

## بررسی اثر آترواستاتین بر آستانه تشنج ناشی از پنتیلین تترازول در موش‌های کوچک آزمایشگاهی نر گنادکتومی شده

سمیه عزیزی<sup>۱</sup>، نسرین حیدریه<sup>۲\*</sup>، فاطمه جمالو<sup>۲</sup>

### چکیده

مقدمه: صرع به مجموعه‌ای از اختلالات سیستم اعصاب مرکزی گفته می‌شود که به صورت تشنجات ناگهانی، زودگذر، تکرار شونده و غیرقابل پیش‌بینی با منشأ حسی- حرکتی و اتونوم ظاهر می‌شود. استاتین‌ها گروهی از داروهای کاهنده کلسترول خون هستند، با توجه به اثرات ضدالتهابی و بازکننده عروق سلول‌های مغزی استاتین‌ها در مطالعات گذشته، هدف از این مطالعه بررسی اثر آترواستاتین بر تشنج ناشی از پنتیلین تترازول در موش‌های کوچک آزمایشگاهی نر گنادکتومی شده بود.

روش بررسی: این مطالعه تجربی بر روی ۳۶ موش‌های سوری نر کوچک نژاد NMRI با وزن ۳۵-۳۰ گرم انجام شد. موش‌ها به دو گروه سالم و گنادکتومی تقسیم شدند. در گروه گنادکتومی عمل جراحی حذف بیضه‌ها صورت گرفت. گروه DMSO یا حلال دارو (۰/۳cc) و گروه تحت درمان، داروی آترواستاتین با دوز ۱۰mg/kg به صورت داخل صفاقی و ۳۰ دقیقه بعد، پنتیلین تترازول (ptz) ۸۰mg/kg را دریافت کردند. تمامی تزریقات به صورت داخل صفاقی بود. پس از تزریق پنتیلین تترازول مدت‌زمان شروع تشنج (آستانه) ثبت شد. داده‌ها با آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون توکی به کمک نرم‌افزار SPSS تجزیه و تحلیل شد ( $p < 0/05$ ).

نتایج: داروی آترواستاتین در گروه سالم و گنادکتومی سبب افزایش معنی‌دار مدت‌زمان شروع تشنج (آستانه) نسبت به گروه DMSO یا حلال دارو گردید و از طرفی موش‌های گنادکتومی شده کاهش معنی‌داری را در مدت‌زمان شروع تشنج نسبت به موش‌های سالم نشان دادند ( $p < 0/01$ ).

نتیجه‌گیری: بر اساس نتایج این تحقیق به نظر می‌رسد که داروی آترواستاتین اثرات ضد تشنجی دارد و ایجاد گنادکتومی سبب افزایش تشنج می‌شود.

واژه‌های کلیدی: صرع، آترواستاتین، آستانه تشنج، پنتیلین تترازول، وازکتومی، موش سوری نر

۱- کارشناسی ارشد، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد قم، قم

۲،۳- استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد قم، قم

\* (نویسنده مسئول): تلفن: ۰۹۱۲۳۵۹۳۲۶۴، پست الکترونیکی: nheidarieh@yahoo.com

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۶/۱۸

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۱۰/۲۲

## مقدمه

صرع به مجموعه‌ای از اختلالات سیستم اعصاب مرکزی گفته می‌شود که به صورت تشنجات ناگهانی، زودگذر، تکرار شونده و غیر قابل پیش‌بینی با منشأ حسی، حرکتی و اتونوم ظاهر می‌شود. این بیماری دومین اختلال شایع عصبی بعد از حمله‌های مغزی به شمار می‌رود و نزدیک به یک درصد از کل جمعیت دنیا به یکی از اقسام آن مبتلا هستند (۱).

نکته اصلی در درمان صرع، لزوم درمان طولانی مدت، مداوم و توأم چند دارو با هم است که زمینه بروز عوارض جانبی متعدد داروها را بیشتر فراهم می‌کند. عموماً داروهای در دسترس واجد عوارض جانبی ناخواسته مزاحم و بعضاً خطرناک می‌باشند. از این رو تحقیقات جهت سنتز داروهای مؤثرتر با اثرات جانبی کمتر همچنان ادامه دارد. استاتین‌ها جزء داروهای کاهنده کلسترول خون بوده که به واسطه مهار آنزیم ۳-هیدروکسی-۳-متیل گلوٹاریل کوآنزیم-آ (HMG-coA) ردوکتاز، سبب کاهش سنتز کلسترول در کبد می‌شوند (۲).

آتورواستاتین از ترکیبات استاتین‌ها است که نسبت به سایر اعضای این خانواده دارای عوارض جانبی کمتر و اثربخشی بیشتری است. این دسته از داروها جلوی تولید آنزیمی به نام ۳-هیدروکسی-۳-متیل گلوٹاریل کوآنزیم-آ ردوکتاز را می‌گیرند. این آنزیم در تولید کلسترول نقش اساسی ایفا می‌کند. آتورواستاتین جهت کاهش کلسترول و سایر انواع چربی تجویز می‌شود. همچنین ریسک بیماری‌های قلبی-عروقی را کاهش می‌دهد (۳).

استاتین‌ها به صورت مستقیم با مهار بیان ژن‌های التهابی عملکرد ضدالتهابی دارند به گونه‌ای که پس از درمان استاتینی بیان ژن‌های التهابی تغییر می‌کند. از طرف دیگر آتورواستاتین‌ها با مهار عملکرد هوموسیستئین مانع از استرس اکسیداتیو آپوپتوز شده که احتمالاً می‌تواند اثر ضد تشنجی داشته باشد (۴).

