرگ آنها گردد. همچنین عفونت سوختگی یکی از

سولفات، توسط Marchand و همکارانش در سال 1993 به اثبات رسید (33). در سال 1996 Galvan در سال 1996 و Cen و همکارانش در سال 2000 گزارش نمودند که هپارین توسط افزایش گردش خون مویرگی و کاهش زمان بهبود زخم می‌تواند التیام را تسریع کند (34،35) McPherson و همکارانش در سال 1988 نقش مهم هپاران سولفات (HS) را در رشد سلول، تکوین آن و آنژیوژنز مورد تأیید قرار دادند، همچنین هپاران سولفات را به عنوان کوفاکتور ضروری برای اتصال رسپتور- FGF معرفی نمودند (36). Ferguson و McCallion در سال 1996 سطوح افزایش یافته اسید هیالورونیک در ترمیم زخم بدون اسکار جنین را به اثبات رساندند (37). بر اساس تحقیقات انجام شده توسط Foschi و همکارانش در سال 1990، اسید هیالورونیک با هضم رادیکال-های آزاد، باعث کاهش آسیب به بافت گرانوله می‌گردد (38). مشاهده پاسخ مثبت در گروه‌های آزمایش کمبوچا می‌تواند دلیلی بر تأیید هر یک از این یافته‌های علمی باشد.

متابولیت‌های مهم دیگری نیز در کمبوچا وجود دارند. شواهد علمی حاکی از درگیر بودن هر یک از این متابولیت‌ها بر روند التیام زخم می‌تواند از دیگر علل اثرات مثبت کمبوچا در تسریع بهبود زخم سوختگی در این بررسی باشد. کمبوچا غنی از ویتامین C می‌باشد. استرس متابولیک ناشی از فشار جراحی، نیاز به ویتامین C را افزایش می‌دهد و مطالعات انجام شده توسط Mazzotta در سال 1998 نشان داد که غلظت ویتامین C در بافت در حال بهبود افزایش می‌یابد (39). بر طبق گزارش Casey در سال 2003، ویتامین C برای پاسخ ایمنی بهینه بدن، میتوز سلول‌ها و مهاجرت منوسیت‌ها به بافت آسیب دیده مورد نیاز است (40). بر اساس مطالعات Shepherd در سال 2003، افزایش جذب ویتامین C در طول فاگوسیتوز باکتری‌ها و بافت‌های

اساس نظر Markov و Cvetkovic در سال 2002، در خاصیت سم‌زدایی کمبوچا سهیم می‌باشد (23). از محصولات فرعی اسید گلوکورونیک کمبوچا، گلوکزآمین‌ها می‌باشند. گلوکزآمین‌ها یکی از اجزای تشکیل دهنده گلیکوزآمینوگلیکان‌ها (شامل اسید هیالورونیک، کراتان سولفات، کندروتین سولفات، هپاران سولفات و هپارین) هستند که از ترکیبات مهم تشکیل دهنده ماتریکس خارج سلولی و از عوامل مؤثر در فرایند ترمیم می‌باشند (26،27). اکثر گلیکوزآمینوگلیکان‌ها با هسته پروتئینی جهت ایجاد پروتئوگلیکان‌ها پیوند کووالان ایجاد می‌کنند. اسید هیالورونیک یک استئنا است که در تشکیل پروتئوگلیکان شرکت نمی‌کند (26). در هنگام ایجاد زخم، ترکیبات ماتریکس خارج سلولی نقش‌های کلیدی را در تحریک تکثیر سلولی و تمایز، هدایت مهاجرت سلولی و تنظیم پاسخ سلولی بر عهده دارند (27-29). بر اساس بررسی‌های Kirker و همکارانش در سال 2002، پوشش سطح زخم توسط لایه هیالورونیک گلیکوزآمینوگلیکانها باعث تسریع و تقویت بهبود زخم می‌گردد (30). همین دانشمند و همکارانش در سال 2004، تأثیر مثبت استفاده موضعی از گلیکوزآمینوگلیکان‌ها روی زخم را در افزایش سرعت اپیتلیوم سازی مجدد به اثبات رساندند (30). بر اساس یافته Oya و همکارانش در سال 1994، استفاده خوراکی ویا موضعی کندروتین سولفات دارای اثرات مثبت در ترمیم زخمهای سطحی می‌باشد (31). همچنین پس از مطالعات Gilbert و همکارانش در سال 2004، هیالورونیک کندروتین سولفات به عنوان جانشین ماتریکس خارج سلولی، مخزن سیتوکین‌ها و فاکتورهای رشد و ساختاری جهت مهاجرت فیبروبلاست‌ها و ساخت اپیتلیوم، شناخته شد (32). بهبود ویژگی‌های ماتریکس تشکیل شده در محل زخم و کاهش اسکار با استفاده از ژل‌های کلاژن با اتصالات عرضی کندروتین-6-

