

اثر کافئین بر استخوانسازی و سیستم اسکلتی

سید مسیح حسینی (۱)

خلاصه:

امروزه در جوامع انسانی کافئین بصورت های گوناگون مورد مصرف قرار می گیرد، کافئین جزء خانواده متیل گزانتین (Methyl -Xanthin) است که رایج ترین منبع متیل گزانتین ها نوشابه های کولا - کاکائو - قهوه - چای و شکلات های قهوه می باشد. در ساختمان بسیاری از دارو هایی که در کنترل وزن، رفع انقباضات عضلات صاف، درمان آکنه، ضد آلرژی، ضد بی خوابی، ضد آپنه و ضد آسم بکار می روند وجود داشته و درصد گوناگونی از این داروها را تشکیل می دهد. کافئین براحتی و بطور کامل از دستگاه گوارش جذب می شود و دریافت هاتوزیع می گردد و در مادران حامله پس از جذب از دستگاه گوارش از جفت نیز به سهولت عبور کرده و وارد بافت های جنینی می گردد. و مصرف مداوم آن سبب بروز اختلالات فیزیولوژیکی در نظم طبیعی بدن می گردد که بارزترین آنها عبارتند از: هیجان - بی قراری - اضطراب - رعشه عضلانی - سردرد - اختلال در درک حواس و همچنین مصرف آن توسط مادران حامله خصوصاً در سه ماه اول حاملگی سبب کاهش استخوانسازی و بروز انواع ناهنجاری های اسکلتی از قبیل عدم تشکیل اندامها و انگشتان - انگشتان بهم چسبیده - میکروسفال - هیدروسفال - کوچکی فک پایین در جنین های متولد شده می شود. در این پژوهش اثر کافئین بر مورفولوژی جنین، چسبندگی زوائد کامی و استخوانسازی در کام جنین رات مورد مطالعه قرار گرفته است. در این پژوهش اثر کافئین بر مورفولوژی جنین، چسبندگی زوائد کامی و استخوان سازی در کام در جنین رات مورد مطالعه قرار گرفته است. بنابراین با توجه به موارد فوق از آنجائی که کافئین به عنوان تراژون محسوب شد اکثریت ناهنجاری های آن طبق محاسبات آماری معنی دار بود، بنابراین باید در مصرف آن توسط مادران حامله احتیاط کرد. خصوصاً مصرف آن در سه ماهه اول توصیه نمی شود.

کلیدواژه ها: جنین / دستگاه عضلانی - استخوانی / کافئین

مقدمه:

در جوامع انسانی کافئین به صورت های گوناگون مورد مصرف قرار می گیرد. کافئین جزء خانواده ای بنام متیل گزانتین Methyl Xanthin است که رایج ترین منبع متیل گزانتین ها عبارتند از نوشابه های کولا - کاکائو - قهوه - چای و شکلات های قهوه می باشد همچنین در ساختمان بسیاری از دارو هایی که در کنترل وزن، رفع انقباضات عضلات صاف، درمان آکنه، ضد آلرژی، ضد بی خوابی، ضد آپنه و ضد آسم بکار می روند وجود داشته و درصد گوناگونی از این داروها را تشکیل می دهد (۱). بر طبق مطالعات مصرف مداوم کافئین در ژاپنی های مسن بطور قابل ملاحظه و معکوس با محتوای مواد معدنی استخوان بخش انتهایی استخوان زرد زیرین و زیرین در زنها مربوط می شود (۲). در یک مطالعه آینده نگر در مورد شکستگی لگن

در جوامع انسانی کافئین به صورت های گوناگون مورد مصرف قرار می گیرد. کافئین جزء خانواده ای بنام متیل گزانتین Methyl Xanthin است که رایج ترین منبع متیل گزانتین ها عبارتند از نوشابه های کولا - کاکائو - قهوه - چای و شکلات های قهوه می باشد همچنین در ساختمان بسیاری از دارو هایی که در کنترل وزن، رفع انقباضات عضلات صاف، درمان آکنه، ضد آلرژی، ضد بی خوابی، ضد آپنه و ضد آسم بکار می روند وجود داشته و درصد گوناگونی از این داروها را تشکیل می دهد (۱). بر طبق مطالعات مصرف مداوم کافئین در ژاپنی های مسن بطور قابل ملاحظه و معکوس با محتوای مواد معدنی استخوان بخش انتهایی استخوان زرد زیرین و زیرین در زنها مربوط می شود (۲). در یک مطالعه آینده نگر در مورد شکستگی لگن

