

## **The effect of cyclooxygenase-2 inhibition on pentylenetetrazole-induced seizure threshold in mice**

**Mesdaghinia A<sup>1</sup>, Khazaee P<sup>2</sup>, Heydari A<sup>1\*</sup>**

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

2- Student Research Committee, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, I. R. Iran.

Received: 2018/05/8 | Accepted: 2018/06/17

### **Abstract:**

**Background:** Previous studies have shown the protective effect of cyclooxygenase (COX) enzyme in development of convulsions. However, involvement of COX-2 in the pathogenesis of epilepsy is not yet well-known. The present study was designed to investigate the effect of celecoxib and nimesulide (selective COX-2 inhibitors) on pentylenetetrazole (PTZ)-induced clonic seizure threshold in mice.

**Materials and Methods:** In this study, white male mice were randomly divided into 13 groups including control groups, solvent (Tween 80) and eleven experimental groups which received celecoxib (2.5, 5 and 10 mg/kg), nimesulide (2.5, 5 and 10 mg/kg), diazepam (0.1, 0.5 and 5 mg/kg), and combination of non-effective dose of diazepam with celecoxib or nimesulide. Pentylenetetrazole-induced clonic seizure threshold was assessed in all groups.

**Results:** Nimesulide (2.5 and 5 mg/kg), celecoxib (2.5 and 5 mg/kg), and diazepam (0.5 and 5 mg/kg) significantly increased the PTZ-induced seizure threshold compared with the solvent group ( $P<0.05$ ). Also, only combination of sub-effective dose of diazepam (0.1 mg/kg) with celecoxib (2.5 mg/kg) showed a significant protective effect against PTZ-induced seizure threshold ( $P<0.01$ ).

**Conclusion:** Findings of the current study show the possible role of COX-2 isoenzyme in the pathophysiology of epilepsy. It is possible that some COX-2 inhibitors such as celecoxib act through GABAergic neurons and reduce excitability by increasing GABA release. Also, the difference between the effects of celecoxib and nimesulide can be attributed to the effect of these two compounds on COX-1 and COX-2 expression.

**Keywords:** Seizure, Pentylenetetrazole, Cyclooxygenase-2, GABA

**\* Corresponding Author.**

**Email:** heydariazh@kaums.ac.ir

**Tel:** 0098 31 5554 0021

**Fax:** 0098 31 5554 1112

**Conflict of Interests: No**

*Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences, August, 2018; Vol. 22, No 3, Pages 258-266*

**Please cite this article as:** Mesdaghinia A, Khazaee P, Heydari A. The effect of cyclooxygenase-2 inhibition on pentylenetetrazole-induced seizure threshold in mice. *Feyz* 2018; 22(3): 258-66.

## اثر مهار آنزیم سیکلو اکسیژنаз-۲ بر آستانه تشنج ناشی از پتیلن ترازوول در موش سوری

اعظم مصدقی‌نیا<sup>۱</sup>، پریا خزاعی<sup>۲</sup>، اژدر حیدری<sup>۳\*</sup>

### خلاصه:

سابقه و هدف: مطالعات قبلی نقش حفاظتی آنزیم سیکلو اکسیژناز را در پیشرفت صرع نشان داده‌اند. باین حال، دخالت سیکلو اکسیژناز-۲ در بیماری‌زائی صرع کاملاً شناخته شده نیست. مطالعه حاضر با هدف بررسی اثر سلکوکسیب و نیمزولايد (مهارکننده‌های اختصاصی سیکلو اکسیژناز-۲) بر آستانه تشنج کلونیک ناشی از پتیلن ترازوول در موش‌های سوری طراحی گردید.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی موش‌های سوری نر سفید به صورت تصادفی به ۱۳ گروه شامل گروه‌های کنترل، حلال (توئین ۸۰)، و ۱۱ گروه آزمایشی دریافت کننده نیمزولايد (۲/۵، ۵ و ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم)، سلکوکسیب (۲/۵، ۵ و ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم)، دیازپام (۰/۱، ۰/۵ و ۵ میلی گرم بر کیلوگرم) و ترکیب دوز غیرموثر دیازپام با نیمزولايد یا سلکوکسیب تقسیم شدند. آستانه تشنج کلونیک ناشی از پتیلن ترازوول در همه گروه‌ها ارزیابی گردید.

نتایج: نیمزولايد (۲/۵ و ۵ میلی گرم بر کیلوگرم)، سلکوکسیب (۰/۵ و ۵ میلی گرم بر کیلوگرم) به طور معنی‌داری آستانه تشنج ناشی از پتیلن ترازوول را در مقایسه با گروه حلال افزایش دادند ( $P < 0.05$ ). همچنین، تنها ترکیب دوز غیرموثر دیازپام (۰/۱ میلی گرم بر کیلوگرم) با سلکوکسیب (۲/۵ میلی گرم بر کیلوگرم) اثر حفاظتی معنی‌داری در مقابل تشنج ناشی از پتیلن ترازوول نشان داد ( $P < 0.01$ ).

نتیجه‌گیری: نتایج مطالعه حاضر نقش احتمالی ایزوآنزیم COX-2 را در بیماری‌زایی صرع نشان می‌دهد. احتمال می‌رود برخی مهار-گرهای COX-2 نظیر سلکوکسیب از طریق نورون‌های گاپاژیگ عمل کرده و با افزایش رهایش گابا موجب کاهش تحريك‌پذیری شوند. همچنین، تفاوت اثر سلکوکسیب و نیمزولايد می‌تواند مربوط به اثر متفاوت این دو ترکیب بر COX-1 و COX-2 باشد.

