

اثر تزریق داخل بطنی مغزی عصاره برگ زیتون بر تشنجات ناشی از پنتیلن تترازول در موش صحرائی نر

مرتضی زنده دل^{۱*}، کیوان کرامتی^۲، صدیقه گراوند^۳

۱. بخش فیزیولوژی، گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران

۲. گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی دانشگاه سمنان، سمنان

۳. گروه زیست شناسی، دانشکده علوم دانشگاه پیام نور کوهدشت، لرستان

پذیرش: ۲ آذر ۸۹

دریافت: ۱۷ مرداد ۸۹

چکیده

مقدمه: برگ زیتون دارای ترکیبات ضدالتهاپی و مهار کننده سیکلواکسیژناز دو است. با توجه به نقش آنزیم سیکلواکسیژناز در صرع، پژوهش حاضر به منظور ارزیابی علمی و آزمایشگاهی اثر این عصاره بر تشنجات ناشی از پنتیلن تترازول به انجام رسیده است.

روش ها: در این تحقیق موش صحرائی نر نژاد ویستار (200±20g) قبل از تجویز داخل صفاقی پنتیلن تترازول (PTZ) (80 mg/kg) برای القاء تشنج، تحت تزریق داخل بطنی مغزی سالین یا عصاره اتانولی 80 درصد برگ زیتون (125 µg، 250 µg و 500 µg) (هر یک به حجم یک میکرولیتر) قرار گرفتند. سپس امتیاز تشنجی (seizure score) و زمان بروز هر یک از مراحل تشنج در مدت زمان 20 دقیقه پس از تجویز PTZ ثبت گردید. یافته‌های حاصل از اندازه‌گیری مذکور با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون ناپارامتری مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته ها: نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد تزریق عصاره برگ زیتون با دوزهای 125، 250 و 500 میکروگرم اثری بر زمان شروع مراحل یک، دو و سه تشنج القاء شده توسط PTZ ندارد ($P>0.05$). در حالی که دوزهای 125، 250 و 500 میکروگرم زمان لازم برای شروع مراحل چهار و پنج تشنج القاء شده توسط PTZ را در مقایسه با گروه کنترل به طور معنی دار و وابسته به دوز کاهش دادند ($P<0.05$). عبارت دیگر عصاره برگ زیتون زمان شروع تشنج های جنرالیزه (تونیک-کلونیک) را کاهش داد اما اثری بر زمان شروع تشنج های سطحی نداشت. همچنین گروههای دریافت کننده دوزهای 125، 250 و 500 میکروگرم اثری بر امتیاز تشنجی (seizure score) نداشتند.

نتیجه گیری: بر اساس نتایج حاصل، عصاره برگ زیتون دارای خاصیت تشنج زایی است که این اثر بصورت وابسته به دوز و زمان می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: صرع، عصاره برگ زیتون، پنتیلن تترازول

مقدمه

(seizures) ناگهانی، زودگذر، تکرار شونده و غیر قابل پیش بینی با منشاء حسی، حرکتی و اتونوم ظاهر می‌شود و نیم تا یک درصد مردم دنیا را تحت تاثیر قرار می‌دهد [16، 17]. از طرفی التهاب یک فرایند بیولوژیک مهم است که می‌تواند در پیشرفت صرع نقش بسزایی داشته باشد [10]. بطوری که ضایعات مغزی مرتبط با التهاب در انسان، به وقایع زود هنگامی از صرع منجر می‌شود [3، 4]. همچنین بر اساس مطالعات

صرع (epilepsy) به مجموعه‌ای از اختلالات سیستم اعصاب مرکزی گفته می‌شود که به صورت تشنجات

zendedel@ut.ac.ir
www.phypha.ir/ppj

* نویسنده مسئول مکاتبات:
وبگاه مجله:

