اثر مصرف دهانی چای قارچ کومبوجا برماست سلهای زخم پوستی موش صحرایی

دکتر محمد بیات، دکتر سیدناصر رضوی، دکتر احمدحسینی

استادیاران گروه علوم تشریح ، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

مقدمه : نتایج مثبتی از چای قارچ کومبوجا، که یک نوشیدنی سنتی آسیایی است، بر روی فرآیند التیام زخم مشاهده شده است.

هدف: هدف از این مطالعه بررسی اثرات مصرف خوراکی چای قارچ کومبوجا بر روی تعداد ماست‌سلهای بستر زخم موش بود.

مواد و روش‌ها: تحقیق به روش تجربی صورت پذیرفت. ٤٢ سر موش صحرایی نر بالغ بصورت تصادفی در دسته‌های شاهد و تجربی قرار گرفتند. هر دسته به سه گروه کوچکتر با دوره‌های بررسی ٤ ، ٧ و ١٥ روزه که معرف فازهای التهاب، تکثیر و تجدید ساختار فرآیند التیام زخم بود تقسیم شدند. موشهای صحرایی ابتدا به مدت سی روز از چای قارچ کومبوجا مصرف کردند. سپس تحت بیهوشی عمومی و با رعایت شرایط استریل یک زخم با ضخامت کامل پوست در پشت هر موش صحرایی ایجاد شد. روز ایجاد زخم روز صفر محسوب شد. موشهای صحرایی دسته تجربی همچنان چای قارچ کومبوجا مصرف می‌کردند. در روزهای ٤ ، ٧ و ١٥ موشهای صحرایی به وسیلهٔ اتر کشته شده، نمونه بافتی از آنها تهیه شده، مراحل کار عملی بافت‌شناسی بر روی آنها به عمل آمده، مقاطع با محلول آبی تولوئیدین‌بلو ١٪ رنگ شده و ماست‌سلها و درجات ١ و ٢ و ٣ (برحسب وضعیت دگرانولاسیون) آنها شمارش شدند. یافته‌ها با روش Student t test تجزیه و تحلیل آماری شدند.

یافته‌ها: نتایج اصلی عبارت بودند از : ١. وقوع سیرکاهشی تعداد کل ماست‌سلهای گروه تجربی در روزهای ٧ و ١٥ بررسی که اختلاف آنها با گروه شاهد در روز پانزده بررسی از نظر آماری هم معنی‌دار بود ($P<0/01$) .

٢. در اکثر مواردتعداد ماست‌سلهای گروه تجربی کمتر از گروه شاهد شد و در سه مورد هم این اختلافات از نظر آماری معنی‌دار شد: در روز چهار بررسی ماست‌سلهای درجه یک، در روز پانزده بررسی ماست‌سلهای درجه دو ($P<0/05$) و مجموع درجات دو و سه ($P<0/01$) .

نتیجه گیری: مصرف روزانه چای قارچ کومبوجا به وسیلهٔ موشهای صحرایی موجب وقوع سیرکاهشی تعداد ماست‌سلها طی فرآیند التیام زخم پوستی شد که اختلاف آنها با گروه شاهد در فاز تجدید ساختار از نظر آماری هم معنی‌دار شد.

واژه‌های کلیدی: التیام زخم، ماست‌سل، کامبوجا، موش صحرایی

مقدمه

ماست‌سلها در طی فرآیند التیام زخم به دلیل اثراتشان بر روی تشکیل کلاژن ، نفوذپذیری عروق و رگزایی ممکن است مهم باشند. مدارک تجربی مؤید مطلب فوق از مشاهدات راجع به تغییر تعداد ماست‌سلها و محتوی

مؤلف مسئول : دکتر محمد بیات- تهران ، اوین، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی،دانشکده پزشکی، گروه علوم تشریح

