

## RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a),  
o texto completo desta dissertação será disponibilizado  
somente a partir de 16/02/2019.



**Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho  
Faculdade de Medicina de Botucatu**

***Flávia Maria Leite Virgínio dos Santos***

**EFEITOS DO PARECOXIBE SUBARACNOIDEO SOBRE A MEDULA  
ESPINAL E AS MENINGES DE COELHOS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Anestesiologia da Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP, para obtenção do título de Doutor em Anestesiologia.

**Orientadora: Professora Titular Doutora Eliana Marisa Ganem**

**Botucatu  
2018**

***Flávia Maria Leite Virgínio dos Santos***

**EFEITOS DO PARECOXIBE SUBARACNOIDEO SOBRE A MEDULA  
ESPINAL E AS MENINGES DE COELHOS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Anestesiologia da Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP, para obtenção do título de Doutor em Anestesiologia.

**Orientadora: Professora Titular Doutora Eliana Marisa Ganem**

**Botucatu  
2018**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.  
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP  
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Santos, Flávia Maria Leite Virginio dos.  
Efeitos do parecoxibe subaracnoideo sobre a medula  
espinal e as meninges de coelhos / Flávia Maria Leite  
Virginio dos Santos. - Botucatu, 2018

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista  
"Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina de  
Botucatu

Orientador: Eliana Marisa Ganem  
Capes: 40102130

1. Coelho como animal de laboratório. 2. Agentes  
anti-inflamatórios. 3. Toxicologia. 4. Meninges. 5. Medula  
espinal.

Palavras-chave: Coelho; Injeção subaracnoidea;  
Neurotoxicidade; Parecoxibe; Toxicidade meníngea.

## **Dedicatória**

*“Viver feliz não é mais do que viver com honestidade e retidão.”*

**Cícero**

*À minha família, que sempre apoiou irrestritamente meus projetos e por diversas vezes preteriram seus próprios planos e sonhos para tornar os meus possíveis.*

*Aos mestres do Departamento de Anestesiologia da Faculdade de Medicina de Botucatu que contribuíram para o meu amadurecimento pessoal e profissional.*

## **Agradecimento Especial**

*À Professora Titular Doutora Eliana Marisa Ganem, por toda a orientação, paciência, carinho e bondade. Obrigada pelos conselhos, não só profissionais. Por fim, é admirável a sua dedicação à essa linha de pesquisa.*

## **Agradecimentos**

*“Eu sou parte de uma equipe. Então quando venço, não sou eu apenas quem vence. De certa forma, termino o trabalho de um grupo enorme de pessoas.”*

*Ayrton Senna*

*Aos Docentes do Departamento de Anestesiologia da Faculdade de Medicina de Botucatu, por serem mestres na essência da palavra.*

*Aos meus colegas e amigos do Departamento de Anestesiologia do Hospital Amaral Carvalho, que muitas vezes foram sobrecarregados com a minha ausência, para que fosse possível cumprir os prazos para a confecção dessa tese.*

*Aos funcionários da secretaria do Departamento de Anestesiologia da Faculdade de Medicina de Botucatu, pelo apoio e assistência prestada sempre prontamente.*

*À Professora Adjunta Mariângela Esther Alencar Marques, do Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina de Botucatu, UNESP, pela orientação e auxílio no diagnóstico histológico.*

*À Tatiane de Fátima Pineiz, secretária do Programa de Pós – Graduação em Anestesiologia da Faculdade de Medicina de Botucatu, por todo o auxílio.*

*À Ludmilla Gerios, graduanda do curso de Medicina da Faculdade de Medicina de Botucatu, UNESP.*

*Ao CNPQ por todo o auxílio financeiro necessário para o desenvolvimento desse estudo.*

*Às funcionárias da Biblioteca do Campus de Botucatu, pela revisão bibliográfica e elaboração da ficha catalográfica.*

*Aos funcionários do Laboratório Experimental pela colaboração imprescindível na execução do trabalho prático.*

## Resumo

### Efeitos do parecoxibe subaracnoideo sobre a medula espinal e as meninges de coelhos

**Introdução:** O parecoxibe, um pró-fármaco hidrolisado à valdecoxibe, é um antagonista da COX-2 com intensa atividade anti-inflamatória e analgésica. Embora muitos estudos tenham sido realizados indicando a eficácia dos antagonistas da COX em aliviar o processo da dor, quase nada foi estudado sobre a toxicidade desses fármacos no neuroeixo. **Objetivos:** O objetivo desta pesquisa foi avaliar os efeitos que diferentes doses de parecoxibe, administrado pela via subaracnoidea, em punção única, determinariam sobre a medula espinal e as meninges de coelhos. **Metodologia:** Após aprovação pela Comissão de Ética no Uso de Animais, 30 coelhos adultos jovens, da raça grupo genético de Botucatu, com pesos entre 2510 g e 3560 g, fornecidos pelo Biotério da Faculdade de Medicina de Botucatu, foram randomizados em três grupos: grupo S – solução salina a 0,9%, grupo P<sub>4</sub> – parecoxibe (dose: 4 mg) e grupo P<sub>8</sub> – parecoxibe (dose: 8 mg). Após a anestesia intravenosa com xilazina e cetamina os animais foram submetidos à punção subaracnoidea guiada por ultrassom, com agulha de Quincke 25G, no espaço entre primeira e a segunda vértebras sacrais e realizada a injeção de uma das soluções previamente sorteadas em volume de 0,4 mL (10 µL por centímetro de medula espinal medida entre a base do crânio e o espaço lombossacral). Após a recuperação da anestesia e por 21 dias, os animais foram avaliados quanto à sensibilidade e à motricidade. Em seguida, foram sacrificados por decapitação e retiradas as porções lombar e sacral da medula espinal e as raízes da cauda equina para exame histológico por microscopia óptica. **Resultados:** Dois animais foram excluídos do experimento por dificuldade na técnica de punção. No grupo S, nenhum coelho apresentou alterações clínicas ou histológicas no tecido nervoso, vasos sanguíneos ou meninges. No P<sub>4</sub>, cinco coelhos apresentaram alterações histológicas dos tecidos do neuroeixo, principalmente infiltrado inflamatório perivascular nas meninges. No P<sub>8</sub>, seis animais apresentaram alterações histológicas, em dois coelhos deste grupo observou-se foco de necrose no tecido nervoso e áreas de aderências entre a pia-máter e aracnoide, com manifestação clínica de paralisia das patas posteriores e sensibilidade dolorosa diminuída na mesma região. **Limitação:** O espaço subaracnoideo do coelho tem diminuta quantidade de liquor, favorecendo a menor diluição do fármaco no mesmo e a maior concentração da solução em contato com o tecido nervoso e meninges, o que poderia exacerbar os efeitos deletérios da medicação. **Conclusão:** Neste modelo experimental de coelhos, diferentes doses de parecoxibe, em injeção única, administradas pela via subaracnoidea, determinaram alterações histológicas sobre a medula espinal e as meninges.

