Archive of SID

دانشور
پزشکی

بررسی اثر کافئین بر القای آپوپتوزیس در سلول‌های منوسیت خون

نویسندگان: دکترمهوش جعفری[1] و دکتر عذرا ربانی[2*]

۱. استاد یار گروه بیوشیمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌ا...(عج)
۲. استاد مرکز تحقیقات بیوشیمی ـ بیوفیزیک دانشگاه تهران
* نویسنده مسئول مکاتبه: rabbani@ibb.ac.ir

چکیده

سابقه و اهداف: کافئین از ترکیبات فعال الکالوییدی است که در درمان آسم و آپنه در نوزادان به‌کار می‌رود و آثار فارماکولوژی آن، وابسته به غلظت و نوع سلول است. در این مطالعه، اثر کافئین بر القای آپوپتوزیس در سلول‌های منوسیت خون بررسی شده است.

روش بررسی: ابتدا سلول‌های منوسیت خون از خون محیطی تهیه و تحت تأثیرغلظت‌های مختلف کافئین (۸۰ mM–۰/۵) در شرایط استاندارد برای ۲۴ ساعت در آنکوباتور کشت داده شد. سپس اثر کافئین روی درصد بقای سلولی، تولید سوپر اکسید، و میزان قطعه قطعه شدن DNA با روش‌های بیوشیمیایی و ژل الکتروفورز بررسی گردید.

یافته‌ها: نتایج نشان می‌دهد که اثرکافئین وابسته به غلظت است. در غلظت‌های کم کافئین (۱۰mM>)، درصد بقای سلولی افزایش می‌یابد و در غلظت ۵ میلی‌مولار به حداکثر خود می‌رسد. در این محدوده غلظتی، میزان تولید سوپراکسید و قطعه قطعه شدن DNA کاهش معناداری را نشان نمی‌دهند. در غلظت‌های متوسط کافئین (۲۰mM–۱)، درصد بقای سلولی در حد کنترل است. در غلظت‌های بالاتر کافئین (۲۰ mM>)، درصد سلول‌های زنده کاهش و میزان تولید سوپر اکسید افزایش می‌یابد، درحالی‌که در این غلظت‌ها اثر معناداری روی شکست DNA نمی‌گذارد.

بحث: نتایج پیشنهاد می‌کند که غلظت‌های کم کافئین (۱۰ mM>) مانع آپوپتوزیس در سلول‌های منوسیت می‌شود، در حالی‌که غلظت‌های متوسط کافئین (۲۰mM– ۱۰) احتمالاً آپوپتوزیس را القا می‌کند. وقوع نکروز در غلظت‌های بالاتر از ۲۰ mM کافئین در سلول‌های منوسیت احتیاج به مطالعات بیش‌تر دارد.

واژه‌های کلیدی: کافئین، سلول‌های منوسیت خون، آپوپتوزیس، درصد بقای سلولی، تولید سوپر اکسید، میزان قطعه قطعه شدن DNA

دوماهنامه علمی – پژوهشی
دانشگاه شاهد
سال دوازدهم – شماره ۵۶
اردیبهشت ۱۳۸۴

مقدمه

کافئین از مشتقات متیل گزانتینی است که در قهوه، چای، شکلات و نوشیدنی‌های کولاوجود دارد و آثار فارماکولوژی و فیزیولوژیکی مؤثری بر سلول‌های مختلف می‌گذارد که وابسته به غلظت و نوع بافت هدف دارد [۱و۲]. کافئین به‌عنوان متسع‌کننده برنش‌ها در درمان آسم و آپنه نوزادان به‌کار می‌رود [۳]. همچنین با اثر تحریکی بر سیستم اعصاب مرکزی می‌تواند آثار وسیع و متنوعی در بافت‌های مختلف بگذارد که از جمله آن‌ها می‌توان مهار سنتز DNA و پروتئین، مهار ترمیم DNA، مهار القای آنزیم، تغییرات cAMP و تحریک ماهیچه قلب را نام برد [۷–۴].

