

## بررسی اثر ترمیمی عصاره آبی والکلی چای سبز بر روند التیام زخم‌های باز پوست موش‌های نژاد MRI

پریچهر یغمایی<sup>۱</sup>، فائزه مشرف جوادی<sup>۲</sup>، محمد علی نیلفروش زاده<sup>۳</sup>، حمیرا مردانی<sup>۴</sup>، پریسا کاکانژادیان<sup>۵</sup>

<sup>۱</sup> استادیار، دکترای فیزیولوژی جانوری، گروه فیزیولوژی جانوری، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران

<sup>۲</sup> دانشجوی کارشناس ارشد فیزیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران

<sup>۳</sup> دانشیار، متخصص پوست و مو، گروه پوست و مو، دانشگاه علوم پزشکی تهران

<sup>۴</sup> استادیار، دکترای پاتولوژی، گروه پاتولوژی فک و دهان و صورت، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد خوارسگان

<sup>۵</sup> دانشجوی کارشناس ارشد بیوفیزیک، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران

### چکیده

**سابقه و هدف:** با آگاهی از محتويات مفیدی که محققان برای چای سبز قائل هستند و وجود زخم‌های باز پوستی و اهمیت درمان آنها، در این مطالعه اثر عصاره آبی والکلی چای سبز بر التیام زخم باز پوستی در موش نژاد MRI بررسی شد.

**روش بررسی:** در این مطالعه تجربی، ۶۰ موش نر در ۷ گروه شاهد و تجربی (هر گروه ۱۰ نفر)، دوزهای مختلف ۰، ۵، ۱۵ و ۳۰  $\mu\text{L}$  عصاره‌های آبی والکلی چای سبز را دریافت کردند. پس از بیهوده کردن موش‌ها، زخم پوستی با پانچ ۶ میلی‌متری در پشت آنها ایجاد شد. از روز اول بعد از ایجاد زخم، عصاره آبی والکلی چای سبز در گروه‌های ۲ تا ۷ در اطراف گروه‌های ۰ و ۱ تا ۶ در اطراف جایگاه زخم تزریق شد. موش‌های گروه شاهد روزانه با سرم فیزیولوژی تیمار شدند. سطح زخم و میزان بهبودی زخم در روزهای اول، سوم، پنجم، هفتم، دهم، سیزدهم و پانزدهم بعد از ایجاد زخم اندازه‌گیری شد و زمان لازم برای بهبودی کامل زخم بررسی شد. در روزهای ۴، ۷ و ۱۵، دو نمونه از بستر زخم تهیه شد و میزان فیبروز، التهاب، اپیتلیوم و عروق بستر زخم ارزیابی شد. داده‌ها توسط آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA) تحلیل شد و  $p < 0.05$  در نظر گرفته شد.

**یافته‌ها:** بهبودی زخم در ۳ گروه شاهد، آبی والکلی اختلاف معنی‌داری با هم نداشت، اما میانگین قطر زخم طی روزهای ۱، ۳، ۵ و ۱۵ در گروه تیمار نسبت به گروه شاهد به طور معنی‌داری کمتر بود ( $p < 0.001$ ). میزان التهاب، فیبروبلاست و اپیتلیوم در مقادیر ۰، ۵، ۱۵ و ۳۰  $\mu\text{L}$  عصاره آبی والکلی طی روزهای ۴، ۷ و ۱۵ در مقایسه با گروه شاهد کمتر بود ( $p < 0.001$ ).

**نتیجه‌گیری:** این مطالعه نشان داد که عصاره آبی والکلی چای سبز موجب تسريع فرایند التیام زخم باز پوست موش می‌شود و استفاده از عصاره چای سبز ارتیاطی به تیمار آبی یا الکلی آن ندارد، در حالی که میزان دوز تزریقی بالاتر ( $30 \mu\text{L}$ ) در شکل دهی زخم ارزشمند است.

**واژگان کلیدی:** چای سبز، التیام زخم، عصاره آبی والکلی، موش MRI

### مقدمه

ترمیم زخم پروسه فیزیولوژیک پیچیده‌ای است که شامل یک سری مراحل متوالی می‌باشد. اولین مرحله هموستاز

(جلوگیری از خونریزی) است که در زمان آسیب به مدت یک ساعت رخ می‌دهد. دومین مرحله ایجاد التهاب است که مدت کوتاهی بعد از هموستاز به مدت ۲۴ تا ۷۲ ساعت پس از آسیب آغاز می‌گردد. طی این مرحله، سلول‌های بافت آسیب دیده، مویرگ‌ها، پلاکت‌های خونی و سیتوکین‌ها فعال می‌شوند. سومین مرحله، مرحله پرولیفراتیو است که ۱ تا ۳ هفته پس از آسیب رخ می‌دهد. چهارمین مرحله remodeling

آدرس نویسنده مسئول: تهران، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران، فائزه مشرف جوادی

(email: fjavadi.faezeh.moshref@gmail.com)

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۸۷/۱۲/۸

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۸۸/۸/۶

از تهیه عصاره به روش سوکسله، آن توسط روتاری و سپس در بن ماری با درجه حرارت ۷۰ درجه سانتی گراد به مدت ۴۸ ساعت حرارت داده شد تا کاملاً خشک و تغلیظ گردد. در مرحله بعد، ۲ گرم از عصاره (آبی، الکلی) تغلیظ شده در ۱۰۰ میلی لیتر سرم فیزیولوژی مخلوط شد و به این ترتیب عصاره آبی و الکلی ۲ درصد به دست آمد.