واژگان کلیدی: تشنج، پتیلن ترازوول، سیکلو اکسیژناز-۲، گابا

دو ماهانه علمی-پژوهشی فیض، دوره بیست و دوم، شماره ۳، مرداد و شهریور ۹۷، صفحات ۲۶۶-۲۵۸

### مقدمه

ایزوفرم COX-1 آنزیم به صورت خودبه‌خودی بیان شده و در اعمال طبیعی سلول‌ها نقش دارد. در حالی که ایزوفرم COX-2 قابل القاء بوده و افزایش بیان این آنزیم در اختلالات عصبی گوناگون مانند آزادایم و صرع دیده شده است [۱]. براساس این یافته که بیان COX و سطح پروستاگلاندین‌ها طی مدل تجربی تشنج در موش سوری افزایش می‌یابد، نقش پروستاگلاندین‌ها و مهارکننده‌های سنتز آنها در تشنج مورد توجه قرار گرفته است [۲]. باین حال، در مطالعات انجام شده نتایج متفاوتی به دست آمده است. اگرچه درخصوص نقش ایزوفرم COX-1 در تشنج، نتایج مشخصی در دسترس نیست، اما در یک مطالعه کیندلینگ ناشی از پتیلن ترازوول سبب افزایش بیان COX-1 در هپوکامپ موش‌های سوری شده و تجویز ایندومتانسین و SC-560 (مهارکننده اختصاصی COX-1) تاخیر معنی‌داری در پیشرفت تشنج ایجاد کرد [۳]. همچنین، داروهای ضد الهاب غیر استروئیدی (NSAIDs) نظیر ایندومتانسین، استامینوفن و لوگزوپروفن آستانه تشنجات ناشی از پتیلن ترازوول (PTZ) و ماکزیمال کتروشوک را در موش‌های سوری کاهش می‌دهند [۴]. برخلاف COX-1، مطالعات متعددی نقش ایزوفرم COX-2 را در مدل‌های مختلف

تشنج یک اختلال موقت عملکرد مغزی در اثر فعالیت الکتریکی غیرطبیعی نورونی است. صرع گروهی از اختلالات است که با تشنجات مکرر مشخص می‌شوند و علت شایع کاهش دوره‌ای هوشیاری است. بروز صرع در جمعیت عمومی تقریباً ۵۰ مورد جدید در ۱۰۰ هزار نفر در هر سال است، شیوع آن تقریباً ۰/۵ درصد بوده و احتمال بروز آن در طول عمر تقریباً ۳ درصد است [۱]. آنزیم سیکلو اکسیژناز (COX) آنزیمی کلیدی در تبدیل اسید آراشیدونیک مشتق از غشاء به پروستاگلاندین‌ها (PGs) می‌باشد که به صورت دو ایزوفرم سیکلو اکسیژناز-۱ (COX-1) و سیکلو اکسیژناز-۲ (COX-2) وجود دارد.

<sup>۱</sup> استاد، مرکز تحقیقات فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران

<sup>۲</sup> کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران

<sup>۳</sup> دانشیار، مرکز تحقیقات فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران

\* لشان نویسنده مسئول:

دانشگاه علوم پزشکی کاشان، دانشکده پزشکی، گروه فیزیولوژی

تلفن: ۰۳۱ ۵۵۵۴۱۱۱۲ - ۰۳۱ ۵۵۵۴۰۰۲۱

پست الکترونیک: heydariazh@kaums.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۲/۱۸ تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۷/۳/۲۷

یک گروه کنترل، یک گروه حلال، سه گروه دریافت کننده نیمزولاید ۲/۵، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، سه گروه دریافت کننده سلکوکسیب ۲/۵، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، سه گروه دریافت کننده دیازپام ۰/۱، ۰/۵ و ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و دو گروه که ترکیب دوز غیر موثر دیازپام را با بهترین دوز نیمزولاید یا سلکوکسیب دریافت کردند. جهت ایجاد مدل حیوانی تشنج از داروی پنتیلن ترازوول (PTZ) استفاده شد. پنتیلن ترازوول با غلظت ۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر نرمال سالین بهصورت روزانه و تازه تهیه می‌شد. در شروع آزمایش حیوان از قفس خارج شده و پس از توزین در مقیدکننده قرار می‌گرفت. سپس، دوزهای مختلف نیمزولاید و سلکوکسیب ۴۵ دقیقه قبل از آزمایش بهصورت داخل صفاقی به حیوانات گروههای مربوطه تزریق شد. دوز تحت محافظتی دیازپام (۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) ۱۵ دقیقه قبل از دوز تحت محافظتی نیمزولاید و سلکوکسیب ۲/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) تزریق شد. پس از سپری شدن زمان مورد انتظار، دم حیوان بهمدت یک دقیقه در آب ۴۵ درجه سانتی‌گراد می‌شد تا وریدهای جانبی دم کاملاً متسع شده و در معرض دید قرار گیرند. یک سوزن دندانپیشکی شماره ۳۰ که از طریق یک لوله پلی‌ایلن نازک به دستگاه وصل بود با دقت وارد ورید جانبی دم می‌شد [۱۴، ۱۳]. در صورت مشاهده خون و تصدیق محل ورود، سوزن با چسب مخصوص به دم حیوان فیکس شده و حیوان بلاfacile از مقیدکننده خارج گردیده و در محفظه مخصوص مشاهده قرار می‌گرفت. با شروع انفوژیون و به کار افتادن هم‌زمان کرونومتر، محلول ۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر پنتیلن ترازوول با سرعت ۰/۵ میلی‌لیتر در دقیقه به ورید جانبی دم وارد می‌شد. حیوان در طول مدت آزمایش تحت نظر بوده و انفوژیون زمانی متوقف می‌شد که کلونوس عمومی (کلونوس اندام جلوئی و متعاقب آن کلونوس کامل بدن) مشاهده می‌شد. با درنظر گرفتن زمان ثبت شده، غلظت پنتیلن ترازوول و سرعت انفوژیون، میزان پنتیلن ترازوول مورد نیاز برای ایجاد کلونوس عمومی محاسبه شده و بهصورت آستانه تشنج گزارش شد [۱۴، ۱۳]. نتایج بهصورت میانگین $\pm$ انحراف معیار بیان شده و از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه و متعاقب آن آزمون توکی جهت مقایسه گروههای کنترل و آزمایش در هر مرحله از تشنج باهم استفاده شد. سطح  $P < 0/05$  معنی‌دار در نظر گرفته شد.