www.SID.ir

Archive of SID

آپوپتوزیس (Apoptosis) و نکروز (Necrosis) دو نوع مرگ سلولی است که در موجودات زنده تشخیص داده شده و با دو جنبه بیوشیمیایی و مورفولوژی از هم متمایز می‌شوند. آپوپتوزیس، مرگ فیزیولوژیکی است که با حذف سلول‌های ناخواسته، باعث بقا و سلامت موجود زنده می‌شود و عوامل مختلف فیزیولوژیکی و پاتولوژیکی باعث القای آن می‌گردد؛ در حالی‌که نکروز مرگ غیرفعال و پاتولوژیکی است که در برابر عواملی مثل سموم، مقادیر بالای داروها و کمبود مواد غذایی ایجاد می‌شود. در این نوع مرگ سلول‌ها متورم شده و غشاء یکپارچگی خود را از دست می‌دهد و در نتیجه سلول‌ها لیز می‌شوند و برخلاف آپوپتوزیس باعث التهاب در آن منطقه می‌گردد [۱۰-۸].

سلول‌های منوسیت خون، سلول‌های متحرکی هستند که قادر به عبور از جداره دیواره‌های عروق و ورود به بافت‌ها هستند. این سلول‌ها در پاسخ به التهاب و محرک‌های‌شیموتاکتیک، در بافت‌ها تبدیل به سلول‌های ماکروفاژ می‌شوند که دارای فعالیت بیگانه‌خواری بیش‌تر است [۱۱و۱۲]. با توجه به این‌که آثار کافئین بر سلول‌های پستانداران متفاوت است و بررسی آثار کافئین روی هر نوع سلول از جنبه‌های مختلف بیوشیمیایی می‌تواند نحوه عمل این دارو را بر تنظیم فعالیت سلول‌ها روشن سازد، در این مطالعه، اثر کافئین روی القای آپوپتوزیس در سلول‌های منوسیت خون بررسی شده است.

مواد و روش‌ها

مواد شیمیایی: پروتئیناز K (Proteinase K)، تریپان‌بلو، اتیدیوم بروماید، سیتوکروم C، سوپراکسید دیسموتاز (Superoxide dismutase:SOD)، مارکر DNA، فایکول، و دکسترین که از شرکت سیگما خریداری شد. دی‌فنیل‌آمین و ترکیبات دیگر که از شرکت مرک خریداری گردید. از محیط کشت DMEM (Dulbeccos Modified Eagle Medium) و سرم جنین گوساله (Fetal Calf Serum: FCS) خریداری شده از شرکت Gibco استفاده گردید. محیط کشت DMEM با ۳۰ mg/L آسپارژین، ۱۲۰ mg/mL پنی‌سیلین و ۲۰۰mg/mL استرپتومایسین pH = ۷/۴ تهیه گردید و سپس با فیلترهای میلی‌پور ۰/۴۵μM استریل و در ۴°C نگهداری شد. کافئین به‌طور تازه در محیط کشت حل گردید.

تهیه سلول‌های منوسیت خون: سلول‌های منوسیت از خون محیطی داوطلبان سالم بر اساس روش بویوم (Boyum) تهیه گردید [۱۳]. ابتدا خون با ماده ضدانعقاد EDTA با دکستران ۶ درصد مخلوط گردید. بعد از ۱/۵ ساعت در دمای آزمایشگاه، پلاسما جدا و به‌مدت ۱۰ دقیقه در ۲۰۰۰g سانتریفوژ شد. رسوب سلولی در حجم کمی از پلاسمای حاصل مخلوط و به آرامی بر روی فایکول قرار داده شد و برای ۲۰ دقیقه در ۶۰۰g سانتریفوژ گردید. سلول‌های ناحیه بین فازی جمع‌آوری و با سرم فیزیولوژیکی دو بار شستشو داده شدند. سپس سلول‌ها در محیط کشت حاوی ۱۰ درصد FCS به‌صورت سوسپانسیون درآمده، در پلیت‌های متوسط وارد شدند و به‌مدت ۲-۱/۵ ساعت در آنکوباتور واجد ۵ درصد CO_2، دمای ۳۷°C و رطوبت کامل قرار گرفتند. سپس به آرامی محیط رویی در شرایط استریل خارج و کف پلیت‌ها با حجم معینی از محیط کشت سرم‌دار شسته شد و درصد بقای سلول‌ها به‌وسیله تریپان‌بلو و شمارش سلول‌ها توسط متیلن‌گرین انجام گرفت.

