

**UFRRJ  
INSTITUTO DE VETERINÁRIA  
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA  
CIÊNCIAS CLÍNICAS**

**DISSERTAÇÃO**

**Potencial Analgésico, Anti-edematogênico,  
Antipirético e Atividade Ulcerogênica de Fármacos  
Anti-inflamatórios em Roedores**

**Priscila Andrade Pires  
2009**

# **Livros Grátis**

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE VETERINÁRIA  
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA  
CIÊNCIA CLÍNICAS**

**POTENCIAL ANALGÉSICO, ANTI-EDEMATOGÊNICO,  
ANTIPIRÉTICO E ATIVIDADE ULCEROGÊNICA DE FÁRMACOS  
ANTI-INFLAMATÓRIOS EM ROEDORES.**

**PRISCILA ANDRADE PIRES**

*Sob a Orientação do Professor  
Frederico Argollo Vanderlinde  
E Co-Orientação do Professor  
Fábio Fagundes da Rocha*

**Dissertação submetida como  
requisito parcial para obtenção  
do grau de Mestre,  
no Curso de Pós-Graduação em Medicina  
Veterinária, Área de Concentração  
em Ciência Clínicas**

**Seropédica, RJ  
Agosto de 2009**

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	2
2.1 Fisiologia da Inflamação.....	2
2.2 O Ácido Aracdônico e os Eicosanóides.....	3
2.3 A Via das Cicloxigenases.....	4
2.4 A Via das Lipoxigenases.....	7
2.5 O Papel de Citocinas e Quimiocinas.....	7
2.6 Dinâmica do Processo Inflamatório.....	9
2.7 A Dor.....	9
2.8 Febre e Efeito Antipirético.....	11
2.9 Os Antiinflamatórios Não Esteroidais (AINES).....	13
2.9.1. Histórico.....	13
2.9.2 Ações dos anti-inflamatórios não esteroidais.....	14
2.10 Toxicidade gastrointestinal dos AINES.....	15
2.11 Os fármacos a serem utilizados.....	18
2.11.1 O flunixim meglumine.....	18
2.11.2 O cetoprofeno.....	19
2.11.3 O meloxicam.....	20
2.11.4 O carprofeno.....	22
2.11.5 O firocoxibe.....	23
3 OBJETIVOS.....	24
4 MATERIAIS E MÉTODOS.....	24
4.1 Animais.....	24
4.2 Drogas, Reagentes, Solventes, e Sais.....	25
4.3 Métodos Farmacológicos.....	25
4.3.1 Avaliação da atividade antinociceptiva.....	25
4.3.1.1 Teste das contorções abdominais induzidas pelo ácido acético.....	25
4.3.2 Avaliação da atividade anti-edematogênica.....	26
4.3.2.1 Teste do edema de orelha induzido por óleo de Cróton.....	26
4.3.3 Avaliação da atividade antipirética.....	26
4.3.3.1 Atividade antipirética na febre induzida pelo LPS.....	26
4.3.4 Avaliação toxicológica.....	27
4.3.4.1 Potencial ulcerogênico dos fármacos sobre a mucosa gástrica.....	27
4.3.5 Análise estatística.....	27
5 RESULTADOS.....	28
5.1 Teste das Contorções Abdominais Induzidas pelo Ácido Acético.....	28
5.2 Teste do Edema de Orelha Induzido por Óleo de Cróton.....	33
5.3 atividade Antipirética na Febre Induzida pelo LPS.....	40
5.4 Potencial ulcerogênico dos fármacos sobre a mucosa gástrica.....	51
6 DISCUSSÃO.....	53
7 CONCLUSÃO.....	60
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	61

615.783

P667p

T

Pires, Priscila Andrade, 1982-

Potencial analgésico, anti-edematogênico, antipirético e atividade ulcerogênica de fármacos anti-inflamatórios em roedores/ Priscila Andrade Pires. – 2009.

82f. : il.

Orientador: Frederico Argollo Vanderlinde.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária.

Bibliografia: f. 61-72.

1. Analgésicos – Teses. 2. Agentes antiinflamatórios – Teses. 3. Antipiréticos – Teses. 4. Rato como animal de laboratórios – Teses. I. Vanderlinde, Frederico Argollo. II. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária. III. Título.

## **DEDICATÓRIA**

### **A minha mãe**

“Existe uma mulher esplendida que torna meu mundo mais claro, mais alegre e mais acolhedor! Dizer que a amo muito e que lhe sou grata é tão pouco... Eu quero fazer com que todas as pessoas do mundo saibam o quanto ela é admirável! E até isso é apenas uma fração do que ela merece!”

## **AGRADECIMENTOS:**

A Deus, que sempre esteve presente em todos os momentos da minha vida, pela oportunidade de realizar meus sonhos.

