

## بررسی مقایسه‌ای اثرات سمی دو روش مصرف کافئین در حضور فنوباریتال بر روی موش‌های باردار C57BL/6J

رامین سراوانی\*<sup>۱</sup> (M.Sc)، محمد شعبانی<sup>۲</sup> (Ph.D)

۱- دانشگاه علوم پزشکی زاهدان، دانشکده پزشکی، گروه بیوشیمی

۲- دانشگاه علوم پزشکی ایران، دانشکده علوم پایه، گروه بیوشیمی

### چکیده

سابقه و هدف: کافئین یک ترکیب آلکالوئید طبیعی است که در قهوه، چای و نوشابه‌های کولادار وجود داشته و توسط سیستم آنزیمی سیتوکروم P-۴۵۰ کبد، متابولیزه می‌گردد. از آنجایی که مصرف زیاد کافئین توسط زنان باردار می‌تواند اثرات جانبی بر روی جنین داشته باشد و به دلیل اینکه فنوباریتال سبب افزایش فعالیت سیستم آنزیمی سیتوکروم P-۴۵۰ کبد می‌گردد؛ در این مطالعه بر آن شدیم اثرات سمی دو روش مصرف کافئین، به طریق خوراکی و تزریق داخل صفاقی را بر روی جنین موش‌های باردار نژاد C57BL/6J با و بدون اثر تحریکی فنوباریتال بر سیستم آنزیمی فوق‌الذکر مقایسه نماییم.

مواد و روش‌ها: در این تحقیق، ۶۰ موش باردار نژاد C57BL/6J به طور تصادفی به دو دسته خوراکی کافئین (گروه شاهد خوراکی، گروه فنوباریتال - کافئین، گروه کافئین) و تزریق داخل صفاقی (گروه شاهد تزریقی، گروه فنوباریتال - کافئین، گروه کافئین) تقسیم گردیدند. گروه‌های شاهد و گروه‌های فنوباریتالی به ترتیب در روز نهم بارداری آب مقطر و ۸۰ mg/kg فنوباریتال به طریق داخل صفاقی و گروه کافئینی ۸۰ mg/kg کافئین به طریق داخل صفاقی دریافت داشتند. در روز یازدهم و دوازدهم بارداری، گروه‌های فنوباریتال - کافئینی و گروه‌های کافئینی، ۲۰۰ mg/kg کافئین و گروه‌های شاهد، آب مقطر داده شد. در روز هفدهم بارداری، تمامی حیوانات مورد مطالعه به روش قطع نخاعی کشته شدند. جنین‌های تمام گروه‌ها جمع‌آوری و سپس از نظر وزن و هماتوما در سطح بدن مورد بررسی قرار گرفتند. آزمون ۱ برای مقایسه وزن‌ها و تست کای اسکوتر برای مقایسه هماتوما در گروه‌ها مورد استفاده قرار گرفت.

یافته‌ها: در مورد وزن جنین‌ها اختلاف معنی‌داری بین گروه شاهد خوراکی با گروه فنوباریتال - کافئین خوراکی و گروه شاهد تزریقی با گروه فنوباریتال - کافئین تزریقی و گروه فنوباریتال - کافئین خوراکی با گروه فنوباریتال - کافئین تزریقی وجود نداشت اما اختلاف معنی‌داری بین گروه فنوباریتال - کافئین خوراکی با گروه کافئین خوراکی و گروه فنوباریتال - کافئین تزریقی با گروه کافئین و همچنین گروه کافئین خوراکی با گروه کافئین تزریقی وجود داشت ( $P < 0/05$ ). نتایج آزمون کای اسکوتر در مورد مقایسه هماتوما در گروه‌ها نشان داد که بین گروه شاهد خوراکی با گروه فنوباریتال - کافئین خوراکی و گروه شاهد تزریقی با گروه فنوباریتال - کافئین تزریقی و نیز بین گروه کافئین تزریقی با گروه کافئین خوراکی اختلاف معنی‌داری وجود دارد ( $P < 0/05$ ).

نتیجه‌گیری: فنوباریتال، با غلظت ۸۰ mg/kg، سبب کاهش اثرات سمی کافئین بر وزن جنین‌ها گردیده ولی نتوانسته است مانع از افزایش تعداد جنین‌های هماتومایی در هر دو راه مصرف کافئین گردد.

