جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

(مقاله پژوهشی)

اثرات مصرف کافئین طی دوره بارداری بر تکامل پس از تولد بیضه نوزادان موش های صحرایی نژاد ویستار

مهران درستقول[۱]*، احمدعلی معاضدی[۲]، پروانه نورائی[۳]

۱- استادیار گروه بافت شناسی و جنین شناسی.
۲- استاد گروه فیزیولوژی.
۳- کارشناس ارشد زیست شناسی.

گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز، ایران.

* نویسنده مسوول:
گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز ، ایران.
تلفن: ۰۰۹۸ -۶۱۱-۳۳۳۱۰۴۵
Email: mdorostghoal@yahoo.com

چکیده

زمینه و هدف: در سال‌های اخیر نگرانی‌های پیشرونده‌ای مبنی بر کاهش سلامت تولیدمثلی مردان تحت تأثیر عوامل مختلف وجود دارد. از اینرو، مطالعه حاضر در نظر دارد تا اثرات مصرف کافئین طی دوره بارداری را بر روند تکامل ساختار هیستومورفومتریک بیضه نوزادان موش‌های صحرایی مورد مطالعه قرار دهد.

روش بررسی: موش‌های صحرایی گروه‌های آزمون در معرض مقادیر کم و زیاد کافئین (۲۶ و ۴۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) طی دوره بارداری قرار گرفتند. سپس در هر یک ازنوزادان نر در سنین ۱، ۳۰، ۶۰ و ۹۰ روزگی پس از تولد، ضمن اندازه گیری وزن بدن و آنالیز تستوسترون سرم، بیضه آنها بعد از توزین در محلول بوئن تثبیت شد. بدنبال آماده سازی مقاطع بافتی و تهیه برش‌های ۵ تا ۶ میکرومتری، در مراحل مختلف پس از تولد، حجم بیضه با روش کاوالیه برآورد و ساختار کمی لوله های منی ساز آنالیز گردید.

یافته‌ها: نتایج مطالعه حاکی از کاهش معنی دار($P<۰/۰۵$) وزن نوزادان، وزن و حجم بیضه در گروه دوز زیاد بود. افزایش پراکنش سلول‌های اسپرماتوژنیک در لوله‌های منی‌ساز، کاهش ارتفاع اپی‌تلیوم زایا، کاهش تعداد لایه‌های سلولی سلول‌های اسپرماتوژنیک و وجود فضاهای خالی به شکل واکوئل در لوله‌های منی‌ساز در گروه-های در معرض مشاهده گردید. قطر لوله‌های منی‌ساز در سنین ۶۰ و ۹۰ روزگی در گروه دوز زیاد بطور معنی داری($P<۰/۰۵$) کاهش نشان داد. هورمون تستوسترون در سنین ۶۰ و ۹۰ روزگی در گروه دوز زیاد بطور معنی داری ($p<۰/۰۵$) کاهش یافت.

نتیجه‌گیری: این مطالعه نشان می‌دهد مصرف کافئین طی دوره بارداری می‌تواند موجب کاهش پارامترهای بیضوی نوزادان نر موش‌های صحرایی طی روند تکامل پس از تولد گردد.

م ع پ ۱۳۹۰؛۱۰(۱): ۷۹-۶۹

کلید واژگان: کافئین، تکامل، بارداری، بیضه، تستوسترون.

دریافت مقاله: ۱۳۸۹/۲/۲۱ دریافت مقاله اصلاح شده: ۱۳۸۹/۹/۱۳ اعلام قبولی: ۱۳۸۹/۹/۱۶

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مقدمه

در سال‌های اخیر نگرانی‌های پیشرونده‌ای مبنی بر کاهش پتانسیل تولیدمثلی و نیز افزایش ناهنجاری های تولیدمثلی در افراد نر وجود دارد، بطوری که آمارها نشان می دهد از هر پنج زوج در کشور های صنعتی یک زوج با مشکلات تولیدمثلی همراه هستند(۱). مطالعات مختلف نشان داده که تغییر در محیط، سبک زندگی و رژیم غذایی طی دهه های اخیر در تغییر توانایی تولیدمثلی مردان دخالت دارند(۲). امروزه مشخص گردیده که در معرض قرارگیری افراد در برابر عوامل خارجی قبل و بعد از شروع بارداری و نیز طی مراحل اولیه پس از تولد می تواند توانایی تولیدمثلی و سلامت نوزادان آنها را به خطر بیندازد و فرد را طی دوران بلوغ و حتی در نسل های بعد تحت تأثیر قرار دهد(۱). این عوامل با تأثیر بر اسپرماتوژنز، اسپرمیوژنز، تحرک اسپرم، یکپارچگی DNA و کروماتین اسپرم و یا ایجاد تغییر در تنظیمات هورمونی، باروری افراد نر را تحت‌تأثیر قرار می دهند(۳،۲).

در همین راستا یکی از موادی که در جوامع مختلف به صورت وسیعی مورد مصرف قرار می گیرد کافئین است. میلیون ها انسان کافئین مصرف می کنند و برای اکثر آنها این ماده قسمتی از رژیم غذایی روزانه است بطوری که درآمریکا از هر۵ نفر ۴ نفر هر روز کافئین مصرف می کنند(۴). کافئین آلکالوئیدی متعلق به گروه متیل گزانتین می باشد که بطور طبیعی در برگ ها، دانه ها و میوه های ۶۰ گیاه مختلف از جمله قهوه، چای، کولا، کاکائو، وربامیت، یاپون هولی و گورانا یافت می شود(۵). کافئین عمدتاً از طریق مصرف نوشیدنی هایی مثل چای، قهوه، مشروبات غیرالکلی و نوشابه های انرژی زا و به میزان کمتر از طریق شکلات های حاوی کاکائو به بدن می رسد(۴). علاوه بر این، کافئین در برخی از محصولاتی خوراکی با طعم قهوه همچون بستنی، کیک و کلوچه یافت می شود(۴). مقدار کافئین موجود در غذاها و نوشیدنی ها به خاطر روش آماده سازی آنها متفاوت است. نوشیدنی های غیرالکلی همچون کوکاکولا معمولاً حاوی ۹۶ میلی گرم، چای سبز حاوی ۱۷۰ و چای سیاه حاوی ۲۸۲ میلی گرم کافئین در هر لیتر می باشند(۶). در کل، قهوه دم کرده دارای بیشترین مقدار کافئین با میانگین ۱۳۷ میلی گرم در هر فنجان ۸ اونسی می باشد و معمولاً شکلات پایین‌ترین مقدار کافئین را دارد(۴). در سال های اخیر برخی از کارخانجات سازنده در محصولاتی همچون شامپو و صابون از کافئین استفاده می کنند. مطالعات نشان داده که کافئین موجود در شامپو طی مدت ۲ دقیقه از طریق پوست و عمدتاً فولیکول های مو جذب شده و وارد جریان خون می شود(۷). اما مهمترین راه ورود کافئین به بدن خوراکی می باشد. کافئین در عرض ۶۰-۳۰ دقیقه در بدن جذب شده و میزان آن در جریان خون افزایش پیدا می کند. نیمه عمر کافئین حدود ۳ ساعت است، اما طی سه ماهه اول بارداری، نیمه عمر کافئین به ۵/۶ ساعت افزایش می یابد و سپس تا هفته ۳۵ حاملگی به ۱۸ ساعت می رسد(۸).

