

Effect of Acute Administration Caffeine and Adenosine Alone or in Combination with Celecoxib on Pentylentetrazole (PTZ)- induced Seizures in Mice

Marzieh Bazmandegan¹, Azhdar Heydari²

1.MSc student, Student Research Center, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran. ORCID ID: 0009-0009-5447-5187

2.Associate Professor, Physiology Research Center, Institute for Basic Sciences, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran., (Corresponding Author), Tel: +98-31-55103515, Email: heydari.azh@mail.com. ORCID ID: 0000-0002-0617-6977

ABSTRACT

Background and Aim: The aim of this study was to investigate the effect of acute administration of caffeine and adenosine alone or in combination with celecoxib (a cyclooxygenase-2 inhibitor) on the seizure threshold induced by pentylentetrazole (PTZ).

Materials and Methods: Male NMRI mice (30-25 g, 10 per group) were divided into groups of 10, control and experimental groups receiving adenosine (25, 50, and 100 mg/kg), caffeine (10, 40, 80, and 100 mg/kg), celecoxib (2.5, 5, and 10 mg/kg) and combination of celecoxib with adenosine or caffeine. The threshold doses for clonic and tonic seizures were measured by intravenous infusion of PTZ.

Results: Adenosine at doses of 50 and 100 mg/kg showed anticonvulsant effects. Caffeine at the doses of 10, 40, 80, and 100 mg/kg significantly reduced the tonic seizure threshold while only at the doses of 10 and 40 mg/kg reduced the clonic seizure threshold. Celecoxib had anticonvulsant effects only at the dose of 10 mg/kg. The combination of celecoxib with adenosine enhanced the anticonvulsant effect of adenosine. In addition, the combination of celecoxib with caffeine reduced the proconvulsant effects of caffeine to some extent.

Conclusion: The combination of celecoxib with caffeine abolished some of the convulsant effects of caffeine and potentiated the anticonvulsant effect of adenosine, suggesting that part of the convulsant effect of caffeine and anticonvulsant effect of adenosine was through modulation of the cyclooxygenase-2 pathway.

Keywords: Caffeine, Cyclooxygenase, Celecoxib, Adenosine, Seizure

Received: June 10, 2023

Accepted: Oct 25, 2023

How to cite the article: Marzieh Bazmandegan, Azhdar Heydari. Effect of Acute Caffeine and Adenosine Administration Alone or Combination with Celecoxib on Pentylentetrazole (PTZ)- induced Seizures in Mice. *ŠJKU* 2024;29(3):13-25.

Copyright © 2018 the Author (s). Published by Kurdistan University of Medical Sciences. This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-Non Commercial License 4.0 (CCBYNC), where it is permissible to download, share, remix, transform, and buildup the work provided it is properly cited. The work cannot be used commercially without permission from the journal

اثر تجویز حاد کافئین و آدنوزین به تنهایی یا در ترکیب با سلوکسیب بر تشنجات ناشی از پنتیلن تترازول در موش سوری

مرضیه بازماندگان^۱، اژدر حیدری^۲

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران. ارکید: ۵۱۸۷-۵۴۴۷-۰۰۰۹-۰۰۰۹

۲. دانشیار، مرکز تحقیقات فیزیولوژی، پژوهشکده علوم پایه، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران، (نویسنده مسئول)، پست الکترونیک:

heydari.azh@mail.com. تلفن: ۵۱۰۳۵۱۵-۰۳۱، کد ارکید: ۶۹۷۷-۶۱۷-۰۰۰۲-۰۰۰۰

چکیده

زمینه و هدف: هدف از این مطالعه بررسی اثر تجویز حاد کافئین و آدنوزین به تنهایی یا ترکیب با سلوکسیب (مهارکننده آنزیم سیکلواکسیژناز-۲) بر آستانه تشنجات ناشی از پنتیلن تترازول بود.

مواد و روش‌ها: موش‌های سوری نر نژاد NMRI (۳۰-۲۵ گرم، ۱۰ سر در هر گروه)، به گروه‌های کنترل و آزمایشی دریافت کننده آدنوزین (۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم)، کافئین (۱۰، ۴۰، ۸۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم)، سلوکسیب (۲/۵، ۵ و ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم) و ترکیب سلوکسیب با آدنوزین یا کافئین تقسیم شدند. دوز آستانه تشنجات کلونیک و تونیک با انفوزیون داخل وریدی پنتیلن تترازول اندازه گیری شد.

یافته‌ها: دوزهای آدنوزین ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم اثرات ضد تشنج نشان داد. دوزهای کافئین ۱۰، ۴۰، ۸۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم به صورت معنی داری آستانه تشنجات تونیک را کاهش داد در حالی که تنها دوز ۱۰ و ۴۰ میلی گرم کافئین سبب کاهش آستانه تشنجات کلونیک شد. سلوکسیب تنها در دوز ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم اثر ضد تشنج داشت. ترکیب سلوکسیب با آدنوزین سبب تقویت اثر ضد تشنجی آدنوزین شد. بعلاوه، ترکیب سلوکسیب با کافئین توانست تا حدی اثرات تشنج‌زای کافئین را از بین ببرد.

نتیجه گیری: ترکیب سلوکسیب با کافئین برخی اثرات تشنج‌زای کافئین را از بین برد و سبب تقویت اثر ضد تشنجی آدنوزین شد که پیشنهاد می کند بخشی از اثر تشنج‌زای کافئین و اثر ضد تشنج آدنوزین از طریق تعدیل مسیر سیکلواکسیژناز-۲ است.

کلمات کلیدی: کافئین، سلوکسیب، سیکلواکسیژناز-۲، آدنوزین، تشنج

وصول مقاله: ۱۴۰۲/۳/۲۰ اصلاحیه نهایی: ۱۴۰۲/۷/۳۰ پذیرش: ۱۴۰۲/۸/۳

مقدمه

صرع سومین علت شایع اختلالات نورولوژیک بعد از سکته مغزی و بیماری آلزایمر محسوب می‌شود (۱). اصطلاح صرع به حملات عودکننده اشاره دارد و به معنای تخلیه الکتریکی ناگهانی و متناوب و بیش از حد نوروهای مغزی است (۲). این عارضه ناشی از فعالیت هم‌زمان و یا هماهنگ نوروهای مغزی بوده که در یک بازه زمانی کوتاه مدت صورت می‌گیرد و به دنبال آن احتمال بروز اختلالات عصب‌شناختی، روان‌شناختی و اجتماعی وجود دارد (۳). شیوع صرع ۶۷ مورد در هر ۱۰۰ هزار نفر جمعیت است (۵)، بنابراین با توجه به بروز نسبتاً بالای صرع و عوارض و مشکلات ناشی از آن، مطالعه و تحقیق جهت بررسی مکانیسم‌های پایه این اختلال در جهت کاهش شیوع، یافتن درمان قطعی و یا ممانعت از ایجاد عوارض آن بسیار مفید و ضروری به نظر می‌رسد.

