

The effect of cyclooxygenase-2 inhibition on pentylenetetrazole-induced seizure threshold in mice

Mesdaghinia A¹, Khazae P², Heydari A^{1*}

1- Physiology Research Center, Kashan, University of Medical Sciences, Kashan, I. R. Iran.

2- Student Research Committee, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, I. R. Iran.

Received: 2018/05/8 | Accepted: 2018/06/17

Abstract:

Background: Previous studies have shown the protective effect of cyclooxygenase (COX) enzyme in development of convulsions. However, involvement of COX-2 in the pathogenesis of epilepsy is not yet well-known. The present study was designed to investigate the effect of celecoxib and nimesulide (selective COX-2 inhibitors) on pentylenetetrazole (PTZ)-induced clonic seizure threshold in mice.

Materials and Methods: In this study, white male mice were randomly divided into 13 groups including control groups, solvent (Tween 80) and eleven experimental groups which received celecoxib (2.5, 5 and 10 mg/kg), nimesulide (2.5, 5 and 10 mg/kg), diazepam (0.1, 0.5 and 5 mg/kg), and combination of non-effective dose of diazepam with celecoxib or nimesulide. Pentylenetetrazol-induced clonic seizure threshold was assessed in all groups.

Results: Nimesulide (2.5 and 5 mg/kg), celecoxib (2.5 and 5 mg/kg), and diazepam (0.5 and 5 mg/kg) significantly increased the PTZ-induced seizure threshold compared with the solvent group ($P < 0.05$). Also, only combination of sub-effective dose of diazepam (0.1 mg/kg) with celecoxib (2.5 mg/kg) showed a significant protective effect against PTZ-induced seizure threshold ($P < 0.01$).

Conclusion: Findings of the current study show the possible role of COX-2 isoenzyme in the pathophysiology of epilepsy. It is possible that some COX-2 inhibitors such as celecoxib act through GABAergic neurons and reduce excitability by increasing GABA release. Also, the difference between the effects of celecoxib and nimesulide can be attributed to the effect of these two compounds on COX-1 and COX-2 expression.

Keywords: Seizure, Pentylenetetrazole, Cyclooxygenase-2, GABA

* Corresponding Author.

Email: heydariazh@kaums.ac.ir

Tel: 0098 31 5554 0021

Fax: 0098 31 5554 1112

Conflict of Interests: *No*

Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences, August, 2018; Vol. 22, No 3, Pages 258-266

Please cite this article as: Mesdaghinia A, Khazae P, Heydari A. The effect of cyclooxygenase-2 inhibition on pentylenetetrazole-induced seizure threshold in mice. *Feyz* 2018; 22(3): 258-66.

اثر مهار آنزیم سیکلو اکسیژناز-۲ بر آستانه تشنج ناشی از پنتیلین تترازول در موش سوری

اعظم مصداقی نیا^۱، پریا خزاعی^۲، اژدر حیدری^{۳*}

خلاصه:

سابقه و هدف: مطالعات قبلی نقش حفاظتی آنزیم سیکلو اکسیژناز را در پیشرفت صرع نشان داده‌اند. با این حال، دخالت سیکلو اکسیژناز-۲ در بیماری زانی صرع کاملاً شناخته شده نیست. مطالعه حاضر با هدف بررسی اثر سلکوسیب و نیمزولاید (مهارکننده‌های اختصاصی سیکلو اکسیژناز-۲) بر آستانه تشنج کلونیک ناشی از پنتیلین تترازول در موش‌های سوری طراحی گردید.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی موش‌های سوری نر سفید به صورت تصادفی به ۱۳ گروه شامل گروه‌های کنترل، حلال (توئین ۸۰)، و ۱۱ گروه آزمایشی دریافت‌کننده نیمزولاید (۲/۵، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، سلکوسیب (۲/۵، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، دیازیپام (۰/۱، ۰/۵ و ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و ترکیب دوز غیر موثر دیازیپام با نیمزولاید یا سلکوسیب تقسیم شدند. آستانه تشنج کلونیک ناشی از پنتیلین تترازول در همه گروه‌ها ارزیابی گردید.

نتایج: نیمزولاید (۲/۵ و ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، سلکوسیب (۲/۵ و ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و دیازیپام (۰/۵ و ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) به طور معنی‌داری آستانه تشنج ناشی از پنتیلین تترازول را در مقایسه با گروه حلال افزایش دادند ($P < 0/05$). همچنین، تنها ترکیب دوز غیر موثر دیازیپام (۰/۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم) با سلکوسیب (۲/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) اثر حفاظتی معنی‌داری در مقابل تشنج ناشی از پنتیلین تترازول نشان داد ($P < 0/01$).

نتیجه‌گیری: نتایج مطالعه حاضر نقش احتمالی ایزوآنزیم COX-2 را در بیماری‌زایی صرع نشان می‌دهد. احتمال می‌رود برخی مهار-گرهای COX-2 نظیر سلکوسیب از طریق نورون‌های گابا‌رژیک عمل کرده و با افزایش رهاش گابا موجب کاهش تحریک‌پذیری شوند. همچنین، تفاوت اثر سلکوسیب و نیمزولاید می‌تواند مربوط به اثر متفاوت این دو ترکیب بر COX-1 و COX-2 باشد.

واژگان کلیدی: تشنج، پنتیلین تترازول، سیکلو اکسیژناز-۲، گابا

دو ماه‌نامه علمی - پژوهشی فیض، دوره بیست و دوم، شماره ۳، مرداد و شهریور ۹۷، صفحات ۲۶۶-۲۵۸

مقدمه

تشنج یک اختلال موقت عملکرد مغزی در اثر فعالیت الکتریکی غیرطبیعی نورونی است. صرع گروهی از اختلالات است که با تشنجات مکرر مشخص می‌شوند و علت شایع کاهش دوره‌ای هوشیاری است. بروز صرع در جمعیت عمومی تقریباً ۵۰ مورد جدید در ۱۰۰ هزار نفر در هر سال است، شیوع آن تقریباً ۰/۵ درصد بوده و احتمال بروز آن در طول عمر تقریباً ۳ درصد است [۱]. آنزیم سیکلو اکسیژناز (COX) آنزیمی کلیدی در تبدیل اسید آراشیدونیک مشتق از غشاء به پروستاگلاندین‌ها (PGs) می‌باشد که به صورت دو ایزو فرم سیکلو اکسیژناز-۱ (COX-1) و سیکلو اکسیژناز-۲ (COX-2) وجود دارد.