سالمین حل شدند و سپس مورد استفاده قرار گرفتند. لازم به ذکر است که برای عصاره گیری ابتدا برگهای خشک شده را به صورت پودر در آورده و سپس ۳۰۰۰ ml الکل ۸۰ درصد به ۵۰۰gF از پودر برگ زیتون اضافه گردید و به مدت ۷۲ ساعت در دمای محیط قرار گرفت [۶] و بعد با استفاده از کاغذ صافی و قیف بوختر محلول صاف شد و در مرحله بعد با کمک دستگاه حذف حلال (روتاری) و دمای ۴۰ درجه سانتی گراد، عمل تبخیر تا به دست آمدن یک محلول غلیظ ادامه یافت. سپس عصاره با قرار گرفتن در بن ماری و دمای ۴۰ درجه سانتی گراد خشک گردید و بعد از تعیین درصد رطوبت، دوزهای مورد نیاز از عصاره تهیه گردید. در این پژوهش به منظور تعبیه کانول راهنما (سر سوزن شماره ۲۱) در بطن جانبی مغز موش، از روش جراحی استریوتاکسی استفاده شد. بدین منظور موش های صحرائی نژاد ویستار پس از بیهوشی به وسیله کتامین (۱۰۰mg/kg,ip) و گزایلازین (۲۵mg/kg,ip) [۱۳،۱۰] تحت عمل جراحی قرار گرفته و به کمک دستگاه استریوتاکسی (ساخت شرکت stoelting آمریکا) و اطلس مختصات مغز موش صحرائی (Paxinos and Watson) کانول تزریق در ناحیه بطن جانبی مغز موش قرار گرفت (AP=-.8 mm، ML=+1.6 mm و DV=-3.3 mm از سطح جمجمه) و مدت یک هفته به حیوان جهت بهبودی کامل استراحت داده شد و در طی این مدت حیوان روزانه با دست مقید شده تا آثار و عوارض استرس ناشی از مقید کردن در هنگام تزریقات اصلی به حداقل برسد. یک هفته پس از جراحی، موش ها جهت انجام تزریقات و بررسی شاخص های مورد نظر به ۴ گروه (شامل گروه کنترل و گروه های مورد تزریق با مقادیر مختلف عصاره برگ زیتون) تقسیم شدند (n=۷-۹).

حیوانات در گروه کنترل تحت تزریق درون بطنی مغزی یک میکرولیتر سالمین و در گروه های آزمایشی تحت تزریق داخل بطنی مغزی دوز های ۱۲۵، ۲۵۰ و ۵۰۰ میکروگرم عصاره برگ زیتون (هر یک به حجم یک میکرولیتر) واقع شدند [۱]. ضمناً تمامی محلولها قبل از تزریق فیلتره شده بودند. به منظور تزریق درون بطنی مغزی از سرنگ هامیلتون (ساخت شرکت هامیلتون سوئیس) و سر سوزن دندانپزشکی شماره ۲۹ استفاده شد. این سر سوزن توسط لوله رابط پلی اتیلن شماره ۲۰ و بطول ۵۰ سانتیمتر به سرنگ هامیلتون متصل بود. تزریق

موجود بدنبال ایجاد صرع، بیان اینترلوکین یک بتا (IL-1 β) و سیکلواکسیژناز دو در مغز افزایش می یابد و پاتوفیزیولوژی صرع نیز بدنبال ایجاد مرگ نورونی و فعال شدن آستروسیت ها تحت تاثیر قرار می گیرد [۳، ۲، ۴]. علاوه بر این هر گونه اختلال در سنتز یا آزادسازی نوروترانسمیتر های مختلف به ویژه گابا و گلوتامات و در نتیجه بهم خوردن تعادل بین این دو نوروترانسمیتر در مغز می تواند در پاتوفیزیولوژی صرع نقش کلیدی داشته باشد و عوامل التهاب زا می توانند تعادل بین این دو میانجی عصبی را تحت تاثیر قرار دهند [۱۱].

عصاره برگ زیتون دارای ترکیبات مختلفی است از جمله این ترکیبات می توان به هیدروکسی تیروزول، التانولیک اسید و اریترودیول اشاره نمود [۱۲، ۵] که این ترکیبات دارای اثرات متفاوتی بر بیان آنزیم سیکلواکسیژناز دو هستند بطوریکه هیدروکسی تیروزول باعث مهار آنزیم سیکلواکسیژناز دو و ترکیبات التانولیک اسید و اریترودیول باعث تحریک این آنزیم می گردند [۱۹، ۱۲، ۸] همچنین در مطالعات قبلی ما نقش آنزیم سیکلواکسیژناز در بروز صرع ناشی از پنتیلن تترازول به اثبات رسیده است [۱۴، ۷]. بنابراین با توجه به ترکیبات موجود در گیاه (بخصوص هیدروکسی تیروزول، التانولیک اسید و اریترودیول) و اثرات متفاوت آنها بر بیان آنزیم سیکلواکسیژناز مطالعه حاضر به منظور بررسی اثر تجویز داخل بطنی مغزی عصاره برگ زیتون در بروز صرع ناشی از پنتیلن تترازول در موش صحرائی نر به انجام رسیده است.