تاکنون مطالعات مختلفی در خصوص اثرات تولید مثلی مصرف کافئین در افراد نر صورت گرفته است. با این حال، اطلاعات موجود در خصوص بروز مشکلات تولید مثلی تحت تأثیر مصرف کافئین متناقض می باشد(۹). ویت بی و همکاران (۱۹۸۶) نشان داده اند که مصرف کافئین به میزان ۴۰ تا۸۰ میلی گرم بر کیلوگرم در روز در موش‌های صحرایی بالغ اثرات کمی بر تولیدمثل آنها دارد(۱۰). همچنین، وین و همکاران (۱۹۹۷) گزارش دادند که مصرف کافئین اثری بر اندازه و شکل هسته اسپرم و یکپارچگی کروماتین آن ندارد(۱۱). این در حالی است که فریدمن و همکاران (۱۹۷۹) آتروفی بیضه همراه با کاهش اسپرماتوژنز را در موش‌های نر ۲۸ روزه و۴۲ روزه‌ای که به مدت ۱۴ تا ۷۵ هفته کافئین مصرف نموده بودند، مشاهده کردند(۱۲). همچنین، کوکب (۱۹۹۹) نیز کاهش قطر لوله‌های منی‌ساز را به دنبال تزریق ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کافئین به صورت

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

داخل عضلانی به مدت دو، سه و چهار هفته به موش‌های صحرایی آلبینوی بالغ، گزارش نمودند(۱۳). علاوه براین، مطالعات مختلفی در خصوص بررسی اثرات مصرف کافئین طی دوره بارداری بر نوزادان صورت گرفته است(۱۴،۱۵). در همین راستا، پولارد و همکاران (۲۰۰۱) دریافتند که قرارگیری در معرض کافئین در شرایط in vitro اثری بر تمایز لوله های منی ساز و سلول های لیدیگ ندارد(۱۶). با این حال، رامولا- هنسن و همکاران (۲۰۰۸) گزارش دادند که غلظت و تعداد اسپرم پسرانی که مادران شان طی دوره بارداری بیشتر از ۷ فنجان قهوه در روز مصرف می نمایند به ترتیب ۳۳ میلیون و ۱۰۱ میلیون در هر میلی‌لیتر از مایع منی است که به ترتیب ۲۱ درصد و ۲۸ درصد کمتر از پسران مادرانی است که ۳ فنجان قهوه در روز مصرف می‌کنند(۱۷). از اینرو، با توجه به اهمیت دوره بحرانی بارداری در ارزیابی سمیت تکاملی عوامل مختلف(۱۸) و نیز نتایج مختلف بدست آمده در خصوص اثرات مصرف کافئین بر تولیدمثل افراد نر، پژوهش حاضر با هدف مطالعه اثرات مصرف کافئین طی دوره بارداری بر روند تکامل ساختار هیستومورفومتریک بیضه نوزادان موش‌های صحرایی نژاد ویستار انجام گرفت.

روش بررسی

در مطالعه حاضر که از نوع تجربی است موش‌های صحرایی نر و ماده نژاد ویستار با میانگین وزنی ۱۰± ۱۸۰ گرم از مرکز تکثیر حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز تهیه و در شرایط استاندارد ۱۲ ساعت نور و ۱۲ ساعت تاریکی، دمای ۱±۲۲ درجه سانتی گراد و رطوبت نسبی ۵۰ درصد نگهداری شدند. پس از یک هفته سازگاری با شرایط محیط، به منظور جفت‌گیری ۳۰ سر موش صحرایی ماده به نسبت ۱ به ۳ همراه با موش های صحرایی نر در یک قفس قرار داده شدند. سپس، موش‌های صحرایی ماده باردار به طور تصادفی به گروه‌های کنترل و تحت درمان تقسیم گردیدند. موش‌های صحرایی تحت درمان طی دوره بارداری در معرض مقادیر کم و زیاد کافئین (به ترتیب ۲۶ و ۴۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن) از طریق آب آشامیدنی قرار گرفتند(۱۹،۲۰). به منظور مطالعه روند تکامل پس از تولد بیضه، در هر یک از سنین ۱، ۳۰، ۶۰ و ۹۰ روزگی، در هر گروه ۵ سر موش صحرایی نر بطور تصادفی انتخاب (در هر گروه حداقل ۳۲ سر و در کل گروه ها مجموعاً ۱۱۲ سر نوزاد نر بدنیا آمد) و پس از توزین، با استفاده از کلروفرم بیهوش شده(۲۱) و بلافاصله بیضه آنها برداشت گردید. در سنین ۶۰ و ۹۰ روزگی بدنبال بیهوش نمودن موش های صحرایی و پس از باز نمودن محوطه سینه بمنظور تعیین سطح سرمی تستوسترون از قلب آنها خونگیری بعمل آمد. پس از آن، نمونه های خون، سانتریفوژ، سرم نمونه ها برداشت و تا زمان آنالیز در دمای $-20^{\circ}c$ نگهداری شدند. در نهایت، غلظت تستوسترون موجود در سرم نوزادان با استفاده از کیت تشخیصی رادیو ایمنواسی(Immunotech, France) اندازه گیری شد. در سن ۱ روزگی بیضه‌ها پس از برداشت توسط ترازوی دیجیتال توزین و سپس با روش غوطه‌وری در محلول بوئن به مدت ۲۴ ساعت تثبیت شدند. در سنین ۳۰، ۶۰ و ۹۰ روزگی بیضه‌های چپ برداشت و توزین شدند و بیضه‌های راست با انجام روش پرفیوژن ماده ثبوتی(۲۲) تثبیت گردیدند. بیضه سمت چپ هر موش جهت انجام مطالعات هیستولوژیک و هیستومتریک و بیضه سمت راست هر موش جهت برآورد حجم کلی اندام به روش کاوالیه (۲۳) مورد استفاده قرار گرفت.