های مو، همچنین کاهش غیرمعنی‌دار ضخامت لایه کراتینه، اپیدرم، قطر و شفت مو در گروه تجربی 2 نسبت به گروه تجربی 1، نشان دهنده اثر مثبت‌تر تیمار موضعی با سمبیوز هموژن کمبوچا نسبت به تیمار موضعی با چای کمبوچا می‌باشد. Zawaki در سال 1987 اثبات کرد که جلوگیری از خشک شدن زخم سوختگی باعث تسریع در بهبود سوختگی می‌گردد (48). استفاده از سمبیوز هموژن کمبوچا در تیمار زخم سوختگی ماندگاری بیشتری نسبت به ریختن چای کمبوچا روی زخم داشت و در نتیجه مدت زمان بیشتری زخم را مرطوب نگه می‌داشت. همچنین به علت اینکه در فرایند هموژن‌سازی سمبیوز، از چای کمبوچا به عنوان بافر استفاده شد، امکان نفوذ تمامی مواد مفید موجود در چای کمبوچا به علاوه ترکیبات موجود در توده ژلاتینی به داخل زخم امکان پذیر گردید.

با توجه به موارد ذکر شده می‌توان نتیجه گرفت که تجویز خوراکی چای کمبوچا به همراه استفاده موضعی از چای کمبوچا و یا همزیست هموژن کمبوچا روی بستر زخم اثرات مفید قابل توجهی را در تسریع جمع شدگی و التیام، ترمیم لایه‌ها و ضمایم پوستی و نیز کاهش اسکار بعد از التیام زخم‌های ناشی از سوختگی‌های شدید دارد. همچنین اثربخشی بیشتر استعمال موضعی سمبیوز هموژن کمبوچا، نسبت به تیمار موضعی با چای کمبوچا، مشخص گردید.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از مسئولین و پرسنل محترم مجتمع آزمایشگاهی قدردانی می‌گردد.

مردم محل زخم توسط ماکروفازها باعث کنترل عفونت می‌گردد (41). یکی دیگر از ویتامین‌های موجود در کمبوچا ویتامین‌های گروه B می‌باشند. فواید ویتامین‌های B روی سلامت پوست و ضامم آن و نیز در بهبود زخم به خوبی به اثبات رسیده‌اند. Redriogo در سال 2005 اثرات مثبت ویتامین‌های B کمپلکس روی فرایندهای بهبود زخم را تأیید نمود (42). Williams در سال 2003 به بیان اثرات منفی کمبود ویتامین‌های B پرداخت. به گفته وی کمبود ویتامین‌های B در فرایند بهبود زخم تأثیرات منفی برجای می‌گذارد، زیرا تشکیل آنتی‌بادی و فعالیت سلول‌های سفید خون را مختل می‌کند و استعداد عفونی شدن زخم را افزایش می‌دهد (43). وجود اسیدهای آمینه و پروتئین در کمبوچا ثابت شده است. بر اساس گزارش‌های Ruberg در سال 1984 و

Haydock و همکارانش در سال 1988، کمبود پروتئین به علت افزایش مدت زمان فاز التهاب، مهار فاز تکثیر شامل فیبروپلاژیا، ساخت پروتئوگلیکان و کلاژن و نیز نوگرایی و مهار فاز بازسازی باعث به تعویق افتادن بهبود زخم می‌گردد (44، 45). در مطالعه Peacock در سال 1960، تغذیه رت‌ها توسط رژیم غذایی فاقد پروتئین باعث کاهش یکپارچگی و استحکام زخم نسبت به گروه کنترل گردید (46). بنابر گزارش Harris و Fraser در سال 2002، وجود پروتئین‌ها جهت فعال سازی ماکروفازها، تولید لنفوسیت‌های T اختصاصی برای هر آنتی‌ژن سیتوتوکسیک و آزادسازی سیتوکین‌ها از جمله فاکتورهای رشد ضروری می‌باشد و تمامی این موارد در فرایندهای بهبود زخم اثرگذار هستند (47).