آدنوزین یک تعدیل‌کننده عصبی است که نقش مهمی در فرایندهای فیزیولوژیک و پاتولوژیک دارد. آدنوزین دارای ۴ گیرنده متصل به G پروتئین شامل A_1 ، A_{2A} ، A_{2B} و A_3 است که از این میان گیرنده A_1 و A_{2A} توزیع بیشتری در مغز دارند و میل ترکیبی آدنوزین به این دو گیرنده بیشتر است (۶). در صرع، گیرنده A_1 عملکردی مهاري و گیرنده A_{2A} عملکردی تحریکی دارد، به گونه‌ای که برای آگونیست‌های گیرنده A_1 اثرات ضد تشنجی گزارش کرده اند. در مقابل گیرنده A_{2A} به واسطه افزایش تحریک‌پذیری نورونی می‌تواند حساسیت به تشنج را افزایش دهد (۷-۱۰).

کافئین (1,3,7-trimethylxanthine) که متعلق به گروه آلکالوئیدهای پورینی و از خانواده‌ی متیل‌گزانتین‌هاست، پرمصرف‌ترین محرک سیستم عصبی مرکزی است (۱۱). کافئین اثرات فارماکولوژیک پیچیده‌ای دارد؛ اما مهم‌ترین اثرات بیولوژیک خود را عمدتاً از طریق آنتاگونیزه کردن گیرنده‌های A_1 و A_{2A} آدنوزینی اعمال می‌کند (۱۲). برخی از گزارش‌ها نقش تشنج‌زای کافئین را بیان کرده‌اند

درحالی‌که برخی مطالعات نشان می‌دهند کافئین ممکن است آستانه تشنج را تغییر ندهد و تشنج‌زا نباشد (۱۴، ۱۳). آنزیم سیکلواکسیژناز (cyclooxygenase, COX) آنزیمی کلیدی در تبدیل آراشیدونیک اسید به پروستاگلاندین‌ها است که در دو ایزوفرم سیکلواکسیژناز-۱ ($COX-1$) و سیکلواکسیژناز-۲ ($COX-2$) وجود دارد (۱۶، ۱۵). برخلاف ایزوفرم $COX-1$ که بیان آن به صورت خودبخودی است و در اعمال طبیعی سلول‌ها نقش دارد، ایزوفرم $COX-2$ قابل القا بوده و افزایش بیان آن در اختلالات عصبی مختلف مانند آلزایمر، صرع و همچنین در پاسخ‌های التهابی دیده می‌شود (۱۸، ۱۷).

نتایج مطالعات گوناگون در سال‌های اخیر نشان می‌دهند که پروستاگلاندین‌ها نقش مهمی در تشنج دارند (۲۰ و ۱۹). علاوه، تحریک گیرنده‌های پیش سیناپسی آدنوزین از طریق تحریک گیرنده A_{2A} موجب تقویت بیان آنزیم $COX-2$ می‌شود (۲۲، ۲۱). همچنین کافئین اثر ضد درد مهارکننده‌های $COX-2$ از جمله سلکوکسیب (مهارکننده انتخابی $COX-2$) را افزایش می‌دهد (۲۳). نتایج مطالعات فوق این احتمال را مطرح می‌کند که بخشی از اثرات آدنوزین و کافئین بر تشنج به واسطه تعدیل مسیر $COX-2$ باشد؛ بنابراین این مطالعه باهدف بررسی اثر تجویز حاد آدنوزین و کافئین به تنهایی یا در ترکیب با سلکوکسیب بر آستانه تشنجات کلونیک و تونیک ناشی از پنتیلن‌تترازول (pentylentetrazole, PTZ) در موش سوری انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه از ۱۵۰ سر موش سوری نر نژاد NMARI در محدوده وزنی ۲۵-۳۰ گرم و با سن حدود ۶-۸ هفته استفاده شد. حیوانات در شرایط ۱۲ ساعت روشنایی- تاریکی با دمای 23 ± 2 درجه سلسیوس و رطوبت ۵۰-۶۰ درصد و در قفس‌های مخصوص ۱۰ تایی و همچنین با دسترسی آزادانه به آب و غذا نگهداری شدند. حیوانات مورد مطالعه به طور

تصادفی به ۱۵ گروه ۱۰ تایی شامل ۲ گروه کنترل دریافت‌کننده نرمال سالین (به‌عنوان حلال کافئین و آدنوزین) و پلی‌اتیلن - گلیکول (به‌عنوان حلال سلوکسیب) و گروه‌های آزمایشی دریافت‌کننده کافئین (۱۰، ۴۰، ۸۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم)، آدنوزین (۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم)، سلوکسیب (۲/۵، ۵، ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم)، ترکیب دوز غیر مؤثر سلوکسیب + دوز غیر مؤثر آدنوزین و دو گروه ترکیب دوز مؤثر سلوکسیب + دوزهای انتخابی کافئین تقسیم شدند. دوز کافئین، آدنوزین و سلوکسیب بر اساس مطالعات قبلی انتخاب گردید (۱۵، ۲۴، ۲۵).

تجویز حلال‌ها یا داروها در گروه‌های کنترل و تحت آزمایش به‌صورت داخل صفاقی انجام شد. تجویز دوزهای مختلف کافئین یا آدنوزین ۳۰ دقیقه قبل از انفوزیون PTZ و تجویز سلوکسیب به‌صورت پیش‌درمان ۱۵ دقیقه قبل از تجویز کافئین یا آدنوزین (۴۵ دقیقه قبل از انفوزیون PTZ) انجام پذیرفت (۱۵، ۲۴، ۲۵). همه مراحل آزمایش شامل مراحل تکثیر، انجام آزمایش‌ها و معدوم کردن حیوانات، مطابق با قوانین کار با حیوانات آزمایشگاهی به کد اخلاق IR.KAUMS.MEDNT.REC.1399.100 صورت گرفت.

جهت ایجاد مدل حیوانی تشنج از داروی PTZ استفاده شد. به‌طور خلاصه، سرسوزن دندانپزشکی شماره ۳۰ متصل به لوله رابط پلی‌اتیلنی شماره ۱۰ وارد ورید جانبی دم شده و به پمپ تزریق وصل می‌شد. با شروع انفوزیون و به کار افتادن هم‌زمان کرومومتر، محلول ۵ میلی گرم در میلی‌لیتر PTZ با سرعت ۰/۵ میلی لیتر در دقیقه به ورید جانبی دم انفوزیون می‌شد. حیوان در طول مدت آزمایش تحت‌نظر بوده و پس از مشاهده تکانه میوکلونیک، کلونوس عمومی (کلونوس اندام جلویی و متعاقب آن کلونوس کامل بدن) و شروع کشیدگی تونیک اندام عقبی (سفت شدن و کشیده شدن اندام جلویی و عقبی به سمت عقب)، انفوزیون PTZ متوقف می‌شد. با در نظر گرفتن زمان ثبت شده،

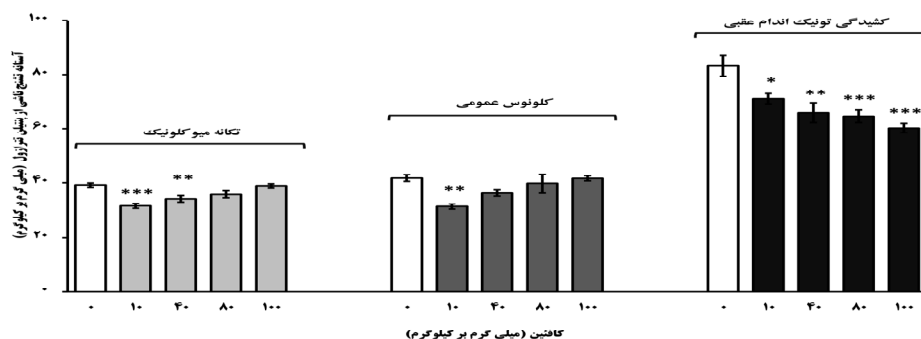
غلظت PTZ، سرعت انفوزیون و وزن بدن حیوان، غلظت PTZ موردنیاز برای رسیدن به آستانه مراحل مختلف تشنج محاسبه شده و به‌صورت دوز آستانه تشنج گزارش شد (۱۳).

