

بررسی تأثیر عصاره آبی دانه قهوه بر میزان معدل حجمی گلومرول ها در موش صحرایی نر

دکتر عبدالرحمن دزفولیان^۱ - دکتر فرزانه دهقانی^۲ - دکتر محمدرضا پنجه شاهین^۳

دکتر سیدضیاءالدین تابعی^۴ - دکتر حیات ممبینی^۵

چکیده:

مقدمه: قهوه^۶ یک گیاه ادرار آور است که سبب گشادای عروق و کاهش رادیکال های آزاد اکسیژن می شود. شواهدی در دست است که نشان می دهد قهوه بر روی کلیه اثر می گذارد. مصرف کم قهوه باعث کاهش اوره و کراتینین و زیاده روی در مصرف آن، سبب سخت شدن گلومرول ها^۷ می شود. در این بررسی تأثیر عصاره آبی دانه قهوه^۸ بر روی کلیه موش صحرایی توسط روش های استریولوژی^۹ محاسبه گردید.

روش کار: طی یک مطالعه تجربی، تعداد ۴۸ موش صحرایی از نژاد اسپراگو - داولی^{۱۰} با وزن حدود ۲۵۰ - ۲۳۰ گرم انتخاب و به صورت تصادفی به ۴ گروه تقسیم شدند. به گروه کنترل آب و به گروه های آزمایش، عصاره آبی دانه قهوه با غلظت های ۰/۵، ۰/۲۵ و ۰/۱۲۵ گرم بر کیلوگرم روزی دوبار خورانیده شد. بعد از مدت ۴۸ ساعت حیوانات تحت بیهوشی عمیق با اتر تشریح شدند و کلیه راست آن ها برداشته شد. پس از انجام مراحل آماده سازی بافتی، اسلایدهایی به ضخامت ۵ میکرون تهیه شدند و با هماتوکسیلین - انوزین رنگ آمیزی گردیدند. از هر کلیه حدود ۱۷ - ۱۵ گلومرول انتخاب شدند و معدل حجمی آن ها بر طبق اصل کاوالیه و روش شمارش نقطه ای محاسبه گردید.

نتایج: غلظت کم قهوه (۰/۲۵ گرم بر کیلوگرم) سبب افزایش معدل حجمی گلومرول ها می شود، ولی غلظت های زیاد این عصاره موجب کاهش حجم گلومرول ها می گردد. این نتایج در گروه های آزمایش اختلاف معنی داری را با گروه کنترل نشان دادند ($p < 0/05$).

نتیجه گیری: به نظر می رسد که زیاده روی در مصرف قهوه سبب کاهش حجم گلومرول ها می شود و کاهش معدل حجمی گلومرول ها سبب سخت شدن گلومرول ها و کم شدن میزان پالایش گلومرولی می گردد، اما دستیابی به مکانیسم اصلی این نتایج نیازمند آزمایشات بیشتر مثل اوره و کراتینین سرم است.

واژگان کلیدی: استریولوژی، قهوه، گلومرول، معدل حجمی.

مقدمه

در معرض خطر مرگ قرار داده است (۴،۳). عملکرد کلیه به میزان پالایش گلومرولی وابسته است (۵). عوامل زیادی مثل سموم، داروها، بیماری ها، مواد غذایی و نوشیدنی ها می توانند بر روی میزان پالایش گلومرولی تأثیر بگذارند. مطالعات مختلف نشان

بررسی میزان تغییرات در اعضای حیاتی بدن از اهمیت ویژه ای در علم آسیب شناسی و بافت شناسی برخوردار است. اندازه گیری کمی این تغییرات توسط روش های استریولوژی عامل مؤثری برای ارزیابی آن ها محسوب می گردد. استریولوژی علمی است که با استفاده از قوانین ساده ریاضی به محاسبه کمی و سه بعدی ساختمان های میکروسکوپی و ماکروسکوپی می پردازد (۱). یکی از روش های استریولوژی، استفاده از اصل کاوالیه است که برای تعیین حجم اندام های حیاتی بدن و اجزای آن ها به عنوان استاندارد طلایی معرفی گردیده است (۲). کلیه، یکی از اندام های حیاتی بدن است که بیماری های آن در صد بسیاری از مبتلایان را

۱ - استادیار گروه بافت شناسی، دانشگاه علوم پزشکی اهواز.

۲ - استادیار گروه آناتومی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز.

۳ - استاد گروه فارماکولوژی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز.

۴ - استادیار گروه پاتولوژی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز.

۵ - استاد گروه اورولوژی، دانشگاه علوم پزشکی اهواز.