ایزوفرم COX-1 آنزیم به صورت خودبه‌خودی بیان شده و در اعمال طبیعی سلول‌ها نقش دارد. در حالی که ایزوفرم COX-2 قابل القاء بوده و افزایش بیان این آنزیم در اختلالات عصبی گوناگون مانند آلزایمر و صرع دیده شده است [۲]. بر اساس این یافته که بیان COX و سطح پروستاگلاندین‌ها طی مدل تجربی تشنج در موش سوری افزایش می‌یابد، نقش پروستاگلاندین‌ها و مهار کننده‌های سنتز آنها در تشنج مورد توجه قرار گرفته است [۳]. با این حال، در مطالعات انجام شده نتایج متفاوتی به دست آمده است. اگرچه در خصوص نقش ایزوفرم COX-1 در تشنج، نتایج مشخصی در دسترس نیست، اما در یک مطالعه کیندلینگ ناشی از پنتیلین تترازول سبب افزایش بیان COX-1 در هیپوکامپ موش‌های سوری شده و تجویز ایندومتاسین و SC-560 (مهارکننده اختصاصی COX-1) تاخیر معنی‌داری در پیشرفت تشنج ایجاد کرد [۴]. همچنین، داروهای ضد التهاب غیر استروئیدی (NSAIDs) نظیر ایندومتاسین، استامینوفن و لوگزوپروفن آستانه تشنجات ناشی از پنتیلین تترازول (PTZ) و ماکزیمال الکتروشوک را در موش‌های سوری کاهش می‌دهند [۵]. برخلاف COX-1، مطالعات متعددی نقش ایزوفرم COX-2 را در مدل‌های مختلف

^۱ استاد، مرکز تحقیقات فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران

^۲ کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران

^۳ دانشیار، مرکز تحقیقات فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران

* نشانی نویسنده مسئول:

دانشگاه علوم پزشکی کاشان، دانشکده پزشکی، گروه فیزیولوژی

تلفن: ۰۳۱ ۵۵۵۴۰۰۲۱ | دورنویس: ۰۳۱ ۵۵۵۴۱۱۱۲

پست الکترونیکی: heydariyazh@kaums.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۲/۱۸ | تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۷/۳/۲۷

تشنج مورد بررسی قرار داده‌اند. برای مثال نشان داده شده است که پروستاگلاندین E2 (PGE2) تشنجات ناشی از متیل مالونیک اسید را افزایش داده و تجویز سلکوکسیب (مهارکننده اختصاصی COX-2) این اثر تشنج‌زا را کاملاً مهار می‌کند [۶]. همچنین، بیان شده است که روفکوکسیب و نیمزولاید (مهارکننده اختصاصی COX-2) و آسپرین و ناپروکسن (مهارکننده‌های غیر اختصاصی COX) سبب افزایش آستانه تشنج ناشی از PTZ می‌شوند [۷]. در مطالعه‌ای دیگر، تجویز سلکوکسیب از راه دهان ۶۰ دقیقه قبل از تزریق پنتیلن تترازول اثر ضد تشنج نشان داد و تجویز داخل بطن مغزی PGE2 این اثر ضد تشنج را از بین برد [۸]. با این حال، تجویز روفکوکسیب از راه دهان با غلظت ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به مدت پنج روز تأثیری بر آستانه تشنج ناشی از PTZ نداشت [۹]. به علاوه، تجویز نیمزولاید یا سلکوکسیب سبب تشنج ناشی از کاینیک اسید و افزایش تعداد مرگ و میر حیوانات شد [۱۰]. از طرف دیگر، حذف ژن COX-2 در نورون‌های مغز قدامی تغییری در شدت تشنجات ناشی از پیلوکارپین ایجاد نکرد که نشان می‌دهد حذف COX-2 حداقل در ناحیه مغز قدامی تأثیری بر آستانه تشنج نداشته است [۱۱]. در مجموع مطالعات پیشنهاد می‌کنند که COX-2 می‌تواند هم اثر تسهیل‌کننده و هم اثر ضد تشنج داشته باشد و احتمالاً این اثر تشنج‌زا در ارتباط با فعالیت گیرنده‌های PGE2 است [۱۲]. با توجه به مطرح بودن نقش پروستاگلاندین‌ها در بروز تشنج و وجود تناقضات بسیار در نتایج مطالعات انجام شده و احتمال تأثیر داروهای مهارکننده آنزیم سیکلو اکسیژناز-۲ بر آستانه تشنج و اینکه ممکن است بتوان از این داروها در کنترل تشنج استفاده نمود و یا مقادیر نیاز به داروهای معمولی ضد تشنج نظیر دیازپام را کاهش داد، این مطالعه به منظور بررسی اثر سلکوکسیب و نیمزولاید (مهارکننده‌های اختصاصی COX-2) بر آستانه تشنج ناشی از تزریق وریدی پنتیلن تترازول در موش سوری انجام گردید.

مواد و روش‌ها

این پژوهش تجربی روی موش‌های سوری با وزن تقریبی ۲۵-۳۰ گرم در مرکز تحقیقات فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی کاشان انجام شد. حیوانات در قفس‌های مختلف و دمای مناسب حیوانخانه و شرایط تاریکی-روشنایی ۱۲ ساعته و دسترسی آسان به آب و غذا نگهداری شده و کلیه اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی حین انجام کار رعایت شدند. تعداد حیوانات در هر گروه با استفاده از منابع موجود ۸ سر موش سوری تخمین زده شد [۱۳]. حیوانات به صورت تصادفی به ۱۳ گروه زیر تقسیم شدند:

یک گروه کنترل، یک گروه حلال، سه گروه دریافت‌کننده نیمزولاید (۲/۵، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، سه گروه دریافت‌کننده سلکوکسیب (۲/۵، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، سه گروه دریافت‌کننده دیازپام (۰/۱، ۰/۵ و ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و دو گروه که ترکیب دوز غیر موثر دیازپام را با بهترین دوز نیمزولاید یا سلکوکسیب دریافت کردند. جهت ایجاد مدل حیوانی تشنج از داروی پنتیلن تترازول (PTZ) استفاده شد. پنتیلن تترازول با غلظت ۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر نرمال سالین به صورت روزانه و تازه تهیه می‌شد. در شروع آزمایش حیوان از قفس خارج شده و پس از توزین در مقیدکننده قرار می‌گرفت. سپس، دوزهای مختلف نیمزولاید و سلکوکسیب ۴۵ دقیقه قبل از آزمایش به صورت داخل صفاقی به حیوانات گروه‌های مربوطه تزریق شد. دوز تحت محافظتی دیازپام (۰/۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم) ۱۵ دقیقه قبل از دوز تحت محافظتی نیمزولاید و سلکوکسیب (۲/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) تزریق شد. پس از سپری شدن زمان مورد انتظار، دم حیوان به مدت یک دقیقه در آب ۴۵ درجه سانتی‌گراد می‌شد تا وریدهای جانبی دم کاملاً متسع شده و در معرض دید قرار گیرند. یک سوزن دندانپزشکی شماره ۳۰ که از طریق یک لوله پلی‌اتیلن نازک به دستگاه وصل بود با دقت وارد ورید جانبی دم می‌شد [۱۴، ۱۳]. در صورت مشاهده خون و تصدیق محل ورود، سوزن با چسب مخصوص به دم حیوان فیکس شده و حیوان بلافاصله از مقیدکننده خارج گردیده و در محفظه مخصوص مشاهده قرار می‌گرفت. با شروع انفوزیون و به کار افتادن هم‌زمان کرومومتر، محلول ۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر پنتیلن تترازول با سرعت ۰/۵ میلی‌لیتر در دقیقه به ورید جانبی دم وارد می‌شد. حیوان در طول مدت آزمایش تحت نظر بوده و انفوزیون زمانی متوقف می‌شد که کلونوس عمومی (کلونوس اندام جلویی و متعاقب آن کلونوس کامل بدن) مشاهده می‌شد. با در نظر گرفتن زمان ثبت شده، غلظت پنتیلن تترازول و سرعت انفوزیون، میزان پنتیلن تترازول مورد نیاز برای ایجاد کلونوس عمومی محاسبه شده و به صورت آستانه تشنج گزارش شد [۱۴، ۱۳]. نتایج به صورت میانگین \pm انحراف معیار بیان شده و از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه و متعاقب آن آزمون توکی جهت مقایسه گروه‌های کنترل و آزمایش در هر مرحله از تشنج باهم استفاده شد. سطح $P < 0.05$ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

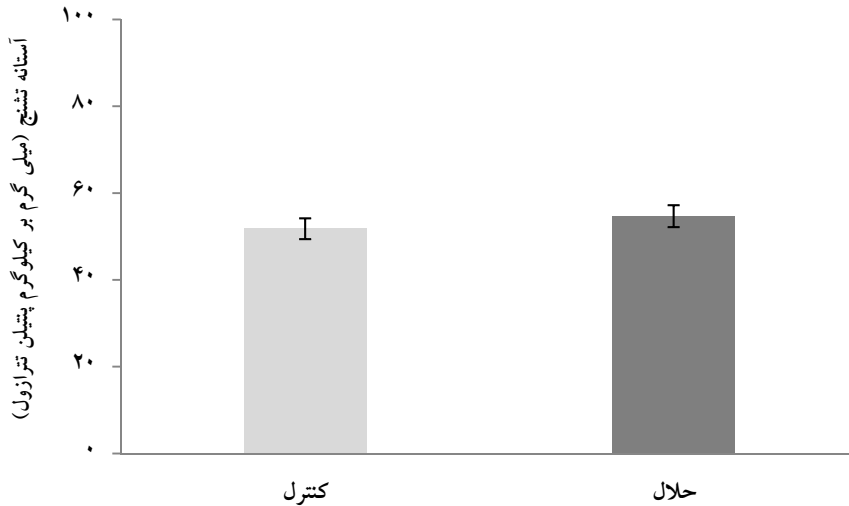
نتایج

تزریق داخل وریدی پنتیلن تترازول با یک میزان جریان ثابت تا زمان بروز تشنج کلونیک تمام بدن ادامه یافت. غلظت پنتیلن تترازول و میزان انفوزیون آن ثابت بود و بنابراین وزن

اثر مهار آنزیم سیکلو اکسیژناز-۲ بر آستانه، ...

حلال برابر $54/68 \pm 2/52$ میلی گرم بر کیلوگرم بود. بررسی اثر حلال نشان داد که توئین ۸۰ اثر معنی داری بر آستانه تشنج کلونیک نداشت (شکل شماره ۱).

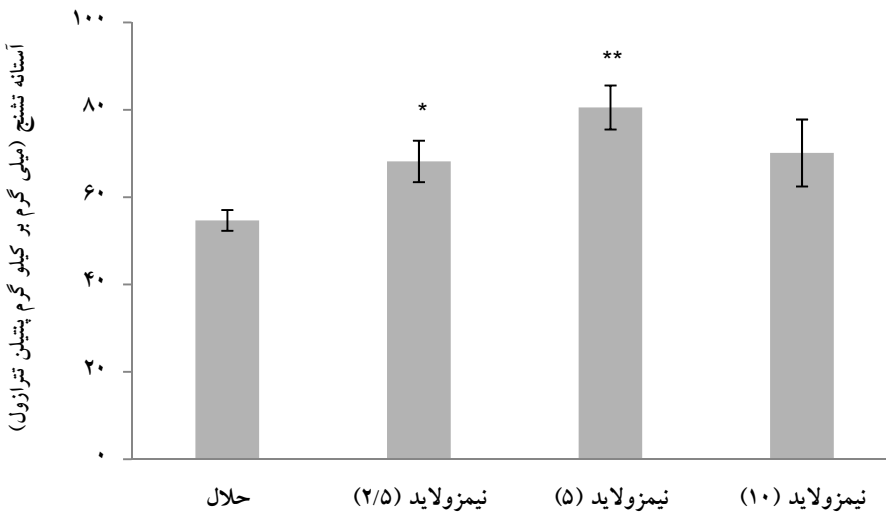
حیوان و طول مدت انفوزیون تنها متغیر مورد نیاز جهت محاسبه دوز آستانه برای هر حیوان بود. آستانه تشنج کلونیک گروه دریافت کننده در گروه کنترل $51/78 \pm 2/38$ و در گروه توئین ۸۰ به عنوان



شکل شماره ۱- میانگین غلظت پنتیلن تترازول جهت آستانه تشنج کلونیک در گروه های کنترل و حلال (توئین ۸۰)

کیلوگرم $70/12 \pm 7/67$ میلی گرم بر کیلوگرم بود. نیمزولاید در غلظت های $2/5$ و 5 میلی گرم بر کیلوگرم به صورت معنی داری سبب افزایش آستانه تشنج شد ($P < 0/01$) (شکل شماره ۲).