نتایج به‌صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار بیان شده و از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه و متعاقب آن تست توکی جهت مقایسه گروه‌ها استفاده شد. سطح $P < 0/05$ معنی‌دار در نظر گرفته شد. داده‌ها با استفاده نرم‌افزار SPSS نسخه 25 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

یافته‌ها

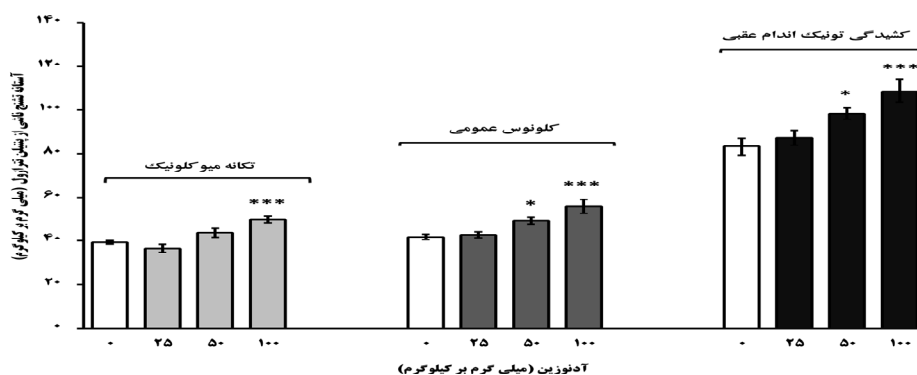
اثر تجویز حاد کافئین بر آستانه تشنجات کلونیک و تونیک ناشی از PTZ

نمودار ۱ نتایج مربوط به اثر تجویز حاد غلظت‌های مختلف کافئین (۰ (نرمال سالین)، ۱۰، ۴۰، ۸۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم) بر آستانه تکانه میوکلونیک، کلونوس عمومی و کشیدگی تونیک اندام خلفی ناشی از PTZ را نشان می‌دهد. کافئین در دوزهای ۱۰ و ۴۰ میلی گرم بر کیلوگرم کاهش معنی‌داری را در آستانه تکانه میوکلونیک نسبت به گروه کنترل (نرمال سالین) ایجاد کرد (به ترتیب $P < 0/001$ و $P < 0/01$). فقط کافئین در دوز ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم کاهش معنی‌داری در آستانه کلونوس عمومی نسبت به گروه کنترل داشت ($P < 0/01$). آستانه کشیدگی تونیک اندام عقبی در همه گروه‌های دریافت‌کننده کافئین کاهش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل داشت (به ترتیب $P < 0/05$ و $P < 0/001$ برای گروه کافئین ۱۰، $P < 0/01$ برای گروه کافئین ۴۰ و $P < 0/001$ برای گروه‌های کافئین ۴۰ و ۱۰۰). با توجه به نتایج حاضر و اثر دوز ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم کافئین در کاهش آستانه تکانه میوکلونیک، کلونوس عمومی و کشیدگی تونیک اندام خلفی و همچنین عدم تغییر آستانه تکانه میوکلونیک به دنبال تجویز دوز ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم کافئین، این دو دوز کافئین جهت ترکیب با بهترین دوز مؤثر سلوکسیب انتخاب شدند.



نمودار ۱. اثر تجویز حاد کافئین (نرمال سالین)، ۱۰، ۴۰، ۸۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم) بر آستانه تشنجات ناشی از PTZ. در هر گروه، هر ستون نمودار نشان دهنده مقادیر میانگین $\pm$ خطای استاندارد دوز آستانه تکانه میوکلونیک، کلونوس عمومی و کشیدگی تونیک اندام عقبی در تعداد ۸ سر موش سوری است. مقدار P کمتر از ۰/۰۵ به عنوان سطح معنی داری آماری در نظر گرفته شده است. $P < ۰/۰۵$ ، $P < ۰/۰۱$ و $P < ۰/۰۰۱$ *** در مقایسه با گروه کنترل

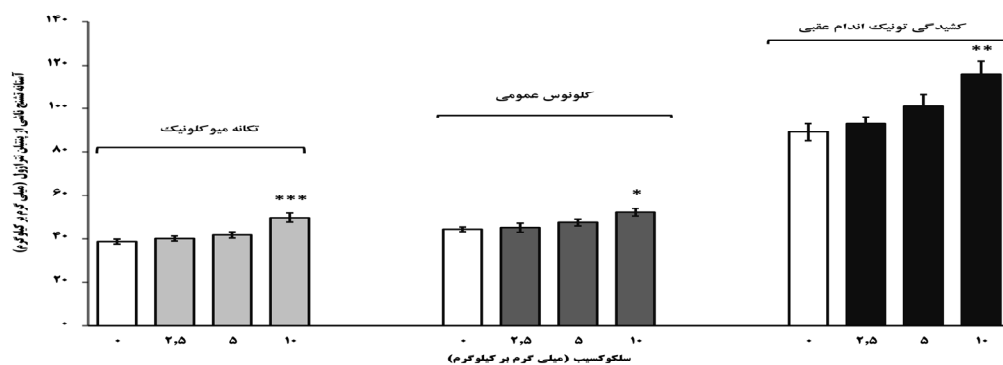
اثر تجویز حاد آدنوزین بر آستانه تشنجات کلونیک و تونیک ناشی از PTZ
نمودار ۲. نتایج مربوط به اثر تجویز حاد غلظت‌های مختلف آدنوزین (۰ (نرمال سالین)، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم) آستانه تکانه میوکلونیک، کلونوس عمومی و کشیدگی تونیک اندام خلفی ناشی از PTZ را نشان می‌دهد. فقط دوز ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم آدنوزین افزایش معنی داری را در آستانه تکانه میوکلونیک نسبت به گروه کنترل ایجاد کرد ($P < ۰/۰۰۱$). آستانه کلونوس عمومی و کشیدگی تونیک اندام عقبی در هر گروه دریافت کننده آدنوزین با غلظت ۲۵ میلی گرم بر کیلوگرم تفاوت معنی داری نسبت به گروه کنترل نداشت؛ اما دوزهای ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم افزایش معنی داری را نسبت به گروه کنترل از خود نشان داد (به ترتیب $P < ۰/۰۵$ و $P < ۰/۰۰۱$). بنابراین با توجه به نتایج حاصله از این آزمایش، دوز ۲۵ میلی گرم بر کیلوگرم به عنوان دوز غیر مؤثر به عنوان پیش درمان با دوز غیر مؤثر سلکو کسپ در نظر گرفته شد.