#### نتایج

تزریق داخل وریدی پنتیلن ترازوول با یک میزان جریان ثابت تا زمان بروز تشنج کلونیک تمام بدن ادامه یافت. غلظت پنتیلن ترازوول و میزان انفوژیون آن ثابت بود و بنابراین وزن

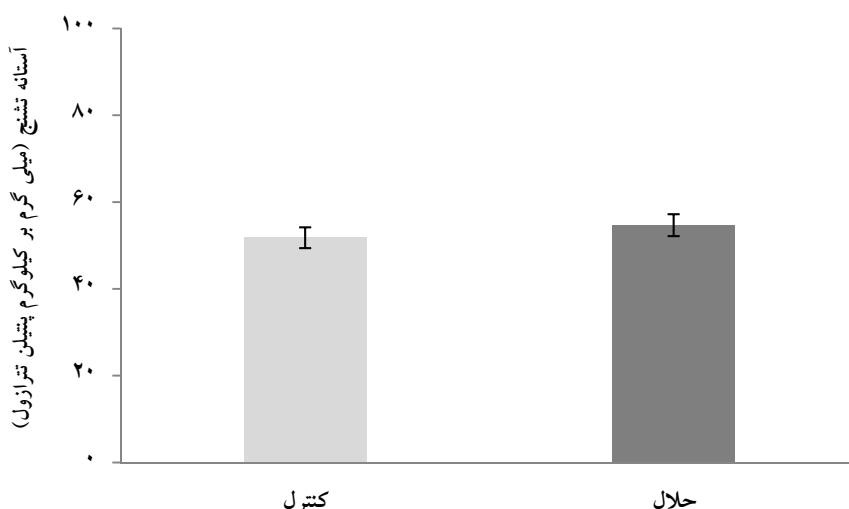
تشنج مورد بررسی قرار داده‌اند. برای مثال نشان داده شده است که پروستاگلاندین E2 (PGE2) تشنجات ناشی از متیل مالونیک اسید را افزایش داده و تجویز سلکوکسیب (مهارکننده اختصاصی COX-2) این اثر تشنج را کاملاً مهار می‌کند [۶]. همچنین، بیان شده است که روکوکسیب و نیمزولاید (مهارکننده‌های غیر اختصاصی COX-2) و آسپرین و ناپروکسن (مهارکننده‌های غیر اختصاصی COX-2) سبب افزایش آستانه تشنج ناشی از PTZ می‌شوند [۷]. در مطالعه‌ای دیگر، تجویز سلکوکسیب از راه دهان ۶۰ دقیقه قبل از تزریق پنتیلن ترازوول اثر ضد تشنج نشان داد و تجویز داخل بطن مغزی PGE2 این اثر ضد تشنج را از بین برد [۸]. با این حال، تجویز روکوکسیب از راه دهان با غلظت ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به‌مدت پنج روز تاثیری بر آستانه تشنج ناشی از PTZ نداشت [۹]. به‌علاوه، تجویز نیمزولاید یا سلکوکسیب سبب تشدید تشنج ناشی از کاینیک اسید و افزایش تعداد مرگ و میر حیوانات شد [۱۰]. از طرف دیگر، حذف ژن COX-2 در نورونهای مغز قدامی تغییری در شدت تشنجات ناشی از پیلوکارپین ایجاد نکرد که نشان می‌دهد حذف COX-2 حداقل در ناحیه مغز قدامی تاثیری بر آستانه تشنج نداشته است [۱۱]. در مجموع مطالعات پیشنهاد می‌کند که COX-2 می‌تواند هم اثر تسهیل‌کننده و هم اثر ضد تشنج داشته باشد و احتمالاً این اثر تشنج را در ارتباط با فعالیت گیرنده‌های PGE2 است [۱۲] با توجه به مطرح بودن نقش پروستاگلاندین‌ها در بروز تشنج و وجود تنافق‌های بسیار در نتایج مطالعات انجام شده و احتمال تاثیر داروهای مهارکننده آنزیم سیکلو‌اسکیزناز-۲ بر آستانه تشنج و اینکه ممکن است بتوان از این داروها در کنترل تشنج استفاده نمود و یا مقادیر نیاز به داروهای معمولی ضد تشنج نظیر دیازپام را کاهش داد، این مطالعه به‌منظور بررسی اثر سلکوکسیب و نیمزولاید (مهارکننده‌های اختصاصی COX-2) بر آستانه تشنج ناشی از تزریق وریدی پنتیلن ترازوول در موسه سوری انجام گردید.

#### مواد و روش‌ها

این پژوهش تجربی روی موسهای سوری با وزن تقریبی ۲۵-۳۰ گرم در مرکز تحقیقات فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی کاشان انجام شد. حیوانات در قفس‌های مختلف و دمای مناسب حیوانخانه و شرایط تاریکی-روشنایی ۱۲ ساعه و دسترسی آسان به آب و غذا نگهداری شده و کلیه اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی حین انجام کار رعایت شدند. تعداد حیوانات در هر گروه با استفاده از منابع موجود ۸ سر موس سوری تخمین زده شد [۱۳]. حیوانات بهصورت تصادفی به ۱۳ گروه زیر تقسیم شدند:

حال برابر  $54/68 \pm 2/52$  میلی گرم بر کیلو گرم بود. بررسی اثر حال نشان داد که توئین  $80$  اثر معنی داری بر آستانه تشنج کلونیک نداشت (شکل شماره ۱).

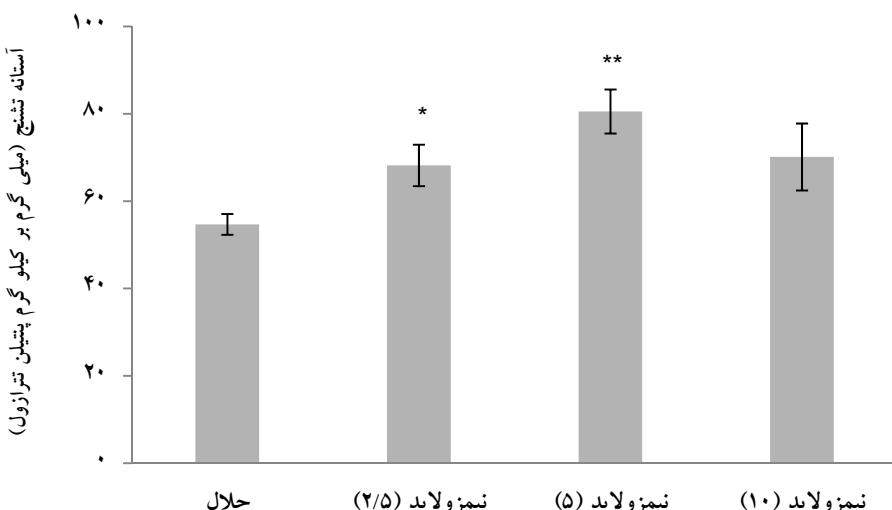
حیوان و طول مدت انفوزیون تنها متغیر مورد نیاز جهت محاسبه دوز آستانه برای هر حیوان بود. آستانه تشنج کلونیک گروه دریافت کننده در گروه کنترل  $2/38 \pm 51/78$  و در گروه توئین  $80$  به عنوان



شکل شماره ۱- میانگین غلظت پتیلن ترازوول جهت آستانه تشنج کلونیک در گروههای کنترل و حال (توئین  $80$ )

کیلو گرم  $70/12 \pm 7/67$  میلی گرم بر کیلو گرم بود. نیمزولاید در غلظت‌های  $2/5$  و  $5$  میلی گرم بر کیلو گرم به صورت معنی داری سبب افزایش آستانه تشنج شد ( $P < 0/01$ ) (شکل شماره ۲).