مواد و روش ها

در این تحقیق از موش های صحرائی نر نژاد ویستار با وزن تقریبی 20 ± 20 گرم (تهیه شده از انستیتو پاستور ایران) استفاده شد. حیوانات به طور تصادفی گروه بندی شدند و تحت شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی با دمای 22 ± 3 درجه سانتی گراد نگهداری شدند. در طی مدت نگهداری، حیوانات دسترسی آزاد به آب و غذای کافی (خوراک دام پارس، تهران) داشتند. در این مطالعه موازین اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی رعایت گردید. داروهای مورد استفاده در این مطالعه پنتیلن تترازول (ساخت شرکت دارویی سیگما، آمریکا) و عصاره اتانولی ۸۰ درصد برگ زیتون بود. هر دو ماده ابتدا در

جدول ۱- اثر تزریق داخل بطنی مغزی عصاره برگ زیتون (۱۲۵، ۲۵۰ و ۵۰۰ میکروگرم به ازای هر موش) بر مدت زمان تاخیری تا شروع مراحل ۱، ۲ و ۳ تشنج ناشی از PTZ. داده ها بصورت $\text{mean} \pm \text{SEM}$ می باشد. O. Europaea: Olea Europaea, Control: Saline. (n=۷-۹).

Groups	Initiation of stage 1 (sec)	Initiation of stage 2 (sec)	Initiation of stage 3 (sec)
Control	157.71± 24.84	293.29± 38.25	348± 49.37
O.Europaea (125µg/rat)	178.71± 26.08	277.54± 34.74	315± 36.70
O.Europaea (250µg/rat)	192.33± 31.86	245.11± 33.27	270± 30.89
O.Europaea (500µg/rat)	205.29± 34.10	222.48± 29.62	248± 32.71

مرحله ۱: تشنجات منفرد میوکلونیک سر (تیک سر)
 مرحله ۲: تشنجات مکرر سر همراه با تکان های ناگهانی اندام قدامی و سرازیر شدن بزاق دهانی
 مرحله ۳: تشنج کل بدن و اندام حرکتی قدامی، معمولا پاها از هم باز شده و حیوان بر روی پاها بلند می شود.
 مرحله ۴: تشنج های کلونیک-تونیک جنرالیزه
 مرحله ۵: چرخش و پرش مکرر حیوان و افتادن به پهلو
 مرحله ۶: مرگ

نحوه محاسبات داده ها به شرح زیر است:

Seizure Score: میانگین بالاترین مرحله تشنج در هر گروه که حیوانات در مدت زمان ۲۰ دقیقه پس از تزریق PTZ از خود نشان می دهند

Initiation of Stage: مدت زمان رسیدن به مراحل

مختلف تشنج

به منظور تجزیه و تحلیل آماری یافته های حاصل از این پژوهش از آنالیز واریانس یکطرفه (One Way ANOVA) و جهت مقایسه گروه های مختلف از آزمون tukey در سطح معنی داری $P < 0.05$ استفاده گردید. ضمنا برای مقایسه مراحل مختلف امتیاز تشنجی از آزمون نا پارامتری استفاده گردید. داده ها بصورت $\text{Mean} \pm \text{SEM}$ می باشد.