هیستامین بستر زخم موشهای صحرایی به دست آمده است. حوزه دیگری که مورد علاقه فراوان محققان علوم پزشکی است تغییرات تعداد و عملکرد ماست‌سلها در اسکار هیپرتروفی و کلوئید است(۱). افزایش غیرطبیعی تعداد ماست‌سلها در اسکارهای هیپرتروفیک و کلوئید که از اختلالات بافت رشته‌ای (Fibrosis) هستند رخ می‌دهد (۳ و ۲). بر طبق تحقیقات Thrap تعداد ماست‌سلها در اختلالات رشته‌ای به ۱۰ الی ۱۰۰ برابر پوست طبیعی می‌رسد(٤) و بنا به گزارش Kisher افزایش تعداد آنها در اسکارهای هیپرتروفی و کلوئیدی از نظر آماری معنی‌دار است(۵).

کومبوجا یک منبع غذایی و یک شفابخش باستانی با منشأ آسیایی است. هیچ کس به درستی نمی‌تواند بگوید که منشأ قارچ کومبوجا کجا بوده است و چگونه بوجود آمده است اما می‌دانیم که بیش از دو هزار سال است که آدمی آن را مصرف می‌کند(٦). این فرآورده حاصل همزیستی مخمرهای خاکستری صاف و مدور و باکتریهای استوباکتر شامل استوباکتر زیلینوم (Acetobacter xylinum) است که به مدت حدود هفت روز در محلول چای شیرین نگهداری شده و طی این مدت تخمیر صورت گرفته است(۸ و ۷).

تجزیه و تحلیل چای حاصله نشان داد که این مواد درون آن وجود دارند: ۰/۷ الی ۱/۳ الکل، اسید گلوکورونیک، اسید هیالورونیک، کندروئیتین سولفات اسید، موکوئیتین سولفات، لاکتیک اسید، ویتامین‌های گروه ب، ویتامین C، اسیداستیک و مواد ضد باکتریایی(به دلیل حضور اسیداسنیک Usnic Acid) (۱۱-۷). مؤلفان تحقیق حاضر با ملاحظه محتویات غنی این چای تحقیقی در خصوص اثرات آن بر روی یک مدل تجربی فرآیند التیام زخم پوستی انجام دادند و شاهد تسریع بخشی فرآیند التیام زخم بودند(۱۲). بدنبال این تحقیق و با آگاهی از نقش مهمی که محققان برای ماست‌سلها در طی فرآیند التیام زخم و اختلالات آن قائل هستند(۱)، این فکر به ذهن مؤلفان این مقاله خطور کرد که برای قضاوت دقیق‌تر راجع به اثرات ترمیمی این قارچ، بهتر است واکنش ماست‌سلها هم در قبال مصرف آن مشخص شود. از این رو در تحقیق حاضر آثار مصرف دهانی چای قارچ کومبوجا بر تغییرات تعداد ماست‌سلها در طی مراحل التهاب،تکثیر و تجدید ساختار فرآیند التیام زخم باز پوستی موش صحرایی به روش شمارش سلولی مطالعه شد.

مواد و روشها

٤۲ سر موش صحرایی نر سه ماهه نژاد Wistar با وزن حدود ۲۵۰ گرم به طور تصادفی در دسته‌های شاهد و تجربی قرار گرفتند. هر یک از دسته‌ها به سه گروه کوچکتر تقسیم شد. گروه اول برای دوره چهارروزه و گروه دوم برای دوره هفت روزه و گروه سوم برای دوره پانزده روزه تحقیق در نظر گرفته شد. موشهای صحرایی در طی دوره تحقیق در یک حیوانخانه با چرخه نوری ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی و دمای ۲± ۲۲ درجه سانتیگراد نگهداری گردیدند. موشهای صحرایی گروه شاهد آزادانه به آب تصفیه شده شهری و همه موشهای صحرایی به غذای آماده خوراک موش (ساخت کارخانه خوراک دام پارس) دسترسی داشتند. برای تهیه چای قارچ کومبوجا حدود ۲۲۰cc آب تصفیه شده شهری جوشانده شد و یک فنجان شکر به آن اضافه گردید و مجدداً ۲ الی ۳ دقیقه جوشانده شد. سپس ۲ الی ۳ قاشق غذاخوری معمولی چای خشک مرغوب خارجی با نام طلوع به آن اضافه شد و تأمل گردید تا محلول سرد شود. سپس محلول از پارچه توری معمولی گذرانده شد و به ظرف شیشه‌ای با دهانه گشاد منتقل شد. قارچ که از یک منبع خانگی تهیه شده بود زیر آب جاری شستشو شد تا کاملاً تمیز شود و به ظرف شیشه‌ای فوق منتقل شد. بعد از یک هفته لایه نازکی قارچ را می‌پوشاند. اگر لایه خیلی نازک بود حدود ۲ روز دیگر تأمل می‌شد. بعد از حداکثر ده روز قارچ از ظرف شیشه‌ای