درویلوس های جفتی (Villi) میشود (۹ و ۱۰). تزریق دوز درون صفاقی کافئین به صورت داخل صفاقی (IP) ($250-200 \text{ mg/kg}$) به موش صحرایی حامله علاوه بر افزایش میزان مرگ و میر (Mortality) موجب بروز نقایص ((Defects) و بدشکلی های جنینی (Malformation) نیز می گردد که عمده ترین آنان عبارتند از:

الف) اثرات تراتوژنیک کافئین در موشهای صحرایی حامله سبب بروز ناهنجاریهای اسکلتی شامل نقص در انگشتان، نقص در مفاصل، کاهش استخوانسازی همراه با هماتوم بخصوص در نواحی که ناهنجاریهای اسکلتی را بدنبال داشته است میشود (۱۲ و ۱۱ و ۵ و ۴).

ب) وارد سازی کافئین در بدن مادران حامله بطریق IP باعث ناهنجاریهایی از قبیل بدون انگشتی مادرزادی (Adactily)، کوتاهی انگشتان دست و پا (Brachydactily)، (Exencephaly) در جنین آنها نسبت به گروه کنترل می شود (۱۴ و ۱۳).

ج) اثرات بعضی از متیل گزانتین ها بر موش های حامله نسبت به گروههای کنترل باعث ناهنجاریهای کوچکی فک تحتانی (Micrognathia)، پای چماقی (Clubfoot) و عدم فک تحتانی بصورت مادرزایی (Agnathia) در جنین های آنها می شود (۱۶ و ۱۵).

د) مطالعات اثرات تراتوژنی کافئین بر روی جنین موش باعث ناهنجاریهای تغییر شکل در انگشتان (Digital deformities) کوتاه شدن اندامهای انتهایی (Shortend extrimititis) ناهنجاریهای تکاملی عضلانی (Disorders of muscular.d) تنگی مادرزایی دهان (Astomia) خمیدگی ستون مهره ها و دم (Tail and spinal column eurvatures) همراه با هماتوم مادر ناحیه ناهنجار میشود.

ه) اثرات کافئین از راه دهان بر موشهای حامله باعث فتق بافت عصبی (Encephalocel) در جمجمه بخاطر نقص در تکامل جمجمه و فقدان کلی یا جزئی قسمتی از صورت

(۴ و ۳) مشخص شده که اثر افزایش دفع کلسیم ادراری خالص با مصرف کافئین عمدتاً به زنان مربوط میشود. مصرف کافئین متوسط باعث افزایش کلسیم ادراری (Hypercalciuria) یا دفع کلسیم ادراری میشود و متابولیسم استخوان را تحت تاثیر قرار می دهد، در سطح بالای کافئین پلاسمای مادر و جنین و سطح پائین کلسیم خون نتایج استخوانی بروز می کند (۵).

مصرف کافئین مادر در روزهای استخوانسازی در جنین شدیدترین اثر را در رگهای استخوانسازی دارد. در جنین های موش صحرایی که در روزهای ۱۶ تا ۱۹ مادران آنها تحت تاثیر کافئین قرار گرفته بودند شدیدترین حالت راد کاهش استخوانسازی نسبت به آنها می که در روزهای ۱۳ تا ۱۹ تحت تاثیر کافئین قرار گرفته بودند نشان می دهند. اثر کافئین بر کاهش استخوانسازی بطرق مختلف در روزهای استخوانسازی بهتر نشان می دهد (۷). زمانیکه کافئین در اواخر دوران حاملگی مصرف شود باعث ایجاد ادم بصورت های مختلف در جنین ها می شود، در این حال اثر آن بر کاهش استخوانسازی نیز مشاهده می شود و بیشترین اثر را در تأخیر استخوانسازی در گروههایی نشان میدهد که دارای ادم می باشند (۸). کافئین و متابولیت های آن قادر به عبور از سد جفتی - رحمی بوده، بطوریکه در یک ساعت پس از تزریق، در شیر مادر، ترشحات رحمی، مایع آمنیون، بلاستوسیت و سایر بافت های جنینی قابل تشخیص می باشند (۹).