A minha mãe, que sempre foi minha maior torcedora e incentivadora, que tem sido minha força e sempre lutou do meu lado na realização de todos os meus objetivos. Palavras sempre serão muito pouco para demonstrar-lhes meus sinceros agradecimentos.

Ao meu pai que procurou me mostrar os melhores caminhos mas que soube também entender minhas escolhas. Por acreditar em mim e me apoiar.

A minha vó Geralda, que é a melhor pessoa que já conheci, que sempre se orgulhou muito de mim e que com certeza estaria muito feliz por essa realização.

A minha irmã Cláudia pelo carinho e por estar sempre torcendo por mim.

Aos meus irmãos e todos os meus familiares, por entenderem as minhas ausências e as horas abdicadas do nosso convívio para realização desse trabalho.

Ao Xuxu, por entender e apoiar meus momentos de cansaço e de stress, por me ajudar na realização desse trabalho e pelo amor, cuidado e incentivo diário.

Aos professores e funcionários do Departamento de Ciências Fisiológicas, que sempre se mostraram dispostos a ajudar e cujos conhecimentos foram de grande valia e muito acrescentaram a esse trabalho e a minha formação.

A Prof. Magda que nos guiou e auxiliou na padronização do teste de atividade ulcerogênica.  
Ao Prof. Wellington que muitas vezes me socorreu nos momentos de dúvidas e que foi um grande mestre na minha formação profissional.

Aos Prof. Luís, Fábio e Emerson pelos ensinamentos e apoio na execução dessa dissertação.

Aos meus colegas do Departamento de Ciências Fisiológicas, cada um teve sua importância e sua participação, obrigada a todos.

Aos professores, funcionários e colegas do Curso de Pós Graduação em Medicina Veterinária.

A Quel, que foi quase que uma terceira mão, que despendeu horas, dias e fins de semana me ajudando na execução dos experimentos.

Ao Felipe que sempre foi um grande amigo e esteve sempre presente nos momentos que eu precisei.

A Camilla, minha companheira nas aulas do Mestrado e nos momentos de aflições.

Ao Denis e Hugo, que me socorreram quando meu PC insistia em não colaborar.

Ao David, o meu melhor amigo, meu grande companheiro na graduação. Foi quem me recebeu em Ribeirão Preto e possibilitou a realização dos testes de atividade antipirética. Pela

ajuda, incentivo e todos os conhecimentos compartilhados. E obrigada a Sabrina pela acolhida!

A Prof. Glória e todos do Laboratório de Febre, da Faculdade de Farmácia da USP/Ribeirão Preto, que com muita hospitalidade me receberam em seu laboratório e ofertaram seu tempo e material para que eu pudesse realizar os testes de atividade antipirética.

Ao meu orientador, meu grande mestre, que realmente me orientou, me moldou profissionalmente, buscando o melhor em mim. Por todos os conhecimentos compartilhados, por auxiliar no meu amadurecimento, por me incentivar, por confiar em mim, se tornou um grande amigo. A quem devo o sucesso dessa trajetória.

## RESUMO

PIRES, Priscila Andrade. **Potencial analgésico, anti-edematogênico, antipirético e atividade ulcerogênica de fármacos anti-inflamatórios, em roedores.** 2009. 72f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária, Ciências Clínicas). Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2009.