میانگین غلظت پنتیلن تترازول مورد نیاز برای شروع آستانه تشنج کلونیک گروه نیمزولاید با غلظت $2/5$ میلی گرم بر کیلوگرم برابر $68/17 \pm 4/74$ ، در گروه نیمزولاید با غلظت 5 میلی گرم بر کیلوگرم برابر $80/54 \pm 5/04$ و در گروه نیمزولاید با غلظت 10 میلی گرم بر



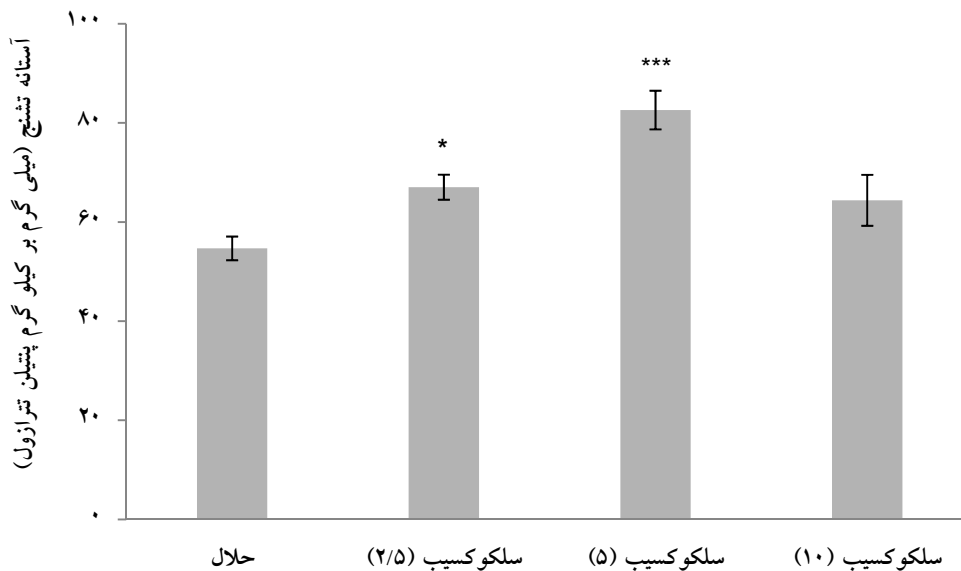
شکل شماره ۲- اثر غلظت های مختلف نیمزولاید (۲/۵، ۵، ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم) بر آستانه تشنج کلونیک ناشی از پنتیلن تترازول $P < 0/05$ * و $P < 0/01$ ** مقایسه با گروه حلال

$67/02 \pm 7/74$ ، در گروه سلوکسیب با غلظت 5 میلی گرم بر کیلو- گرم برابر $82/57 \pm 3/9$ و در گروه سلوکسیب با غلظت 10 میلی-

میانگین غلظت پنتیلن تترازول مورد نیاز برای شروع آستانه تشنج کلونیک گروه سلوکسیب با غلظت $2/5$ میلی گرم بر کیلوگرم برابر

بر کیلوگرم به صورت معنی داری سبب افزایش آستانه تشنج شده است ($P < 0/01$) (شکل شماره ۳).

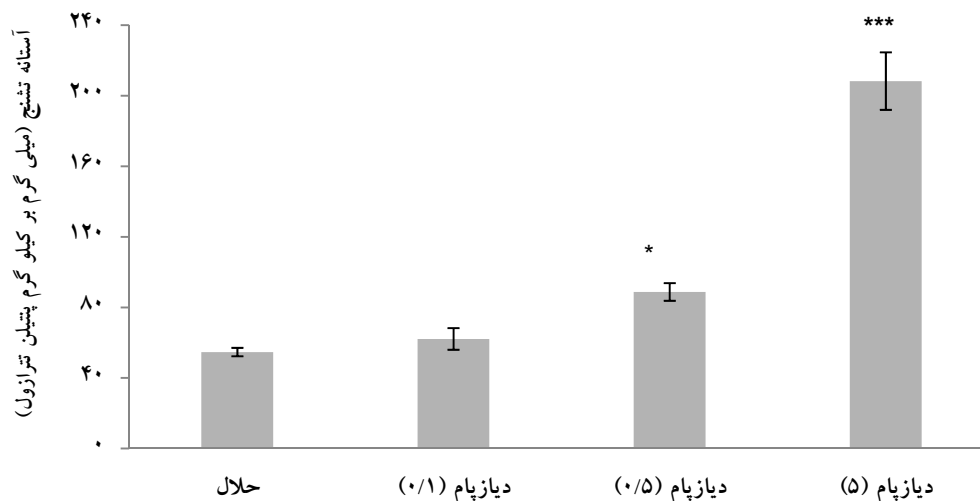
گرم بر کیلوگرم $64/36 \pm 5/13$ میلی گرم بر کیلوگرم بود. مقایسه آماری نشان داد که سلوکسیب با غلظت های ۲/۵ و ۵ میلی گرم



شکل شماره ۳- اثر غلظت های مختلف سلوکسیب (۲/۵، ۵ و ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم) بر آستانه تشنج کلونیک ناشی از پنتیلن ترازول $P < 0/05$ و $P < 0/001$ *** مقایسه با گروه حلال

کیلوگرم $208/3 \pm 16/3$ بود. تفاوت معنی داری بین گروه حلال و دیازپام با غلظت ۰/۵ ($P < 0/01$) و گروه حلال با دیازپام ۵ میلی-گرم بر کیلوگرم مشاهده شد و این دو دوز به صورت معنی داری سبب افزایش آستانه تشنج شدند ($P < 0/001$) (شکل شماره ۴).