برای ایجاد زخم در حیوان، ابتدا موش با اتر بیهوده و موهای پشت حیوان کوتاه (shave) شد. پس از آغشته کردن پوست با محلول بتادین، با پانچ ۶ میلی متری و رعایت کلیه اصول جراحی زخم ۶ میلی متری ایجاد گردید. عمق زخم شامل درم و هیپودرم بود (Full thickness) و روز عمل روز صفر محسوب شد. پس از ایجاد زخم، جهت جلوگیری از عفونت احتمالی، ۰/۲ میلی گرم پنی سیلین و ۰/۰ میلی گرم جنتامایسین تزریق شد.

موشها با عصاره ۲ درصد آبی و الکلی به مدت ۷ روز، روزانه یک بار در روز و در ساعت ۹ صبح و مقادیر ۵۰، ۱۵۰ و  $\mu\text{L}^{300}$  به صورت تزریق چهار طرفه اطراف زخم و توسط یک نفر تیمار گردیدند.

پس از ایجاد زخم در آنها، موشها به طور تصادفی به ۷ گروه تقسیم شدند که در هر گروه ۸ سرخیوان وجود داشت. گروهها عبارت بودند از:

گروه I (گروه شاهد): سطح زخم این گروه با سرم فیزیولوژی تیمار شد.

گروه II، III، IV: سطح زخم به ترتیب با  $\mu\text{L}^{50}$ ،  $\mu\text{L}^{150}$  و  $\mu\text{L}^{300}$  عصاره آبی ۲ درصد تیمار شد.

گروه V، VI و VII: سطح زخم به ترتیب با  $\mu\text{L}^{50}$ ،  $\mu\text{L}^{150}$  و  $\mu\text{L}^{300}$  عصاره الکلی ۲ درصد تیمار شد.

جهت بررسی ماکروسکوپی، از تمامی موشها در روزهای ۱، ۲، ۳، ۴، ۱۰، ۱۳، ۱۵ از روش اندازه گیری طول زخم و عکس برداری با دوربین دیجیتال استفاده شد. اندازه گیری قطر زخم به صورت ظاهری و در ۷ گروه شاهد و تیمار با عصاره آبی و الکلی در مقادیر ۵۰، ۱۵۰ و  $\mu\text{L}^{300}$  بر حسب میلی متر (mm) اندازه گیری شد. به این ترتیب پیشرفت مراحل ترمیم زخمها با دوربین دیجیتال عکس برداری و اندازه گیری ابعاد آنها مورد ارزیابی قرار گرفت.

جهت بررسی میکروسکوپی، اقدام به نمونه برداری و مطالعات بافت شناسی شد. در روزهای ۴، ۷ و ۱۵، موشها به روش استنشاق اتر در فضای بسته کشته شدند و از بافت زخم و پوست محاور دو نمونه تهیه شد که درون محلول فرمالین ۱۰ درصد قرار گرفتند. مراحل پردازش بافت و قالب گیری با

است که ۳ هفته پس از آسیب شروع می شود. طی این مرحله بلوغ کامل بافتی یا اسکار ایجاد می شود (۱).

(۲) که یکی از متداول ترین آشامیدنی های رایج است که اثرات سودمندی مثل اثرات ضد سرطان و آنتی اکسیدانی دارد (۳). در چین باستان و آسیای شرقی چای سبز به عنوان یک گیاه دارویی برای درمان دیابتی ها مورد استفاده قرار می گرفت (۴)، چای سبز ارزش غذایی و دامنه وسیعی از درمان را در کاهش قند خون، لیپیدهای خون، فشار خون، کاهش بیماری های قلبی و عروقی و کاهش ضربان قلب، ضد انعقاد خون، ضد تومور، ضد HIV و افزایش اینمی غیر اختصاصی بدن نشان می دهد (۴-۸). چای سبز حاوی کافئین، کاتکین، پلی فنول، ویتامین های C، E، فلاونوئیدها، گلیکوپروتئین، فیبر، لیپید و کاروتونوئیدهاست (۶). گلیکوپروتئین آن ترکیبی از ۷ نوع مونوساکارید یعنی ریبوز، رامنوز، گزیلوز، مانوز، گلوكز، گالاكتوز و آرابینوز و ۱۸ اسید آمینه است (۷). چای سبز در سال های اخیر مورد مطالعه و بررسی محققان قرار گرفته و اثرات مختلف آن اعم از آنتی کارسینوژنیک، حفاظت در برابر بیماری های قلبی و عروقی، اثرات ضد التهابی و ضد پیری و التیام زخم مورد شناسایی قرار گرفته است.

در این مطالعه، از بین خواص متعدد چای سبز، اثر آن بر ترمیم و تسريع زخم های باز مورد بررسی قرار گرفت.

