



Effect of intracerebroventricular injection of COX-1 inhibitor (ketoprofen) on PTZ-induced seizures in male rat

Elham norouzi¹, Keyvan Keramati¹, Morteza Zendehdel^{2*}

1. Dept. Biology, Faculty of Basic Sciences, Islamic Azad University, Damghan Branch, Damghan, Semnan, Iran

2. Division of Physiology, Dept. Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, university of Tehran, Tehran, Iran

Received: 16 March 2010

Accepted: 27 June 2010

Abstract

Introduction: Ketoprofen is an NSAID and selective COX-1 inhibitor. In our previous study the role of flunixin meglumine, a nonselective COX inhibitor was studied on seizure and its anticonvulsant effects were confirmed. Therefore this research is performed to assess the role of a selective COX-1 inhibitor, ketoprofen in treatment of seizures induced by PTZ.

Methods: In this research, male Wistar rats (200±20 g) were given intracerebroventricular injections (1µl volume in each), of saline or ketoprofen (25 µg, 50 µg and 100 µg) before intraperitoneal administration of PTZ (80 mg/kg) for induction of seizure. Then, seizure score and times of onset of every stage of seizure were recorded during 20 minutes after PTZ administration. The data was analyzed by one-way analysis of variance (ANOVA) and nonparametric tests.

Results: Result of this research indicated that the injection of 50 µg of ketoprofen significantly increased the time of onset of partial seizure compared to the control group. Also ketoprofen with doses of 50 and 100 µg significantly increased the time of onset of generalized (tonic-clonic) seizures compared to the control group. On the other hand, 25 µg of ketoprofen did not have a significant effect in comparison with the control group. Fifty µg of ketoprofen decreased the seizure score compared to the control, but this decrease did not reach significance ($P>0.05$).

Conclusion: We conclude that ketoprofen has anticonvulsive properties.

Key words: Epilepsy, Ketoprofen, PTZ, COX₁

* Corresponding author e-mail: zendedel@ut.ac.ir
Available online at: www.phypha.ir/ppj

اثر تزریق داخل بطنی مغزی مهار کننده آنزیم سیکلواکسیژناز ۱ (کتوپروفن) بر تشنجات ناشی از PTZ در موش صحرائی نر

الهام نوروزی^۱، کیوان کرامتی^۱، مرتضی زنده‌دل^{۲*}

۱. گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان، دامغان

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

پذیرش: ۶ تیر ۸۹

دریافت: ۲۵ اسفند ۸۸

چکیده

مقدمه: کتوپروفن داروی ضد التهاب غیر استروئیدی و مهارکننده‌ی انتخابی سیکلواکسیژناز یک می‌باشد. با توجه به اینکه در مطالعات قبلی ما اثرات ضد تشنجی فلونکسین مگلو مین بعنوان مهار کننده غیر انتخابی آنزیم سیکلواکسیژناز به اثبات رسید، لذا پژوهش حاضر به منظور بررسی نقش مهار کننده انتخابی آنزیم سیکلواکسیژناز یک (کتوپروفن) بر درمان صرع ناشی از PTZ به انجام رسیده است.

روش‌ها: در این تحقیق موش های صحرائی نر ($20 \pm 20g$) قبل از تجویز داخل صفاقی پنتیلن تترازول (PTZ) ($80 mg/kg$) برای القاء تشنج، تحت تزریق داخل بطنی مغزی سالین یا کتوپروفن ($50 \mu g$ ، $25 \mu g$ و $100 \mu g$) قرار گرفتند. سپس امتیاز تشنجی (Seizure Score) و زمان بروز هر یک از مراحل تشنج در مدت زمان ۲۰ 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.

یافته‌ها: نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد تزریق دوز ۵۰ میکروگرم از کتوپروفن زمان لازم برای شروع تشنج های سطحی القا شده توسط PTZ را در مقایسه با گروه کنترل بطور معنی‌داری افزایش داد ($P < 0.05$). همچنین کتوپروفن با دوزهای ۵۰ و ۱۰۰ میکروگرم زمان لازم برای شروع تشنج های جنرالیزه را در مقایسه با گروه کنترل به طور معنی‌داری افزایش داد ($P < 0.05$). هیچکدام از گروهها در مقایسه با گروه کنترل اثری بر امتیاز تشنجی (Seizure Score) نداشتند.

نتیجه‌گیری: براساس نتایج حاصل داروی کتوپروفن دارای خاصیت ضد تشنجی است.