میانگین غلظت پنتیلن ترازول مورد نیاز برای شروع آستانه تشنج کلونیک گروه دیازپام با غلظت ۰/۱ میلی گرم بر کیلوگرم برابر $62/12 \pm 6/13$ ، در گروه دیازپام با غلظت ۰/۵ میلی گرم بر کیلوگرم برابر $88/73 \pm 5/03$ و در گروه دیازپام با غلظت ۵ میلی گرم بر

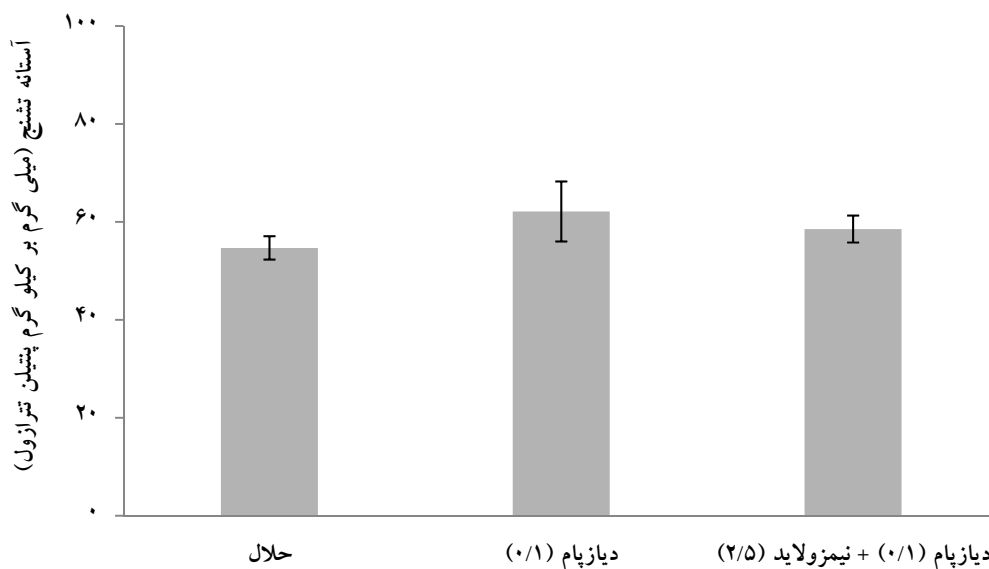


شکل شماره ۴- اثر غلظت های مختلف دیازپام (۰/۱، ۰/۵ و ۵ میلی گرم بر کیلوگرم) بر آستانه تشنج کلونیک ناشی از پنتیلن ترازول $P < 0/05$ و $P < 0/001$ *** مقایسه با گروه حلال

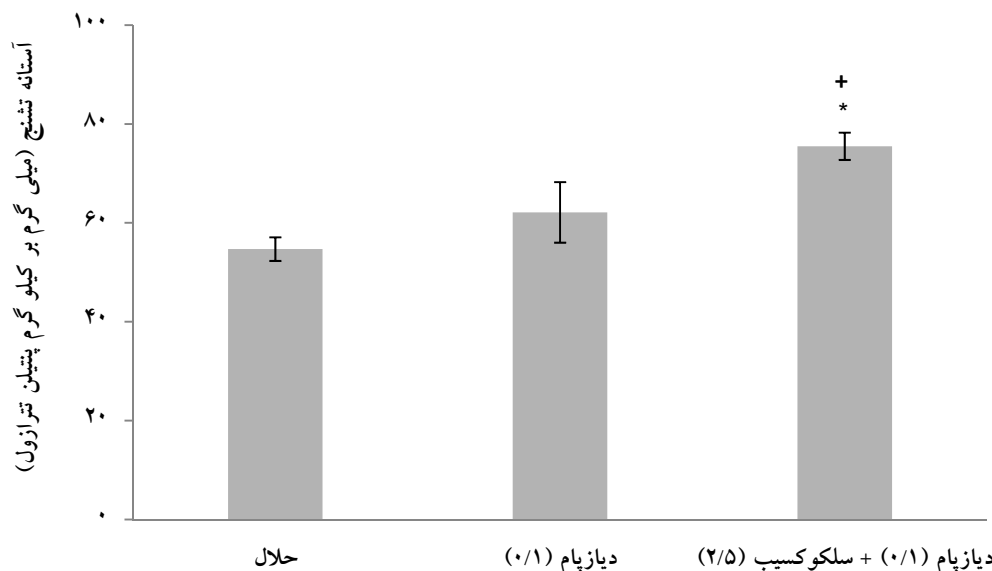
اثر مهار آنزیم سیکلو اکسیژناز-۲ بر آستانه، ...

کیلوگرم) برابر $75/5 \pm 6/11$ میلی گرم بود (شکل شماره ۶). تفاوت معنی داری بین گروه حلال و گروه ترکیب دوز غیر موثر دیازپام (غلظت $0/1$ میلی گرم بر کیلوگرم) و دوز غیر موثر سلوکسیب (غلظت $2/5$ میلی گرم بر کیلوگرم) مشاهده شد و ترکیب این دو سبب افزایش معنی دار در آستانه تشنج نسبت به گروه حلال شد ($P < 0/01$).

میانگین غلظت پنتیلن تترازول مورد نیاز برای شروع آستانه تشنج کلونیک گروه ترکیب دوز غیر موثر دیازپام (غلظت $0/1$ میلی گرم بر کیلوگرم) و دوز غیر موثر نیمزولاید (غلظت $2/5$ میلی گرم بر کیلوگرم) برابر $58/52 \pm 2/76$ میلی گرم بر کیلوگرم (شکل شماره ۵) بود که تفاوت معنی داری را نسبت به گروه حلال نشان نداد. در گروه ترکیب دوز غیر موثر دیازپام (غلظت $0/1$ میلی گرم بر کیلوگرم) و دوز غیر موثر سلوکسیب (غلظت $2/5$ میلی گرم بر



شکل شماره ۵- اثر ترکیب دوزهای غیر موثر دیازپام ($0/1$ میلی گرم بر کیلوگرم) و نیمزولاید ($2/5$ میلی گرم بر کیلوگرم) بر آستانه تشنج کلونیک ناشی از پنتیلن تترازول