نمودار ۲. اثر تجویز حاد آدنوزین (۰ (نرمال سالین)، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم) بر آستانه تشنجات ناشی از PTZ. در هر گروه، هر ستون نمودار نشان دهنده مقادیر میانگین $\pm$ خطای استاندارد دوز آستانه تکانه میوکلونیک، کلونوس عمومی و کشیدگی تونیک اندام عقبی در تعداد ۸ سر موش سوری است. مقدار P کمتر از ۰/۰۵ به عنوان سطح معنی داری آماری در نظر گرفته شده است. $P < ۰/۰۵$ و $P < ۰/۰۰۱$ *** در مقایسه با گروه کنترل

۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم آستانه تکانه میوکلونیک (P<۰/۰۰۱)، کلونوس عمومی (P<۰/۰۵) و کشیدگی تونیک اندام عقبی (P<۰/۰۱) را نسبت به گروه کنترل (اتیلن گلیکول) به صورت معنی داری افزایش داد. بنابراین با توجه به نتایج حاصله از این آزمایش، دوز ۵ میلی گرم بر کیلوگرم سلوکسیب به عنوان دوز غیر مؤثر برای پیش درمان با بهترین دوز غیر مؤثر آدنوزین و سلوکسیب با دوز ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم به عنوان دوز مؤثر برای پیش درمان قبل از تجویز کافئین انتخاب شدند.

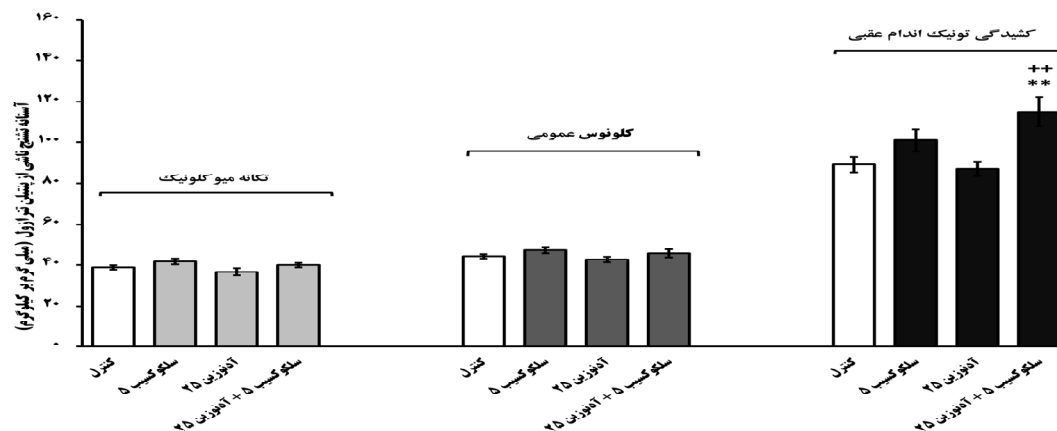
اثر تجویز حاد سلوکسیب بر آستانه تشنجات کلونیک و تونیک ناشی از PTZ نمودار ۳ نتایج مربوط به اثر تجویز حاد غلظت های مختلف سلوکسیب (۰ (اتیلن گلیکول) ۲/۵، ۵ و ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم) بر آستانه تکانه میوکلونیک، کلونوس عمومی و کشیدگی تونیک اندام خلفی ناشی از PTZ را نشان می دهد. مقایسه گروه نرمال سالین با گروه اتیلن گلیکول، تفاوت معنی داری را در آستانه تشنجات ناشی از PTZ ایجاد نکرد. تنها گروه دریافت کننده سلوکسیب با غلظت



نمودار ۳. اثر تجویز حاد سلوکسیب (۰ (اتیلن گلیکول)، ۲/۵، ۵ و ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم) بر آستانه تشنجات ناشی از PTZ. در هر گروه، هر ستون نمودار نشان دهنده مقادیر میانگین $\pm$ خطای استاندارد دوز آستانه تکانه میوکلونیک، کلونوس عمومی و کشیدگی تونیک اندام عقبی در تعداد ۸ سر موش سوری است. مقدار P کمتر از ۰/۰۵ به عنوان سطح معنی داری آماری در نظر گرفته شده است. P<۰/۰۵، P<۰/۰۱ و P<۰/۰۰۱ در مقایسه با گروه کنترل

کشیدگی تونیک اندام خلفی ناشی از PTZ را نشان می دهد. آستانه تکانه میوکلونیک و کلونوس عمومی در گروه ترکیب سلوکسیب ۵ + آدنوزین ۲۵ تفاوت معنی داری را نسبت به گروه آدنوزین ۲۵ نشان نداد. تنها آستانه کشیدگی تونیک اندام عقبی در گروه ترکیب سلوکسیب ۵ + آدنوزین ۲۵ نسبت به گروه آدنوزین ۲۵ به صورت معنی داری افزایش یافت (P<۰/۰۱).

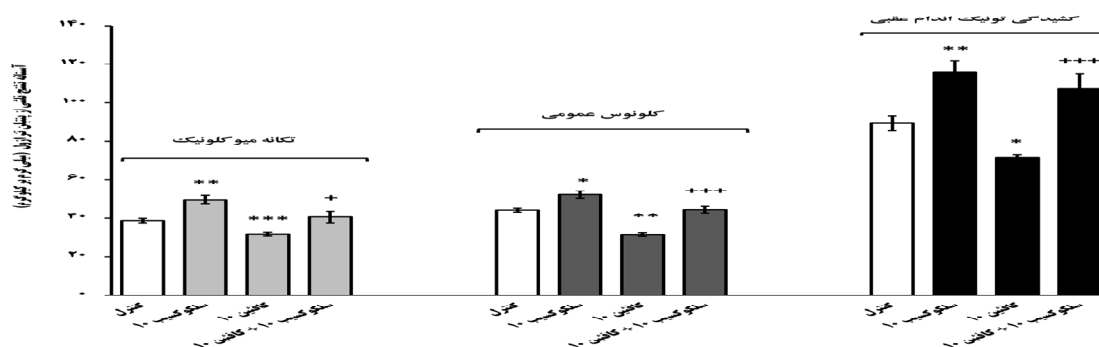
اثر تجویز حاد دوز غیر مؤثر سلوکسیب به صورت پیش درمان قبل از دوز غیر مؤثر آدنوزین بر آستانه تشنجات کلونیک و تونیک ناشی از PTZ نمودار ۴ نتایج مربوط به اثر تجویز دوز غیر مؤثر سلوکسیب (۵ میلی گرم بر کیلوگرم) به عنوان پیش درمان قبل از بهترین دوز غیر مؤثر آدنوزین (۲۵ میلی گرم بر کیلوگرم) بر آستانه تکانه میوکلونیک، کلونوس عمومی و