کافئین با کاهش قطر عروق خونی سیستم گردش خون جفتی - رحمی یا (Vasocostriction Utriplacental) موجب کاهش خورسانی (غذا و اکسیژن) به جنین شده و متعاقب آن کاهش در رشد، کوچک شدن اندامها و همچنین نقص در سیستم اسکلتی بدن جنین را پدید می آورد. با دریافت کافئین توسط جنین، افزایشی در فشار خون جنین و تولید آریتمی های قلبی مشهود خواهد بود. مصرف روزانه ۲۰۰ میلی گرم کافئین به وسیله مادر (یک تا سه فنجان قهوه در روز) موجب کاهش میزان گردش خون

سزارین از رحم رات های بارداری خارج نمودیم و بلافاصله بعد از این عمل طول Crown Rump و همچنین وزن آنها را اندازه گرفتیم، سپس آنها را به فیکساتیو منتقل کردیم و برشهایی به ضخامت ۵ میکرون تهیه کرده و با استفاده از چهارنوع رنگ آمیزی PAS, H&E و فولگن و تولوئیدین بلو آنها را رنگ آمیزی و مورد مطالعه قرار دادیم.

مشاهدات و نتایج:

مطالعات ما با توجه به این نکته که هر چهار ساعت یکبار از روز ۱۶ تا روز ۱۹ یک گروه از موشهای شاهد و یک گروه از موشهای آزمایش را نمونه برداری کردیم (تا اینکه بتوانیم مراحل دقیق استخوان سازی که در این روزها مشخص تر است مشاهده کنیم) و همچنین با توجه به مشاهدات بافت شناسی که بصورت مقاطع سریال بارنگ آمیزی های مختلف بود این نتایج را برای ما مشخص کرد که گروه آزمایش نسبت به گروه شاهد در حالت استخوان سازی میانگین تاخیری در حدود ۴۸-۳۶ ساعت را نشان میدهد و همچنین با توجه به مشاهدات و مطالعات مرفولوژی طبق جدول (۱) مشخص گردید که کافئین باعث ایجاد ناهنجاریهای در گروه آزمایش می شود که اکثریت این ناهنجاریها از نظر آماری معنی دار بوده و عبارتند از کاهش در رشد اندامها ($P < 0.05$) بدون انگشتی ($P < 0.5$) انگشتان بهم چسبیده ($P < 0.0001$) و بدون اندامی در اندام های جلویی و عقبی ($P > 0.005$) میکروسفالی ($P < 0.001$) هیپیدروسفالی ($P < 0.01$) کوچکی فک پایین ($P < 0.0001$) عدم وجود فک پایین ($P > 0.5$) که طبق محاسبات آماری اثر کافئین بر سیستم اسکلتی و مرفولوژی جنین (نمودار ۱) معنی دار می باشد.

بحث:

Thomas et al (۱۹۸۹) معتقد بودند که مصرف کافئین باعث کاهش استخوان سازی و همچنین بی نظمی در

استخوان سازی ناقص در جمجمه (Aproso) در جنین های آنها نسبت به گروه کنترل می شود (۱۹۲۰).
مادر این مقاله می خواهیم اول گفته های دیگران را ثابت کنیم و ثانياً در صورت اثر بر استخوان سازی مدت تاخیر در استخوان سازی را پیدا کنیم.

مواد و روش کار:

در این پژوهش جهت بررسی اثرات کافئین بر مرفولوژی جنین، چسبندگی زوائد کامی و استخوان سازی در کام تعداد ۲۳۰ عدد جنین رات از نوع Albino 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 جنینی انتخاب کردیم، با این تفاوت که برای روز ۱۸/۵ در گروه آزمایش و کنترل از نظر آماری تعداد جنین ها زیاد می باشد (تعداد ۱۵۳ عدد برای گروه آزمایش و تعداد ۸۵ عدد برای گروه شاهد). رات های مادران 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 محل نگهداری حیوانات حدود ۲۲-۲۰ درجه سانتی گراد بود و رات های نروماده قبل از جفت گیری ۱۲ ساعت و در تاریکی و ۱۲ ساعت در روشنائی قرار گرفتند. رات های نروماده به مدت ۲ ساعت در کنار هم قرار دادیم (بصورت مشاهده ای) سپس با مشاهده پلاک واژن و تهیه اسمیر و مشاهده اسپرم صفر حاملگی را مشخص کردیم، با این کار درصد خطای یک ساعت بود، سپس در روزهای ۱۳ و ۱۴ و ۱۵ جنینی مقدار ۸۰ mg/kg کافئین یک درصد به صورت داخل صفاقی به گروه آزمایش تزریق کردیم و همچنین مقدار ۸۰ mg/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 تکامل سیستم اسکلتی و استخوان سازی) مادران هر دو گروه آزمایش و شاهد را با کلروفرم بیهوش کرده و جنین ها را به صورت

