اثر کافئین بر تکامل کام در جنین Rat

سید مسیح حسینی* - ملک مسعود انصار**

* مربی علوم تشریح، دانشکده پزشکی شهرکرد

* مربی علوم تشریح، دانشگاه علوم پزشکی گیلان

چکیده

پژوهش حاضر با هدف بررسی تاثیر کافئین روی تکامل کام انجام گردیده است. با توجه به اینکه تکامل استخوانهای کام از روز سیزدهم با رشد استخوانها آغاز می‌گردد و جوش خوردگی آنها در روز شانزدهم رخ می‌دهد، بعد از انتخاب رات‌های از نوع Albine Wistar و جفت‌گیری آنها به طریق منوگام، روز صفر حاملگی مشخص گردید و راتها در دو گروه شاهد و مورد آزمایش قرار گرفتند.

یک دز ۸۰ mg/g کافئین (۱٪) در روزهای سیزدهم، چهاردهم و پانزدهم حاملگی به گروه آزمایش به صورت داخل صفاقی تزریق گردید و همین مقدار سرم فیزیولوژی به گروه شاهد از طریق مشابه و در روزهای مشابه تزریق شد. طی روزهای شانزدهم تا نوزده و نیم حاملگی هر ۴ ساعت یکبار گروهی از مادران هر دو گروه آزمایش و شاهد را با کلروفرم بیهوش کرده جنین به طریق سزارین از رحم مادران خارج گردید و بلافاصله طول CR و وزن جنین اندازه‌گیری شد و سپس به فیکساتور منتقل گردید آنگاه برشهایی به ضخامت ۵ میکرون تهیه و با استفاده از چهار نوع رنگ‌آمیزی فولگن، تولولیدین بلو و PAS رنگ‌آمیزی شدند این بررسی به این نتیجه رسید که کافئین موجب تأخیر در جوش استخوانهای کام در گروه آزمایش نسبت به گروه شاهد گردید که میانگین مدت تاخیر در حدود ۳۲ ساعت بود.

کلید واژه‌ها: تکامل / جنین / کافئین / کام

مقدمه

کافئین به خانواده‌ای از مواد شبه مخدر متعلق است که نام آن متیل گزانتین (Methylxanthine) می‌باشد. بعضی از متیل گزانتین‌های طبیعی عبارتند از کافئین که در قهوه وجود دارد، تئوفیلین که در چای و تئوبرومین که در کاکائو یافت می‌شود. این سه ترکیب نامبرده یعنی تئوفیلین و تئوبرومین و کافئین از نظر شیمیایی بسیار شبیه به هم هستند. و همچنین دارای اثرات رفتاری و فیزیولوژیکی مشابه نیز می‌باشند.

امروزه رایج‌ترین منبع متیل گزانتین‌ها شامل: قهوه، چای، شکلات‌های قهوه، کاکائو، نوشابه‌های کولا و همچنین بیش از ۲۰۰ نوع فراورده دارویی است که درصدهای گوناگون از آنها را کافئین تشکیل داده است، و از آن جمله می‌توان به داروهای ضد آلرژی، ضد بی‌خوابی داروهای ضد آپنه، و داروهایی که در درمان آسم بکار می‌روند(۱) اشاره کرد. همچنین کافئین به عنوان یک ترکیب شمیایی متیل گزانتین طبیعی در اجزاء ساختمانی بیش از ۶۰ گونه گیاهی حضور داشته و در قالب ترکیباتی فعال و اساسی در رژیم غذایی انسان و نوشیدنی‌هایی که بر پایه عصاره‌های گیاهی تهیه می‌شوند، عمل می‌کنند. این ماده به عنوان یک عامل طعم زا در غذاهایی همچون دسرهای لبنیاتی، نباتی و در نوشیدنی‌هایی حاوی کولا، چای و قهوه وجود دارد(۲).

