

## مقایسه اثرات مهارکننده‌های منتخب آنزیم سیکلواکسیژناز بر پاسخ‌دهی راه‌های هوایی به هیستامین و استیل کولین در خوچه‌های هندی مبتلا به آلرژی تجربی

حسین کشاورز<sup>۱</sup> علی رسولی<sup>۱\*</sup> گودرز صادقی هاشجین<sup>۱</sup> فرهنگ ساسانی<sup>۲</sup> مصطفی معین<sup>۲</sup> هادی تبراوی<sup>۴</sup> سپیده غفاری<sup>۵</sup>

(۱) گروه فارماکولوژی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران - ایران

(۲) گروه پاتولوژی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران - ایران

(۳) گروه ایمونولوژی، دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران - ایران

(۴) دانش آموخته دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران - ایران

(دریافت مقاله: ۳ بهمن ماه ۱۳۹۴، پذیرش نهایی: ۲۴ فروردین ماه ۱۳۹۵)

### چکیده

**زمینه مطالعه:** آسم ناشی از اسپرین (AIA) با علائمی همچون انقباض حاد برونش‌ها در حدود ۱۰٪ از افراد مبتلا به آسم بدنال مصرف اسپرین یا داروهای مشابه بروز می‌کند. مکانیسم‌های ایجاد AIA بطور کامل شناخته نشده‌اند، اما به نظر می‌رسد مهار آنزیم سیکلواکسیژناز در بروز آن دخیل باشد. **هدف:** مقایسه اثرات داروهای شبه آسپیرین بر پاسخ‌دهی مجاری هوایی در خوچه هندی مبتلا به آسم آلرژیک تجربی. **روش کار:** ۴۲ عدد خوچه هندی نر (۳۰۰-۲۵۰g) بطور تصادفی در هفت گروه تقسیم شدند: گروه کنترل، آلرژیک، کتوپروفن، ایندومتاسین، سلوکسیب و آسپیرین (با دوز بالا و پایین). در همه حیوانات بجز گروه کنترل، بوسیله تزریق داخل صفاقی اوآلبومین و هیدروکسید آلومینیوم آلرژی ایجاد شد و چالش با اوآلبومین استنشاقی در روز ۱۸ صورت گرفت. در طی ۲۴ ساعت قبل از چالش، حیوانات سه دوز خوراکی از داروهای فوق و یا محلول کربس هنسلیت در گروه‌های کنترل و آلرژیک، هر ۱۲ ساعت یکبار دریافت کردند (دوز آخر درست نیم ساعت قبل از چالش تجویز گردید). در روز ۱۹ با ایجاد مرگ آرام در حیوانات، پاسخ‌دهی قطعات مجرای نای آنها با استفاده از دوزهای تجمع‌ی هیستامین و استیل کولین در حمام بافت مطالعه گردید. **نتایج:** ایندومتاسین و کتوپروفن بطور معنی‌دار پاسخ‌دهی نای را در تمامی غلظت‌های هیستامین و استیل کولین افزایش دادند. میزان Emax برای استیل کولین و هیستامین برحسب گرم به ترتیب در گروه‌های ایندومتاسین (۳/۵±۰/۱) و کتوپروفن (۴/۳±۰/۱) بیشتر از گروه‌های کنترل (۱/۵±۰/۱) و آلرژیک، سلوکسیب، اسپرین با دوز بالا و آسپیرین با دوز پایین بود ( $P < 0.05$ ). **نتیجه‌گیری نهایی:** این مطالعه نشان داد که ایندومتاسین و کتوپروفن (و نه اسپرین و سلوکسیب) می‌توانند موجب افزایش پاسخ‌دهی مجاری هوایی و تشدید علائم آسم در این مدل حیوانی شوند.

**واژه‌های کلیدی:** پاسخ‌دهی مجاری هوایی، آلرژی، آسم ناشی از اسپرین، داروهای مهارکننده سیکلواکسیژناز

### مقدمه

مجاری هوایی به ترکیبات قابض برونشی در گروهی از بیماران مبتلا به آسم (آسم ناشی از اسپرین) می‌گردند (۱۰).

سیکلواکسیژناز (COX) آنزیمی است که سنتز پروستاگلاندین‌ها را از اسید آراشیدونیک (حاصل از فسفولیپیدهای غشای پلاسمایی) کاتالیز می‌کند. این آنزیم حداقل در دو فرم موجود می‌باشد: COX-۱ که بطور پیوسته در اغلب سلول‌ها و ارگان‌ها بیان شده و نقش هومئوستاتیک دارد و COX-۲ که شکل القاپذیر این آنزیم بوده و بیان آن در بسیاری از سلول‌ها در پی تحریک عواملی همچون عامل نکروز تومور (TNF- $\alpha$ )، اینترلوکین-۱ و عوامل رشد از قبیل فاکتور رشد اپیدرم (EGF) القاء می‌گردد (۱۲). پروستاگلاندین‌ها یا بطور کلی محصولات COX، از تنظیم کننده‌های مهم در التهاب‌های آلرژیک دستگاه تنفسی، از جمله آسم هستند که می‌توانند علاوه بر پاسخ‌های التهابی، تونوسیته مجاری هوایی را تغییر دهند (۲۶، ۲۵). حدود ۱۰٪ از بیماران آسمی در پی مصرف آسپیرین یا سایر داروهای مهارکننده غیر انتخابی سیکلواکسیژناز، از قبیل ایندومتاسین و کتوپروفن، آسم یا علائم شبیه به آن مانند قبض برونشی، آبریزش شدید بینی و حساسیت یا قرمزی پوستی را نشان می‌دهند (آسم ناشی از اسپرین)

آسم یک بیماری مزمن دستگاه تنفسی می‌باشد که با التهاب مجاری هوایی همراه است. این بیماری با علائم اصلی انسداد راه‌های هوایی و اسپاسم برونشی قابل برگشت مشخص می‌شود. افزایش پاسخ‌دهی مجاری هوایی یکی از خصوصیات آسم برونشی می‌باشد (۲۹). اختلالات شبیه به آسم علاوه بر انسان، در گونه‌های مختلف حیوانی از قبیل سگ، گربه و اسب رخ می‌دهد (۲).