کشت سلول‌های منوسیت در حضور کافئین: سلول‌های منوسیت تهیه شده به میزان دو میلیون سلول در هر میلی‌لیتر محیط کشت DMEM حاوی ۱۰ درصد FCS در ظروف کشت استریل وارد گردید. سپس غلظت‌های مختلفی از کافئین (۸۰ mM-۰/۰۵) به محیط کشت اضافه شدند و درآنکوباتور واجد ۵ درصد CO_2، دمای ۳۷°C و رطوبت کامل به‌مدت ۲۴ ساعت قرار گرفتند. پس از اتمام زمان آنکوباسیون، سلول‌های چسبیده به کف پلیت‌ها توسط Rubber Policeman جدا و سوسپانسیون سلولی جهت بررسی درصد بقای سلولی و بررسی بیوشیمیایی به‌کار برده شد.

www.SID.ir

Archive of SID

اندازه‌گیری میزان آنیون سوپر اکسید: پس از اتمام زمان آنکوباسیون، سوسپانسیون سلولی در حضور و عدم حضور غلظت‌های مختلف کافئین در ۲۰۰۰g به مدت ۱۰ دقیقه در ۴°C سانتریفوژ گردید. رسوب حاصل دو بار با بافر فسفات سالین (PBS) شسته و سانتریفوژ گردید. سپس به همه نمونه‌ها، سیتوکروم C ۱۶۰ میکرومولار، فربل میرستیک استات 10^{-6} مولار اضافه و فقط به نمونه کنترل ۶۰ واحد آنزیم سوپراکسید دیسموتاز اضافه گردید. نمونه‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در ۳۷°C قرار داده شدند و در ۶۰۰۰g به مدت ۱۰ دقیقه در ۴°C سانتریفوژ گردیدند و به دقت محلول رویی خارج شد. میزان تولید آنیون سوپراکسید با استفاده از جذب نمونه‌ها در مقابل نمونه کنترل در طول موج ۵۵۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتری شیمادزو (Shimadzu) مدل U.V۲۶۰ محاسبه گردید [۱۴].

اندازه‌گیری قطعه قطعه شدن DNA: سلول‌های منوسیت خون در حضور و عدم‌حضور کافئین پس از اتمام زمان آنکوباسیون در ۲۰۰۰g به مدت ۱۰ دقیقه در ۴°C سانتریفوژ شدند و ۰/۵ میلی‌لیتر بافر لیز سلولی (۱۰ میلی‌مولار تریس HCl، یک میلی‌مولار EDTA pH=۸ و ۰/۲ درصد تریتون X-۱۰۰) به رسوب اضافه گردید و به شدت ورتکس شد و در ۱۵۰۰۰g به مدت ۲۰ دقیقه در ۴°C سانتریفوژ گردید. آنگاه ۰/۵ میلی‌لیتر از بافر لیز سلولی به رسوب اضافه شد. سپس به رسوب (P) و محلول رویی (S) ۰/۵ میلی‌لیتر TCA۲۵ درصد اضافه شد و پس از ورتکس شدید یک شب در دمای ۴°C قرار داده شد و بعد از سانتریفوژ در ۱۵۰۰۰g به مدت ۲۰ دقیقه در ۴°C، روی رسوب لوله‌های S و P، ۸۰ میکرولیتر TCA ۵ درصد اضافه شد و در ۸۳°C به مدت ۲۰ دقیقه آنکوبه شد. سپس به هر نمونه ۱۶۰ میکرولیتر معرف دی‌فنیل‌آمین (۱۵۰ mg/mL دی‌فنیل‌آمین در ۱۰ میلی‌لیتر اسید اسیتک، ۱۵۰ میکرولیتر اسید سولفوریک، ۵۰ میکرولیتر استالدیید ۱۶ mg/mL اضافه شد و برای ۲۴ ساعت در درجه حرارت اتاق آنکوبه شد و جذب نمونه‌ها در طول موج ۶۰۰ نانومتر قرائت گردید و درصد قطعه قطعه شدن DNA محاسبه شد [۱۵].