خارج می‌شد و از محلول درون ظرف به عنوان چای قارچ کومبوجا استفاده می‌شد. در طی این مدت یک قارچ جدید در نمای تحتانی قارچ اولیه تولید شده بود. در حین مراحل مختلف کار، دقت لازم به عمل می‌آمد تا از حفظ شرایط بهداشتی اطمینان خاطر حاصل شود. موشهای صحرایی گروه تجربی ابتدا به مدت سی روز به جای آب از چای قارچ کومبوجا استفاده می‌کردند.

موشهای صحرایی با استفاده از کتامین هیدروکلراید (٤٠ میلی‌گرم بر کیلوگرم،im) محصول شرکت مجارستانی Gedeon Richter Budapest و دیازپام (٤ میلی‌گرم بر کیلوگرم im) ساخت شرکت کیمیداروی ایران بیهوش شدند. در حین بیهوشی و تحت شرایط استریل یک زخم مدور با ضخامت کامل پوست در پشت گردن هر موش صحرایی به قطر حدود ٢٠mm ایجاد شد. روز ایجاد زخم روز صفر محسوب شد و روز بعد روز یک و الی آخر ... موشهای صحرایی گروه تجربی همچنان به جای آب از چای کومبوجا استفاده می‌کردند . موشهای صحرایی گروههای اول شاهد و تجربی در روز چهار که معرف فاز التهاب فرآیند التیام زخم بود و موشهای صحرایی گروههای سوم در روز پانزده که معرف فاز تجدید ساختار فرآیند التیام زخم(١٣) بود، با روش استنشاق اتر در فضای بسته کشته شدند. نمونه بافتی که از بستر زخم و پوست سالم مجاور تهیه شده بود درون فرمالین سالین فیکس شده، پردازش بافتی گردیده و درون قالب پارافینی کاشته شدند . برشهایی که به ضخامت ٦ میکرون تهیه شده بود با محلول آبی تولوئیدین‌بلو یک درصد رنگ شدند. ماست‌سلها بر اساس میزان فعالیتشان در سه نوع دسته‌بندی شدند(١٤): درجه یک : ماست‌سلهایی که حاشیه سلول کاملاً یکدست و سالم بود؛ درجه دو: ماست‌سلهایی که چند گرانول از آنها خارج شده بود اما محدوده سلولی عمدتاً سالم بود؛ درجه سه : ماست‌سلهایی که دگرانولاسیون وسیعی داشته و حاشیه سلول به طور کامل یا ناقص تخریب شده بود. برای شمارش ماست‌سلها از بزرگنمایی ×٤٠٠ میکروسکوپ نوری که قطعه چشمی محتوی یک صفحه شطرنجی با ٤٠٠ خانه بر روی آن نصب بود استفاده شد. برای گروههای ٤ و ٧ روزه ٣٠ میدان (محوطه صفحه شطرنجی) میکروسکوپ نوری در هر نمونه موش صحرایی و برای گروه ١٥ روزه ٢٠ میدان میکروسکوپی نوری (محوطه صفحه شطرنجی) درهر نمونه موش صحرایی شمارش شد. سپس برای هر سه گروه، میانگین تعداد ماست‌سلها در یک میدان (محوطه صفحه شطرنجی) محاسبه شد. داده‌های گروههای شاهد و تجربی با روش آماری student t test تجزیه تحلیل آماری شدند و P کمتر از ٠/٠٥ معنی‌دار محسوب شد.