همچنین استاتین‌ها تولید اکسید نیتریک را افزایش می‌دهند (۵). میانجی عصبی نیتریک اکساید گازی شکل به روش آنزیمی بعد از فعال شدن نیتریک اکساید سنتاز از

آل-آرژنین ساخته می‌شود. نیتریک اکساید یک نوروترانسمیتر برگشتی است که در ناحیه هیپوکامپ به طور وسیعی تولید می‌شود و عمل اصلی آن در فعال کردن سیناپس‌ها و آزاد کردن نوروترانسمیترهایی از قبیل گلوٹامات است (۶).

هیپوکامپ یکی از مناطق مغز است که در حافظه و یادگیری تصویری، شفاهی، متنی و فضایی درگیر بوده و در دوره افسردگی دچار اختلال می‌شود. همچنین هیپوکامپ نقش مهمی در پردازش احساسات به واسطه اتصالات عصبی به مناطق مختلف مغز از جمله به تالاموس، قشر پیشین مغز، آمیگدال و بازال گانگلیا دارد. گنادکتومی، تحریک‌پذیری نورونی و تراکم سیناپسی را در هیپوکامپ کاهش می‌دهد و آسیب‌پذیری سلول به مرگ را افزایش می‌دهد، جایگزینی آندروژن‌ها این اثرات را معکوس می‌کند (۷).

داروهای ضد صرع، سبب تغییر سطوح پلاسمایی هورمون‌های جنسی می‌شود و این پدیده به طور بسیار مشخص و واضحی در سطح سنجش پلاسمایی آندروژن‌های مردان مصروع تحت درمان دارویی ثابت شده است. کمبود آندروژن به خصوص تستوسترون در بین مردان مبتلا به صرع، عارضه‌ای بسیار شایع است که خود با افزایش فراوانی حملات تشنجی همراه است (۸). گزارش‌ها و تحقیقات متعدد نشان دهنده کاهش فعالیت‌های جنسی مردان مبتلا به صرع تحت درمان دارویی می‌باشند که عمدتاً به تغییرات هورمون‌های جنسی نسبت داده شده است، هر چند دلایل دیگری نیز می‌تواند در این پدیده دخیل باشد، لیکن تأثیر داروهای ضد صرع در تغییرات هورمونی به ویژه کاهش سطح پلاسمایی آندروژن‌ها مورد تأیید اکثر محققین است (۹). داروهای ضد صرع طی چند روند به کاهش سطح تستوسترون آزاد منجر می‌شوند که می‌توان به القای سنتز آنزیم آروماتاز و در نتیجه افزایش تبدیل تستوسترون به استروژن اشاره داشت. کاهش حمله‌های تشنجی طی مهار آنزیم آروماتاز و داروی کلومیفن که نوعی آنتی استروژن است، این احتمال را قوت می‌بخشد (۱۰). لذا در این پژوهش به منظور بررسی اثر احتمالی میزان پلاسمایی

۲. گروه کنترل DMSO: شامل موش‌هایی بودند که ۳۰ دقیقه قبل از PTZ (۸۰ mg/kg)، DMSO (حلال آتورواستاتین) (۰/۵ mg/kg) را به صورت داخل صفاقی دریافت کردند.

۳. گروه کنترل دریافت‌کننده داروی آتورواستاتین: شامل موش‌هایی بودند که ۳۰ دقیقه قبل از PTZ (۸۰ mg/kg)، داروی آتورواستاتین با دوز ۱۰ mg/kg را به صورت داخل صفاقی دریافت کردند.

(ب) گروه گنادکتومی شده

۴. گروه کنترل گنادکتومی: شامل موش‌هایی بود که گونادکتومی شده بودند و تنها دریافت‌کننده PTZ (۸۰ mg/kg) بودند.

۵. گروه گنادکتومی دریافت‌کننده DMSO: شامل موش‌هایی بود که گنادکتومی شده بودند و ۳۰ دقیقه قبل از PTZ (۸۰ mg/kg)، DMSO (حلال آتورواستاتین) (۰/۵ mg/kg) را به صورت داخل صفاقی دریافت کردند.

۶. گروه گنادکتومی دریافت‌کننده داروی آتورواستاتین: شامل موش‌هایی بود که گنادکتومی شده بودند و ۳۰ دقیقه قبل از PTZ (۸۰ mg/kg)، داروی آتورواستاتین با دوز ۱۰ mg/kg (۱۲) را به صورت داخل صفاقی دریافت کردند.

القاء تشنج

جهت القای تشنج داروی پنتیلین تترازول (PTZ) با دوز ۸۰ mg/kg به صورت داخل صفاقی به موش‌ها تزریق گردید. پس از تزریق PTZ مدت‌زمان شروع تشنج (آستانه) ثبت گردید.

روش تجزیه و تحلیل داده‌ها

داده‌های به دست آمده با استفاده از نرم‌افزار SPSS ورژن ۱۷ و روش آماری تجزیه و تحلیل واریانس یک‌طرفه (ANOVA) و آزمون مکمل توکی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند و سطح معنی دار در همه این حالات  $P \leq 0/05$  در نظر گرفته شد. رسم نمودارها با نرم افزار Excel صورت گرفته و نمودارها به صورت میانگین به صورت  $\pm$  انحراف معیار استاندارد (Mean $\pm$ SEM) نمایش داده شد.

آندروژن‌ها در بروز حملات صرعی، اثر داروی آتورواستاتین بر تشنج ناشی از پنتیلین تترازول در موش‌های کوچک آزمایشگاهی نر گنادکتومی شده، مورد بررسی قرار گرفته است.

### روی بررسی

حیوانات آزمایشگاهی

جهت انجام این آزمایش از ۳۶ عدد موش سوری نر بالغ نژاد NMRI با محدوده وزنی ۳۰ - ۳۵ گرم از انستیتو پاستور کرج تهیه شده و در حیوان خانه دانشگاه آزاد اسلامی واحد قم با شرایط ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی نگهداری شدند و در مدت نگهداری آب شهر و غذای کافی (پلیت دامی طیور) در اختیار آن‌ها قرار گرفته و دما در حد  $22 \pm 2$  تنظیم گردید و یک هفته قبل از شروع آزمایش به جهت جلوگیری از وارد شدن استرس و تطابق با محیط به اتاق رفتاری منتقل گردیده و همان شرایط برای آن‌ها فراهم گردید. در این مطالعه بر رعایت استانداردهای نگهداری حیوانات آزمایشگاهی تأکید شده است، زیرا شرایط نگهداری حیوان تأثیرات فیزیولوژیک و سایکولوژیک مشخصی بر جوندگان دارد و این لزوم توجهات علمی و انسانی را مشخص می‌سازد (۱۱).