## مواد و روشها

در این مطالعه تجربی، ۵۶ موش نر نژاد NMRI با وزن تقریبی ۲۵-۳۵ گرم مورد بررسی قرار گرفتند. موش ها در قفس های تایپی و در حیوان خانه مرکز تحقیقات پروفسور ترابی نژاد اصفهان با چرخه نوری ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی و دمای  $22 \pm 2$  درجه سانتی گراد نگهداری شدند. در این مدت آب و غذای کافی در دسترس حیوانات قرار داشت و آنها به طور تصادفی در گروه های شاهد و تجربی قرار گرفتند. عصاره چای سبز به روش سوکسله تهیه شد. برگ های چای سبز توسط گیاه شناس هرباریوم دانشگاه اصفهان مورد شناسایی قرار گرفت و به آزمایشگاه انتقال داده شد. سپس با استفاده از آسیاب برقی به صورت پودر تهیه گردید. ۴۰ گرم پودر چای سبز درون کاغذ صافی قرارداده شد و به محفظه مخصوصی درون دستگاه سوکسله منتقل شد. برای تهیه عصاره آبی، ۴۰۰ میلی لیتر آب مقطمر و جهت تهیه عصاره الکلی، ۴۰۰ میلی لیتر الکل متانول ۸۵ درصد اضافه شد. پس

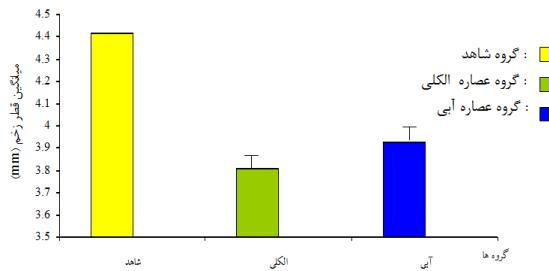
جدول ۱- بررسی میکروسکوپی عصاره آبی و الکلی چای سبز در روزهای ۴، ۷ و ۱۵ بر میزان التهاب، فیبروز، اپیتلیوم و عروق خونی گروههای شاهد و تیمار.

روز	شاهد	عصاره آبی	عصاره الکلی	عصاره آبی	عصاره الکلی	عصاره آبی	عصاره الکلی
۴	۴/۱۰±۰/۰۱	۳/۵۰±۰/۰۵	۴/۰±۰/۰۲	۳/۵۲±۰/۰۵	۳/۷۰±۰/۰۱	۲±۰/۰۳	۲/۱۰±۰/۰۹
۷	۲/۲۱±۰/۰۵	۲/۸۰±۰/۰۲	۲/۱۰±۰/۰۹	۲/۵۰±۰/۰۲	۲/۳۰±۰/۰۱	۱/۰۹±۰/۰۱	۱/۲۰±۰/۰۱
۱۵	۱/۸۱±۰/۰۱	۱/۵۰±۰/۰۲	۱/۰۹±۰/۰۱	۱/۴۰±۰/۰۱	۱/۱۰±۰/۰۱	۰/۰۷±۰/۰۰۱	۰/۰۷±۰/۰۰۱
۴	۴/۸۱±۰/۰۱	۴/۲۰±۰/۰۱	۴/۵۲±۰/۰۲	۴/۰۵±۰/۰۱	۴/۲۲±۰/۰۳	۰/۵۰±۰/۰۰۲	۰/۵۰±۰/۰۰۲
۷	۱/۲۱±۰/۰۱	۱/۰۰±۰/۰۱	۰/۹۰±۰/۰۶	۰/۷۰±۰/۰۱	۰/۴۵±۰/۰۱	۱/۲۵±۰/۰۰۱	۱/۲۵±۰/۰۰۱
۱۵	۲/۳۱±۰/۰۱	۲/۰±۰/۰۲	۱/۶۲±۰/۰۱	۱/۲۱±۰/۰۲	۱/۱۱±۰/۰۵	۱/۰۸±۰/۰۵	۰/۰۱±۰/۰۵
۴	۴/۸۰±۰/۰۱	۴/۱۱±۰/۰۱	۳/۸۰±۰/۰۲	۲/۵۲±۰/۰۵	۴/۰±۰/۰۱	۳/۷۰±۰/۰۳	۲/۳۲±۰/۰۴
۷	۲/۰±۰/۰۱	۱/۴۲±۰/۰۲	۰/۵۱±۰/۰۴	۱/۰±۰/۰۵	۰/۵۱±۰/۰۳	۰/۰۵۰±۰/۰۰۲	۰/۰۵۰±۰/۰۰۲
۱۵	۰/۵±۱/۱۳	۴/۹۲±۱/۱۰	۴/۸۹±۱/۱۰	۴/۹۳±۱/۱۰	۴/۹۰±۱/۰	۴/۸۸±۰/۰۱	۴/۲۲±۱/۱۰
۴	۴/۵±۱/۱۰	۴/۲۵±۱/۱۲	۴/۲۱±۰/۰۱	۴/۲۰±۱/۱۲	۴/۲۱±۱/۱۰	۴/۰۱±۱/۱۰	۴/۰۱±۱/۱۰
۷	۴/۵±۱/۱۰	۴/۲۵±۱/۱۲	۴/۲۳±۱/۱۲	۴/۲۱±۰/۰۱	۳/۰۱±۰/۰۱	۳/۰۱±۰/۰۱	۳/۰۱±۰/۰۱
۱۵	۳/۵±۰/۰۱	۳/۲۵±۰/۰۱	۳/۰±۱/۱۰	۳/۰۱±۱/۱۰	۳/۲۸±۰/۰۱	۰/۰۱±۰/۰۱	۰/۰۱±۰/۰۱

\* میانگین ± انحراف معیار

## یافته‌ها

میانگین ( $\pm$  خطای معیار) قطر زخم در گروه شاهد  $4/42\pm 1/66$  میلی‌متر، در گروههای دریافت کننده عصاره الکلی چای سبز  $3/81\pm 1/74$  میلی‌متر و در گروههای دریافت کننده عصاره آبی چای سبز  $3/93\pm 1/69$  میلی‌متر بود و اختلاف معنی‌داری بین ۳ گروه مشاهده نشد (NS). در نمودار ۱، میانگین قطر زخم بین گروه شاهد و تیمار در روزهای ۱، ۳، ۵، ۷، ۱۰، ۱۳ و ۱۵ نشان داده شده است و همانطور که مشاهده می‌شود اختلاف معنی‌داری بین گروه‌ها وجود دارد ( $p<0/001$ ).