یافته‌ها

هیچیک از موشهای صحرایی گروه تجربی در سی روز اول که چای قارچ کومبوجا مصرف می‌کردند نمردند. بعد از ایجاد زخم در هیچیک از موشهای صحرایی تورم، اگزودا و عفونت مشاهده نشد و در انتهای دوره پانزده روزه اکثر زخمها التیام یافته بودند. تعداد کل ماست‌سلهای گروه تجربی از روز چهار الی روز پانزدهم بررسی کاهش نشان داد و هر چند که در روز چهار بررسی تعداد کل آنها بیشتر از گروه شاهد بود اما این اختلاف معنی‌دار نبود. در روز آخر بررسی اختلاف تعداد کل ماست‌سلهای گروههای شاهد و تجربی معنی‌دار شد ($P<0/01$). در همین راستا در اکثر موارد تعداد ماست‌سلهای گروه تجربی کمتر از گروه شاهد بود و در سه مورد هم این اختلافات از نظر آماری هم معنی‌دار بود: در روز چهار بررسی تعداد ماست‌سلهای درجه یک ($P<0/01$) و در روز پانزده بررسی تعداد ماست‌سلهای درجه دو ($P<0/05$) و مجموع درجات دو و سه ($P<0/05$). مابقی نتایج در جدول یک درج شده است.

جدول شماره ۱: درجات مختلف ماست‌سلهای گروههای شاهد و تجربی در یک میدان میکروسکوپ نوری و مقایسه آنها به روش Student t test

درجه		درجه یک +	درجه دو +	درجه سه +	مجموع درجات دو و سه +	کل +
روز	گروه (تعداد)					
٤	شاهد(٦)	۰/٤۱ ±۰/۱۱ **	۰/۸۵ ± ۰/۱۷	۰/۰۵ ± ۰/۰۱	۰/۹ ± ۰/۱۷	۱/۳۱ ± ۰/۲۷
	تجربی(۹)	۰/۲۱۲ ± ۰/۰٤	۱/۸۳ ± ۰/٦٦	۰/۳ ± ۰/۱۳	۱/٤۳ ± ۰/۱۷	۱/٦۷ ± ۰/۱۱
۷	شاهد(٦)	۰/۱۱ ± ۰/۰۲	۱/۱ ± ۰/۳۸	۰/۱۳ ± ۰/۰۹	۱ ± ۰/۲۸	۱/۱۲ ± ۰/۲۸
	تجربی(۹)	۰/۰۵۲ ± ۰/۰۲	۰/۸۱ ± ۰/۲۳	۰/۱۳ ± ۰/۰۳	۰/۹٤ ± ۰/۲٤	۱ ± ۰/۲٤
۱۵	شاهد(٦)	۰/۲۳ ± ۰/۰۵	۱/٦۹ ± ۰/٤٤ *	۰/۰۸ ± ۰/۰۷	**۱/۷۷ ± ۰/۳۸	± ۰/۳۹ **۲/۰٤٤
	تجربی(٦)	۰/۰۹ ± ۰/۰۳	۰/۳۳ ± ۰/۰۵	۰/۱۷ ± ۰/۰۸	۰/٤۳ ± ۰/۱۱	۰/۵۵ ± ۰/۰۹

+ داده‌ها بصورت میانگین و خطای معیار ارائه شده‌اند.

*P< ۰/۰۵

** P< ۰/۰۱

بحث

به دنبال مصرف چای قارچ کومبوجا توسط موشهای صحرایی و اجرای مراحل عملی تحقیق حاضر و انجام تجزیه و تحلیل آماری مشخص گردید تعداد ماست‌سلها در فاز التهاب فرآیند التیام زخم نسبت به گروه شاهد افزایش می‌یابد. اما در طی فرآیند التیام زخم و بسوی انتهای آن کاهش می‌یابد که اختلاف آن با گروه تجربی در فاز تجدید ساختار از نظر آماری هم معنی‌دار بود.

