



Semnan University



Research Article

Histopathological investigation of the Long-Term Effects of Nanoemulsion Caffeine Administration in Rats

Amir Hossein Heydari Khobaz¹, Mohammad Ebrahim Akbari¹, Mohammad Reza Hajinejad^{1*}, Abbas Jamshidian².

Abstract

With the expanding applications of nanoparticles, assessing their biocompatibility, particularly in vital tissues, has become increasingly important. This study aimed to investigate the histopathological effects of chronic administration of caffeine nanoemulsion at different doses on the liver, kidney, heart, brain, and testicular tissues of male Wistar rats. In this experimental study, 40 adult male rats were randomly assigned to four groups: one control group and three experimental groups receiving caffeine nanoemulsion orally at doses of 5, 15, and 30 mg/kg body weight per day for two months. At the end of the treatment period, animals were anesthetized using a combination of ketamine and xylazine, with tramadol administered for analgesia. Tissue samples were collected for histopathological examination, and blood samples were obtained to evaluate serum biochemical parameters. Histopathological analysis revealed mild vascular changes, including congestion, only in the kidney tissue of the group receiving the highest dose (30 mg/kg), with no evidence of necrosis or inflammation. All other examined tissues—liver, heart, brain, and testes—preserved their normal histological architecture, and no pathological alterations were observed. These findings suggest that caffeine nanoemulsion is relatively safe for the studied tissues at low to moderate doses. However, the observed vascular changes in the kidneys at the high dose highlight the need for further investigations, particularly regarding the long-term safety of high-dose applications.

Keywords: caffeine, nanoemulsion, liver, kidney, heart.

1. Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Zabol, Zabol, Iran.
2. Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Zabol, Zabol, Iran.

*Corresponding author: hajinezhad@uoz.ac.ir

DOI: [10.22075/jvlr.2025.37532.1164](https://doi.org/10.22075/jvlr.2025.37532.1164)

Received: 25.04.2025

Revised: 07.08.2025

Accepted: 30.09.2025

How to Cite this Article:

Hajinezhad, M. R. , Heydari Khobaz, A. H. , Akbari, M. E. and Jamshidian, A. (2026). Histopathological investigation of the Long-Term Effects of Nanoemulsion Caffeine Administration in Rats. *Journal of Veterinary Laboratory Research*, 17(2), 213-221. doi: [10.22075/jvlr.2025.37523.1164](https://doi.org/10.22075/jvlr.2025.37523.1164)





مقاله پژوهشی

ارزیابی هیستوپاتولوژیکی اثر تجویز طولانی مدت نانوامولسیون کافئین بر کلیه، کبد و قلب در موش صحرایی

امیرحسین حیدری خباز^۱، محمد ابراهیم اکبری^۱، محمدرضا حاجی نژاد^{۱*}، عباس جمشیدیان^۲.

خلاصه

با گسترش کاربردهای نانوذرات، ارزیابی ایمنی زیستی آنها به‌ویژه در بافت‌های حیاتی ضروری است. این مطالعه با هدف بررسی اثرات هیستوپاتولوژیک مصرف مزمن نانوامولسیون کافئین در دوزهای مختلف بر بافت‌های کبد، کلیه، مغز و بیضه موش‌های صحرایی نر انجام شد. در این پژوهش تجربی، ۴۰ سر موش صحرایی نر بالغ به‌طور تصادفی در چهار گروه (یک گروه کنترل و سه گروه تجربی) تقسیم شدند. گروه‌های تجربی به مدت دو ماه، نانوامولسیون کافئین را با دوزهای ۵، ۱۵ و ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن دریافت نمودند. در پایان دوره تیمار، حیوانات تحت بیپوشی ترکیبی (کتامین و زیلازین) همراه با پیش‌گیری از درد (ترامادول) قرار گرفته و نمونه‌برداری انجام شد. نمونه‌های بافتی جهت بررسی‌های هیستوپاتولوژیک و نمونه‌های خون جهت ارزیابی شاخص‌های بیوشیمیایی سرم جمع‌آوری گردیدند. بررسی‌های هیستوپاتولوژیک نشان داد که صرفاً در گروه دریافت‌کننده بالاترین دوز کافئین (۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، تغییرات خفیف عروقی (از جمله پرعروقی) در بافت کلیه مشاهده شد، بدون آنکه شواهدی از نکروز یا التهاب وجود داشته باشد. تمامی بافت‌های دیگر شامل کبد، قلب، مغز و بیضه‌ها، ساختار هیستولوژیک طبیعی خود را حفظ کرده و هیچ تغییر پاتولوژیک در آنها مشاهده نشد. یافته‌های این مطالعه حاکی از ایمنی نسبی نانوامولسیون کافئین در دوزهای پایین تا متوسط بر بافت‌های مورد بررسی می‌باشد. با این حال، مشاهده تغییرات عروقی در کلیه در دوز بالا، لزوم انجام مطالعات بیشتر به‌ویژه در زمینه ارزیابی ایمنی کاربردهای بلندمدت دوزهای بالا را مورد تأکید قرار می‌دهد.