Os anti-inflamatórios não esteroidais (AINES) são drogas amplamente usadas na medicina veterinária, tendo ação analgésica, anti-inflamatória, incluindo a redução do edema e antipirética. Agem inibindo a enzima ciclooxigenase (COX), não havendo a formação de prostanóides, e os efeitos colaterais promovidos pelos AINES tornam limitante o seu uso. Há duas isoformas de COX: a COX-I, constitutivamente nos tecidos e responsável pelas funções fisiológicas; e a COX-II, induzida após estímulos inflamatórios, álgicos e térmicos. Dessa forma, entendeu-se que o uso de AINES seletivos para a COX-II, diminuiria os efeitos adversos desses fármacos, uma vez que garantiria as funções homeostáticas da COX-I. Atualmente, sabe-se que a COX-II também está presente constitutivamente em alguns tecidos como o sistema nervoso central e rim. Dessa forma, todos os AINES podem causar efeitos adversos em maior ou menor intensidade, e o grau de seletividade de cada fármaco será determinante na ocorrência de reações indesejáveis. O objetivo desse trabalho foi avaliar o potencial analgésico, anti-edematogênico e antipirético dos principais AINES utilizados em medicina veterinária, os COX não seletivos flunixin meglumine (FM) e cetoprofeno (CT); os COX-II preferenciais meloxicam (MX) e carprofeno (CP) e o COX-II seletivo firocoxibe (FC) após a administração oral, bem como a atividade ulcerogênica sobre a mucosa gástrica, tendo-se assim uma avaliação comparativa tanto de seu efeito antinociceptivo e/ou anti-inflamatório, como de reações indesejáveis; subsidiando o médico veterinário clínico, no estabelecimento da relação custo/benefício desses fármacos. No teste do edema de orelha induzido pelo óleo de cróton em camundongos, o CT (ID<sub>50</sub> = 3,6 mg/kg) foi à droga mais potente, seguido do CP e FM (ID<sub>50</sub> = 12,3 e 17,8 mg/kg, respectivamente). O MX e FC, apesar de efetivos, mostraram baixa atividade não produzindo efeito suficiente com a dose máxima de 30mg/kg, para a determinação da ID<sub>50</sub>. Na febre induzida pelo LPS em ratos, o FC produziu atividade antipirética com ID<sub>50</sub> = 2,9 mg/kg, acompanhado do CT, CP e FM (ID<sub>50</sub> = 3,3; 3,6 e 4 mg/kg, respectivamente) e com maiores doses do MX (ID<sub>50</sub> = 17,8 mg/kg). Avaliando o potencial analgésico pelo método das contorções abdominais com ácido acético em camundongos, o MX foi o mais potente (ID<sub>50</sub> = 0,09 mg/kg), seguido do FM, FC, CP e CT (ID<sub>50</sub> = 0,4; 1,9; 2,3 e 3,6 mg/kg, respectivamente) e, utilizando estas ID<sub>50</sub> na avaliação da atividade ulcerogênica em camundongos, o FC, FM e MX não produziram efeitos gástricos significativos no 3º ou no 7º dia dos tratamentos. O CT e o CP promoveram ulcerações no 3ª dia, sendo o CT de forma mais intensa; não se observando alterações gástricas no 7º dia, podendo esse efeito estar relacionado ao desenvolvimento de tolerância aos danos causados por essa classe de drogas na mucosa. Esses resultados revelam que a atividade analgésica da quase totalidade desses fármacos independe da atividade anti-edematogênica e antipirética, tendo o CT revelado ID<sub>50</sub> semelhantes em todos os testes farmacológicos. A atividade ulcerogênica gástrica evidenciada, teve relação inversa com a atividade analgésica de todos esses fármacos.

## ABSTRACT

PIRES, Priscila Andrade. **Analgesic, antioedematogenic and antipyretic activity and ulcerogenic effects of anti-inflammatory drugs in rodents.** 2009. 72f. Dissertation (Master Science in Veterinary Medicine, Clinical Science). Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2009.

Nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAID) are widely using in veterinary medicine, having analgesic and anti-inflammatory activity, including reduction of oedema and antipyretic actions. They inhibit the cyclooxygenase enzyme (COX). There are two isoforms of COX that are responsible for synthesis of prostaglandins. The COX I is usually a constitutive enzyme expressed in tissues. Prostaglandins, prostacyclin, and thromboxane synthesized by this enzyme are responsible for normal physiologic functions. COX II, on the other hand, is inducible and synthesized by inflammatory cells after stimulation by cytokines and other mediators of inflammation. In some tissues COX II may be constitutive as central nervous system and kidney. All NSAID can cause adverse side effects and their selective degree will be important for the occurrence of undesirable reaction. The aim of this study was to evaluate the analgesic, antioedematogenic and antipyretic activity of some anti-inflammatory used in veterinary clinics, the nonselective drugs, flunixin meglumine (FM) and ketoprofen (CT); the COX II preferential, meloxicam (MX) and carprofen (CP); and COX II selective, firocoxib, after oral administration, as well as their ulcerogenic activity in gastric mucosa, allowing a comparative analyses of their antinociceptive and/or anti-inflammatory actions and their adverse side effects, helping veterinary doctor in the choose of the drug that have better relation cost/risk/benefit of this drugs. To assess the antioedematogenic effect in croton oil-induced mice ear oedema method, the CT (ID<sub>50</sub>: 3,6 mg/kg) was the most potent drug, followed by CP and FM (ID<sub>50</sub>: 12,3 and 17,8 mg/kg, respectively). The MX and FC, despite of their effectiveness, showed low activity, didn't producing sufficient effects for determination the ID<sub>50</sub> in maximal dose (30 mg/kg). In LPS induced fever in rats, the FC produced antipyretic activity with ID<sub>50</sub> 2,9 mg/kg, accompanied by CT, CP and FM (ID<sub>50</sub>: 3,3; 3,6 and 4 mg/kg, respectively) and with greater dose of meloxicam (ID<sub>50</sub>: 30 mg/kg). Evaluating the antinociceptive effect in the acetic acid-induced abdominal writhing model of analgesia in mice, the MX was the most effective drug (ID<sub>50</sub>: 0,09 mg/kg), followed by FM, FC, CP and CT (ID<sub>50</sub>: 0,4; 1,9; 2,3; 3,6, respectively), and using this ID<sub>50</sub> in the evaluation of ulcerogenic action of this drugs in mice, the FC, FM and MX didn't induce significative gastric injury in 3<sup>o</sup> and 7<sup>o</sup> day of treatment. The CT and CP induced ulceration in 3<sup>o</sup> day, being the CT most intense. However in 7<sup>o</sup> day, we didn't notice gastric injury, suggesting that adapted gastric mucosa produces increased resistance to subsequent damage by this class of drugs. This results reveal that analgesic activity of almost all of this NSAID is independent of this antioedematogenic and antipyretic actions. The CT has similar ID<sub>50</sub> in all pharmacological assays in this study. The gastric ulcerogenic activity has inverse ratio when compared with analgesic effects.

## LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

AA: Ácido Aracídico  
Ag: Antígenos  
AINES: Anti-inflamatórios Não Esteroidais  
AUC: Área sobre a Curva  
*bid*: *bis in die*, duas vezes ao dia  
Cg: Carragenina  
CINC-1: Quimiocina de ratos, análoga a IL-8 em humanos  
CO<sub>2</sub>: Gás Carbônico  
COX: Cicloxigenase  
COX I: Cicloxigenase I  
COX II: Cicloxigenase II  
CP: Carprofeno  
CT: Cetoprofeno  
CXCL-1: Quimiocina de ratos, análoga a IL-8 em humanos  
EP: Receptores da PGE<sub>2</sub>  
EP1: Receptores da PGE<sub>2</sub>, tipo 1  
EP2: Receptores da PGE<sub>2</sub>, tipo 2  
EP3: Receptores da PGE<sub>2</sub>, tipo 3  
EP4: Receptores da PGE<sub>2</sub>, tipo 4  
FC: Firocoxibe  
FM: Flunixin Meglumine  
g: Grama  
h: Hora  
HCL: Ácido Clorídrico  
Kg: Quilograma  
ID50: Dose Inibitória 50%  
IL-1 $\beta$ : Interleucina 1 $\beta$   
IL-4: Interleucina 4  
IL-6: Interleucina 6  
IL-8: Interleucina 8  
IL-10: Interleucina 10  
IL-13: Interleucina 13  
*i.p.*: Intra-peritoneal  
IU: Índice de Ulceração  
*i.v.*: Intra-venoso  
KC: Quimiocina derivada dos Queratinócitos  
LPS: Lipopolissacárido Bacteriano  
LT(s): Leucotrieno(s)  
LTA<sub>4</sub>: Leucotrieno A<sub>4</sub>  
LTB<sub>4</sub>: Leucotrieno B<sub>4</sub>  
LTC<sub>4</sub>: Leucotrieno C<sub>4</sub>  
LTD<sub>4</sub>: Leucotrieno D<sub>4</sub>  
LTE<sub>4</sub>: Leucotrieno E<sub>4</sub>  
 $\mu$ g: Micrograma  
mg: Miligrama  
 $\mu$ L: Microlitro

mL: Mililitro  
mm: Milímetro  
min.: Minuto  
MIP-2: Proteína Inflamatória dos Macrófagos 2  
MnPO: Área Pré-Óptica Mediana  
MPO: Área Pré-Óptica Medial  
MX: Meloxicam  
NaCl 0,9%: Salina Fisiológica  
NSP: Nociceptores Sensitivos Primários  
ng: Nanograma  
nL: Nanolitro  
NO: Óxido Nítrico  
°C: Graus Celsius  
OVLT: Órgão Vascular da Lâmina Terminal  
PAMPs: “Pathogen-associated molecular patterns”  
PGD<sub>2</sub>: Prostaglandina D<sub>2</sub>  
PGE<sub>2</sub>: Prostaglandina E<sub>2</sub>  
PGF<sub>2</sub>α: Prostaglandina F<sub>2</sub>α  
PGG<sub>2</sub>: Prostaglandina G<sub>2</sub>  
PGH<sub>2</sub>: Prostaglandina H<sub>2</sub>  
PI(s): Prostaciclina(s)  
PLA<sub>2</sub>: Fosfolipase A<sub>2</sub>  
*p.o.*: via oral  
POA: Área Pré-Óptica Anterior  
POA-HA: Área Pré-Óptica Anterior do Hipotálamo Anterior  
*sid*: *semel in die*, uma vez ao dia  
TLR: Receptores Toll-Like  
TNFα: Fator de Necrose Tumoral α  
TNFR1: Receptor de TNF, tipo 1  
TNFR2: Receptor de TNF, tipo 2  
TX(s): Tromboxano(s)  
TXA<sub>2</sub>: Tromboxano A<sub>2</sub>  
TXB<sub>2</sub>: Tromboxano B<sub>2</sub>  
v/v: Volume por Volume  
Δ: Variação  
ΔT: Variação de Temperatura

## 1 INTRODUÇÃO

Os compostos anti-inflamatórios não esteróides (AINES) estão entre os agentes farmacológicos mais utilizados, tanto de forma prescrita como não prescrita. Atualmente, mesmo com mais de 50 diferentes AINES no mercado farmacêutico, ocorre ainda um fluxo contínuo de novas preparações. Esses fármacos apresentam um amplo espectro de indicações terapêuticas como: a analgesia, a inibição da inflamação, a antipirese, além da profilaxia contra algumas doenças cardiovasculares. São importantes instrumentos no tratamento da dor e podem ser associados com outros compostos, como os opióides, por exemplo, reduzindo as doses analgésicas dos AINES e a incidência de seus efeitos colaterais.

