

بسمه تعالیٰ

بررسی اثرات دوزهای حاد و مزمن کافئین بر محور هورمونی PG (دیپوفیز-گوناد) در موش Rat

دکتر شهربانو عربان - مهران عربی

گروه زیست‌شناسی - دانشگاه علوم - دانشگاه تربیت معلم

مقدمه

کافئین (caffeine) با عنوان یک الکالوئید پورینی^۱ از دست متبل گزانتین‌ها، (۱ و ۳-۷-تری متیل گزانتین) با فرمول شیمیائی $C_8H_{10}O_2$ در ساختار ترکیباتی نظیر: چای قهوه و نوشابه‌های کولادار به نحو مؤثری وجود داشته به طوری که یک فنجان از قهوه، حاوی ۱۵۰ - ۱۰۰ میلی گرم کافئین می‌باشد. کافئین مصرفی به طور کامل توسط روش انتقال فعال از روده، پاریک قابل جذب به بدن بوده و نیمه عمر آن در انسان بالغ ۳/۵ ساعت و در موش Rat برابر با ۲/۸ ساعت می‌باشد. مولکول کافئین به قدر کافی جهت عبور از غشاء سلول‌های بدن جانوران، آب گریز و چربی دوست بوده به طوری که در انسان و Rat راحتی از سدهای جفتی و خونی-معززی عبور می‌نماید.

به محض دریافت کافئین، از سوی بدن تغییرات ساختمانی در شکل این مولکول پدیدار می‌گردد که ما حصل آن تولید متابولیت‌هایی نظیر: پاراکزاناتین، توتیورومین، توتیفیلین و مشتق ۱-متیل اوریک اسید خواهد بود. کافئین از نظر فیزیولوژیکی، دارای مجموعه اثرات متنوعی بر دستگاه‌های مختلف بدن جانوران به ویژه انسان بوده و در این میان محور هورمونی PG نیز دستخوش تغییر خواهد گردید. متأسفانه تا به حال پژوهش پیرامون اثر کافئین بر این محور به صورت دامنه‌دار نبوده و تنها موارد انگشت شمار و ناقصی در این زمینه وجود داشته که موم ترین

در موش‌های Rat نر بالغ تزریق درون صفاقی محلول کافئین و پس خونگیری از آنان در دوره زمانی حاد و مزمن و سنجش هورمونی به روش رادیوایمونوآسی در غلظت سرمی هورمونهای محور دیپوفیز-گوناد نتایج زیر را بدنبال داشته است:

FSE : افزایش. PRI : کاهش
LH : افزایش. تستوسترون : کاهش

پروژسترون : افزایش
DHEA : کاهش

در مطالعات یافته ییشه موش‌های تحریبی تحت تزریق دوزهای مزمن کافئین مشخص گردید که: کاهش معنی‌داری از نظر آماری در تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی نوع B، اسپرماتوسبت اولیه، سلول‌های محوری این دیدیم و قطر لوله‌های منی‌ساز به وجود آمده است. به علاوه، در بررسی اثرات دوزهای مزمن کافئین بر حاملگی و فیتوس‌ها، به اختلال رشد و نموی در فیتوس‌های تحریبی به صورت کاهش در مقدار اداره فوق سری- نشیمنگاهی، عقب افتادگی در تکوین اندام‌های جرک و حالت اگزنسفالی یا بیرون زدگی مغزاً مشاهده گردید.

تهیه نمونه‌های بافتی:
جهت بررسی اثرات دراز مدت کافینین بر بافت بیضه موش‌های تحت تزریق مزمن از کافینین، نمونه‌هایی از بدن این حیوانات برداشت گردید.

و بافت بیضه از نظر تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی^۳ اسپرماتوست اولیه و قطر لوله‌های متی‌ساز مورد بررسی قرار گرفتند.

شمارش اسپرم: به منظور بررسی اثرات کافینین بر تعداد اسپرم

محتوی بخش ابی دیدیم.^۴ نمونه کامل این بخش از دستگاه جنسی، موش‌های با تزریق مزمن از کافینین بدست آمد. ابی دیدیم در پی میلی‌لیتر سالین فرمالین له و خرد می‌گردید. سپس مقداری از این عص توسط پیست ملانژور گلوبول سفید خون برداشت می‌گردید و پس از رسانی به محفظه لام هاسیستومتر (thoma) مخصوص شمارش گلوبول سفید خون انسان وارد می‌گردید. میانگین شمارش تعداد اسپرم در مربع بزرگ ۱۶ خانه‌ای ضریبدر یکصد هزار می‌شد و نتیجه تعداد اسپرم موجود در یک میلی‌لیتر سالین فرمالین دار بود.