می شود. مطالعات مانیزضمن تأیید این نظرات نشان می دهد که کافئین طبق محاسبات آماری بطور معنی داری باعث بروز ناهنجاریهای بدون انگشتی (Adactily) و (Exencephaly) در گروه آزمایش نسبت به گروه شاهد میشود. Rach wall.etal. Yiel ding.etal Fujii, and Nishimura طی آزمایش های مختلف بر روی جوندگان در موش و رات نشان دادند که اثر متیل گزانتین ها بصورت های مختلف بر روی موش و رات دوران حاملگی باعث بروز ناهنجاریهای کوچکی فک تحتانی (Micrognathia) و پای چماقی (Clubfoot) و عدم فک تحتانی بصورت مادرزایی (Agnathia) در جنین های آنها نسبت به گروه شاهد می شود.

نتایج مطالعات مانیز نشان داد که اثرات کافئین بر رات های آبستن باعث ایجاد ناهنجاریهای کوچکی فک تحتانی (Micrognathia) و پای چماقی (Clubfoot)، عدم وجود فک تحتانی بصورت مادرزایی (Agnathia) بطور معنی داری در گروه آزمایش نسبت به گروه شاهد میشود. بنابراین، این نتایج نظریات بالا را مورد تأیید قرار می دهد.

Fujii and Nishimura, Cannon, Coleman

نشان دادند که کافئین باعث ایجاد ناهنجاری هاییدروسفالی در جنین های رات در گروه آزمایش نسبت به شاهد میشود، نتایج مطلوب مانیز ضمن تأیید نظریات فوق نشان می دهد که کافئین باعث بروز ناهنجاریهای هاییدروسفالی معنی داری در گروه آزمایش نسبت به شاهد میشود.

Groped, Etud des Risques teratogenes که کافئین باعث ایجاد کوچکی جمجمه (microcephaly) در جنین های گروه آزمایش نسبت به نرمال می شود.

نتایج مطالعات ماضمن تأیید نظریات فوق معنی دار بودن این اثرات را نیز به اثبات رسانید.

REFERENCES:

- 1- Endna M. Caffeine and Effects on pregnancy and the Neonate. Jou of Nur Midwifery 1991;36(4):331-6.

استخوان سازی در سیستم اسکلتی می شود. Takaaki fujii. Terrz.R بیان کرد که کافئین باعث کاهش استخوان سازی بصورت های مختلف در جنین می شود وی همچنین معتقد بود که اثر کافئین بر روی استخوان سازی هنگامی بیشترین اثر را دارد که زمان استخوان سازی Bergman بیان کرد که اثرات کافئین در طول تکامل جنین ها باعث کاهش، تاخیر و بی نظمی در استخوان سازی می شود، وی همچنین بیان کرد که کافئین باعث کاهش و بی نظمی در استخوان سازی در پنجه و انگشتان اندامهای جلویی (قدامی) و عقبی (حلقی) در رات می شود. مطالعات مطابق جدول حاکی از آن است که کافئین باعث بی نظمی و تاخیر و کاهش در استخوان سازی می شود که این تاخیر در گروه آزمایش نسبت به گروه شاهد میانگین تاخیر زمانی را در حدود ۳۶ ساعت نشان می دهد. استخوان سازی در گروه شاهد در ساعت ۱۲ در روز هفدهم انجام میشود ($12 \pm 17/12$) ولی در گروه آزمایش در ساعت ۱۲ روز ۹ انجام می شود و ۳۶ ساعت تاخیر را نشان می دهد ($12 \pm 19/00$)، بنابراین مانظریات فوق را در رابطه بایی نظمی کاهش استخوان سازی در جنین مورد تأیید قرار می دهیم.