واژه‌های کلیدی: کافئین، فنوباریتال، حاملگی، جنین، C57BL/6J

## مقدمه

کافئین (۱، ۳ و ۷ تری متیل گزانتین) یک ترکیب آلکالوئید طبیعی است که اثرات فارماکولوژیک آن شامل تحریک سیستم عصبی مرکزی، تحریک عضله قلب و شل کردن عضلات صاف است [۱۳]. این ماده از جمله موادی است که مصرف جهانی دارد [۳] و در چای، قهوه، نوشیدنی‌های کولادار، دسرهای لبنیاتی و در داروهای از جمله داروهای ضد آلرژی و ادرارآور با میزان متفاوتی وجود دارد [۵، ۶]. کافئین و دیگر متیل گزانتین‌ها سریعاً بعد از خوردن، جذب می‌گردند که جذب میزان بالای پلاسمایی کافئین بعد از ۳۰ تا ۶۰ دقیقه در خون دیده می‌شود. این ماده پس از مصرف، در شیر مادر، ترشحات رحمی، مایع آمنیون بلاستوسیت و سایر بافت‌های جنین نیز قابل تشخیص است [۱]. جنین می‌تواند چندین میلی‌گرم کافئین را هر روز در اثر بلعیدن ۵۰۰ میلی‌لیتر مایع آمنیوتیک دریافت کند [۱۳]. علاوه بر این، کافئین با انقباض عروق خونی جفت از طریق آزادسازی کاتکول آمین‌ها، باعث عدم خون‌رسانی به جنین می‌شود که این خود باعث کاهش رشد جنین می‌گردد. کافئین به دلیل اینکه شباهت ساختمانی با آدنین و گوانین دارد شاید در تقسیم سلولی و متابولیسم، اختلال ایجاد کند [۱۴] به همین منظور مصرف بیش از ۱۵۰ میلی‌گرم کافئین در روز (معادل ۶ فنجان قهوه) در طول دوران بارداری خطرناک محسوب می‌شود [۱۰، ۱۵]. کافئینی که از طریق دستگاه گوارش جذب می‌گردد (نسبت به سایر راه‌های ورودی) قبل از توزیع در بدن توسط کبد به واسطه سیستم آنزیمی سیتوکروم P-۴۵۰ متابولیزه می‌گردد [۱۲]. در نتیجه اثرات سمی آن بر روی جنین کاهش می‌یابد. فنوباریتال ماده‌ای است که از طریق افزایش بیان ژن آنزیم سیتوکروم P-۴۵۰ در سلول‌های کبدی سبب افزایش مقدار این آنزیم می‌گردد [۱۷] و می‌تواند کافئین بیشتری را متابولیزه کرده [۲، ۱۸] و سطح آن را بعد از مصرف، کاهش دهد و سبب رسیدن مقادیر کمتری از کافئین به جنین شود. بنابراین هدف در این مطالعه بررسی اثرات سمی کافئین از دو راه خوراکی

و تزریق داخل صفاقی در حضور و عدم حضور فنوباریتال بر روی جنین موش‌های نژاد C57BL/6J می‌باشد.

## مواد و روش‌ها

نوع مطالعه. این مطالعه از نوع تجربی بوده و محل انجام آن دانشگاه علوم پزشکی ایران و زمان آن سال ۷۷-۷۸ بوده است.

حیوانات. تعداد ۱۰۰ موش (نر و ماده) از نژاد C57BL/6J از انستیتو پاستور تهران خریداری گردید و پس از انتقال به حیوان‌خانه تحقیقاتی دانشکده علوم پایه دانشگاه ایران، اجازه داده شد که به مدت دو هفته با محیط جدید تطابق پیدا کنند. محیط حیوان‌خانه دارای شرایط استاندارد بود و در این مدت تحت شرایط ثابت ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی در دمای مناسب به همراه آب و غذا نگهداری شدند. درجه حرارت آزمایشگاه، در تمام مدت در حد ۲۵-۲۰ درجه سانتی‌گراد و ثابت نگهداری گردید.