A inflamação consiste em uma resposta tissular frente a qualquer tipo de lesão, e se inicia com a formação de ácido aracdônico (AA) a partir de fosfolídeos de membranas celulares, por uma enzima denominada de fosfolipase A<sub>2</sub> (PLA<sub>2</sub>). Posteriormente, o AA dará origem aos mediadores inflamatórios por 2 vias: I) via das cicloxigenases (COX), produzindo prostaglandinas (PGs), prostaciclina (PIs) e tromboxanos (TXs) e II) via das lipoxigenases (LOX), derivando daí a formação de leucotrienos (LTs). PGs, PIs, TXs e LTs são os principais mediadores responsáveis pela resposta inflamatória, sendo denominados de prostanóides.

Os AINES agem promovendo a inibição da enzima cicloxigenase, não havendo portanto, a formação de prostanóides. Esses mediadores são responsáveis não só pela produção do processo inflamatório, como também são importantes em eventos fisiológicos como a modulação da secreção ácida gástrica, desempenhando fundamentais papéis na homeostase do organismo. Há duas isoformas de COX: a COX I, relacionada aos processos fisiológicos e a COX II produzida pelos tecidos em resposta a uma lesão, iniciando o processo inflamatório. Sabe-se porém, que ambas as isoformas, a COX I e a COX II, são expressas tanto pelos tecidos normais como nos tecidos inflamados.

Essa classe de fármacos pode apresentar uma maior afinidade por uma das isoformas de COX, daí serem classificados segundo a sua seletividade, sendo denominados de COX não seletivo, os que apresentam afinidade tanto pra a COX I como para a COX II, e os seletivos, que são aqueles que apresentam maior grau de afinidade para a COX II. Inicialmente, acreditava-se que os efeitos colaterais advindos do uso de anti-inflamatórios, estariam relacionados apenas aos COX não seletivos e que a prescrição de fármacos seletivos para a COX II era totalmente segura por não interferir nos processos fisiológicos não inflamatórios. Entretanto, a partir do conhecimento da expressão da COX II em tecidos normais (não patológicos), pôde-se inferir que essa classe de anti-inflamatórios também produziria efeitos colaterais graves, apesar de serem em menor grau que os COX não seletivos.

Os conhecimentos da farmacologia e da toxicologia dos diferentes medicamentos são essenciais para a sua utilização criteriosa na medicina veterinária, sendo particularmente importante na classe dos anti-inflamatórios, em que a meia vida de uma substância difere muito de espécie pra espécie, em função das diferentes vias de biotransformações e outras características. Fatores variados como doenças associadas (principalmente as renais e as hepáticas) ou a idade dos animais, que quando jovens não tem o sistema enzimático suficientemente maduro, e quando velhos possuem menor eficiência hepática e renal, também influenciam na eficácia e na toxicidade da droga administrada. A associação de medicamentos

também é um aspecto importante da terapêutica, visto que, embora algumas delas se mostrem benéficas, a maioria leva a efeitos colaterais mais pronunciados (SPINOSA et al., 2006).

Os AINES são bem absorvidos por via oral, intramuscular e subcutânea. Após a absorção, encontram-se em sua maior parte ligados às proteínas plasmáticas (96 a 99%), principalmente a albumina; apresentando portanto, volume de distribuição pequeno, permanecendo no plasma e nos fluidos extracelulares. São normalmente ácidos fracos, possuindo grande afinidade por locais inflamados, cujo pH baixo, favorece a alta concentração local destas substâncias, podendo explicar a diferença observada entre a concentração plasmática do fármaco e a duração do seu efeito. A acidez específica desses compostos também faz com que sejam mais facilmente excretados em urina básica (LEES et al., 2004). Esta característica é importante no caso de superdosagens ou de intoxicação, em que a administração de substâncias alcalinas como o bicarbonato, auxiliará no restabelecimento do paciente. Ainda com relação às diferentes espécies animais, vale salientar que em particular os cães, eliminam estes fármacos preferencialmente por via biliar, realizando o ciclo entero-hepático destes medicamentos, o que predispõe à ocorrência de maior incidência de lesões da porção posterior do trato gastrointestinal, com inflamações, sangramentos, enteropatias por perda de proteínas e constrições de segmentos intestinais (SPINOSA et al., 2006; GILMAN et al., 2006).