**Palavras-chave:** coelho; injeção subaracnoidea; parecoxibe; meninges; medula espinal; neurotoxicidade; AINES.



## Effects of Subarachnoid Parecoxib on the Spinal Cord and Meninges of Rabbits

### Abstract

**Background:** Parecoxib, a pro-drug that is hydrolyzed to valdecoxib, is a COX-2 antagonist with strong anti-inflammatory and analgesic activity. Although many studies have demonstrated the efficacy of COX antagonists in relieving pain, almost nothing is known about the toxicity of these drugs when administered into the neuraxis. **Objectives:** The aim of this study was to evaluate the effects of a single injection of different doses of parecoxib into the subarachnoid space on the spinal cord and meninges of rabbits. **Methods:** After approval by the Ethics Committee on Animal Use, 30 young adult rabbits of the Botucatu genetic group weighing 2,510 to 3,560 g, were randomized into three groups: group S - 0.9% saline; group P<sub>4</sub> – parecoxib (dose: 4 mg); group P<sub>8</sub> – parecoxib (dose: 8 mg). After intravenous anesthesia with xylazine and ketamine, the animals underwent ultrasound-guided subarachnoid puncture with a Quincke 25G needle in the space between the first and second sacral vertebrae and the injection of one of the previously established solutions was performed in a volume of 0.4 mL (10 µL per cm of spinal cord measured from the skull base to the lumbosacral space). After recovery from anesthesia, the animals were evaluated regarding sensitivity and motor function for 21 days. After this period, the animals were sacrificed by decapitation and the lumbar and sacral portions of the spinal cord and the roots of the cauda equina were removed for histological examination by light microscopy. **Results:** In group S, none of the rabbits exhibited clinical or histological alterations in nervous tissue, blood vessels or meninges. In group P<sub>4</sub>, histological alterations were found in tissues of the neuraxis in five animals, especially a perivascular inflammatory infiltrate in the meninges. In group P<sub>8</sub>, histological alterations were observed in six animals. In two rabbits of this group (P<sub>8</sub>), we observed necrotic foci in nervous tissue and areas of adhesions between the pia mater and arachnoid, with clinical manifestations of hindlimb paralysis and reduced pain sensitivity in the same region. **Limitations:** The fact that the arachnoid space of the rabbit contains a small volume of cerebrospinal fluid may result in lower dilution of the drug and a higher concentration of the solution in contact with nervous tissue and meninges, thus exacerbating the deleterious effects of the drug. **Conclusion:** In this rabbit model, the single injection of different doses of parecoxib into the subarachnoid space caused histological alterations in the spinal cord and meninges.

**Keywords:** *Parecoxib; rabbits; intraspinal injections; meninges; spinal cord; spinal anesthesia; neurotoxicity syndromes; NSAIDs.*

## Lista de abreviações

<b>AINEs</b>	Anti-inflamatórios não esteroidais
<b>CEUA</b>	COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAL
<b>CONCEA</b>	Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal
<b>COX</b>	Ciclooxigenase
<b>LXA<sub>4</sub></b>	Lipoxina A <sub>4</sub>
<b>NK-1</b>	Neurocinina-1
<b>NMDA</b>	N-metil-D-aspartato
<b>PGs</b>	Prostaglandinas
<b>PTGS</b>	Prostaglandina-endoperóxido sintase
<b>SNC</b>	Sistema nervoso central
<b>TDI</b>	Tissue Doppler Imaging
<b>TGF-<math>\beta</math></b>	Transforming growth factor beta
<b>TXA<sub>2</sub></b>	Tromboxane A <sub>2</sub>
<b>WDR</b>	Wide Dynamic Range

## Lista de Tabelas

Tabela 1: Peso (g) e comprimento de medula (cm) dos animais pertencentes aos três grupos experimentais. Resultados expressos em média e desvio padrão com $P < 0,05$ . .....	30
Tabela 2: Resultados histológicos dos animais pertencentes ao P <sub>4</sub> .....	31
Tabela 3: Resultados histológicos dos animais pertencentes ao P <sub>8</sub> . .....	32

