Original Article

The effect of chronic caffeine intake on pentylenetetrazole (PTZ)-induced seizure threshold and nitric oxide metabolites in mice

Esmaili Z, Heydari A*

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

Received: 2018/05/28 | Accepted: 2018/06/24

Abstract:

Background: Long-term caffeine intake decreases seizure susceptibility and has protective effect. This protective effect of caffeine may be due to the blockade of A_{2A} adenosine receptors. Considering that activation of adenosine A_{2A} receptors elevates nitric oxide production, the aim of the present study was to investigate the effect of chronic caffeine intake on the pentylenetetrazole (PTZ)-induced seizure threshold and measurement of nitric oxide metabolites levels in mice.

Materials and Methods: In this study, NMRI male mice (weighing 25-30 g) were divided into 3 groups including one control and two experimental groups (n=9 in each group). PTZ-induced clonic seizure was measured following oral intake of caffeine in experimental groups (100 and 300 mg/L in the drinking water) or only tap water in the control group for 90 days. Measurement of nitric oxide metabolites in the brain tissues was done at the end of the experiments using the Greiss method.

Results: The chronic caffeine intake at concentrations of 100 and 300 mg/L in the drinking water for 90 days did not change the seizure threshold. On the other hand, both concentrations of caffeine significantly decreased nitric oxide metabolites levels compared to the control group ($P<0.05$).

Conclusion: The results of this study confirmed and extended previous studies that chronic caffeine intake has no effect on seizure. Reduced levels of nitric oxide metabolites and resultant decreased neuronal excitability may be the main protective mechanism of the chronic caffeine intake. Blockade of the A_{2A} adenosine receptors following the chronic caffeine intake may be involved in decreased levels of nitric oxide metabolites.

Keywords: Caffeine, Seizure, Pentylenetetrazole, Nitric oxide, Adenosine receptor

* **Corresponding Author.**
Email: heydariazh@kaums.ac.ir
Tel: 0098 315 554 0021
Fax: 0098 315 554 1112

Conflict of Interests: ***No***

Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences, October, 2018; Vol. 22, No 4, Pages 339-345

Please cite this article as: Esmaili Z, Heydari A. The effect of chronic caffeine intake on pentylenetetrazole (PTZ)-induced seizure threshold and nitric oxide metabolites in mice. ***Feyz*** 2018; 22(4): 339-45.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-23]

اثر دریافت مزمن کافئین بر آستانه تشنج کلونیک ناشی از پنتیلن‌تترازول و متابولیت‌های نیتریک اکساید در موش سوری

زهرا اسماعیلی [۱]، اژدر حیدری [۲*]

خلاصه:

سابقه و هدف: دریافت طولانی‌مدت کافئین حساسیت به تشنج را کاهش داده و اثر حفاظتی دارد. این اثر حفاظتی کافئین ممکن است تا اندازه‌ای به‌واسطه بلوک گیرنده A_{2A} آدنوزین باشد. با درنظر گرفتن اینکه فعال شدن گیرنده‌های A_{2A} سبب افزایش سطح نیتریک اکساید می‌شود، هدف از مطالعه حاضر بررسی اثر دریافت مزمن کافئین بر آستانه تشنج ناشی از پنتیلن‌تترازول (PTZ) و اندازه‌گیری سطح متابولیت‌های نیتریک اکساید می‌باشد.

مواد و روش ها: در این مطالعه موش‌های سوری نر نژاد NMRI (وزن ۳۰- ۲۵ گرم) به یک گروه کنترل و دو گروه آزمایش (تعداد ۹ سر در هر گروه) تقسیم شدند. آستانه تشنج کلونیک ناشی از PTZ متعاقب ۹۰ روز تجویز خوراکی کافئین (۱۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر آب آشامیدنی) در گروه‌های آزمایشی و آب آشامیدنی برای گروه کنترل اندازه‌گیری شد. در پایان آزمایش اندازه‌گیری متابولیت‌های نیتریک اکساید در بافت مغز با روش گریس انجام گرفت.

نتایج: تجویز مزمن کافئین در غلظت‌های ۱۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر آب آشامیدنی به‌مدت ۹۰ روز آستانه تشنج ناشی از PTZ را تغییر نداد. از طرف دیگر، هر دو غلظت کافئین سبب کاهش معنی‌دار سطح متابولیت‌های نیتریک اکساید در مقایسه با گروه کنترل شد ($P<۰/۰۵$).

نتیجه‌گیری: در تائید مطالعات قبلی، نتایج این مطالعه نشان داد که تجویز مزمن کافئین تاثیری بر تشنجات ندارد. کاهش سطح متابولیت‌های نیتریک اکساید و درنتیجه کاهش تحریک پذیری نورون‌ها احتمالا مکانیسم اصلی حفاظتی تجویز مزمن کافئین می‌باشد. بلوک گیرنده‌های A_{2A} آدنوزین متعاقب دریافت مزمن کافئین ممکن است در کاهش سطح متابولیت‌های نیتریک اکساید دخیل باشد.