به منظور تعیین حجم کلی بیضه با روش کاوالیه، ابتدا طول بیضه راست در جهت محور بزرگ‌تر آن توسط کولیس اندازه‌گیری شد. پس از انجام مراحل آماده‌سازی و پاساژ بافتی، بیضه‌ها به صورت عمودی در جهت محور بزرگ‌تر خود در پارافین معمولی قرار داده شده و قالب‌گیری شدند. سپس، از هر بیضه، با یک شروع تصادفی، برش‌های

سریال ۵ میکرومتری تهیه و ۱۰ مقطع بافتی ۵ میکرومتری در فواصل معین از هم انتخاب و مورد رنگ‌آمیزی بافتی قرار گرفتند. سپس، با استفاده از روش های آماری تعیین حجم نمونه، حجم کلی هر بیضه برآورد گردید(۱۰).

به منظور انجام مطالعات هیستولوژیک و هیستومتریک، پس از تثبیت بیضه سمت چپ در محلول بوئن و انجام مراحل آماده‌سازی بافتی، برش‌های سریال۵ میکرومتری تهیه و مورد رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین- ائوزین قرار گرفتند. به منظور اندازه‌گیری قطر لوله‌های منی‌ساز، در هر موش ۹۰ لوله منی‌ساز با مقطع عرضی کروی یا نزدیک به حالت کروی به طور تصادفی انتخاب و دو قطر بزرگ و کوچک آنها با استفاده از میکرومتر چشمی اندازه‌گیری شده و میانگین آنها برآورد گردید(۲۴). همچنین، ارتفاع اپی‌تلیوم زایا در همان لوله‌های انتخابی جهت اندازه‌گیری قطر در چهار نقطه با فاصله مساوی از هم در مقطع عرضی هر لوله اندازه‌گیری شده و سپس میانگین آنها برآورد شد(۲۴). داده های بدست آمده با استفاده از نسخه ۱۰ نرم افزار SPSS، و آزمون آنالیز واریانس یکطرفه در سطح معنی داری P<۰/۰۵ مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند.

یافته‌ها

میانگین وزن نوزادان (نمودار۱) و وزن بیضه (جدول ۱) در تمام مراحل زمانی پس از تولد در گروه آزمون ۴۵ mg/kg بطور معنی داری(p<۰/۰۵) کاهش نشان داد اما اختلاف معنی داری در گروه آزمون ۲۶ mg/kg در مقایسه با گروه کنترل مشاهده نشد. میانگین حجم کلی بیضه (جدول ۱) در گروه آزمون ۴۵ mg/kg در سنین ۶۰ و ۹۰ روزگی کاهش معنی داری(p<۰/۰۵) نشان داد، اما اختلاف معنی داری بین میانگین حجم کلی بیضه در سنین پایین‌تر و نیز در گروه آزمون ۲۶ mg/kg و گروه کنترل مشاهده نگردید.

مطالعه هیستولوژیک حاکی از آتروفی برخی از لوله های منی‌ساز و توقف اسپرماتوژنز در آنها به صورت کاهش ارتفاع اپی‌تلیوم زایا، کاهش تعداد لایه‌های سلول‌های اسپرماتوژنیک در دیواره لوله‌های منی‌ساز، افزایش حفره داخلی و وجود واکوئل‌هایی در اپی‌تلیوم زایای لوله‌های منی‌ساز در هر دو گروه تحت درمان بویژه در گروه دریافت کننده ۴۵ mg/kg کافئین بود. میانگین قطر لوله‌های منی‌ساز (جدول ۳) و ارتفاع اپی‌تلیوم زایا (جدول ۴) در گروه آزمون ۴۵ mg/kg در سنین ۶۰ و ۹۰ روزگی بطور معنی داری (p<۰/۰۵) کاهش یافت، اما اختلاف معنی داری بین میانگین قطر لوله‌های منی‌ساز و ارتفاع اپی‌تلیوم زایا در سنین پایین‌تر و نیز در گروه آزمون ۲۶ mg/kg و گروه کنترل مشاهده نشد. علاوه براین، سطح سرمی هورمون تستوسترون در روز های ۶۰ و ۹۰ پس از تولد در گروه دریافت‌کننده ۴۵ mg/kg کافئین در مقایسه با گروه کنترل بطور معنی داری (p<۰/۰۵) کاهش یافت اما از این لحاظ اختلاف معنی داری بین گروه آزمون ۲۶ mg/kg و گروه کنترل مشاهده نگردید (نمودار ۲).

جدول ۱: مقایسه میانگین (±SEM) وزن (میلی‌گرم) و حجم (میلی مترمکعب) بیضه در مراحل زمانی مختلف روند تکامل پس از تولد در نوزادان گروه کنترل و گروه‌های تحت درمان با کافئین طی دوره بارداری.