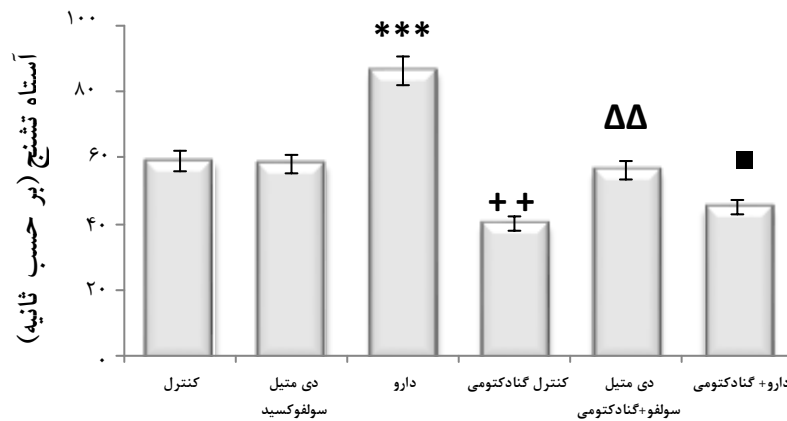
گروه‌بندی حیوانات

این مطالعه از نوع تصادفی دوسویه کور است. برای انجام این آزمایش، تعداد ۳۶ سر موش سوری نر با وزن ۳۵-۳۰ گرم استفاده می‌کنیم. در مدت این پروژه مدت موش‌های سوری آب و مواد غذایی را به طور روزانه مصرف می‌کردند. موش‌های سوری را به طور تصادفی انتخاب کرده و در ۶ گروه ۶ تایی به شرح زیر قرار داده شدند ( $n=6$ ). جهت انجام این مطالعه داروی آتورواستاتین و پنتیلین تترازول یا PTZ از شرکت دارویی Novartis تهیه گردید. داروی آتورواستاتین جهت تزریق در حلال DMSO حل شد و PTZ جهت تزریق در نرمال سالین حل شده و میزان تزریق آن‌ها بر اساس مقدار دوز بر حسب وزن حیوانات بر حسب کیلوگرم بود.

(الف) گروه گنادکتومی نشده

۱. گروه کنترل (control): شامل موش‌هایی بودند که فقط دریافت‌کننده PTZ (۸۰ mg/kg) بودند.

گنادکتومی، موش‌های گنادکتومی شده دریافت‌کننده DMSO (۰/۵ mg/kg) نسبت به کنترل خود (گنادکتومی دریافت‌کننده PTZ (۸۰ mg/kg) افزایش معنی‌داری را در آستانه تشنج نشان دادند ( $p < 0.01$ )؛ اما آتورواستاتین ۱۰ mg/kg نسبت به گروه گنادکتومی دریافت‌کننده DMSO در آستانه تشنج کاهش معنی‌داری را نشان داده است ( $p < 0.01$ ).



نمودار ۱: اثر آتورواستاتین بر آستانه تشنج در موش‌های کوچک آزمایشگاهی سالم و گنادکتومی شده

بنابراین این دارو دارای اثرات ضد تشنجی است. در این زمینه بر اساس مطالعات خشنود و همکاران در سال ۲۰۱۵، درمان با داروی آتورواستاتین به طور قابل توجهی موجب افزایش آستانه تشنج و کاهش بروز تشنج تونیک و مرگ شده است که با نتایج حاصل از این مطالعه هم راستا است (۱۳).

در این پژوهش به منظور بررسی داروی آتورواستاتین بر آستانه تشنج ناشی از موش‌های کوچک آزمایشگاهی گنادکتومی شده استفاده شد. بر اساس مطالعات انجام شده توسط Talebi و همکاران در سال ۲۰۰۹، خارج کردن بیضه‌ها (گنادکتومی) که منبع اصلی آندروژن‌ها است، باعث افزایش حملات تشنجی می‌شود (۱۴) که موافق با نتایج به دست آمده در این تحقیق است.

عملکرد تستسترون یا دی هیدروتستسترون بیشتر از طریق گیرنده‌های پروتئینی آندروژنی ایفا می‌شود که پراکنش وسیع و

نتایج نشان داد که بین موش‌های سالم دریافت‌کننده DMSO (0.3cc) و گروه کنترل (فقط دریافت‌کننده PTZ) در آستانه تشنج تفاوت معنی‌داری وجود ندارد؛ اما آتورواستاتین ۱۰ mg/kg نسبت به گروه DMSO افزایش معنی‌داری را در آستانه تشنج نشان می‌دهد ( $p < 0.001$ ). موش‌های گنادکتومی شده بدون تیمار نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری را در آستانه تشنج نشان دادند ( $p < 0.01$ ). (گنادکتومی سبب کاهش تشنج گردیده است) و در گروه

موش‌های نر سالم و گنادکتومی شده ابتدا حلال دارو (DMSO) و یا آتورواستاتین ۱۰ mg/kg و نیم ساعت بعد پنتیلین تترازول (PTZ) ۸۰ mg/kg را به صورت داخل صفاقی دریافت کردند. بلافاصله پس از تزریق PTZ مدت‌زمان شروع تشنج (آستانه) ثبت گردید. نمودارها نشان دهنده میانگین  $\pm$  انحراف معیار استاندارد (Mean  $\pm$  SEM) می‌باشند.