Considerando estes aspectos, esse trabalho tem como objetivo analisar a potência de cinco fármacos anti-inflamatórios amplamente usados na clínica médica veterinária, avaliando a influência destes sobre a dor, o edema e a febre. Foram escolhidos dois medicamentos da classe dos COX não seletivos: o flunixin meglumine (FM) e o cetoprofeno (CT); dois da classe dos COX II preferenciais: o meloxicam (MX) e o carprofeno (CP); e um da classe dos COX II seletivos: o firocoxibe (FC). O carprofeno e o firocoxibe são altamente seletivos para a COX II, enquanto que o meloxicam, apesar de seletivo, apresenta também afinidade para a COX I. Adicionalmente, considerando que a simples análise do potencial do fármaco não define qual a melhor substância a ser utilizada na terapêutica, serão investigados os efeitos desses fármacos sobre o trato gastrointestinal, subsidiando através dos resultados obtidos, a criação de um protocolo que permitirá ao clínico analisar o risco/custo/benefício do uso de cada uma dessas drogas, visto que, o anti-inflamatório de escolha deve ser aquele que associe alta potência a uma baixa incidência de efeitos colaterais.

## **2 REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1 Fisiologia da Inflamação**

O processo inflamatório consiste na resposta orgânica diante de lesão tissular ou infecção. Este processo fisiológico envolve uma ação coordenada entre o sistema imunológico e o tecido no qual ocorreu a lesão. A resposta inflamatória é essencial para a sobrevivência, tentando proteger o organismo de estímulos nocivos. Em algumas situações e doenças, essa resposta pode se tornar excessiva, sem qualquer benefício e com sérios efeitos adversos (COTRAN et al., 2000).

Inflamação é um termo geral para as mudanças que podem ocorrer nos tecidos vascularizados como resposta a danos teciduais, infecções ou reações imunológicas. Vários são os mediadores químicos envolvidos no desenvolvimento do processo inflamatório,

podendo ser de origem tissular, como as aminas vasoativas, fator de ativação plaquetária (PAF), eicosanóides, citocinas, radicais livres superóxidos, óxido nítrico e neuropeptídeos; ou de origem plasmática, como os sistemas de coagulação, do complemento e das cininas (SPINOSA et al., 2006; GILMAN et al., 2006).

As funções da inflamação incluem a destruição ou inativação do agente ou irritante inicial e então a limpeza dos debris celulares na área para que a reparo tecidual possa ocorrer. Vários tipos de células são ativadas nos tecidos danificados ou infectados, promovendo a liberação de diversos mediadores, incluindo fatores de crescimento, citocinas, quimiocinas, eicosanóides, aminas biogênicas e neuropeptídeos. No local da inflamação, esses mediadores têm efeitos vasculares promovendo a vasodilatação, a estase vascular e o aumento da permeabilidade capilar; garantem também a migração de leucócitos da circulação para o tecido inflamado e coordenam ainda as variadas respostas de defesa local. Alguns desses mediadores têm a capacidade de estimular neurônios sensoriais locais. Em alguns casos, quando a inflamação excede certos níveis, quantidades suficientes desses mediadores endógenos entram na circulação sistêmica e são disseminados pelo sangue a diferentes órgãos. Isso resulta numa complexa variedade de reações sistêmicas, coletivamente chamadas de resposta de fase aguda, que é definida como uma resposta multifatorial do organismo a infecções, lesões ou traumas. A resposta de fase aguda compreende mudanças na concentração plasmática de proteínas hepáticas (proteínas de fase aguda), hormônios, metabólitos intermediários, neutrofilia e alteração do *set point* cerebral de controle dos sinais de doença, coletivamente chamados “comportamento de doença”. Esse comportamento inclui o desenvolvimento da febre, perda do apetite, aumento do ciclo de sono, diminuição da atividade motora, redução da libido e diminuição do comportamento de alerta. (ROTH et al., 2009)

Diante de um trauma tissular, as células liberam uma citocina denominada fator de necrose tumoral (TNF $\alpha$ ) que por sua vez, induz a liberação de outras citocinas, podendo se destacar a interleucina 1-Beta (IL-1 $\beta$ ) e a interleucina 8 (IL-8). A IL-1 $\beta$  promove a ativação da enzima ciclooxigenase (COX) responsável pela produção de prostaglandinas, prostaciclina e tromboxano e a IL-8 atua na liberação local de aminas simpatomiméticas (BASBAUM & JULIUS, 2006; FERREIRA, 2009).

O processo inflamatório é composto de três fases, cada qual mediada por diferentes mecanismos: uma fase aguda, caracterizada principalmente por vasodilatação local e aumento da permeabilidade vascular; uma fase tardia, com a infiltração de leucócitos e células fagocitárias e a fase proliferativa crônica, na qual ocorre degeneração tecidual e fibrose. Quando aguda, a inflamação caracteriza-se pela curta duração e apresenta os sinais cardeais que são a dor, o calor, o rubor, o tumor e a perda da função. Já na fase crônica, além de perdurar por um período indeterminado, varia de acordo com os tipos de mediadores celulares e humorais envolvidos. As modificações decorrentes da liberação dos mediadores levam ao intumescimento tecidual, devido ao extravasamento de proteínas plasmáticas, com conseqüente saída de água para o tecido e a penetração de células inflamatórias, que têm como principal objetivo debelar o agente agressor (SPINOSA et al., 2006; GILMAN et al., 2006).