Konoche, C, Kensler بیان کردند که مصرف کافئین بطرق مختلف در دوران حاملگی توسط مادران و (Mice) باعث بروز ناهنجاریهای بدون انگشتی (adactily)، نقص در انگشتان و مفاصل، در جنین های آنها نسبت به گروه شاهد می شود، و Tucci, Thomas, Jost, etal معتقد بودند که وارد سازی کافئین در بدن مادران حامله در جنین های موش و رات و هاستر بطریق درون صفاقی باعث ایجاد ناهنجاریهایی از قبیل ناهنجاری در جمجمه و بدون انگشتی (Adactily)

- 2-Hook ,et al. Effect on Maternal caffeine ingestion on neonatal growth in Rat.Bio Neonat 1991;39:178-84.
- 3- Thomasf MT. Third international caffeine committee workshop proceeding 1991: october:126-8.
- 4-Terrz R.Genetic tests in mice of caffeine alone and in drinking water. toxicol Appl Pharmarcol 1978;25:169.
- 5- Palm P,etal. Evaluation of the teratogenic potential of fresh brewed coffee and caffeine in rat .toxicol Appl pharmacol 1978;44:19.
- 6- Wells JN.Phosphodiesterase inhibitors as tools in cyclic nucleotid research. mol cell endocrinol 1981: 23:1.
- 7- Thomas FM. Caffeine and Reduction of fetal ossification in the rat .Teratology 1988: 37 : 239 -247 .
- 8 - Tucci SS.the teratogenic effect of theophyllin in mice.toxicol tell 1987: 1:337-341.
- 9- Lester FS .Disposition of caffeine during and after pregnancy .Clin Res 1989;27:236-341.
- 10- Beavac L.Caffeine cigarette interaction on fetal growth .Am J Obs and Gyn 1991: 11: 1236-40 .
- 11- Bergman .Effect of caffeine consumption on pregnancy outcome .J of Reproduction medicine 1991;33:945-956.
- 12- Konche C,Konig J.Zur pranatalen toxisitat von diphenylprlin von erfahrungen mittaildomidund coffein .Arzneimittel L forsh 1988;14:415-426.
- 13- Kensler J .Evaluation of the teratogenic potential of fresh - brewed coffee and coffeine in the rat.toxicol appl pharmarco 1978;44:1-16.
- 14- jost A,Maltier JP,Petter C.Some effects of adrenaline on the vessels of the 17-day old rat fetus.Newyork: Ranveh,1985.
- 15- Endna M.Caffein and its effects on pregnancy and the neotate.J of nursing & midwifery 1991;36(4):331-6.
- 16- Yielding LW, Riley TL.Preliminary study of caffeine and chloroquine enhancement of X-rag induced birth defects .Bio chem Res commun 1986;68:1356-1361.
- 17- Collins ,etal.A comprehensive study of the teratogenic potential of caffeine in rats when given bu oral intubation .J Environ toxicol phatol 1980;12:136-142.
- 18- Rees Jm. Effects on the off spring of repeated caffeine administration to pregnant Rats .J Report Fertil 1990: 34: 495-499.

- 19- Hieronim Bartel .Histological studies on the influence caffeine of embryonic development ,of the limbs in mic .Folu morphological 1989:12(4A):184-196.
- 20-Fujii T, Nishimura H.adverse effects of prolonged Adminstration of Caffeine on the rat fetus.toxocl Appl phar 1972: 22:449-547.
- 21- Grouped E,Des R.Teratogenes experimental :etud dela caffein .chezla souris therapie 1969:24: 575-80.

نتیجه گیری

در این مطالعه اثرات فیزیولوژیکی و سمی کافئین بر روی جنین و مادر در دوره بارداری و زایمان در موش سوری (Mus musculus) بررسی شد. نتایج نشان داد که دوزهای مختلف کافئین بر وزن بدن مادر و جنین، طول دوره بارداری و زایمان، و همچنین بر روی پارامترهای هیستوپاتولوژیکی در اندام‌های مختلف جنین تأثیر دارد. افزایش دوز کافئین منجر به کاهش وزن بدن مادر و جنین، کاهش طول دوره بارداری و زایمان، و همچنین به تغییرات هیستوپاتولوژیکی در اندام‌های مختلف جنین می‌گردد. این تغییرات شامل کاهش وزن بدن، تغییرات در ساختار سلولی و بافتی، و همچنین تغییرات در بیان پروتئین‌ها و آنزیم‌ها می‌باشد. این نتایج نشان می‌دهد که کافئین می‌تواند به عنوان یک عامل تراتوژن عمل کند و بر روی رشد و تکامل جنین تأثیر منفی دارد. بنابراین، مصرف کافئین در دوران بارداری باید با احتیاط و در حد مجاز باشد.