\*: مقایسه گروه سالم دریافت‌کننده DMSO و PTZ

Δ: مقایسه با گروه گنادکتومی دریافت‌کننده PTZ

+ : مقایسه با گروه سالم دریافت‌کننده capitalized

■ : مقایسه گروه گنادکتومی دریافت‌کننده DMSO و PTZ

#### بحث

بر اساس نتایج به دست آمده PTZ در دوز ۸۰ mg/kg در موش‌های سوری ایجاد تشنج نمود و داروی آتورواستاتین آستانه تشنج را در گروه‌های سالم و گنادکتومی افزایش داد؛

مطالعات نشان داده‌اند که نیتریک اکساید، رهایش نوروترانسمیترهای مختلف از جمله گلوتامات، استیل کولین، هیستامین، سروتونین، دوپامین و نوراپی نفرین را تغییر می‌دهد. اگر چه نیتریک اکساید می‌تواند رهایش گلوتامات را افزایش دهد که نقش تسهیل کننده در واکنش‌های دفاعی دارد، اما باید توجه داشت که افزایش شدید تولید NO باعث مهار عملکرد گیرنده‌های NMDA می‌شود. همچنین عملکرد دوگانه نیتریک اکساید بر روی رهایش GABA و سروتونین می‌تواند تحت تأثیر محل اثر نیتریک اکساید در مغز و غلظت آنتی اکسیدان‌ها قرار بگیرد (۱۹).

در این خصوص و بر اساس نتایج تحقیقات Moazzami و همکاران در سال ۲۰۱۳، نیتریک اکساید به عنوان یک نورون پیامبر و یا انتقال دهنده عصبی در اعصاب مرکزی عمل کرده و از این طریق اثرات ضد تشنجی خود را اعمال می‌کند (۲۰).

از جمله مکانیسم‌های ضد تشنجی داروی آتورواستاتین مسیر NO است (۲۱). در این زمینه بر اساس نتایج مطالعه‌ای که توسط Liao و همکاران در سال ۲۰۰۵ صورت پذیرفت، بر سیمو استاتین موجب افزایش بیان ژن نیتریک اکساید سنتتاز در مغز موش می‌شود (۲۲). همچنین بر اساس نتایج Ito و همکاران در سال ۲۰۱۰ آتورواستاتین باعث تنظیم افزایشی اکسید نیتریک سنتتاز از طریق مهار رو کیناز و فعال‌سازی AKT می‌شود (۲۳).

گابا یکی از اسیدهای آمینه خنثی با اثرات مهاری در مغز پستانداران است. اختلال در مکانیسم‌های مهاری، مدتی طولانی است که به عنوان توجیهی برای آغاز حملات صرعی شناخته شده است. نورون‌های گاباژیک بخش زیادی از ارتباط بین نورونی را در هیپوکامپ و قشر مغز تشکیل می‌دهد (۲۴). مطالعات متعدد نشان داده‌اند داروهایی که غلظت گابا را کاهش داده و یا گیرنده‌های گابا را مسدود می‌نمایند، باعث تشنج در گونه‌های مختلف حیوانات آزمایشگاهی می‌شوند. در حالی که داروهایی که میزان گابا را افزایش داده و یا انتقال گابا را بهبود می‌بخشند دارای اثرات ضد تشنجی می‌باشند (۲۵).

کاملاً انتخابی در مغز دارد. آندروژن‌ها احتمالاً نظیر سایر استروئیدها، با عملکرد مستقیم بر غشای سلولی یا تأثیر بر سایر گیرنده‌های غشایی یا دیگر پیک‌های ثانویه درونی سلول، نظیر آندوزین منو فسفات، در تنظیم فعالیت‌های سلولی به شیوه غیر ژنومی دخالت می‌نمایند (۱۵). از طرفی نتایج تحقیقات Vignes و همکاران طی سال ۲۰۰۶، خاطر نشان ساخته است که استروئیدهای فعال‌کننده عصبی، دارای جایگاه اختصاصی ویژه‌ای بر روی گیرنده‌های گاما آمینو بوتریک اسید بوده، اثراتی مشابه بنزودیازپین‌ها و باربیتورات‌ها به جای می‌گذارند. برخی مشتقات متابولیکی هورمون‌های استروئیدی در نورون‌های مغزی وجود دارند که فاقد فعالیت هورمونی بوده، با تأثیر روی گیرنده‌های غشایی اثرات مهاری سریعی اعمال می‌کنند. این مشتقات که اپالون نام دارند، از طریق اتصال به گیرنده گاما آمینوبوتریک اسید، اثراتی مشابه با بنزودیازپین‌ها و باربیتورات‌ها به جا می‌گذارند (۱۶).

در این زمینه بر طبق نتایج مطالعاتی دیگری که در سال ۲۰۰۹، توسط Schauwecker و همکاران صورت پذیرفت، تجویز یکی از متابولیت‌های تستسترون (۳ آلفادایول) در رت‌های گنادکتومی شده با اثرات ضد تشنجی قابل توجهی همراه است؛ بنابراین می‌توان اثرات ضد تشنجی آندروژن‌ها به خصوص تستسترون را به عملکرد متابولیت‌های نورواستروئیدی ویژه‌ای نسبت داد که با تأثیر بر گیرنده‌های غشایی به‌ویژه گیرنده‌های گاما آمینوبوتریک اسید نوع A، از مسیرهای غیر ژنومی، فعالیت سلول را دستخوش تغییر می‌سازند (۱۷).

نیتریک اکساید به عنوان یک میانجی شیمیایی در وساطت اثر انتقال پیام برخی از سیستم‌های نوروترانسمیتری دخالت می‌کند. این ماده در بدن از تبدیل ال- آرژنین به ال- سیترولین تولید می‌شود. ال- آرژنین تولید آن را افزایش داده و ال- سیترولین از تولید آن ممانعت می‌کند. این نوروترانسمیتر گاهی مستقیماً، ولی اغلب به عنوان واسطه اثر سایر ناقل‌های عصبی، ایفای نقش می‌کند. آنزیم نیتریک اکساید هم در نقاط متعدد سیستم عصبی مرتبط با تغذیه یافت شده است (۱۸).