یافته ها

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که تزریق درون بطنی مغزی دوزهای ۱۲۵، ۲۵۰ و ۵۰۰ میکروگرم از عصاره برگ زیتون میانگین زمان لازم برای شروع مرحله یک تشنج القاء شده توسط PTZ را در مقایسه با گروه کنترل افزایش می دهد اما هیچکدام از دوزهای بکار رفته در مقایسه با گروه

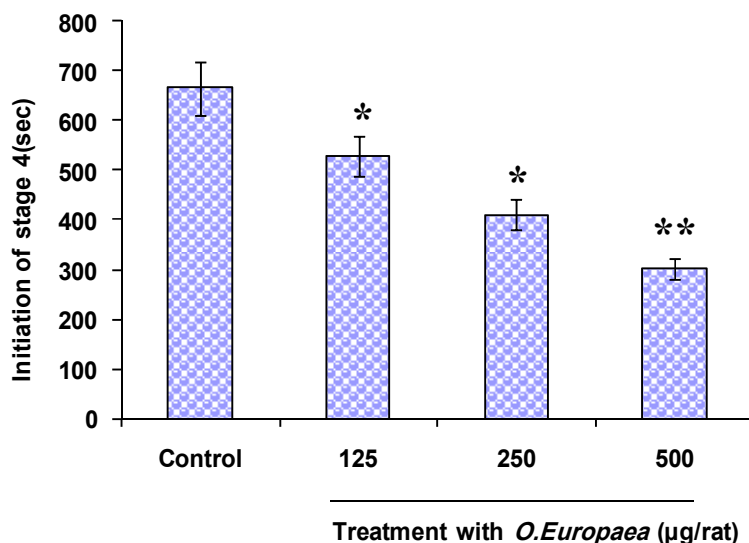
محلول ها در مدت زمان ۳۰ ثانیه انجام می گرفت و سر سوزن تزریق ۳۰ ثانیه دیگر نیز جهت اطمینان از خروج محلول و پخش شدن آن در مایع مغزی-نخاعی در کانول راهنما باقی می ماند.

ضمنا هنگام تزریق حیوان آزاد بود. بلافاصله بعد از تزریق درون بطنی مغزی، در تمام گروه ها به منظور القاء تشنج حاد، مقدار ۸۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن موش، داروی پنتیلین تترازول تزریق شد که این دوز بر اساس مطالعات قبلی [۴، ۸، ۱۴] و pilot Study انتخاب گردید. سپس امتیاز تشنجی (seizure score) و زمان بروز هر یک از مراحل تشنج پس از تزریق درون صفاقی پنتیلین تترازول در مدت ۲۰ دقیقه مورد ارزیابی و ثبت قرار گرفت. ضمنا در پایان آزمایش ها مقدار یک میکرولیتر ماده ی رنگی بلودومتیلین از طریق کانول راهنما تزریق شد و پس از جدا کردن سر حیوان مغز آنها خارج گردید و از مغز موش ها مقاطع بافتی تهیه و فقط نتایج حاصل از حیواناتی که کانول راهنما در داخل بطن طرفی مغز قرار داشت مورد استفاده قرار گرفت. مراحل مختلف امتیاز تشنجی (seizure score) و مشخصات رفتاری موش ها به صورت زیر مورد بررسی قرار گرفت [۴].