نمودار ۱- بررسی میکروسکوپی میانگین ( $\pm$  خطای معیار) قطر زخم بین گروه کنترول و تیمار در روزهای ۱، ۳، ۵، ۷، ۱۰، ۱۳ و ۱۵. ( $p<0/001$ ).

نتایج میکروسکوپی نشان داد که میزان التهاب، فیبروبلاست و اپیتلیوم بین گروههای آبی و الکلی اختلاف معنی‌داری نداشت

پارافین و مو مانع انجام شد و توسط میکروتوم آلمانی با تیغه ثابت LEItz برش‌هایی عرضی، شامل پوست و بستر زخم به ضخامت ۴ میکرون تهیه شد. برش‌ها به روش رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین رنگ شدند و سلولهای آمسی (نوتروفیل و ماکروفاز)، فیبروبلاست و مقاطع عروقی به روش کیفی تشخیص داده شدند.

میزان بهبودی بر اساس امتیازدهی به پارامترهای آسیب شناسی تعیین گردید که با توجه به مطالعات مختلف توسط پژوهشگران تهیه شده بود:

امتیاز ۱ به مواردی تعلق گرفت که اپیتلیزاسیون مجدد و بافت فیبروتیک وجود نداشته و تعداد عروق کم و آماض حاد بود.

امتیاز ۲ به مواردی تعلق گرفت که اپیتلیزاسیون مجدد و بافت فیبروتیک در حد کم وجود داشته و تعداد عروق کم و آماض حاد بود.

امتیاز ۳ به مواردی تعلق گرفت که اپیتلیزاسیون و فیبروبلاست در حد کم و همین طور تعداد عروق و آماض نیز خفیف بود.

امتیاز ۴ به مواردی تعلق گرفت که آماض وجود نداشت و تعداد عروق و اپیتلیزاسیون و فیبروبلاست متوسط بود.

امتیاز ۵ به مواردی تعلق گرفت که اپیتلیزاسیون کامل، تشکیل بافت فیبروتیک کامل، تعداد عروق زیاد و آماض وجود نداشت.

تمامی داده‌ها با آنالیز واریانس یکطرفه (ANOVA) و توسط نرم‌افزار آماری SPSS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. معیار استنتاج آماری  $p<0/05$  در نظر گرفته شد.

فیبروز و کاهش التهاب در روز هفتم بررسی در مقایسه با گروه شاهد شد. این افزایش معنی دار فیبروزهای گروه تیمار با ملاحظه نقش آنها در موارد ذیل مهم تلقی می شود و حاکی از اثر مثبت عصاره چای سبز بر فاز تکثیر فرآیند التیام زخم است:

۱- فیبروبلاستها برخی از اجزای ماتریکس خارج سلولی اولیه بستر زخم نظیر فیبرونکتین و پروتئوگلیکان ها را سنتز می کنند که بستر مناسبی را برای مهاجرت و تکثیر سلولها فراهم می آورند (۱۴).

۲- فیبروبلاستها در ادامه کلازن را سنتز می کنند که موجب ایجاد قدرت کشش در بستر زخم می شوند (۱۵).

۳- میوفیبروبلاستها که فیبروبلاستهای اختصاصی شده هستند، با ایجاد نیروی انقباضی در فرآیند انقباض زخم مشارکت می کنند (۱۴).

طی تشکیل بافت دانه دار (granulation)، فیبرونکتین بستر مناسبی راجه هست و در کاهش سلولها فراهم می کند و هم چنین با میوفیبروبلاستها اتصال برقرار کرده تا پدیده انقباض زخم به طور موثر انجام شود. علاوه بر این فیبرونکتین تکیه گاهی برای انجام رشته زایی (fibrillogenesis) محسوب می شود (۱۶). با توجه به نتایج فوق مشخص شد که عصاره چای سبز ترمیم زخم را از روز هفتم به بعد بهبود بخشیده است که این اثرات هم در کاهش سطح زخم و افزایش درصد بهبودی و هم در کاهش مدت زمان لازم برای بهبودی کامل زخم مشاهده شد. کاهش در خیز یا التهاب به عبارت دیگر تعديل در مرحله التهاب، تسريع در مرحله زخم را موجب شد. در سال ۲۰۰۴، Bayer و همکارانش نشان دادند که پلی فنول ها مانع ترشح اینترفرون گاما شده و اثرات ضد التهابی، ضد پیری و التیام زخم دارند (۱۱). محققان دیگر نشان دادند که پلی فنول ها موجب القاء، تمایز و تکثیر سلولی در کراتینوسیت های اپیدرمی می شوند (۹). کاتکین ها نیز از دسته پلی فنول ها هستند که ویژگی آنتی اکسیدانی و ضد انعقادی دارند و در جلوگیری از خونریزی و کاهش ترومبوز نقش دارند (۹). روز هفتم به بعد، مرحله تکثیر فرآیند محسوب می شود (۱۷). در روز هفت بررسی حاضر در گروه تیمار میزان فیبروزها، در مقایسه با گروه شاهد رو به کاهش نهاد که این مoid شروع مرحله تجدید ساختار است (۱۴) و از طرف دیگر شروع زودتر فاز تجدید سنتز کلازن در این مرحله رخ داده و دسته های کلازن با قطر بیشتر تشکیل شده و اتصالات عرضی بین مولکولی کلازن هم تغییر می کند (۱۸). الیاف کلازن باعث می شود تا محل زخم بعد از ترمیم به بافت اولیه قبل از ایجاد