$$\% \text{ Fragmented DNA} = OD(S) / OD(S) + OD(P) \times 100$$

استخراج DNA: بعد از ۲۴ ساعت انکوباسیون، سلول‌ها در ۰/۵ میلی‌لیتر بافر لیز سلولی (۰/۰۱ میلی‌مولار تریس HCl، یک میلی‌مولار EDTA، ۰/۱ مولار NaCl pH=۸، ۱٪ SDS و ۰/۲ mg/ml پروتئیناز K) در ۳۷°C به مدت یک شب انکوبه شدند. DNA دوبار با یک حجم فنل/ کلروفرم/ ایزوآمیل الکل (با نسبت ۲۵:۲۴:۱) استخراج شد و با ۰/۱ حجم کلرید سدیم ۵ مولار و دو حجم اتانول سرد رسوب داده شد. رسوب DNA با اتانول ۷۰ درصد شسته و با دقت در خلأ خشک شد. نمونه DNA در بافر TBE (۹۰ میلی‌مولار تریس HCl، ۹۰ میلی‌مولار اسیدبوریک و ۲ میلی‌مولار EDTA pH=۸) حل و برای الکتروفورز آماده شد.

ژل الکتروفورز DNA: ژل الکتروفورز افقی با ژل آگاروز ۱/۲ درصد در بافر TBE تهیه شد. پس از حل کردن نمونه‌های DNA در بافر TBE به آن‌ها بافر Loading (۵۰ درصد بافر TBE pH =۸، ۵۰ درصد گلیسرول و ۰/۲۵ درصد برومونفل بلو) اضافه شد. بعد از قرار دادن نمونه‌ها بر روی ژل، به مدت ۱۷ ساعت با ولتاژ ۱۰ الکتروفورز گردیدند. آنگاه با رنگ اتیدیوم برماید، رنگ‌آمیزی و در زیر نور U.V مورد بررسی و عکس‌برداری قرار گرفتند.

محاسبات آماری: با استفاده از آزمون‌های آماری آنالیز واریانس یک طرفه و «تی» نتایج مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و به‌صورت Mean ± SD بیان شد. نتایج با $p<0/05$ معنادار لحاظ گردید.

نتایج

بررسی‌های سیتولوژیک بر روی سلول‌های منوسیت خون نشان داد که ۹۸-۹۶ درصد سلول‌ها زنده و سالم بودند. شکل ۱ درصد بقای سلولی منوسیت‌ها بعد از ۲۴ ساعت کشت‌درحضور و عدم‌حضور غلظت‌های مختلف

www.SID.ir

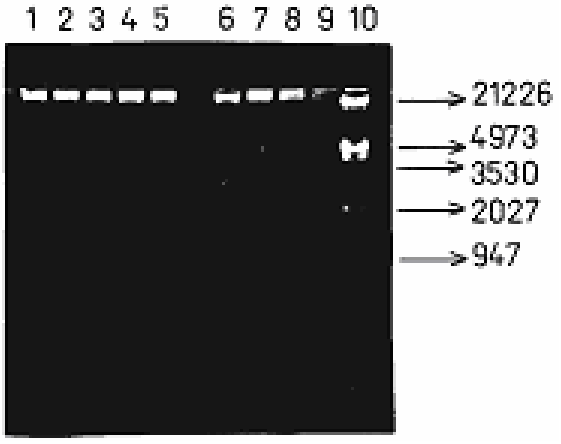
Archive of SID

کافئین را نشان می‌دهد که در غلظت‌های کم کافئین (<۱۰mM) درصد سلول‌های‌زنده‌به‌شدت افزایش می‌یابد و در غلظت ۵ میلی‌مولار حداکثر درصد بقای سلولی مشاهده می‌شود که ۹۵/۳۵ درصد است، آن هم در مقایسه با کنترل که ۸۸/۶۷ درصد است. بین ۱۰ تا ۲۰ میلی‌مولار کافئین درصد بقای‌سلول در حد کنترل است و در غلظت‌های بالاتر کافئین، سلول‌ها به شدت به طرف مرگ پیش می‌روند، به‌طوری‌که در ۸۰ میلی‌مولار کافئین، درصد بقای سلولی به ۷۸/۹ درصد می‌رسد.