روش بررسی. پس از طی این مدت و تطابق با محیط جدید در اولین ساعات دوره روشنایی، هر سه موش ماده با یک موش نر در یک قفس قرار داده شد. متذکر می‌گردد، از ابتدای نگهداری موش‌ها و انتقال آنها به حیوان‌خانه، موش‌های نر و ماده به طور جداگانه نگهداری می‌گردیدند و پس از یک شب به طور مرتب موش‌ها از نظر ایجاد پلاک واژینال بررسی و در صورت مشاهده پلاک واژینال از بقیه جدا می‌شدند و این زمان، روز یک حاملگی برایشان ثبت می‌گردید. کلیه موش‌های مثبت (حامله) در قفس‌های دیگری در همان محیط برای ادامه تحقیق نگهداری گردیدند. لازم به ذکر است در مجموع ۸۰ موش ماده با ۲۰ موش نر در قفس‌های مختلف تحت شرایط جفت‌گیری قرار گرفتند. در مجموع ۶۰ موش حامله، شناسایی شدند. سپس موش‌های فوق به طور تصادفی به دو دسته: ۱- خوراکی کافئین ۲- تزریق داخل صفاقی کافئین، تقسیم شدند که هر دسته شامل سه گروه به شرح ذیل می‌باشد (جدول ۱):

## الف: دسته خوراکی

۱- گروه شاهد خوراکی شامل ۸ سر موش حامله بود که در روز نهم بارداری، ۸۰ mg/kg فنوباریتال به صورت داخل صفاقی و در روز یازدهم و دوازدهم بارداری ۲۰۰ mg/kg آب مقطر به صورت خوراکی دریافت کردند.

۲- گروه فنوباریتال - کافئین خوراکی شامل ۷ سر موش حامله بود که در روز نهم بارداری، ۸۰ mg/kg فنوباریتال به صورت داخل صفاقی و در روز یازدهم و دوازدهم بارداری، کافئین به مقدار ۲۰۰ mg/kg به طریق خوراکی دریافت داشتند.

۳- گروه کافئین خوراکی شامل ۷ سر موش حامله بود که در روز نهم بارداری، ۸۰ mg/kg آب مقطر به صورت داخل صفاقی و در روز یازدهم و دوازدهم بارداری، ۲۰۰ mg/kg کافئین به طریق خوراکی دریافت نمودند.

## ب: دسته تزریق داخل صفاقی

۱- گروه شاهد تزریقی شامل ۷ سر موش حامله بود که در روز نهم بارداری، فنوباریتال ۸۰ mg/kg به صورت داخل صفاقی و در روز یازدهم و دوازدهم بارداری، ۲۰۰ mg/kg آب مقطر به طریق داخل صفاقی دریافت کردند.

۲- گروه فنوباریتال - کافئین تزریقی شامل ۶ سر

موش حامله بود که در روز نهم بارداری، ۸۰ mg/kg فنوباریتال به صورت داخل صفاقی و در روز یازدهم و دوازدهم بارداری، ۲۰۰ mg/kg کافئین به طریق داخل صفاقی دریافت داشتند.

۳- گروه کافئین تزریقی شامل ۶ سر موش حامله بود که در روز نهم بارداری، ۸۰ mg/kg آب مقطر و در روز یازدهم و دوازدهم بارداری، ۲۰۰ mg/kg کافئین به طریق داخل صفاقی دریافت نمودند.

در روز هفدهم بارداری کلیه موش‌های حامله به صورت قطع نخاعی کشته شدند و با شکافتن جدار قدامی شکم موش‌های حامله، جنین‌ها خارج و جمع‌آوری گردیدند که تعداد جنین‌ها، در گروه‌های مختلف بدین شرح بود: گروه شاهد خوراکی ۶۱ عدد، گروه فنوباریتال - کافئین خوراکی ۵۴ عدد، گروه خوراکی ۵۳ عدد، گروه شاهد تزریقی ۵۵ عدد، گروه فنوباریتال - کافئین تزریقی ۵۱ عدد و گروه کافئین تزریقی ۴۵ عدد؛ سپس کلیه جنین‌ها از نظر وزن و وجود هماتوما در سطح بدن مورد بررسی قرار گرفتند.