داروهای شبه آسپیرینی یا ضد التهاب غیر استروئیدی، گروهی از داروهای مهم در درمان اختلالات التهابی بوده و از جمله پر مصرف‌ترین داروهای می‌باشند که بطور عمده بعنوان داروهای ضد درد، ضد تب و ضد التهاب در پزشکی و دامپزشکی بکار می‌روند (۹). از موارد مهم استفاده از این داروها در دامپزشکی می‌توان به التهاب بافت مورق سم (لامیناپیتیس)، لنگش، شوک آندوتوکسیک، اختلالات اسکلتی، بیماری‌های دژنراتیو و کولیک در اسب و همچنین تب، التهاب و دردهای پس از جراحی در انواع دام‌های کوچک و بزرگ اشاره کرد (۲). تحقیقات اخیر نشان داده‌اند که داروهای شبه آسپیرینی باعث ایجاد تنگی برونش و افزایش پاسخ‌دهی



دوز ضد التهابی  $200 \text{ mg/kg}$  (دوز بالا) و دوز ضد دردی  $20 \text{ mg/kg}$  (دوز پایین) از طریق خوراکی تجویز شدند (۸، ۱۴، ۱۶). گروه‌های کنترل و آلژژیک به جای دارو، محلول کربس - هنسلیت دریافت کردند. در روز ۱۸، نیم ساعت بعد از آخرین تجویز داروها یا کربس - هنسلیت، حیوانات به طریقه استنشاقی (نبولیزاسیون) تحت چالش استاندارد با محلول اوبالومین  $5/0\%$  قرار گرفتند (۲۸). حیوانات گروه کنترل بجای محلول اوبالومین، کربس - هنسلیت را بصورت استنشاقی دریافت کردند. نحوه تهیه و آماده سازی قطعات نای: در روز ۱۹، بیست و چهار ساعت پس از چالش با اوبالومین، حیوانات با استفاده از دوز کشنده تیوپنتال سدیم ( $100 \text{ mg/kg}$ ) وزن بدن حیوان) با مرگ آرام کشته شدند و بلافاصله پس از اطمینان از مرگ حیوان، با ایجاد یک برش طولی در ناحیه گردن، نای در دسترس قرار گرفت و از ناحیه حنجره قطع شد. سپس قطعات نای (هر قطعه شامل ۴ حلقه غضروفی) برش داده شد و برای ارزیابی پاسخ‌دهی در حمام بافت قرار گرفت.

**ارزیابی پاسخ‌دهی مجاری هوایی به استیل کولین و هیستامین:** برای اندازه‌گیری پاسخ‌دهی قطعات نای به استیل کولین و هیستامین از دستگاه چهار کاناله حمام بافت ایزوله (LSI Lecta, Spain) متصل به سیستم Power Lab (AD Instruments, Australia) استفاده شد (۲۱). بعد از به کار بردن غلظت‌های تجمعی استیل کولین و هیستامین، منحنی‌های دوز-پاسخ در برابر این ترکیبات بدست آمد. منحنی‌های حاصله، به منظور اندازه‌گیری حداکثر پاسخ (Emax)، غلظت‌های مؤثر  $25\%$ ،  $50\%$  و  $75\%$  ( $EC_{25}$ ،  $EC_{50}$  و  $EC_{75}$ ) و نیز مقایسه شیب غلظت‌ها با یکدیگر به کار گرفته شد.

**آنالیز آماری:** برای مقایسه بین گروه‌های مختلف، از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه همراه با آزمون تکمیلی بونفرونی استفاده شد. در موارد لزوم، بجای استفاده از آزمون‌های پارامتریک، از تست‌های غیر پارامتریک هم تراز استفاده گردید. داده‌ها به صورت انحراف معیار  $\pm$  میانگین ارائه می‌شوند. مقدار  $p > 0.05$  برای معنی‌دار تلقی کردن تفاوت بین گروه‌های مختلف و نیز ارتباط بین پارامترها، در نظر گرفته شد.

## نتایج

**پاسخ‌دهی مجاری هوایی در گروه‌های مختلف درمانی در برابر استیل کولین (مقایسه مقادیر Emax):** جدول ۱ حداکثر پاسخ انقباضی نای (Emax) یا کشش نهایی وارد شده به ترانسدیوسر دستگاه را بر حسب گرم برای گروه‌های مختلف نشان می‌دهد. حداکثر پاسخ انقباضی در گروه‌های ایندومتاسین و کتوپروفن نسبت به گروه کنترل، به ترتیب  $2/4$  و  $3/5$  برابر افزایش داشت ( $p < 0.001$ ). علاوه بر آن، این افزایش نسبت به گروه‌های آزمایشی دیگر نیز معنی‌دار بود ( $p < 0.001$ ).