واژه‌های کلیدی: کافئین، نانو امولسیون، کبد، کلیه، قلب.

۱. گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه زابل، زابل، ایران.

۲. گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه زابل، زابل، ایران.

*نویسنده مسئول: hajinezhad@uoz.ac.ir

DOI: [10.22075/jvlr.2025.37532.1164](https://doi.org/10.22075/jvlr.2025.37532.1164)

دریافت: ۱۴۰۴/۰۲/۰۵

بازنگری: ۱۴۰۴/۰۵/۱۶

پذیرش: ۱۴۰۴/۰۷/۰۸

کافئین ترکیبی محرک برای سیستم عصبی مرکزی است که به دلیل توانایی اش در افزایش هوشیاری و بهبود عملکرد شناختی شناخته شده است. این ماده در انواع نوشیدنی‌های انرژی‌زا، مواد غذایی و داروها یافت می‌شود. پژوهش‌های اخیر نشان داده‌اند که کافئین تنها یک محرک عصبی نیست، بلکه در سلامت قلب و عروق و متابولیسم سلولی نیز نقش دارد. همچنین، ویژگی‌های ضدالتهابی، آنتی‌اکسیدانی و محافظت عصبی کافئین باعث شده است که این ترکیب به موضوعی مهم در تحقیقات تغذیه‌ای و بالینی تبدیل شود (Guttoff M et al., 2015).

با وجود این مزایا، مصرف کافئین بی‌خطر نیست. مصرف بیش از حد آن می‌تواند باعث بروز مشکلاتی مانند وابستگی، بی‌خوابی، افزایش ضربان قلب و تشدید اضطراب شود. این عوارض نشان‌دهنده ضرورت مصرف آگاهانه آن و شناخت بهتر از نحوه جذب و تأثیر آن در بدن است. آگاهی از فارماکوکینتیک کافئین می‌تواند به طراحی روش‌های جدید تحویل دارو کمک کند تا اثرات مفید آن افزایش یابد.

در سال‌های اخیر، پیشرفت در سیستم‌های نوین دارورسانی، به‌ویژه در حوزه نانو تکنولوژی، فرصت‌هایی برای بهبود جذب و اثرگذاری کافئین و ترکیبات چربی‌دوست دیگر فراهم کرده است. یکی از این فناوری‌ها نانوامولسیون‌ها هستند که به دلیل اندازه بسیار کوچک ذرات، پایداری بالا و توانایی عبور از موانع زیستی، می‌توانند کافئین را به شکل کنترل‌شده و هدفمند در بدن آزاد کنند (Kotta S et al., 2012). این فناوری می‌تواند جذب خوراکی کافئین را بهبود دهد، نیمه‌عمر آن را افزایش دهد و سطح پایداری از این ترکیب را در خون حفظ کند. این ویژگی‌ها نه تنها به ایجاد اثری درمانی پایدارتر کمک می‌کنند، بلکه احتمال بروز عوارض جانبی را نیز کاهش می‌دهند.

علاوه بر این، رهایش کنترل‌شده از طریق نانوامولسیون‌ها می‌تواند به تنظیم مناسب غلظت کافئین در خون منجر شده و از بروز مشکلاتی مانند افزایش ضربان قلب یا اضطراب جلوگیری کند. در نتیجه، با شناخت دقیق‌تر از عملکرد این سیستم‌ها، امکان طراحی فرمولاسیون‌هایی با اثربخشی بیشتر فراهم می‌شود (Anton N et al., 2011).

در مجموع، کافئین ترکیبی مؤثر بر سلامت و عملکرد بدن است و استفاده از فناوری نانوامولسیون می‌تواند مصرف آن را به روشی ایمن‌تر و مؤثرتر تبدیل کند. این موضوع،

اهمیت بررسی مزایا و اثرات بلندمدت این روش نوین دارورسانی را نشان می‌دهد. مدل‌های حیوانی، به‌ویژه موش‌های آزمایشگاهی، نقش مهمی در بررسی ایمنی و کارآمدی ترکیبات جدید دارند. در این مطالعه، با استفاده از مدل موش، اثرات مزمن فرمولاسیون نانویی کافئین مورد ارزیابی قرار گرفت. این بررسی شامل مطالعات هیستوپاتولوژیک، بیوشیمیایی و رفتاری برای تحلیل دقیق اثرات پایدار نانوامولسیون‌های کافئین بود (Sonneville-Aubrun., 2004).

مواد و روش کار

روش تهیه نانوامولسیون کافئین

در این مطالعه برای تهیه نانوامولسیون کافئین از روغن MCT و لسیترین سویا به عنوان سورفکتانت استفاده شد. ابتدا مقدار مشخصی از کافئین در آب مقطر حل شد. سپس پنج گرم روغن MCT به همراه یک گرم لسیترین سویا به محلول آبی افزوده گردید. مخلوط حاصل به‌صورت دستی و با استفاده از شیکر به مدت ۱۰ تا ۱۵ دقیقه هم زده شد تا یک امولسیون نسبتاً یکنواخت حاصل شود. سپس امولسیون به‌مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق قرار گرفت و پس از آن در یخچال (دمای ۴ درجه سانتی‌گراد) نگهداری شد. برای بررسی کیفیت امولسیون از آزمون‌های ظاهری مانند یکنواختی، عدم جداسازی فازها و شفافیت استفاده شد.