واژگان کلیدی: کافئین، تشنج، پنتیلن تترازول، نیتریک اکساید، گیرنده آدنوزین

دو ماه‌نامه علمی- پژوهشی فیض، دوره بیست و دوم، شماره ۴، مهر و آبان ۹۷، صفحات ۳۴۵-۳۳۹

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 تقریبا ۵۰ مورد جدید در ۱۰۰ هزار نفر در هر سال است، شیوع آن تقریبا ۰/۵ درصد بوده و احتمال بروز آن در طول عمر تقریبا ۳ درصد است [۱]. کافئین (۱، ۳، ۷ تری متیل گزانتین) که متعلق به خانواده آلکالوئیدهای پورینی است، رایج‌ترین محرک سیستم عصبی مرکزی است، ترکیب فعال اصلی نوشابه‌های انرژی‌زا است و مقدار کافئین یک قوطی از این نوشابه‌ها به ۷۰-۸۰ میلی‌گرم می‌رسد که سه برابر مقدار کافئین موجود در نوشابه‌های گازدار محتوی کولا است.

در کشورهای توسعه‌یافته ۹۰ درصد افراد روزانه کافئین مصرف می‌کنند و میزان مصرف روزانه آن به ۲۰۰ میلی‌گرم به ازای هر شخص می‌رسد [۲]. کافئین آنتاگونیست غیر-اختصاصی گیرنده‌های A_1 و A_{2A} آدنوزین است که خود محصول تجزیه آدنوزین تری‌فسفات بوده و به‌عنوان یک تعدیل کننده عصبی دارای چهار گیرنده A_1، A_{2A}، A_{2B} و A_3 است. آدنوزین به‌عنوان یک ترکیب ضدتشنج با منشاء داخلی عمل می‌کند و این اثر عمدتا به‌واسطه اثر بر گیرنده A_1 اعمال می‌شود [۳]. کافئین اثرات فارماکولوژیک پیچیده‌ای دارد و مهم‌ترین اثر بیولوژیک آن بلوک گیرنده-های A_1 و A_{2A} آدنوزین در مغز است [۴]. مطالعات مختلفی در خصوص ارتباط کافئین با صرع انجام گرفته است. برخی از مطالعات انسانی [۵] و حیوانی [۶] پیشنهاد می‌کنند که کافئین می‌تواند یک ماده تشنج‌زا باشد، اما اثر تشنج‌زایی آن هنوز یک موضوع مورد بحث باقی مانده است. تجویز حاد کافئین در برخی از مدل‌های مختلف صرع حیوانی مانند صرع ناشی از پنتیلن‌تترازول (PTZ)، الکترو-شوک و یا صرع ژنتیکی منجر به کاهش آستانه تشنج و آسیب به قسمت‌هایی از مغز مانند هیپوکمپ و استریاتوم

[۱] دانشجوی کارشناسی ارشد، مرکز تحقیقات فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران

[۲] 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 الکترونیک: heydariazh@kaums.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۳/۷ **تاریخ پذیرش نهایی:** ۱۳۹۷/۴/۳

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-23]