بررسی اثر کافینین بر مورفو‌لوزی جنین: بدین منظور گروه‌ها: تایی از موش‌های حامله در روزهای ۵/۹ و ۵/۱۱ از حا مورد تزریق دوز واحد ۰.۶ میلی‌گرم از کافینین به ازای هر کیلوگرم از بدن آنان قرار می‌گرفتند. پس از تزریق در روز ۵/۱۵ از بارداری، جنین‌ها از شاخهای رحمی موش‌های مادر جدا و مورد مورفو‌لوزیکی قرار می‌گرفتند.

آنان، پژوهش دکتر Pollard به سال ۱۹۸۸ میلادی از کشور استرالی می‌باشد (۱ و ۲) با در نظر گیری این پژوهش پایه، ما تصمیم گرفتیم که اصلی‌ترین هورمون‌های موجود در محور فوق را به طور کامل مورد سنجش و ارزیابی قرار داده و در زمان‌های مختلف آنان را با یکدیگر قیاس نماییم.

مواد و روش کار:

حیوانات مورد آزمایش در این پژوهش از نوع موش‌های صحرایی بزرگ (Rat) نر بالغ (جهت انجام کارهای هورمونی) و ماده بالغ (جهت استفاده در بخش اثر کافینین بر ریخت‌زایی جنینی) نژاد wistar با وزن ۲۶۰ - ۲۲۰ گرم بوده که در قفس‌های باکف و سقف مشبک به ابعاد $45 \times 32 \times 27$ سانتی‌متر و در شرایط محیطی با حرارت ۲۱ درجه سانتی‌گراد و پریود نوری ۱۲ ساعت روشناختی و ساعت تاریکی نگهداری می‌شدند. در هر قفس سه تا چهار موش قرار داده می‌شد. در هفته، دوبار محل زیست حیوانات تعیز و خداغفونی می‌گردید. غذای موش‌ها بدون محدودیت از نوع آماده و فشرده بود. جهت آزمایش و سنجش‌های هورمونی، موش‌های مذکور در سه گروه معکواشامل: شاهد، دست نخورده، شم^۱ و تجربی^۲ تقسیم بندی گردیدند. در هر گروه حداقل چهار حیوان قرار داده شد.

ترزیقات و تهیه محلول کافینین بدین صورت بود که در ابتدا محلول مورد نظر با حل نمودن یک‌گرم پودر کافینین خالص در ۱۰۰ میلی‌لیتر از نرمال سالین ساخته می‌شد، سپس بر اساس وزن حیوان، دوز انتخابی ۰.۶ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن از محلول کافینین به روش درون صفاقی (IP) به بدن حیوان وارد می‌گردید. پس از انجام این مرحله خون‌گیری به کمک سرنگ‌های ۵ میلی‌لیتری از قلب حیوان (از مطلع خارج بدن) به انجام می‌رسید. خون‌گیری‌ها در دو محدوده زمانی خاد^۳ (۱۴.۷، ۱۴.۱، ۲۱.۲، ۲۸) روز تزریق ۹ ساعت پس از تزریق) و مزمن^۴ (۰.۷، ۰.۱، ۰.۳، ۰.۶) مدام روزانه) بعمل می‌آمد. پیش از خون‌گیری، حیوانات مورد آزمایش منجذب کلروفورم یا اتر تحت بیهوشی خفیف^۵ واقع می‌شدند. با روش سانتریفیوژ مقدار سرم لازم از خون نمونه‌ها بدست می‌آمد و پس از منجذب کردن و نگهداری در فریزیره کمک روش RIA^۶ سطوح سرمی هورمون‌های DHEA, PRL, LH, FSH, DHEA-S DHEA, PRL, LH, FSH, DHEA-S تستوسترون و پروسترون سنجیده، می‌شد (۳).

حاد: افزایش معنی دار ابتدایی و سپس کاهش

معنی دار در ۶ و ۹ ساعت پس از تزریق

مزمن: افزایش معنی دار (کاهش معنی دار در

۲۸ روز تزریق مداوم)

روش آنالیز آماری:

نتایج بدست آمده در گروه های شاهد، شم و تجربی به کمک روش آنالیز آماری واریانس یک عاملی با تکرار با یکدیگر مقایسه گردیدند.
 $P < 0.05$.