حیوانات مورد مطالعه

در این مطالعه، ۴۰ سر رت نر سالم و بالغ با میانگین وزن ۲۲۳ گرم و سن حدود ۴ ماه انتخاب شدند. رت‌ها در جعبه های فایبرگلاس با تهویه مناسب، دسترسی آزاد به آب و غذا و شرایط نوری استاندارد (۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی در روز) نگهداری شدند.

گروه بندی

رت‌ها به چهار گروه تقسیم شدند. گروه کنترل (شاهد): تنها سرم فیزیولوژی دریافت کردند.

- گروه دوم: نانوامولسیون کافئین با دوز ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن.

- گروه سوم: نانوامولسیون کافئین با دوز ۱۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن.

- گروه چهارم: نانوامولسیون کافئین با دوز ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن.

طول دوره‌ی آزمایش دو ماه بود و دارو ها هر دو روز یک بار به روش خوراکی تجویز شد. در پایان دوره آزمایشی از ترکیب کتامین (۷۵ میلی گرم بر کیلوگرم) + زایلازین (۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم) برای القاء بیهوشی و از محلول تزریقی ترامادول (۲ میلی گرم بر کیلوگرم) جهت ایجاد بی-دردی استفاده شد. برای ارزیابی اثرات رفتاری، از آزمون میدان باز (Open Field Test) استفاده گردید. در این آزمون، مدت زمان سپری شده در ناحیه مرکزی میدان به عنوان شاخصی از سطح اضطراب و رفتار جست و جوگرانه در نظر گرفته شد. در نهایت، عمل یوتانایز با تکرار تزریق داروی بیهوشی انجام شد و سپس علائم حیاتی چک شده و بعد از اطمینان از فقدان آن‌ها مرگ تایید شد.

تهیه نمونه بافتی

سپس نمونه های بافتی جدا شده و در فرمالین بافر ۱۰ درصد تثبیت و بعد از آب‌گیری و قالب‌گیری در پارافین قرار گرفتند و به وسیله‌ی میکروتوم برش‌های بافتی با ضخامت ۵ میکرومتر از آن‌ها تهیه شد. برش‌ها با همتوکسیلین آئوزین (H&E) رنگ‌آمیزی شدند و عکس‌ها با میکروسکوپ نوری از جهات تغییرات بافتی بررسی شدند.

۳-۵- تهیه نمونه خون

برای بررسی پروفایل بیوشیمیایی خون نمونه های خون گرفته شد و در لوله‌های آزمایشگاهی حاوی ماده ی ضد انعقاد EDTA ریخته و حدود ۳۰ دقیقه در دمای ۲۵ درجه نگهداری و سپس به مدت ۲۰ دقیقه با دور ۳۰۰۰ در دقیقه سانتریفیوژ شدند. سرم جدا شده برای تعیین آنزیم های AST-ALT-BUN-Scr استفاده شد.

نتایج

نتایج هیستوپاتولوژیک

ساختار لوله‌های منی‌ساز (semiferous tubules) و سلول‌های زایا در تمامی گروه‌ها سالم و منظم گزارش شد. در گروه‌های تیمار شده با نانومولسیون کافئین، هیچ‌گونه تغییر قابل توجهی از نظر آتروفی لوله‌ها، جداسدگی سلولی یا تخریب بافتی دیده نشد. اپی‌تلیوم زایا و سلول‌های سرتولی و لایدیگ شکل طبیعی خود را حفظ کرده بودند. بنابراین، شواهدی از تأثیرات منفی کافئین بر بافت بیضه مشاهده نگردید. در حالی که ساختار کلی نفرون‌ها، از جمله گلوبمرول‌ها و توپول‌های ادراری، در گروه کنترل و گروه‌های دوز پایین طبیعی بود، در گروه تیمار شده با دوز ۳۰

میلی‌گرم بر کیلوگرم نانومولسیون کافئین، پرخونی (congestion) واضح در عروق ناحیه قشری کلیه مشاهده گردید. جداسدگی عروق، تجمع خون و پررنگ شدن آن‌ها تحت میکروسکوپ نوری قابل مشاهده بود. با این وجود، هیچ‌گونه شواهدی از نکروز توپولی یا التهاب بینابینی گزارش نشد. این یافته نشان می‌دهد که دوز بالای نانومولسیون کافئین می‌تواند باعث تغییرات عروقی در بافت کلیه شود، هرچند آسیب سلولی شدید در این مطالعه مشاهده نشد. در بررسی بافت کبد در تمامی گروه‌ها، ساختار طبیعی لوبولار، همراه با ردیف منظم سلول‌های هپاتوسیت و فضای سینوزوئیدی حفظ شده بود. در گروه‌های دریافت‌کننده نانومولسیون کافئین با دوزهای ۵، ۱۵ و ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، هیچ‌گونه شواهدی از نکروز، التهاب یا تجمع سلولی غیرطبیعی مشاهده نشد. همچنین، نشانه‌ای از پرخونی یا آسیب به سلول‌های کبدی وجود نداشت. بنابراین، به نظر می‌رسد کبد در برابر دوزهای مصرفی این ترکیب مقاوم بوده است.