6. Coffee.

7. Glomerulochelosis.

8. Aqueous extract of coffee.

9. Stereology.

10. Sprague-Dawley.

می دهند که نوشیدن قهوه سبب بهبود عملکرد کلیه و افزایش دفع ادرار گردیده (۶) و میزان اوره (۷) و کراتینین (۶) را کاهش می دهد. زیاده روی در مصرف قهوه نیز، سختی و مقاومت شریان ها را افزایش می دهد (۸) و سبب سخت شدن گلومرول ها می شود (۶). به نظر می رسد که مصرف قهوه سبب تغییر در اندازه معدل حجمی گلومرول ها می گردد. بر همین اساس در این تحقیق، تأثیر غلظت های مختلف عصاره قهوه بر روی معدل حجمی گلومرول های کلیه با استفاده از روش های استریولوژی در موش صحرایی نر مورد بررسی قرار گرفت.

روش کار

طی یک مطالعه تجربی، تعداد ۴۸ قطعه موش صحرایی از نژاد اسپراگو-داولی با وزن حدود ۲۵۰ - ۲۳۰ گرم انتخاب و در شرایط استاندارد از نظر رطوبت، درجه حرارت، نور و دسترسی کافی به مواد غذایی و آب در قفس مخصوص نگهداری شدند. سپس حیوانات به صورت تصادفی در ۴ گروه ۱۲ تایی قرار گرفتند. به گروه کنترل آب و به گروه های آزمایش از عصاره آبی دانه قهوه با غلظت های ۰/۵، ۰/۲۵ و ۰/۱۲۵ گرم بر کیلوگرم روزی دو مرتبه خورانیده شد. پس از گذشت ۴۸ ساعت حیوانات تحت بیهوشی عمیق با اتر قرار گرفتند و پس از عمل پرفوزیون عروقی با محلول فرمالین ۱۰ درصد، کلیه راست آن ها برداشته شد.

از هر کلیه پس از انجام مراحل آماده سازی بافتی در پارافین و مطالعات میکروسکوپی، ۱۷ گلومرول به صورت تصادفی انتخاب شدند و به وسیله میکروتوم، برش های سریالی به ضخامت ۵ میکرون از ابتدا تا انتهای هر گلومرول تهیه شد و با همتوکسیلین - ائوزین رنگ آمیزی گردید. اسلایدهای مربوطه توسط میکروسکوپ پروجکتینگ و با استفاده از روش اصل کاوالیه بررسی شدند.

اصل کاوالیه براساس شمارش تعداد نقاط استوار است. بدین ترتیب که اگر نقاط در فضا به صورت تصادفی انتشار یابند، در این صورت تعداد نقاطی که روی یک جسم سه بعدی قرار می گیرند با حجم آن جسم نسبت مستقیم دارد. بر همین اساس معدل حجمی گلومرول ها (UG) توسط اصل کاوالیه و با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد:

$$UG = \frac{\sum PG \times a(p) \times t}{m^2}$$

در این فرمول m بیانگر بزرگ نمایی میکروسکوپ، t بیانگر

ضخامت هر برش، a(p) بیانگر دامنه اطراف هر نقطه و $\sum PG$ بیانگر مجموعه تعداد نقاط روی هر گلومرول می باشد. در این پژوهش بزرگ نمایی میکروسکوپ معادل ۱۳۰ و دامنه اطراف هر نقطه معادل ۱۸ میلی متر مربع در نظر گرفته شد.

دانه های قهوه ابتدا به صورت پودر تهیه گردیدند. سپس ۵۰ گرم از این پودر با ۲۰۰ میلی لیتر آب مقطر حل شد و به مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب چرخان قرار گرفت. آب محلول حاصل پس از صاف شدن توسط دستگاه حمام آب چرخان، خارج گردید. در مرحله بعد، محلول فوق در دستگاه دسیکاتور قرار داده شد و به وسیله خلأ قوی تمام آب آن گرفته شد. بدین ترتیب از دانه گیاه فوق پودری خشک بدست آمد. برای ۵۰ گرم ماده اصلی، حدود ۴/۵ گرم پودر عصاره استخراج شد.

تجزیه و تحلیل داده ها با استفاده از نرم افزار SPSS انجام شد. تفاوت معنی دار بین گروه ها در سطح $p < 0/05$ تعیین گردید. در تمام طول پژوهش، اصول اخلاقی مطالعه بر روی حیوانات در نظر گرفته شد.

نتایج

بررسی ساختمان میکروسکوپی کلیه در گروه های آزمایش نسبت به گروه کنترل نشان داد که غلظت های مختلف عصاره قهوه تأثیر قابل مشاهده ای را بر روی ساختمان گلومرول و عروق خونی نگذاشته است. این ساختمان ها در تمام گروه های فوق به صورت طبیعی مشاهده گردیدند. همچنین تجویز عصاره قهوه تأثیری بر روی ایجاد تغییرات در لوله ها یا تشکیل cast در آن ها نداشت، اما رسوب ماده فیبرینی و وجود سلول های آماسی تا میزان ۲۵ درصد مشاهده گردید. معدل حجمی گلومرول ها در چهار گروه مورد بررسی قرار گرفت. روند تغییرات در میزان معدل حجمی در گروه های فوق نشان داد که با افزایش غلظت عصاره آبی دانه قهوه، معدل حجمی گلومرول ها افزایش یافت.