نمودار ۴: اثر پیش درمان سلوکوسیب (۵ میلی گرم بر کیلوگرم) قبل از آدنوزین (۲۵ میلی گرم بر کیلوگرم) بر آستانه تشنجات ناشی از PTZ. در هر گروه، هر ستون نمودار نشان دهنده مقادیر میانگین $\pm$ خطای استاندارد دوز آستانه تکانه میوکلونیک، کلونوس عمومی و کشیدگی تونیک اندام عقبی در تعداد ۸ سر موش سوری است. مقدار P کمتر از ۰/۰۵ به عنوان سطح معنی داری آماری در نظر گرفته شده است. $P < ۰/۰۱$ ** در مقایسه با گروه کنترل (اتیلن گلیکول)، $P < ۰/۰۱$ ++ در مقایسه با گروه آدنوزین ۲۵ میلی گرم بر کیلوگرم

PTZ را نشان می‌دهد. آستانه تکانه میوکلونیک در گروه ترکیب سلوکوسیب ۱۰ + کافئین ۱۰ به صورت معنی داری نسبت به گروه کافئین ۱۰ افزایش یافت ($P < ۰/۰۵$). همچنین آستانه کلونوس عمومی و کشیدگی اندام عقبی در گروه ترکیب سلوکوسیب ۱۰ + کافئین ۱۰ به صورت معنی داری نسبت به گروه کافئین ۱۰ افزایش یافت ($P < ۰/۰۰۱$).

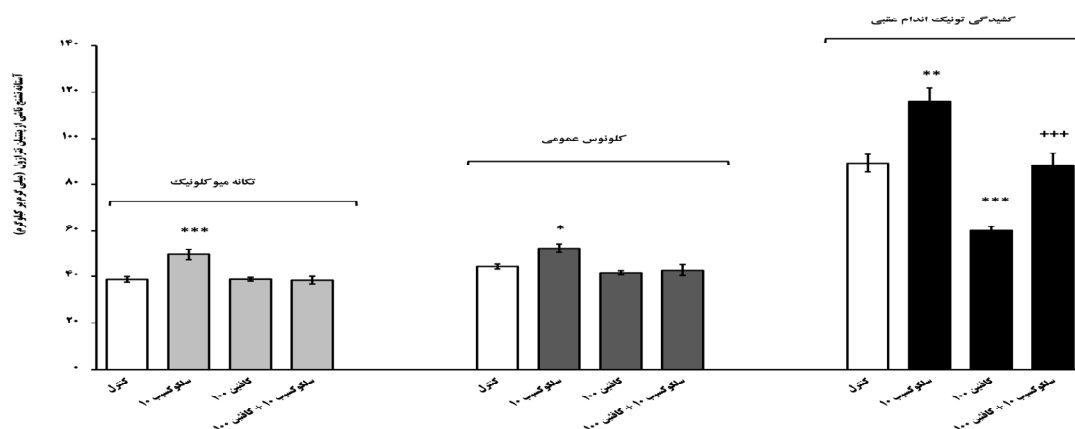
اثر تجویز حاد دوز ضد تشنج سلوکوسیب به صورت پیش‌درمان قبل از دوز تشنج‌زای کافئین بر آستانه تشنجات کلونیک و تونیک ناشی از PTZ نمودار ۵ نتایج مربوط به اثر تجویز دوز مؤثر سلوکوسیب (۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم) به عنوان پیش‌درمان قبل از کافئین (۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم) بر آستانه تکانه میوکلونیک، کلونوس عمومی و کشیدگی تونیک اندام خلفی ناشی از



نمودار ۵: اثر پیش درمان سلوکوسیب (۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم) قبل از کافئین (۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم) بر آستانه تشنجات ناشی از PTZ. در هر گروه، هر ستون نمودار نشان دهنده مقادیر میانگین $\pm$ خطای استاندارد دوز آستانه تکانه میوکلونیک، کلونوس عمومی و کشیدگی تونیک اندام عقبی در تعداد ۸ سر موش سوری است. مقدار P کمتر از ۰/۰۵ به عنوان سطح معنی داری آماری در نظر گرفته شده است. $P < ۰/۰۵$ *، $P < ۰/۰۱$ **، $P < ۰/۰۰۱$ *** در مقایسه با گروه کنترل (اتیلن گلیکول)، $P < ۰/۰۵$ + و $P < ۰/۰۱$ +++ در مقایسه با گروه کافئین ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم

PTZ را نشان می‌دهد. آستانه تکانه میوکلونیک و کلونوس عمومی در گروه ترکیب سلوکسیب ۱۰ + کافئین ۱۰۰ تفاوت معنی‌داری را نسبت به گروه کافئین ۱۰۰ نشان نداد. آستانه کشیدگی اندام عقبی در گروه ترکیب سلوکسیب ۱۰ + کافئین ۱۰۰ افزایش معنی‌داری را نسبت به گروه کافئین ۱۰۰ نشان داد ($P < 0.001$).

اثر تجویز حاد دوز ضد تشنج سلوکسیب به صورت پیش‌درمان قبل از دوز غیر تشنج‌زای کافئین بر آستانه تشنجات کلونیک و تونیک ناشی از PTZ نمودار ۶ نتایج مربوط به اثر تجویز دوز مؤثر سلوکسیب (۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) به عنوان پیش‌درمان قبل از کافئین (۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بر آستانه تکانه میوکلونیک، کلونوس عمومی و کشیدگی تونیک اندام خلفی ناشی از



نمودار ۶: اثر پیش‌درمان سلوکسیب (۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) قبل از کافئین (۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بر آستانه تشنجات ناشی از PTZ. در هر گروه، هر ستون نمودار نشان دهنده مقادیر میانگین $\pm$ خطای استاندارد دوز آستانه تکانه میوکلونیک، کلونوس عمومی و کشیدگی تونیک اندام عقبی در تعداد ۸ سر موش سوری است. مقدار P کمتر از ۰/۰۵ به عنوان سطح معنی‌داری آماری در نظر گرفته شده است. $P < 0.05$ ، $P < 0.01$ و $P < 0.001$ در مقایسه با گروه کنترل (اتیلن گلیکول) و $P < 0.001$ در مقایسه با گروه کافئین ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم.

بحث

است که نشان داد دوزهای ۵ و ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کافئین اثر تشنج‌زا داشت (۱۳). در مطالعه دیگری دوزهای ۶۰ و ۸۰ میلی‌گرم کافئین اثر تشنج‌زا نشان نداد (۲۶). همچنین دوز ۴۶/۲ کافئین اثر تشنج‌زا در مدل ماکزیمال الکتروشوک نشان نداد (۲۷). اثر تشنج‌زای دوزهای ۱۰ و ۴۰ کافئین در مغز قدامی احتمالاً از طریق مهار گیرنده A_1 و افزایش سطح گلوتامات در این نواحی انجام می‌پذیرد؛ زیرا ثابت شده است که تحریک این گیرنده‌ها توسط آدنوزین سبب کاهش سطح گلوتامات و کاهش تحریک پذیری می‌شود (۲۸). از طرف دیگر دوز ۱۰۰ کافئین احتمالاً از طریق مهار ترجیحی گیرنده A_{2A} که گیرنده‌ای تحریکی

هدف از مطالعه حاضر بررسی اثر تجویز حاد آدنوزین و کافئین به تنهایی یا در ترکیب با سلوکسیب بر آستانه تشنجات کلونیک و تونیک ناشی از PTZ در موش سوری بود. نتایج این مطالعه نشان دهنده اثرات تشنج‌زای کافئین و اثرات ضد تشنج آدنوزین و سلوکسیب بود. ترکیب سلوکسیب با آدنوزین سبب تقویت اثر ضد تشنجی آدنوزین شد. بعلاوه، ترکیب سلوکسیب با کافئین توانست تا حدی اثرات تشنج‌زای کافئین را کاهش دهد. اثر تشنج‌زای دوزهای ۱۰ و ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کافئین و کاهش آستانه کلونیک (نمودار ۱) در تأیید مطالعه‌ای

مکانیسم احتمالی جهت توجیه اثر برجسته‌تر آدنوزین بر تشنجات تونیک با منشأ مغز خلفی باشد.