میانگین غلظت پتیلن ترازوول مورد نیاز برای شروع آستانه تشنج کلونیک گروه نیمزولاید با غلظت  $2/5$  میلی گرم بر کیلو گرم برابر  $68/17 \pm 4/74$  در گروه نیمزولاید با غلظت  $5$  میلی گرم بر کیلو گرم برابر  $80/54 \pm 5/04$  و در گروه نیمزولاید با غلظت  $10$  میلی گرم بر



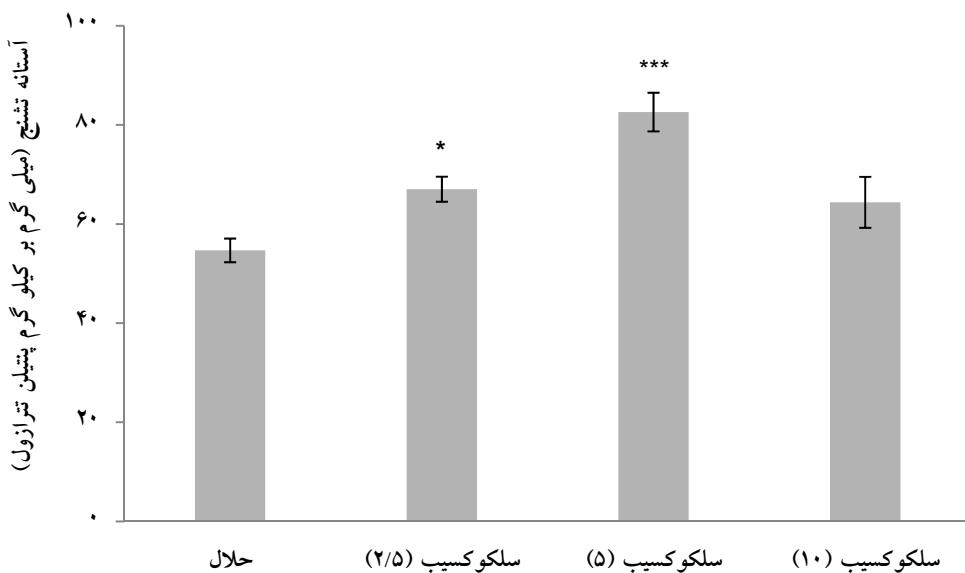
شکل شماره ۲- اثر غلظت‌های مختلف نیمزولاید ( $2/5$ ،  $5$  و  $10$  میلی گرم بر کیلو گرم) بر آستانه تشنج کلونیک ناشی از پتیلن ترازوول مقایسه با گروه حال  $*P < 0/01$  و  $**P < 0/05$

در گروه سلکوکسیب با غلظت  $5$  میلی گرم بر کیلو گرم برابر  $67/02 \pm 7/74$  و در گروه سلکوکسیب با غلظت  $10$  میلی گرم برابر  $82/057 \pm 3/9$  و در گروه سلکوکسیب با غلظت  $2/5$  میلی گرم بر کیلو گرم برابر

میانگین غلظت پتیلن ترازوول مورد نیاز برای شروع آستانه تشنج کلونیک گروه سلکوکسیب با غلظت  $2/5$  میلی گرم بر کیلو گرم برابر

بر کیلوگرم به صورت معنی داری سبب افزایش آستانه تشنج شده است ( $P<0.01$ ) (شکل شماره ۳).

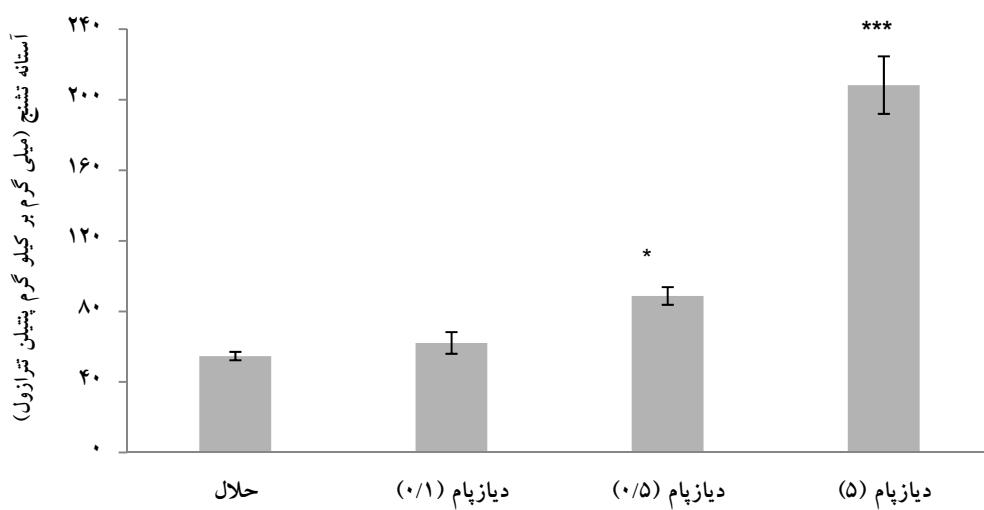
گرم بر کیلوگرم  $64/36\pm5/13$  میلی گرم بر کیلوگرم بود. مقایسه آماری نشان داد که سلکوکسیب با غلظت های  $2/5$  و  $5$  میلی گرم



شکل شماره ۳- اثر غلظت های مختلف سلکوکسیب ( $0.5$ ،  $5$  و  $10$  میلی گرم بر کیلوگرم) بر آستانه تشنج کلونیک ناشی از پتیلن ترازول  $*P<0.01$  و  $**P<0.001$  مقایسه با گروه حلال

کیلوگرم  $20.8/3\pm16/3$  بود. تفاوت معنی داری بین گروه حلال و دیازپام با غلظت  $0.05$  ( $P<0.01$ ) و گروه حلال با دیازپام  $5$  میلی گرم بر کیلوگرم مشاهده شد و این دو دوز به صورت معنی داری سبب افزایش آستانه تشنج شدند ( $P<0.01$ ) (شکل شماره ۴).