کافئین از دستگاه گوارش بطور کامل جذب می‌شود و به سهولت از خون و از موانع مختلف مانند سد خونی مغزی و

جفت دیگر موانع به راحتی عبور می‌کند. بخصوص پس از حدود یک ساعت بعد از مصرف کافئین در مایع آمنیوتیک، ترشحات رحمی، بافت‌های جنینی و شیرمادر یافت می‌شود و بنابراین کافئین به سرعت از رگ‌ها به بافت‌های بدن نفوذ می‌کند، مثلاً در موش کافئین پنج دقیقه بعد از مصرف در همه بافت‌های بدن ظاهر می‌شود و بعد از حدود یک ساعت به موازات و تناسب با میزان آب بین بافت‌ها توزیع می‌شود(۱).

کافئین پس از تزریق در شیر مادر، ترشحات رحمی، مایع آمنیون بلاستوسیت و سایر بافت‌های جنینی قابل تشخیص می‌باشند(۶،۱۲،۱۳).

کافئین با کاهش قطر عروق در سیستم گردش خون موجب کاهش خونرسانی، غذا و اکسیژن به جنین شده و متعاقب آن کاهش در رشد (کاهش وزن و کوچک شدن اندامها و همچنین نقص در سیستم اسکلتی بدن) بدن جنین را پدیدار می‌کند با دریافت کافئین توسط جنین، افزایشی در فشار خون جنین و تولید آریتمی‌های قلبی مشهود خواهد بود. مصرف روزانه ۲۰۰ میلی گرم کافئین به وسیله مادر (یک تا سه فنجان قهوه در روز) موجب کاهش میزان گردش خود در پرزهای جفتی (Villi) (خون جفتی- رحمی) می‌شود (Beavlas, 1987). تزریق کافئین به موش و Rat و هامستر حامله علاوه بر افزایش مرگ و میر (Mortality) مادران و ناهنجاریهای مختلف باعث تاخیر در بسته شدن کام و کام شکری می‌شود(۲،۵،۹،۱۴).

اثرات کافئین معمولاً وابسته به دوز می‌باشد و عمدتاً عبارتند از:

۱- با آزادسازی کاته کولامین‌ها باعث تنگ شدن عروق جفتی- رحمی می‌شود که این عمل باعث کاهش رشد جنین در همه ابعاد می‌شود(۳).

۲- اثر بیوشیمیایی آن عبارت از مهار آنزیم فسفودی استراز، تحریک کلسیم درون سلولی و آنتاگونیسم پروستاگلاندین‌ها می‌باشد. در مکانیسم مهار عمل آنزیم فسفودی استراز، تحریک کلسیم درون سلولی و آنتاگونیسم پروستاگلاندین‌ها می‌باشد. در مکانیسم مهار عمل آنزیم فسفودی استراز که بطور رقابتی با آن عمل می‌کند و مانع از تبدیل cAMP (فعال) به 5-AMP (غیرفعال) می‌شود که در طی این عمل مقدار غلظت cAMP یا پیامبر ثانوی افزایش یافته که این خود به عنوان واسطه عمل هورمون‌ها و واسطه‌های شیمیایی به فعالیت می‌پردازند(۴و۲).

۳- کافئین باعث کاهش در ترشح T4,T3,TsH,GH و افزایش در سطوح ترشحی رنین و Angl پلاسما می‌شود(۵).

مواد و روش‌ها

در این پروژه جهت بررسی اثرات کافئین بر مرفولوژی جنین، چسبندگی زوائد کامی و استخوانسازی در کام تعداد ۳۰ عدد جنین رات از نوع Albino wistar و تعداد ۱۱۰ عدد جنین از همان نوع برای گروه شاهد (۱۰ عدد) و یک گروه جنین (۱۰ عدد) نیز برای گروه آزمایش تا روز نوزدهم جنین انتخاب کردیم. با این تفاوت که برای روز ۱۸/۵ در گروه آزمایش و شاهد تعداد جنین‌ها بالا می‌باشد (تعداد ۱۵۳ عددبرای‌گروه‌آزمایش وتعداد۸۵ عددبرای‌گروه شاهد).