## Lista de figuras

- Figura 1: Tecido nervoso (A), vasos sanguíneos (B) e meninges normais (C) de animal nº 9 pertencente ao grupo S. HE 40x. ....33
- Figura 2: Necrose na região central das substâncias branca e cinzenta (A), dura-máter normal (B), Infiltrado inflamatório perivascular e difuso na aracnoide e pia-máter(C), trombose em vaso aracnoideo (D) de animal nº 5 pertencente ao P<sub>4</sub>. HE 40x. ....34
- Figura 3: Dura-máter normal (A), infiltrado inflamatório linfoplasmocitário perivascular e difuso na aracnoide e pia-máter (B), trombose em vaso aracnoideo (C) de animal nº 5 pertencente ao P<sub>4</sub>. HE 100x. ....35
- Figura 4: Necrose de tecido nervoso em região póstero-lateral (A), infiltrado inflamatório linfoplasmocitário perivascular e difuso pelas meninges (B), aderências entre a pia-máter e aracnoide (C) de animal nº 1 pertencente ao P<sub>8</sub>. HE 40x.....36
- Figura 5: Infiltrado inflamatório linfoplasmocitátio perivascular (A) e adesão entre a aracnoide e pia-máter (B) de animal nº 1 pertencente ao P<sub>8</sub>. HE 100x.....37
- Figura 6 - Tecido nervoso: focos de necrose em região anterior e antero-lateral (A), aderências entre a pia-máter e aracnoide (B), infiltrado inflamatório perivascular em meninges (C). de animal nº 2 pertencente ao P<sub>8</sub>. HE 40x.....38
- Figura 7: Foco de necrose de tecido nervoso (A), infiltrado inflamatório linfoplasmocitário e aderências entre a pia-máter e aracnoide (B) de animal nº 2 pertencente ao P<sub>8</sub>. HE 100x.....39

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>12</b>
<b>2 HIPÓTESE .....</b>	<b>19</b>
<b>3 OBJETIVO .....</b>	<b>20</b>
<b>4 MÉTODO.....</b>	<b>21</b>
4.1 ANIMAIS UTILIZADOS.....	21
4.2 GRUPOS EXPERIMENTAIS.....	21
4.3 SEQUÊNCIA EXPERIMENTAL.....	21
4.4 TÉCNICAS UTILIZADAS.....	22
<b>4.4.1 Preparo do animal .....</b>	<b>22</b>
4.5 ANESTESIA SUBARACNOIDEA .....	23
<b>4.5.1 Técnica de punção .....</b>	<b>23</b>
4.6 VOLUME INJETADO.....	24
4.7 SOLUÇÃO ADMINISTRADA.....	24
4.8 OBSERVAÇÃO CLÍNICA .....	24
4.9 SACRIFÍCIO.....	25
4.10 EXAME HISTOLÓGICO .....	25
4.11 COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAL (CEUA).....	28
4.12 MODELO DE ESTUDO .....	28
4.13 MÉTODO ESTATÍSTICO .....	29
<b>4.13.1 Tamanho amostral.....</b>	<b>29</b>
<b>5 RESULTADOS.....</b>	<b>30</b>
<b>6 DISCUSSÃO .....</b>	<b>40</b>
6.1 DISCUSSÃO DA METODOLOGIA.....	40
<b>6.1.1 Ultrassonografia como guia de punção .....</b>	<b>40</b>
<b>6.1.2 Grupos experimentais.....</b>	<b>41</b>
<b>6.1.2.1 Justificativa para composição dos grupos experimentais.....</b>	<b>41</b>
<b>6.1.2.2 Volume da solução administrada .....</b>	<b>42</b>
<b>6.1.2.3 Dose da solução administrada.....</b>	<b>42</b>
<b>6.1.2.4 Tempo de observação clínica no cativeiro .....</b>	<b>43</b>
6.2 DISCUSSÃO DOS RESULTADOS .....	43
<b>7 CONCLUSÃO .....</b>	<b>46</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>47</b>

## 1 INTRODUÇÃO

As primeiras descrições das características clínicas da inflamação são observadas em papiros egípcios datados de aproximadamente 3000 a.C., porém, foi no século I d.C. que o escritor romano Celso listou os quatro sinais cardinais da inflamação (rubor, tumor, calor e dor), sendo complementado por Virchow que adicionou um quinto sinal clínico, a perda de função (*functio laesa*)<sup>1, 2</sup>.

A inflamação é reação complexa desencadeada por vários agentes nocivos e consiste de respostas vasculares e celulares, podendo haver manifestações sistêmicas.

A resposta inflamatória está intimamente relacionada ao processo de reparo tecidual por meio da regeneração de células do parênquima nativo ou pela cicatrização, na qual o tecido danificado é preenchido por fibrose. Portanto, a inflamação é fundamentalmente um mecanismo de defesa, cujo objetivo é a eliminação da causa inicial da lesão celular<sup>3</sup>.

As reações vasculares e celulares decorrentes das inflamações aguda e crônica são mediadas por fatores químicos derivados de proteínas ou células plasmáticas e, são produzidas ou ativadas pelo estímulo inflamatório. Esses mediadores amplificam a resposta inflamatória e influenciam sua evolução. A inflamação termina quando o agente agressor é eliminado e os mediadores são destruídos ou dispersos. Somam-se a estes fatores mecanismos anti-inflamatórios ativos que visam controlar a resposta inflamatória e evitar que ela cause dano excessivo ao hospedeiro<sup>3</sup>.

A inflamação aguda é resposta rápida a agentes agressores como infecções (bacterianas, virais ou parasitárias), toxinas microbianas, traumas, agentes físicos e químicos (lesão térmica, radiação, substâncias químicas), necrose tissular, corpos estranhos e reações imunológicas. Os três principais componentes característicos da inflamação aguda são as alterações no calibre vascular (aumento de fluxo sanguíneo), as alterações estruturais na microcirculação (aumento da permeabilidade vascular) e a migração dos leucócitos (acúmulo e ativação das células de defesa)<sup>4</sup>.

Os fenômenos vasculares desempenham papel importante na cascata da inflamação aguda, possibilitando que anticorpos e leucócitos atinjam o local da agressão tecidual. Variações no fluxo e calibre dos vasos se iniciam logo após a lesão.