کاهش معنی‌دار ($p < 0/001$) ضخامت کل پوست، هیپودرم و تعداد فولیکول-

REFERENCES

1. Frank GK. Healthy beverage from the Far East, Its correct preparation and use. Germany: Ennsthaler, Steyr; 1996.
2. Hauser SP. Dr. Sklenar's Kombucha mushroom infusion--a biological cancer therapy. Documentation No. 18. Schweiz Rundsch Med Prax 1990; 79: 243-46. [In German]
3. Balentine DA. Special issue: tea and health. Crit Rev Food Sci Nutr 1997; 8: 691-92.

4. Liu C-H, Hsu W-H, Lee F-L, Liao C-C. The isolation and identification of microbes from a fermented tea beverage, Haipao, and their interactions during Haipao fermentation. *Food Microbiol* 1996; 13: 407-15.
5. Reiss J. Influence of different sugars on the metabolism of the tea fungus. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und-Forschung* 1994; 198: 258-61.
6. Sievers M, Lanini C, Weber A, Schuler-Schmid U, Teuber M. Microbiology and fermentation balance in kombucha beverage obtained from a tea fungus fermentation. *Syst Appl Microbiol* 1995; 18: 590-94.
7. Pomahac B, Svensjö T, Yao F, Brown H, Eriksson E. Tissue Engineering of Skin. *Crit Rev Oral Biol Med* 1998; 9: 333.
8. Bingham HG, Hudson D, Popp J. A retrospective review of the burn intensive care admissions for a year. *J Burn Care Rehabil* 1995; 16: 56-58.
9. McGill V, Kowal-Vern A, Fisher SG, Kahn S, Gamelli RL. The impact of substance use on mortality and morbidity from thermal injury. *J Trauma* 1995; 38: 931-34.
10. Blanks T, Brown S, Cosgruve B, Woody J, Bentley V, O'Sullivan N, et al. The Body shop book of wellbeing mind, body, and soul. London: Ebury Press; 1998. p.173-92.
11. Iba Y, Shibata A, Kato M, Masukawa T. Possible involvement of mast cells in collagen remodeling in the late phase of cutaneous wound healing in mice. *Int Immunopharmacol* 2004; 4: 1873-80.
12. Martin P. Wound healing – aiming for perfect skin regeneration. *Science* 1997; 276: 75-81.
13. Parivar K, Mohseni kouchesfehani H, eds. Technical methods of histology, embryology and zoology. Tehran: AL-Hosseini Pub; 1999. [In Persian]
14. Kinear PR, Gray CD, eds. SOSS for windows made simple. Hove: LEA; 1995.
15. Cetojevic-Simin DD, Bogdanovic GM, Cvetkovic DD, Velicanski AS. Antiproliferative and antimicrobial activity of traditional Kombucha and *Satureja montana* L. Kombucha. *J Buon* 2008; 13: 395-401.
16. Sreeramulu G, Zhu Y, Knol W. Kombucha fermentation and its antimicrobial activity. *J Agric Food Chem* 2000; 48: 2589-94.
17. Halliwell B, Gutteridge JM. The Antioxidants of human extracellular fluids. *Arch Biochem Biophys* 1990; 280: 1-8.
18. Aruma OI, ed. Free radicals, oxidants and antioxidants: trend towards the year 2000 and beyond, in molecular biology of free radicals in human disease. London: Oica Int; 1998. p.1-28.
19. Potselueva MM, Pustovidko AV, Alabin VS, Evtodienko YuV. Generation of reactive oxygen species by polymorphonuclear leukocytes during hepatoma growth in the peritoneal cavity of animals. *Tsitologiya* 1999; 41: 162-66.
20. Yogesh B, Kain A K, Pauline T, Anju B, Sairam M, Singh B, et al. Lead induced oxidative stress: beneficial effects of Kombucha tea. *Biomed Environ Sci* 2003; 16: 276-82.
21. Sai RM, Anju B, Pauline T, Dipti P, Kain AK, Mongia SS, et al. Effect of Kombucha tea on chromate (VI)-induced oxidative stress in albino rats. *J Ethnopharmacol* 2000; 71: 235-40.
22. Dipti P, Yogesh B, Kain A K, Pauline T, Anju B, Sairam M, et al. Lead induced oxidative stress: beneficial effects of Kombucha tea. *Biomed Environ Sci* 2003; 16: 276-82.
23. Cvetkovic DD, Markov SL. Cultivation of tea fungus on malt extract medium. *APTEFF* 2002; 33: 117-26.
24. Kim YS, Jo YY, Chang IM, Toida T, Park Y, Linhardt RJ. A new glycosaminoglycan from the giant African snail *Achatina fulica*. *J Biol Chem* 1996; 271:11750-11755.
25. Im AR, Kim YS. Role of glycosaminoglycans in wound healing. *Arch Pharm Sci Res* 2009; 1: 106-14.
26. Couchman JR, Hook M. Proteoglycans and wound repair. In: Clark RAF, Henson PM, eds. The molecular and cellular biology of wound repair. New York, NY: Plenum Press; 1988. P.437-70.
27. Clark RA. Biology of dermal wound repair. *Dermatol Clin* 1993; 11: 647-66.
28. MacNeil S. What role does the extracellular matrix serve in skin grafting and wound healing? *Burns* 1994; 20: S67-70.
29. Midwood KS, Williams LV, Schwarzbauer JE. Tissue repair and the dynamics of the extracellular matrix. *Int J Biochem Cell Biol* 2004; 36: 1031-37.