واژه‌های کلیدی: صرع، کتوپروفن، پنتیلن تترازول، سیکلواکسیژناز یک

مقدمه

گوناگون، عفونتها، تومورها، ضربه فیزیکی، بیماری‌های مادرزادی، تب، عوامل سمی و عوامل متابولیک را در بر می‌گیرد [۱]. سیکلواکسیژناز بعنوان آنزیم سنتز کننده پروستاگلاندین ها و به دلیل ایفای نقش در اختلالات و بیماری‌های عصبی، ممکن است نقش ویژه‌ای در بیماری‌زایی صرع نیز داشته باشد. همچنین نوروترانسمیترهای مختلف، بوپزه گابا و گلوتامات نقشی کلیدی در پاتولوژی صرع دارند [۶]. داروهای ضد التهاب غیراستروئیدی (NSAIDs) دارای اثر

صرع (Epilepsy) یکی از شایع‌ترین مشکلات عصبی است که نیم تا یک درصد مردم جهان با آن درگیرند [۱۱]. علل حملات صرعی متعدد بوده بطوریکه بیماری‌های عصبی

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

* نویسنده مسئول مکاتبات:
وبگاه مجله:

گرفت (Watson DV= -3.3 و ML= +1.6 mm ، AP= -.8 mm)، کانول تزریق در ناحیه‌ی بطن طرفی مغز قرار mm از سطح جمجمه). یک هفته پس از جراحی، یعنی زمانی که محل جراحی بهبود یافت، موش‌ها جهت انجام تزریقات و بررسی شاخص‌های موردنظر به ۴ گروه (شامل گروه کنترل و گروه‌های مورد تزریق با مقادیر مختلف کتوپروفن) تقسیم شدند (n=۷-۹). حیوانات در گروه کنترل تحت تزریق درون بطنی مغزی یک میکرولیتر سالین و در گروه‌های آزمایشی تحت تزریق داخل بطنی مغزی دوزهای ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میکروگرم کتوپروفن (هر یک به حجم یک میکرولیتر) واقع شدند [۵].

به منظور تزریق درون بطنی مغزی از سرنگ هامیلتون (ساخت شرکت هامیلتون سوئیس) و سر سوزن دندانپزشکی شماره ۲۹ استفاده شد. بلافاصله پس از تزریق درون بطنی مغزی، در تمام گروه‌ها به منظور القا تشنج حاد، مقدار ۸۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن موش، داروی پنتیلین تترازول تزریق شد که این دوز بر اساس مطالعات قبلی [۴،۵] و Pilot Study انتخاب شد. سپس امتیاز تشنجی (Seizure Score) و زمان بروز هریک از مراحل تشنج پس از تزریق درون صفاقی PTZ در مدت ۲۰ دقیقه مورد ارزیابی و ثبت قرار گرفت. ضمناً در پایان آزمایش‌ها مقدار یک میکرولیتر ماده‌ی رنگی بلودومیلین از طریق کانول راهنما تزریق شد و پس از جدا کردن سر حیوان مغز آنها خارج گردید و از مغز موش‌ها 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 بصورت زیر مورد بررسی قرار گرفت [۳].

مرحله صفر: رفتارهای معمولی حیوان

مرحله ۱: تشنجات منفرد میوکلونیک (سر تیک سر)

مرحله ۲: تشنجات مکرر سر همراه با تکان‌های ناگهانی

اندام قدامی و سرازیر شدن بزاق دهانی

مرحله ۳: تشنج کل بدن و اندام حرکتی قدامی، معمولاً

پاها از هم باز شده و حیوان بر روی پاها بلند می‌شود.

مرحله ۴: تشنج‌های کلونیک - تونیک جنرالیزه

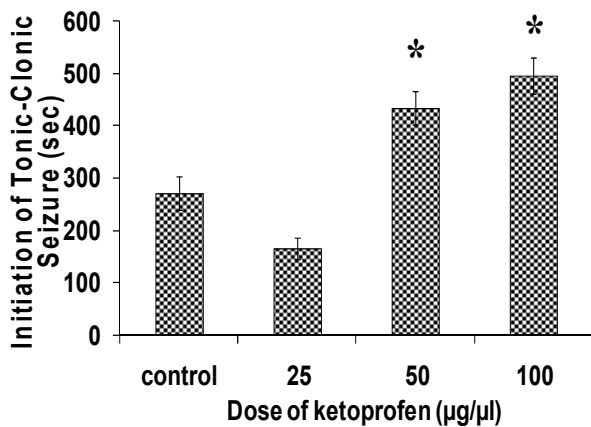
مرحله ۵: چرخش و پرش مکرر حیوان و افتادن به پهلو