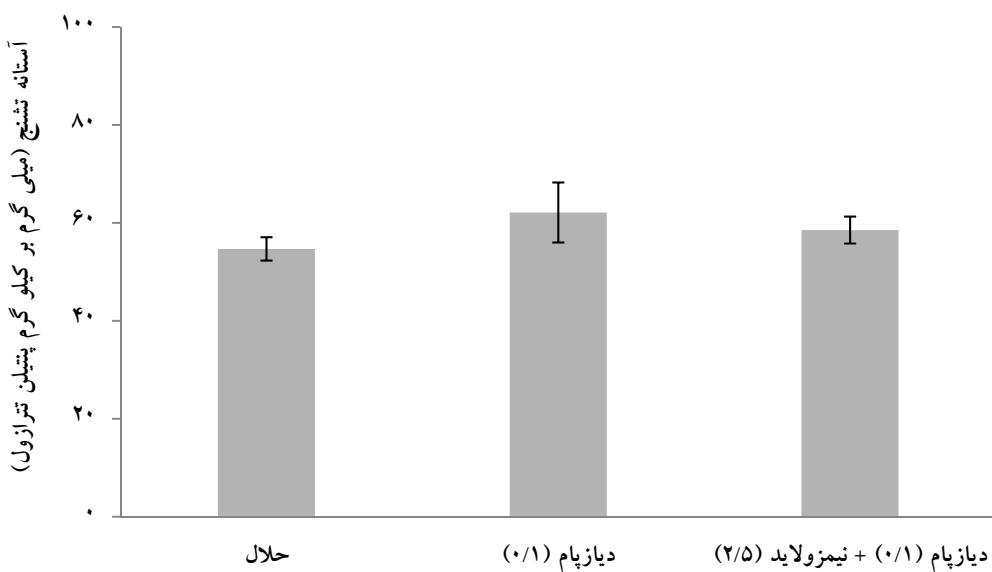
میانگین غلظت پتیلن ترازول مورد نیاز برای شروع آستانه تشنج کلونیک گروه دیازپام با غلظت  $0.01$  میلی گرم بر کیلوگرم برابر  $62/12\pm6/13$  در گروه دیازپام با غلظت  $0.05$  میلی گرم بر کیلوگرم برابر  $88/73\pm5/03$  و در گروه دیازپام با غلظت  $5$  میلی گرم بر



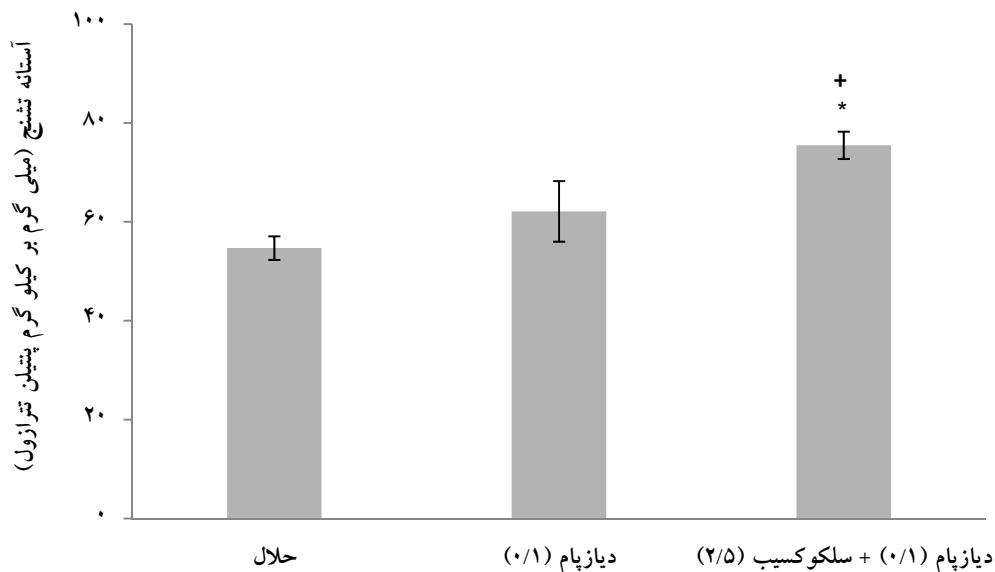
شکل شماره ۴- اثر غلظت های مختلف دیازپام ( $0.01$ ،  $0.05$  و  $5$  میلی گرم بر کیلوگرم) بر آستانه تشنج کلونیک ناشی از پتیلن ترازول  $*P<0.05$  و  $**P<0.001$  مقایسه با گروه حلال

کیلوگرم) برابر  $75/5 \pm 6/11$  میلی گرم بود (شکل شماره ۶). تفاوت معنی داری بین گروه حلال و گروه ترکیب دوز غیر موثر دیازپام (غلظت  $0/1$  میلی گرم بر کیلوگرم) و دوز غیر موثر سلکوکسیب (غلظت  $2/5$  میلی گرم بر کیلوگرم) مشاهده شد و ترکیب این دو سبب افزایش معنی دار در آستانه تشنج نسبت به گروه حلال شد ( $P < 0/01$ ).