شکل ۱: اثر غلظت‌های مختلف کافئین روی بقای سلول‌های منوسیت خون بعد از ۲۴ ساعت کشت.
* ۰/۰۵ >P؛ ** ۰/۰۱ >P؛ *** ۰/۰۰۱ >p در مقایسه با کنترل (بدون کافئین) (n= ۴)

شکل ۲: اثر غلظت‌های مختلف کافئین روی تولید آنیون سوپراکسید سلول‌های منوسیت خون بعد از ۲۴ ساعت کشت. نمونه سلولی با غلظت‌های بالاتر از ۵ میلی‌مولار کافئین از نظر آماری اختلاف معناداری نسبت به نمونه کنترل با P<۰/۰۵ نشان می‌دهد (n=۴).

اثر کافئین روی آزاد شدن آنیون سوپراکسید از سلول‌های منوسیت خون بعد از ۲۴ ساعت آنکوباسیون در شکل ۲ نشان داده شده است. اگرچه تولید سوپراکسید در غلظت‌های کم کافئین (<۱۰mM) کاهش می‌یابد، ولی این کاهش معنادار نیست؛ اما در غلظت‌های بالاتر کافئین (>۵mM) تولید سوپراکسید افزایش می‌یابد که اثر ماکزیمم آن در ۸۰ میلی‌مولار مشاهده می‌گردد (p<۰/۰۵).



شکل ۳: طرح الکتروفورز ژل آگاروز ۱/۲ درصد از DNA استخراج شده از سلول‌های منوسیت خون در حضور و عدم حضور کافئین بعد از ۲۴ ساعت کشت. شماره ۱ تا ۹ به‌ترتیب ۰، ۰/۵، ۱، ۲/۵، ۵، ۱۰، ۲۰، ۴۰، ۸۰ میلی‌مولار کافئین، شماره ۱۰ استاندارد EcoRI & Hind III DNA.

شکل ٤: اثر غلظت‌های مختلف کافئین روی قطعه قطعه شدنDNA سلول‌های منوسیت خون بعد از ۲۴ ساعت کشت.
^{x} ۰/۰۵ >p؛ ^{xx} ۰/۰۱ >p؛ ^{xxx} ۰/۰۰۱ >p در مقایسه با کنترل (بدون کافئین) (n=۴).

ژل الکتروفورز آگاروز، DNA استخراج شده از سلول‌های منوسیت خون کنترل و تیمار شده با غلظت‌های‌مختلف کافئین بعد از ۲۴ ساعت انکوباسیون در شکل ۳ نشان می‌دهد که با افزایش غلظت کافئین در مقایسه با کنترل، هیچ تغییری در شدت و سرعت

www.SID.ir

Archive of SID

حرکت بندهای تشکیل شده در روی ژل به‌وجود نمی‌آید. برای تأیید نتایج ژل الکتروفورز DNA از روش دی‌فنیل‌آمین برای تعیین درصد قطعه قطعه شدن DNA در سلول‌های منوسیت خون بعد از ۲۴ ساعت انکوباسیون در حضور غلظت‌های‌مختلف‌کافئین استفاده گردید. همان‌طورکه در شکل ۴، مشاهده می‌شود درصد قطعه‌قطعه شدن DNA در نمونه‌های کنترل و غلظت‌های بالای کافئین، از نظر آماری معنادار نیست.

بحث

آثر کافئین بر سلول‌های مختلف پستانداران متفاوت است. بنابراین بررسی اثر این ماده بر روی انواع سلول‌ها اهمیت زیادی دارد. سلول‌های منوسیت جزء سیستم بیگانه‌خواری تک‌هسته‌ای هستند که در بافت‌ها به سلول‌های ماکروفاژ تبدیل می‌شوند و به این وسیله، نقش مهمی در مقابله با باکتری‌ها و رفع التهاب ایفا می‌کنند [۱۶و۱۷]. بنابراین مطالعه اثر کافئین بر سلول‌های منوسیت خون می‌تواند اطلاعات مفیدی در مورد عملکرد این دارو به‌دست دهد.