A vasodilatação é uma das primeiras manifestações da inflamação aguda, podendo ser precedida de vasoconstrição transitória de curta duração. A dilatação vascular envolve primeiro as arteríolas, seguida de abertura de novos leitos capilares levando a aumento do fluxo sanguíneo local, causando, na maioria das vezes, manifestações clínicas conhecidas como sinais cardinais da inflamação (calor e rubor)<sup>5</sup>.

O aumento do calibre dos vasos sanguíneos é induzido por mediadores que atuam na musculatura lisa vascular, os principais são a histamina e o óxido nítrico, sendo seguido de rápido aumento na permeabilidade da microcirculação, com extravasamento de fluido rico em proteínas para o tecido extravascular. A perda de líquido para o interstício resulta em estase devido a concentração de hemácias nos vasos de menor calibre e aumento da viscosidade sanguínea. A estase facilita o acúmulo, adesão e migração de leucócitos, principalmente neutrófilos, no interstício<sup>4</sup>.

A perda de proteínas do plasma reduz a pressão osmótica intravascular e aumenta a pressão osmótica no fluido intersticial, que associado ao aumento da pressão hidrostática decorrente de maior fluxo sanguíneo local, culminam em extravasamento e acúmulo de fluido no interstício, causando edema.

O aumento da permeabilidade vascular devido às alterações endoteliais ocorre em fases distintas. A resposta imediata transitória dura cerca de 30 minutos e é mediada pela histamina e leucotrienos. Esta é sucedida pela resposta tardia que começa cerca de 2 horas depois e tem duração aproximada de 8 horas, mediada principalmente por cininas e produtos do complemento<sup>4</sup>.

O deslocamento de leucócitos à lesão e sua posterior ativação é função crítica da inflamação. A sequência de eventos leucocitários segue etapas, sendo elas a marginação, o rolamento e a adesão ao endotélio, seguidas de transmigração ou diapedese e, por fim, migração nos tecidos intersticiais em direção ao estímulo quimiotático<sup>6, 7</sup>.

Quando ocorre ativação celular pelo estímulo inflamatório, há remodelação lipídica na membrana das células para gerar mediadores que funcionam como sinais intracelulares ou extracelulares, esses mediadores lipídicos conhecidos como autacóides (hormônios de curto alcance) são formados rapidamente, se degradam espontaneamente ou são destruídos por via enzimática<sup>8</sup>.

O ácido araquidônico é encontrado na forma esterificada nos fosfolípidos da membrana, sendo liberado por meio da ação das fosfolipases celulares. Os metabólitos do ácido araquidônico conhecidos como eicosanóides são sintetizados por duas classes principais de enzimas, as ciclooxigenases (prostaglandinas e tromboxanos) e as lipoxigenases (leucotrienos e lipoxinas)<sup>9</sup>.

Sendo o sistema de defesa do hospedeiro tão potente, é necessário controle estrito para minimizar o dano tecidual. Com a progressão da resposta inflamatória, existem gatilhos celulares que resultam em mudança no padrão de secreção de quimiocinas, por exemplo a secreção de lipoxinas (LXA<sub>4</sub>), que inibem o recrutamento de polimorfonucleares e a liberação de TGF- $\beta$  e IL-10 (citocinas anti-inflamatórias)<sup>10</sup>.

Tanto a inflamação quanto o reparo tecidual podem ser potencialmente prejudiciais. Por essa razão existem mecanismos celulares e agentes exógenos capazes de regular o processo inflamatório<sup>11</sup>.

Os anti-inflamatórios, classe de fármacos que atua modulando a cascata inflamatória, são classificados, de acordo com seu mecanismo de ação, em duas categorias: os esteroidais, ou análogos do cortisol, que atuam sobre os leucotrienos, e os não esteroidais atuando sobre as ciclooxigenases<sup>12, 13</sup>.

As ações terapêuticas e farmacológicas dos anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs) são atribuídas, principalmente, à sua habilidade em inibir a ciclooxigenase (COX), enzima responsável por catalisar a conversão do ácido araquidônico à prostaglandinas (PGs) e tromboxane A<sub>2</sub> (TXA<sub>2</sub>)<sup>12, 14</sup>.

Oficialmente conhecida como prostaglandina-endoperóxido sintase (PTGS), a COX pertence a uma família de isoenzimas que é responsável pela formação de prostanoídes, incluindo tromboxano e prostaglandinas, como a prostaciclina.

O termo "COX" é encontrado com mais frequência do que "PTGS", porém em genética, "PTGS" é oficialmente usado para esta família de genes e proteínas, pois a denominação "COX" pertence à família das enzimas citocromo C oxidase.

A diferença mais significativa entre as isoenzimas (COX 1 e 2), que permite a inibição seletiva, é a substituição da isoleucina na posição 523 da COX-1 por valina na COX-2. O menor tamanho da Val<sub>523</sub> na COX-2 permite o acesso a um sítio de ligação hidrofóbico na enzima. As moléculas de medicamentos, como os coxibes, com



capacidade de ligar-se a este sítio alternativo são consideradas inibidores seletivos de COX-2.

Existem, pelo menos, duas isoformas de COX bem caracterizadas, a COX-1 constitutivamente expressa e a COX-2, altamente induzida na resposta ao estímulo inflamatório<sup>15</sup>.

Embora esteja bem estabelecido que as isoformas contribuem para o desenvolvimento da inflamação e da dor nos tecidos periféricos<sup>16</sup>, os seus papéis funcionais são complexos e não muito claros. Diferente dos tecidos periféricos nos quais a COX-1 está presente para prover a homeostasia tecidual, a COX-2 é induzida pela inflamação<sup>14</sup>. Contudo no sistema nervoso central (SNC) as duas isoformas estão constitutivamente presentes com atuações funcionais diferentes<sup>17, 18</sup>.