(NS). میزان التهاب، فیبروبلاست و اپیتليوم در مقادیر ۵۰، ۱۵۰ و ۳۰۰  $\mu\text{L}$  عصاره آبی و الکلی طی روزهای ۴، ۷، ۱۵ در مقایسه با گروه شاهد معنی دار بود ( $p < 0.001$ ). میزان عروقی خونی در مقادیر ۵۰، ۱۵۰ و ۳۰۰  $\mu\text{L}$  عصاره آبی و الکلی چای سبز طی روزهای ۴، ۷ و ۱۵ در مقایسه با گروه شاهد و بین گروه ها معنی دار نبود (NS) (جدول ۱).

## بحث

۱۵۰ گزارش از مطالعات *invivo* و *invitro* بر اثرات چای سبز روی پوست وجود دارد که کانون اولیه این مطالعات بازدارندگان شیمیایی، کارسینوژن های شیمیایی یا فوتوكارسینوژن ها در جوندگان می باشد (۹). به طور کلی گلیکوپروتئین فعالیت زیستی مختلف مثل فعالیت ضد تومور، ضد التهاب، ضد ویروس، ضد انعقاد، ضد پیری و پایین آورنده قند خون دارد (۱۰).

ساختر شیمیایی این مولکول ها، پلی فنول های چای سبز است که آغازگر فرضیه آنتی اکسیدانی است (۱۱). EGCG (اپی گالوکاتکین گالات)، ترکیب اصلی پلی فنولیتیک چای سبز است که خاصیت آنتی اکسیدانی، آنتی تومور و آنتی موتازنیک دارد (۹). مطالعات بیولوژیکی و اپیدمیولوژیکی در ده سال اخیر نشان داده که EGCG می تواند بازدارنده رشد تومور در سینه ریه، کبد، لوزالمعده، معده، پانکراس، پوست، مثانه و پروستات باشد (۱۱). EGCG مهار کننده کمتوپیسین، فاکتور نکروز توموری آلفا، گلوکز-۶-فسفاتاز کبدی، نپذیرفتن پیوند در انسان و لیپید پراکسیداز باشد (۱۱، ۱۲).

مطالعه ما نشان داد که بین عصاره آبی و الکلی چای سبز در گروه های مورد مطالعه در روزهای مختلف اختلاف معنی داری وجود ندارد. این یافته به دو دلیل همیت خاصی دارد. اول اینکه استفاده از عصاره ی چای سبز ارتباطی به تیمار آبی و یا الکلی ندارد. دوم اینکه در این مطالعه تاثیر این متغیر (آبی، الکلی) حذف می گردد.

در بررسی حاضر در روز چهارم که معرف مرحله التهاب فرآیند التیام زخم محسوب می شود (۱۳)، میزان التهاب گروه تیمار به طور معنی داری ( $p < 0.001$ ) کمتر از گروه شاهد بود. این تغییر حاکی از آن است که چای سبز موجب شده است تا مرحله التهاب فرآیند التیام زخم زودتر دوره خود را سپری نموده و به انتهای خود برسد و در عوض فاز تکثیر فرآیند التیام زودتر آغاز شود. علاوه بر این تزریق عصاره ۲ درصد چای سبز به محل زخم موش ها موجب افزایش معنی دار

کرده و از این طریق اثرات مهاری خود را بر رشد باکتری و ویروس‌ها اعمال می‌کنند. در این رابطه می‌توان به مطالعه اثر مهاری چای سبز (*Camellia Sinensis*) و سیاه بر رشد باکتری اشرشیاکلی توسط نیلوفر خلنجی و تیرنگ نیستانی در سال ۱۳۸۵ اشاره نمود. احتمال دارد چای سبز از طریق جلوگیری از عفونت و استریل نگه داشتن سطح زخم بهبودی را تسريع بخشد. گزارش شده است که داروهای آنتی‌بیوتیک از طریق کنترل عفونت زخم موجب تسريع بهبودی زخم می‌شوند (۲۱). اما در این مطالعه علایم ظاهری عفونت زخم حتی در گروه شاهد مشاهده نشد. بنابراین ساز و کارهای دیگری غیر از جلوگیری از عفونت زخم برای چای سبز جهت تسريع بهبود زخم به نظر می‌رسد. دکتر بیات و همکارانش در سال ۱۳۷۹ اثر اولتراسوند درمانی و زله بر ترمیم ناحیه درم زخم را بیان کردند و معتقدند که خود مرتبط بودن زخم از عوامل تسريع کننده روند التیام زخم است. در این مطالعه نیز زخم‌ها روزانه با عصاره آبی و الکلی به صورت تزریقی مرتبط می‌شوند.