نتایج حاصل نشان می‌دهد که عمل کافئین وابسته به غلظت است. در غلظت‌های کم (<۱۰mM) به شدت درصد بقای سلولی افزایش می‌یابد که حداکثر آن در ۵ میلی‌مولار مشاهده می‌گردد. این نتایج با مطالعات قبلی مطابقت دارد که کافئین حتی در غلظت‌های میلی‌مولار (۲mM) غیرسمی است و به سرعت روی بقای سلول‌ها اثر نمی‌گذارد [۱۸و۱۹] و در غلظت ۲ میلی‌مولار ایست فاز G_2/M و آپوپتوزیس القا شده توسط تشعشع را کاهش می‌دهد [۲۰]. تعیین درصد قطعه قطعه شدن DNA و تولید سوپراکسید افزایش معناداری را در این غلظت‌ها نشان نمی‌دهند. بر طبق مطالعات انجام شده، افزایش گونه‌های مختلف اکسیژن و قطعه قطعه شدن DNA از مشخصات آپوپتوزیس است [۲۰و۸]. این نتایج پیشنهاد می‌کنند غلظت‌های کم کافئین، آپوپتوزیس را در سلول‌های منوسیت خون مهار می‌کند. وقتی سلول‌های منوسیت در حضور ۲۰- ۱۰ میلی‌مولار کافئین کشت داده شدند، درصد بقای سلولی در مقایسه با کنترل کاهش می‌یابد، لکن هنوز در حد کنترل است و در غلظت‌های بالاتر (>۲۰ mM) این کاهش شدیدتر می‌گردد و تولید آنیون سوپراکسید در این غلظت‌ها افزایش می‌یابد. این نتایج، موافق با مطالعات قبلی است که نشان دادند کافئین در غلظت‌های بالا (>۱۰mM) باعث افزایش مرگ سلولی و القای ناهنجاری‌های کروموزومی می‌گردد [۲۳-۲۱]. تعیین قطعه قطعه شدن DNA به روش دی‌فنیل‌آمین در غلظت‌های بالای کافئین (> ۱۰ mM) و ژل آگاروز DNA از نظر آماری اختلاف معناداری را نسبت به کنترل نشان نمی‌دهند. مطالعات حکایت از این دارند که در سلول‌های منوسیت، به رغم وقوع آپوپتوزیس، قطعه قطعه شدنDNA دیده نمی‌شود که نشان‌دهنده مقاومت این سلول‌ها درمقابل عوامل مختلف است [۲۴-۲۶]. در ضمن کار ما نیز تأییدی بر این نظریه است. این نتایج پیشنهاد می‌کنند که کافئین احتمالاً در غلظت‌های متوسط (۲۰mM-۱۰) باعث آپوپتوزیس در سلول‌های منوسیت می‌گردد؛ لکن این که آیا در غلظت‌های بالاتر (>۲۰ mM)، کافئین نکروز ایجاد می‌کند کاملاً مشخص نیست و احتیاج به مطالعات بیش‌تر دارد.

مطالعات قبلی ما در مورد اثر کافئین بر سلول‌های ماکروفاژ نشان داد که با آثار کافئین روی سلول‌های منوسیت مشابه است، منتهی در سلول‌های ماکروفاژ این آثار شدیدتر است، به‌طوری که نکروز در غلظت‌های بالاتر از ۲۰ mM در سلول‌ها مشاهده‌می‌شود [۲۷]. علت این‌اختلافات‌می‌تواند ناشی‌از ظرفیت‌بالاتر بیگانه‌خواری ماکروفاژها، افزایش میزان آنزیم‌های لیزوزومی مثل اسیدفسفاتاز، کاتپسین ها، لیزوزوم و سیستئین پروتئازها باشد [۲۸و۲۹]. مطالعات نشان می‌دهند که کاتپسین B و L، آپوپتوزیس را القا می‌کنند [۳۰].