شکل شماره ۶- اثر ترکیب دوزهای غیر موثر دیازپام ($0/1$ میلی گرم بر کیلوگرم) و سلوکسیب ($2/5$ میلی گرم بر کیلوگرم) بر آستانه تشنج کلونیک ناشی از پنتیلن تترازول،

$P < 0/05$ * مقایسه با گروه حلال، $P < 0/05$ + مقایسه با گروه دیازپام

بحث

آنزیم سیکلو اکسیژناز آنزیمی کلیدی در تبدیل اسید آراشیدونیک مشتق از غشاء به پروستاگلاندین‌ها می‌باشد که به صورت دو ایزوفرم COX-1 و COX-2 وجود دارد. ایزوفرم COX-1 به صورت خودبه‌خودی بیان شده و در اعمال طبیعی سلول‌ها نقش دارد. در مقابل به‌نظر می‌رسد ایزوفرم COX-2 به صورت القاء شونده بوده و افزایش بیان آن در اختلالات عصبی گوناگون مانند آلزایمر و صرع دیده شده است [۲]. نتایج فیزیولوژیک یا پاتولوژیک فعالیت COX-2 بستگی به سطح بیان آن دارد. در حالت فعالیت طبیعی سلول‌ها سطوح پائین COX-2 بیان می‌شود، در حالی که در وضعیت‌های پاتولوژیک بیان بیش از حد آن دیده می‌شود [۱۵]. یک حمله منفرد تشنجی افزایش ۱۰ برابری در بیان COX-2 ایجاد می‌کند، در حالی که حملات مداوم تشنجی نظیر تزریق اسید کاینیک افزایش ۷۰ برابری بیان COX-2 را در هیپوکامپ ایجاد می‌کند [۱۶]. با توجه به نقش پروستاگلاندین‌ها در تشنج و وجود تناقضات در نتایج مطالعات، این مطالعه به‌منظور بررسی اثر سلوکسیب و نیمزولاید (مهارکننده‌های اختصاصی COX-2) بر آستانه تشنج ناشی از تزریق وریدی پنتیلن ترازول در موش سوری انجام گردید. در مطالعه حاضر نیمزولاید و سلوکسیب تشنجات ناشی از پنتیلن ترازول را کاهش دادند. دوز پنتیلن ترازول برای شروع آستانه تشنج کلونیک در گروه کنترل $54/68 \pm 2/38$ و در گروه‌های نیمزولاید (۲/۵) $68/17 \pm 4/74$ و نیمزولاید (۵) $80/54 \pm 5/04$ میلی‌گرم بر کیلوگرم بود که افزایش معنی‌داری را نسبت به گروه کنترل نشان داد. همچنین، دوز پنتیلن ترازول در گروه سلوکسیب (۲/۵) $67/02 \pm 7/74$ و در گروه سلوکسیب (۵) $82/57 \pm 3/9$ میلی‌گرم بر کیلوگرم بود که افزایش معنی‌داری را نسبت به گروه کنترل نشان داد. شواهد متعددی پیشنهاد می‌کنند که COX-2 در اختلالات عصبی متعدد از جمله صرع نقش دارد. برای مثال بیماران با صرع لوب گیجگاهی [۱۷] و موش‌های که از لحاظ ژنتیکی مستعد به تشنج هستند [۱۸]، افزایش بیان COX-2 را در مغز دارند. با این‌حال نتایج گیج‌کننده‌ای از اثرات مهارگرهای اختصاصی COX-2 بر تشنجات ناشی از PTZ به‌دست آمده است و این ترکیبات یا بدون اثر بوده و یا اثر ضد تشنجی از خود نشان داده‌اند. Akarsu و همکاران نشان داده‌اند ترکیب SC-58236 که یک مهارگر اختصاصی COX-2 است تاثیری بر تشنجات ناشی از PTZ ندارد [۱۹]. در مطالعه Dhir و همکاران تجویز دهانی دوزهای ۲/۵ و ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم نیمزولاید و نیز دوزهای ۲ و ۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم روفکوکسیب آستانه تشنج

ناشی از تزریق داخل صفاقی PTZ را کاهش داد، ولی دوز ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم این ترکیبات بی‌تاثیر بود [۷]. نتایج متضاد مطالعات مختلف می‌تواند به‌علت دوز مورد استفاده دارو باشد. در مطالعه حاضر دوز ۲/۵ و ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم نیمزولاید و سلوکسیب به‌طور معنی‌داری آستانه تشنج کلونیک ناشی از PTZ را افزایش داد. در مطالعه Oliviera و همکاران (۲۰۰۷) نیز تجویز دهانی سلوکسیب با دوز ۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم سبب افزایش آستانه تشنج شد [۸]. بنابراین، به‌نظر می‌رسد وجود یک دوز حداقل برای پاسخ‌دهی مهارگرهای COX-2 در کاهش آستانه تشنج لازم باشد. از طرف دیگر، در مطالعه حاضر استفاده از دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نیمزولاید و سلوکسیب تاثیر معنی‌داری در تغییر آستانه تشنج PTZ نداشت. در همین زمینه در مطالعه Akarsu و همکاران (۲۰۰۶) بدون تاثیر بودن دوز ۲۰ و ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ترکیب SC-58236 گزارش شده است [۱۹]. همچنین، در مطالعه Oliviera و همکاران دوز ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سلوکسیب تاثیری در تشنج ناشی از PTZ نداشت [۸]. این اثر دوگانه می‌تواند به‌علت اثر غیر انتخابی این ترکیبات باشد. برای مثال، Ciceri و همکاران نشان داده‌اند که دوز ۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم سلوکسیب کاملاً ایزوآنزیم COX-2 را در مغز مهار می‌کند [۲۰]. به احتمال قوی دوز ۵ برابر در مطالعه حاضر و دوز ۱۰ برابر در مطالعه Oliviera دوز غیر انتخابی بوده و سبب مهار ایزوآنزیم COX-1 شده است. با توجه به اثر تشنج‌زای مهارگرهای انتخابی COX-1 به‌نظر می‌رسد اثر دوگانه آنها به واسطه غیر انتخابی بودن دوزهای بالای این ترکیبات باشد. گزارشاتی مبنی بر اثر متفاوت ایزوآنزیم‌های COX در بیان پروستاگلاندین‌ها وجود دارد؛ به‌گونه‌ای که بیان شده است پروستاگلاندین E2 بیشتر به‌واسطه COX-1 و پروستاگلاندین D2 بیشتر به‌واسطه COX-2 بیان می‌شود [۲۱]. تزریق داخل بطنی پروستاگلاندین E2 اثر ضد تشنجی سلوکسیب را از بین برده و آستانه تشنج PTZ را کاهش می‌دهد [۸]. شواهد بسیاری نقش گابا را در تشنجات نشان می‌دهند. گابا میانجی عصبی مهاری عمده در قشر مغز است. سطح گلوتامات بلافاصله قبل از شروع تشنج افزایش می‌یابد، در حالی که سطح گابا در زمان تشنج پائین است [۲۲]. گیرنده $GABA_A$ مسئول انتقال سیگنال عصبی مهاری در سیستم عصبی مرکزی است و بنابراین در اضطراب، خواب و صرع به‌عنوان یک هدف درمانی مد نظر است. ترکیباتی نظیر باربیتورات‌ها، بنزودیازپین‌ها، استروئیدهای عصبی و پیکروتوکسین در محل‌های مجزا و تا حدودی شناخته نشده با گیرنده $GABA_A$ واکنش می‌دهند. آگونیست‌های گیرنده $GABA_A$ نظیر موسیمول و نیز