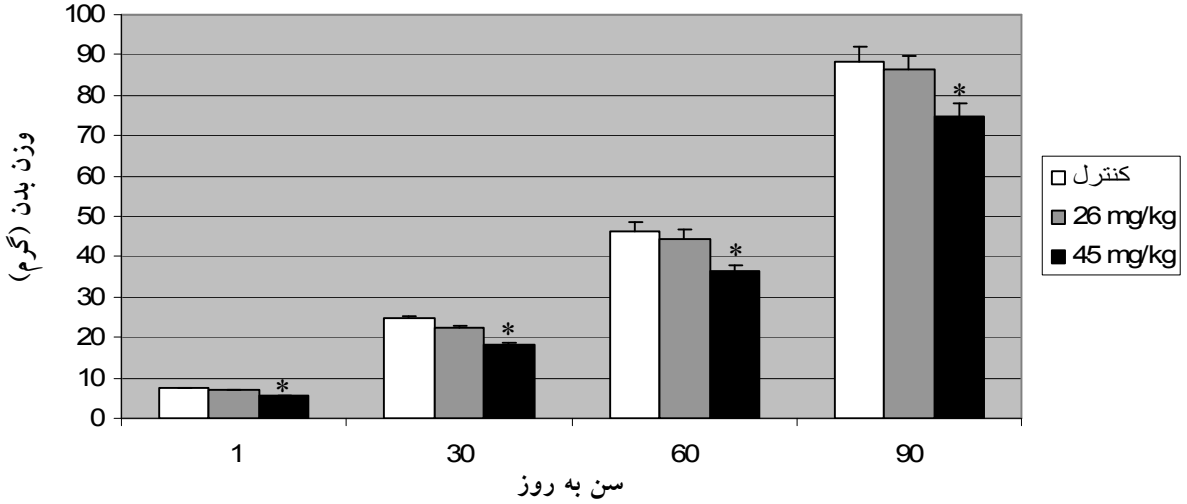
گروه	وزن بیضه				حجم بیضه			
	۱	۳۰	۶۰	۹۰	۱	۳۰	۶۰	۹۰
کنترل(a)	۱۲±۰/۰۰[c]	۱۱۰±۰/۰۰[c]	۲۷۰±۰/۱۰[c]	۷۴۰±۰/۰۰[c]	۴/۶۰±۰/۲۲	۳۵/۳۳±۰/۱۰	۸۲/۲۰±۱/۷۵[c]	۳۳۲/۱۰±۰/۱۵[c]
(b) ۲۶ mg/kg	۱۵±۰/۰۰	۹۹±۰/۰۰	۱۷۰±۰/۰۲	۶۸۰±۰/۰۲	۳/۶۷±۰/۱۷	۳۱/۲۸±۰/۶۲	۷۵/۳۲±۱/۵۲	۲۵۱/۴۵±۰/۰۰
(c) ۴۵ mg/kg	۱۴±۰/۰۰[a]	۵۲±۰/۰۰[a]	۸۰±۰/۰۰[a]	۶۱۰±۰/۰۴[a]	۳/۲۰±۰/۰۸	۱۴/۳۹±۱/۲۷	۴۳/۴۰±۱/۱۶[a]	۱۹۴/۴۵±۱۲/۸۲[a]

وجود حروف لاتین متفاوت نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی دار (P<۰/۰۵) بین گروه‌های مورد مطالعه می‌باشد.(n=۵).

جدول ۲: مقایسه میانگین (±SEM) قطر لوله‌های منی‌ساز (میکرومتر) در مراحل مختلف روند تکامل پس از تولد در نوزادان گروه کنترل و گروه‌های تحت درمان با کافئین طی دوره بارداری.

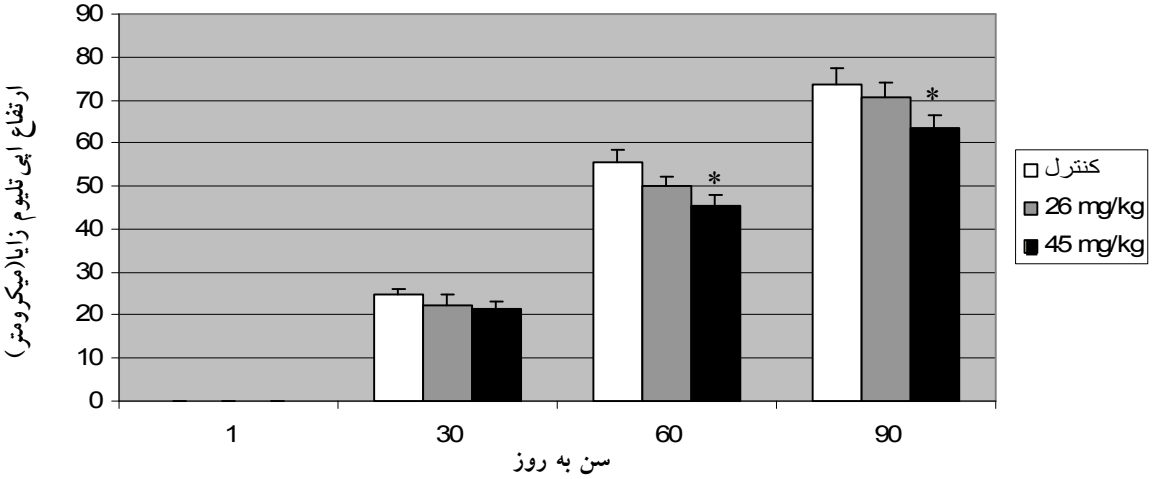
گروه	سن به روز			
	۱	۳۰	۶۰	۹۰
کنترل(a)	۵۹/۸۳±۰/۰۳	۱۲۴/۹۶±۰/۳۶	۱۶۸/۵۲±۴/۴۵ [c]	۲۵۶/۰۴±۰/۴۳ [c]
(b) ۲۶ mg/kg	۵۹/۵۹±۰/۳۳	۱۲۳/۳۲±۱/۸۲	۱۴۱/۴۳±۴/۱۱	۲۴۱/۲۴±۲/۸۴
(c) ۴۵ mg/kg	۵۸/۹۳±۰/۳۳	۹۱/۹۵±۰/۶۹	۱۱۸/۰۷±۳/۴۰[a]	۱۹۷/۳۳±۲/۶۹ [a]

وجود حروف لاتین متفاوت نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی دار (P<۰/۰۵) بین گروه‌های مورد مطالعه می‌باشد. (n=۵).