نتایج:

نتایج بدست آمده از سنجش های هورمونی محور PG به صورت دسته بندی شده در دو محدوده زمانی حاد و مزمن برای هر هورمون در ذیل آورده شده است:

حاد: افزایش بدون معنی آماری (فقط ۶ ساعت
پس از تزریق معنی دار)

:FSH-۱

مزمن: افزایش بدون معنی

: LH-۲

حاد: در ۱ و ۳ ساعت پس از تزریق افزایش
معنی دار و مابقی بدون معنی

مزمن: در ۲۱ روز تزریق مداوم افزایش
معنی دار د مایقی بدون معنی

حاد: کاهش معنی دار

:PRI-۳

مزمن: کاهش شدید معنی دار

حاد: کاهش شدید معنی دار در ۳ و ۶ ساعت
پس از تزریق (شکل ۱)

: ۴- تستوسترون

مزمن: کاهش شدید معنی دار (شکل ۲)

می باشد:

حاد: کاهش معنی دار (شکل ۳)

:DHEAS-۵

مزمن: کاهش شدید معنی دار

بحث:
 اثرات عمده کافئین وابسته به دوز کاربردی آن می باشد. با استناد بر تحقیقات به عمل آمده توسط پژوهشگران (۱ و ۲) مشخص شده که اثرات زیان آور و خطرناک کافئین از طریق ایجاد تغییر در محیط اندوکرینی و درونی بدن حیوان مورد آزمایش (جنین یا فرد بالغ) بوده که در همین راستا اثر مستقیم کافئین بر ماده و راثی DNA نیز توسط wragg (۱۹۶۷) (۴) بائیات رسیده است. اما در ارتباط با این دو اثر ویژه کافئین تفسیر و بحث یافته های تجربه ای در این پژوهش به شرح ذیل می باشد:

فاکتورهای رشد نظیر: IGF-I (فاکتور رشد مشابه انسولینی نوع ۱)

موجب تحریک روند سنتز تستوسترون در سلول‌های لایدیگ من گردد، بنابراین بروز حالات غیر طبیعی در مورفولوژی سلول‌های سرتولی روند تولید تستوسترون را به مخاطره افکنده است.

ج- پرولاکتین به عنوان یک هورمون تروفیک در محور PG عمل می‌نماید - این هورمون سبب حفظ و دوام عمل گیرنده‌های LH بر روی سطح سلول‌های لایدیگ و نیز انتقال پیش سازهای کلسترول جهت برا، اندازی روند تولید تستوسترون به دون سلول‌های لایدیگ خواهد شد (۵) در مطالعات هورمونی در پژوهش حاضر کاهش معنی‌دار پرولاکتین نشان داده شده است، پس با کاهش پرولاکتین، کاهش تولید تستوسترون نیز پذیدار خواهد شد.

الف) تفسیر هورمونی:

۱) تستوسترون: احتمالاً کافین از چند مسیر جداگانه این مسیر کاهشی را سبب گردیده است.

الف- این امکان وجود دارد که کافین با اثر مهاری خود بر مسیر آنزیمی HSD- 3β - Δ^5 -هیدروکسی استروئید دهیدروژناز) یا آنزیم تبدیل کننده پرگوتولون به پروژسترون، موجب این کاهش در مقدار تستوسترون شده است، این فرض از آنجایی نشست می‌گیرد که Pollard به سال ۱۹۸۷ با اثر کافین این برماده‌های موش باردار نشان داد که آنزیم در پیشه جنین‌ها کاهش مقدار و عمل یافته است.

ب- مطالعات یافته پیشه در موش‌های تجربی نشان دهنده تحریب سلول‌های سرتولی است- این سلول‌ها با سنتز و ترشح تعدادی از

شکل -۵

-A- مقطع عرضی از لوله منیساز در حیوان تجربی با ۲۱ روز تزریق مداوم

(H&E $\times 2000$)

دستجات اسپرمی s.b: اسپرماتوسبت

اولیه: sg: اسپرماتوگونی

فلش بزرگ: نشانگر تخریب

سلول‌های سرتولی و درهم

ریختگی‌های بافتی می‌باشد.



-B- مقطع عرضی از لوله منیساز در حیوان تجربی با ۲۸ روز تزریق مداوم.

(H&E $\times 2000$)