رات‌های مادر را در هر دو گروه آزمایش و شاهد برای اولین بار بعد از بلوغ به وزن تقریبی ۲۰۰-۱۷۰ گرم به صورت مونوگامی باردار شدند حرارت اطاق حیوانات حدود ۲۲-۲۰ درجه سانتی گراد بود و رات‌های نر و ماده قبل از جفت‌گیری ۱۲ ساعت در تاریکی و ۱۲ ساعت در روشنایی قرار گرفتند. رات‌های نر و ماده به مدت ۲ ساعت درکنار هم قرار دادیم (بصورت مشاهده‌ای) سپس با مشاهده پلاک واژن و تهیه اسمیر و مشاهده اسپرم صفر حاملگی را مشخص کردیم با این کار درصد خطا یک ساعت بود سپس در روزهای ۱۳و ۱۴و ۱۵ مقدار ۸۰mg/kg کافئین یک درصد (یک گرم در ۱۰ سی‌سی سرم فیزیولوژیکی) به صورت (IP) داخل صفاقی به گروه آزمایش تزریق کردیم و همچنین مقدار ۸۰mg/kg سرم فیزیولوژیکی را به گروه شاهد نیز تزریق کردیم پس از روز ۱۶ جنینی تا روز ۱۹/۵ به فاصله هر ۴ ساعت یکبار (برای مشاهده دقیق و تکامل مراحل مختلف زوائد کامی و استخوانسازی) مادران هر دو گروه‌آزمایش وشاهدراباکلروفرم بیهوش کرده و جنین‌ها را به روش سزارین‌ازرحم‌رات‌های‌باردارخارج نمودیم و بلافاصله بعدازاین عمل طول CR و همچنین وزن آنها را اندازه گرفتیم و سپس آنها را به فیکساتیو منتقل کردیم. و سپس برشهایی به ضخامت ۵ میکرون تهیه کرده و با استفاده از چهار نوع رنگ‌آمیزی PAS,H&E و فولگن و تولوئیدبن بلو آنها را رنگ‌آمیزی کرده و مورد مطالعه قرار دادیم (۶و۲و۱).

نتایج

ما در این تحقیق مراحل مختلف زوائد کامی را به شش مرحله تقسیم کرده‌ایم که به ترتیب عبارتند از:

۱- مرحله اول: زوائد کامی هر دو عمودی
۲- مرحله دوم: زوائد کامی عمودی- افقی
۳- مرحله سوم: زوائد کامی هر دو افقی
۴- مرحله چهارم: زوائد کامی هر دو در حال تماس
۵- مرحله پنجم: مرحله قطعه قطعه شدن اپیتلیوم محل تماس و ناپدید شدن آنها.
۶- مرحله ششم: بسته شدن کامل و شروع استخوانسازی

در این قسمت دو گروه آزمایش و شاهد را طبق جدول شماره ۱ با هم مقایسه کرده و تفاوت تاخیر زمانی را در هر مرحله از مراحل مختلف تکامل زوائد کامی در گروه آزمایش نسبت به گروه شاهد حاصل از اثرات کافئین را بررسی کرده‌ایم (جدول ۱).

جدول ۱: جدول زمانی میانگین تاخیر مراحل مختلف زوائد کامی گروه آزمایش نسبت به شاهد (به روز و ساعت) در موش صحرایی تحت مصرف کافئین