مرحله ۶: مرگ

مهارى بر فعاليت سیکلواکسیژناز ها هستند و از طريق متوقف کردن سنتز پروستاگلاندین‌ها اثرات ضد التهاب، ضد درد و ضد تب خود را نشان می‌دهند [۸،۱۲]. کتوپروفن از جمله داروهای NSAIDs است که خواص درمانی مختلفی در خصوص آن ذکر شده است [۲]. نظر به این که این ترکیب مهارکننده انتخابی COX-1 می‌باشد [۸] و با توجه به اینکه در مطالعه قبلی ما نقش فلونکسین مگلو مین بعنوان مهارکننده غیرانتخابی آنزیم سیکلواکسیژناز بر تشنجات ناشی از PTZ مورد بررسی قرار گرفت و اثرات ضد تشنجی آن نیز به اثبات رسید، لذا پژوهش حاضر به منظور مطالعه دقیقتر نقش ایزوفرم‌های سیکلواکسیژناز در بروز صرع، به بررسی اثر تجویز داخل بطنی مغزی کتوپروفن (بعنوان مهارکننده‌ی انتخابی یا ترجیحی سیکلواکسیژناز یک) (۸) در بروز تشنجات ناشی از پنتیلین تترازول در موش صحرایی نر به انجام رسیده است.

مواد و روشها

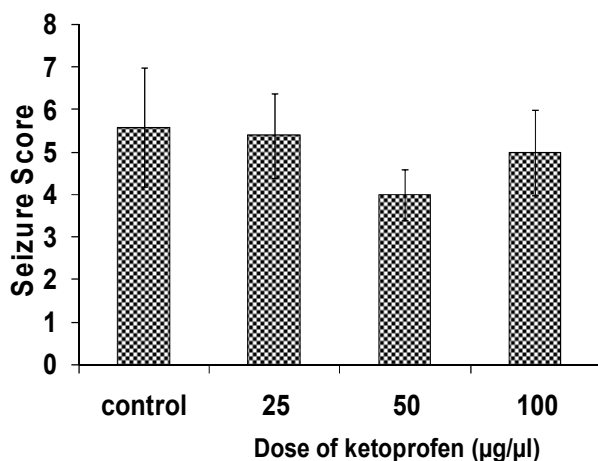
در این تحقیق از موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار با وزن تقریبی 20 ± 20 گرم (تهیه شده از انستیتو پاستور ایران) استفاده شد. حیوانات بطور تصادفی گروه‌بندی شدند و تحت شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی با دمای 22 ± 3 درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند در طی مدت نگهداری حیوانات دسترسی آزاد به آب و غذای کافی داشتند (خوراک دام پارس، تهران). در این مطالعه موازین اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی رعایت گردید. داروی‌های مورد استفاده در این مطالعه دو داروی کتوپروفن (ساخت شرکت دارویی رازک) و پنتیلین تترازول (ساخت شرکت دارویی سیگما، آمریکا) بود. لازم به ذکر است هر دو دارو ابتدا در نرمال سالین حل شدند و سپس مورد استفاده قرار گرفتند در این پژوهش به منظور تعبیه کانول راهنما (سرسوزن شماره ۲۳) در بطن طرفی مغز موش، از روش جراحی استریوتاکسی استفاده شد. بدین منظور موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار پس از بیهوشی به وسیله‌ی کتامین (100 mg/kg, ip) و گزایلازین (25 mg/kg, ip) [۱۱،۷] تحت عمل جراحی قرار گرفته و به کمک دستگاه استریوتاکسی (ساخت شرکت Stoelting آمریکا) و اطلس مختصات مغز موش صحرایی (Paxinos and



شکل ۲- اثر تزریق داخل بطنی مغزی کتوپروفن (۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میکروگرم به ازای هر موش) بر مدت زمان تاخیری تا شروع تشنج های عمومی (تونیک-کلونیک). نشان دهنده تفاوت معنی دار با گروه کنترل، ($n=7-9$). * $P<0.05$, Control=Saline.