نتایج مطالعات مختلف در خصوص اثر مهارکننده‌های COX-2 بر تشنج متناقض است و درحالی‌که برخی مطالعات نشان داده‌اند که مهارکننده‌های COX-2 اثر ضد تشنجی دارند، مطالعاتی نیز وجود دارند که نشان می‌دهند مهارکننده‌های COX-2 بر تشنج ایجاد شده در مدل حیوانی بی‌تأثیر هستند (۲۵، ۳۴). نتایج تجویز سلکوکسیب در مطالعه حاضر (نمودار ۳) در تأیید یافته‌های است که اثر ضد تشنج سلکوکسیب را گزارش کرده‌اند. مهارکننده‌های COX-2 به‌صورت پیش‌سیناپسی سبب کاهش تولید پروستاگلاندین E₂ می‌شوند و در نتیجه کاهش فعالیت گیرنده پیش‌سیناپسی PGE₂ از طریق کاهش غلظت کلسیم داخل سلولی رهاش گلوتامات را کاهش می‌دهد و سبب کاهش تشنجات می‌شود (۳۵، ۳۶).

در مطالعه حاضر پیش‌درمان دوز غیر مؤثر سلکوکسیب (۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) قبل از دوز غیر مؤثر آدنوزین (۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) سبب افزایش معنی‌داری در آستانه کشیدگی تونیک اندام عقبی شد (نمودار ۴). این یافته نشان می‌دهد که احتمالاً مسیر سیکلو اکسی ژناز و سیگنالینگ گیرنده‌های آدنوزین تا حدی هم‌افزایی دارند. از طرف دیگر گیرنده‌های A_{2A} آدنوزین که سبب افزایش بیان COX-2 می‌شوند، توزیع بیشتری در مغز قدامی دارند و مغز خلفی که منشأ تشنجات تونیک است، بیشترین تراکم گیرنده‌های A₁ را دارد. یک مکانیسم توجیهی برای اثر پیش‌درمان آدنوزین و سلکوکسیب بر کاهش تشنج تونیک بدون تأثیر بر تشنجات کلونیک این می‌تواند باشد که تجمع اثر مهار گیرنده A_{2A} و کاهش بیان COX-2 در حضور سلکوکسیب کاهش قابل توجهی در سطح پروستاگلاندین E₂ و افزایش آستانه تشنج به وجود آورده باشد.

پیش‌درمان با دوز ۱۰ میلی‌گرم سلکوکسیب قبل از تجویز دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کافئین آستانه تکانه میوکلونیک، کلونوس عمومی و کشیدگی اندام عقبی را

است و سبب افزایش سطح گلوتامات می‌شود (۹)، آستانه تشنجات کلونیک مغز قدامی را به‌صورت معنی‌داری تغییر نداد. اثرات متناقض کافئین بر تشنجات کلونیک و تونیک و کاهش معنی‌دار آستانه تشنج تونیک در همه دوزهای کافئین (نمودار ۱)، می‌تواند ناشی از توزیع متفاوت گیرنده‌های آدنوزین در نواحی مغز قدامی و مغز خلفی باشد. منشأ تشنجات کلونیک در ناحیه مغز قدامی (شامل قشر مغز، تالاموس، هیپوتالاموس و سیستم لیمبیک) و منشأ تشنجات تونیک در ناحیه مغز خلفی (شامل بصل النخاع، پل مغزی و مخچه) است (۲۹). از طرف دیگر ثابت شده است که گیرنده‌های A₁ توزیع نسبتاً یکسانی در مناطق مختلف مغز دارند؛ اما گیرنده A_{2A} بیشتر در ناحیه مغز قدامی (نوکورکس و سیستم لیمبیک) و استریاتوم یافت می‌شود (۳۰). در نتیجه می‌توان این احتمال را مطرح کرد که به دلیل پراکندگی کمتر گیرنده‌های A_{2A} در مغز خلفی، کافئین با اثر مهار بر گیرنده‌های A₁ سبب افزایش تحریک‌پذیری این ناحیه از مغز و کاهش آستانه تشنجات تونیک می‌گردد. یافته‌ها در خصوص اثر آدنوزین بر آستانه تشنج (نمودار ۲)، در تأیید مطالعاتی است که قبلاً اثرات ضد تشنجی آدنوزین را گزارش کرده‌اند (۳۱). آدنوزین به عنوان یک تعدیل کننده عصبی در مغز می‌تواند همانند یک ضد تشنج درون‌زا عمل کند (۳۲). میل ترکیبی آدنوزین به گیرنده A₁ بیشتر از گیرنده A_{2A} (به ترتیب در حدود ۷۰ نانومول و ۱۵۰ نانومول) است (۳۳)؛ بنابراین به نظر می‌رسد عمده اثرات ضد تشنجی آدنوزین از طریق تحریک گیرنده‌های A₁ و کاهش رهاش میانجی‌های تحریکی نظیر گلوتامات باشد. عدم تغییر آستانه تکانه میوکلونیک پس از تجویز دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم آدنوزین (نمودار ۲)، این احتمال را مطرح می‌کند که به دلیل توزیع هر دو گیرنده مهار A₁ و تحریکی A_{2A} در مغز قدامی، آدنوزین با اثر بر هر دو گیرنده سبب تعدیل اثرات مهار و تحریکی شده باشد. با توجه به اینکه در مغز خلفی بیشتر گیرنده A₁ بیان می‌شود که یک گیرنده مهار است، این موضوع می‌تواند یک

کمتری منجر به مهار گیرنده A_{2A} می‌شود، ترکیب سلوکسیب با کافئین احتمالا سبب اثر هم‌افزایی بیشتر از طریق مهار $COX-2$ شده باشد. با توجه به محدودیت‌های مطالعه حاضر در اندازه‌گیری بیان ژن و بیان پروتئین $COX-2$ پیشنهاد می‌گردد تا اثر دوزهای مختلف کافئین بر بیان ژن و بیان پروتئین $COX-2$ مورد بررسی قرار گیرد. همچنین استفاده از موش‌های ترا ریخته بدون بیان گیرنده A_1 یا A_{2A} می‌تواند درک بهتری از اثرات دوزهای مختلف کافئین بر آستانه تشنجات تونیک و کلونیک ارائه دهد.