A COX-2 é, geralmente, expressa em níveis baixos, seu aumento tanto no SNC como no sistema nervoso periférico ocorre como reação à lesão tecidual ou à inflamação<sup>19</sup>. A lesão tecidual desencadeia tráfico aferente persistente de impulso que dá início à sensibilização central. As prostaglandinas possuem papel importante no aparecimento de sinais e sintomas da inflamação<sup>20</sup>. Elas sensibilizam os terminais aferentes das fibras C e acentuam as respostas das fibras C ao estímulo algíco que resulta em hiperalgesia<sup>21, 22</sup>.

A inflamação neurogênica descreve, um fenômeno de vasodilatação arteriolar originado pelas fibras nervosas locais, com aumento do fluxo sanguíneo e conseqüente edema por extravasamento de plasma da vênula pós-capilar. Quando bem localizado, o evento traduz-se na formação de uma pápula com eritema. Essa reação ocorre pela presença local de neuropeptídeos, que são liberados por duas subpopulações de fibras nervosas, assim chamadas peptidérgicas: as fibras do tipo C (aferentes não mielinizados ou nociceptores polimodais C) e, em menor quantidade, as fibras A-delta (pequenas fibras mielinizadas). Juntas, elas desempenham as funções autonômicas e de nocicepção e propiciam o início das reações imunes e pró-inflamatórias no sítio da lesão<sup>20</sup>.

Os nociceptores interagem como o meio quando estão excitados, produzindo e liberando substâncias algogênicas (pró-inflamatórias) especiais, como as taquicininas A, B e a substância P, um polipeptídeo relacionado como o gene da calcitonina e a

somatostatina. Essas substâncias liberadas no interstício se difundem e agem à distância, reduzindo os limiares dos nociceptores. Agem também em células vizinhas, fazendo-as degranular e liberar substâncias pró-inflamatórias e algogênicas. A função secretora dos nociceptores é prova da ação inflamatória neurogênica <sup>20, 21</sup>.

Na ausência de lesão tecidual ou após seu reparo e cicatrização, o estado de alerta, de limiar diminuído à dor, e de inflamação, retorna, gradativamente, ao seu estado inicial. A cascata pode retornar a um estado de superalerta em condições nas quais o risco de lesão se torna elevado, como a detecção de novos estímulos nociceptivos intensos, repetidos e persistentes <sup>21</sup>.

Tal sensibilização é expressão da plasticidade sináptica que ocorre no SNC deflagrada por estímulos nociceptivos persistentes. Na cronicidade pode haver um estado persistente de facilitação, potenciação, aumento ou amplificação da resposta nociceptiva. Pode ocorrer redução de influências inibitórias nos neurônios sensitivos do corno dorsal da substância cinzenta medular e alterações sinápticas e intracelulares que culminam na produção permanente de sinalização da presença de estímulos dolorosos, mesmo na ausência de verdadeira estimulação periférica.

As prostaglandinas ativam fibras aferentes sensitivas e promovem a nocicepção na medula espinhal pela despolarização dos neurônios do tipo WDR e bloqueiam a inibição neuronal feita pela glicina. As expressões da COX-2 e da PGE<sub>2</sub> aumentam drasticamente após lesão nervosa, tanto no local da lesão quanto na medula espinhal <sup>22</sup>.

Os anti-inflamatórios não esteroidais, são utilizados como adjuvantes aos opióides, no tratamento da dor pós operatória, com o objetivo de diminuir as doses e os efeitos colaterais desses últimos. O parecoxibe, inibidor seletivo da COX-2, bloqueia a síntese de prostaglandinas, associadas à dor e inflamação, sem os efeitos colaterais de bloqueio da COX-1 e está envolvido com a modulação do estímulo nóxico e com ativação neuronal no córtex somatosensorial<sup>23</sup>.

Os efeitos analgésico e anti-inflamatório dos AINES parecem estar relacionados à sua capacidade de inibir a COX e a síntese de PG, bloqueando assim, a sensibilidade excessiva à dor induzida pela ativação do glutamato e dos receptores de substância P. Como os AINES atuam por meio de sistema enzimático e não por ação em receptores, é pouco provável que ocorram efeitos colaterais como depressão respiratória, retenção

urinária e tolerância medicamentosa, comumente observados quando se administram opióides no espaço peridural<sup>24</sup>.

Estudos sobre sensibilização central após a administração de fármacos no espaço subaracnoideo mostraram que a hiperalgisia resultava, em parte, da ativação de cascata complexa iniciada pela liberação de neurocinina-<sub>1</sub> (NK-<sub>1</sub>) e ativação de receptores do N-metil-D-aspartato (NMDA) secundários a liberação de substância P e de glutamato. Essa cascata ativa as fosfolipases espinais e gera prostanóides pela ação de COX espinal<sup>25</sup> resultando em liberação desses prostanóides<sup>26, 27</sup>.

Foi observado que os efeitos hiperalgésicos<sup>28, 29</sup> e a liberação espinal de prostaglandinas<sup>30</sup> diminuíram após a administração de inibidores da COX pela via subaracnoidea em doses dos fármacos que não foram suficientes para desencadear efeitos sistêmicos, como dispepsia, hemorragia do trato gastrointestinal e lesão renal aguda. Tal fato veio demonstrar que os AINEs, de alguma forma, apresentam ação central.

Estes estudos enfatizaram que as prostaglandinas são liberadas no espaço extracelular extra-vascular de sítios espinais e supra-espinais secundária à atividade neuronal. A ativação repetitiva dos neurônios espinais ou a excitação dos receptores da substância P ou glutaminérgicos do corno dorsal evocariam estado de facilitação do processo de hiperalgisia e a liberação de PGs. A administração de prostanóides na medula espinal levaria a hiperalgisia<sup>18</sup>.