که در صورت کنترل نشدن، در برخی شرایط حتی می‌تواند منجر به مرگ شود (۲۹).

تاکنون مکانیسم یا مکانیسم‌های دخیل در بروز آسم ناشی از آسپیرین بخوبی شناخته نشده است. با این حال فرضیه‌هایی در این زمینه مطرح شده است. یکی از این فرضیه‌ها، مهار سنتز پروستاگلاندین‌ها از اسید آراشیدونیک و در نتیجه فراهمی بیشتر اسید آراشیدونیک برای سنتز لوکوترین‌ها می‌باشد. از طرف دیگر مهار سنتز پروستاگلاندین  $E_2$  که بعنوان یک پروستاگلاندین مفید و گشاد کننده برونش‌ها تلقی می‌شود در بروز این اختلال نیز مطرح است (۲۹).

با توجه به اینکه مطالعه تجربی جامعی در مورد تأثیر مهارکننده‌های آنزیم‌های دخیل در سنتز پروستاگلاندین‌ها در پاسخ‌دهی مجاری هوایی صورت نگرفته است و از طرف دیگر بخاطر مصرف گسترده و در دسترس بودن داروهای شبه آسپیرینی، مطالعه حاضر طراحی گردید تا تأثیر داروهای مختلف این دسته دارویی را بر پاسخ‌دهی مجاری هوایی در یک مدل حیوانی مقایسه و ارزیابی کند.

## مواد و روش کار

**حیوانات:** در این تحقیق از ۴۲ عدد خوکچه هندی نر بالغ نژاد Dunkin-Hartley (با وزن  $250-300 \text{ g}$ )، تهیه شده از موسسه پاستور، ایران) استفاده گردید. حیوانات به مدت هفت روز به منظور سازگاری با محیط جدید، در محل نگهداری حیوانات آزمایشگاهی در دانشکده دامپزشکی تهران نگهداری شدند. خوکچه‌ها در شرایط استاندارد یعنی دمای  $26 \pm 2^\circ \text{C}$ ، رطوبت نسبی  $70\%$ ، چرخه نوری ۱۲ ساعت روشنایی ۱۲- ساعت تاریکی و با دسترسی آزاد به آب شهری و غذای تجاری قرار داشتند. به منظور تأمین ویتامین ث، روزانه پودر ویتامین ث به میزان  $1 \text{ g/l}$  به آب تازه آنها اضافه می‌شد. پس از گذشت دوره سازگاری، حیوانات بطور تصادفی به ۷ گروه ۶ تایی تقسیم بندی و در قفس‌های مجزا نگهداری شدند.

**آماده سازی و تیمار حیوانات:** در همه گروه‌های درمانی به جز گروه کنترل، ایجاد آلرژی با استفاده از پروتکل استاندارد و با اندکی تغییر با تجویز ۲ میلی لیتر سوسپانسیون اوبالومین ( $150 \mu\text{g}$ ) بازای هر حیوان) و هیدروکسید آلومینیوم ( $150 \text{ mg}$ ) بازای هر حیوان) در روزهای ۱، ۵ و ۸ انجام شد (۲۸). داروهای آسپیرین، ایندومتاسین، کتوپروفن و سلکوکسیب در محلول کربس تهیه گردید و درست قبل از تجویز، بمدت ۳۰ الی ۶۰ ثانیه با استفاده از حمام اولتراسونیک، یکنواخت شد. در روز ۱۷، بجز گروه کنترل و آلژژیک، حیوانات گروه‌های دیگر یکی از داروهای زیر را با فاصله ۱۲ ساعت و جمعاً ۳ بار به طریقه خوراکی دریافت کردند (دوز سوم درست نیم ساعت قبل از چالش داده شد).

داروهای ایندومتاسین و کتوپروفن با دوز متوسط ضد التهابی  $\text{mg/kg}$   $10$ ، سلکوکسیب با دوز  $25 \text{ mg/kg}$  و آسپیرین با دو دوز مختلف یعنی



$10^{-8}$  و  $10^{-7}$  و  $10^{-5}$ : در این غلظت‌ها، میزان پاسخ گروه‌های کتوپروفن، ایندومتاسین و آلرژیک در مقایسه با گروه کنترل و سایر گروه‌های آزمایشی افزایش معنی‌دار نشان داد ( $p < 0.05$ ).

$10^{-6}$ : گروه‌های کتوپروفن و ایندومتاسین نسبت به سایر گروه‌ها افزایش معنی‌دار داشتند ( $p < 0.05$ ). گروه آلرژیک نیز بغیر از گروه کنترل، نسبت به گروه‌های آسپیرین (با هر دو دوز) و سلکوکسیب افزایش معنی‌داری داشت.

$10^{-5}$ : گروه سلکوکسیب نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری داشت ( $p < 0.05$ ).

$10^{-4}$ : در این غلظت، میزان پاسخ گروه‌های کتوپروفن، آلرژیک و ایندومتاسین با گروه کنترل و سایر گروه‌ها افزایش معنی‌داری نشان داد. از طرف دیگر پاسخ گروه‌های آسپیرین با دوز کم، آسپیرین با دوز زیاد و سلکوکسیب نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری نشان داد.

**پاسخ‌دهی مجاری هوایی در گروه‌های مختلف درمانی در برابر هیستامین (۱-۳ مقایسه مقادیر  $E_{max}$ ):** برای گروه‌های مختلف در جدول ۱ آمده است.