COX-2 دارد. در همین زمینه در مطالعه Dhir و همکاران (۲۰۰۶) استفاده از فلومازینیل، آنتاگونیست گیرنده $GABA_A$ ، آستانه تشنج ناشی از PTZ را کاهش داده و طول مدت تشنج را افزایش داد. همچنین، پیش درمان با روفکوکسیب و نیمزولاید به- عنوان مهارگر COX-2 اثر فلومازینیل را از بین برد و بروز تشنج را کاهش داد [۷]. به علاوه، اسید آراشیدونیک که پیش ساز پروستاگلاندین‌ها است، به عنوان یک پیامبر ثانویه در مغز عمل کرده، غلظت گلوتامات را در مغز افزایش می‌دهد و نیز با تولید پروستاگلاندین E2 رهایش گلوتامات را از انتهای نورون‌ها و آستروسیت‌ها تحریک می‌کند [۲۶]. از طرف دیگر، احتمال می‌رود فعال شدن آنزیم COX-2 سبب افزایش رادیکال‌های آزاد و استرس اکسیداتیو شده و به آپوپتوز نورون‌های گابا منجر شود که خود رهایش گلوتامات را افزایش داده و احتمال بروز تشنج را زیاد می‌کند [۲۷].

نتیجه‌گیری

در مجموع مقایسه نتایج مطالعه حاضر با سایر مطالعات مشابه انجام شده در این زمینه نقش COX-2 را در احتمال بروز تشنج تأیید نموده و نشان می‌دهد که ترکیب داروهای رایج ضد صرع با برخی مهارکننده‌های COX-2 می‌تواند به عنوان یک روش درمانی جدید مد نظر باشد.

تشکر و قدردانی

این مقاله از پایان‌نامه دکتری پزشکی استخراج شده است. نویسندگان از معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه برای حمایت از این پژوهش قدردانی می‌نمایند.

References:

- [1] Stafstrom CE, Carmant L. Seizures and epilepsy: an overview for neuroscientists. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2015; 5(6).
- [2] Rojas A, Jiang J, Ganesh T, Yang MS, Lelutiu N, Georguieva P, et al. Cyclooxygenase-2 in epilepsy. *Epilepsia* 2014; 55(1): 17-25.
- [3] Katyal J, Kumar H, Gupta YK. Anticonvulsant activity of the cyclooxygenase-2 (COX-2) inhibitor etoricoxib in pentylenetetrazole-kindled rats is associated with memory impairment. *Epilepsy Behav* 2015; 44: 98-103.
- [4] Tanaka S, Nakamura T, Sumitani K, Takahashi F, Konishi R, Itano T, et al. Stage- and region-specific cyclooxygenase expression and effects of a selective COX-1 inhibitor in the mouse amygdala kindling model. *Neurosci Res* 2009; 65(1): 79-87.

داروهائی نظیر دیازپام که به صورت آلوستریک کمپلکس کانال گیرنده $GABA_A$ را تعدیل می‌کنند، در درمان حملات تشنجی استفاده درمانی دارند [۲۳]. بنابراین، به منظور بررسی نقش گابا در اثر ضد تشنجی مهارگرهای COX-2 از ترکیب دوز غیر موثر سلوکوکسیب و نیمزولاید در ترکیب با دوز تحت محافظتی دیازپام استفاده شد. نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد دوز ۰/۱ میلی‌گرم به ازای کیلوگرم دیازپام اثر تحت محافظتی داشته و نتوانست به- صورت معنی‌داری تشنج ناشی از PTZ را افزایش دهد. از طرف دیگر، ترکیب دوز تحت محافظتی دیازپام با دوز ۲/۵ میلی‌گرم در کیلوگرم سلوکوکسیب نتوانست به صورت معنی‌داری آستانه تشنج کلونیک را افزایش دهد، در حالی که ترکیب دوز تحت محافظتی دیازپام با دوز ۲/۵ میلی‌گرم در کیلوگرم نیمزولاید آستانه تشنج کلونیک را تغییر نداد. علت تفاوت اثر این دو دارو می‌تواند تا حدی به اختصاصی بودن این مهارکننده‌ها مربوط باشد؛ به گونه‌ای- که نیمزولاید که یک مهارکننده اختصاصی COX-2 است، تمایل بسیار کمی به ایزوفرم COX-1 دارد [۲۴]. در حالی که طبق یافته- های اخیر سلوکوکسیب که خود جزء مهارکننده‌های اختصاصی COX-2 طبقه‌بندی می‌شود، می‌تواند ایزوآنزیم COX-1 را هم مهار کند [۲۵]. پس تفاوت اثر این دو مهارکننده می‌تواند تا حدودی به تاثیر سلوکوکسیب بر COX-1 مربوط باشد. از طرف دیگر، گزارشاتی وجود دارد که نشان می‌دهد اثر ضد تشنج نیمزولاید به واسطه افزایش گابا می‌باشد. بنابراین، احتمال می‌رود برخی مهارگرهای COX-2 نظیر سلوکوکسیب از طریق نورون‌های گابا آرژیک عمل کرده و با افزایش میانجی‌مهری گابا رهایش گلوتامات را کاهش دهند؛ هرچند این فرضیه نیاز به بررسی بیشتر و اندازه‌گیری سطح گلوتامات به دنبال استفاده از مهارگرهای