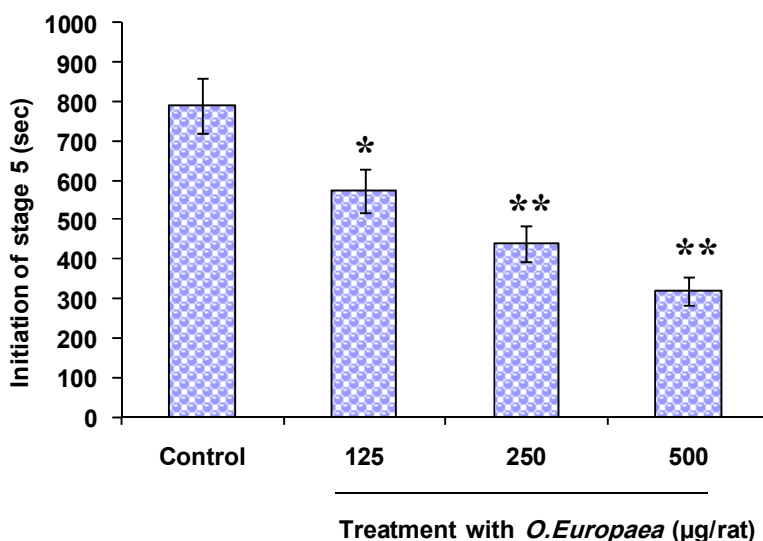
مرحله صفر: رفتار های معمولی حیوان



شکل ۱- مقطع بافتی از پخش بلودومتیلین در بطن جانبی مغز



شکل ۲- اثر تزریق داخل بطنی مغزی عصاره برگ زیتون (۱۲۵، ۲۵۰ و ۵۰۰ میکروگرم به ازای هر موش) بر مدت زمان تاخیری تا شروع مرحله ۴ تشنج. تشنج. * $P < 0.05$ ، * $P < 0.01$ نشان دهنده تفاوت معنی دار با گروه کنترل، (n=۷-۹). Control=Saline، O.Europaea=Olea Europaea

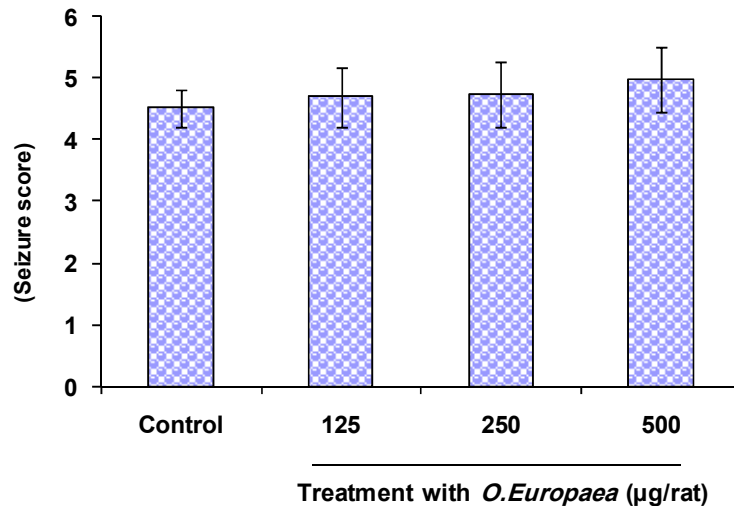


شکل ۳- اثر تزریق داخل بطنی مغزی عصاره برگ زیتون (۱۲۵، ۲۵۰ و ۵۰۰ میکروگرم به ازای هر موش) بر مدت زمان تاخیری تا شروع مرحله ۵ تشنج. تشنج. * $P < 0.05$ ، * $P < 0.01$ نشان دهنده تفاوت معنی دار با گروه کنترل، (n=۷-۹). Control=Saline، O.Europaea=Olea Europaea

کاهش در مقایسه با گروه کنترل بصورت وابسته به دوز معنی دار بود (شکل های ۲ و ۳) ($P \leq 0.01$)، بعبارت دیگر عصاره اتانولی برگ زیتون اثری بر زمان شروع تشنج های سطحی (مراحل ۱، ۲ و ۳) نداشت اما مدت زمان لازم برای شروع تشنج های جنرالیزه (مراحل ۴ و ۵) را کاهش داد. ضمناً هیچکدام از دوزهای مورد استفاده اثری بر امتیاز تشنجی (seizure score) نداشتند (شکل ۴).

کنترل معنی دار نبود (جدول ۱) ($P > 0.05$).

همچنین هر سه دوز ۱۲۵، ۲۵۰ و ۵۰۰ میکروگرم از عصاره برگ زیتون، میانگین زمان لازم برای شروع هر یک از مراحل ۲ و ۳ تشنج القاء شده توسط PTZ را در مقایسه با گروه کنترل کاهش دادند اما هیچکدام در مقایسه با گروه کنترل معنی دار نبود (جدول ۱) ($P > 0.05$). علاوه بر این هر سه دوز مورد استفاده میانگین زمان لازم برای شروع مراحل ۴ و ۵ تشنج ناشی از PTZ را در مقایسه با گروه کنترل کاهش دادند که این



شکل ۴- اثر تزریق داخل بطنی مغزی عصاره برگ زیتون (۱۲۵، ۲۵۰ و ۵۰۰ میکروگرم به ازای هر موش) بر امتیاز تشنجی (Seizure Score). O.Europaea=Olea. Control=Saline, Europaea (n=۷-۹).