مغزی می‌شود (۳۰). در سال ۲۰۱۲، Ding و همکاران طی مطالعات خود بیان کردند که آتورواستاتین از طریق فعال کردن مسیر PI3K / AKT سبب کاهش گلوتامات شده و از نورون‌های قشری محافظت می‌کند (۳۱).

افزایش رادیکال‌های آزاد و پراکسیداسیون لیپیدها، یکی از مکانیسم‌های اصلی نوروپاتی و به دنبال آن تخریب نورون‌های عصبی و ایجاد انسفالوپاتی است که باعث ایجاد تشنج در بیماران می‌شود. همچنین فعال شدن سیکلواکسیژناز دو باعث افزایش سنتز رادیکال‌های آزاد می‌گردد که این امر منجر به استرس اکسیداتیو و آپوپتوزیس نورون‌های گابارژیک شده در نتیجه گلوتامات به دلیل برداشته شدن اثر مهاري گابا از روی نورون‌های گلوتامات ارژیک افزایش یافته و این فرایند باعث افزایش توان گلوتامات ارژیک در نورون‌ها و شبکه نورونی و نهایتاً منجر به افزایش شدت تشنج می‌گردد (۳۲).

در مطالعات بالینی که توسط Greig و همکاران در سال ۲۰۱۱ صورت پذیرفت، نشان داده شده که درمان کوتاه مدت با آتورواستاتین سبب کاهش استرس اکسیداتیو و بهبود عملکرد بیماران مبتلا به نارسایي قلبی می‌شود (۳۳). همچنین در پژوهش دیگری در سال ۲۰۱۰، Inamoto و همکاران اظهار داشتند که پیتاواستاتین اثرات مهاري بر استرس اکسیداتیو قلب در زمان هیپوکسی بطن داشته است (۳۴).

در این خصوص مطالعات Paz Scribano و همکاران در سال ۲۰۱۴ نشان داده است که استفاده از آتورواستاتین هر دو در مدل‌های انسانی و حیوانی، سبب کاهش مارکرهای استرس اکسیداتیو و بهبود ضایعات آتروژنیک شده که این اثر احتمالاً به مهار RAC مربوط می‌شود (۳۵). از آنجایی که بر طبق یافته‌های فوق، آتورواستاتین به عنوان یک آنتی‌اکسیدان قوی در سیستم‌های بیولوژیک بدن عمل می‌نماید، احتمالاً آتورواستاتین می‌تواند از راه مهار فرآیند استرس اکسیداتیو از آسیب‌های ایجاد شده به واسطه‌ی رادیکال‌های آزاد در طی تشنج جلوگیری کرده و سبب بهبود آن می‌شود.

در طول تشنج غلظت یون‌های کلسیم داخل سلولی افزایش و برعکس غلظت کلسیم خارج سلولی کاهش می‌یابد به عبارت

گابا از طریق افزایش ورود کلر به داخل سلول باعث کاهش پتانسیل غشاء نورون‌ها و کاهش فعالیت نورونی می‌گردد. کمپلکس گیرنده گابا کانال کلر علاوه بر گیرنده گابا شامل گیرنده‌هایی برای بنزودیازپین‌ها و باربیتورات‌ها نیز می‌باشند. تحریک این گیرنده‌ها توسط داروهای یاد شده زمان باز ماندن کانال‌های کلر (ناشی از اتصال به گیرنده خود) را افزایش می‌دهد. بعضی از باربیتورات‌ها علاوه بر تشدید اثر گابا، تأثیر مستقیم بر کانال‌های کلر داشته و اثرات گابا را تقلید می‌نمایند. اثرات مهاري گابا به طور فارماکولوژیک با بیوکولین و پیکروتوکسین ممانعت می‌شود که این مسئله در نهایت منجر به تحریک و ایجاد تشنج می‌گردد (۲۶).

بر اساس مطالعات Kesim در سال ۲۰۱۲، سیمواستاتین از طریق کاهش فعال سازی گلوتامات و افزایش گابا سبب بهبود تشنج در موش صحرايي می‌شود (۲۷). در این رابطه، بر اساس مطالعات Sabogal و همکاران در سال ۲۰۱۲، آتورواستاتین با افزایش فعالیت گابا اثرات محافظت عصبی داشته و برای جلوگیری از اختلالات عصبی مفید است (۲۸).

فعالیت بیش از حد در نورون‌های گلوتامات ارژیک و در نتیجه افزایش گلوتامات خارج سلولی در هیپوکامپ در بیماران مبتلا به صرع لوب تمپورال (Medial temporal lobe epilepsy = MTLE) منجر به حمله تشنجی می‌گردد و گلوتامات خیلی آهسته تر از حد معمول پاک می‌گردد. زمانی که رسپتورهای گلوتامات مانند AMPA و NMDA بسیار فعال اند اجازه می‌دهند تا مقدار زیادی یون  $Ca^{2+}$  وارد سلول شود، هجوم یون Ca به داخل سلول چندین آنزیم را فعال می‌کند از جمله فسفولیپازها، آندونوکلئازها، پروتئازها از جمله calpain شود که این آنزیم‌ها به ساختار سلول، اجزای اسکلت سلولی و DNA آسیب می‌رسانند. همچنین ورود Ca از طریق رسپتور NMDA سبب فعال شدن caspase3 می‌گردد، این ماده به تولید ROS و آسیب عصبی کمک می‌کند (۲۹).