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان می‌دهد کافئین در دوزهای مختلف اثر متفاوتی بر آستانه تشنجات کلونیک و تونیک ناشی از PTZ دارد و احتمالا توزیع متفاوت گیرنده‌های آدنوزینی در مغز در پاسخ تشنج‌زای کافئین مؤثر است. همچنین یافته‌های این مطالعه در تأیید یافته‌های قبلی است که اثر ضد تشنج آدنوزین و سلوکسیب را گزارش کرده‌اند. ترکیب دوزهای غیر مؤثر سلوکسیب و آدنوزین اثر ضد تشنج داشت و همچنین ترکیب دوز مؤثر سلوکسیب با دوزهای کافئین تا حدی اثرات تشنج‌زای کافئین را از بین برد که پیشنهاد می‌کند اثرات کافئین بر آستانه تشنج احتمالا تا حدی به علت تعدیل مسیر $COX-2$ است.

تشکر و قدردانی

این مطالعه با حمایت مالی معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی کاشان با کد اخلاق IR.KAUMS.MEDNT.REC.1399.100 به انجام رسید. بدین وسیله نویسندگان مقاله از معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی کاشان برای حمایت مالی از این پژوهش قدردانی می‌نمایند. هیچ کدام از نویسندگان این مطالعه، افراد و یا دستگاه‌ها تعارض منافی برای انتشار این مقاله ندارند.

افزایش داد (نمودار ۵)، در حالی که پیش درمان دوز مؤثر سلوکسیب (۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم) قبل از تجویز دوز ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم کافئین تنها به صورت معنی‌داری آستانه تشنج تونیک را افزایش داد (نمودار ۶). این یافته‌ها در تأیید این فرضیه است که اثرات کافئین تا حدی از طریق تغییر بیان $COX-2$ انجام می‌شود. مطالعات کمی در مورد هم‌افزایی اثر کافئین و سلوکسیب وجود دارد. در یک مطالعه، کافئین به صورت وابسته به دوز میزان بیان و فعالیت $COX-2$ و همچنین سنتز پروستاگلاندین E_2 را در سلول‌های میگروگلیا در محیط برون تنی کاهش داد و اثر پاراستامول را در کاهش درد تقویت کرد (۳۷). در مطالعه دیگری هیپراکسی سبب افزایش بیان $COX-1$ و $COX-2$ در بافت ریه شد و تجویز کافئین به صورت معنی‌داری سبب کاهش $COX-2$ بدون تغییر $COX-1$ شد (۳۸). همچنین نشان داده شده است که کافئین سبب افزایش اثر ضد درد سلوکسیب از طریق تقویت اثر مهار $COX-2$ می‌شود (۲۵). در مطالعه حاضر، تفاوت اثر پیش درمان دوز مؤثر سلوکسیب با دوزهای مختلف کافئین بر آستانه تشنجات احتمالا ناشی از اثر متفاوت کافئین بر گیرنده‌های آدنوزینی می‌باشد. همان‌طور که قبلا اشاره شد، کافئین در دوزهای پائین تر تمایل بیشتر به مهار A_1 و در دوزهای بالاتر میل ترکیبی بیشتری به زیر واحد A_{2A} دارد. کافئین احتمالا با مهار گیرنده‌های آدنوزین A_{2A} منجر به کاهش بیان آنزیم $COX-2$ می‌شود.

با توجه به توزیع گسترده گیرنده‌های آدنوزین A_{2A} در مغز قدامی که منشأ تشنجات کلونیک است، می‌توان این احتمال را مطرح کرد که به دلیل مهار $COX-2$ به وسیله کافئین، پیش درمان با سلوکسیب با دوز ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم کافئین نمی‌تواند منجر به اثر هم‌افزایی بیشتری در جهت افزایش آستانه تشنج شود. در مقابل پیش درمان دوز مؤثر سلوکسیب قبل از دوز ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم کافئین منجر به از بین رفتن اثر تشنج‌زای کافئین شد و چون این دوز کافئین بیشتر گیرنده‌های A_1 را مهار می‌کند و تا حد

1. Vezzani A, French J, Bartfai T, Baram TZ. The role of inflammation in epilepsy. *Nat Rev Neurol*. 2011 Jan;7(1):31-40. doi: 10.1038/nrneurol.2010.178.
2. Ghosh S, Sinha JK, Ghosh S, Sharma H, Bhaskar R, Narayanan KB. A Comprehensive Review of Emerging Trends and Innovative Therapies in Epilepsy Management. *Brain Sci*. 2023 Sep 11;13(9):1305. doi: 10.3390/brainsci13091305.
3. Fisher RS, van Emde Boas W, Blume W, Elger C, Genton P, Lee P, Engel J Jr. Epileptic seizures and epilepsy: definitions proposed by the International League Against Epilepsy (ILAE) and the International Bureau for Epilepsy (IBE). *Epilepsia*. 2005 Apr;46(4):470-2. doi: 10.1111/j.0013-9580.2005.66104.x.
4. GBD 2016 Epilepsy Collaborators. Global, regional, and national burden of epilepsy, 1990-2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *Lancet Neurol*. 2019 Apr;18(4):357-375. doi: 10.1016/S1474-4422(18)30454-X.
5. Ngugi AK, Kariuki SM, Bottomley C, Kleinschmidt I, Sander JW, Newton CR. Incidence of epilepsy: a systematic review and meta-analysis. *Neurology*. 2011 Sep 6;77(10):1005-12. doi: 10.1212/WNL.0b013e31822cfc90.
6. Wei CJ, Li W, Chen JF. Normal and abnormal functions of adenosine receptors in the central nervous system revealed by genetic knockout studies. *Biochim Biophys Acta*. 2011 May;1808(5):1358-79. doi: 10.1016/j.bbame.2010.12.018.
7. 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 Jul;55(1):35-40. doi: 10.1016/j.neuropharm.2008.04.007.
8. van Calker D, Biber K, Domschke K, Serchov T. The role of adenosine receptors in mood and anxiety disorders. *J Neurochem*. 2019 Oct;151(1):11-27. doi: 10.1111/jnc.14841.
9. Baltos JA, Casillas-Espinosa PM, Rollo B, Gregory KJ, White PJ, Christopoulos A, Kwan P, O'Brien TJ, May LT. The role of the adenosine system in epilepsy and its comorbidities. *Br J Pharmacol*. 2023 Apr 19. doi: 10.1111/bph.16094.
10. Asadi-Pooya AA, Zeraatpisheh Z, Rostaminejad M, Damabi NM. Caffeinated drinks, fruit juices, and epilepsy: A systematic review. *Acta Neurol Scand*. 2022 Feb;145(2):127-138. doi: 10.1111/ane.13544.
11. Souza MA, Mota BC, Gerbatin RR, Rodrigues FS, Castro M, Figuera MR, Royes LF. Antioxidant activity elicited by low dose of caffeine attenuates pentylenetetrazol-induced seizures and oxidative damage in rats. *Neurochem Int*. 2013 May;62(6):821-30. doi: 10.1016/j.neuint.2013.02.021.
12. Butt MS, Sultan MT. Coffee and its consumption: benefits and risks. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2011 Apr;51(4):363-73. doi: 10.1080/10408390903586412.
13. Esmaili Z, Heydari A. Effect of acute caffeine administration on PTZ-induced seizure threshold in mice: Involvement of adenosine receptors and NO-cGMP signaling pathway. *Epilepsy Res*. 2019 Jan;149:1-8. doi: 10.1016/j.epilepsyres.2018.10.013.
14. 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 Feb;110:105-14. doi: 10.1016/j.epilepsyres.2014.11.022.
15. Zhang Y, Liu Y, Sun J, Zhang W, Guo Z, Ma Q. Arachidonic acid metabolism in health and disease. *MedComm* (2020). 2023 Sep 20;4(5):e363. doi: 10.1002/mco2.363.
16. Daghigh F, Noureddini M, Takhtefirouzeh M, Heydari A. The effect of indomethacin on pentylenetetrazole-induced kindling in male rats. *Feyz* 2014; 18 (4) :286-291
17. Rojas A, Jiang J, Ganesh T, Yang MS, Lelutiu N, Gueorguieva P, Dingledine R. Cyclooxygenase-2 in epilepsy. *Epilepsia*. 2014 Jan;55(1):17-25. doi: 10.1111/epi.12461.
18. Sluter MN, Li Q, Yasmen N, Chen Y, Li L, Hou R, Yu Y, Yang CY, Meibohm B, Jiang J. The inducible prostaglandin E synthase (mPGES-1) in neuroinflammatory disorders. *Exp Biol Med* (Maywood). 2023 May;248(9):811-819. doi: 10.1177/15353702231179926.