بررسی‌های تجربی بر روی حیوانات نشان داده است که کاربرد موضعی عامل رشد اپیدرمال، اثری مهم در افزایش سرعت ترمیم اپیدرم در زخم‌های با ضخامت نسبی و سوختگی‌ها دارد. کاربرد این ماده بر روی زخم‌های انسانی نیز اثراتی همانند داشته است و سودمند بودن آن به اثبات رسیده است (۲۲). ترمیم اپیدرم، پدیده‌ای پیچیده است که در آن سلول‌های اپیدرمال بر جا مانده، تکثیر می‌شوند تا یک اپیدرم سالم دیگر به وجود آورند. ساز و کار مولکولی که ترمیم طبیعی اپیدرم را تنظیم می‌کند، به درستی شناخته نشده است، اما به نظر می‌رسد عوامل رشد پیتیدی که از طریق مکانیزم‌های اتوکرین یا پاراکرین عمل می‌کنند، نقش مهمی در این زمینه داشته باشند (۲۳-۲۵). در سال ۲۰۰۳ Chung، و همکارانش نشان دادند که عصاره چای سبز (EGCG) موجب بقاء کراتینوسیت‌های اپیدرمی در انسان می‌شود.

در سال ۲۰۰۳ Boillag و همکارانش تمایز، تکثیر سلولی و التیام زخم توسط پلی‌فنول‌های چای سبز را مطرح نمودند. شمار زیادی از عوامل رشد شناخته شده است که از آن جمله می‌توان عامل رشد اپیدرمال (EGF) را نام برد. این عامل، یک پلی‌پیتید ۵۳ آمینواسیدی است که mRNA (mRNA)، DNA و پروتئین را تحریک می‌کند (۲۵). نشان داده شده است که عوامل رشدی پیتیدی با افزایش چشم‌گیر پرولیفراسیون سلول‌های درم در زخم‌های با ضخامت نسبی و افزایش توان کششی بر روی سلول‌های مزانشیمی اثر داشته

جراحت شباht پیدا کند و از ایجاد اسکار سفید رنگ و زشت ممانعت به عمل می‌آید. از طرف دیگر افزایش خونرسانی و اکسیژن‌رسانی به محل زخم از طریق گشاد کردن عروق می‌باشد (۱۹). پژوهش‌های انجام شده ممید این است که چای سبز موجب کاهش قند خون، لیپیدهای خون، فشار خون، کاهش بیماری‌های قلبی و عروقی، ضربان قلب و هم‌چنین گشادی عروق می‌گردد (۱۱، ۲۰)، که این امر بر ظرفیت عملی فیبروبلاست‌ها، افزایش سنتز فیبرهای کلاژنی و افزایش مقاومت زخم به علت افزایش محتوای کلاژن اثر می‌گذارد و از آن جایی که فیبروبلاست‌ها مسئول ایجاد فیبرهای کلاژن می‌باشند، پس می‌توان نتیجه گرفت که چای سبز (پلی‌فنول، کاتکین‌ها و EGCG) موجب تکثیر فیبروبلاست‌ها شده و بر ظرفیت عملی فیبروبلاست‌ها اثر گذاشته و قابلیت سنتز فیبرهای کلاژن را افزایش می‌دهد (۲۰). همان طور که در تیمار با دوزهای مختلف نشان داده شد، هر چه میزان دوز تزریقی بیشتر باشد (۰-۳۰۰ μL)، افزایش معنی‌دار تعداد فیبروبلاست‌ها رخ می‌دهد (۹). تحقیق Madham و همکارانش در سال ۲۰۰۷ نشان داد که کاتکین‌ها پلی‌فنول و هر EGCG سه موجب مهار فعالیت کلاژن‌زاس در برابر کلاژن می‌شوند. در واقع کاتکین و EGCG از طریق اتصال به هیدروژن و برهمکنش‌های هیدرووفوبیک با کلاژن‌زاس موجب مهار فعالیت آن شده و در تثبیت کلاژن نقش ایفا می‌کند (۱۸). تحقیق Young و همکارانش در سال ۲۰۰۸ نیز مهار تخریب کلاژن و فعالیت کلاژن‌زاس را از طریق واکنش‌های تنظیم سیگنال سلولی توسط EGCG نشان داد (۱۹).

مطالعات وسیع در طول دهه‌های گذشته نشان می‌دهد که فرآیند ترمیم زخم توسط عوامل متعدد عمومی و موضعی تحت تاثیر قرار می‌گیرد (۱۹). عوامل نورونی و هورمونی زیادی مثل عوامل سلولی و عروقی و یا فعالیت حرکتی و ترشحی، نواحی زخم را تحت تاثیر قرار می‌دهند.

در این رابطه می‌توان به بررسی اثر EGCG و خاصیت آنتی‌باکتریال و ضدویروسی چای سبز جهت تسريع التیام زخم اشاره نمود (۲۰). EGCG موجب تکثیر، تقسیم و تحریک رشد سلول‌های طبیعی می‌گردد که این وظایف را از طریق تقسیم سلولی و اثرات آنتی‌آپوپتوزیس به انجام می‌رساند. هم‌چنین بقاء کراتینوسیت‌های انسانی را افزایش می‌دهد و بر روی رشد تکثیر و تثبیت فیبروبلاست‌ها اثر می‌گذارد (۲۰). اثرات مهاری چای سبز به توان آنتی‌اکسیدانی آن مربوط می‌شود. پلی‌فنول‌ها و گلیکوپروتئین‌ها به دلیل فعالیتی همانند پاک کننده (scavenger) در شرایط خاص به صورت اکسیدان عمل

سرشار از ویتامین C و حاوی ۱۸ اسید آمینه از جمله لیزین و پرولین است (۲۰، ۹). کمبود ویتامین B6 (پیریدوکسین) به ایجاد این روند اتصالات عرضی در کلاژن صدمه می‌زند. کمبود ویتامین B2 (ریبوفلاوین) باعث می‌شود فرآیند التیام زخم با اختلالاتی مواجه شود (۲۹). از طرف دیگر ویتامین‌های گروه B برای واکنش‌های آنزیمی کوفاکتور هستند و برای عملکرد صحیح سلول‌های سفید خون و تشکیل آنتی‌بادی ضروری هستند (۳۰). نتایج نشان داده است که چای سبز حاوی ویتامین‌های B1، B2 و B6 است (۲۰، ۹).