30. Kirker K, Luo Y, Nielson JH, Shelby J, Prestwich GD. Glycosaminoglycan hydrogel films for wound dressing. *Biomaterials* 2002; 23: 3661-71.
31. Oya T, Obata H, Miyata K, Tsuru T, Sawa M. Quantitative analysis of glycosaminoglycans in tear fluids during corneal epithelial wound healing in rabbits. *Jpn J Ophthalmol Soc* 1994; 98: 1049-55.
32. Gilbert ME, Kirker KR, Gray SD, Ward PD, Szakacs JG, Prestwich GD, et al. Laryngoscope, chondroitin sulfate hydrogel and wound healing in rabbit maxillary sinus mucosa. *Laryngoscope* 2004; 114: 1406-409.
33. Marchand R, Woerly S, Bertrand L, Valdes N. Evaluation of two crosslinked collagen gels implanted in the transected spinal cord: stability, scar formation and axonal regeneration. *Brain Res Bull* 1993; 30: 415-22.
34. Galvan L. Effects of heparin on wound healing. *J Wound Ostomy Continence Nurs* 1996; 23: 224-26.
35. Cen Y, Luo P, Liu XX. The effect of heparin on wound healing of second-degree burned rats. *Zhongguo Xiu Fu Chong Jian Wai Ke Za Zhi* 2000; 14: 264-67. [In Chinese]
36. McPherson JM, Ledger PW, Ksander G, Sawamura SJ, Conti A, Kinkaid S, et al. The influence of heparin on the wound healing response to collagen implants in vivo. *Coll Rel Res* 1998; 8: 83-100.
37. McCallion RL, Ferguson MWJ. Fetal wound healing and the development of antiscarring therapies for adult wound healing. In: Clark RAF, ed. *The molecular biology of wound repair*. New York: Plenum Press; 1996. p.561-600.
38. Foschi D, Castoldi L, Radaelli E, Abelli P, Calderini G, Rastrelli A, et al. Hyaluronic acid prevents oxygen free-radical damage to granulation tissue: A study in rats. *Int J Tissue Reactions* 1990; 12: 333-39.
39. Mazzotta M. Nutrition and wound healing. *J Am Podiatr Med Assoc* 1994; 84: 456-61.
40. Casey G. Nutritional support in wound healing. *Nurs Stand* 2003; 17: 55-58.
41. Shepherd AA. Nutrition for optimum wound healing. *Nurs Stand* 2003; 18: 55-58.
42. Neiva RF. Effects of vitamin B complex supplementation on periodontal wound healing. *J Periodontol Online* 2005; 76: 1084-91.
43. Williams JZ, Barbul AB. Nutrition and wound healing. *Surg Clin North Am* 2003; 83: 571-96.
44. Ruberg RL. Role of nutrition in wound healing. *Surg Clin North Am* 1984; 64: 705-14.
45. Haydock DA, Flint MH, Hyde KF, Reilly HC, Poole CA, Hill GL. The efficacy of subcutaneous goretex implants in monitoring wound healing response in experimental protein deficiency. *Connect Tissue Res* 1988; 17: 159-169.
46. Peacock EE. Effects of dietary proline and hydroxyproline on tensile strength of healing wounds. *Proc Soc Exp Biol Med* 1960; 105: 380.
47. Fraser DA, Harris CL, Smith RA, Morgan BP. Bacterial expression and membrane targeting of the rat complement regulator Crry: a new model anticomplement therapeutic. *Protein Sci* 2002; 10: 2512-21.
48. Zawacki BE. The local effects of burn injuries. In: Boswick JA Jr, ed. *The art and science of burn care*. Rockville, MD: AspenPublishers; 1987. p. 27.