اسپرماتوسبت اولیه: sc₁

اسپرماتوگونی: sg: B

s.b: دستجات اسپرمی

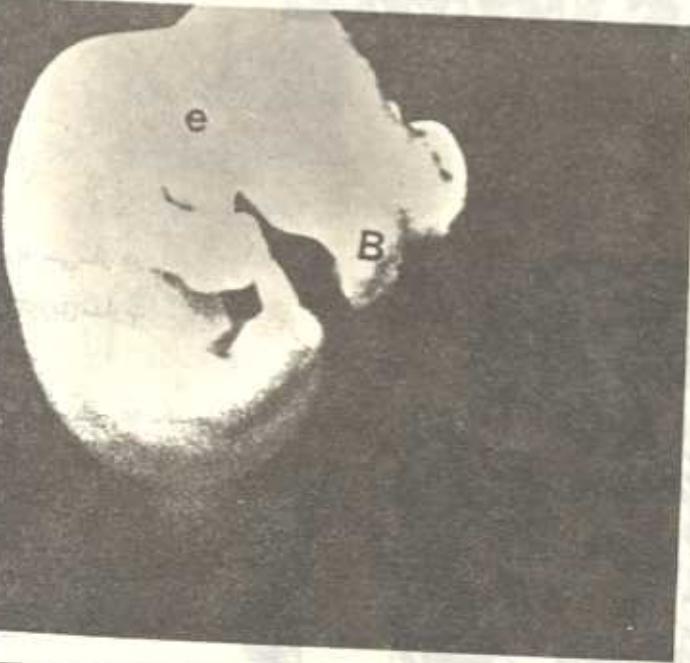
فلش بزرگ: نشانگر وجود شکاف

مایین سلول‌ها و تخریب سازمان

سلول‌های

شکل ۶-

۸- نمونه جنین با عقب افتادگی در رشد و نمو دست و پا و خمیدگی زیاد در پشت (کاهش در CR) X8



B- نمونه جنین با عقب افتادگی در رشد و نمو دست و پا و حالت اگزنسفالی گوش(c) بیرون زدنگی

X8 (B) معزی

C- اندام پا روی شکل (عقب افتادگی در رشد و نمو اندام حرکتی با بزرگنمایی زیاد (X25)

P.O: Paddle like organ

ب) تفسیر نتایج بافت شناسی در بینها:

- (۱) کاهش در تعداد سلولهای اسپرمانوکونی B و اسپرماتوسیت اولیه (نوع اسپرم‌های محتوى آپی دیدیم؛ تفسیر این یافته بدین صورت خواهد بود که با توجه بر کاهش مطح سرمی تستوسترون به عنوان هورمون مهم و لازم در حفظ و مداومت تکثیر سلول‌های زاینده (ژرمینال) و نیز با اثبات وجود اختلال در ساختمان سلول سرتولی به عنوان یک پایگاه، و بستر فیزیکی، تامین کننده ترکیبات شیمیائی و غذایی مورده نیاز رشد و نمو سلول‌های زاینده، بنابراین کاهش تعداد این سلول‌ها توجیه می‌گردد.
- (۲) توجیه تأثیر دوز مزمون کافینین بر قطر لوله‌های منی‌ساز؛ با توجه بر اثر کافینین در منقیض سازی عضلات صاف موجود در دستگاه گوارش و عروق خونی محیطی، بنابراین کاهش قطر لوله‌های منی‌ساز در پژوهش حاضر را می‌توان به انتباخت سلول‌های دور لوله‌ای میونیدی واقع در اطراف لوله‌های منی‌سان، توسط اثر کافینین تسبیت داد.

(۳) برولاکتین= از جمله مکانیسم‌های عمل کافینین عمل آنتاگونیستی در مقابل آدنوزین در سیستم عصبی می‌باشد. آدنوزین در حالت طبیعی با مهار پیش سیناپسی موجب مهار ترشح دهامین، گابا و غیره از انتهای اعصاب مربوطه می‌شود (۱)، کافینین با اثر برگیرنده آدنوزین این اثر مهاری را رفع نموده و بدین ترتیب دوبامین از انتهای اعصاب آزاد می‌گردد.

- دوبامین به عنوان یک PIF یا فاکتور مهار کننده تولید برولاکتین می‌باشد، لذا با افزایش مقدار دوبامین سطوح سرمی برولاکتین نیز کاهش خواهد یافت.

(۴) DHEA-S (دی‌هیدروایپ آندروسترون سولفاته): احتمالاً کافینین از طریق یک مسیر انحرافی در روند تبدیل آندروژن‌ها به یکدیگر دخالت می‌کند، مکانیسم پیشنهادی در جهت توجیه این پیشنهاد، مهار عمل آنزیم ۱۷ و ۲۰- دسمولاز توسط دوزهای کافینین می‌باشد که بدین سان تولید این هورمون کاهش می‌یابد.

(۵) FSH= سلول‌های سرتولی در حالت طبیعی (پس از اثر FSH بر آنان) با تولید فاکتور پلی پپتیدی به نام inhibin و با تبدیل تستوسترون به استرادیول و دی‌هیدرو تستوسترون سبب مهار تولید و ترشح FSH در سطح هپوتالاموس - هیپوفیز می‌گردد. هم چنین با اثبات تخریب سازمان سلول‌های سرتولی که در طی عمل کافینین پدیدار شده، تولید این عامل مهاری نیز متوقف خواهد شد و بنابراین سطوح سرمی FSH در حد طبیعی و یا بالاتر از این سطح خواهد ماند.