ویتامین‌های مذکور به مقدار موردنیاز در تزریقات وجود دارد و گواه این مطلب وقوع سیر طبیعی فرآیند التیام زخم در موش‌های گروه شاهد است و از آنجایی که این ویتامین‌ها در چای سبز وجود دارند، چای سبز به عنوان منبع دوم عمل کرده است و این باعث شده است که در گروه تحت تیمار مقدار بیشتری از ویتامین‌ها در دسترس موش‌ها باشد. بنابراین احتمالاً می‌توان نتیجه گرفت موضوع مذکور از دلایل افزایش سرعت سیر فرآیند التیام در گروه تحت تیمار است.

به نظر می‌رسد از جمله ساز و کارهایی که برای عملکرد چای سبز جهت سرعت بخشیدن به ترمیم زخم مطرح است، اثربخشی مشیت پلی‌فنول‌ها، کاتکین‌ها، گلیکوپروتئین‌ها، EGCG و در نهایت ویتامین‌ها است. افزایش سرعت بهبود زخم، اثرات زیادی، چه از نظر اقتصادی و چه از نظر بهداشتی، دارد. هر چه بتوان سرعت بهبود زخم را افزایش داد، درصد عفونت زخم کاهش خواهد یافت و به این شیوه، در کل جریان بهبود زخم تسريع ایجاد می‌شود. در کل بررسی حاضر برای اولین بار نشان داد که عصاره چای سبز موجب تسريع فرآیند التیام زخم باز پوست موش‌های نر NMRI می‌شود.

## تشکر و قدردانی

به این وسیله از مرکز تحقیقات پروفسور ترابی‌نژاد اصفهان، دانشگاه آزاد واحد علوم و تحقیقات تهران و مرکز تحقیقات صدیقه طاهره اصفهان و نیز از همکاران ارجمند، جناب آقای دکتر شهریار ادبی، دکتر احسان دهقانی نژادی و دکتر بهنام عباسیان تقدير و تشکر می‌شود.

## REFERENCES

1. Strodtbeck F. Physiology of wound healing. Clin Prac 2001; 1: 43-52.
2. Paul R, Michale H. The kinetics and mechanism of the complex formation polyphenols EGCG and ECG with iron (III). J Inorg Biochem 2007; 101: 585-93.
3. Mori L, Bellini A, Stacey MA, Schmidt M. Fibrocytes contribute to the myofibroblast population in wounded skin and originate from the bone marrow. Experimen Cell Res 2005; 304: 81-90.

است (۲۶). در واقع عوامل رشد پیتیدی خارجی با افزایش تولید دیگر عوامل رشد مانند Transforming Growth Factor (TGF) که از پلاکتها و ماکروفازها آزاد می‌شوند، به طور غیرمستقیم ترمیم و بهبود زخم را تحریک می‌کنند (۲۷). بدون در نظر گرفتن ساز و کارهای ویژه، رویارویی زودهنگام و پیوسته سلول‌های در حال ترمیم با عوامل رشد اپیدرمال، اپیتلیالیزه شدن را افزایش می‌دهد. این یافته که عوامل محرك رشد و گیرنده‌های آنها ممکن است اثری مهم در بهبود طبیعی زخم داشته باشند و عکس این فرضیه یعنی به کارگیری عوامل مهارکننده رشد و یا تغییر در سطح گیرنده‌های عامل رشد باعث نارسایی در بهبود ترمیم زخم می‌شود، فرضیه اثر عامل رشد را تقویت می‌کند (۲۸). Kwon و همکارانش در سال ۲۰۰۷ بیان کردند که EGCG محرك رشد موی انسان از طریق تقسیم سلولی (Proliferative) است و اثرات آنتی‌آپوپتوزیس بر سلول‌های پاپیلای درم (DPCs) دارد (۲۸). بررسی بافت‌شناسی زخم نشان داده است که پرولیفراسیون سلول‌ها افزایش می‌یابد که احتمالاً به دلیل ترکیبات شیمیایی چای سبز (پلی‌فنول‌ها، کاتکین‌ها به ویژه خاصیت EGCG) و عوامل رشد اپیدرمال می‌باشد.

همچنین، بررسی نقش ویتامین‌ها بر فرآیند التیام زخم و ارتباط محتويات چای سبز با آنها می‌تواند دلایل بروز تغییرات را روشن نماید. کمبود ویتامین C باعث اسکوروی می‌شود. در بیماران مبتلا، ترمیم زخم در مرحله فیبروبلاست‌ها متوقف می‌شود. در این حالت، هر چند تعداد فیبروبلاست‌ها طبیعی است، ولی آنها کلاژن کافی تولید نمی‌کنند. ویتامین C برای پیوند یون OH با اسیدآمینه‌های پرولین و لیزین و هیدروکسیل‌های شدن آنها در درون سلول فیبروبلاست مورد نیاز است. بدون هیدروکسی لیزین، فیبریل‌های کلاژن اتصالات عرضی پیدا نمی‌کنند. در اسکوروی شدید نه تنها زخم‌های جدید التیام نمی‌یابند، بلکه اسکارهای ترمیم شده قدیمی هم پیوستگی خود را از دست داده و باز می‌شوند. زیرا میزان تجزیه کلاژن از میزان ساخت مجدد آن پیشی می‌گیرد (۲۹). از طرف دیگر، ویتامین C برای تشکیل مویرگ‌ها، مهاجرت ماکروفازها و عملکرد صحیح نوتروفیل‌ها نیاز است (۳۰). تحقیقات انجام شده حاکی از آن است که چای سبز منبع