میانگین غلظت پتیلن ترازول مورد نیاز برای شروع آستانه تشنج کلونیک گروه ترکیب دوز غیر موثر دیازپام (غلظت  $0/1$  میلی گرم بر کیلوگرم) و دوز غیر موثر نیمزولاید (غلظت  $2/5$  میلی گرم بر کیلوگرم) برابر  $58/52 \pm 2/76$  میلی گرم بر کیلوگرم (شکل شماره ۵) بود که تفاوت معنی داری را نسبت به گروه حلال نشان نداد. در گروه ترکیب دوز غیر موثر دیازپام (غلظت  $0/1$  میلی گرم بر کیلوگرم) و دوز غیر موثر سلکوکسیب (غلظت  $2/5$  میلی گرم بر



شکل شماره ۵- اثر ترکیب دوز های غیر موثر دیازپام ( $0/1$  میلی گرم بر کیلوگرم) و نیمزولاید ( $2/5$  میلی گرم بر کیلوگرم) بر آستانه تشنج کلونیک ناشی از پتیلن ترازول



شکل شماره ۶- اثر ترکیب دوز های غیر موثر دیازپام ( $0/1$  میلی گرم بر کیلوگرم) و سلکوکسیب ( $2/5$  میلی گرم بر کیلوگرم) بر آستانه تشنج کلونیک ناشی از پتیلن ترازول،

\* مقایسه با گروه حلال،  $P < 0/05$  + مقایسه با گروه دیازپام

## بحث

ناشی از تزریق داخل صفاقی PTZ را کاهش داد، ولی دوز ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم این ترکیبات بی‌تأثیر بود [۷]. نتایج متضاد مطالعات مختلف می‌تواند به علت دوز مورد استفاده دارو باشد. در مطالعه حاضر دوز ۲/۵ و ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم نیمزولاید و PTZ سلکوکسیب به طور معنی‌داری آستانه تشنج کلونیک ناشی از PTZ را افزایش داد. در مطالعه Oliveira و همکاران (۲۰۰۷) نیز تجویز دهانی سلکوکسیب با دوز ۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم سبب افزایش آستانه تشنج شد [۸]. بنابراین، به نظر می‌رسد وجود یک دوز حداقل برای پاسخ‌دهی مهارگرهای COX-2 در کاهش آستانه تشنج لازم باشد. از طرف دیگر، در مطالعه حاضر استفاده از دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نیمزولاید و سلکوکسیب تأثیر معنی‌داری در تغییر آستانه تشنج PTZ نداشت. در همین زمینه در مطالعه Akarsu و همکاران (۲۰۰۶) بدون تأثیر بودن دوز ۲۰ و ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ترکیب SC-58236 گزارش شده است [۹]. همچنین، در مطالعه Oliveira و همکاران دوز ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سلکوکسیب تأثیری در تشنج ناشی از PTZ نداشت [۸]. این اثر دوگانه می‌تواند به علت اثر غیر انتخابی این ترکیبات باشد. برای مثال، Ciceri و همکاران نشان داده‌اند که دوز ۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم سلکوکسیب کاملاً ایزوآنزیم 2 COX-2 را در مغز مهار می‌کند [۲۰]. به احتمال قوی دوز ۵ برابر در مطالعه حاضر و دوز ۱۰ برابر در مطالعه Oliveira دوز غیر انتخابی بوده و سبب مهار ایزوآنزیم 1 COX-1 شده است. با توجه به اثر تشنج‌زای مهارگرهای انتخابی-1 COX-1 به نظر می‌رسد اثر دوگانه آنها به واسطه غیر انتخابی بودن دوزهای بالای این ترکیبات باشد. گزارشاتی مبنی بر اثر متفاوت ایزوآنزیم‌های COX در بیان پروستاگلاندین‌ها وجود دارد؛ به‌گونه‌ای که بیان شده است پروستاگلاندین E2 بیشتر به واسطه COX-1 و پروستاگلاندین D2 بیشتر به واسطه COX-2 بیان می‌شود [۲۱]. تزریق داخل بطی خود پروستاگلاندین E2 اثر ضد تشنجی سلکوکسیب را از بین برده و آستانه تشنج PTZ را کاهش می‌دهد [۸]. شواهد بسیاری نقش گابا را در تشنجات نشان می‌دهند. گابا میانجی عصبی مهاری عمدۀ در قشر مغز است. سطح گلوتامات بلافارسله قبل از شروع تشنج افزایش می‌یابد، در حالی که سطح گابا در زمان تشنج پائین است [۲۲]. گیرنده GABA<sub>A</sub> مسئول انتقال سیگنال عصبی مهاری در سیستم عصبی مرکزی است و بنابراین در اضطراب، خواب و صرع به عنوان یک هدف درمانی مدنظر است. ترکیباتی نظیر باریتیورات‌ها، بیزودیازپین‌ها، استروئیدهای عصبی و پیکروتوکسین در محل‌های مجزا و تا حدودی شناخته نشده با گیرنده GABA<sub>A</sub> واکنش می‌دهند. آگونیست‌های گیرنده GABA<sub>A</sub> نظیر موسیمول و نیز

آنژیم سیکلو اکسیژنаз آنزیمی کلیدی در تبدیل اسید آراشیدونیک مشتق از غشاء به پروستاگلاندین‌ها می‌باشد که به صورت دو ایزوفرم COX-1 و COX-2 وجود دارد. ایزوفرم COX-1 به صورت خودبه‌خودی بیان شده و در اعمال طبیعی سلول‌ها نقش دارد. در مقابل به نظر می‌رسد ایزوفرم COX-2 به صورت القاء شونده بوده و افزایش بیان آن در اختلالات عصبی گوناگون مانند آلزایمر و صرع دیده شده است [۲]. نتایج فیزیولوژیک یا پاتولوژیک فعالیت COX-2 بستگی به سطح بیان آن دارد. در حالت فعالیت طبیعی سلول‌ها سطوح پائین COX-2 بیان می‌شود، در حالی که در وضعیت‌های پاتولوژیک بیان بیش از حد آن دیده می‌شود [۱۵]. یک حمله منفرد تشنجی افزایش ۱۰ برابری در بیان COX-2 ایجاد می‌کند، در حالی که حملات مدام از تشنجی نظیر تزریق اسید کاینیک افزایش ۷۰ برابری بیان COX-2 را در هپیوکامپ ایجاد می‌کند [۱۶]. با توجه به نقش پروستاگلاندین‌ها در تشنج و وجود تناقضات در نتایج مطالعات، این مطالعه به‌منظور بررسی اثر سلکوکسیب و نیمزولاید (مهارگرهای اختصاصی 2-COX) بر آستانه تشنج ناشی از تزریق وریدی پتیلن ترازوول در موش سوری انجام گردید. در مطالعه حاضر نیمزولاید و سلکوکسیب تشنجات ناشی از پتیلن ترازوول را کاهش دادند. دوز پتیلن ترازوول برای شروع آستانه تشنج کلونیک در گروه کنترل ۵۴/۶۸±۲/۳۸ و در گروه‌های نیمزولاید (۲/۵ و ۶۸/۱۷±۴/۷۴ و نیمزولاید (۵) ۸۰/۵۴±۵/۰۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم بود که افزایش معنی‌داری را نسبت به گروه کنترل نشان داد. همچنین، دوز پتیلن ترازوول در گروه سلکوکسیب (۲/۵) ۶۷/۰۲±۷/۷۴ و در گروه سلکوکسیب (۵) ۸۲/۰۷±۳/۹ میلی‌گرم بر کیلوگرم بود که افزایش معنی‌داری را نسبت به گروه کنترل نشان داد. شواهد متعددی پیشنهاد می‌کنند که COX-2 در اختلالات عصبی متعدد از جمله صرع نقش دارد. برای مثال بیماران با صرع لوب گیجگاهی [۱۷] و موش‌های که از لحاظ ژنتیکی مستعد به تشنج هستند [۱۸]، افزایش بیان COX-2 در مغز دارند. با این حال نتایج گیج کننده‌ای از اثرات مهارگرهای اختصاصی 2-COX بر تشنجات ناشی از PTZ به دست آمده است و این ترکیبات یا بدون اثر بوده و یا اثر ضد تشنجی از خود نشان داده‌اند. Akarsu و همکاران نشان داده‌اند ترکیب SC-58236 که یک مهارگر اختصاصی 2-COX است تأثیری بر تشنجات ناشی از PTZ ندارد [۱۹]. در مطالعه Dhir و همکاران تجویز دهانی دوزهای ۲/۵ و ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم نیمزولاید و نیز دوزهای ۲ و ۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم رووفکوکسیب آستانه تشنج