تعداد ماست‌سلهای گروه تجربی در فاز التهاب فرآیند التیام زخم بیشتر از گروه شاهد بود. با توجه به مشاهده آثار مثبت ترمیمی در گروه تجربی کاملاً مشابه تحقیق حاضر در همین فاز که طی بررسی دیگری(۱۲) مشخص شده بود، احتمالاً می‌توان نتیجه گرفت که ماست‌سلها و گرانولهای آنها در این خصوص نقش مثبت داشته‌اند. بنابراین به بررسی آنها می‌پردازیم: هیستامین ماست‌سلها در شرایط محیط آزمایشگاه (in vitro) و درون بدن موجود زنده برای فیبروبلاستها و سلولهای اندوتلیال به عنوان میتوژن عمل می‌کند و شیمیوتاکسی نوتروفیلها و ائوزینوفیلها را کاهش می‌دهد(۱۵). هپارین ماست‌سلها ممکن است مهاجرت سلولهای اندوتلیال مویرگی را تحریک کرده و از فاکتور رشد فیبروبلاستی در مقابل تجزیه حفاظت کند(۱٦ و ۱۵).

ماست سلهای گروه تجربی در فاز تکثیر فرآیند التیام در تحقیق حاضر تفاوت معنی‌داری را با گروه شاهد نشان ندادند. ماست‌سلهای درجه دو و جمع درجه‌های ۲ و ۳ آنها و کل آنها در گروه تجربی در فاز تجدید ساختار فرآیند التیام تحقیق حاضر به طور معنی‌داری از نظر آماری کمتر از گروه شاهد بودند. از آنجا که تعداد سلولهای اندوتلیوم و مقاطع عروق دو گروه تفاوت معنی‌دار آماری با یکدیگر نداشتند(۱۲)، نتیجه گرفته می‌شود که دلیل اختلاف فوق‌الذکر، عروقی نمی‌باشد. این کاهش از دو جنبه مهم و قابل بررسی است. از یک طرف با توجه به عملکرد مثبت ماست‌سلها در فاز تجدید ساختار که عبارت است از مشارکت درتجدید ساختار ماده زمینه‌ای خارج سلولی(۱۷) و همچنین جذب آن(۱۸)، کاهش معنی‌دار تعداد آنها منفی

قلمداد می‌شود. اما از طرف دیگر در اسکارهای هیپرتروفی و کلوئید که به دلیل رسوب بیش از حد طبیعی کلاژن درمحل زخم التیام یافته برخی از بیماران به وجود می‌آید(۱۹)، افزایش غیرطبیعی و معنی‌دار از نظر آماری تعداد کل ماست‌سلها در مقایسه با گروه شاهد و اسکار طبیعی وجود دارد(۳ و ۲). بنابراین به نظر می‌رسد کاهش فوق‌الذکر نشانه مثبتی قلمداد شده و از نظر بالینی هم مفید باشد.

مصرف روزانه چای قارچ کومبوجا به وسیلهٔ موشهای صحرایی موجب کاهش معنی‌دار تعداد ماست‌سلهای سالم از فاز التهاب فرآیند التیام زخم و کاهش معنی‌دار تعداد ماست‌سلهای دچار دگرانولاسیون و کل آنها در فاز تجدید ساختار فرآیند التیام گردید. انجام تحقیقات بیشتر به منظور متنوع ساختن شکل مصرف آن (نوشیدنی، ژله، پماد و...) و همچنین تغییر محتویات این چای در جهت اثربخش نمودن بیشتر آن و همچنین انجام تحقیقات بالینی کنترل شده در جهت اثبات عملکرد احتمالی آن بر روی بیماران پیشنهاد می‌شود.