در برش‌های بافت مغز، ساختار طبیعی نورونی و سلول‌های گلیال در گروه کنترل و سایر گروه‌های تیمار شده حفظ شده بود. در هیچ‌یک از دوزهای مصرفی، شواهدی از ادم، پرخونی، تخریب سلولی یا واکنش التهابی مشاهده نشد. فضای بین سلولی منظم و بدون افزایش بود و هسته‌های سلولی شکل طبیعی خود را حفظ کرده بودند. نتایج حاکی از آن است که نانومولسیون کافئین در دوزهای مورد استفاده، تأثیر مخربی بر بافت مغز نداشته است.

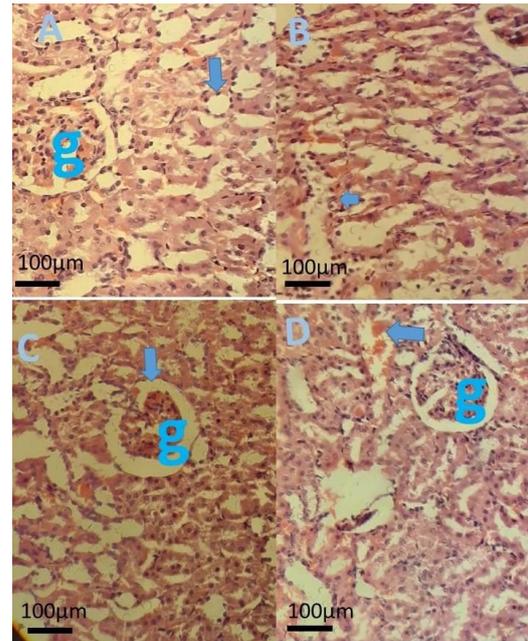
سنجش سطح اضطراب

تحلیل داده‌های تست رفتاری نشان داد که تنها گروه دریافت‌کننده دوز ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم از نانومولسیون کافئین، کاهش معناداری در زمان سپری شده در ناحیه مرکزی میدان باز نسبت به گروه کنترل داشتند در حالی که گروه‌های دریافت‌کننده دوزهای ۵ و ۱۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم تفاوت معناداری با گروه کنترل نشان ندادند. این نتایج نشان می‌دهد که تنها دوز بالای نانومولسیون کافئین توانسته است رفتار اضطراب را در موش‌ها افزایش دهد.

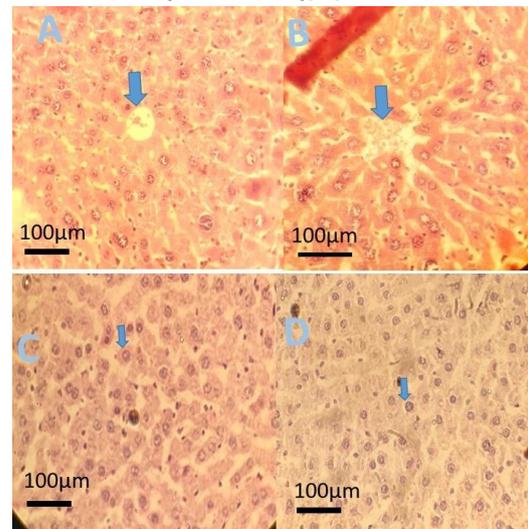
پارامترهای بیوشیمیایی

بر اساس یافته‌های به‌دست‌آمده، میانگین سطوح سرمی آنزیم‌های کبدی شامل ALT و AST، و همچنین شاخص‌های عملکرد کلیوی شامل BUN و کراتینین در گروه‌های دریافت‌کننده نانومولسیون کافئین (با دوزهای ۵،

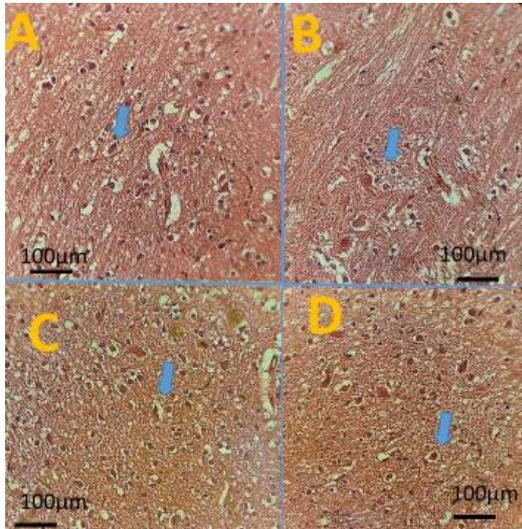
۱۵ و ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) در مقایسه با گروه کنترل، تفاوت معنی‌داری نشان ندادند (نمودار ۲). این نتایج حاکی از آن است که تجویز نانوامولسیون کافئین در دوزهای ذکر شده تأثیر منفی قابل توجهی بر عملکرد کبد و کلیه در رت‌های نر سالم نداشته است. همچنین، عدم تغییر معنی‌دار در این شاخص‌ها بیانگر ایمنی نسبی نانوامولسیون کافئین در این دوزها طی دوره‌ی مورد بررسی می‌باشد.