آنالیز آماری. برای مقایسه وزن‌ها از t-test و نتایج حاصل از وزن‌ها به صورت Mean±SD بیان شده است و  $P < 0/05$ ، معنی‌دار تلقی گردیده است و برای بررسی هماتوما، از آزمون کای اسکوئر استفاده گردیده است.

جدول ۱. طبقه‌بندی گروه‌ها براساس نوع روش مصرف کافئین و تعداد مادران باردار و غیرباردار هر گروه

گروه‌های حیوانی	حیوانات هر گروه	باردار	غیرباردار	مرگ	سقط جنین
شاهد خوراکی	۱۰	۸	۲	-	-
فنوباریتال - کافئین خوراکی	۱۰	۷	۲	۱*	-
کافئین خوراکی	۱۰	۷	۱	۲**	-
شاهد تزریقی	۱۰	۷	۳	-	-
فنوباریتال - کافئین تزریقی	۱۰	۶	۳	۱***	-
کافئین تزریقی	۱۰	۶	۱	۱****	۲*****

توضیحات حذف موش‌های باردار:

\* در حال خوراندن کافئین در روز یازدهم بارداری، \*\* در حال خوراندن کافئین در روز یازدهم و موش حامله دیگر در روز دوازدهم بارداری، \*\*\* روز دوازدهم بارداری بعد از تزریق کافئین، \*\*\*\* در روز پانزدهم بارداری به علت نامشخص، \*\*\*\*\* سقط جنین در روز سیزدهم بارداری

## نتایج

اثرات مصرف خوراکی و تزریق صفاقی کافئین همراه و بدون تزریق فنوباریتال بر وزن جنین‌های هر گروه و همچنین تعداد جنین‌های هماتومی، به ترتیب در جداول ۲ و ۳ آورده شده است. همچنان‌که در جدول ۲ نشان داده شده است اختلاف معنی‌داری بین گروه شاهد خوراکی با گروه فنوباریتال - کافئین در مورد وزن جنین‌ها وجود ندارد. از طرف دیگر اختلاف معنی‌دار بین گروه فنوباریتال - کافئین خوراکی و گروه کافئین خوراکی دیده می‌شود ( $P < 0/05$ ) (جدول ۲).

در دسته تزریق داخل صفاقی کافئین، از مقایسه بین گروه شاهد تزریقی با گروه فنوباریتال - کافئین تزریقی اختلاف معنی‌داری در مورد وزن مشاهده نگردید؛ اما از مقایسه گروه فنوباریتال - کافئین تزریقی با گروه کافئین تزریقی اختلاف معنی‌دار دیده می‌شود ( $P < 0/05$ ) (جدول ۲).

بین گروه فنوباریتال - کافئین خوراکی با گروه فنوباریتال - کافئین تزریقی اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید ولی بین گروه کافئین تزریقی در مقایسه با گروه

کافئین خوراکی اختلاف معنی‌دار دیده می‌شود ( $P < 0/05$ ) (جدول ۲).

نتایج آزمون کای اسکوئر برای مقایسه جنین‌های هماتومی، نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین گروه شاهد خوراکی در مقایسه با گروه فنوباریتال - کافئین خوراکی وجود دارد ( $P < 0/05$ ) (جدول ۳) و بین گروه فنوباریتال - کافئین خوراکی با گروه کافئین خوراکی اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید (جدول ۳).

همچنین نتایج آزمون کای اسکوئر برای دسته تزریق داخل صفاقی کافئین نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین گروه شاهد تزریقی در مقایسه با گروه فنوباریتال - کافئین تزریقی وجود دارد ( $P < 0/05$ ) (جدول ۳)؛ در مقابل، بین دو گروه فنوباریتال - کافئین تزریقی با گروه کافئین تزریقی اختلاف، معنی‌دار نیست (جدول ۳).

بین گروه فنوباریتال - کافئین تزریقی با گروه فنوباریتال - کافئین خوراکی اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید (جدول شماره ۳)؛ از طرف دیگر بین گروه کافئین تزریقی و گروه کافئین خوراکی، اختلاف معنی‌دار مشاهده نگردید ( $P < 0/05$ ) (جدول ۳).