بر اساس نتایج تحقیقات Vandresen-Filho و همکاران در سال ۲۰۱۳، داروی آتورواستاتین علاوه بر مهار سنتز کلسترول، از طریق ممانعت از افزایش گلوتامات، موجب بهبود آسیب‌های

Dunn و همکاران طی تحقیقات خود در سال ۲۰۰۶، اثبات کردند که استاتین‌ها از طریق مهار فاکتورهای نسخه برداری-Tbet و STAT-4 مانع تشکیل سلول‌های Th1 و تولید سایتوکاین‌های پیش التهابی می‌گردند. در عین حال این ترکیبات با فعال‌سازی فاکتورهای نسخه برداری STAT-6 و GTAT-6 موجب پیشبرد تشکیل سلول‌های Th2 و تولید سایتوکاین‌های ضدالتهابی می‌گردند (۴۱). بررسی‌های Chow در سال ۲۰۰۹ نیز نشان دهنده کاهش سطح این سایتوکاین به دنبال تجویز استاتین‌ها در مدل‌های بیماری‌های خود ایمن بوده است (۴۲). در مجموع می‌توان با توجه به نقش آتورواستاتین در کاهش شدت التهاب، نقش آن را در بهبود تشنج در گروه درمانی توجیه نمود.

#### نتیجه‌گیری

یافته‌های ما در این مطالعه نشان داد تجویز داروی آتورواستاتین از طریق مکانیسم‌های بیان شده، سبب افزایش آستانه تشنج در گروه‌های سالم و گنادکتومی می‌گردد. با این وجود باید به خاطر داشت که این آزمایش بر روی حیوانات آزمایشگاهی انجام شده است و تطبیق کامل آن با انسان نیازمند آزمایش‌های بالینی دقیق تر میباشد.

دیگر تشنج موجب بسته شدن کانال‌های کلسیمی می‌شود. کاهش غلظت داخل سلولی کلسیم در بعضی از مدل‌های حیوانی، اثرات مهاری بر روی تشنج داشته است (۳۶). بر اساس یافته‌های به دست آمده توسط Bosel و همکاران در سال ۲۰۰۵، در شرایط آزمایشگاهی آتورواستاتین اثرات خود را از طریق کاهش سطح کلسیم داخل سلولی اعمال می‌کند (۳۷).

التهاب یک فرآیند بیولوژیک مهم است که می‌تواند در پیشرفت صرع نقش بسزایی داشته باشد؛ به عبارت دیگر حملات صرعی سبب افزایش واسطه کلیدی التهابی می‌شود که این به نوبه خود باعث آسیب ثانویه به مغز شده و احتمال تشنج را افزایش می‌دهد (۳۸).

در این رابطه مطالعات نشان داده شده است که تولید بیش از حد سایتوکاین‌ها منجر به اثرات نوروتوکسیک بر سلول‌های عصبی شده و باعث القاء تشنج می‌شود (۳۹). در تحقیقی مشابه که در سال ۲۰۱۰ توسط Foresti و همکاران صورت پذیرفت، این گونه اثبات شد که افزایش تولید  $TNF-\alpha$ ، IL-6 و IL-1 $\beta$  در هیپوکامپ نیز به دنبال ایجاد صرع پایدار گزارش شد؛ بنابراین ارتباط دو طرفه و تنگاتنگی بین تشنج ناشی از صرع و التهاب (عوامل التهاب زا) وجود دارد، به این معنی که از طرفی به دنبال تشنج، تولید سایتوکاین‌ها افزایش می‌یابد (۴۰).

#### References:

- 1- Jain S. *The role of epilepsy management guidelines in a developing country*. Neurology Asia. 2011; 16(1): 57-8.
- 2- Berg AT, Testa FM, Levy SR. *Complete remission in nonsyndromic childhood-onset epilepsy*. Ann Neurol 2011; 70(40): 566-73.
- 3- Jackson GD. *Classification of the epilepsias 2011*. Epilepsia 2011; 52(6): 1203-4.
- 4- Arboix A, Garcia-Eroles L, Oliveres M, Targa C, Balcells M, Massons J. *Pretreatment with statins improves early outcome in patients with first-ever ischaemic stroke: a pleiotropic effect of statins or a beneficial effect of hypercholesterolemia?* BMC Neurol. 2010; 10(1): 47.
- 5- An SG, Sohn YT. *Crystal forms of atorvastatin*. Arch Pharmac Res 2009; 32(6): 933-6.