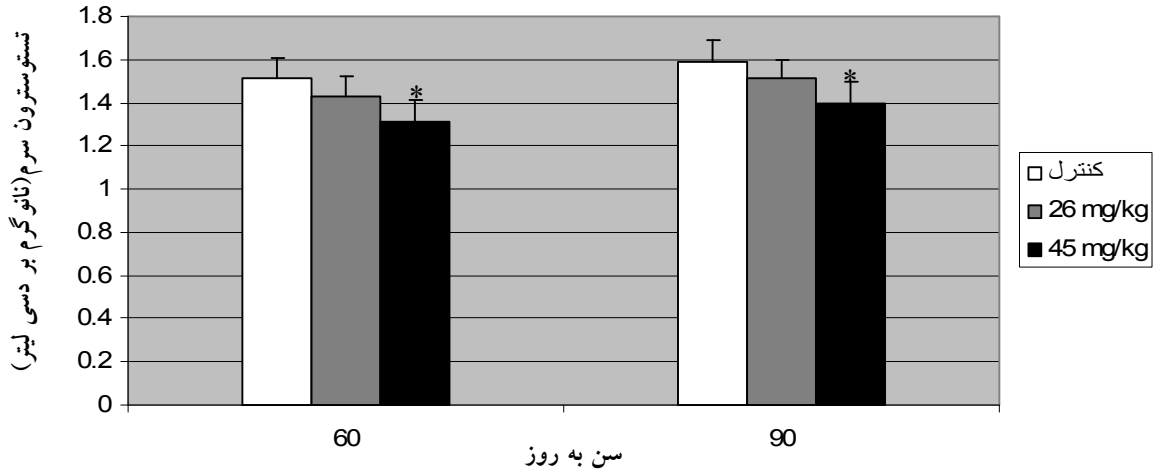
نمودار ۱: مقایسه میانگین (±SEM) وزن بدن (گرم) در مراحل مختلف روند تکامل پس از تولد در نوزادان گروه کنترل و گروه‌های تحت درمان با کافئین طی دوره بارداری(n=۵).

*** p<۰/۰۵**



نمودار ۲: مقایسه میانگین (±SEM) ارتفاع اپی‌تلیوم زایا (میکرومتر) در مراحل مختلف روند تکامل پس از تولد در نوزادان گروه کنترل و گروه‌های تحت درمان با کافئین طی دوره بارداری(n=۵).

*** p<۰/۰۵**



نمودار ۳: مقایسه میانگین (±SEM) سطح سرمی تستوسترون (نانوگرم بر دسی‌لیتر) در مراحل مختلف روند تکامل پس از تولد در نوزادان گروه کنترل و گروه‌های تحت درمان با کافئین طی دوره بارداری(n=۵).

بحث

مطالعه حاضر نشان داد که وزن بدن نوزادان موش های صحرایی در گروه در معرض mg/kg ۴۵ کافئین در بدو تولد و نیز در سنین یک، دو و سه ماهگی پس از تولد نسبت به گروه کنترل به طور معنی داری کاهش می‌یابد. علاوه براین، نتایج بدست آمده نشان می دهد که وزن بدن نوزادان گروه دریافت کننده mg/kg ۲۶ کافئین در تمام مراحل زمانی پس از تولد در مقایسه با گروه کنترل نیز کاهش می یابد اما این کاهش معنی دار نیست. پولارد و اسمالشو(۱۹۸۸) با مطالعه موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار که از طریق گاواژ به مدت ۳۸ روز در معرض ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کافئین قرار داشتند، مشاهده نمودند که وزن نوزادان این موش‌ها به شدت کاهش یافته و میزان مرگ‌ومیر نوزادان در دومین هفته پس از تولد افزایش می‌یابد(۲۵). همچنین، تای و همکاران(۱۹۹۳) با تیمار موش‌های صحرایی ماده اسپراگ داولی در روزهای ۲ تا ۲۰ آبستنی توسط ۳۰ و ۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کافئین از طریق گاواژ مشاهده نمودند وزن نوزادان نر حتی تا ۱۰۰ روزگی کاهش پیدا می‌کند(۲۶). وست و همکاران(۱۹۸۶) نیز با تیمار موش‌های صحرایی ماده اسپراگ- داولی در روزهای ۳ تا ۱۹ آبستنی توسط ۵، ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کافئین از طریق گاواژ کاهش وزن نوزادان را در گروه‌های دریافت کننده مقادیر بالاتر کافئین مشاهده نمودند(۲۷). در همین راستا ناش و پرساد(۱۹۸۸) نیز با تزریق ۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم کافئین به موش‌های اسپراگ- داولی در روز ششم آبستنی هیچ تغییری در وزن و اندازه نوزادان مشاهده نکردند(۲۸). همچنین، آسچپاچر و همکاران (۱۹۸۰) مشاهده نمودند که تجویز مقادیر۱۷ و ۳۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم کافئین طی دوران آبستنی و مقادیر ۳۱ و ۶۰ میلی-گرم بر کیلوگرم کافئین طی دوران شیردهی تأثیری بر اندازه وزن نوزادان موش‌های صحرایی اسپراگ- داولی و تکامل نوزادان ندارد ولی مقادیر۶۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم کافئین طی دوران بارداری و ۱۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کافئین طی دوران شیردهی باعث کاهش وزن نوزادان در دوره شیرخوارگی می‌شود(۲۹). از مقایسه نتایج بدست آمده در این پژوهش با نتایج سایر محققان چنین بنظر می رسد که اثرات مصرف مادری کافئین طی دوره بارداری بر وزن نوزادان متولد شده بسته به دوز مصرفی متفاوت می باشد، بگونه ای که با افزایش دوز مصرفی اثرات آن شدیدتر خواهد بود.