می‌شود [۴]. دوزهای بالاتر از ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کافئین منجر به بروز حملات تشنجی در جوندگان می‌گردد [۷]. علاوه بر این، تعدادی از مطالعات گزارش کرده‌اند که مصرف بیش از حد کافئین، در مواردی سبب افزایش بروز تعداد دفعات تشنج در بیماران مبتلا به صرع می‌گردد [۸]. از طرف دیگر، در سال‌های اخیر نقش تشنج‌زای کافئین مورد تردید قرار گرفته است. برای مثال در یک مطالعه دوزهای ۶۰ و ۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کافئین تغییری در آستانه تشنج ناشی از PTZ ایجاد نکرده است [۹]. همچنین، استفاده مزمن (۱۴ روزه) از کافئین در آب آشامیدنی (۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر) آستانه تشنج ناشی از NMDA را کاهش داده است [۱۰]. به‌علاوه، تجویز طولانی‌مدت کافئین (۱۴ روز) سبب کاهش تشنجات ناشی از PTZ شده است [۱۱]. این اثرات متناقض کافئین تا حدی می‌تواند به اثرات آن بر گیرنده‌های آدنوزینی به‌خصوص گیرنده A_1 و A_{2A} مربوط باشد [۱۲]. گیرنده A_1 آدنوزین یک گیرنده مهاری است، درحالی‌که گیرنده A_{2A} آدنوزین یک گیرنده تحریکی است و فعالیت آن موجب تشدید حملات تشنجی می‌گردد [۱۳]. نیتریک اکساید یک میانجی عصبی گازی شکل می‌باشد که توسط آنزیم نیتریک اکساید سنتاز از ال- آرژنین ساخته می‌شود. بعضی مطالعات نشان می‌دهند که NO اثر تشنج‌زا دارد، درحالی‌که مطالعات دیگر NO را یک ماده ضد تشنج می‌دانند که در حفاظت مغز از آسیب‌های تشنج ایفای نقش می‌کند [۱۴]. شواهدی واضحی وجود دارد که نیتریک اکساید در اثر ضد تشنج آدنوزین دخیل است. در همین زمینه L-NAME (مهارکننده غیراختصاصی نیتریک اکساید سنتاز) اثر ضد تشنج آدنوزین را تقویت نموده و ال-آرژنین (پیش‌ساز نیتریک اکساید) سبب کاهش آستانه تشنج شده که تداخل مسیر نیتریک اکساید را به‌واسطه تعدیل گیرنده‌های آدنوزین نشان می‌دهد [۱۵]. همچنین، فعال شدن گیرنده A_1 آدنوزین تولید NO را کاهش می‌دهد، درحالی‌که فعال شدن گیرنده A_{2A} می‌تواند منجر به افزایش NO شود [۱۶]. نتایج فوق این احتمال را مطرح می‌کند که بخشی از اثرات آدنوزین به‌واسطه تعدیل مسیر نیتریک اکساید باشد. این مطالعه با هدف بررسی اثر تجویز مزمن کافئین به‌مدت ۹۰ روز بر آستانه تشنج ناشی از PTZ در موش سوری و اندازه‌گیری سطح متابولیت‌های نیتریک اکساید انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه از ۲۷ سر موش سوری نژاد NMARI در محدوده وزنی ۳۰- ۲۵ گرم و با سن حدود ۶-۸ هفته استفاده شد. حیوانات در شرایط ۱۲ ساعت روشنایی- تاریکی با دمای ۲±۲۳ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۶۰-۵۰ درصد و در قفس‌های مخصوص ۴ تایی و همچنین با دسترسی آزادانه به آب و غذا نگهداری شدند. حیوانات مورد مطالعه به‌طور تصادفی به ۳ گروه ۹ تایی شامل یک گروه کنترل که تنها آب آشامیدنی دریافت می‌کردند و دو گروه آزمایشی که کافئین را با غلظت‌های ۱۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر به‌مدت ۹۰ روز در آب آشامیدنی دریافت می‌کردند، تقسیم شدند. کلیه حیوانات مطالعه از حیوانخانه مرکز تحقیقات فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی کاشان تهیه شد و همه مراحل آزمایش شامل مراحل تکثیر، انجام آزمایشات و معدوم کردن حیوانات مطابق با قوانین کار با حیوانات آزمایشگاهی و اصول مصوب کمیته اخلاق معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی کاشان صورت گرفت. جهت ایجاد مدل حیوانی تشنج، PTZ (شرکت سیگما، آمریکا) با غلظت ۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر در نرمال‌سالین حل شده و با سرعت ۰/۵ میلی‌لیتر در دقیقه در ورید جانبی دم تمام حیوانات گروه‌های کنترل و آزمایش تزریق شد. در شروع هر آزمایش حیوان توزین شده و در زمان آزمایش دم حیوان به‌مدت یک دقیقه در آب گرم با دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده می‌شد تا وریدهای دم متسع شوند. سپس، حیوان در مقیدکننده قرار داده شده، سرسوزن دندانپزشکی شماره ۳۰ متصل به لوله رابط پلی-اتیلنی شماره ۱۰ وارد ورید گردیده، به پمپ تزریق وصل می‌شد. درصورت مشاهده خون و تصدیق محل ورود، سوزن با چسب مخصوص به دم حیوان فیکس گشته و به حیوان اجازه داده می‌شد تا در محفظه مخصوص که برای مشاهده حیوان طراحی شده بود، آزادانه حرکت کند. با شروع انفوزیون و به‌کار افتادن هم‌زمان کرونومتر، محلول ۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر پنتیلن‌تترازول 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 جلوئی و متعاقب آن کلونوس کامل بدن) مشاهده می‌شد. با درنظر گرفتن زمان ثبت شده، غلظت پنتیلن‌تترازول و سرعت انفوزیون، میزان پنتیلن‌تترازول مورد نیاز برای ایجاد کلونوس عمومی