- 6- Yan-Wang A, HeChang A, JunZou BC, XinJin B, Zhongquan QI. *The effect of atorvastatin on m-RNA levels of inflammatory genes expression in human peripheral blood lymphocytes by DNA microarray*. Biomed Pharmacother. 2011 Mar; 65(2): 118-22.
- 7- Qiuting D, Yuejin Y, Lei S, Haiyan Q, Zhimin X. *Atorvastatin prevents mesenchymal stem cells from hypoxia and serum-free injury through activating amp-activated protein kinase*. Int J Cardiol. 2011; 153(3): 306-11.
- 8- Rorowski A, Walsh K. *Statin therapy and angiogenesis*. Curr Opin Lipidol 2003; 14(6): 599-603.
- 9- Moazzami K, Emamzadeh Fard S, Shabani M. *Anticonvulsive effect of atorvastatin on pentylenetetrazole induced seizures in mice: the role of nitric oxide pathway*. Fundament Clinic Pharmacol 2013; 27(4): 387-92.
- 10- Guix FX, Uribealago I, Coma M, Muñoz FJ. *The physiology and pathophysiology of nitric oxide in the brain*. Progress Neurobiol 2005; 76(2): 126-52.
- 11- Zhao Z, Taylor WD, Styner M, Steffens DC, Krishnan KR, MacFall JR. *Hippocampus shape analysis and late-life depression*. PLoS One 2008; 3(3): e1837
- 12- Edinger KL, Frye CA. *Testosterones antianxiety and analgesic effect may be due in part to actions of its 5 $\alpha$ -reduced metabolites in the hippocampus*. Psycho neuroendocrinology 2005, 30(5): 418-30.
- 13- Talebi A, Naghdi N, Sepehri H, Rezayof A. *The role of estrogen receptors on spatial learning and memory in CA1 region of adult male rat hippocampus*. Iran J Pharm Res 2009; 9(2): 183-91.
- 14- Balcombe JP. *Laboratory environment and rodents' behavioral needs: a review*. Lab Animals 2006; 40: 217-35.
- 15- Zheng Dongdan, Qing Liang, FanFang Zeng, Zhuocheng Mai, Anping Cai, Ruofeng Qiu, et al. *Atorvastatin protects endothelium by decreasing asymmetric dimethylarginine in dyslipidemia rats*. Lipids Health Dis 2015; 14(1): 1.
- 16- Khoshnoud MJ, Tanideh N, Namdarian S. *Anticonvulsant activity of atorvastatin against seizure induced by pentylenetetrazole and maximal electroshock in mice*. Trend Pharmaceutic Sci 2015; 1(1): 44-7.
- 17- Sadeghian F, Raei M, Amiri M. *Persistent Neck and Shoulder Pains among Computer Office Workers: A Longitudinal Study*. Arch Hyg Sci 2012; 1(2): 33-40.
- 18- Lesani A, Javadi-Paydar M, Khodadad TK, Asghari-Roodsari A, Shirkhodaei M, Norouzi A, Dehpour AR. *Involvement of the nitric oxide pathway in the anticonvulsant effect of tramadol on pentylenetetrazole-induced seizures in mice*. Epilepsy Behav 2010; 19(3): 290-5.
- 19- Hosseini M, Ghasemzadeh Rahbardar M, Sadeghnia HR and Rakhshandeh H. *Effects of different extracts of Rosa damascena on pentylenetetrazol-induced seizures in mice*. Zhong Xi Yi Jie He Xue Bao= J Chinese Integra Med 2011; 9(10): 1118-24.
- 20- Moazzami K, Emamzadeh Fard S, Shabani M. *Anticonvulsive effect of atorvastatin on pentylenetetrazole-induced seizures in mice: the role of nitric oxide pathway*. Fundam Clin Pharmacol 2013; 27(4): 387-92.



- 21- Rorowski A, Walsh K. *Statin therapy and angiogenesis*. Curr Opin Lipidol 2003; 14(6): 599-603.
- 22- Liao JK, Laufs U. *Pleiotropic effects of statins*. Annu Rev Pharmacol Toxicol 2005; 45: 89-118.
- 23- Ito D, Ito O, Mori, Muroya, Cao PY, Takashima K, et al. *Atorvastatin upregulates nitric oxide synthases with Rho-kinase inhibition and Akt activation in the kidney of spontaneously hypertensive rats*. J Hyperten 2013; 28(11): 2278-88.
- 24- Hiremath GK, Kotagal P, Bingaman W, Hovinga C, Wyllie E, Morris H, Nelson D. *Risk factors for carbamazepine elevation and toxicity following epilepsy surgery*. Seizure 2005; 14(5): 312-7.
- 25- Goldberg AH, Gibaldi M, Kanig JL. *Increasing dissolution rates and gastrointestinal absorption of drugs via solid solutions and eutectic mixtures II: Experimental evaluation of a eutectic mixture: Urea-acetaminophen system. working versions of the water maze*. Physiol Behav 2008; 93(3): 622-7
- 26- Shahraki A, Stone TW. *Interactions between adenosine and metabotropic glutamate receptors in the rat hippocampal slice*. Br J Pharmacol 2003; 138: 1059-68.
- 27- Kesim Murat, Esin Yulug, Mine Kadioglu, Ilknur Erkoseoglu, Duygun Altintas Aykan. *The effect of Simvastatin on Picrotoxin-induced seizure in mice*. J Pak Med Assoc. 2012 ;62: 1187-91.
- 28- Sabogal AM, Arango CA, Cardona GP, Céspedes ÁE. *Atorvastatin protects GABAergic and dopaminergic neurons in the nigrostriatal system in an experimental rat model of transient focal cerebral ischemia*. Biomédica 2014 ;34(2): 207-17.
- 29- Ebrahimi A, Schluesener H. *Natural polyphenols against neurodegenerative disorders: potentials and pitfalls*. Age Res Rev 2012; 11(2): 329-45.
- 30- Vandresen-Filho S, Martins WC, Bertoldo DB, Mancini G, Herculano BA, de Bem AF, Tasca CI. *Atorvastatin prevents cell damage via modulation of oxidative stress, glutamate uptake and glutamine synthetase activity in hippocampal slices subjected to oxygen/glucose deprivation*. Neurochem Int 2013; 62(7): 948-55.
- 31- DING Q, DONG Y, JIN Y, SUI HJ. *The mechanisms of neuroprotective effect of atorvastatin on glutamate-induced neurotoxicity in cultured cortical neurons of rats*. J Chinese Pharmacol Bulletin 2010; 12: 025.
- 32- Cardenas-Rodriguez N, Huerta-Gertrudis B, Rivera-Espinosa L, Montesinos-Correa H, Bandala C, Carmona-Aparicio L, et al. *Role of oxidative stress in refractory epilepsy: evidence in patients and experimental models*. Int J Molecul Sci 2013; 14(1): 1455-76.
- 33- Chuang YC. *Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in seizure-induced neuronal cell death*. Acta Neurol Taiwan 2010; 19(1): 3-15.
- 39- Greig D, Alcaino H, Castro PF, Garcia L, Verdejo HE, Navarro M, et al. *xanthine-oxidase inhibitors and statins in shronic heart failure: effects on vascular parameters*. J Heart Lung Transplant 2011; 30(4): 408-13.
- 34- Lefer DJ, Scalia R, Jones SP, Sharp BR, Hoffmeyer MR, Farvid AR, et al. *HMG-CoA reductase inhibition protects the diabetic myocardium from ischemia-reperfusion injury*. FASEB J 2001; 15: 1454-6.