حداکثر پاسخ انقباضی در گروه‌های ایندومتاسین و کتوپروفن نسبت به گروه کنترل، به ترتیب ۲/۲ و ۲/۵ برابر افزایش داشت و این افزایش نسبت به گروه‌های دیگر آزمایشی نیز معنی‌دار بود ( $p < 0.001$ ). اما سایر گروه‌های درمانی نسبت به هم یا گروه کنترل تفاوت معنی‌داری نداشتند ( $p > 0.05$ ).

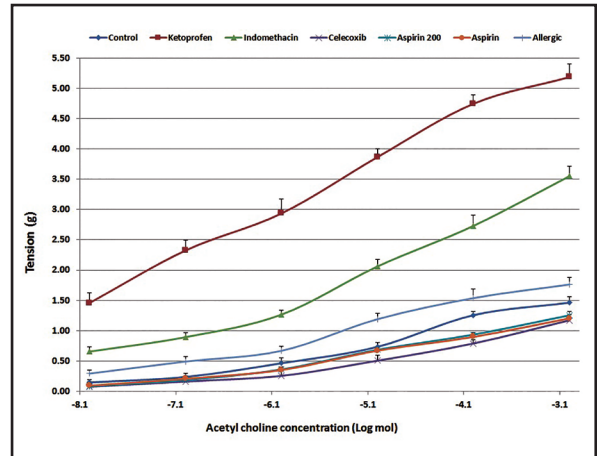
**مقایسه مقادیر  $E_{25}$ ،  $E_{50}$  و  $E_{75}$ :** در میزان پاسخ ۲۵٪، ۵۰٪ و ۷۵٪ در گروه‌های ایندومتاسین و کتوپروفن، بجز گروه آلرژیک، نسبت به سایر گروه‌های آزمایشی و گروه کنترل افزایش معنی‌دار مشاهده شد. علاوه بر این، کاهشی در  $E_{25}$  در گروه سلکوکسیب نسبت به آلرژیک مشاهده شد که از لحاظ آماری معنی‌دار بود.

**مقایسه انقباضات ایجاد شده در غلظت‌های مختلف هیستامین:  $10^{-8}$ :** گروه آلرژیک نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌داری نشان داد. بین گروه‌های کتوپروفن، ایندومتاسین و آلرژیک تفاوت معنی‌داری دیده نشد اما این گروه‌ها نسبت به سایر گروه‌های آزمایشی افزایش معنی‌داری داشتند ( $p < 0.05$ ).

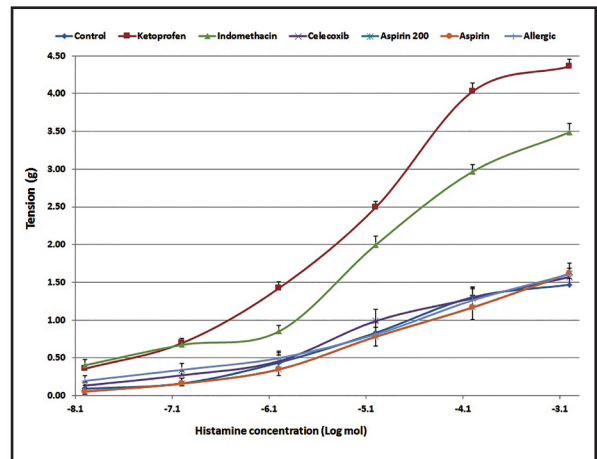
$10^{-7}$ : گروه آلرژیک نسبت به کنترل، افزایش معنی‌داری داشت. علی‌رغم عدم وجود تفاوت معنی‌دار بین کتوپروفن و ایندومتاسین، افزایش در گروه‌های کتوپروفن و ایندومتاسین نسبت به سایر گروه‌ها معنی‌دار بود. در حالی که در گروه سلکوکسیب نیز نسبت به کنترل کاهش دیده شد ( $p < 0.05$ ).

$10^{-6}$ : گروه‌های کتوپروفن و ایندومتاسین نسبت به سایر گروه‌ها افزایش معنی‌دار داشتند. هر دو گروه آسپیرین (دوز بالا و دوز پائین) نیز نسبت به گروه آلرژیک کاهش داشتند ( $p < 0.05$ ).

$10^{-5}$  و  $10^{-4}$ : علی‌رغم عدم وجود تفاوت معنی‌دار بین کتوپروفن و



نمودار ۱. میزان پاسخ‌دهی نای مجرای خوکچه‌های هندی به غلظت‌های تجمعی استیل کولین در گروه‌های مختلف آزمایشی. داده‌ها بصورت "نحراف معیار ± میانگین" ارائه شده‌اند.



نمودار ۲. میزان پاسخ‌دهی نای مجرای خوکچه‌های هندی به غلظت‌های تجمعی هیستامین در گروه‌های مختلف آزمایشی. داده‌ها بصورت "نحراف معیار ± میانگین" ارائه شده‌اند.

جدول ۱. حداکثر میزان پاسخ‌دهی نای ایزوله خوکچه‌های هندی مبتلا به آلرژی تجربی در برابر استیل کولین و هیستامین.