COX-2 دارد. در همین زمینه در مطالعه Dhir و همکاران (۲۰۰۶) استفاده از فلومازنیل، آنتاگونیست گیرنده GABA<sub>A</sub> آستانه تشنج ناشی از PTZ را کاهش داده و طول مدت تشنج را افزایش داد. همچنین، پیش درمان با روکوکسیب و نیمزولاید به عنوان مهارگر COX-2 اثر فلومازنیل را از بین برد و بروز تشنج را کاهش داد [۷]. بعلاوه، اسید آرشیدونیک که پیش ساز پروستاگلاندین‌ها است، به عنوان یک پیامبر ثانویه در مغز عمل کرده، غلظت گلوتامات را در مغز افزایش می‌دهد و نیز با تولید پروستاگلاندین E2 رهایش گلوتامات را از انتهای نورون‌ها و آستروپیست‌ها تحریک می‌کند [۲۶]. از طرف دیگر، احتمال می‌رود فعال شدن آنژیم COX-2 سبب افزایش رادیکال‌های آزاد و استرس اکسیداتیو شده و به آپوپتوز نورون‌های گابا منجر شود که خود رهایش گلوتامات را افزایش داده و احتمال بروز تشنج را زیاد می‌کند [۲۷].

### نتیجه‌گیری

در مجموع مقایسه نتایج مطالعه حاضر با سایر مطالعات مشابه انجام شده در این زمینه نقش COX-2 را در احتمال بروز تشنج تائید نموده و نشان می‌دهد که ترکیب داروهای رایج ضد صرع با برخی مهارکننده‌های COX-2 می‌تواند به عنوان یک روش درمانی جدید مد نظر باشد.

### تشکر و قدردانی

این مقاله از پایان‌نامه دکتری پژوهشی استخراج شده است. نویسنده‌گان از معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه برای حمایت از این پژوهش قدردانی می‌نمایند.

### References:

- [1] Stafstrom CE, Carmant L. Seizures and epilepsy: an overview for neuroscientists. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2015; 5(6).
- [2] Rojas A, Jiang J, Ganesh T, Yang MS, Lelutiu N, Gueorguieva P, et al. Cyclooxygenase-2 in epilepsy. *Epilepsia* 2014; 55(1): 17-25.
- [3] 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; 44: 98-103.
- [4] Tanaka S, Nakamura T, Sumitani K, Takahashi F, Konishi R, Itano T, et al. Stage- and region-specific cyclooxygenase expression and effects of a selective COX-1 inhibitor in the mouse amygdala kindling model. *Neurosci Res* 2009; 65(1): 79-87.
- [5] Suemaru K, Yoshikawa M, Tanaka A, Araki H, Aso H, Watanabe M. Anticonvulsant effects of acetaminophen in mice: Comparison with the effects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Epilepsy Res* 2018; 140: 22-28.
- [6] Salvadori MG, Banderó CR, Jesse AC, Gomes AT, Rambo LM, Bueno LM, et al. Prostaglandin E(2) potentiates methylmalonate-induced seizures. *Epilepsia* 2012; 53(1): 189-98.
- [7] Dhir A, Naidu PS, Kulkarni SK. Effect of cyclooxygenase inhibitors on pentylenetetrazol (PTZ)-induced convulsions: Possible mechanism of action. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2006; 30 (8): 1478-85.
- [8] Oliveira MS, Furian AF, Royes LF, Fighera MR, Fiorenza NG, Castelli M, et al. Cyclooxygenase-2