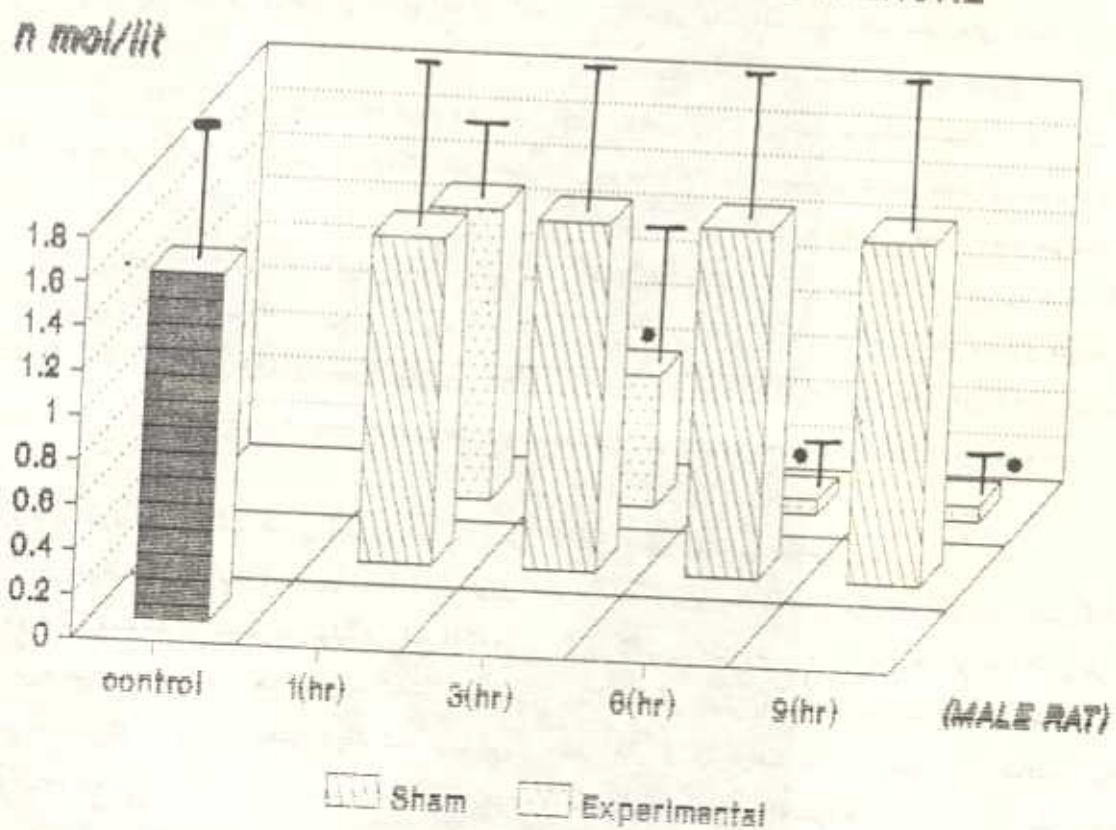
(۶) LH= با توجه به اینکه عده، مهار کننده‌های ترشح LH یعنی تستوسترون و عوامل وابسته به مرتولی (استرادیول و دی‌هیدرو تستوسترون) کاهش ترشح یافته‌اند، بنابراین افزایش مقدار LH در حد طبیعی و یا بالاتر از این سطح نیز قابل توجیه خواهد بود.

(۷) پروژسترون= در دوز حاد، احتمالاً کافینین با قطع مسیر آنزیمی ۳۶-HSD و ۱۷- هیدروکیلаз مrob مهار تولید پرگنترولون به بروژسترون و نیز پرگنترولون به ۱۷- هیدروکسی پرگنترولون شده، که در نهایت مهار تولید پروژسترون را بدنبال دارند. اما در دوز مزمم، احتمالاً کافینین با ایقام AMP حلقوی ناشی از تحریک اولیه LH و نیز قطع مسیرهای آنزیمی ۱۷- هیدروکیلاز و ۱۷ و ۲۰- دسمولاز موجبات افزایش سطوح سرمی پروژسترون را فراهم آورده است.

تشکر و قدردانی:

مولکلین مقاله حاضر لازم میدانست از همکاریها و مساعدتهای پیدریغ آفای دکتر کاظم پریبور که با قبول زحمت مشاورت این پژوهش در رفع مشکلات اساسی آن گام برداشته‌اند فدرهایی و سپاسگزاری نمایند.