گروه‌های آزمایشی	$E_{max}$ (g) استیل کولین	$E_{max}$ (g) هیستامین
کنترل	$7.5 \pm 0.1$	$7.5 \pm 0.1$
آلرژیک	$7.7 \pm 0.1$	$7.6 \pm 0.2$
کتوپروفن	$5.1 \pm 0.2$	$4.3 \pm 0.1$
ایندومتاسین	$3.5 \pm 0.1$	$3.5 \pm 0.1$
سلکوکسیب	$7.2 \pm 0.1$	$7.5 \pm 0.1$
آسپیرین دوز بالا	$7.3 \pm 0.1$	$7.6 \pm 0.1$
آسپیرین دوز پائین	$7.2 \pm 0.1$	$7.4 \pm 0.1$

**مقایسه مقادیر  $E_{25}$ ،  $E_{50}$  و  $E_{75}$ :** در میزان پاسخ ۲۵٪، ۵۰٪ و ۷۵٪ در گروه‌های ایندومتاسین و کتوپروفن، بجز گروه آلرژیک، نسبت به سایر گروه‌های آزمایشی و گروه کنترل افزایش معنی‌دار مشاهده شد. مقایسه میزان پاسخ‌های انقباضی در غلظت‌های مختلف استیل کولین:



در خوکچه هندی حساس شده، پاسخ مجاری هوایی به هیستامین در اثر ایندومتاسین (و همچنین فلوفنامیک اسید و فنیل بوتازون) تشدید شده (۱۸، ۱۹) و در موش سوری پاسخ‌دهی مجاری هوایی به هیستامین، سروتونین و استیل کولین بعد از مواجهه با آوزون زیاد شده بود (۲۰). هم‌رأستا با مطالعات قبلی، از نتایج مطالعه حاضر چنین برداشت می‌شود که این دو دارو، باعث وخیم تر شدن شرایط و بدتر شدن علائم آلرژی تنفسی در خوکچه‌های حساس شده می‌گردند.

در این مطالعه نشان داده شد که سلوکسیب هیچگونه اثر معنی‌داری بر روند پاسخ‌دهی نای به هیستامین و استیل کولین نداشته و علائم آلرژی تجربی ایجاد شده را تشدید نکرد. در مدل حیوانی آلرژیک نیز قبلاً نشان داده شده بود که مصرف مهارکننده‌های انتخابی COX-2 نظیر سلوکسیب، باعث افزایش پاسخ‌دهی گروه آلرژیک به هیستامین نمی‌شود (۲۲). مطالعات متعددی حاکی از تحمل‌پذیری مهارکننده‌های انتخابی COX-2 از قبیل سلوکسیب و ملوکسیکام در بیماران مبتلا به آسم ناشی از آسپیرین است. بطور کلی در اکثر افراد حساس به داروهای مهارکننده غیر انتخابی COX مانند آسپیرین، ایندومتاسین، مهارکننده‌های انتخابی COX-2 (مانند سلوکسیب) یک جایگزین مناسب هستند (۳۳، ۳۲، ۱۶). با این حال، درصد قابل توجهی از بیماران مبتلا به آسم ناشی از آسپیرین (۲۱٪)، مهارکننده COX-2 را نیز تحمل نمی‌کنند، اما در اکثر این بیماران، یک داروی جایگزین از همین دسته مهارکننده‌های انتخابی COX-2 پیدا می‌شود (۲۷، ۵).

مطالعات اندکی در زمینه اثر کتوپروفن و تأثیر آن در آسم ناشی از آسپیرین موجود است که در بیشتر موارد مانند مطالعات انجام شده بر روی ایندومتاسین و آسپیرین، اثر تشدید علائم را در بیماران آسمی گزارش داده‌اند (۲۹). تعدادی از گزارشات موردی در انسان، از بروز حملات آسمی در پی مصرف کتوپروفن و یا حتی استفاده از پیچ پوستی آن خبر داده‌اند (۳۰). از آنجا که کتوپروفن از دسته داروهای مهارکننده غیر انتخابی COX بشمار می‌رود، پیش‌بینی می‌شد که کتوپروفن نیز مانند ایندومتاسین باعث افزایش پاسخ‌دهی نای و وخیم تر شدن علائم گردد.

گرچه اکثر مطالعات انجام شده قبلی بر روی آسپیرین، افزایش پاسخ‌دهی مجاری هوایی و تشدید علائم آسم را گزارش داده‌اند (۲۹) اما در این مطالعه آسپیرین با هر دو دوز، نه تنها باعث افزایش پاسخ‌دهی نای در شرایط مذکور نشد، بلکه در مواردی حتی باعث کاهش جزئی و غیر معنی‌دار در پاسخ‌دهی نای در مقایسه با گروه آلرژیک شد. شاید دلایل اخذ این نتیجه، وجود تفاوت گونه‌ای یا تعداد محدود حیوانات مورد آزمایش در مطالعه حاضر و درصد وقوع کم این اختلال باشد (وقوع این اختلال در انسان ۱۰٪ می‌باشد).

**نتیجه‌گیری:** مهارکننده‌های غیر انتخابی COX یعنی ایندومتاسین و کتوپروفن، برخلاف مهارکننده انتخابی COX-2 یعنی سلوکسیب، بطور

ایندومتاسین، در گروه‌های کتوپروفن و ایندومتاسین نسبت به سایر گروه‌ها افزایش معنی‌دار مشاهده شد.