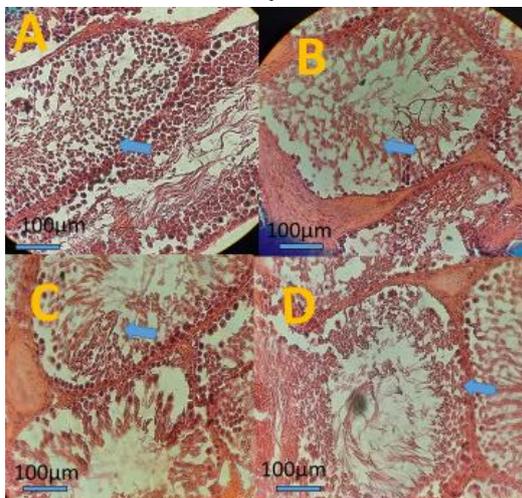
شکل ۱- نمای هیستوپاتولوژیک کلیه در گروه‌های مختلف. رنگ آمیزی هماتوکسیلین - اتوزین (بزرگنمایی ۴۰). پرخونی واضح در گروه دریافت‌کننده ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نانوامولسیون کافئین مشاهده شد، در حالی که ساختار طبیعی کلیه در سایر گروه‌ها حفظ شده بود.



شکل ۲- نمای هیستوپاتولوژیک کبد در گروه‌های مختلف. رنگ آمیزی هماتوکسیلین - اتوزین (بزرگنمایی ۴۰). تصاویر میکروسکوپی کبد نشان‌دهنده ساختار طبیعی لوبولار، بدون شواهدی از نکروز، التهاب یا پرخونی در تمامی گروه‌های دریافت‌کننده نانوامولسیون کافئین با دوزهای مختلف می‌باشد.



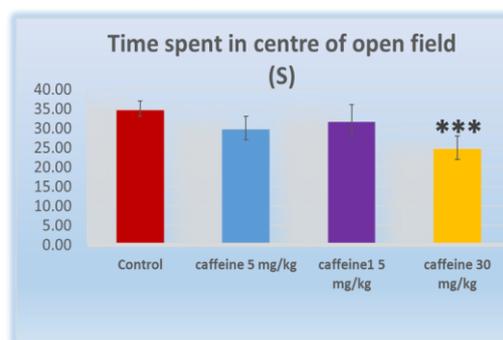
شکل ۳- مغز: نمای بافت‌شناسی مغز در گروه‌های مورد مطالعه رنگ آمیزی هماتوکسیلین - اتوزین (بزرگنمایی ۴۰). سلول‌های عصبی و گلیال بدون تغییرات پاتولوژیک باقی مانده‌اند و هیچ‌گونه علائم آسیب بافتی در هیچ‌یک از گروه‌ها مشاهده نگردید.



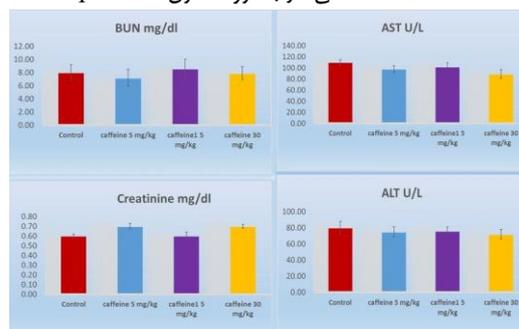
شکل ۴- نمای بافت‌شناسی بیضه در گروه‌های مورد مطالعه بیضه رنگ آمیزی هماتوکسیلین - اتوزین (بزرگنمایی ۴۰). بررسی هیستوپاتولوژیک بافت بیضه نشان داد که ساختار لوله‌های منی‌ساز و سلول‌های زایا در تمامی گروه‌ها، از جمله دوز بالای کافئین، حفظ شده و هیچ نشانه‌ای از تخریب یا آتروفی مشاهده نشد.

اندام/ گروه	گروه کنترل	دوز ۵ میلی گرم بر کیلوگرم	دوز ۱۵ میلی گرم بر کیلوگرم	دوز ۳۰ میلی گرم بر کیلوگرم
کبد	طبیعی	طبیعی	طبیعی	طبیعی
مغز	طبیعی	طبیعی	طبیعی	طبیعی
معده	طبیعی	طبیعی	طبیعی	طبیعی
تجمع خون	طبیعی	طبیعی	طبیعی	طبیعی

جدول ۵- بررسی هیستوپاتولوژیک بافت‌های کبد، مغز، بیضه و کلیه در گروه‌های مختلف دریافت کننده نانومولسیون کافئین. همان‌طور که در جدول مشاهده می‌شود، تمامی اندام‌ها در گروه‌های مختلف وضعیت طبیعی داشتند، به جز کلیه در گروه دریافت کننده دوز ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم که پرخونی (Congestion) نشان داد.