داروهایی نظری دیازپام که به صورت آلوستریک کمپلکس کاتال گیرنده GABA<sub>A</sub> را تعديل می‌کنند، در درمان حملات تشنجی استفاده درمانی دارند [۲۳]. بنابراین، به منظور بررسی نقش گابا در اثر ضد تشنجی مهارگرهای COX-2 از ترکیب دوز غیر موثر سلکوکسیب و نیمزولاید در ترکیب با دوز تحت محافظتی دیازپام استفاده شد. نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد دوز ۱/۰ میلی گرم به ازای ۱ کیلو گرم دیازپام اثر تحت محافظتی داشته و نتوانست به صورت معنی‌داری تشنج ناشی از PTZ را افزایش دهد. از طرف دیگر، ترکیب دوز تحت محافظتی دیازپام با دوز ۲/۵ میلی گرم در ۱ کیلو گرم سلکوکسیب توانست به صورت معنی‌داری آستانه تشنج کلوفنیک را افزایش دهد، در حالی که ترکیب دوز تحت محافظتی دیازپام با دوز ۲/۵ میلی گرم در ۱ کیلو گرم نیمزولاید آستانه تشنج کلوفنیک را تغییر نداد. علت تفاوت اثر این دو دارو می‌تواند تا حدی به اختصاصی بودن این مهارکننده‌ها مربوط باشد؛ به گونه‌ای که نیمزولاید که یک مهارکننده اختصاصی COX-2 است، تمایل بسیار کمی به ایزوفرم COX-1 دارد [۲۴]. در حالی که طبق یافته‌های اخیر سلکوکسیب که خود جزء مهارکننده‌های اختصاصی COX-2 طبقه‌بندی می‌شود، می‌تواند ایزوآنژیم COX-1 را هم مهار کند [۲۵]. پس تفاوت اثر این دو مهارکننده می‌تواند تا حدودی به تاثیر سلکوکسیب بر COX-1 مربوط باشد. از طرف دیگر، گزارشاتی وجود دارد که نشان می‌دهد اثر ضد تشنج نیمزولاید به واسطه افزایش گابا می‌باشد. بنابراین، احتمال می‌رود برخی مهارگرهای COX-2 نظری سلکوکسیب از طریق نورون‌های گاباوارژیگ عمل کرده و با افزایش میانجی مهاری گابا رهایش گلوتامات را کاهش دهند؛ هرچند این فرضیه نیاز به بررسی بیشتر و اندازه‌گیری سطح گلوتامات به دنبال استفاده از مهارگرهای

- nase-2/PGE2 pathway facilitates pentylenetetrazol-induced seizures. *Epilepsy Res* 2008; 79(1): 14–21.
- [9] Claycomb RJ, Hewett SJ, Hewett JA. Prophylactic, prandial rofecoxib treatment lacks efficacy against acute PTZ-induced seizure generation and kindling acquisition. *Epilepsia* 2011; 52(2): 273–83.
- [10] Gobbo OL, O'Mara SM. Post-treatment, but not pre-treatment, with the selective cyclooxygenase-2 inhibitor celecoxib markedly enhances functional recovery from kainic acid-induced neurodegeneration. *Neuroscience* 2004; 125(2): 317–27.
- [11] Serrano GE, Lelutiu N, Rojas A, Cochi S, Shaw R, Makinson CD, et al. Ablation of cyclooxygenase-2 in forebrain neurons is neuroprotective and dampens brain inflammation after status epilepticus. *J Neurosci* 2011; 31(42): 14850–60.
- [12] Chen C, Bazan NG. Endogenous PGE2 regulates membrane excitability and synaptic transmission in hippocampal CA1 pyramidal neurons. *J Neurophysiol* 2005; 93(2): 929–41.
- [13] Heydari A, Davoudi S. The effect of sertraline and 8-OH-DPAT on the PTZ-induced seizure threshold: Role of the nitrergic system. *Seizure* 2017; 45: 119–24.
- [14] Mesdaghinia A, Yazdanpanah H, Sedighi M, Banafshe HR, Heydari A. Effect of short-term lead exposure on PTZ-induced seizure threshold in mice. *Toxicol Lett* 2010; 199(1): 6–9.
- [15] Yang H, Chen C. Cyclooxygenase-2 in synaptic signaling. *Curr Pharm Des* 2008; 14 (14): 1443–51.
- [16] Marcheselli VL, Bazan NG. Sustained induction of prostaglandin endoperoxide synthase-2 by seizures in hippocampus. *J Biol Chem* 1996; 271 (40): 24794–9.
- [17] Desjardins P, Sauvageau A, Bouthillier A, Navarro D, Hazell AS, Rose C, et al. Induction of astrocytic cyclooxygenase-2 in epileptic patients with hippocampal sclerosis. *Neurochem Int* 2003; 42 (4): 299–303.
- [18] Okada K, Yuhi T, Tsuji S, Yamashita U. Cyclooxygenase-2 expression in the hippocampus of genetically epilepsy susceptible El mice were increased after seizure. *Brain Res* 2001; 894 (2): 332–5.
- [19] Akarsu ES, Ozdayi S, Algan E, Ulupinar F. The neuronal excitability time-dependently changes after lipopolysaccharide administration in mice: possible role of cyclooxygenase-2 induction. *Epilepsy Res* 2006; 71(2–3): 181–7.
- [20] Ciceri P, Zhang Y, Shaffer AF, Leahy KM, Woerner MB, Smith WG, et al. Pharmacology of celecoxib in rat brain after kainate administration. *J Pharmacol Exp Ther* 2002; 302(3): 846–852.
- [21] Ueno N, Takegoshi Y, Kamei D, Kudo I, Murakami M. Coupling between cyclooxygenases and terminal prostanoid synthases. *Biochem Biophys Res Commun* 2005; 338(1): 70–6.
- [22] Rowley NM, Madsen KK, Schousboe A, Steve White H. Glutamate and GABA synthesis, release, transport and metabolism as targets for seizure control. *Neurochem Int* 2012; 61(4): 546–58.
- [23] Olsen RW. GABAA receptor: Positive and negative allosteric modulators. *Neuropharmacology* 2018; S0028-3908(18): 30036–4.
- [24] Dhir A, Naidu PS, Kulkarni SK. Neuroprotective effect of nimesulide, a preferential COX-2 inhibitor, against pentylenetetrazol (PTZ)-induced chemical kindling and associated biochemical parameters in mice. *Seizure* 2007; 16(8): 691–7.
- [25] Liu B, Luo W, Zhang Y, Li H, Zhu N, Huang D, Zhou Y. Effect of celecoxib on cyclooxygenase-1-mediated prostacyclin synthesis and endothelium-dependent contraction in mouse arteries. *Eur J Pharmacol* 2013; 698(1–3): 354–61.
- [26] Sang N, Zhang J, Chen C. COX-2 oxidative metabolite of endocannabinoid 2-AG enhances excitatory glutamatergic synaptic transmission and induces neurotoxicity. *J Neurochem* 2007; 102(6): 1966–77.
- [27] Andrade C, Singh NM, Thyagarajan S, Nagaraja N, Sanjay Kumar Rao N, et al. Possible glutamatergic and lipid signalling mechanisms in ECT-induced retrograde amnesia: experimental evidence for involvement of COX-2, and review of literature. *J Psychiatr Res* 2008; 42(10): 837–50.