جدول ۲. نتایج حاصل از مصرف خوراکی و تزریق داخل صفاقی کافئین در حضور و عدم حضور فنوباریتال بر وزن جنین‌های گروه‌های مختلف

دسته کافئین تزریقی		دسته کافئین خوراکی	
وزن بر حسب گرم	گروه‌های حیوانی	وزن بر حسب گرم	گروه‌های حیوانی
$0/86 \pm 0/14$	گروه شاهد	$0/9 \pm 0/15$	گروه شاهد
$0/74 \pm 0/06^*$	گروه فنوباریتال - کافئین	$0/74 \pm 0/05^{\oplus}$	گروه فنوباریتال - کافئین
$0/42 \pm 0/04^{**}$	گروه کافئین	$0/65 \pm 0/1^{\oplus\oplus}$	گروه کافئین

$P > 0/05$  در مقایسه با گروه شاهد خوراکی،  $P < 0/05$  در مقایسه با گروه فنوباریتال - کافئین خوراکی،  $P > 0/05$  در مقایسه با گروه شاهد تزریقی،  $P < 0/05$  در مقایسه با گروه فنوباریتال - کافئین تزریقی،  $P > 0/05$  در مقایسه با گروه فنوباریتال - کافئین خوراکی،  $P < 0/05$  در مقایسه با گروه کافئین خوراکی

جدول ۳. نتایج هماتومی حاصل از مصرف خوراکی و تزریق داخل صفاقی کافئین در حضور و عدم حضور فنوباریتال بر جنین‌های گروه‌های مختلف

دسته کافئین تزریقی		دسته کافئین خوراکی	
تعداد جنین‌های هماتومی	گروه‌های حیوانی	تعداد جنین‌های هماتومی	گروه‌های حیوانی
۲	گروه شاهد	۰	گروه شاهد
۲ *	گروه فنوباریتال - کافئین	۱۴ $\oplus$	گروه فنوباریتال - کافئین
۲۵ $^{**}$	گروه کافئین	۱۸ $\oplus\oplus$	گروه کافئین

$P < 0/05$  در مقایسه با گروه شاهد خوراکی،  $P > 0/05$  در مقایسه با گروه فنوباریتال - کافئین خوراکی،  $P < 0/05$  در مقایسه با گروه شاهد تزریقی،  $P > 0/05$  در مقایسه با گروه فنوباریتال - کافئین تزریقی،  $P < 0/05$  در مقایسه با گروه کافئین خوراکی،  $P > 0/05$  در مقایسه با گروه فنوباریتال - کافئین خوراکی

## بحث

مطالعات زیادی بر روی انسان و حیوانات در مورد مصرف کافئین و اثرات جانبی آن بر روی جنین انجام شده است ولی مقایسه اثرات سمی کافئین بر روی جنین، از راه‌ها و دوزهای مختلف مصرف کافئین همراه و بدون تحریک سیستم آنزیمی متابولیزه کننده این ماده (سیستم آنزیمی سیتوکروم  $p-450$ ) در پژوهش‌های قبلی مشاهده نمی‌شود.

یافته‌های این تحقیق نشان می‌دهد که در دسته کافئین خوراکی، در گروه فنوباریتال - کافئین خوراکی کاهش معنی دار وزن، نسبت به گروه شاهد خوراکی وجود ندارد در مقابل، اختلاف معنی دار وزن بین گروه کافئین خوراکی و گروه فنوباریتال - کافئین خوراکی وجود دارد که این نشانگر اثر کافئین بر روی وزن جنین است و نشان می‌دهد که فنوباریتال با مقدار  $80 \text{ mg/kg}$  توانسته است سیستم آنزیمی سیتوکروم  $p-450$  را آنقدر تحریک نماید تا بتواند مقدار زیادی از کافئین را متابولیزه کرده و دوز کمتری از آن به جنین‌ها برسد. اثرات حاد مصرف کافئین خوراکی بر وزن جنین حیواناتی نظیر رت گزارش شده است [۱۶]، هم‌چنین Dunlop و همکاران، اثرات مزمن مصرف طولانی مدت کافئین را در طول دوران بارداری و شیردهی با میزان  $10 \text{ mg/kg/day}$  بر روی رت‌ها بررسی نموده و نشان داده‌اند که تحت این شرایط، کاهش رشد نوزادان این گروه از حیوانات نسبت به گروه شاهد بیشتر بوده است [۷]؛ هم‌چنین مطالعات انسانی نیز حاکی از آن است که مصرف نوشیدنی‌های کافئین دار در زنان باردار، سبب کاهش رشد درون رحمی جنین‌هایشان می‌گردد [۱۱] و مصرف بیش از  $150 \text{ mg/kg/day}$  کافئین توسط زنان باردار سبب عدم رشد و افزایش خطر سقط جنین در آن‌ها می‌گردد [۱۵]. Eskennazi و همکارانش از مطالعه بر روی ۷۸۵۵ زن باردار در آمریکا به رابطه جالبی در مورد کاهش و افزایش وزن نوزادان زنان باردار مصرف‌کننده قهوه‌های بدون کافئین و کافئین دار رسیده‌اند، آنها بیان نمودند که به‌ازای هر فنجان قهوه کافئین دار در هر هفته کاهش