نمودار ۱- زمان سپری شده در تست open field (ثانیه) به عنوان شاخص اضطراب در تست Open Field. *** نشان دهنده اختلاف معنی دار با گروه کنترل $p < 0.05$.



نمودار ۲- سطح سرمی BUN, AST, ALT و کراتینین در گروه‌های آزمایشی.

بحث

نتایج این مطالعه نشان داد که نانومولسیون کافئین در دوزهای پایین (۵ و ۱۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) فاقد اثرات سمی بر بافت‌های حیاتی از جمله کلیه، کبد، بیضه و مغز می‌باشد. این یافته‌ها با نتایج گزارش شده توسط Benowitz NL., 2010- Nehlig A et al., 1992

مطابقت دارد که بیان کردند مصرف مقادیر پایین تا متوسط کافئین عموماً بی‌خطر بوده و فاقد اثرات پاتولوژیک جدی بر ارگان‌های اصلی بدن است. با این حال، در دوز بالاتر (۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، پرخونی عروقی در قشر کلیه مشاهده گردید که با یافته‌های قبلی (Sutoo D et al., 2000) هماهنگ است؛ محققان همچنین گزارش کردند که مصرف دوزهای بالای کافئین می‌تواند موجب اختلالات عروقی و همودینامیک در کلیه گردد، گرچه در مطالعه حاضر شواهدی از نکرورز توبولی یا التهاب بینابینی مشاهده نشد.

در بررسی بافت مغز، ساختار سلول‌های نورونی و گلیال در تمامی گروه‌ها بدون تغییرات پاتولوژیک باقی مانده است. این یافته با مطالعه Fredholm BB و همکاران هم‌راستا است که در آن بیان شده کافئین در دوزهای معمول به‌عنوان آنتاگونیست گیرنده‌های آدنوزین، اثرات محافظتی عصبی نیز می‌تواند داشته باشد. با این حال، نتایج آزمون میدان باز در این پژوهش نشان داد که دوز بالای نانومولسیون کافئین منجر به بروز رفتارهای اضطراب‌مانند می‌شود. یافته‌ای که با مطالعه Garrett & Griffiths و همچنین Childs و همکاران (Garrett BE) (et al., 1997; Childs E et al., 2008) این محققان نشان دادند که دوزهای بالای کافئین با افزایش فعالیت سیستم عصبی مرکزی، به‌ویژه محور HPA و افزایش سطوح کورتیزول، می‌تواند بروز اضطراب را تحریک کند. نکته حائز اهمیت در مطالعه حاضر استفاده از نانومولسیون به‌عنوان حامل دارویی است که می‌تواند زیست‌دسترسی و نفوذ کافئین به بافت‌ها، به‌ویژه مغز، را افزایش دهد. این ویژگی ممکن است اثرات رفتاری مشاهده‌شده را تشدید کرده باشد. پژوهش Wong و همکاران در زمینه دارورسانی نانویی نیز نشان داده است که نانوفرمولاسیون‌ها می‌توانند به‌طور چشمگیری الگوی جذب و توزیع داروها را تغییر داده و حتی در دوزهای پایین، اثرات قوی‌تری نسبت به فرم‌های سنتی ایجاد نمایند (López et al., 2001). از سوی دیگر، عدم تغییرات معنادار در مقادیر BUN و کراتینین بین گروه‌ها، نشان می‌دهد که عملکرد کلیوی در سطح سیستمیک تحت تأثیر قرار نگرفته است. این نتیجه با یافته‌های قبلی هم‌خوانی دارد که گزارش کردند مصرف خوراکی کافئین در دوزهای متوسط اثرات قابل توجهی بر پارامترهای بیوشیمیایی خون ندارد (Paiva CL et al., 2019).

