

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 Albino Wistar و جفت‌گیری آنها به طریق منوگام، روز صفر حاملگی مشخص گردید و راتها در دو گروه شاهد و مسورد آزمایش قرار گرفتند.

یک دز 80 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 نوزدهم و نیم حاملگی هر ۴ ساعت یکبار گروهی از مادران هر دو گروه آزمایش و شاهد را با کلروفورم 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 رنگ آمیزی فولکن، تولوئیدین بلو و PAS رنگ آمیزی 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 تأخیر در حدود ۳۲ ساعت بود.

کلید واژه‌ها: تکامل / جنین / کافئین / کام

مقدمه

آن جمله می‌توان به داروهای ضد آگرژی، ضد بی‌خوابی داروهای ضد آپنه، و داروهایی که در درمان آسم بکار می‌روند (۱) اشاره کرد. همچنین کافئین به عنوان یک ترکیب شیمیایی متیل‌گزانتین 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 طعم‌زا 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 مواع مختلف مانند سد خونی مغزی و

کافئین به خانواده‌ای از مواد شبه مخدر متعلق است که نام آن متیل‌گزانتین (Methylxanthine) می‌باشد. بعضی از متیل‌گزانتین‌های طبیعی عبارتند از کافئین که در قهوه وجود دارد، توفیلین که در چای و تئوبرومین که در کاکائو یافت می‌شود. این سه ترکیب نامبرده یعنی توفیلین 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 متیل‌گزانتین‌ها شامل: قهوه، چای، شکلات‌های قهوه، کاکائو، نوشابه‌های کولا و هسمچنین بیش از ۲۰۰ نوع فراورده دارویی است که درصد‌های گوناگون از آنها را کافئین تشکیل داده است، و از

۳- کافئین باعث کاهش در ترشح T4, T3, TsH, GH و افزایش در سطوح ترشحاتی رنین و Angl پلاسما می شود (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 عدد برای گروه آزمایش و تعداد ۸۵ عدد برای گروه 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 در کنار 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 ۱۳ و ۱۴ و ۱۵ مقدار 80 mg/kg کافئین یک درصد (یک گرم در ۱۰ سی سی سرم فیزیولوژیکی) به صورت (IP) داخل صفاقی به گروه آزمایش تزریق کردیم و همچنین مقدار 80 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 و تکامل مراحل مختلف زوائد کامی و استخوانسازی) مادران هر دو گروه آزمایش و شاهد را با کلروفورم بیهوش کرده و جنین‌ها را به روش سزارین از رحم رات‌های باردار خارج نمودیم و بلافاصله بعد از این عمل طول CR و همچنین وزن آنها را اندازه گرفتیم و سپس آنها را به فیکساتیو منتقل کردیم. سپس برشهایی به ضخامت ۵ میکرون تهیه کرده و با استفاده از چهار نوع رنگ آمیزی PAS, H&E و فولگن و تولوئیدین بلو آنها را رنگ آمیزی کرده و مورد مطالعه قرار دادیم (۲۰۶ و ۱).

نتایج

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

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 (۱۳، ۱۲، ۶).

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 حاصله علاوه بر افزایش مرگ و میر (Mortality) مادران و ناهنجاریهای مختلف باعث تاخیر در بسته شدن کام و کام شکری می‌شود (۱۴، ۹، ۵، ۲).

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 (۴ و ۲).

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 تأخیر 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).

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.

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

میانگین تأخیر زمانی گروه آزمایش نسبت به گروه شاهد (ساعت)	گروه شاهد (روز و ساعت)	گروه آزمایش (روز و ساعت)	میانگین تأخیر زمانی گروه شاهد نسبت به گروه آزمایش (ساعت)
۱۶±۴	۱۶/۰۴±۴	۱۶/۲۰±۴	مرحله اول زوائد کامی هر دو عمودی
۲۲±۴	۱۶/۰۸±۴	۱۷/۰۸±۴	مرحله دوم زوائد کامی عمودی-افقی
۲۰±۴	۱۶/۱۶±۴	۱۷/۱۲±۴	مرحله سوم زوائد کامی هر دو افقی
۲۸±۴	۱۶/۲۰±۴	۱۸/۰۰±۴	مرحله چهارم زوائد کامی هر دو در حال تماس و تشکیل درز میانی
۳۰±۴	۱۷/۰۴±۴	۱۸/۱۲±۴	مرحله پنجم مرحله قطعه قطعه شدن اپیتلیوم محل تماس و ناپدید شدن آن
۳۶±۱۲	۱۷/۱۲±۱۲	۱۹/۰۰±۴	مرحله ششم مرحله جوش خوردن کامل و استخوانسازی