## بحث

مطالعه اخیر، باهدف بررسی آثار احتمالی مهارکننده‌های سیکلوکسیژناز بر پاسخ‌دهی مجاری هوایی در خوکچه هندی مبتلا به آلرژی تجربی انجام شد. از دید پاسخ‌دهی مجاری هوایی یکی از نشانه‌های مهم آسم آلرژیک می‌باشد که در نتیجه التهاب مخاط مجاری هوایی و با عوامل محرکی از جمله پروستاگلاندین‌ها و لوکوترین‌ها ایجاد می‌گردد. مهار COX توسط مهارکننده‌های انتخابی یا غیر انتخابی در حیوان آلرژیک، علاوه بر افزایش التهاب و فنوتیپ آلرژی، منجر به افزایش پاسخ‌دهی مجاری هوایی می‌شود (۱۱). همچنین مهار COX در موش‌های آلرژیک و فاقد آنزیم فعال لیبوکسیژناز (آنزیم کاتالیز کننده سنتز لوکوترین‌ها) نیز باعث افزایش پاسخ‌دهی مجاری هوایی می‌شود (۲۶).

در مطالعه حاضر، همانند مطالعات انجام شده در موش سوری (۳۱) و خوکچه هندی (۲۸)، چالش با اوالبومین باعث افزایش پاسخ‌دهی نای به استیل کولین و هیستامین در حمام بافت ایزوله شد. از آنجایی که بین آثار داروهای ضد التهاب غیر استروئیدی بر مجاری هوایی خوکچه هندی و بیماران حساس به آسپیرین شباهت‌های زیادی وجود داشت (۱۷)، این حیوان به عنوان مدل تجربی مناسب در مطالعه حاضر انتخاب گردید. در این مطالعه پس از چالش با اوالبومین استنشاقی، علائم بالینی شامل تنگی نفس و افزایش تعداد تنفس، خس خس کردن، عطسه و سرفه در حیوانات مشاهده شد. در همین راستا، قطعات مجرای نای حیوانات گروه آلرژیک افزایش معنی‌داری در پاسخ‌دهی به استیل کولین نسبت به گروه کنترل داشتند.

تجویز خوراکی ایندومتاسین و کتوپروفن، باعث افزایش پاسخ‌دهی نای به هیستامین و استیل کولین بعد از چالش با اوالبومین شد. این افزایش در همه غلظت‌های مورد استفاده هیستامین و استیل کولین نسبت به گروه آلرژیک معنی‌دار بود. دو داروی فوق (ایندومتاسین و کتوپروفن)، باعث جابجا کردن منحنی دوز-پاسخ به بالا و افزایش حساسیت بافت مجرای نای را به مقادیر کم و جزئی هیستامین و استیل کولین شدند. در مطالعات دیگر نشان داده شده بود که داروهای شبه آسپیرین نظیر ایندومتاسین منجر به افزایش پاسخ‌دهی مجاری هوایی در مدل‌های مختلف حیوانی بصورت *in vivo* می‌شوند. از طرف دیگر عضلات صاف نای و برونش در مدل‌های حیوانی بطریقه *in vitro* نیز در حضور ایندومتاسین و سایر NSAIDها نظیر کتوپروفن پاسخ انقباضی بیشتری به هیستامین و استیل کولین نشان داده‌اند (۲۳، ۱۵، ۱۰). همچنین نشان داده شده است که مهار COX بوسیله ایندومتاسین، پاسخ‌دهی نای به آلرژن اختصاصی در موش، خوکچه هندی و میمون را بطور معنی‌داری افزایش می‌دهد (۲۵، ۲۴، ۱۳، ۴). همچنین



## References

1. Adcock, J.J., Garland, L. (1982) Modification of human airway smooth muscle reactivity by drugs that interfere with arachidonic acid metabolism. *Br J Pharmacol.* 77: 570-572.
2. Aiello, S.E. (1998) Immune system. In: *Merck Veterinary Manual.* (8<sup>th</sup> ed.) Merck & CO., INC. Whitehouse Station. NJ., USA. p. 575.
3. Anderson, W.H., Krzanowski, J.J., Polson, J.B., Szentivanyi, A. (1979) Characteristics of histamine tachyphylaxis in canine tracheal smooth muscle. *Naunyn-Schmiedebergs Arch Pharmacol.* 308: 117-125.
4. Andersson, P. (1982) Effects of inhibitors of anaphylactic mediators in two models of bronchial anaphylaxis in anesthetized guinea pigs. *Br J Pharmacol.* 77: 301-307.
5. Bavbek, S., Celik, G., Ozer, F., Mungan, D., Misirligil, Z. (2004) Safety of selective COX-2 inhibitors in aspirin/nonsteroidal anti-inflammatory drug-intolerant patients: comparison of nimesulide, meloxicam, and rofecoxib. *J Asthma.* 41: 67-75.
6. Chan, C.C., Boyce, S., Brideau, C., Charle-son, S., Cromlish, W., Ethier, D. (1999) Rofecoxib [Vioxx, MK-0966; 4-(4'-methylsulfonylphenyl)-3-phenyl-2-(5H)-furanone]: A potent and orally active cyclooxygenase-2 inhibitor. *Pharmacological and biochemical profiles.* *J Pharmacol Exp Ther.* 290: 551-560.
7. Cimbollek, S., Quiralte, J., Avila, R. (2009) COX-2 inhibitors in patients with sensitivity to nonselective NSAIDs. *N Engl J Med.* 361: 2197-2198.
8. Curnock, A.P., Robson, P.A., Yea, C.M., Moss, D., Gadher, S., Thomson, T.A. (1997) Potencies of leflunomide and HR325 as inhibitors of prostaglandin endoperoxide H synthase-1 and -2: Comparison with non-steroidal anti-inflammatory drugs. *J Pharmacol Exp Ther.* 282: 339-347.
9. Garner, A. (1992) Adaptation in the pharmaceutical industry, with particular reference to gastrointestinal drugs and diseases, *Scand J Gastroenterol.* 193: 83-89.
10. Hargreave, F.E., Dolovich, J., O'byrne, P.M.,