شروع تشنجات عمومی (تونیک-کلونیک) را در مقایسه با گروه کنترل به شکل معنی داری افزایش داد ($p<0.05$) (شکل ۲). ضمناً دوز ۲۵ میکروگرم کتوپروفن اثری بر زمان لازم برای شروع مراحل مختلف تشنج ناشی از PTZ نداشت ($P>0.05$) (شکل ۱ و ۲).

علاوه بر این، تزریق داخل بطنی مغزی دوز ۵۰ میکروگرم کتوپروفن امتیاز تشنجی را در مقایسه با گروه کنترل کاهش داد اما این کاهش از نظر آماری معنی دار نبود ($P>0.05$) (شکل ۳). دوزهای ۲۵ و ۱۰۰ میکروگرم کتوپروفن هیچگونه اثری بر امتیاز تشنجی ناشی از PTZ نداشتند ($P>0.05$) (شکل ۳).



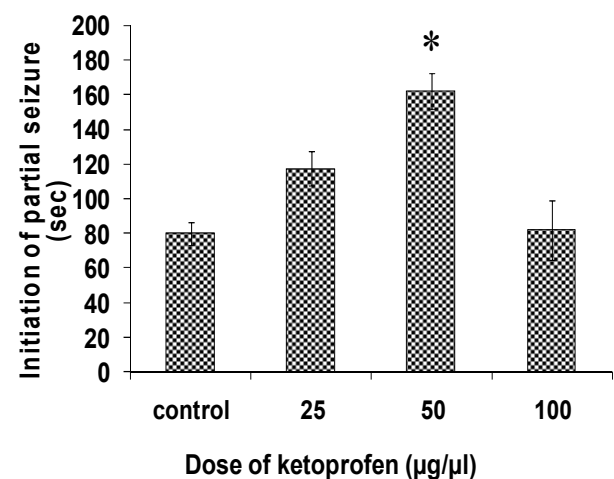
شکل ۳- اثر تزریق داخل بطنی مغزی کتوپروفن (۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میکروگرم به ازای هر موش) بر امتیاز تشنجی (Seizure Score). Control=Saline. ($n=7-9$).

نحوه‌ی محاسبه‌ی داده‌ها 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
 ضمناً مراحل ۱ تا ۳ بعنوان تشنج های سطحی و مراحل ۴ و ۵ بعنوان تشنج های جنرالیزه (کلونیک-تونیک) در نظر گرفته شد.

به منظور تجزیه و تحلیل آماری یافته‌های حاصل از این پژوهش از آنالیز واریانس یکطرفه (One Way ANOVA) و جهت مقایسه گروه‌های مختلف از آزمون tukey در سطح معنی داری $p<0.05$ استفاده گردید. برای آنالیز داده های حاصل از امتیاز تشنجی از آزمون ناپارامتری استفاده گردید. داده‌ها بصورت $Mean \pm SEM$ می باشد.

یافته ها

نتایج حاصل از این پژوهش نشان می دهد که تزریق درون بطنی مغزی دوز ۵۰ میکروگرم از کتوپروفن میانگین زمان لازم برای شروع تشنجات سطحی القا شده توسط PTZ را در مقایسه با گروه کنترل به شکل معنی داری افزایش می دهد ($p<0.05$) (شکل ۱). همچنین تزریق درون بطنی مغزی دوز ۵۰ و ۱۰۰ میکروگرم از کتوپروفن میانگین زمان لازم برای



شکل ۱- اثر تزریق داخل بطنی مغزی کتوپروفن (۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میکروگرم به ازای هر موش) بر مدت زمان تاخیری تا شروع تشنج های سطحی. Control=Saline. * $P<0.05$ نشان دهنده تفاوت معنی دار با گروه کنترل، ($n=7-9$).

بحث

مطالعه حاضر شواهدی را فراهم آورد که کتوپروفن بعنوان یک داروی مهار کننده انتخابی سیکلواکسیژناز یک، دارای اثرات ضد تشنجی است بطوریکه تزریق داخل بطنی مغزی دوزهای ۵۰ و ۱۰۰ میکروگرم از کتوپروفن زمان تاخیر تا شروع مراحل مختلف تشنج را در مقایسه با گروه کنترل افزایش داد، اما تزریق آن با دوز ۲۵ میکروگرم اثری بر زمان تاخیری تا شروع مراحل مختلف تشنج در مقایسه با گروه کنترل نداشت، هر چند هیچکدام از دوزهای بکار رفته اثری بر امتیاز تشنجی نداشتند که خود می تواند بیانگر این مطلب باشد که کتوپروفن فقط زمان بروز هر یک از مراحل تشنجی را به تاخیر می اندازد و باعث حذف مراحل مختلف تشنجی در دوزهای بکار رفته و در نتیجه کاهش امتیاز تشنجی نمی شود.