به طور کلی، این مطالعه نشان داد که نانومولسیون کافئین در دوزهای پایین ایمن است، اما در دوزهای بالا ممکن است با تغییرات پاتولوژیک خفیف در کلیه و بروز رفتارهای اضطراب‌مانند همراه باشد. با توجه به یافته‌های حاضر و داده‌های مطالعات پیشین، به نظر می‌رسد که اثرات کافئین به شدت به دوز مصرفی و نیز نحوه فرمولاسیون آن وابسته است. لذا مطالعات آینده باید بر ارزیابی دقیق‌تر دوز، زمان‌بندی مصرف، و مکانیسم‌های نوروبیولوژیک اثرات رفتاری کافئین در قالب نانوحامل‌ها تمرکز نمایند. یافته‌های این مطالعه بار دیگر بر اهمیت بررسی دقیق نحوه فرمولاسیون دارویی ترکیبات فعالی مانند کافئین تأکید می‌کند (Heckman MA et al., 2010). نتایج نشان داد که استفاده از نانومولسیون به‌عنوان حامل می‌تواند زیست‌دسترسی و نفوذ دارو به بافت‌ها، به‌ویژه مغز، را افزایش دهد (Wong HL et al., 2007). این موضوع ممکن است در تشدید اثرات رفتاری مشاهده‌شده، نظیر بروز اضطراب، نقش داشته باشد (Nehlig A., 2010). بر این اساس، انتخاب فرم دارویی مناسب در مطالعات سمیت‌زایی و اثربخشی، از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است (Nawrot P et al., 2003). علاوه بر این، در حالی که در دوزهای بالا نشانه‌هایی از پرخونی عروقی در قشر کلیه مشاهده شد، سطوح BUN و کراتینین تغییر معناداری نشان ندادند (Barone JJ et al., 1996). این یافته با نتایج مطالعات پیشین همخوانی دارد که گزارش کرده‌اند مصرف خوراکی کافئین در دوزهای متوسط تأثیر منفی قابل توجهی بر شاخص‌های بیوشیمیایی خون ندارد (Astrup A et al., 1990). همچنین، ساختار سلول‌های نورونی و گلیال در بافت مغز در تمام گروه‌های مورد مطالعه حفظ شده بود. این امر می‌تواند ناشی از اثرات محافظتی کافئین در دوزهای پایین به‌عنوان آنتاگونیست گیرنده‌های آدنوزین باشد. در نهایت، بروز رفتارهای اضطراب‌مانند در گروه دریافت‌کننده دوز بالای نانومولسیون کافئین با یافته‌های پیشین مطابقت دارد (Garrett et al., 1997). مطالعات گذشته نشان داده‌اند که دوزهای بالای کافئین می‌توانند از طریق افزایش فعالیت محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-آدرنال (HPA) و سطوح کورتیزول، موجب تحریک پاسخ‌های اضطرابی شوند (Childs et al., 2008). بنابراین، به نظر می‌رسد که اثرات کافئین به شدت تحت تأثیر دوز مصرفی و نوع فرمولاسیون دارویی آن قرار دارد (Arnaud, 2011).

در نتیجه، پیشنهاد می‌شود در مطالعات آتی، تمرکز بیشتری بر بررسی مکانیسم‌های سلولی، اثرات مزمن و همچنین تعاملات احتمالی کافئین با سایر داروها یا ترکیبات تغذیه‌ای صورت گیرد.

نتیجه گیری

به طور کلی، این مطالعه نشان داد که نانومولسیون کافئین در دوزهای پایین ایمن است، اما در دوزهای بالا ممکن است با تغییرات پاتولوژیک خفیف در کلیه و بروز رفتارهای اضطراب‌مانند همراه باشد. با توجه به یافته‌های حاضر و داده‌های مطالعات پیشین، به نظر می‌رسد که اثرات کافئین به شدت به دوز مصرفی و همچنین نحوه فرمولاسیون آن وابسته است. بنابراین، مطالعات آینده باید بر ارزیابی دقیق‌تر دوز، زمان‌بندی مصرف و مکانیسم‌های نوروبیولوژیک اثرات رفتاری کافئین در قالب نانوحامل‌ها تمرکز نمایند. همچنین پیشنهاد می‌شود در مطالعات آتی، توجه بیشتری به بررسی مکانیسم‌های سلولی، اثرات مزمن و تعاملات احتمالی کافئین با سایر داروها یا ترکیبات تغذیه‌ای صورت گیرد.

بیانیه اخلاقی

این مطالعه با رعایت اصول اخلاقی مصوب کمیته اخلاق دانشگاه زابل دستورالعمل‌های بین‌المللی مراقبت از حیوانات آزمایشگاهی انجام شد. کد کار آزمایشی بالینی: IR.UOZ.REC1401.006. حیوانات در شرایط استاندارد نگهداری قرار گرفتند و برای کاهش درد، از بیهوشی ترکیبی (کتامین-زیلازین) همراه با ترامادول استفاده گردید. اقدامات پایانی با روش انسانی (خونریزی تحت بیهوشی عمیق) انجام شد.

تشکر و قدردانی

مطالعه حاضر بخشی از پایان نامه دوره دکتری عمومی آقای امیر حسین حیدری خباز دانش آموخته دانشکده دامپزشکی دانشگاه زابل می‌باشد. از زحمات همکاران در مرکز تکثیر حیوانات آزمایشگاهی تشکر می‌شود.

تعارض منافع

هیچ تضاد منافی در ارتباط با این پژوهش وجود ندارد.

مشارکت های نویسندگان

امیرحسین حیدری خباز: طراحی مطالعه، اجرای آزمایش‌های حیوانی و جمع‌آوری داده‌ها. محمد ابراهیم اکبری: تهیه و تأیید نانوامولسیون کافئین و مشاوره فنی. محمدرضا حاجی نژاد (نویسنده مسئول): ایده‌پردازی، نظارت بر پروژه، تحلیل داده‌ها و ویرایش نهایی مقاله. عباس جمشیدیان: انجام بررسی‌های هیستوپاتولوژیک و تفسیر یافته‌های بافت‌شناسی. تمامی نویسندگان نسخه نهایی مقاله را تأیید کردند.