EFFECT OF A SINGLE ACUTE IP. INJ.* OF CAFFEINE ON SERUM TESTOSTERONE



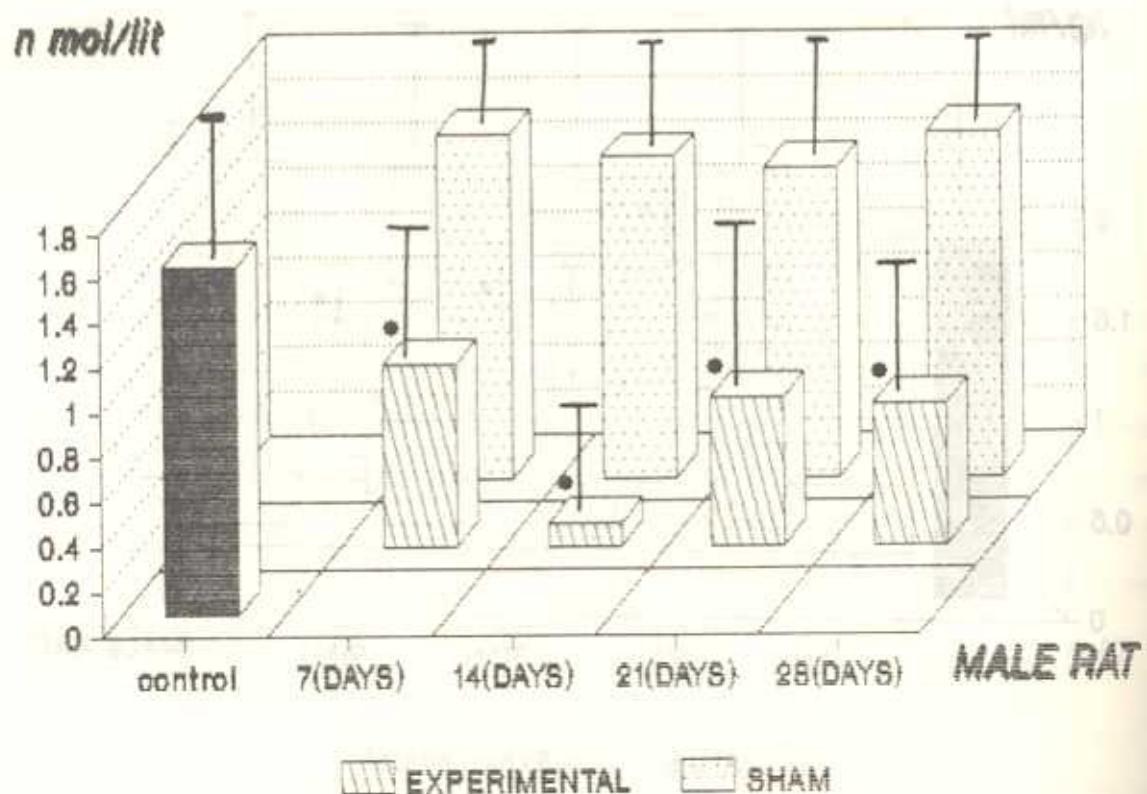
*IP. Intra-peritoneal injection

هیستوکرام ۱: اثر تزریق درون مفاسی دوز واحد دکافئین بر سطح

تستوسترون سرم در موش Rat نر بالغ

* از نظر آماری معنی دارد.