بحث

عصاره اتانولی برگ زیتون باعث کاهش معنی داری در زمان شروع تشنج های جنرالیزه می شود (شکل های ۲ و ۳) اما اثری بر مدت زمان شروع تشنج های سطحی ندارد (جدول ۱). بنا بر اطلاعات موجود این اثر عصاره احتمالاً به دلیل وجود تری تریپتوفیلید های موجود در برگ زیتون از قبیل التانولیک اسید و اریترودیول می باشد که باعث تنظیم افزایشی سیکلواکسیژناز دو می شوند [۱۹، ۱۸، ۱۲، ۸]. مارتینز و همکاران (۲۰۰۸) گزارش کردند التانولیک اسید و اریترودیول بصورت وابسته به دوز و زمان باعث افزایش بیان آنزیم سیکلواکسیژناز دو، پروستاگلاندین I₂ و E₂ از طریق فعال کردن مسیری Mitogen-activated protein kinase (MAPK) می شوند (۱۲). همچنین بر اساس همین گزارش عنوان شد التانولیک اسید این اثر خود را به آهستگی اعمال می کند بطوریکه p38MAPK یک ساعت پس از اضافه کردن التانولیک اسید به محیط کشت و p42/44MAPK پس از ۱۵ دقیقه به حداکثر فعالیت خود رسیده که نهایتاً منجر به افزایش بیان آنزیم سیکلواکسیژناز دو و همچنین افزایش آزادسازی پروستاگلاندین I₂ می شود از طرفی این اثر التانولیک اسید در تنظیم افزایشی سیکلواکسیژناز دو به وسیله سلکوکسیب (مهار کننده اختصاصی سیکلواکسیژناز دو) که قبلاً اثرات ضد تشنجی آن نیز به اثبات رسیده است، مهار می گردد [۱۲، ۱۴، ۱۵]. همچنین طبق مطالعات قبلی ما و سایر محققین مهار کننده های آنزیم سیکلواکسیژناز دو جمله رفوکوکسیب، آسپرین،

با توجه به تحقیقات اخیر ارتباطات نامشخصی بین التهاب و دژنراسیون اعصاب و بیماریهای عصبی دیده می شود و مطالعه ما نیز در راستای هر چه بیشتر التهابی بودن صرع، نقش آنزیم سیکلواکسیژناز و حداقل امکان پیشگیری نسبی پیشرفت این بیماری توسط دارو های ضدالتهابی می باشد. در این پژوهش عصاره اتانولی برگ زیتون مدت زمان شروع مرحله یک تشنج ناشی از پنتیلین تترازول را به تاخیر انداخت. هر چند این تاخیر از نظر آماری معنی دار نبود اما احتمالاً به دلیل وجود ترکیب ضدالتهابی تحت عنوان هیدروکسی تیروزول در عصاره باشد، بطوریکه بر اساس مطالعات موجود هیدروکسی تیروزول دارای اثرات ضد التهابی بوده و باعث کاهش میزان سیتوکین های پیش التهابی از قبیل IL-1 β و فاکتور نکروز کننده تومور آلفا (TNF- α) می شود و احتمالاً این اثر خود را از طریق مهار بیان iNOS و سیکلواکسیژناز دو اعمال کرده و در نهایت منجر به تاخیری هر چند اندک در شروع مرحله ۱ تشنج ناشی از پنتیلین تترازول می شود [۱۸، ۱۷، ۱۲، ۸].

همانطور که در قسمت نتایج مشاهده شد عصاره برگ زیتون مدت زمان شروع مراحل ۴ و ۵ تشنج ناشی از پنتیلین تترازول را بصورت معنی دار و وابسته به دوز کاهش داد بطوریکه در دوز ۵۰۰ میکروگرم بیشترین اثر تشنج زایی عصاره مشاهده گردید (شکل های ۲ و ۳)، بنابراین شاید بتوان گفت