قدردانی

این مقاله نتایج طرح تحقیقاتی مصوب شماره ۳۴۸۷ حوزه معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی است. بدین وسیله نویسندگان مقاله مراتب قدردانی و تشکر خود را بابت حمایتهای علمی و مادی آن معاونت ابراز می‌دارند.

منابع

1. Rothe MJ, Nowak M, Kerdel FA. The mast cells in health and disease. J Am Acad Dermatol 1990;23:615-24.
2. Reich JD, Cazzaniga AL, Mertz PM, et al. The effect of electrical stimulation on the number of mast cells in healing wounds. J Am Acad Dermatol 1991; 25:40-46.
3. Atkins FM. Mast cells and fibrosis. Arch Dermatol 1987; 123:191-93.
4. Thrap MD. The mast cell and its role in human cutaneous diseases. Prog Dermatol 1987; 21:1-14.
5. Kischer CW, Bunce H, Shetlar MR. Mast cell analyses in hypertrophic scars, hypertrophic scars treated with pressure and mature scars. J Invest Dermatol 1978; 70:355-57.
6. Tietze HW (ed). Kombucha - Miracle fungus. England: Gateway Books, 1996.
7. Mayer P, Fromme S, Leitzmann C, Grunder K. The yeast spectrum of the tea fungus kombucha. Mycoses 1995; 38:289-95.
8. Perron AD, Patterson JA, Yanufsky NN. Kombucha mushroom hepatoxicity. Ann Emerg 1995; 26:660-61.
9. Blane PJ. Characterization of the tea fungus metabolites. Biotechnology Letters 1995; 18:139-42.
10. Loncar E, Petrovic S, Kolarov LJ. The content of vitamin C in tea fungus fermentative liquid is dependent upon the sources of carbon. In: Jovic S, Bukvic B (eds). Current trends in alcohol beverage and alcohol free drink production: monograph sarrementi trendovi a proizvodnji a alkoholini

bezalkoholnih pica: monografiga. Beigrad (Yagoslavial): Poslovna Zajednica "Urenje, 1996: 339-48.

11. Unexplained severe illness possible associated with consumption of kombucha tea- Iowa, 1995. JAMA 1995; 275:96-97.

۱۲. بیات محمد، رضوی ناصر، حسینی احمد، صادقی یوسف. آثار مصرف دهانی چای قارچ کومبوجا بر التیام زخم باز پوستی در موش صحرایی. در مرحله داوری جهت چاپ در مجله علمی پژوهشی.

۱۳. رحمتی بهناز، بیات محمد، حسینی احمد و همکاران. بررسی بافت‌شناسی و مقاومت کششی اثرات کاربرد جریان ولتاژ بالا بر التیام زخم باز با ضخامت کامل پوست موش صحرایی. مجله پزشکی کوثر، ۱۳۷۷؛ ۳(۱): ص ۴۱-۳۱.

14. Dyson M, Luke DA. Induction of mast cell degranulation in skin by ultrasound, 1986, IEEE. Transactions on ultrasonics, ferroelectric and frequency control. Vol. UFFC 33. No. 2, 194-201.

15. Kennedy CTC. Reaction to mechanical and thermal injury. In: Champion RH, Burton JL, Ebling FJG, et al (eds). Rook / Wilkinson / Ebling Textbook of dermatology. London: Blackwell Scientific Publication, 1992: 777-832.

16. Muray JC, Pinnel SR. Keloid and excessive dermal scarring. In: Cohen IK, Diegelmamn RF, Lindblad WJ. Wound healing, biochemical and clinical aspects. Philadelphia: W.B. Saunders, 1992:500.

17. Goldstein SM, Wintroub BC. The cellular and molecular biology of human mast cells. In: Fitzpatrick TB, Eisen AZ, Wolff K, et al (eds). Dermatology in general medicine. Philadelphia: Mc Graw Hill Inc, 1993:349-73.

18. Hebeda PA, Collins MA, Thrap MD. Mast cell and myofibroblast in wound healing. Dermatol Clin 1993; 11:683-96