## **2.2 O Ácido Aracdônico e os Eicosanóides**

O ácido aracdônico apresenta papel regulador chave na fisiologia celular. Consiste em um ácido graxo de 20 carbonos, contendo quatro duplas ligações, liberado a partir de

fosfolipídios de membrana através da enzima fosfolipase A<sub>2</sub> (PLA<sub>2</sub>), a qual, pode ser ativada por diversos estímulos como: químicos, inflamatórios, traumáticos e mitogênicos, que também ativam citocinas pró-inflamatórias como IL-1 (BROOKS et al., 1999, HILÁRIO, et al., 2006). É então metabolizado ou pela via das cicloxigenases, que dá origem a formação de PGs, PIs e TXs ou pela via das lipoxigenases que levam a síntese dos leucotrienos e lipoxinas (LEES et al., 2004; KATZUNG, 2006; GILMAN et al., 2006; RANG et al., 2007; YEDGAR et al., 2007).

Os eicosanóides são produtos da oxidação de ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa. São responsáveis por importantes funções fisiológicas nos organismos animais e também estão presentes numa grande variedade de plantas. Constituem uma grande família de compostos, formada pelas prostaglandinas, prostaciclina, tromboxanos e leucotrienos, que, além de serem de elevada potência, são responsáveis por um amplo espectro de atividades biológicas (KATZUNG, 2006). São potentes mediadores pró-inflamatórios e a sua supressão tem sido um importante alvo terapêutico. Entretanto, esta é apenas uma abordagem, pois existem várias vias produtoras de dor e inflamação. Esses eicosanóides fazem parte de uma rede complexa de eventos fisiopatológicos, ao serem derivados de diferentes vias, que podem apresentar atividade pró ou anti-inflamatória, dependendo do órgão e do estágio da doença, apresentando papel importante em eventos fisiológicos (YEDGAR et al, 2007) .

### 2.3 A Via das Cicloxigenases

A enzima cicloxigenase tem papel fisiológico importante na produção de PGs, uma classe de composto com ações fisiológicas importantes, produzidas por todos os tecidos dos mamíferos (KVATERNICK et al., 2007). O AA é convertido pela enzima cicloxigenase (COX) nos compostos intermediários PGG<sub>2</sub> e PGH<sub>2</sub>, podendo por isso ser também denominada de prostaglandina G/H sintetase. A COX apresenta dois sítios catalíticos: o sítio cicloxigenase e o sítio peroxidase. O sítio cicloxigenase promove a oxidação do AA em PGG<sub>2</sub>, que por sua vez é reduzida ao intermediário instável PGH<sub>2</sub> pelo sítio peroxidase, o qual não é inibido pelos AINES (BROOKS et al., 1999). A PGH<sub>2</sub> é convertida pelas isomerases tissulares específicas em múltiplos prostanóides (PGD<sub>2</sub>, PGE<sub>2</sub>, PGF<sub>2α</sub>, PGI<sub>2</sub>, TXA<sub>2</sub> e TXB<sub>2</sub>) (HILÁRIO, et al., 2006; FILHO & RAHAL, 2008, KING et al., 2009), entretanto, a maioria dos tecidos são capazes de converter PGH<sub>2</sub> em apenas alguns desses produtos finais, dependentemente do tipo de isomerase presente em cada tecido. Por exemplo, as plaquetas sanguíneas produzem TXA<sub>2</sub> e PGD<sub>2</sub> e o endotélio vascular produz PGI<sub>2</sub> e PGE<sub>2</sub> (MARNETT, et al., 2009). Com grande diversidade de receptores específicos e vários mecanismos reguladores, as PGs atuam como: papel central na inflamação, coagulação sanguínea, angiogênese, ovulação, parturição, metabolismo ósseo, crescimento e no desenvolvimento neuronal, na cicatrização de feridas, na função renal, no tônus vascular e nas respostas imunes (KUMMER & COELHO, 2002; KVATERNICK et al., 2007).