EFFECT OF DAILY CHRONIC IP. INJ.* OF CAFFEINE ON SERUM TESTOSTERONE



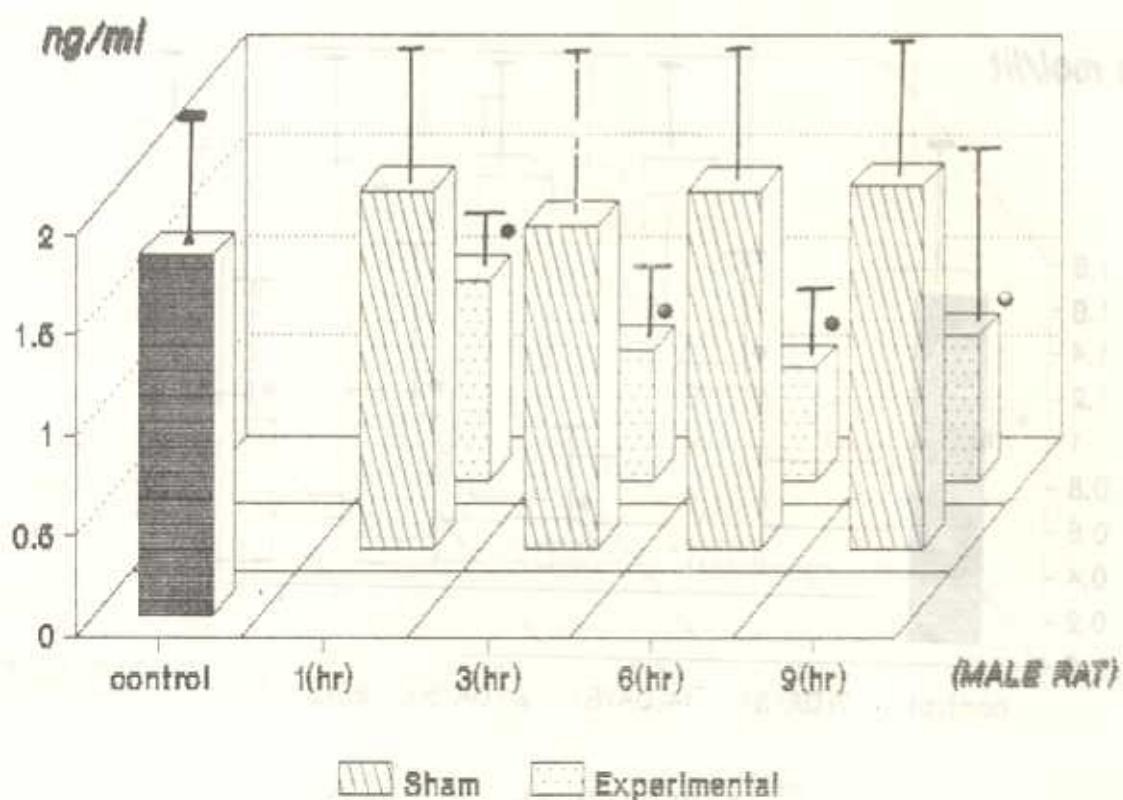
*IP. INJ: intraperitoneal injection

هیستوگرام ۲: اثر تزریق درون صفاقی دوز روزانه مزمن کافئین بر سطح

تستوسترون سرم در موش Rat نر بالغ

* از نظر آماری معنی دار

EFFECT OF A SINGLE ACUTE IP. INJ.* OF CAFFEINE ON SERUM DHEA-S



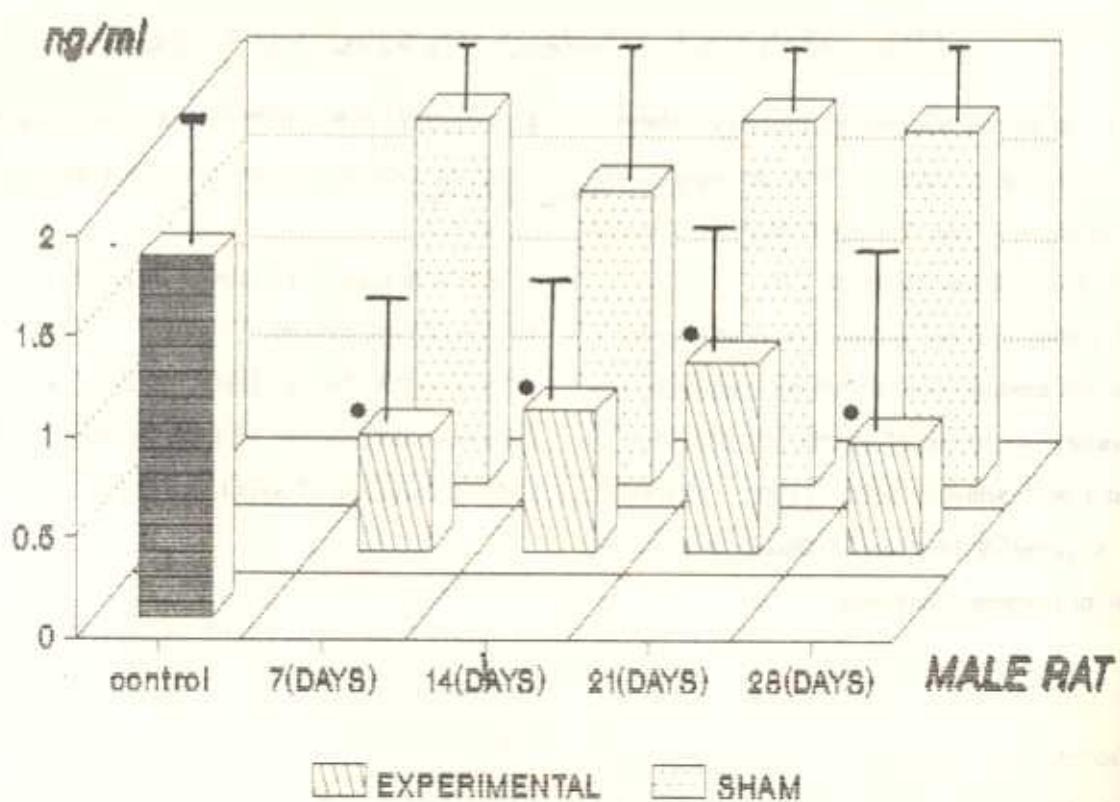
P. inj. intraperitoneal injection

هستوگرافی؛ اثر تزریق درون مفاقي دوزها حدفا دکافئین بر سط

سرم در موش Rat سرم DHEA-S

* از نظر آماری معنی دارد.