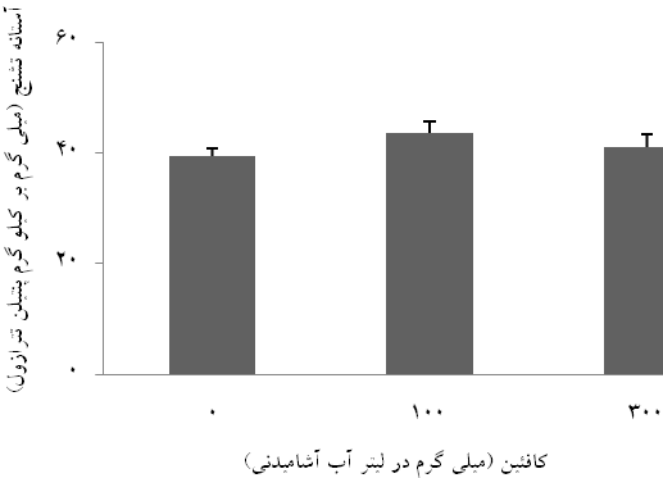
[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-23]

محاسبه شده و به‌صورت آستانه تشنج گزارش می‌شد [۱۸،۱۷]. پس از اندازه‌گیری آستانه تشنج، به‌منظور اندازه‌گیری متابولیت‌های نیتریک اکساید ابتدا حیوانات با دی اتیل اتر بیهوش گردیده و سپس سر موش‌ها با استفاده از گیوتین جدا شده و مغز حیوانات پس از جداسازی از جمجمه تا زمان اندازه‌گیری متابولیت‌های نیتریک اکساید در دمای منفی ۷۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. اندازه‌گیری نیتریک اکساید در بافت مغز به‌طور غیرمستقیم و از طریق اندازه‌گیری متابولیت‌های پایدار آن (نیترات و نیتریت) انجام پذیرفت. اساس این روش واکنش و تشکیل یک کروموفور از دی آزوتاسیون یک سولفانیل آمید به کمک نیتریت در محیط اسیدی و ترکیب آن با یک آمین دوحلقه‌ای مثل N-(1-Naphthyl) ethylenediamine dihy-) NEDD drochloride) است. برای اندازه‌گیری متابولیت‌ها، بافت مغز در بافر فسفات هموژنیزه شد. سپس، پروتئین‌ها با اضافه کردن تری‌کلرواستیک اسید ۱۰ درصد به سوسپانسیون هموژنیزه بافتی و سانتریفوژ کردن، رسوب داده شدند. به ۱۰۰ میکرولیتر از نمونه‌های پروتئین‌زدایی‌شده، مقدار ۱۰۰ میکرولیتر محلول وانادیم کلراید (VCl_3)، ۵۰ میکرولیتر NEDD و ۵۰ میکرولیتر سولفونامید افزوده گردید و نمونه‌ها به‌مدت ۴۵ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. پس از انجام واکنش، جذب نوری حاصل از تشکیل ماده رنگی با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۴۰ نانومتر اندازه‌گیری گردید. در نهایت، با استفاده از منحنی استاندارد غلظت نمونه‌ها محاسبه شد [۱۸]. نتایج به‌صورت میانگین±انحراف معیار بیان شده و از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه و متعاقب آن تست توکی جهت مقایسه گروه‌های کنترل و آزمایش استفاده گردید. سطح $P<۰/۰۵$ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

نتایج

اثر تجویز مزمن کافئین بر آستانه تشنج کلونیک ناشی از PTZ

نمودار شماره ۱ نتایج مربوط به اثر تجویز مزمن کافئین بر آستانه تشنج ناشی از PTZ را نشان می‌دهد. آستانه تشنج در گروه‌های کنترل ۱/۵۰±۳۹/۳۰، کافئین مزمن ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر ۲/۲۱±۴۳/۴۹ و کافئین مزمن ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر ۲/۵۱±۴۱/۱۱ بود. آستانه تشنج ناشی از PTZ در گروه‌های ۱۰۰ و ۳۰۰ گرم در لیتر کافئین نسبت به گروه کنترل تغییر معنی‌داری نشان نداد.



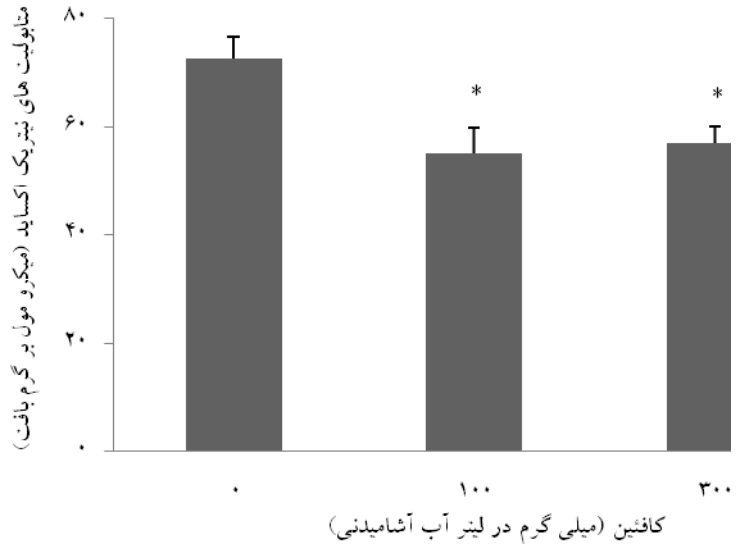
نمودار شماره ۱- اثر تجویز مزمن کافئین [صفر(کنترل)، ۱۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر آب آشامیدنی] به‌مدت ۹۰ روز بر آستانه تشنج ناشی از PTZ در موش سوری (Mean±S.E.M, n=9).