علاوه بر این، نتایج حاصل از این پژوهش بیانگر ایجاد تغییرات هیستومورفومتریک در بیضه موش های صحرایی نری می باشد که طی دوران جنینی از طریق مادر در معرض کافئین قرار داشتند. مطالعه حاضر نشان داد که وزن و حجم بیضه نوزادان موش‌های صحرایی در گروه در معرض mg/kg ۴۵ کافئین در مراحل زمانی مختلف پس از تولد نسبت به گروه کنترل به طور معنی داری کاهش می-یابد. اثرات منفی کافئین بر وزن و حجم بیضه موش‌های صحرایی، نه تنها در گروه دریافت کننده mg/kg ۴۵ کافئین، بلکه در تمام مراحل زمانی پس از تولد در گروه دریافت کننده mg/kg ۲۶ کافئین نیز مشاهده گردید اگر چه این اثرات تنها در گروه دریافت کننده mg/kg ۴۵ کافئین در مقایسه با گروه کنترل معنی دار بود. کاهش حجم و وزن بیضه نوزادان را می توان به کاهش قطر لوله‌های منی‌ساز و ارتفاع اپی‌تلیوم زایا در گروه های دریافت کننده کافئین، که در این مطالعه مشاهده گردید، نسبت داد. در این خصوص، کوکب (۱۹۹۹) گزارش داد با تزریق ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کافئین به صورت داخل عضلانی به مدت دو، سه و چهار هفته به موش‌های صحرایی آلبینوی بالغ، وزن بدن در گروه‌های آزمون افزایش و وزن بیضه کاهش می‌یابد(۱۳). ویت بی و همکاران (۱۹۸۶) دریافتند که تجویز ۴۰ و ۸۰ میلی گرم بر کیلوگرم کافئین دو بار در روز از طریق گاواژ به مدت ۳ هفته به موش های صحرایی بالغ اوسبورن مندل اثری بر وزن بیضه آنها ندارد(۱۰). از مقایسه نتایج بدست

آمده در این پژوهش با نتایج سایر محققان چنین بنظر می رسد که بسته به دوز مصرفی شدت تغییرات بافتی در بیضه متفاوت بوده و نیز اینکه دوره جنینی در مقایسه با زمان بلوغ در برابر اثرات کافئین حساس‌تر می باشد، چرا که مقادیر کمتر کافئین طی دوره جنینی تغییرات بافتی بیضه را ایجاد نموده‌اند.

در مطالعه حاضر قطر لوله‌های منی‌ساز و ارتفاع اپی تلیوم زایا در گروه‌های دریافت‌کننده mg/kg ۴۵ و mg/kg ۲۶ کافئین نسبت به گروه کنترل کاهش نشان داد، اگرچه این کاهش صرفاً در گروه دوز زیاد معنی دار بود. پولارد و همکاران (۲۰۰۱) طی مطالعه‌ای با قرار دادن بیضه جنین های ۱۳ روزه موش های صحرایی در معرض مقادیر مختلف کافئین در محیط کشت، هیچگونه تغییری در روند تمایز لوله های منی ساز و نیز سلول های لیدیگ مشاهده ننمودند(۱۶). اختلاف در نتایج بدست آمده در پژوهش حاضر و مطالعه پولارد و همکاران (۲۰۰۱) می تواند ناشی از تفاوت در نوع روش مطالعاتی بین مطالعات حیوانی و کشت های سلولی باشد. کوکب (۱۹۹۹) نیز کاهش قطر لوله‌های منی‌ساز به دنبال تزریق ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کافئین به صورت داخل عضلانی به مدت دو، سه و چهار هفته به موش‌های صحرایی آلبینوی بالغ را گزارش داد. همچنین، شدیدتر بودن کاهش تعداد سلول‌های اسپرماتوژنیک اعم از سلول های اسپرماتوگونیوم، اسپرماتوسیت اولیه و ثانویه در موش هایی که مدت زمان بیشتری در معرض کافئین بودند را گزارش نمود (۱۳). در خصوص نحوه تأثیر کافئین بر لوله های منی ساز، عربی(۱۹۹۳) گزارش نمود که کافئین با انقباض ماهیچه‌های صاف سلول‌های میوئید اطراف لوله‌ای باعث کاهش قطر لوله‌های منی‌ساز می‌گردد(۳۰). عزت و الگوهری (۱۹۹۴) نیز گزارش دادند که کافئین از طریق مهار ترشح هورمونFSH باعث کاهش فعالیت اسپرماتوژنز در خرگوش های نر بالغ می شود(۳۱). بطورکلی، گفته شده که کافئین بر تقسیم سلولی اثر گذاشته و باعث کاهش تعداد سلول‌ها می‌گردد(۱۳). لذا، با توجه به نتایج بدست آمده می توان چنین مطرح نمود که احتمالاً کافئین با تأثیر بر روند تکثیر سلول های سرتولی در لوله های منی ساز طی دوره جنینی موجب کاهش فعالیت اسپرماتوژنیک در این لوله ها و نهایتاً کاهش قطر و ارتفاع اپی تلیوم زایا و در نتیجه وزن و حجم بیضه نوزادان شود، چراکه گفته می شود کارایی اسپرماتوژنز فرد در دوران بلوغ بستگی به تعداد سلول های سرتولی موجود در بافت بیضه دارد(۳۲). بنابراین، از آنجا که تکثیر سلول های سرتولی صرفاً طی دوره های پیش از بلوغ صورت می پذیرد(۳۳)، در معرض قرارگیری در برابر عوامل مختلف می تواند اثرات قابل توجهی بر روند تکامل بیضه نوزادان ایجاد نماید. برای این منظور پیشنهاد می شود تا اثرات کافئین بر روند تمایز و تکثیر سلول های سرتولی در مدل های حیوانی و نیز در محیط کشت مورد ارزیابی قرار گیرد. همچنین، گفته شده که ممکن است کافئین از طریق اعمال آپوپتوز موجب ایجاد اثرات سیتوتوکسیسیته شود (۳۴).علاوه‌براین، مشخص شده که کافئین آنالوگ cAMP و مهارکننده فسفودی استراز بوده و از سازمان‌یابی صحیح و درست غشاء پایه در لوله‌های منی‌ساز جنین‌ها جلوگیری می‌کند(۴). این مسأله نیز بنوبه خود تغییرات ساختاری لوله های منی ساز نوزادان را توجیه می کند. لذا توصیه می شود که جهت تعیین مکانیسم تأثیرگذاری کافئین طی روند تکامل گناد نوزادان مطالعات سلولی و مولکولی دقیقی در این خصوص انجام گیرد. اما این در حالی است که برای کافئین پتانسیل کنترل آسیب های اکسیداتیو در غلظت هایی در حد میلی مولار نیز پیشنهاد می شود(۳۵).