- 35- Inamoto S, Yoshioka T, Yamashita C, Miyamura M, Mori T, Ukimura A, et al. *Pitavastatin reduces oxidative stress and attenuates intermittent hypoxia-induced left ventricular remodeling in lean mice*. Hypertens Res 2010; 33(6): 579-86.
- 36- Scribano MD, Baez MD, Florencia B, Tarán MD, Franco S, Balceda AG, et al. *Effects of Atorvastatin on Oxidative Stress Biomarkers and Mitochondrial Morphofunctionality in Hyperfibrinogenemia-Induced Atherogenesis*. Adv Med 2014 23; 2014.
- 37- Kulak WW, Sobaniec K, Wojtal, S Czucwar . *Calcium modulation in epilepsy*. Pol J Pharmacol 2004; 56(1): 29-41.
- 38- Bosel J, Gandor F, Harms C, Synowitz M, Harms U, Djoufack PC. *Neuroprotective effects of atorvastatin against glutamate- induced excitotoxicity in primary cortical neurones*. J Neurochem 2005; 92(6): 1386-98.
- 39- Shimada T, Takemiya T, Sugiura H, Yamagata K. *Role of inflammatory mediators in the pathogenesis of epilepsy*. Mediators Inflamm 2014; 2014.
- 40- Balosso S, Maroso M, Sanchez-Alavez M, Ravizza T, Frasca A, Bartfai T, et al. *A novel non-transcriptional pathway mediates the proconvulsive effects of interleukin-1beta*. Brain 2008; 131(Pt 12): 3256-65.
- 41- Lehtimaki KA, Keranen T, Huhtala H, Hurme M, Ollikainen J, Honkaniemi J, et al. *Regulation of IL-6 system in cerebrospinal fluid and serum compartments by seizures: the effect of seizure type and duration*. J Neuroimmunol 2004; 152(1-2): 121-5.
- 42- Foresti ML, Arisi GM, Shapiro LA. *Role of glia in epilepsy-associated neuropathology, neuroinflammation and neurogenesis*. Brain Res Rev 2010; 66(1-2): 115-22.
- 43- Dunn SE, Youssef S, Goldstein MJ, Prod'homme T, Weber MS, Zamvil SS, et al. *Isoprenoids determine Th1/Th2 fate in pathogenic T cells, providing a mechanism of modulation of autoimmunity by atorvastatin*. J Exp Med 2006; 203(2): 401-12.
- 44- Chow SC. *Immunomodulation by statins: mechanisms and potential impact on autoimmune diseases*. Arch Immunol Ther Exp (Warsz) 2009; 57(4): 243-51.
- 45- Saraiva M, O'Garra A. *The regulation of IL-10 production by immune cells*. Nat Rev Immunol 2010; 10(3): 170-81.
- 46- Sun AY, Wang Q, Simonyi A, Sun GY. *Botanical phenolics and brain health*. Neuromolecular Med 2008; 10(4): 259-74.
- 47- Miles C, Green R, Hines M. *Estrogen treatment effects on cognition, memory and mood in male-to-female transsexuals*. Hormones Behav 2006; 50(5): 708-17.
- 48- Vignes M, Maurice T, Lanté F, Nedjar M, Thethi K, Guiramand J, Récasens M. *Anxiolytic properties of green tea polyphenol (-)-epigallocatechin gallate (EGCG)*. Brain Res 2006; 1110(1): 102-15.

## *Effect of Atorvastatin on Pentylenetetrazol-Induced Threshold Seizures in Gonadectomized Male Mice*

Sumayeh Azizi (MSc)<sup>1</sup>, Nasrin Heydarieh (PhD)\*<sup>2</sup>, Fatemeh Jmalu (PhD)<sup>3</sup>

<sup>1,2,3</sup> Department of Biology, Faculty of Science, Islamic Azad University, Qom, Iran.

Received: 12 Jan 2016

Accepted: 8 Sep 2016

### *Abstract*

**Introduction:** Epilepsy is a central nervous system disorder that appears as sudden convulsions, and transient, repetitive and unpredictable movement, with sensory-motor and autonomic sources. Statins are a group of blood cholesterol-lowering drugs. According to the results of the anti-inflammatory and vasoprotective effects of statins on cultured brain cells (astrocytes and microglia) and endothelial cells, the purpose of this study was investigating the effect of atorvastatin on pentilentetrazole-induced seizures in gonadectomized male mice.

**Methods:** 36 male NMRI mice, weighting 30-35 g were used in the study. The mice were divided into two groups (Each group consisted of 18 mice : healthy and gonadectomized groups. The surgical removal of the testicles was gonadectomy and injections were given intraperitoneally. In gonadectomized group, an operation to remove the testicles was done. The DMSO group (0/3 cc) and treatment group were received Atorvastatin (10 mg/kg) intraperitoneally and then 30 minutes after that they received PTZ (80 mg/kg) injection. All injections were administered intraperitoneally. After injection of PTZ- duration of seizure onset (threshold) was recorded. The data were analyzed by one way variance analysis and Tukey's test using SPSS ( $p < 0.05$ ).

**Results:** In healthy group, receiving Atorvastatin significantly increased the time of seizure onset (threshold) compared to solvent DMSO group and on the other hand gonadectomized mice had a significant reduction in the duration of seizures than normal mice ( $p < 0.001$ ).

**Conclusion:** The results indicated that the Atorvastatin had anticonvulsant effects and gonadectomy increases seizures.

**Keywords:** Atorvastatin; Epilepsy; Male Mice; Pentylenetetrazol; Seizure Threshold; Vasectomy

### *This paper should be cited as:*

Sumayeh Azizi, Nasrin Heydarieh, Fatemeh Jmalu. *Effect of atorvastatin on pentylenetetrazol-induced threshold seizures in gonadectomized male mice*. J Shahid Sadoughi Univ Med Sci 2016; 24(7): 527-37.

\*Corresponding author: Tel: 09123593264, email: nheidarieh@yahoo.com