Embora muitos estudos tenham sido realizados indicando a eficácia dos antagonistas da COX em aliviar o processo da dor, quase nada foi estudado sobre a toxicidade desses fármacos administrados no neuroeixo.

O único estudo publicado na literatura do meu conhecimento é o de Kim et al.<sup>31</sup> que pesquisaram os efeitos do parecoxibe administrado no espaço peridural de ratos. Não foi constatada toxicidade nervosa e não foram pesquisados os efeitos do fármaco sobre as meninges. Outros autores<sup>32</sup>, considerando que a COX-<sub>2</sub> aplicada no corno dorsal da medula modularia o processo nociceptivo<sup>33, 34</sup> e a ausência de neurotoxicidade após injeção peridural em ratos<sup>31</sup> adicionaram o antagonista da COX-<sub>2</sub> (parecoxibe) ao anestésico local (ropivacaína) constatando aumento na duração do bloqueio de nervo periférico em seres humanos, além do alívio da dor pós-operatória. Sugeriram que o

antagonista da COX-2 aplicado diretamente no nervo periférico ou central poderia ter efeitos analgésicos melhores do que quando ele era administrado pela via intravenosa.

Tal sugestão é um tanto quanto alarmante porque o fármaco não foi sintetizado para ser empregado por estas vias e, não existem pesquisas suficientes que atestem a ausência de toxicidade quando administrado no sistema nervoso central e periférico.

Todas as vezes que um novo agente analgésico é introduzido para utilização clínica, mesmo que seja considerado seguro para uso intravenoso, ele não é obrigatoriamente seguro quando administrado no espaço subaracnoideo ou peridural<sup>35, 36</sup>. Para assegurar a ausência de toxicidade, este novo agente deve ser testado em grande número de animais, de diferentes espécies, antes que seja administrado no homem<sup>37</sup>.

Diferentemente dos inibidores seletivos da COX-2 de primeira geração que apresentam pequena solubilidade aquosa o que restringe a opção de doses, o pró-fármaco designado parecoxibe sódico<sup>38</sup> inibidor da COX-2 de segunda geração é altamente solúvel em água e rapidamente convertido em valdecoxibe e ácido propiônico in vivo com meia-vida plasmática de aproximadamente 22 minutos, apresentando intensa atividade analgésica e anti-inflamatória<sup>39</sup>. A eliminação do valdecoxibe é extensivamente por metabolização hepática envolvendo vias múltiplas, incluindo citocromo P-450 (CYP-isoenzimas 3A<sub>4</sub> e CYP<sub>2</sub>C<sub>9</sub>) e glicuronidação do radical sulfonamida (cerca de 20%).

Foi descrito que o parecoxibe possui atividade analgésica quando administrado pela via subaracnoidea de ratos<sup>40</sup> o que sugere que o pró-fármaco pode ser hidrolisado na medula espinal. É descrito que a atividade da enzima ciclooxigenase está presente nos neurônios e nas células gliais da medula espinal de diversas espécies de mamíferos<sup>41, 42</sup>. Em modelo experimental de ratos com osteoartrite, a injeção intra-articular de parecoxibe foi eficaz em promover analgesia, mostrando que o fígado não é o único local onde ocorre a hidrólise enzimática do parecoxibe para o valdecoxibe<sup>43</sup>.

## **7 CONCLUSÃO**

Neste modelo experimental de coelhos, diferentes doses de parecoxibe, em injeção única, administradas pela via subaracnoidea, determinaram alterações histológicas sobre a medula espinal e as meninges.

## REFERÊNCIAS

1. Extraído de Robbins and Cotran. Pathologic bases of disease. 7th ed. 1999 - Cohnheim J. Lectures in General Pathology (translated by AD McKee, from the second German edition, Vol 1). London: New Sydenham Society; 1889.
2. Extraído de Robbins and Cotran. Pathologic bases of disease. 7th ed, 1999 - Hunter J. A treatise of the blood, inflammation, and gunshot wounds, Vol I. London: J. Nicoli. 1794.
3. Weissman G. Inflammation: historical perspectives. In Gallin JI, et al (Eds): Inflammation basic principles and clinical correlates. New York: Raven Press. 1992:5.
4. Majno G, Palade GE, Schoefl GI. Studies on inflammation II. The site of action of histamine and serotonin along the vascular tree: a topographic study. J Biophys Biochem Cytol. 1961;11:607.
5. Lentsch AB, Ward PA. Regulation of inflammatory vascular damage. J Pathol. 2000; 190:343.
6. Lampugnani MG, Dejana E. Interendothelial Junctions: structure, signalling and functional roles. Curr Opin Cell Biol. 1997;9:674.
7. Van Hinsbergh VW, Van Nieuw AGP. Intracellular signaling involved in modulating human endothelial barrier function. J Anat. 2002;200:549.
8. Funk CD. Prostaglandins and leukotrienes: advances in eicosanoid biology. Science. 2001;294:1871.
9. Murakami M, Kudo I. Cellular arachidonate-releasing functions of various phospholipase A<sub>2</sub>S. Adv Exp Med Biol. 2003; 525:87.
10. Tracey KJ. The inflammatory reflex. Nature. 2002; 420:853.
11. Nathan CF. Points of control in inflammation. Nature. 2002; 420:846.
12. Lloyd R, Derry S, Moore RA, McQuay HJ. Intravenous and intramuscular parecoxib for acute postoperative pain in adults. Cochrane Database Syst Rev. 2009; p.CD004771.
13. Abbas AK, Kumar V, Fausto N. Patologia: bases patológicas das doenças. 7<sup>a</sup> ed. Elsevier; Rio de Janeiro, 2005.
14. Rouzer CA, Marnett LJ. Structural and functional differences between cyclooxygenases: fatty acid oxygenases with a critical role in cell signaling. Biochem Biophys Res Commun. 2005;33(8):34-44.