مکانیسم عمل کافئین در القای آپوپتوزیس روشن نیست. کافئین به‌عنوان مهارکننده آنزیم فسفو دی استراز باعث افزایش غلظت cAMP سلولی می‌گردد [۳۱و۳۲]. مطالعات نشان داده که غلظت‌های کم cAMP باعث مهار آپوپتوزیس می‌شود [۳۴و۳۵]، در حالی‌که در غلظت‌های بالاتر، آپوپتوزیس را القا می‌کند [۳۵و۳۶]. بنابراین، می‌توان نتیجه گرفت که در غلظت‌های کم کافئین، سطح cAMP در سلول‌های منوسیت خون

www.SID.ir

Archive of SID

افزایش می‌یابد و احتمالاً از طریق این مکانیسم، مانع از آپوپتوزیس می‌گردد. در غلظت‌های متوسط، سطح cAMP افزایش بیش‌تری می‌یابد که آپوپتوزیس را القا می‌کند. کافئین در غلظت‌های بالاتر سمی است و سلول‌ها را به شدت تحت تأثیر قرار می‌دهد. با این‌حال سایر مکانیسم‌ها به‌طور مثال اثر بر آنزیم سیکلو اکسیژناز و سایر فرایندهای سلولی نیاز به مطالعات وسیع‌تر دارد.

تقدیر و تشکر

کلیه کارهای تحقیقاتی انجام شده در این مقاله در مرکز تحقیقات بیوشیمی- بیوفیزیک دانشگاه‌تهران انجام گرفته که بدین‌وسیله از مسئولین و عزیزانی که در این مرکز ما را یاری کردند تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع

1. McCusker RR, Goldberger BA, Cone EJ: Caffeine content of specialty coffees. J Anal Toxicol 2003; 27: 520-522.
2. Holmgren P, Norden-Pettersson L, Ahlner J: Caffeine fatalities-four case reports. Forensic Sci Int 2004; 139 (1):71-3.
3. Bara AI, Barley EA. Caffeine for asthma (Cochrane Review), Cochran Database Syst. Rev 2001; 4:CD001112.
4. Benowitz NL. Clinical pharmacology of caffeine. Ann Rev Med 1990; 41: 277-288.
5. Wink CS, Rossowska MJ, Joseph JF, Yazdani M, Nakamoto T. Effects of caffeine on heart mitochondria in newborn rats. Neonate.1999; 76: 114-119.
6. Nehlig A, Daval JL, Debry G. Caffeine and the central nervous system: mechanisms of action, biochemical, metabolic and psychostimulant effects. Brain Res Rev 1992; 17:139-170.
7. Tabrizchi R, Bedi S. Pharmacology of adenosine receptors in the vasculature. Pharmacology & Therapeutics 2001; 91:133-147.
8. Wang TH, Wang HS. Apoptosis; (1) Overview and clinical significance. J Formors Med Assoc 1999; 98:381-393.
9. Wang TH, Wang HS. Apoptosis (2) Characteristics of apoptosis. J Formos Med Assoc1999; 98:531-542.
10. Saikumar P, Dong Z, Mikhailov V. Apoptosis: Definition, Mechanisms, and Relevance to Disease. Am J med 1999; 107: 489-506.
11. Adams DO, Hamilton TA. The cell biology of macrophage activation. Annu Rev Immunol. 1984; 2: 283-318.
12. Unanue ER, Allen PM. The basis for the immunoregulatory role of macrophages and other accessory cells. Science. 1987; 236: 551-557.
13. Boyum A. Separation of lymphocytes, granulocytes, and monocytes from human blood using Iodinated density gradient media. Methods in Enzymology 1984; 108: 88-103.
14. Mayo LA, Curnutte JT. Kinetic microplate assay for superoxide production by neutrophils and other phagocytic cells. Methods in Enzymology 1990; 186: 567-575.
15. Burton K. The study of the conditions and mechanisms of the diphenylamine reaction for the calorimetric estimation of deoxyribonucleic acid. Biochem. J 1956; 62: 615-623.
16. Williams MA, Newland AC, Kelsey SM. The potential for monocyte-mediated immunotherapy during infection and malignancy. Part I: apoptosis induction and cytotoxic mechanisms. Leuk. Lymphoma 1999; 34: 1-23.
17. Liyanage PP, Waldmann TA. Activation of human monocytes induces differential resistance to apoptosis with rapid down regulation of caspase-8/FLICF. Immunology 1998; 95: 14308-14313.
18. Traganos F, Kapuscinski J, Gong J, Ardelt B, Darzynkiewicz RJ. Caffeine prevents apoptosis and cell cycle effects induce by camptothecin or topotecan in HL-60 cells. Cancer Res 1993; 53: 4613-4618.
19. Zhen W, Vaughan ATM. Effect of caffeine on radiation - induced apoptosis in TK6 cells. Radiat Res 1995; 141: 170-175.
20. Gerschenson LE, Rotello RJ. Apoptosis: a different type of cell death. FASEB J 1992; 6: 2450-2455.
21. Goth-Goldstein R, Painter RB. Effect of caffeine on cell killing, mutation induction, DNA repair, and DNA synthesis after treatment with ethylnitrosourea. Carcinogenesis 1981; 2: 1267-1271.
22. Roberts JJ, Mechanism of potentiation by caffeine of genotoxic damage induced by physical and chemical agents. In: Collins A, Downes CS, Johnson RT, Editors. DNA Repair and its inhibitors. Oxford:IRL Press; 1984. p. 193-216.
23. 40. He Z, Ma WY, Hashimoto T, Bode AM, Yang CS, Dong Z: Induction of apoptosis by caffeine is mediated by the p53, Bax, and caspase 3 pathways. Cancer Res 2003; 63(15): 4396-401.
24. Grage-Griebenow E, Durrbaum-Landmann I, Pryjma J, Loppnow H, Flad HD, Ernst M. Apoptosis in monocytes. Eur Cytokine Netw 1998; 9: 699-700.
25. Mangan DF, Wahl SM. Differential regulation of human monocyte programmed cell death (apoptosis) by chemotactic factors and pro-inflammatory cytokines. J Imunol 1991; 147: 3408-3412.
26. Mangan DF, Welch GR, Wahl SM. Lipopolysaccharide, tumor necrosis factor, and IL-1 prevent programmed cell death (apoptosis) in human peripheral blood monocytes. J Immunol 1991; 146: 1541-1546.
27. Jafari M, Rabbani A. Dose and time dependent effects of caffeine on superoxide release cell survival and DNA fragmentation of alveolar macrophages from rat lung. Toxicology 2000; 149: 101-108.
28. Vancompernolle K, Van Herreweghe F, Pynaert G, Van de Crean M, De Vos K, Totty N, Sterling A, Fiers W, Vandenabeele P, Grooten J. Atractyloside-induced release of cathepsin B, a protease with caspase-processing activity. FEBS Lett 1998; 436:150-158.
29. Li W, Dalen H, Eaton JW, Yuan XM. Apoptotic death of inflammatory cells in human atheroma, Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology. American heart Association 2001; 21:1124.
30 Ishisaka R, Utsumi T, Kanno T, Arita K, Katunuma N, Akiyama J, Utsumi K, Participation of a cathepsin L-type protease in the activation of caspase-3. Cell Struct Funct 1999; 24: 465-470.
31. Wells JN, Miller JR. Methylxanthine inhibitors of phosphodiesterases.. Methods in Enzymology 1988; 159: 489-496.
32. Goth R, Cleaver JE. Metabolism of caffeine to nucleic acid precursors in mammalian cells. Mutation Res 1976; 36: 105-114.
33. Berridge M, Tan A, Hilton C. cAMP Promotes cell survival and retards apoptosis in a factor-dependent bone marrow-derived cell line. Exp Hematol 1993; 21: 269 - 276.
34. Binder C, Hiddemann W. Programmed cell death-many questions still to be answered. Ann Hematol 1994; 69: 45-55.
35. Hale AJ, Smith CA, Sutherland LC. Apoptosis: molecular regulation of cell death. Eur J Biochem 1996; 236: 1-26.
36. Obeid LM, Hannun YA. Ceramide: A stress signal and mediator of growth suppression and apoptosis. J Cellular Biochemistry 1995; 58: 191-198.

www.SID.ir

Archive of SID

www.SID.ir