تحقیقات قبلی نشان گر این موضوع هستند که آنزیم COX-1 مسئول تولید پروستاگلندین های E1 و F2α است. همچنین COX-2 نیز مسئول تولید پروستاگلندین E2 می باشد [۱۰، ۶]. ضمناً نقش پروستاگلندین های E1، E2، D2 و F2α در تشنج گزارش شده است، بطوریکه PGF2α یک پروستاگلندین موافق تشنج است و در تشنج های خودبخودی نقش دارد. PGE1 و PGE2 نیز اثرات تحریکی بر کورتکس مغز داشته و نقش مهمی در فعالیت های تشنجی بر عهده دارند بطوریکه میزان آنها در تشنجات ناشی از PTZ بطور چشمگیری افزایش می یابد [۴، ۱۰]. مطالعات نشان داده اند که استفاده از مهارکننده های COX-2 مانند Rofecoxib آستانه تشنج ناشی از PTZ را موش سوری افزایش می دهند [۳]. با توجه به مشخص شدن نقش COX و پروستاگلندین ها در بیماری های عصبی نظیر صرع، مطالعات ما نیز در راستای التهابی بودن صرع و امکان پیشگیری نسبی این بیماری توسط داروهای ضد التهاب غیر استروئیدی NSAIDs می باشد بطوریکه بر اساس مطالعه قبلی ما تزریق داخل بطن مغزی فلونکسین مگومین (بعنوان مهار کننده غیر انتخابی آنزیم سیکلواکسیژناز) با دوز های ۱۲/۵، ۲۵ و ۵۰ میکروگرم باعث کاهش کلیه مراحل تشنج ناشی از PTZ بصورت وابسته به دوز شد و در دوزهای ۲۵ و ۵۰ میکروگرم امتیاز تشنجی را نیز بطور چشمگیری نسبت به گروه کنترل کاهش داد (۵). در این

پژوهش نیز داروی کتوپروفن بعنوان مهارکننده انتخابی سیکلواکسیژناز ۱ میانگین زمان آغاز تشنج را در موش های تشنجی با PTZ افزایش داده و این فرض را تقویت می کند که علاوه بر آنزیم سیکلواکسیژناز ۲ که نقش آن در ایجاد صرع و بیماری های عصبی دیگر مثل پارکینسون و آلزایمر به اثبات رسیده است (۹)، COX-1 نیز در بروز صرع می تواند تا حدودی موثر باشد و با توجه به تولید پروستاگلندین های E1 و F2α توسط COX-1 و نقش آنها در تشنج، مهار COX-1 بوسیله کتوپروفن می تواند با کاهش سنتز پروستاگلندین های E1 و F2α در کاهش صرع موثر باشد. همچنین در بعضی منابع، کتوپروفن به عنوان مهارکننده ترجیحی COX-1 ذکر شده که می توان اثر مهار آن را بر COX-2 نیز در کاهش تشنج در نظر داشت (۸)، هر چند با توجه به مطالعات ما اثرات ضد تشنجی کتوپروفن کمتر از فلونکسین مگومین بود زیرا کتوپروفن فقط باعث افزایش آستانه تشنج در مراحل ۲ و ۴ شد که ما در این مطالعه مرحله ۲ را بعنوان تشنج سطحی و مرحله ۴ را بعنوان تشنج عمومی یا تونیک-کلونیک در نظر گرفتیم (شکل ۱ و ۲) اما بر روی بقیه مراحل تشنج اثری نداشت در نتیجه با مقایسه نتایج به دست آمده از اثرات این دو دارو شاید بتوان چنین نتیجه گرفت که با توجه به اثرات موثرتر فلونکسین مگومین بر زمان تاخیری شروع مراحل مختلف تشنج و همچنین کاهش عمق تشنج می توان به حضور موثرتر سیکلواکسیژناز ۲ و پروستاگلندین E2 در مقایسه با سیکلواکسیژناز ۱ در تشنج اشاره کرد، هر چند که با توجه به نتایج به دست آمده از این پژوهش، مهار سیکلواکسیژناز ۱ هم در کاهش تشنج موثر بوده است. همچنین مهارکننده های COX ممکن است از طریق تحریک نورون های گابارژیک و یا فرایندهای فیزیولوژیک نظیر استرس اکسیداتیو ایجاد شده توسط تشنجهای موثر واقع شوند، بطوریکه فعال شدن آنزیم سیکلواکسیژناز باعث افزایش سنتز رادیکال های آزاد می شود که این امر منجر به القاء استرس اکسیداتیو و آپوپتوزیس نورونهای گابارژیک شده، در نتیجه غلظت گلوتامات بدلیل برداشته شدن اثر مهار گابا از روی نورونهای گلوتامات ارژیک افزایش یافته و این فرایند باعث افزایش تون گلوتامات ارژیک در نورونها و شبکه نورونی و نهایتاً منجر به افزایش شدت تشنج می شود [۴، ۷]. از میان رادیکال های آزاد که در شرایط آزمایشگاهی