بررسی های آماری با استفاده از آزمون کروسکال - والیس اختلاف آماری معنی داری را بین گروه کنترل با گروه های آزمایش نشان داد ($p < 0/05$). اندازه گیری ضریب خطای استریولوژی در تمام گروه های فوق در حد ۰/۰۳ - ۰/۰۱ متغیر بود که این امر نشان دهنده پایین بودن میزان خطا در روش استریولوژی به کار گرفته شده است (جدول ۱).

جدول ۱ - میانگین و انحراف معیار معدل حجمی گلومرول (برحسب میکرومترمربع) در گروه‌های مختلف مورد مطالعه

گروه مورد مطالعه	میانگین معدل حجمی گلومرول (انحراف معیار)	ضریب خطای اندازه‌گیری
شاهد	۴۵۳۹۲۱/۵۷ (۲۸۸۵۰/۶۲)	۰/۰۱
آزمایش ۱ (۰/۱۲۵ گرم بر کیلوگرم)	۴۶۷۴۵۰/۹۸ (۳۰۰۴۸/۰۲)	۰/۰۲
آزمایش ۲ (۰/۲۵ گرم بر کیلوگرم)	۵۳۶۹۱۰/۰۶ (۵۸۹۴۱/۷۶)	۰/۰۱
آزمایش ۳ (۰/۵ گرم بر کیلوگرم)	۵۰۵۸۳۳/۳۳ (۴۳۸۱۴/۲۶)	۰/۰۳

بحث

گزارشات فوق به نظر می‌رسد که گشاد کردن مویرگ‌های موجود در گلومرول‌ها باعث افزایش معدل حجمی آن‌ها می‌شود. توفوویک^۴ (۶) نشان داد که قهوه یک نوشیدنی مدر است که سبب افزایش ادرار می‌شود؛ لذا احتمال داده می‌شود که قهوه با افزایش معدل حجمی گلومرول‌ها، جریان خون در کلیه را زیادتر نموده و همین عامل دفع ادرار را بیشتر می‌کند.

شیبا^(۱۱) عنوان نمود که بین میزان فیلتراسیون گلومرولی و افزایش حجم گلومرول‌ها ارتباط مستقیمی وجود دارد؛ بنابراین به نظر می‌رسد که قهوه با افزایش حجم گلومرول‌ها، میزان فیلتراسیون گلومرولی را افزایش می‌دهد. باتوجه به بررسی فوق می‌توان نتیجه گرفت که توفیلین و کافئین موجود در قهوه می‌توانند سبب گشادی عروق و افزایش جریان خون در گلومرول‌های کلیه شده و احتمالاً باعث زیاد شدن میزان فیلتراسیون و عملکرد کلیه گردند.

در انتها بایستی خاطرنشان نمود که هرچند روش استریولوژی به کار برده شده برای اندازه‌گیری حجم گلومرول‌ها در این بررسی استاندارد بوده و دارای خطای کمی است، ولی برای رسیدن به یک نتیجه قطعی می‌بایست این روش را با معیارهای اندازه‌گیری دیگری نظیر اندازه‌گیری میزان اوره و کراتینین سرم و تعیین اندازه فیلتراسیون گلومرولی مقایسه نمود.

اندازه‌گیری حجم گلومرول‌های کلیه توسط روش‌های استریولوژی توسط محققین زیادی مورد بررسی قرار گرفته است. الیوتی^۱ (۹) نشان داد که در طی مراحل تکاملی کلیه هنگام رشد داخل رحمی در جنین موش صحرایی، حجم گلومرول‌ها زیاد می‌شود. استفس^۲ (۱۰) نیز نتیجه گرفت که پیوند کلیه در فرد گیرنده و دهنده پیوند سبب افزایش حجم گلومرول‌ها می‌گردد.

شیبا^۳ (۱۱) گزارش نمود که در نفروکتومی یک طرفه کلیه در موش صحرایی حجم گلومرول‌ها بیشتر می‌شود. مشاهدات بالینی نشان می‌دهند که در بسیاری از بیماری‌ها و آسیب‌های کلیه حجم گلومرول‌ها تغییر می‌کند. پژوهش‌های انجام شده حاکی از آنند که در بیماری دیابت نوع یک (۱۲، ۱۳)، نارسایی مزمن کلیه (۱۴، ۱۵) و سندرم نفروتیک (۱۶) حجم گلومرول‌ها زیاد می‌شود.