گروهها حالتهای مختلف زوائد کامی	گروه شاهد (روز و ساعت)	گروه آزمایش(روزوساعت) مصرف کافئین ۸۰ mg/kg	میانگین تاخیر زمانی گروه آزمایش نسبت به گروه شاهد (ساعت)
مرحله اول زوائد کامی هر دو عمودی	۱۶/۰۴±۴	۱۶/۲۰±۴	۱۶±۴
مرحله دوم زوائد کامی عمودی- افقی	۱۶/۰۸±۴	۱۷/۰۸±۴	۲۴±۴
مرحله سوم زوائد کامی هر دو افقی	۱۶/۱۶±۴	۱۷/۱۲±۴	۲۰±۴
مرحله چهارم زوائد کامی هر دو در حال تماس و تشکیل درز میانی	۱۶/۲۰±۴	۱۸/۰۰±۴	۲۸±۴
مرحله پنجم مرحله قطعه قطعه شدن اپیتلیوم محل تماس و ناپدید شدن آن	۱۷/۰۴±۴	۱۸/۱۲±۴	۳۰±۴
مرحله ششم مرحله جوش خوردن کامل و استخوانسازی	۱۷/۱۲±۱۲	۱۹/۰۰±۴	۳۶±۱۲

منابع

1. Endan M. Caffein and its Effects on Pregnancy and the Neorate. J of Nur Midwifery 1991: 36(4): 331-6.
2. Bette J. Caffeinated Beverages and Low Birth Weight. AM J of Public Health 1994: 76(9): 1299-1300.
3. Wells JN. Phosphodietrase Inhibitors Age Tools in Cyclic Nuclootid Research. Mol Cell Endocrinol 1981: 23: 1.
4. Aage Trevdal. Coffe Consumptio and From Covonary Heart Disease in Middle. Nor Wegian Men and Women. J Med 1990: 300: 500-9
5. Clozol. Pharmacokinetic Parameters and Teratogenic and Points Following Prenatal Ceffeine Exposure. Ped Res 1983: 17: 592- 95.
6. Soika LF. Caffeine Ingestion During Prengincy in Uteruo Exposure and Possible Effect. Semin Periatol 1981: 15: 305- 9.
7. Beavlax L. Caffeine Cegarette Interaction on Fetal Growth. Am J Obs and Gye 1991: 11: 1236- 40.
8. Ress JM. Effeects on the Offes Pring of Repeared Caffeine Adrninistration to Pregnant Rat. J Report Fertil 1990: 34: 495- 499.
9. Roker. Caffeinated Beverage and Decreased Fertility. Lancent 1990: 18: 368-385.
10. Bergman. Effect of Caffeine Consum Ption on Pregnancy Out Come. J of Reproductine Med 1991: 33: 945-956.
11. Fujii T, Nishimura H. Adrers Effects of Prolonged Adminis Tration of Coffeine on Rat Fetus. Toxocology and Pharmacology 1974: 22: 449-547.
12. Ramakont. The Effect and Application of Caffeine. J Discover 1991: 45:156-8.
13. Holik. etal. Caffeine Elimination in late Pregnancy. J Federation Prioceednings 1992: 38: 266.
14. Nishimura H. Congernital Maltonnation Of Ferspring on Mic Treated with Caffeine Adrininistration. Japon J Pharmacology 1969: 1: 134-5.

The Effects of Caffeine on the Development of the Palat

Hosseini M, Ansar MM

ABSTRACT

The Purpose of this research was to study the effects of caffeine on the development of the palate. Since the development of palatal shelves from the 13th day starts by the growth of palatal shelves and the fusion of them occurs in the 16th day. After choosing wistar rat and coupling them monogamously, we determined pregnancy zero day and placed them in the control and test groups.

A dose of 8O mg/kg caffeine (1%). In the 13th, 14th and 15th day of pregnancy was injected to the test group intraperitoneally and a dose of 8omg/kg of physiological serum was injected to the control group in the same way in the 13th. 14th and 15th day of pregnancy. During the 16th to 19.5th day of pregnancy, every four hours a single group of test and control rats were victimized and their fetuses were separated from the pregnant rats by cesarean and were fixed separately in formalin and sectioned put 5micron thick. The study was complated by applying the following staining techniqucs: Feulgen, Toluidine blue,P.A.S and H& E: the following result were obtained:

Caffeine causes a delay in the fusion of the palatal shelves in the test group compared to control group: the avarage time of delay was about 32 hours.

Keywords: Caffeine/ Embryo/ Evoluation/ Palate