میانگین وزن (۳-) گرم و به‌ازای هر فنجان قهوه بدون کافئین در هر هفته با افزایش میانگین وزن (۴/۰+) گرم در نوزادان مواجه هستند [۹]. نتایج مشابهی در دسته تزریق داخل صفاقی کافئین در مورد وزن جنین‌ها در این پژوهش مشاهده گردید. به عبارتی اختلاف معنی داری بین گروه شاهد تزریقی با گروه فنوباریتال - کافئین تزریقی وجود نداشت، ولی بین گروه فنوباریتال - کافئین تزریقی و گروه کافئین تزریقی تفاوت، معنی دار بود ( $P < 0/05$ )، که این نتیجه، نشان‌دهنده اثر فنوباریتال در خنثی‌سازی اثرات سمی کافئین بر وزن جنین‌های گروه فنوباریتال - کافئین تزریقی است. علاوه بر این از مقایسه دو راه مصرف، مشخص گردید در زمان عدم تحریک سیستم متابولیسمی مادران توسط فنوباریتال، خطر کاهش وزن جنین‌ها در گروه کافئین تزریقی در مقایسه با گروه کافئین خوراکی افزایش می‌یابد چون فراهمی زیستی (Bioavailability) کافئین در راه تزریق داخل صفاقی بالاست و با تأخیر، در معرض سیستم متابولیزه‌کننده کبدی قرار می‌گیرد و به همان نسبت جنین‌ها در مقایسه با راه خوراکی بیشتر در معرض این ماده قرار می‌گیرند. York و همکاران نیز کافئین را به صورت داخل صفاقی بدون تحریک سیستم آنزیمی سیتوکروم  $p-450$  به موش‌های باردار، تزریق کردند و نتیجه کار آنها کاهش وزن جنین‌ها بود [۱۹] و از آنجایی که در مطالعه حاضر این عمل به همراه تحریک آنزیم سیتوکروم  $p-450$  کبدی انجام پذیرفت، کاهش وزن جنین موش‌ها در گروه فنوباریتال - کافئین خوراکی و تزریقی کمتر بوده است.

یافته‌های دیگر این مطالعه در مورد هماتوما در سطح بدن نشان داد که بین گروه شاهد خوراکی با گروه فنوباریتال - کافئین خوراکی اختلاف، معنی دار است ولی بین دو گروه فنوباریتال - کافئین خوراکی و گروه کافئین خوراکی معنی دار نیست؛ هم‌چنین بین دو گروه شاهد تزریقی و گروه فنوباریتال - کافئین تزریقی نیز اختلاف، معنی دار است و در مقابل، بین دو گروه فنوباریتال - کافئین تزریقی و گروه کافئین تزریقی