در این تحقیق با افزایش غلظت قهوه، معدل حجمی گلومرول‌ها افزایش یافت. مطالعات دیگر نشان می‌دهند که زیاده‌روی در مصرف قهوه سبب افزایش حجم گلومرول‌ها (۶) می‌شود و سختی شریان‌ها و مقاومت عروقی را بیشتر می‌کند (۸). باتوجه به نتایج فوق احتمال داده می‌شود که با افزایش غلظت عصاره قهوه، مقاومت عروقی زیادتر شده و شرایط برای سخت شدن و آترونی گلومرول‌ها فراهم می‌گردد و بدین طریق معدل حجمی گلومرول‌ها کاهش می‌یابد.

پژوهش‌های دیگر نشانگر این موضوع هستند که کافئین و توفیلین موجود در قهوه سبب گشادی عروق می‌شود (۱۷، ۱۹)؛ بدین ترتیب که این مواد با تأثیر بر روی عضلات صاف جدار عروق، موجب انبساط آن‌ها می‌گردند (۱۸، ۲۰). باتوجه به

1. Olivetti.
2. Steffes.
3. Shea.
4. Tofovic.

1. Vesterby A. Star volume in bone research: a histomorphologic analysis of trabecular bone structure using vertical section. *Anat Res* 1993; 253: 325-34.
2. Lane PH, Methods in laboratory investigation: determination of mean glomerular volume in nephrectomy specimens. *Lab Invest* 1995; 72(6): 765-70.
3. Libethal W, Nigman SK. Acute renal failure II, experimental models of acute renal failure: imperfect but indispensable. *Am J Physiol Renal Physiol* 2000; 287(1): F1-F12.
4. Wagener OE, Lieske JG, Toback FG. Molecular and cell biology of acute renal failure: new therapeutic strategies. *New Horiz* 1995; 3(4): 634-49.
5. Zeier M, Schonherr R, Amann K, et al. Effect of testosterone on glomerular growth after uni-nephrectomy. *Nephrol Dial Transplant* 1998; 13(9): 2234-40.
6. Tofovic SP, Kost CK, Jackson EK, et al. Long-term caffeine consumption exacerbates renal failure in obese, diabetic, ZSF1 (Fa-Facp) rats. *Kidney Int* 2002; 61(4): 1433-44.
7. Burdan F, Siezieniewska Z, Urbanowicz Z. Combined effects of acetaminophene, iso propylantipyrine and caffeine on pregnant and nonpregnant liver. *Hum Exp Toxicol* 2001; 20(11): 569-75.
8. Mahmud A, Feely J. Acute effect of caffeine on arterial stiffness and aortic pressure waveform. *Hypertension* 2001; 38(2): 227-31.
9. Olivetti G, Anversa P, Melissari M, et al. Morphometry of the renal corpuscle during postnatal growth and compensatory hypertrophy. *Kidney Int* 1980; 17: 738-54.
10. Steffes MW. Quantitative glomerular morphometry: combined light and electron microscope studies in normal rat. *Lab Invest* 1983; 30(5): 657-63.
11. Shea SM, Raskova J, Morrison AB. A stereologic study of glomerular hypertrophy in the subtotaly nephrectomized rat. *Am J Pathol* 1978; 90(1): 201-9.
12. Basgen JM, Steffes MW, Stillman AE, et al. Estimating glomerular number in situ using magnetic resonance imaging and biopsy. *Kidney Int* 1994; 45: 1668-72.
13. Bilous RW, Mauer SM. Estimation of mean glomerular volume in patients with insulin-dependent diabetes mellitus. *Kidney Int* 1987; 32: 930-32.
14. Calilli MM, Ryan GB, Bertram F. Biphasic glomerular hypertrophy in rats administered puromycin aminonucleoside. *Kidney Int* 1996; 50: 768-75.
15. Bertram JF, Soosaipillai MC, Richardo SD, et al. Total number of glomeruli and individual glomerular cell types in the normal kidney. *Cell Tissue Res* 1992; 270(1): 37-45.
16. Remuzzi A, Pergolizzi R, Mauer MS, et al. Three dimensional morphometric analysis of segmental glomerulosclerosis in the rat. *Kidney Int* 1990; 38: 851-56.
17. Richter A, Hammann M. Effect of adenosine receptor agonists and antagonists in a genetic animal model of primary paroxysmal dystonia. *Br J Pharmacol* 2001; 134(2): 343-52.
18. Fraser CM. The Veterinary Manual. 7th ed. Rahway NJ: Merk and Co. Inc; 2000. p. 1643-44.
19. Bruce C, Yates DH, Thomas PS. Caffeine decreases exhaled nitric oxide. *Thorax* 2002; 57(4): 361-63.
20. Darmani NA, Broudiey KJ. Action and interactions of adenosine theophylline and enprofylline on the guinea-pig spirally thrachea. *Eur J Pharmacol* 1986; 125(3): 353-62.