اثر تجویز مزمن کافئین بر سطح متابولیت‌های نیتریک اکساید در بافت مغز

نمودار شماره ۲ نتایج مربوط به میزان غلظت متابولیت‌های نیتریک اکساید در بافت مغزی موش‌های دریافت‌کننده کافئین مزمن را نشان می‌دهد. سطح متابولیت‌های نیتریک اکساید در بافت مغز گروه کنترل ۴/۰۹±۷۲/۶۳، گروه کافئین ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر ۴/۹۱±۵۵ و کافئین مزمن ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر ۳/۱۱±۵۶/۸۶ میکرومول بر گرم بافت می‌باشد. نتایج حاصل از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه و متعاقب آن تست توکی نشان داد که سطح متابولیت‌های نیتریک اکساید در گروه‌های ۱۰۰ و

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-23]

۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر کافئین نسبت به گروه کنترل به‌صورت معنی‌داری کاهش یافت ($P<۰/۰۵$).



نمودار شماره ۲- اثر تجویز مزمن کافئین [صفر(کنترل)، ۱۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر آب آشامیدنی] به‌مدت ۹۰ روز بر سطح متابولیت‌های نیتریک اکساید در بافت مغز. $P<۰/۰۵$* در مقایسه با گروه کنترل. ($P<0.05$, Mean±S.E.M, n=9).

بحث

هدف از انجام مطالعه حاضر بررسی اثر مصرف مزمن کافئین بر تشنج ناشی از PTZ و بررسی تغییرات سطح متابولیت‌های نیتریک اکساید بود. PTZ با مهار گیرنده $GABA_A$ منجر به بروز تشنج می‌گردد. PTZ به جایگاهی مجزا از جایگاه اتصال پیکروتوکسین وصل می‌شود. نتایج حاصل از ثبت‌های الکتروفیزیولوژیک پیشنهاد می‌کنند که PTZ احتمال تعداد دفعات باز شدن کانال کلری را بدون تاثیر بر طول مدت باز ماندن آن کاهش می‌دهد. بنابراین، تزریق داخل وریدی PTZ به‌عنوان یک مدل کارآمد حیوانی در ایجاد تشنج مورد استفاده قرار می‌گیرد [۱۹]. نتایج حاصل از مطالعه حاضر نشان داد که تجویز مزمن کافئین با دو غلظت ۱۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر به‌مدت ۹۰ روز بر آستانه تشنج ناشی از PTZ اثری نداشته، درحالی‌که سطح متابولیت‌های نیتریک اکساید به‌صورت معنی‌داری در مقایسه با گروه کنترل کاهش یافت ($P<۰/۰۵$). تحقیق حاضر اولین مطالعه‌ای است که نقش نیتریک اکساید را در اثر حفاظتی مواجهه مزمن با کافئین نشان می‌دهد. کافئین به‌عنوان آلکالوئید طبیعی و آنتاگونیست غیراختصاصی گیرنده‌های A_1 و A_{2A} آدنوزینی، رایج‌ترین محرک شناخته شده سیستم عصبی است [۲۰]. نتایج متناقضی در مورد اثر کافئین بر تشنج گزارش شده و مطالعات بسیاری به‌وجود ارتباط بین مصرف کافئین و تشنج اشاره کرده‌اند. برخی از مطالعات نشان داده‌اند که تجویز حاد کافئین در دوزهای پائین سبب تشدید تشنج از طریق بلوک گیرنده A_1 آدنوزین می‌شود [۱۵]. از طرف دیگر، تجویز حاد غلظت‌های بالای کافئین تغییری در حساسیت به تشنج ایجاد نکرده است [۲۱]. به‌علاوه، گزارشاتی وجود دارد که مصرف طولانی‌مدت کافئین حساسیت به تشنج را تغییر نداده و می‌تواند اثر حفاظتی داشته باشد. نشان داده شده است که مصرف کافئین با دوزهای ۱۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر آب آشامیدنی به‌مدت ۱۴ روز جمع زمانی و تعداد امواج و تکانه‌های حاصل از تشنج را در موش‌های سوری نری که به‌صورت ژنتیکی دچار صرع شده بودند، کاهش می‌دهد [۲۲]. همچنین، دریافت روزانه کافئین با دوزهای ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به‌مدت ۲۸ روز موجب اثر حفاظتی کافئین در برابر تشنج شده است [۲۳]. در یک مطالعه دیگر مصرف کافئین با غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر به‌مدت ۲۱ روز در آب آشامیدنی کیندلینگ ناشی از PTZ را به‌صورت معنی‌داری کاهش داده است [۱۱]. مکانیسم‌های متعددی در ارتباط با اثر حفاظتی غلظت‌های بالای کافئین و مصرف طولانی‌مدت آن بر تشنج وجود دارد. کافئین میل ترکیبی متفاوتی به دو گیرنده آدنوزینی A_1 و A_{2A} دارد؛ از این‌رو اثرات متناقض مشاهده شده در اثر مصرف طولانی‌مدت کافئین می‌تواند در نتیجه اثرات متفاوت آن بر گیرنده‌های A_1 و A_{2A} آدنوزین باشد. این گیرنده‌ها در هیپوکامپ و قشر مغز یافت شده و هر دو این مناطق نیز در بروز تشنج درگیر هستند [۲۴]. از آنجا که گیرنده A_1 یک گیرنده مهاری است و بلوک آن به‌وسیله دوزهای پایین کافئین منجر به تشنج می‌شود، این احتمال مطرح است که مصرف طولانی‌مدت کافئین به‌واسطه بلوک گیرنده A_{2A} باشد که یک گیرنده تحریکی است. در همین زمینه نشان داده