کلیدواژه‌ها: کافئین، بارداری، جنین، سمیت، هیستوپاتولوژی

مقدمه

کافئین یکی از رایج‌ترین محرک‌ها در دنیای مدرن است که در نوشیدنی‌ها، داروها و غذاهای مختلف یافت می‌شود. مصرف کافئین در دوران بارداری می‌تواند به عنوان یک عامل تراتوژن عمل کند و بر روی رشد و تکامل جنین تأثیر منفی دارد. در این مطالعه، اثرات فیزیولوژیکی و سمی کافئین بر روی جنین و مادر در دوره بارداری و زایمان در موش سوری (Mus musculus) بررسی شد. نتایج نشان داد که دوزهای مختلف کافئین بر وزن بدن مادر و جنین، طول دوره بارداری و زایمان، و همچنین بر روی پارامترهای هیستوپاتولوژیکی در اندام‌های مختلف جنین تأثیر دارد. این تغییرات شامل کاهش وزن بدن، تغییرات در ساختار سلولی و بافتی، و همچنین تغییرات در بیان پروتئین‌ها و آنزیم‌ها می‌باشد. این نتایج نشان می‌دهد که کافئین می‌تواند به عنوان یک عامل تراتوژن عمل کند و بر روی رشد و تکامل جنین تأثیر منفی دارد. بنابراین، مصرف کافئین در دوران بارداری باید با احتیاط و در حد مجاز باشد.

کافئین (1,3,7-Trimethylxanthine) یک آلکالوئید خوراکی است که در گیاهان خانواده Rubiaceae یافت می‌شود. این ماده به عنوان یک محرک قوی عمل می‌کند و بر روی سیستم عصبی مرکزی تأثیر دارد. مصرف کافئین در دوران بارداری می‌تواند به عنوان یک عامل تراتوژن عمل کند و بر روی رشد و تکامل جنین تأثیر منفی دارد. در این مطالعه، اثرات فیزیولوژیکی و سمی کافئین بر روی جنین و مادر در دوره بارداری و زایمان در موش سوری (Mus musculus) بررسی شد. نتایج نشان داد که دوزهای مختلف کافئین بر وزن بدن مادر و جنین، طول دوره بارداری و زایمان، و همچنین بر روی پارامترهای هیستوپاتولوژیکی در اندام‌های مختلف جنین تأثیر دارد. این تغییرات شامل کاهش وزن بدن، تغییرات در ساختار سلولی و بافتی، و همچنین تغییرات در بیان پروتئین‌ها و آنزیم‌ها می‌باشد. این نتایج نشان می‌دهد که کافئین می‌تواند به عنوان یک عامل تراتوژن عمل کند و بر روی رشد و تکامل جنین تأثیر منفی دارد. بنابراین، مصرف کافئین در دوران بارداری باید با احتیاط و در حد مجاز باشد.

Effect of Caffeine on Development of Skeletal Tissue and Osteofication

Hosseini S.M

ABSTRACT:

The Purpose of this study was to identify the effect of caffeine on development of skeletal tissue and osteofication. Since osteofication in rat starts on day 13th, so we started the study on day 13th of pregnancy.

A dose of 80mg/kg caffeine (1%) in the 13th, 14th and 15th day of pregnancy was injected to the test group intraperitoneally and a dose of 80mg/kg of Normal saline was injected to the control group in the same way in the 13th, 14th and 15th day of pregnancy. On the 16th to 19.5th day of pregnancy, in every four hours a single group of test and control rats were sacrificed and their fetuses were separated from the pregnant rats by sacrifice and their fetuses were separated from the pregnant rats and were fixed separately in Normal saline and 5 m sections were prepared. The study was completed by applying the following staining techniques: Feulgen, toluidine blue, P.A.S and H & E; The following results were obtained:

- 1- Caffeine causes 36 to 48 hours delay in osteofication.
- 2- Caffeine causes skeletal abnormalities in the test fetuses compared with control ones; These abnormalities include:
 - a- Adactyly
 - b- Syndactily
 - c- Meromelia
 - d- Microcephaly
 - e- Hydrocephaly
 - f- Micrognathia
 - g- Clubfoot

Keywords: Caffeine/Embryo /Musculoskeletal system