قابل توجهی باعث افزایش پاسخ‌دهی نای مجزا به هیستامین و استیل کولین می‌گردند. همچنین آسپیرین بعنوان یک مهارکننده غیر انتخابی COX، هیچگونه اثر افزایشی بر پاسخ‌دهی نای نداشته و حتی در مواردی باعث کاهش غیر معنی‌دار در پاسخ‌دهی آن به هیستامین و استیل کولین گردید. با توجه به عدم تشدید پاسخ‌دهی نای در گروه‌های سلوکوکسیب و آسپیرین، احتمالاً داروهای ایندومتاسین و کتوپروفن، حداقل در این مدل حیوانی و با شرایط آزمایش حاضر، با مکانیسم‌های متفاوتی در بروز این پدیده عمل می‌کنند که کشف آنها نیازمند مطالعات عمیق‌تر و جامع‌تری در این زمینه است.

## تشکر و قدردانی

بدین وسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه تهران به خاطر تأمین بخشی از هزینه‌های مالی این مطالعه در قالب طرح پژوهشی نوع ششم به شماره ۷۵۰۶۰۶/۶/۵ تشکر بعمل می‌آید. همچنین از خانم بهارلو و آقای سامانی که در اجرای این مطالعه کمک نمودند قدردانی می‌شود.

- Rams- Dale, E.H., Daniel, E.E. (1986) The origin of airway hyperresponsiveness. *J Allergy Clin Immunol.* 78: 825-832.
11. Hashimoto, K., Sheller, J.R., Morrow, J.D., Collins, R.D., Goleniewska, K., O'Neal, J. (2005) Cyclooxygenase inhibition augments allergic inflammation through CD4 -dependent, STAT6-independent mechanisms. *J Immunol.* 174: 525-532.
  12. Herschman, H.R. (1996) Prostaglandin synthase 2. *Biochim Biophys Acta.* 1299: 125-140.
  13. Hitchcock, M. (1980) Stimulation of the antigen-induced contraction of guinea-pig trachea and immunological release of histamine and SRS-A from guinea-pig lung by (2-isopropyl-3-indolyl)-3 pyridyl ketone (L8027) and indomethacin. *Br J Pharmacol.* 71: 65-75.
  14. Inoue, K., Fujisawa, H., Motonaga, A., Inoue, Y., Kyo, T., Ueda, F. (1994). Anti-inflammatory effects of etodolac: comparison with other non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Biol Pharm Bull.* 17: 1577-1583.
  15. Krzanowski, J.J., Anderson, W.H., Polson, J.B., Szentivanyi, A. (1980) Prostaglandin mediated histamine tachyphylaxis in subhuman primate tracheal smooth muscle. *Arch Int Pharmacodyn*



- Ther. 247: 155-162.
16. Martin-Garcia, C., Hinojosa, M., Berges, P., Camacho, E., Garcia-Rodriguez, R., Alfaya, T., Iscar, A. (2002) Safety of a cyclooxygenase-2 inhibitor in patients with aspirin-sensitive asthma. *Chest*. 121: 1812-1817.
  17. Mitchell, H.W. (1988) Inhibitory effect of sodium cromoglycate on pulmonary responses to histamine administered after indomethacin in anaesthetized guinea-pigs. *Br J Pharmacol*. 94: 515-521.
  18. Mitchell, H.W. (1983) Indomethacin enhances the effect of histamine on airways resistance in the anaesthetized guinea-pig. *Br J Pharmacol*. 80: 287-294.
  19. Mitchell, H.W., Adcock, J. (1987) Potency of several non-steroidal antiinflammatory drugs on airways responses to histamine. *Eur J Pharmacol*. 141: 467-470.
  20. Murlas, C., Lee, H.K., Roum, J.H. (1986) Indomethacin increases bronchial reactivity after subthreshold ozone levels. *Prostaglandins, Leukotrienes and Medicine*. 21: 259-268.
  21. Naeimi, S., Sadeghi-Hashjin, G., Meurs, H., Vojgani, M., Muhammadnejad, S., Bahonar, A., Moin, M. (2012) Effects of experimental thyroid dysfunction on the reactivity of isolated tracheal smooth muscle in the guinea pig. *World Appl Sci J*. 16: 1398-1402.
  22. Oguma, T., Asano, K., Shiomi, T., Fukunaga, K., Suzuki, Y., Nakamura, M. (2002) Cyclooxygenase-2 expression during allergic inflammation in guinea-pig lungs. *Am J Resp Crit Care Med*. 165: 382-386.
  23. Orehek, J., Douglas, J.S., Bouhuys, A. (1975) Contractile responses of the guinea-pig trachea in vitro modification by prostaglandin synthesis-inhibiting drugs. *J Pharmacol Exp Ther*. 194: 554-564.
  24. Patterson, R., Harris, K.E., Greenberger, P.A. (1978) The effect of arachidonic acid on airway responses of rhesus monkeys. *Life Sci*. 22: 389-400.
  25. Peebles, R.S., Dworski, R., Collins, R.D., Jarzecka, K., Mitchell, D.B., Graham, B.S., Sheller, J.R. (2000) Cyclooxygenase inhibition increases interleukin 5 and interleukin 13 production and airway hyperresponsiveness in allergic mice. *Am J Resp Crit Care Med*. 162: 676-681.
  26. Peebles, R., Koichi, H., James, R., Sheller Martin, L., Jason, D. (2005) Allergen-induced airway hyperresponsiveness mediated by cyclooxygenase inhibition is not dependent on 5-Lipoxygenase or IL-5, but is IL-13 dependent. *J Immunol*. 175: 8253-8259.
  27. Quinones Estevez, M.D. (2009) Are selective COX-2 inhibitors a safe option in patients with intolerance to nonsteroidal antiinflammatory drugs? *J Invest Allerg Clin Immunol*. 19: 328-330.
  28. Smith, N., Broadley, K.J. (2007) Optimisation of the sensitisation conditions for an ovalbumin challenge model of asthma. *Int Immunopharmacol*. 7: 183-190.
  29. Szczeklik, A., Stevenson, D.D. (1999) Aspirin-induced asthma: Advances in pathogenesis and management. *J Allergy Clin Immunol*. 104: 5-13.
  30. Tanaka, H., Nakahara, K., Sakai, S., Goto, K. (1992) A case of aspirin-induced asthma due to ketoprofen adhesive agent. *Nihon Kyobu Shikkan Gakkai Zasshi*. 30: 653-7.
  31. Tomkinson, A., Grzegorz, C., duez, C., Larson, K., Lee, J., gelfand, E. (2001) Temporal association between airway hyperresponsiveness and airway eosinophilia in ovalbumin sensitized mice. *Am J Resp Crit Care Med*. 163: 721-730.
  32. Weberschock, T.B., Muller, S.M., Boehncke, S., Boehncke, W.H. (2007) Tolerance to coxibs in patients with intolerance to non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs): a systematic structured review of the literature. *Arch Dermatol Res*. 299: 169-175.
  33. Woessner, K.M., Simon, R.A., Stevenson, D.D. (2002) The safety of celecoxib in patients with aspirin-sensitive asthma. *Arthritis & Rheumatology*. 46: 2201-2206.