EFFECT OF DAILY CHRONIC IP. INJ.* OF CAFFEINE ON SERUM DHEA-S



*IP, INJ. *intraperitoneal injection*

هیستوگرام ۳: اثر تزریق درون صفاقی دوز روزانه مزمن کافئین بر سطح
سرم در موش Rat نر بالغ.

* از نظر آماری معنی دارد.

"REFERENCES"

- Pollard.I., Mehrabani.N. (1987): Effects of Caffeine administrations during pregnancy of fetal development and consequent in the adult rats: Prolonged effects on a second generation.J. Toxicol. & Env. Health,22, 1-15.
- Pollard.I. ,(1988): Increases in concentration of Estradiol in rat after the administration of Caffeine, comparison with deposition of Caffeine. J.Endocrin. 119, 275-280.
- Geltone.T.W., Schraff. M.D., (1981): Monoclonal antibodies, A powerfull new tool in Biology & Medicine. Rev. of Biochem., 50,657-680.
4. Wragg.J.B., et al., (1977): Inhibition of DNA Polymerase activity by Caffeine in a mammalian cell line.J.Cell. Biology., 35,146-159.
5. Zipf.W.B., Kelch.L. T., (1984): PRL,GH, and Receptors. Endocrinol., 103, 595-600.
- 6- Kimmel,C.A., et al. (1984): Blood flow changes and conceptual development in Pregnant rats in response to Caffeine. Fund.Appl. Toxicol.4, 240-247.

سمه تعالی

"پیدایش سنگواره‌ای از ماهیهای زرده‌دار دونین البرز مرکزی"

گروه زمین‌شناسی- دانشکده علوم- دانشگاه تربیت معلم تهران

دکتر علی میثمی

سنگهای قرمز رنگ دونین گزارش کردند. در سرزمین روسیه و کشورهای بالتیک آنها را در داخل سنگهای آهکی و ماسه سنگی گزارش نمودند. در منطقه کرمان سنگواره آنها را در داخل آهکها و ماسه سنگهایی یافته‌اند که متعلق به دونین بالایی است.

چکیده: از سنگواره ماهیهای زرده‌دار دوره دونین در البرز تاکنون گزارش نشده است. این نمونه در داخل آهکهای ماسه‌ای متعلق به دونین بالایی (سازنده جیروود) می‌باشد. همراه آن قطعات خارپوستان، سخت پوستان بازوپایان و فرامینی فرها دیده می‌شوند که مجموعاً حاکی از بک محیط دریایی می‌باشند.

شرح نمونه:

سنگواره یافته شده یک جنس از ماهیهای زرده دار است که در زمان دونین میزیسته است و در آخر این دوره ناپدید شد، است. این جنس تاکنون در منطقه البرز گزارش نشده و از نظر پالئوتولوژی ایران اهمیت خاصی دارد. نتیجه‌ای که از مطالعه آن میتوان گرفت ارتباط بین ایران در گذشته زمین‌شناسی با سایر نقاطی است که تاکنون این نمونه گزارش شده است.

اطلاعات در مورد سنگواره ماهیهای دونین در قاره آسیا تا چند سال اخیر تنها به خرده‌های از آنها محدود می‌شد که از کشور چین و سرزمین روسیه گزارش شده بود. تحقیقاتی را که زمین‌شناسان کشورهای همجوار انجام داده‌اند موفق به یافتن نمونه‌هایی از پلاکوردمها^۱ (اسموبرانش‌ها^۲)، آکاتنودین‌ها^۳، کرسوبتریوزین‌ها^۴، دینتوست‌ها^۵، و آکتنی نوپتریوزین^۶، در داخل سنگهای دونین منطقه کرمان از حوضه رسوی ایران مرکزی

مقدمه: ظهور این قبیل ماهیها (شکل ۱) را به اردیوین (۵۰۰ میلیون سال قبل) نسبت می‌دهند و افول آنها در اوخر دونین (۳۶۷ میلیون سال قبل) بوده است. این ماهیها از ابتدائی ترین مهره‌داران بشمار می‌روند زیرا نه دارای آروراه حقیقی و نه باله جفت بودند. روی بدنه آنها را در بخش سر، سپری استخوانی که از قطعات متعددی تشکیل شده بود می‌پوشاند. این قبیل مهره‌داران، زمانی در حدود ۱۳۳ میلیون سال در دریاهای پالئوزوئیک زیرین گسترش داشته‌اند و قطعات سخت بدنه آنها درین رسوبات این دریاهای یافت می‌شود. آنها در زمان سیلورین بالایی پندریج با آبهای شیرین سازش حاصل نمودند و پندریج به چند گروه تقسیم شدند.

پالئونوگرافی نمونه یافته شده:

از نظر جغرافیانی پراکندگی ماهیهای زرده‌دار در دریاهای اروپا، آمریکا، استرالیا و آسیا می‌باشد. در انگلستان آنها را در داخل ماسه