پروستاگلاندین های E1 و F2 α و در نتیجه افزایش تون گاباژیک و کاهش تون گلوتامات ارژیک (بواسطه مهار گابا) در شبکه نورونی مغز باشد که برای مشخص شدن مکانیسم دقیق آن نیاز به تحقیقات بیشتری در این زمینه (از جمله اندازه گیری نوروترانسمیترهای گابا و گلوتامات به روش میکرودیالیز) می باشد.

ایجاد می شود انواع Peroxynitric و OH مهمترین پراکسیدازهایی هستند که بعد از صرع ناشی از PTZ تشکیل می شوند، بنابراین مهار ایزوفرم های سیکلواکسیژناز بوسیله داروهای مختلف شاید بتواند بخشی از استرس اکسیداتیو ناشی از PTZ را مهار کند [۹،۴]. در مجموع شاید بتوان گفت حداقل بخشی از اثر ضد تشنجی کتوپروفن بعنوان مهار کننده آنزیم سیکلواکسیژناز یک در پژوهش حاضر احتمالاً بدلیل مهار سنتز

References

- [1] Barkia E, Grossman Y, Gutnick M, Long term changes in neocortical activity after chemical kindling with systemic pentylentetrazole: An invitro study. *Neurophysiology* 72 (1994) 72-83.
- [2] Bernard S, Chang, MD, Daniel H, Lowenstein MD, Mechanisms of disease epilepsy. The *New Engl J Med* 349; 13 (2003) 1257-66.
- [3] Dhir A, Naidu PS, Kulkarni SK, Effect of COX inhibitors on PTZ-induced convulsions; possible mechanism of action. *Prog Neuro-psychopharmacol Biological Psychiat* 30 (2006) 1478-1485.
- [4] Garavand S, Keramati K, Zendehdel 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.
- [5] 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.
- [6] 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
- [7] Julou L, Guyonnet JC, Ducrot R, Fournel J, Pasquet J, Ketoprofen (19.583 R.P.) (2-(3-benzoylphenyl)-propionic acid). Main pharmacological properties-outline of toxicological and pharmacokinetic data. *Scand J Rheumatol* (1976) Supplement, 33-44.
- [8] Kim HG, Chung GI, Lee SH, Jung YS, Moon CH, Baik EG, Involvement of endogenous prostaglandin F2 α on kainic acid-induced seizure activity through FP receptor: The mechanism of proconvulsant effects of COX-2 inhibitors, *Brain Res* 1193(2008)153 – 161.
- [9] Olivera MS, COX-2/PGE2 pathway facilitates PTZ-induced seizure. *Epilepsy Res* 79 (2008) 14-21.
- [10] Oliveira M, Furian A, Rambo L, Ribeiro L, Royes L, Ferreira J, J. B. Modulation of pentylentetrazol-induced seizure by prostaglandin E2 receptors, *Neuroscience* 152 (2008) 1110-1118.
- [11] Porter RJ, Meldrum BS, Antiseizure drugs. In: katzung BG, editors. Basic and clinical pharmacology. Lange Medical Books. MC Graw-Hill, New york, 2001, p. 345-348.
- [12] Tanaka K, Suemasu S, Ishihara T, Tasaka Y, Arai Y, Inhibition of both COX-1 and COX-2 and resulting decrease in the level of prostaglandins E2 is responsible for non-steroidal anti-inflammatory drug (NSAID) - dependent exacerbation of colitis. *Eur J Pharmacol* 603 (2009) 120-132.