علاوه براین، این پژوهش نشان داد که سطح سرمی تستوسترون در نوزادان موش های صحرایی دریافت‌کننده mg/kg ۴۵ کافیئن در سنین ۶۰ و ۹۰ روزگی بطور معنی داری کاهش می‌یابد، در حالی که چنین اختلاف معنی داری در گروه دریافت‌کننده mg/kg ۲۶ کافئین مشاهده نمی

شود، اگرچه میانگین سطح سرمی هورمون تستوسترون در این گروه نیز کمتر از گروه کنترل می باشد. کاهش سطح سرمی هورمون تستوسترون در نوزادان موش های صحرایی را نیز می توان به اثرات کافئین بر روند تکثیر سلولی(۱۳) مرتبط دانست. پولارد و همکاران(۱۹۹۰) با تجویز ۳۰ میلی گرم بر کیلوگرم کافئین به موش‌های صحرایی باردار مشاهده نمودند که کافئین از تمایز بافت بینابینی و سلول‌های لیدیگ بیضه نوزادان جلوگیری نموده و میزان هورمون تستوسترون در بیضه جنین‌های ۱۵ روزه را کاهش می‌دهد(۲۵). رامولا هنسن و همکاران(۲۰۰۸) نیز نشان دادند، میانگین حجم مایع منی و غلظت هورمون تستوسترون و اینهیبین B پسران ۱۸ تا ۲۱ ساله‌ای که مادران‌شان هر روز طی دوران بارداری قهوه مصرف می‌کردند کاهش می‌یابد (۱۷). همچنین، عربی (۱۹۹۳) با تزریق ۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کافئین به صورت داخل صفاقی به موش‌های صحرایی افزایش میزان هورمون های FSH و LH و پروژسترون همچنین کاهش شدید هورمون‌های پرولاکتین و تستوسترون را مشاهده نمود(۳۰). این در حالی است که پولارد و همکاران (۲۰۰۱) دریافتند که قرارگیری در معرض مقادیر مختلف کافئین در محیط کشت، هیچگونه تأثیری بر روند تمایز سلول های لیدیگ ندارد (۱۶).

بنابراین، نتایج حاصل از این پژوهش نشان می‌دهد که مصرف مادری کافئین طی دوره بارداری می‌تواند بسته به دوز مصرفی موجب تغییرات ساختاری در بافت بیضه نوزادان در هنگام تولد، پیش و پس از بلوغ شده و توانایی باروری آنها را تحت تأثیر قرار دهد.

قدردانی

بدینوسیله از شورای پژوهشی دانشگاه شهید چمران اهواز به خاطر تأمین بودجه پژوهشی مورد نیاز تشکر می گردد.

منابع

1-Travers MJ. Effects of environmental toxicants. Msc dissertation in epidemiology, State university of New York. 2005; p. 1-2.
2-Kumar S, Kumari A, Murarka S. Lifestyle factors in deteriorating male reproductive health. Indian J Exp Biol 2009 Aug; 47(8):615-24. [PMID=19775067]
3-Swan SH, Elkin EP, Fenster L. Have sperm densities declined? A reanalysis of global trend data. Environ Health Perspect 1997 Nov;105(11):1228-32. [PMID=9370524]
4-Monroe J. Caffeine's Book. Current Health 1998;2:5-12.
5-Matissek R. Evaluation of xanthine derivatives in chocolate-nutritional and chemical aspects. Eur Food Res Technol 1997; 205(3):175-84. [Cross Ref]
6-Bunker ML, McWilliams M. Caffeine content of common beverages. J Am Dietetic Assoc 1979 Jan; 74(1):28-32. [PMID=762339]
7-Otberg N, Teichmann A, Rasuljev U, Sinkgraven R, Sterry W, Lademann J. Follicular penetration of topically applied caffeine via a shampoo formulation. Skin Pharmacol Physiol 2007; 20(4):195-8. [PMID=17396054]
8-Golding J. Reproduction and caffeine consumption- a literature review. Early Hum Dev 1995 Aug;43(1):1-14. [PMID=8575347]
9-Imai A, Ichigo S, Takagi H, Matsunami K, Suzuki N, Yamamoto A. Effects of cola intake on fertility: a review. Health 2010; 2(9):997-1001. [Cross Ref]
10-Whitby KE, Collins TF, Welsh JJ, Black TN, O'Donnell M, Gray GC, et al. Reproduction study of caffeine administration to male Osborne-Mendel rats. Food Chem Toxicol 1986 Apr; 24(4):277-82. [PMID=3732971]
11-Vine MF, Setzer RW Jr, Everson RB, Wyrobek AJ. Human sperm morphometry and smoking, caffeine and alcohol consumption. Reprod Toxicol 1997 Mar; 11(2-3):179-84. [PMID=9100290]
12-Friedman L, Weinberger MA, Farber TM, Moreland FM, Peters EL, Gilmore CE, et al. Testicular atrophy and impaired spermatogenesis in rats fed high level of the methylxanthines Caffeine, theobromine or theophylline. J Environ Pathol Toxicol 1979 Jan-Feb; 2(3):687-706. [PMID=422930]
13-Kaukab N. Effects of caffeine on rat testes. Professional Med J 1999;6(1):65-9.