15. Feng L, Sun W, Xia Y, Tang WW, Chanmugam P, Soyoola E. et al. Cloning two isoforms of rat cyclooxygenase: differential regulation of their expression. *Arch Biochem Biophys.* 1993;307:361-8.
16. Martínez RV, Reval MD, Campos MD, Terrón R, Dominguez R, López-Munhòz FJ. Involvement of peripheral cyclooxygenase-1 and cyclooxygenase-2 in inflammatory pain. *J Pharmacol.* 2002;54:405-12.
17. Pham-Marcou TA, Beloeil H, Sum X, Gentilli M, Yaici D, Benoit G et al. Antinociceptive effects of resveratrol in carrageenan-evoked hyperalgesia in rats: prolonged effects related to COX-2 expression impairment. *Pain.* 2008;140:274-283.
18. Yaksh TL. Course of Basic lectures in the biology of pain processing. Department of Anesthesiology. University of California San Diego. Jul. 2012:64.
19. Dirig DM, Isakson PC, Yaksh TL. Effect of COX-1 and COX-2 inhibition on induction and maintenance of carrageenan-evoked thermal hyperalgesia. *J Pharmacol Exp Ther.* 1998;285:1031
20. Vane JR. Inhibition of prostaglandin synthesis as a mechanism of action for aspirin-like drugs. *Nature New Biol.* 1971;23(1):232-5.
21. Martin HA, Basbaum AI, Kwait GC, Goetzl EJ, Levine JD. Leukotriene and prostaglandin sensitization of cutaneous high threshold C and A-delta mechanoreceptors in the hair skin of rat hind limbs. *Neuroscience.* 1987;2:651-9.
22. Cohen MM, Perl ER. Contributions of arachidonic acid derivatives and substance P to the sensitization of cutaneous nociceptors. *J Neurophysiol.* 1990;64:457-64.
23. Peng YZ, Li XX, Wang YW. Effects of parecoxib and fentanyl on nociception-induced cortical activity. *Mol Pain.* 2010;6:3
24. Paavola A, Bernards CM, Rosenberg PH. Controlled release ibuprofen-poloxamer gel for epidural use - A pharmacokinetic study using microdialysis in pigs. *Eur J Pharm Biopharm.* Nov. 2016;9:1(8):180-186.
25. Yaksh TL, Hua XY, Kalcheva I, Nozaki-Taguchi N, Marsala M. The spinal biology in humans and animals of pain states generated by persistent small afferent input. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1999;96:7680-6.
26. Yang LC, Marsala M, Yaks TL. Characterization of time course of spinal amino acids, citrulline and PGE2 release after carrageenan/kaolin-induced knee joint inflammation: a chronic micro-dialysis study. *Pain.* 1996;67:345-54.

27. Ebersberg A, Grubb DB, Willingale HL, Gardiner NJ, Nebe J, Schaible HG. The intraspinal release of prostaglandin E2 in model of acute arthritis in rats. *J Pharmacol Exp Ther.* 1999;285:775-81.
28. Malmberg AB, Yaksh TL. Antinociceptive actions of spinal non-steroidal anti-inflammatory agents on the formalin test in rat. *J Pharmacol Exp Ther.* 1992;263:136-46.
29. Malmberg AB, Yaksh TL. Hyperalgesia mediated by spinal glutamate or substantia P receptor blocked by spinal cyclooxygenase inhibition. *Science.* 1992;9:257-1276.
30. Malmberg AB, Yaksh TL. The effect of morphine on formalin-evoked behaviour and spinal release of excitatory amino acids and prostaglandin E2 using microdialysis in conscious rats. *Br J Pharmacol.* 1995;114:1069-75.
31. Kim YH, Lee PB, Park J, Lim YJ, Kim YC, Lee SC et al. The neurological safety of epidural parecoxib in rats. *Neurotoxicol.* 2011;32:864-870.
32. Liu X, Zhao X, Lou J, Wang Y, Shen X. Parecoxib added to ropivacaine prolongs duration of axillary brachial plexus blockade and relieves postoperative pain. *Clin Orthop Res.* 2013;471:562-8.
33. Koppert W, Wehrfritz A, Körber N, Still R, Albrecht S, Schüttler J et al. The cyclooxygenase-2 isozyme inhibitors parecoxib and paracetamol reduce central hyperalgesia in humans. *Pain.* 2004;108:148-53.
34. Martin F, Fletcher D, Chauvin M, Bouhassira D. Constitutive cyclooxygenase-2 is involved in central nociceptive process in humans. *Anesthesiology.* 2007;106:1013-8.
35. Rawal N, Nuutinen L, Raj PP, Lovering SL, Gobuty AH, Hargardine J et al. Behavioral and histopathologic effects following intrathecal administration of butorphanol, sufentanil, and nalbuphine in sheep. *Anesthesiology.* 1991;75:1025-34.
36. Gage JC, Eisenach JC. New intra-axial agents and their safety issues. In: Hine R, Bowdle A (Ed.). *Annual of anesthetics pharmacology.* Philadelphia: Saunders. 1997:65-102.
37. Yaksh TL, Collins JG. Studies in animals should precede human use of spinally administered drugs. *Anesthesiology.* 1989;70:4-6.
38. Talley JJ, Brown DL, Carter JS, Graneto MJ, Koboldt CM, Masferrer JL et al. 4-[5-Methyl-3-phenylisoxazol-4-yl]-benzene sulfonamide, Valdecoxib; a potent and selective inhibitor of COX-2. *J Med Chem.* 2000;43:775-7.
39. Talley JJ, Bertenshaw SR, Brown DL, Carter JS, Graneto MJ et al. N-[(5-Methyl-3-phenylisoxazol-4-yl)-phenyl]sulfonylpropanamide, sodium salt, Parecoxibe sodium: a potent and selective inhibitor of COX-2 for parenteral administration. *J Med Chem.* 2000;43:1161-3.