منابع مالی

این مطالعه توسط دانشگاه زابل بدون دریافت حمایت مالی خارجی انجام شد.

References

- Anton , N ., Vandamme, T .,(2011). Nano-emulsions and micro-emulsions: clarifications of the critical differences. *Pharm Res.*;28(5):978-985. doi:10.1007/s11095-010-0309-1.
- Arnaud , MJ ., (2011). The metabolism of caffeine. *Food Chem Toxicol.* 49(2):293-301. doi:10.1016/j.fct.2010.11.011.
- Astrup A, Toubro S, Cannon S, et al (1990) . Caffeine's metabolic effects. *Am J Clin Nutr.* 51(5):759-767. doi:10.1093/ajcn/51.5.759.
- Barone , JJ ., Roberts , HR ., (1996). Caffeine consumption. *Food Chem Toxicol.* 34(1):119-129. doi:10.1016/0278-6915(95)00093-3.
- Benowitz , NL ., (2010). Clinical pharmacology of caffeine. *Annu Rev Med.* 61:279-288. doi:10.1146/annurev.med.61.032106.115949.
- Childs , E ., Hohoff , C ., Deckert , J ., et al . (2008) . Caffeine-induced anxiety and genetics. *Neuropsychopharmacology*33(12):2791-2800. doi:10.1038/sj.npp.1301645.
- Childs , E ., Hohoff , C ., Deckert , J ., Xu , K ., et al . (2008). Association between ADORA2A and DRD2 polymorphisms and caffeine-induced anxiety. *Neuropsychopharmacology.* 33(12):2791-2800. doi:10.1038/sj.npp.1301645.
- Fredholm , BB ., Bättig , K ., Holmén , J ., et al . (1999). Actions of caffeine in the brain with special reference to factors that contribute to its widespread use. *Pharmacol Rev.* 51(1):83-133. PMID: 10049999.
- Garrett , BE ., Griffiths , RR ., (1997). The role of dopamine in the behavioral effects of caffeine in animals and humans. *Pharmacol Biochem Behav.* 57(3):533-541. doi:10.1016/S0091-3057(96)00435-2.
- Guttoff , M., Saberi , AH., McClements, DJ . (2015). Formation of vitamin D nanoemulsion-based delivery systems by spontaneous emulsification: influence of lipid droplets on physicochemical properties. *J Agric Food Chem.*;63(4):1007-1015. doi:10.1021/jf505213t.
- Heckman , MA ., Weil , J ., Gonzalez de Mejia , E ., (2010). Caffeine in foods: A comprehensive review. *J Food Sci.*;75(3):R77-R87. doi:10.1111/j.1750-3841.2010.01561.x.
- Kotta , S., Khan , AW., Pramod , K ., et al. (2012) . Exploring oral nanoemulsions for bioavailability enhancement of poorly water-soluble drugs. *Expert Opin Drug Deliv.*;9(5):585-598. doi:10.1517/17425247.2012.668523.
- López -Gallardo , M ., Newcombe , DS ., Craig , CR ., (2001). Effects of caffeine and coffee consumption on plasma markers of kidney function. *J Pharmacol Exp Ther.* 296(2):637-642. PMID: 11160638.
- Nawrot , P., Jordan , S ., Eastwood , J ., et al . (2003) . Effects of caffeine on human health. *Food Addit Contam.* 20(1):1-30. doi:10.1080/0265203021000007840.
- Nehlig , A ., (2010). Is caffeine a cognitive enhancer. *J Alzheimers Dis.* 20(Suppl 1):S85-S94. doi:10.3233/JAD-2010-091315.
- Nehlig , A ., Daval , JL ., Debry , G ., (1992). Caffeine and the central nervous system: mechanisms of action, biochemical, metabolic and psychostimulant effects. *Brain Res Rev.* 17(2):139-170. doi:10.1016/0165-0173(92)90012-B.
- Paiva , CL., Beserra , BT., Reis , CE ., et al . (2019) . Consumption of coffee or caffeine and serum concentration of inflammatory markers: A systematic review. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 59(4):652-663. doi:10.1080/10408398.2017.1386159.
- Sonneville-Aubrun , O ., Simonnet , JT ., L'Alloret , F ., (2004). Nanoemulsions: a new vehicle for skincare products. *Adv Colloid Interface Sci.*;108-109:145-149. doi:10.1016/j.cis.2003.10.026.
- Sutoo , D ., Akiyama , K ., (2000). Chronic caffeine intake decreases brain serotonin levels in rats. *Brain Res.*;858(1):71-76. doi:10.1016/S0006-8993(99)02480-2.
- Wong , HL ., Bendayan , R ., Rauth , AM ., Li , Y., et al . (2007). Chemotherapy with drugs in solid lipid nanoparticles. *Adv Drug Deliv Rev.* 59(6):491-504. doi:10.1016/j.addr.2007.04.008.