- [5] Suemaru K, Yoshikawa M, Tanaka A, Araki H, Aso H, Watanabe M. Anticonvulsant effects of acetaminophen in mice: Comparison with the effects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Epilepsy Res* 2018; 140: 22-28.
- [6] Salvadori MG, Banderó CR, Jesse AC, Gomes AT, Rambo LM, Bueno LM, et al. Prostaglandin E(2) potentiates methylmalonate-induced seizures. *Epilepsia* 2012; 53(1): 189-98.
- [7] Dhir A, Naidu PS, Kulkarni SK. Effect of cyclooxygenase inhibitors on pentylenetetrazol (PTZ)-induced convulsions: Possible mechanism of action. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2006; 30 (8): 1478-85.
- [8] Oliveira MS, Furian AF, Royes LF, Figuera MR, Fiorenza NG, Castelli M, et al. Cyclooxyge-

- nase-2/PGE2 pathway facilitates pentylenetetrazol-induced seizures. *Epilepsy Res* 2008; 79(1): 14–21.
- [9] Claycomb RJ, Hewett SJ, Hewett JA. Prophylactic, prandial rofecoxib treatment lacks efficacy against acute PTZ-induced seizure generation and kindling acquisition. *Epilepsia* 2011; 52(2): 273–83.
- [10] Gobbo OL, O'Mara SM. Post-treatment, but not pre-treatment, with the selective cyclooxygenase-2 inhibitor celecoxib markedly enhances functional recovery from kainic acid-induced neurodegeneration. *Neuroscience* 2004; 125(2): 317–27.
- [11] Serrano GE, Lelutiu N, Rojas A, Cochi S, Shaw R, Makinson CD, et al. Ablation of cyclooxygenase-2 in forebrain neurons is neuroprotective and dampens brain inflammation after status epilepticus. *J Neurosci* 2011; 31(42): 14850–60.
- [12] Chen C, Bazan NG. Endogenous PGE2 regulates membrane excitability and synaptic transmission in hippocampal CA1 pyramidal neurons. *J Neurophysiol* 2005; 93(2): 929–41.
- [13] Heydari A, Davoudi S. The effect of sertraline and 8-OH-DPAT on the PTZ-induced seizure threshold: Role of the nitrenergic system. *Seizure* 2017; 45: 119–24.
- [14] Mesdaghinia A, Yazdanpanah H, Seddighi M, Banafshe HR, Heydari A. Effect of short-term lead exposure on PTZ-induced seizure threshold in mice. *Toxicol Lett* 2010; 199(1): 6–9.
- [15] Yang H, Chen C. Cyclooxygenase-2 in synaptic signaling. *Curr Pharm Des* 2008; 14 (14): 1443–51.
- [16] Marcheselli VL, Bazan NG. Sustained induction of prostaglandin endoperoxide synthase-2 by seizures in hippocampus. *J Biol Chem* 1996; 271 (40): 24794–9.
- [17] Desjardins P, Sauvageau A, Bouthillier A, Navarro D, Hazell AS, Rose C, et al. Induction of astrocytic cyclooxygenase-2 in epileptic patients with hippocampal sclerosis. *Neurochem Int* 2003; 42 (4): 299–303.
- [18] Okada K, Yuhi T, Tsuji S, Yamashita U. Cyclooxygenase-2 expression in the hippocampus of genetically epilepsy susceptible El mice were increased after seizure. *Brain Res* 2001; 894 (2): 332–5.
- [19] Akarsu ES, Ozdayi S, Algan E, Ulupinar F. The neuronal excitability time-dependently changes after lipopolysaccharide administration in mice: possible role of cyclooxygenase-2 induction. *Epilepsy Res* 2006; 71(2-3): 181–7.
- [20] Ciceri P, Zhang Y, Shaffer AF, Leahy KM, Woerner MB, Smith WG, et al. Pharmacology of celecoxib in rat brain after kainate administration. *J Pharmacol Exp Ther* 2002; 302(3): 846–852.
- [21] Ueno N, Takegoshi Y, Kamei D, Kudo I, Murakami M. Coupling between cyclooxygenases and terminal prostanoid synthases. *Biochem Biophys Res Commun* 2005; 338(1): 70–6.
- [22] Rowley NM, Madsen KK, Schousboe A, Steve White H. Glutamate and GABA synthesis, release, transport and metabolism as targets for seizure control. *Neurochem Int* 2012; 61(4): 546–58.
- [23] Olsen RW. GABAA receptor: Positive and negative allosteric modulators. *Neuropharmacology* 2018; S0028-3908(18): 30036–4.
- [24] Dhir A, Naidu PS, Kulkarni SK. Neuroprotective effect of nimesulide, a preferential COX-2 inhibitor, against pentylenetetrazol (PTZ)-induced chemical kindling and associated biochemical parameters in mice. *Seizure* 2007; 16(8): 691–7.
- [25] Liu B, Luo W, Zhang Y, Li H, Zhu N, Huang D, Zhou Y. Effect of celecoxib on cyclooxygenase-1-mediated prostacyclin synthesis and endothelium-dependent contraction in mouse arteries. *Eur J Pharmacol* 2013; 698(1-3): 354–61.
- [26] Sang N, Zhang J, Chen C. COX-2 oxidative metabolite of endocannabinoid 2-AG enhances excitatory glutamatergic synaptic transmission and induces neurotoxicity. *J Neurochem* 2007; 102(6): 1966–77.
- [27] Andrade C, Singh NM, Thyagarajan S, Nagaraja N, Sanjay Kumar Rao N, et al. Possible glutamatergic and lipid signalling mechanisms in ECT-induced retrograde amnesia: experimental evidence for involvement of COX-2, and review of literature. *J Psychiatr Res* 2008; 42(10): 837–50.