40. Miranda HF, Pinardi G. Lack of effect of naltrindole on the spinal synergism of morphine and non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSADS). *J Physiol Pharmacol.* 2009;60:71-6.
41. Rosenbrock H, hagemeyer CE, Ditter M, Knoth R, Volk B. Predominantly neuronal expression of cytochrome P450 isoforms CYP3A11 and CPY3A13 in mouse brain. *Neuroscience.* 2003;117:521-9.
42. Wong-Riley MT, Kageyama GH. Localization of cytochrome oxydase in the mammalian spinal cord and dorsal root ganglia, with quantitative analysis of ventral horn cells in monkey. *J Comp Neurol.* 1986;245:41-61.
43. Jean YH1, Wen ZH, Chang YC, Hsieh SP, Tang CC, Wang YH et al. Intra-articular injection of the cyclooxygenase-2 inhibitor parecoxib attenuates osteoarthritis progression in anterior cingulated ligament-transected knee in rats: role of excitatory aminacids. *Osteoarthr Cartilage.* 2007;15:638-45.
44. Drummond JC, Moore SS. The influence of dextrose administration on neurological outcome after temporary spinal cord ischemia in the rabbit. *Anesthesiology.* 1989;70:64-70.
45. Selander D, Brattsand R, Lundorf G, Nordborg C, Olsson Y. Local anaesthesia, importance of mode of application, concentration and adrenaline for the appearance of nerve lesions. An experimental study of axonal degeneration and barrier damage after intrafascicular injection or topical application on bupivacaine (marcaineR). *Acta Anaesth Scand.* 1979;23:127-136.
46. Moore S, Thanos S. The concept of microglia in relation to central nervous system disease and regeneration. *Prog Nerobiol.* 1996;48:441-60.
47. Adams HJ, Mastri AR, Eicholzer AW, Kilpatrick G. Morphologic effects of intrathecal etidocaine and tetracaine on the rabbit spinal cor. *Anest Analg.* 1974;53:904-908.
48. Ready LB, Plumer MH, Haschke RH, Austin E, Sumi SM. Neurotoxicity of intrathecal local anesthetics in rabbits. *Anesthesiology.* 1985;63:364-370.
49. Santos ALQ, Lima EMM, Santana MIS. Length of spinal cord and topography of medular cone in rabbits (*Oryctolagus cuniculus*). *Biosciene Journal (UFU).* 1999;15:45-62.
50. Ting PH, Antonakakis JG. Evidence based review of ultrasound imaging for regional anesthesia. *Semin Anesth.* 2007;26:218-28.
51. Rosen MA, Baysinger CL, Shnider SM, Dailey PA, Norton M, Curtis JD, et al. Evaluation of neurotoxicity after subarachnoid injection of large volumes of local anesthetic solutions. *Anesth Analg.* 1983;62:802-808.

52. Rice AS McMahon SB. Peripheral nerve injury caused by injection needles used in regional anaesthesia: influence of bevel configuration, studied in a rat model. *Br J Anaesthesiol.* 1992;69:433-438.
53. Ganem EM, Vianna PTG, Marques M, Castiglia LA, Vane LA. Efeitos da administração subaracnoidea de grandes volumes de lidocaína 2% e ropivacaina 1% sobre a medula espinhal e as meninges. Estudo experimental no cão. *Rev Bras Anesthesiol.* 2003;53:351-360.
54. Okagawa SR, Ganem EMG, Marques ME, Castiglia YMM. Efeitos de concentrações crescentes de lidocaína hiperbárica, administradas no espaço subaracnóideo, sobre a medula espinhal e as meninges. Estudo experimental no cão. *Rev Bras Anesthesiol.* 2006;56:253-262.
55. Ganem EM, Vianna PTG, Marques M, Castiglia YMM, Vane LA. Neurotoxicity of subarachnoid hyperbaric bupivacaine in dogs. *Reg Anesth.* 1994;21:234-38.
56. Barros GAM, Marques MEA, Ganem EM. The effects of intrathecal administration of betamethasone over dogs spinal cord and meninges. *Acta Cirurgica Brasileira.* 2007;22:361-5.
57. Fukushima FB; Barros GAM; Marques MEA, Vidal EIO, Ganem EM. The neuraxial effects of intraspinal amitriptyline at low concentrations. *Anesth Analg.* 2009;109:965-71.
58. Lima RM, Navarro LH, Carness JM, Barros GA, Marques MEA, Solanki D, et al. Clinical and histological effects of the intrathecal administration of methylprednisolone in dogs. *Pain Physician.* 2010;13:493-501.
59. Kane RE. Neurologic deficits following epidural or spinal anesthesia. *Anesth Analg.* 1981;60:150-161.
60. Rice I, Wee MY, Thomson K. Obstetric epidurals and chronic adhesive arachnoiditis. *Br J Anaesth.* 2004;92:109-20.
61. Greene NM. Neurological sequelae of spinal anesthesia. *Anesthesiology.* 1961;22:682-689.
62. Jaradeh S. Cauda equina syndrome: A neurologist's perspective. *Reg Anesth.* 1993;18:473-480.
63. Wang BC, Hillman DE, Spielholz, Neil I, Turndorf, H. Subarachnoid sodium bisulfite (the antioxidant in nesacaine) causes chronic neurological deficit. *Anesthesiology.* 1982;57:194.
64. Marteleite M - Sequelas neurológicas de anestésias peridurais. Relato de 4 casos. *Rev Bras Anesthesiol.* 1981;31:245-250.

65. Bosscher HA, Glitin MG. Epidural steroid injection. In Raj PP, ed. Textbook of Regional Anesthesia. New York: Churchill Livingstone. 2002:687-702.