19. 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 (Wars)*. 2010;70(4):390-7. doi: 10.55782/ane-2010-1811.
20. 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 Mar;44:98-103. doi: 10.1016/j.yebeh.2014.12.032.
21. Cadieux JS, Leclerc P, St-Onge M, Dussault AA, Laflamme C, Picard S, Ledent C, Borgeat P, Pouliot M. Potentiation of neutrophil cyclooxygenase-2 by adenosine: an early anti-inflammatory signal. *J Cell Sci*. 2005 Apr 1;118(Pt 7):1437-47. doi: 10.1242/jcs.01737.
22. Pouliot M, Fiset ME, Massé M, Naccache PH, Borgeat P. Adenosine up-regulates cyclooxygenase-2 in human granulocytes: impact on the balance of eicosanoid generation. *J Immunol*. 2002 Nov 1;169(9):5279-86. doi: 10.4049/jimmunol.169.9.5279.
23. Jenabian N, Moghadamnia AA, Beyraghshamshir R. Clinical Efficacy of Celecoxib with and without Caffeine versus Ibuprofen for Pain Control following Crown Lengthening Surgery. *J Dent Sch [Internet]*. 2019 Mar. 11 [cited 2024 Feb. 7];33(1):51-8.
24. Akula KK, Dhir A, Kulkarni SK. Nitric oxide signaling pathway in the anti-convulsant effect of adenosine against pentylenetetrazol-induced seizure threshold in mice. *Eur J Pharmacol*. 2008 Jun 10;587(1-3):129-34. doi: 10.1016/j.ejphar.2008.03.038.
25. Mesdaghinia A, Khazaei P, Heydari A. The effect of cyclooxygenase-2 inhibition on pentylenetetrazole-induced seizure threshold in mice. *Feyz* 2018; 22 (3) :258-266
26. Bankstahl M, Bankstahl JP, Bloms-Funke P, Löscher W. Striking differences in proconvulsant-induced alterations of seizure threshold in two rat models. *Neurotoxicology*. 2012 Jan;33(1):127-37. doi: 10.1016/j.neuro.2011.12.011.
27. Jargiello-Baszak M, Chrościńska-Krawczyk 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 Aug;68(4):680-5. doi: 10.1016/j.pharep.2016.03.011.
28. Taketo M. Activation of adenosine A1 receptor potentiates metabotropic glutamate receptor 1-mediated Ca²⁺ mobilization in the rat hippocampal marginal zone. *Brain Res*. 2023 Dec 15;1821:148581. doi: 10.1016/j.brainres.2023.148581.
29. Wang YJ, Hsieh CP, Chan MH, Chan TY, Chen L, Chen HH. Distinct effects of resveratrol on seizures and hyperexcitability induced by NMDA and 4-aminopyridine. *Nutr Neurosci*. 2019 Dec;22(12):867-876. doi: 10.1080/1028415X.2018.1461458.
30. Ribeiro JA, Sebastião AM, de Mendonça A. Adenosine receptors in the nervous system: pathophysiological implications. *Prog Neurobiol*. 2002 Dec;68(6):377-92. doi: 10.1016/s0301-0082(02)00155-7.
31. Haskó G, Cronstein BN. Adenosine: an endogenous regulator of innate immunity. *Trends Immunol*. 2004 Jan;25(1):33-9. doi: 10.1016/j.it.2003.11.003.
32. Tescarollo FC, Rombo DM, DeLiberto LK, Fedele DE, Alharfoush E, Tomé ÂR, Cunha RA, Sebastião AM, Boison D. Role of Adenosine in Epilepsy and Seizures. *J Caffeine Adenosine Res*. 2020 Jun 1;10(2):45-60. doi: 10.1089/caff.2019.0022.
33. Stockwell J, Jakova E, Cayabyab FS. Adenosine A1 and A2A Receptors in the Brain: Current Research and Their Role in Neurodegeneration. *Molecules*. 2017 Apr 23;22(4):676. doi: 10.3390/molecules22040676
34. Temp FR, Marafija JR, Milanesi LH, Duarte T, Rambo LM, Pillat MM, Mello CF. Cyclooxygenase-2 inhibitors differentially attenuate pentylenetetrazol-induced seizures and increase of pro- and anti-inflammatory cytokine levels in the cerebral cortex and hippocampus of mice. *Eur J Pharmacol*. 2017 Sep 5;810:15-25. doi: 10.1016/j.ejphar.2017.05.013.
35. López DE, Ballaz SJ. The Role of Brain Cyclooxygenase-2 (Cox-2) Beyond Neuroinflammation: Neuronal Homeostasis in Memory and Anxiety. *Mol Neurobiol*. 2020 Dec;57(12):5167-5176. doi: 10.1007/s12035-020-02087-x.

36. Takemiya T, Suzuki K, Sugiura H, Yasuda S, Yamagata K, Kawakami Y, Maru E. Inducible brain COX-2 facilitates the recurrence of hippocampal seizures in mouse rapid kindling. *Prostaglandins Other Lipid Mediat.* 2003 Jul;71(3-4):205-16. doi: 10.1016/s1098-8823(03)00040-6.
37. Fiebich BL, Lieb K, Hüll M, Aicher B, van Ryn J, Pairet M, Engelhardt G. Effects of caffeine and paracetamol alone or in combination with acetylsalicylic acid on prostaglandin E(2) synthesis in rat microglial cells. *Neuropharmacology.* 2000 Aug 23;39(11):2205-13. doi: 10.1016/s0028-3908(00)00045-9.
38. Chen S, Wu Q, Zhong D, Li C, Du L. Caffeine prevents hyperoxia-induced lung injury in neonatal mice through NLRP3 inflammasome and NF-κB pathway. *Respir Res.* 2020 Jun 8;21(1):140. doi: 10.1186/s12931-020-01403-2.