ارژیک در نورون ها و شبکه نورونی و نهایتا منجر به افزایش شدت تشنج می گردد [۲،۴،۹]. در مجموع شاید بتوان گفت اثر عصاره برگ زیتون در کاهش میانگین زمان لازم برای شروع مراحل ۴ و ۵ تشنج ناشی از پنتیلن تترازول در پژوهش حاضر احتمالا به دلیل وجود ترکیبات التانولیک اسید و اریترودیول باشد که از طریق تحریک سیکلواکسیژناز دو بصورت وابسته به دوز و زمان باعث افزایش تون گلوتامات ارژیک و کاهش تون گابا ارژیک در شبکه نورونی مغز شده که نهایتا منجر به کاهش آستانه تشنج در مراحل ۴ و ۵ می شوند هر چند برای مشخص شدن اثرات دقیق آنها نیاز به تحقیقات بیشتری در این زمینه از جمله تخلیص و جداسازی اجزای تشکیل دهنده عصاره و بررسی اثرات هر یک از این ترکیبات بصورت جداگانه می باشد. ضمنا شاید یکی از دلایل مشاهده اثرات تشنج زای عصاره بخاطر اثرات قویتر التانولیک اسید و اریترودیول (۱۲) نسبت به هیدروکسی تیروزول بر بیان آنزیم سیکلواکسیژناز دو باشد که این امر نیز نیاز به تحقیقات تکمیلی در این زمینه از جمله تعیین غلظت هر یک از این ترکیبات در عصاره دارد.

سپاسگزاری

بدینوسیله از معاونت پژوهشی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران و همچنین زحمات و راهنمایی های آقای دکتر شریعتی فر در مراحل اجرای این پروژه تشکر و قدردانی می گردد.

کتوپروفن و فلونکسین مگلو مین باعث مهار تشنج می شوند و متقابلا افزایش بیان آنزیم سیکلواکسیژناز متعاقب التهاب می تواند باعث القاء تشنج گردد [۱، ۴، ۷، ۱۴]. بنابراین با توجه به اثرات تحریکی التانولیک اسید و اریترودیول بر سنتز سیکلواکسیژناز دو و همچنین نقش سیکلواکسیژناز دو در صرع، این احتمال وجود دارد که مکانیسم عمل این ترکیبات از طریق افزایش تون گلوتامات ارژیک و کاهش تون گابا ارژیک باشد بطوریکه بر اساس مطالعات موجود پروستاگلاندین E2 آزادسازی گلوتامات (مهمترین میانجی عصبی تحریکی مغز) را از آستروسیت ها افزایش می دهد [۱۱، ۱۷، ۱۵] و به نظر می رسد که مهار سیکلواکسیژناز دو به واسطه مهار پروستاگلاندین E2 و در نتیجه کاهش آزادسازی گلوتامات می تواند باعث کاهش صرع گردد [۱، ۱۰، ۱۷]. همچنین IL-1 β باعث تحریک آزادسازی گلوتامات از پایانه های عصبی و در نتیجه بروز صرع می شود [۳، ۹] و احتمالا التانولیک اسید و اریترودیول موجود در عصاره برگ زیتون از طریق تحریک سنتز سیکلواکسیژناز دو و افزایش بیان پروستاگلاندین ها و اینتر لوکین یک بتا باعث افزایش آزاد سازی گلوتامات و در نتیجه کاهش مدت زمان شروع تشنج در مراحل ۴ و ۵ می شود. همچنین فعال شدن سیکلواکسیژناز دو باعث افزایش سنتز رادیکالهای آزاد می گردد که این امر منجر به استرس اکسیداتیو و آپوپتوزیس نورون - های گابا ارژیک شده در نتیجه غلظت گلوتامات به دلیل برداشته شدن اثر مهارگری گابا از روی نورون های گلوتامات ارژیک افزایش یافته و این فرایند باعث افزایش تون گلوتامات

References

- [1] Akula KK, Dhir A, Kulkarni SK, Rofecoxib a selective cyclooxygenase-2 (COX-2) inhibitor increases pentylenetetrazol seizure threshold in mice: possible involvement of adenosinergic mechanism. *Epilepsy Res* 78 (1) (2008) 60-70.
- [2] Avoli M, Louvel J, Cellular and molecular mechanism of epilepsy in human brain. *Prog Neurobiol* 77 (2005) 166-200.
- [3] Balosso S, Maroso M, Sanchez-Alavez M, Ravizza T, Frasca A, Bartfai T, Vezzani A, A novel non-transcriptional pathway mediates the proconvulsive effects of interleukin-1 β . *Brain* 131 (12) (2008) 3256-3265.
- [4] Dhir A, Naidu PS, Kulkarni SK, Effect of COX inhibitors on PTZ-induced convulsions; possible mechanism of action. *Prog Neuro-psychopharmacol Biol Psychiatry* 30(8) (2006) 1478-1485.
- [5] Duquesnoy E, Castola V, Casanova J. Triterpenes in the hexane extract of leaves of *Olea europaea* L.: analysis using ¹³C-NMR spectroscopy. *Phytochemical Anal* 18(4) (2007) 347-353.
- [6] Eidi A, Eidi M, Darzi R, Antidiabetic Effect of *Olea Europaea* L. in Normal and Diabetic Rats. *Phytother Res* 23(3) (2009) 347-350.