4. Mouli V, Castilloux G, Auger FA, Garrel D. Modulated response to cytokines of human wound healing myofibroblasts compared to dermal fibroblasts. *Experiment cell Res* 1998; 238: 283-93.
5. Khan N, Mukhtar H. Tea polyphenols for health promotion. *Life Sci* 2007; 81: 519-33.
6. Yang CS, Lambert JD, Jihyeung J, Gang Lu, Sang Sh. Tea and cancer prevention: Molecular mechanisms and human relevance. *Toxicol Appl Pharmacol* 2007; 11: 24.
7. Fujiki H, Suganuma M, Okabe S, Sueoka N. Cancer inhibition by green tea. *Mut Res* 1998; 402: 307-10.
8. Csala M, Margittai E, Senesi S, Gamberucci A, Banhegyi G. Inhibition of hepatic glucose 6- phosphatase system by the green tea flavanol epigallocatechin gallate *FEBS Lett* 2007; 581: 1693-98.
9. Stephen H. Green tea and the skin. *J Am Acad Dermatol* 2005; 52: 1049-59.
10. Khan N, Mukhtar H. Tea polyphenols for health promotion. *Life Sci* 2007; 81: 519-33.
11. Bayer J, Gomer A, Demir Y, Amano H, Kish D. Effect of green tea polyphenols on murine transplant- reactive. *Clin Immunol* 2004; 110: 100-108.
12. Babu PVA, EKambaram Sabitha K. Green tea attenuates diabetes induced Maillard- type fluorescence and collagen cross- linking in the heart of streptozotocin diabetic rats. *Pharmacol Res* 2007; 55: 433-40.
13. Brwon M, Gogia PP. Effects of high voltage stimulation of cutaneous wound healing in rabbits. *Phys Ther* 1987; 67: 662-67.
14. Ferguson MWJ, Leigh IM. Wound healing. In: Champion RH, Burn JL, Burns DA, Breathnach SM, eds. *Rook/Wilkinson/Ebling text book of dermatology*. Oxford: Blackwell Science Ltd; 1998. p.337-55.
15. Clark RAF. Biology of dermal wound repair. *Dermatol Clin* 1993; 11: 647-66.
16. Young SF, Dyson M. Effects of therapeutic ultrasound on healing of full thickness excised skin lesions. *Ultrasonics* 1990; 28: 175-80.
17. Crockford GW, Hellon RF. Vascular responses of human skin to infrared radiation. *J Physiol* 1959; 4: 424-32.
18. Madha MB, Krishnamoorthy G, Raghavara J, Balachandran N. Role of green tea polyphenols in the inhibition of collagenolytic activity by collagenase. *Int J Biol Macromol* 2007; 41: 16-22.
19. Young BJ, Suk CJ, Jung CY, Yong SS, Wook KS, Jun HS, et al. Epigallocatechin gallate hampers collagen destruction and collagenase activation in ultraviolet-B-irradiated human dermal fibroblasts :Involvement of mitogen- activated protein kinase. *Food Chem Tocicol* 2008; 46: 1298-307.
20. Nie SH, Xie M, Zhihong Fu, Wan Y, Yan A. Study on the purification and chemical compositions of tea glycoprotein. *Carbohydrate Polymers* 2007; 71: 626-33.
21. Carr RW, Delancy CA, Westerman RA, Roberts RGD. Denervation impairs cutaneous function and blister healing in the rat hind limb. *Neurorepxort* 1982; 4: 467-70.
22. Brown GL, Nanney LB, Griffen J, Cramer AB, Yancey JM, Curtsinger LJ 3rd, et al. Enhancement of wound healing by topical treatment with epidermal growth factor. *New Eng J Med* 1989; 32: 76-79.
23. Passa ME, Bland KL, Copeland EM. Growth factors and determinants of wound repair. *J Surg Res* 1987; 42: 207-17.
24. Sporn MB, Roberts AB. Peptide growth factors and inflammation tissue repair and cancer. *Clin Invest* 1986; 78: 329-32.
25. Cohen S. Isolation of a mouse submaxillary gland portion accelerates incisor eruption and eyelid opening in the new-born animal. *J Biol Chem* 1962; 237: 1555-62.
26. Nanney LB. Epidermal growth factor-induced effect on wound healing. *Clin Res* 1987; 35: 706.
27. Coffey RJ, Deryck JR, Wilcox JN, Bringman TS, Goustin AS, Moses HL, et al. Production and auto-induction of transforming growth factor in human keratinocytes. *Nature* 1987; 328: 817-20.
28. Kwon OS, Han JH, Yoo HG, Chung JH, Eun HC, Kin KH. Human hair growth enhancement in vitro by green tea epigallocatechin-3-gallate (EGCG). *Phytomedicine* 2007; 14: 551-55.
29. Adzick NS. Wound healing. In: Sabiston DC, Lyerlu HK, eds. *Textbook of surgery, The biological basis of modern surgical practice*. 5<sup>th</sup> edition. Philadelphia: WB Sanders Company; 1997. p.207-20.
30. Koopman CF. Cutaneous wound healing: an overview. *Otolaryngol Clin N Am* 1995; 28: 835-45.