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-23]

شده است که بلوک گیرنده A_{2A} توسط کافئین آستانه تشنج ناشی از PTZ را در مدل‌های تجربی آزمایشگاهی افزایش می‌دهد [۲۵]. همچنین، در موش‌های سوری که گیرنده A_{2A} آدنوزین آنها به‌صورت ژنتیکی حذف گردیده بود نیز کیندلینگ ناشی از PTZ را به‌صورت معنی‌داری کاهش یافت [۱۴]. از آنجا که اثرات مصرف طولانی‌مدت کافئین نظیر حذف گیرنده A_{2A} است، این احتمال قویاً مطرح می‌شود که اثر حفاظتی کافئین به‌واسطه مهار گیرنده A_{2A} اعمال می‌شود. شواهدی نیز وجود دارد که اثرات کافئین تنها به‌واسطه گیرنده‌های آدنوزینی اعمال نمی‌شود، بلکه سایر مکانیسم‌های دیگر نیز می‌تواند دخیل باشند. برای مثال، از اثرات دیگر کافئین می‌توان به مهار فسفو دی‌استرازها، افزایش تراکم گیرنده بنزودیازپین‌ها در قشر مغز، افزایش نوروتروفین‌ها (عامل رشد عصب) مثل نوروتروفین مشتق شده از مغز (BDNF) در هیپوکمپ، افزایش رهایش کاتکول آمین‌ها، اثر آنتی‌اکسیدانی و تعدیل مسیر نیتریک اکساید اشاره کرد [۲۶]. این احتمال وجود دارد که کافئین از طریق کاهش میانجی‌های عصبی تحریکی و یا به‌واسطه تحریک فاکتورهای رشد اثر حفاظتی در برابر تشنج داشته باشد. در همین زمینه نشان داده شده است که دریافت مزمن کافئین سبب محافظت هیپوکامپ در برابر آسیب نورونی ناشی از تشنجات مداوم می‌شود [۲۷]. نیتریک اکساید یک میانجی عصبی گازی شکل و قابل انتشار در سیناپس‌های مغزی است که به‌روش آنزیمی توسط NOS ساخته می‌شود. نقش و عملکرد NO در ایجاد یا مهار تشنج به‌طور کامل روشن نشده است. در بعضی مطالعات NO یک میانجی تشنج‌زا و در دیگر مطالعات یک میانجی ضد تشنج گزارش شده است [۱۴]. اگرچه نقش نیتریک اکساید در پاتوفیزیولوژی صرع نامشخص است، ولی مشاهدات نشان می‌دهند که نیتریک اکساید سبب از بین رفتن نورون‌ها شده و سبب تکثیر گلیاها به طور واکنشی می‌گردد که می‌تواند در پاتوژنز صرع دخیل باشد [۲۸]. با توجه به نقش تعدیل کننده مسیر نیتریک اکساید در اثرکافئین بر آستانه تشنج، در مطالعه حاضر سطح متابولیت‌های نیتریک اکساید در بافت مغزی حیوانات مطالعه مورد بررسی قرار گرفت و نتایج حاصل نشان داد که سطح متابولیت‌های نیتریک اکساید در گروه‌های دریافت کننده کافئین به نسبت گروه کنترل کاهش یافته است. همان‌طور که قبلا اشاره شد، تحریک گیرنده A_{2A} آدنوزین می‌تواند منجر به افزایش تولید نیتریک اکساید گردد [۱۶]. بنابراین، با توجه به این یافته که اثر حفاظتی ناشی از مصرف طولانی‌مدت کافئین به‌واسطه بلوک گیرنده A_{2A} اعمال می‌شود [۱۳]، احتمال دارد اثر حفاظتی کافئین تا حدی به‌واسطه کاهش تولید نیتریک اکساید باشد. با توجه به اینکه مطالعات قبلی نشان داده‌اند که نیتریک اکساید سبب افزایش رهایش میانجی تحریکی گلوتامات از پایانه‌های پیش‌سیناپسی می‌شود [۲۹]، این احتمال وجود دارد که کاهش سطح متابولیت‌های نیتریک اکساید که بیان‌گر کاهش سطح نیتریک اکساید است، می‌تواند در کاهش تحریک‌پذیری و کاهش حساسیت به تشنج دخالت داشته باشد. اندازه‌گیری بیان آنزیم نیتریک اکساید سنتاز و یا استفاده از موش‌هایی که گیرنده A_{2A} آنها حذف شده باشد، می‌تواند شواهد محکم‌تری را در زمینه دخالت مسیر نیتریک اکساید و گیرنده‌های آدنوزین به‌دست دهد؛ هر چند در تحقیق حاضر امکان این بررسی‌ها وجود نداشت.