## منابع

- [۱] حسینی، س.م. و انصار، م.م.، اثر کافئین بر تکامل کام در جنین رت، مجله دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گیلان، بهار و تابستان ۱۳۷۹، شماره ۳۳ و ۳۴، ص ۳۸
- [2] Aldridge, A. and Neims, A.H., The effect of phenobarbital and b-naphthoflavone on the elimination kinetics and metabolite pattern of caffeine in the beagle dog, *Drug Metab. Dispos.*, 9 (1979) 378-382.
- [3] Berthou, F., Goansduf, F., Dreano, Y. and Menez, J.F., Caffeine increase its own metabolism through cytochrome p-450 A induction in rats, *Life Sci.*, 57 (1995) 541-549.
- [4] Burdan, F., Madej, B., Wojtowicz, Z., Maciejewski, R. and Radzikowska, E., The effects of short-time caffeine administration on skeleton development in wistar rats, *Folia. Morphol. (warsz)*, 59 (2000) 91-95.
- [5] Caan, B.J. and Goldhaber, M.K., Caffeinated beverages and birth weight, *Am. J. Puplic Health*, 79 (1989) 1299-1300.
- [6] Christion, M.S. and Brent, R.L., Teratogen update: evaluation of the reproductive and developmental risks of caffeine, *Teratology*, 64 (2001) 51-78.
- [7] Dunloq, M. and Court, J.M., Effect of maternal caffeine ingestion on neonatal growth in rats, *Biol. Neonate*, 939 (1981) 178-84.
- [8] Erdogan, D., Peker, T. and Kadioglu, D., Evaluation of the skeletal defects caused by caffeine and sodium salicylate in mouse embryo, *J. Neurol. Orthop. Med. Surg.*, 16

اختلاف معنی دار وجود نداشت. Erdogan و همکاران اثر کافئین خوراکی را بر روی جنین موش‌های بارداری، بررسی نمودند و هماتوما در اطراف دهان و بینی جنین‌ها مشاهده کردند [۸] و نیز در تحقیقی اثرات کوتاه مدت کافئین خوراکی بر روی جنین رت‌های بارداری نشان داد که هماتوما در سطح بدن به همراه تغییرات اسکلتی، نتیجه مصرف کافئین بوده است [۴]. اگر چه این نتایج با یافته‌های این تحقیق هم‌خوانی داشت ولی در این مطالعه از فنوباریتال به عنوان محرک سیستم آنزیمی p-450 کبدی استفاده گردید و نشان داد که، این ماده با غلظت ۸۰ mg/kg نتوانسته است مانع از هماتوما در سطح بدن چه از راه خوراکی و چه از راه تزریق داخل صفاقی در مقایسه با گروه‌های شاهد گردد با وجود این‌که در راه خوراکی، کافئین بیشتری در معرض سیستم متابولیزه کننده کبدی قرار می‌گیرد. تفاوت معنی دار فقط بین گروه خوراکی کافئین با گروه تزریقی کافئین مشاهده گردید که این اختلاف ناشی از فراهمی زیستی کافئین در راه داخل صفاقی می‌باشد که باعث می‌گردد جنین‌ها بیشتر در معرض دوز بالایی از کافئین قرار گیرند.

در نهایت این‌که، یافته‌های این مطالعه نشان می‌دهد که فنوباریتال با غلظت ۸۰ mg/kg، سبب کاهش اثرات سمی کافئین بر وزن جنین‌ها گردیده ولی نتوانسته است مانع از افزایش تعداد جنین‌های هماتومایی در هر دو راه مصرف گردد.

## تقدیر و تشکر

جای دارد از پرسنل آزمایشگاه بیوشیمی دانشکده علوم پایه و دانشکده پیراپزشکی دانشگاه علوم پزشکی ایران و همکاران محترم اداره کل صدور پروانه‌های وزارت بهداشت درمان و آموزش پزشکی و جناب آقای محمدرضا سراوانی عضو هیأت علمی دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی زاهدان که در کلیه مراحل، یار و یاورم بوده‌اند تشکر و قدردانی نمایم.