14-Bech B, Obel C, Henriksen TB, Olsen J. Effect of reducing caffeine intake on birth weight and length of gestation : randomized controlled trial. Br Med J 2007 Feb; 334(7590):409. [PMID=17259189]
15-Bracken MB, Triche EW, Belanger K, Hellenbrand K, Leaderer BP. Association of maternal caffeine consumption with decrements in fetal growth. Am J Epidemiol 2003 Mar 1;157(5):456-66. [PMID=12615610]
16-Pollard I, Locquet O, Solvar A, Magre S. Effects of caffeine and its reactive metabolites theophylline and theobromine on the differentiating testis. Reprod Fertil Dev 2001;13(5-6):435-41. [PMID=11833941]
17-Ramlau-Hansen CH, Thulstrup AM, Bonde JP, Olsen J, Bech BH. Semen quality according to prenatal coffee and present caffeine exposure: two decades of follow-up of a pregnancy cohort. Hum Reprod 2008 Dec;23(12):2799-805. [PMID=18757446]
18-Rodríguez-Pinilla E, Arroyo I, Fondevilla J, García MJ, Martínez-Frías ML. Prenatal exposure to valproic acid during pregnancy and limb deficiencies: a case-control study. Am J Med Genet. 2000 Feb;90(5):376-81. [PMID=10706358]
19-Hughes RN, Beveridge IJ. Behavioral effects of exposure to caffeine during gestation, lactation or both. Neurotoxicol Teratol 1991 Nov-Dec; 13(6):641-7. [PMID=1779952]
20-Hughes RN, Loader VG. Effects on elevated plus-maze behavior of exposure to caffeine during both gestation and lactation. Psychobiology 1996; 24(4):314-9.
21-Wannang NN, Jimam NS, Gyang SS, Bukar BB, Gotom S. Effects of Cucumis metuliferus E Mey. Ex Naud (Cucurbitaceae) fruit extract on some male reproductive parameters in adult rats. Afr J Pharm Pharmacol 2008; 2(3): 48-51.
22-Sprando RL. Perfusion of the rat testis through the heart using heparin. In: Russell LD, Ettlin RA, Sinha Hikim AP, Clegg ED, eds. Histological and histopathological evaluation of the testis. Clearwater (FL): Cache River Press; 1990. p. 277-80.
23-Howard CV, Reed MG. Unbiased Stereology. Guilford (Oxford): Bios Scientific Pub;1998.p. 39-54.
24-Franca LR, Godinho CL. Testis morphometry, seminiferous epithelium cycle length and daily sperm production in domestic cats (Felis catus). Biol Reprod 2003 May; 68(5):1554-61. [PMID=12606460]
25-Pollard I, Smallshaw J. Male mediated Caffeine effects over two generations of rats. 1988 Jun;10(3):271-81. [PMID=3216096]
26-Tye K, Pollard I, Karlsson L, Scheibner V, Tye G. Caffeine exposure in utero increase the incidence of apnea in adult rats. Reprod Toxicol 1993 Sep-Oct; 7(5):449-52. [PMID=8274820]
27-West GL, Sobotka TJ, Brodie RE, Beier JM, O'Donnell MW Jr. Postnatal neurobehavioral development in rats exposed in utero to caffeine. Neurobehav Toxicol Teratol 1986 Jan;l8(1):29-43. [PMID=3703093]
28-Nash JE, Persaud TV. Influence of nicotine and caffeine on rat embryonic development. Histol Histopathol 1988 Oct; 3(4):377-88. [PMID=2980247]
29-Aeschbacher HU, Milon H, Poot A, Würzner HP. Effect of Caffeine on rat offspring from treated dams. Toxicol Lett 1980 Nov; 7(1):71-7. [PMID=7292516]
30-Arabi M. Study of effects of acute and chronic doses of caffeine on hormonal axis of PG and testis in adult male rat. MSc. dissertation, Tarbiat Moallem University of Tehran, No. 22218, 1993; P.150-65.
31-Ezzat AR, el-Gohary ZM. Hormonal and histological effects of chronic caffeine administration on the pituitary-gonadal and pituitary-adrenocortical axes in male rabbits. Funct Dev Morphol 1994; 4(1):45-50. [PMID=7819609]
32-Sharpe RM. Regulation of spermatogenesis. In: Knobil E, Neill JD. (eds). The physiology of reproduction. 2nd ed. New York (NY): Raven Press; 1994. P.1363-434.
33- Griswold MD. The central role of sertoli cells in spermatogenesis. Semin Cell Dev Biol 1998 Aug;9(4):411-6. [PMID=9813187]
34-Fernández MJ, López A, Santa-Maria A. Apoptosis induced by different doses of caffeine on Chinese hamster ovary cells. J Appl Toxicol. 2003 Jul-Aug; 23(4):221-4. [PMID=12884404]
35-Shi X, Dalal NS, Jain AC. Antioxidant behaviour of caffeine: efficient scavenging of hydroxyl radicals. Food Chem Toxicol 1991 Jan; 29(1):1-6. [PMID=1847890]

Effects of Caffeine Consumption During Pregnancy on Postnatal Development of Testis in Wistar Rats Offspring

Dorostghoal M[1*], Moazedi AA[2], Nooraei P[3]

1-Assistant Professor of Histology and Embryology
2- Professor of Biology
3-MSC of Biology

1-Department of Histology and Embryology.
2-Department of Biology.
School of Sciensese, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.

[*]Corresponding author: Department of Histology and Embryology, School of Sciensese, Shahid Chamran, University Ahvaz, Iran.
Tel:0098-611-3331045
Email: dorostghoal@yahoo.com

Abstract

Background and Objective: In recent years there are growing concerns about the decrease of male reproductive health by different factors. So, present study was aimed to determine the effects of caffeine consumption during gestation on development of histomorphometric structure of testis in Wistar rats offspring.

Subjects and Methods: Pregnant female Wistar rats in treatment groups received low and high doses (26 and 45 mg/kg) of caffeine during gestation via drinking water. At 1, 30, 60 and 90 days after birth, body weight of male offsprings were measured, serum testosterone levels analyzed and the testis were removed, their weights recorded and were fixed in Bouin's solution. Following tissue processing, 5-6µm sections were prepared, then, at different stages of postnatal development the volumes of testis were estimated by Cavellieri method and structure of seminiferous tubules analyzed quantitatively.

Results: The results showed significant ($p<0.05$) decreases in mean weight of pups, weight and absolute volume of testis in high dose treatment group in comparison with control group. Also, loss of spermatogenesis as increase of spermatogenic cells distribution, decreases of spermatgenic cell layers and germinal epithelium height and vacuolated germinal epithelium were seen in treatment groups. Mean diameter of seminiferous tubules decreased significantly ($p<0.05$) at 30 and 90 days of age in high dose treatment group. Moreover, serum testosterone levels at 60 and 90 days of age decreased significantly ($p<0.05$) in high dose treatment group.

Conclusion: Present study indicates that caffeine consumption during gestation can reduce testicular parameters during postnatal development in male offspring Wistar rats.

Sci Med J 2011; 10(1):69-79

Keywords: Caffeine, Development, Pregnancy, Testis, Testosterone.

Received: May 11, 2010 **Revised: Dec 4, 2010** **Accepted: Dec 7, 2010**