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که مصرف مزمن کافئین به‌مدت ۹۰ روز دارای یک اثر حفاظتی در مقابل تشنج می‌باشد. با توجه به کاهش سطح متابولیت‌های نیتریک اکساید، این احتمال وجود دارد که دریافت مزمن کافئین از طریق کاهش سطح نیتریک اکساید سبب کاهش تحریک پذیری و کاهش حساسیت به تشنج شده باشد. در خصوص مکانیسم پیشنهادی اثر کافئین بر کاهش سطح متابولیت‌های نیتریک اکساید می‌توان به مهار گیرنده A_{2A} آدنوینی توسط کافئین اشاره کرد.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل بخشی از نتایج طرح تحقیقاتی و پایان‌نامه کارشناسی ارشد با شماره ۹۶۷۰ و کد اخلاقی IR.KAUMS.MEDNT.REC.1396.18 می‌باشد که با حمایت دانشگاه علوم پزشکی کاشان اجرا شده است. بدین‌وسیله نویسندگان از معاونت تحقیقات و فن‌آوری دانشگاه برای حمایت از این پژوهش قدردانی می‌نمایند.

References:

[1] Györffy B, Kovács Z, Gulyássy P, Simor A, Völgyi K, Orbán G, et al. Brain protein expression changes in WAG/Rij rats, a genetic rat model of absence epilepsy after peripheral lipopolysaccharide treatment. ***Brain Behav Immun*** 2014; 35: 86-95.

[2] Bernstein GA, Carroll ME, Thuras PD, Cosgrove KP, Roth ME. Caffeine dependence in teenagers. ***Drug Alcohol Depend*** 2002; 66(1): 1-6.

[3] El Yacoubi M, Ledent C, Parmentier M, Bertorelli R, Ongini E, Costentin J, et al. Adenosine

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-23]