- human pregnancy, *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 147 (1983) 939-942.
- [15] Koren, G., Caffeine during pregnancy ? In moderation, *Can. Fam. Physician.*, 46 (2000) 801-803.
- [16] Pollard, I., Murray, J.F., Hiller, R., Scaramuzzi, R.J. and Wilson, C.A., Effects of preconceptual caffeine exposure on pregnancy and progeny viability, *J. Maten. Fetal Med.*, 8 (1999) 220-224.
- [17] Sakuma, T., Ohtake, M., Katsurayama, Y., Jarukamjorn, K. and Nemoto, N., Induction of cyplA2 by phenobarbital in the livers of aryl hydrocarbon responsive and non-responsive mice, *Drug Metab. Dispos.*, 27 (1999) 379-384.
- [18] Welch, R.M., Hsu, Y. and Deangelis, F.L., Effect of Aroclor 1254, phenobarbital and polycyclic aromatic hydrocarbons on the plasma clearance of caffeine in the rat, *Clin. Pharm. Thera.* 22 (1977) 791-798.
- [19] York, R.G. and Manson, J.M., Neonatal toxicity in mice associated with a hallele by transplacental exposure to 3-methylcholanthrene, *Toxi. Applied. Pharma.*, 72 (1984) 417-426.
- (1995) 214-221.
- [9] Eskennazi, B., Stapleton, A.L., Kharrazi, M. and Chee, M.Y., Association between maternal decaffeinated and caffeinated coffee consumption and fetal growth and gestational duration, *Epidermiology*, 10 (1999) 242-249.
- [10] Fernandes, O., Sabharwall, M., Smilley, T., Pastuszak, A., Koren, G. and Einarson, T., Moderater to heavy caffeine consumption during pregnancy and relationship to spontaneous abortion and abnormal fetal growth: A meta-analysis, *Reprod. Toxicol.*, 12 (1998) 435-444.
- [11] Golding, J., Reproduction and caffeine consumption: A litrature review, *Early Hum. Dev.*, 43 (1995) 1-14.
- [12] Gonzalez, F.G., Human cytochrome p-450: problems and prospects, *Trends Phrmacol. Sci.*, 13 (1992) 346-352.
- [13] Hinds, T.S., West, W.L., Knight, E.M. and Harland, B.F., The effect of caffeine on pregnancy out come variables, *Nutr. Rev.*, 54 (1996) 203-207.
- [14] Kirkinen, P., Jouppila, P., Koivula, A., Vuori, J. and Puukka, M., The effect of caffeine on placental and fetal blood flow in

## Comparison study of toxic effects of caffeine administration on C57BL/6J mice during pregnancy in the presence of phenobarbital

R. Saravani<sup>\*1</sup>(M.Sc), M.Shabani<sup>2</sup>(Ph.D)

1 - Dept. of Biochemistry, Zahadan University of Medical Sciences, Zahadan, Iran

2 - Dept. of Biochemistry, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

**Introduction:** Caffeine is a nature alkaloid which is found in coffee, tea and cola containing beverages. It is metabolized by cytochrome P-450 enzyme complex in the liver. Since high consumption of caffeine in pregnant women may be induced side effects on the fetal, in this study we compared the effects of caffeine administration in pregnant C57BL/6J mice with and without induction of maternal metabolism by phenobarbital.

**Materials and Methods:** In this study 60 pregnant mice C57BL/6J were used. Caffeine was administrated orally or intraperitonally. In both parts of study three separate groups of animals were used as follows: contol (group 1), caffeine alone (group 2) and caffeine plus phenobarbital (group 3). On day 9 of gestation, groups 1, 2 and 3 received distilled water, caffeine (80 mg/kg) and caffeine (80 mg/kg)+ phenobarbital (80 mg/kg), respectively, by oral or IP administrations. On days 11 and 12 of gestation, caffeine (200 mg/kg, IP) was administered to groups 2 and 3. and contorl group received distilled water. On day 17 of gestation, all dams were sacrificed and fetuses were removed, weighed and examined for external hematoma.

**Results:** Results (weight of fetuses) showed significant differences between caffeine and phenobarbital plus caffein groups in both oral or IP administration conditions ( $P < 0.05$ ). No other findings were statistically significant. Results of external hematoma showed sigificnat difference between control and phenobarbital plus caffein in both conditions. Also differeces between caffein groups ( weight and external hematoma) in both administration conditions were sinificant ( $P < 0.05$ ).

**Conclusion:** Data indicated that phenobarbital at least dosage of 80 mg/kg abolished the toxic effects of caffeine on fetuses weight.

**keywords:** Caffeine; Phenobarbital; Pregnancy; Fetal; C57BL/6J

\* Corresponding author. E.mail: rsaravani@yahoo.com; Fax: 0541-2444229; Tel: 0541-2444229