## Comparison of the effects of selected cyclooxygenase enzyme inhibitors on airway responsiveness to histamine and acetyl choline in an experimental model of allergic asthma in guinea pig

Keshavarz, H.<sup>1</sup>, Rassouli, A.<sup>1\*</sup>, Sadeghi Hashjin, G.<sup>1</sup>, Sassani, F.<sup>2</sup>, Moein, M.<sup>3</sup>, Tabarraei, H.<sup>4</sup>, Ghaffari, S.<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Department of Pharmacology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran- Iran

<sup>2</sup>Department of Pathology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran- Iran

<sup>3</sup>Department of Immunology, School of Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran- Iran

<sup>4</sup>Graduated from Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran- Iran

(Received 23 January 2016, Accepted 12 April 2016)

### Abstract:

**BACKGROUND:** Aspirin-induced asthma (AIA) with symptoms such as acute bronchoconstriction occurs in about 10% of asthmatic individuals following ingestion of aspirin or other aspirin-like drugs. The mechanisms involved in AIA are not fully understood but it seems that inhibition of cyclooxygenase (COX) can play a role in such attacks. **OBJECTIVES:** This study aimed to compare the effects of aspirin-like drugs on airway responsiveness in an animal model of allergic asthma. **METHODS:** 42 male guinea pigs (250-300 g) were randomly divided into seven groups: control, allergic, ketoprofen, indomethacin, celecoxib, and aspirin (high and low doses). All animals except control group were sensitized by i.p. injections of ovalbumin and Al (OH)<sub>3</sub> suspensions and then challenged by inhalation of ovalbumin solution on day 18. The animals received three oral doses of the aforementioned drugs or normal saline in control and allergic groups with 12 hr intervals within 24 hr before ovalbumin challenge. On day 19, animals were euthanized and the responsiveness of isolated tracheas was studied using cumulative doses of histamine and acetyl choline in an organ bath. **RESULTS:** Indomethacin and ketoprofen significantly increased the trachea responsiveness to acetyl choline and histamine at all concentrations. Emax values for acetyl choline and histamine in indomethacin were respectively (3.5±0.1, 3.5±0.1 g) and ketoprofen (5.1±0.2, 4.3±0.1) groups were greater than those of control (1.5±0.1, 1.5±0.1), allergic, celecoxib, high dose aspirin and low dose aspirin groups (p<0.05). **CONCLUSIONS:** It was concluded that indomethacin and ketoprofen (but not aspirin and celecoxib) can exacerbate the asthmatic conditions in this animal model.

**Keyword:** airway responsiveness, allergy, aspirin-induced asthma, cyclooxygenase inhibitor drugs

### Figure Legends and Table Captions

**Figure 1.** The responsiveness of isolated tracheas of guinea pigs in experimental groups using cumulative concentrations of acetylcholine. Data were expressed by mean±SD.

**Figure 2.** The responsiveness of isolated tracheas of guinea pigs in experimental groups using cumulative concentrations of histamine. Data were expressed by mean±SD.

**Table 1.** The maximum responses (Emax) of isolated tracheas of guinea pigs with experimental allergy exposed to acetylcholine and histamine.



\*Corresponding author's email: arasooli@ut.ac.ir, Tel: 021-61117086, Fax: 021-66933222

J. Vet. Res. 71, 2, 2016