A2A receptor antagonists are potential antidepressants: evidence based on pharmacology and A2A receptor knockout mice. ***Br J Pharmacol*** 2001; 134(1): 68-77.
[4] Luszczki JJ, Zuchora M, Sawicka KM, Kozińska J, Czuczwar SJ. Acute exposure to caffeine decreases the anticonvulsant action of ethosuximide, but not that of clonazepam, phenobarbital and valproate against pentetrazole-induced seizures in mice. ***Pharmacol Rep*** 2006; 58(5): 652-9.
[5] Bonilha L, Li LM. Heavy coffee drinking and epilepsy. ***Seizure*** 2004; 13(4): 284-5.
[6] Löscher W. Preclinical assessment of proconvulsant drug activity and its relevance for predicting adverse events in humans. ***Eur J Pharmacol*** 2009; 610(1-3): 1-11.
[7] Chrościńska-Krawczyk M, Jargiełło-Baszak M, Wałek M, Tylus B, Czuczwar SJ. Caffeine and the anticonvulsant potency of antiepileptic drugs: experimental and clinical data. ***Pharmacol Rep*** 2011; 63(1): 12-8.
[8] Calabrò RS, Italiano D, Gervasi G, Bramanti P. Single tonic–clonic seizure after energy drink abuse. ***Epilepsy Behav*** 2012; 23(3): 384-5.
[9] Bankstahl M, Bankstahl JP, Bloms-Funke P, Löscher W. Striking differences in proconvulsant-induced alterations of seizure threshold in two rat models. ***Neurotoxicology*** 2012; 33(1): 127-37.
[10] Fredholm BB. Adenosine receptors as drug targets. ***Exp Cell Res*** 2010; 316(8): 1284-8.
[11] El Yacoubi M, Ledent C, Parmentier M, Costentin J, Vaugeois JM. Evidence for the involvement of the adenosine A(2A) receptor in the lowered susceptibility to pentylenetetrazol-induced seizures produced in mice by long-term treatment with caffeine. ***Neuropharmacology*** 2008; 55(1): 35-40.
[12] Boison D. Methylxanthines, seizures, and excitotoxicity. ***Handb Exp Pharmacol*** 2011; (200): 251-66.
[13] Etherington AV, Frenguelli BG. Endogenous adenosine modulates epileptiform activity in rat hippocampus in a receptor subtype-dependent manner. ***Eur J Neurosci*** 2004; 19(9): 2539-50.
[14] Zandieh A, Maleki F, Hajimirzabeigi A, Zandieh B, Khalilzadeh O, Dehpour AR. Anticonvulsant effect of celecoxib on pentylenetetrazole-induced convulsion: Modulation by NO pathway. ***Acta Neurobiol Exp*** 2010; 70(4): 390-7.
[15] Akula KK, Dhir A, Kulkarni S. Nitric oxide signaling pathway in the anti-convulsant effect of adenosine against pentylenetetrazol-induced seizure threshold in mice. ***Eur J Pharmacol*** 2008; 587(1-3): 129-34.
[16] Bruce C, Yates DH, Thomas PS. Caffeine decreases exhaled nitric oxide. ***Thorax*** 2002; 57(4): 361-3.
[17] Ardais A, Borges MF, Rocha AS, Sallaberry C, Cunha R, Porciúncula L. Caffeine triggers behavioral and neurochemical alterations in adolescent rats. ***Neuroscience*** 2014; 270: 27-39.
[18] Heydari A, Davoudi S. The effect of sertraline and 8-OH-DPAT on the PTZ_induced seizure threshold: Role of the nitrergic system. ***Seizure*** 2017; 45: 119-24.
[19] Huang RQ, Bell-Horner CL, Dibas MI, Covey DF, Drewe JA, Dillon GH. Pentylenetetrazole-induced inhibition of recombinant gamma-aminobutyric acid type A (GABA(A)) receptors: mechanism and site of action. ***J Pharmacol Exp Ther*** 2001; 298(3): 986-95.
[20] Porciúncula LO, Sallaberry C, Mioranzza S, Botton PH, Rosemberg DB. The Janus face of caffeine. ***Neurochem Int*** 2013; 63(6): 594-609.
[21] Chrościńska-Krawczyk M, Jargiełło-Baszak M, Andres-Mach M, Łuszczki JJ, Czuczwar SJ. Influence of caffeine on the protective activity of gabapentin and topiramate in a mouse model of generalized tonic-clonic seizures. ***Pharmacol Rep*** 2016; 68(4): 680-5.
[22] Germé K, Faure JB, Koning E, Nehlig A. Effect of caffeine and adenosine receptor ligands on the expression of spike-and-wave discharges in Genetic Absence Epilepsy Rats from Strasbourg (GAERS). ***Epilepsy Res*** 2015; 110: 105-14.
[23] Matovu D, Alele PE. Seizure vulnerability and anxiety responses following chronic co-administration and acute withdrawal of caffeine and ethanol in a rat model. ***J Basic Clin Physiol Pharmacol*** 2018; 26; 29(1): 1-10.
[24] Mareš P. A1 not A2A adenosine receptors play a role in cortical epileptic afterdischarges in immature rats. ***J Neural Transm*** 2014; 121(11): 1329-36.
[25] Cunha RA, Agostinho PM. Chronic caffeine consumption prevents memory disturbance in different animal models of memory decline. ***J Alzheimers Dis*** 2010; 20(1): S95-116.
[26] Tavares C, Sakata RK. Caffeine in the treatment of pain. ***Rev Bras Anestesiol*** 2012; 62(3): 387-401.
[27] Rigoulot MA, Leroy C, Koning E, Ferrandon A, Nehlig A. Prolonged low-dose caffeine exposure protects against hippocampal damage but not against the occurrence of epilepsy in the lithium-pilocarpine model in the rat. ***Epilepsia*** 2003; 44(4): 529-35.
[28] Riazi K, Roshanpour M, Rafiei Tabatabaei N, Homayoun H, Ebrahimi F, Dehpour AR. The proconvulsant effect of sildenafil in mice: role of nitric oxide–cGMP pathway. ***Br J Pharmacol*** 2006; 147(8): 935-43.
[29] Vincent SR. Nitric oxide neurons and neurotransmission. ***Prog Neurobiol*** 2010; 90(2): 246-55.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-23]