- [7] Garavand S, Keramati K, Zendehtdel M, Jadidoleslami M, Garavand S, The effect of intracerebroventricular injection of flunixin meglumine on PTZ- induced seizure in male rat. *Physiol Pharmacol* 14 (1) (2010) 34-40.
- [8] Gong D, Geng C, Jiang L, Cao J, Yoshimura H, Zhong L, Effects of Hydroxytyrosol-20 on Carrageenan-induced Acute Inflammation and Hyperalgesia in Rats. *Phytother Res* 23 (5) (2009) 646-650.
- [9] Heida JG, Moshé SL, Pittman QJ, The role of interleukin-1 β in febrile seizures. *Brain Dev* 31 (5) (2009) 388-393.
- [10] Holtman L, Vliet EA, Schaik R, Queiroz CM, Aronicaand E, Gorter JA, Effects of SC58236, a selective COX-2 inhibitor, on epileptogenesis and spontaneous seizures in a rat model for temporal lobe epilepsy. *Epilepsy Res* 86 (2009) 56-65.
- [11] Huang RQ, Bell-Horner CL, Dibas MI, Covey DF, Drewe JA, Dillon GH, Mizushima T, Pentylentetrazole-Induced Inhibition of Recombinant γ -Aminobutyric Acid Type A (GABAA) Receptors: Mechanism and Site of Action, *J Pharmacol Exp Ther* 298 (2001)986-995
- [12] Martínez-González J, Rodríguez-Rodríguez R, González-Díez M, Rodríguez C, Herrera MD, Ruiz-Gutierrez V, Badimon L, Oleonic acid induces prostacyclin release in human vascular smooth muscle cells through a cyclooxygenase-2-dependent mechanism. *J Nutr* 138 (2008) 443-448.
- [13] Moradpour F, Naghdi N, Fathollahi Y, Anastrozole improve testosterone-induced impairment acquisition of spatial learning and memory in the hippocampal CA₁ region in adult male rats. *Behav Brain Res* 175 (2006) 223-232
- [14] Noroozi E, Keramati K, Zendehtdel M. The effect of intracerebroventricular injection of COX-1 inhibitor (ketoprofen) on PTZ- induced seizures in male rat. *Physiol Pharmacol* 14 (3) (2010) 262-267
- [15] Oliveira MS, Furian AF, Royes LF, Figuera MR, Fiorenza NG, Castelli M, Machado P, Bohrer D, Veiga M, Ferreira J, Cavalheiro EA, Mello CF, Cyclooxygenase-2/PGE2 pathway facilitates pentylentetrazol-induced seizures. *Epilepsy Res* 79 (2008) 14-21.
- [16] Porter RJ, Meldrum BS, Antiseizure drugs. In: katzungB. G Basic and clinical pharmacology. Lange Medical Books. MC Graw-Hill, Newyork, 2001, p. 345-348.
- [17] Rakhade SN, Loeb JA, Focal reduction of neuronal glutamate transporters in human neocortical epilepsy. *Epilepsia* 49 (2) (2008) 226-236.
- [18] Somova LI, Shode FO, Ramnanan P, Nadar A, Antihypertensive, antiatherosclerotic and antioxidant actiavty of triterpenoids isolated from *Olea europaea*, subspecies *Africana* leaves. *J Ethnopharmacol* 84 (2003) 299-305.
- [19] Zhang X, Cao J, Zhong L, Hydroxytyrosol inhibits pro-inflammatory cytokines, iNOS, and COX-2 expression in human monocytic cells. *Naunyn-Schmiedebergs Arch Pharmacol* 379 (6) (2009) 581-586.