Existem duas isoformas de enzima cicloxigenase: a COX I e a COX II, que determinam no organismo diferentes funções fisiológicas. A COX I apresenta 17 aminoácidos na porção terminal, enquanto a COX II apresenta 18 aminoácidos na porção carboxi-terminal. Embora sejam muito semelhantes na estrutura protéica, essas enzimas são codificadas por genes diferentes. A COX I e a COX II têm aproximadamente 60% de homologia genética e seus genes estão localizados nos cromossomos 9 e 1, respectivamente. O sítio ativo da COX II é mais largo aproximadamente 27%. (HILÁRIO, et al., 2006, MARNETT, et al., 2009). O sítio de ligação da COX I apresenta na posição 523 da cadeia protéica uma molécula de

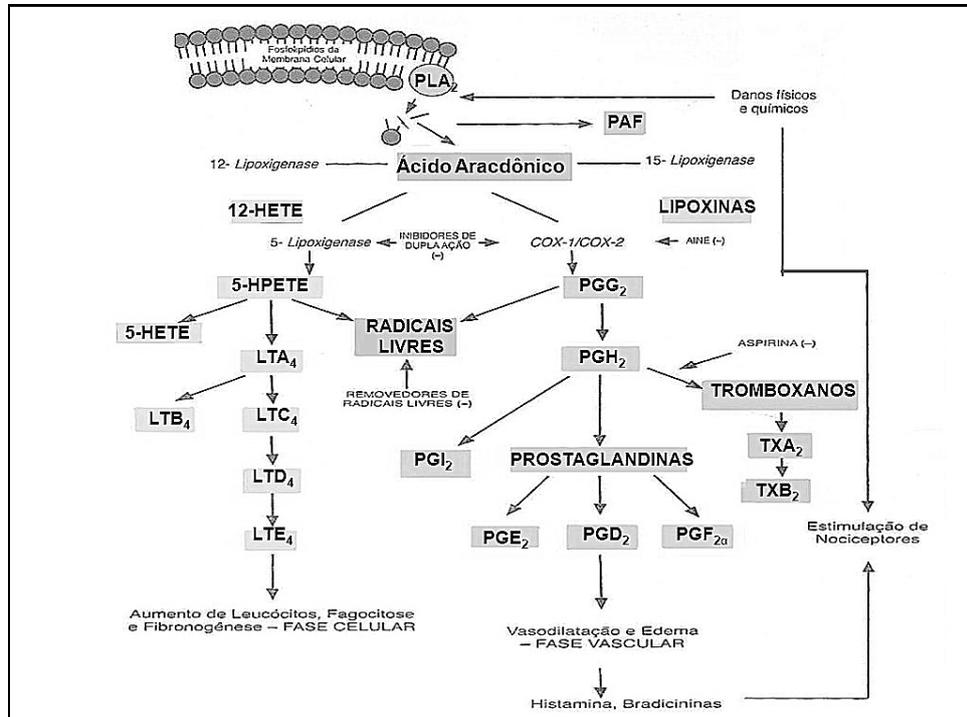
isoleucina, ao passo que a COX II tem uma pequena molécula de valina. Essa mudança torna o sítio de ligação da COX II mais largo e mais acessível (KVATERNICK et al., 2007).

A COX I está presente em quase todos os tipos de células, com exceção do eritrócito, sendo chamada de constitutiva, levando a formação de PGs, principalmente, relacionadas com ações fisiológicas como, proteção gástrica, agregação plaquetária, homeostase vascular e manutenção do fluxo sanguíneo renal. Essa isoforma faz parte da constituição do trato gastrointestinal, sendo associada à produção de muco protetor e à inibição da secreção ácida gástrica, portanto, drogas que inibem essa enzima causam diversos distúrbios no trato digestivo. Nas plaquetas, a COX I está associada à síntese do tromboxano A<sub>2</sub>, mediador que favorece a agregação e a adesão plaquetária, portanto, sua inibição está associada ao risco de sangramento cutâneo e gastrointestinal (CHAN et al., 1999; KUMMER & COELHO, 2002; LEES et al., 2004; BRICKS & SILVA, 2005; FRANCO et al., 2006; HAZEWINKEL et al., 2008; STEAGALL et al., 2009). Já os produtos originados pela cisão do AA através da COX II levam, principalmente, a formação de PGs que participam de eventos inflamatórios, álgicos e térmicos, sendo por isso denominada de indutiva. A expressão desta enzima ocorreria após estímulo inflamatório nas células migratórias e tecidos lesados e, por isso, foi chamada indutiva. Esse estímulo está relacionado a presença de citocinas, fatores de crescimento e estimulantes tumorais, sugerindo sua relevância no câncer e em processos inflamatórios (CHAN et al., 1999; KUMMER & COELHO, 2002; FRANCO et al., 2006; HAZEWINKEL et al., 2008; STEAGALL et al., 2009). É induzida pelas citocinas pró-inflamatórias como IL-1, IL-2, TNF $\alpha$ , e outros mediadores nos sítios de inflamação como fatores de crescimento e endotoxinas. As citocinas anti-inflamatórias como IL-4, IL-10 e a IL-13, assim como os glicocorticóides inibem a expressão de COX II. (VANE et al., 1998; KUMMER & COELHO, 2002; HILÁRIO et al., 2006; MARNETT et al., 2009).

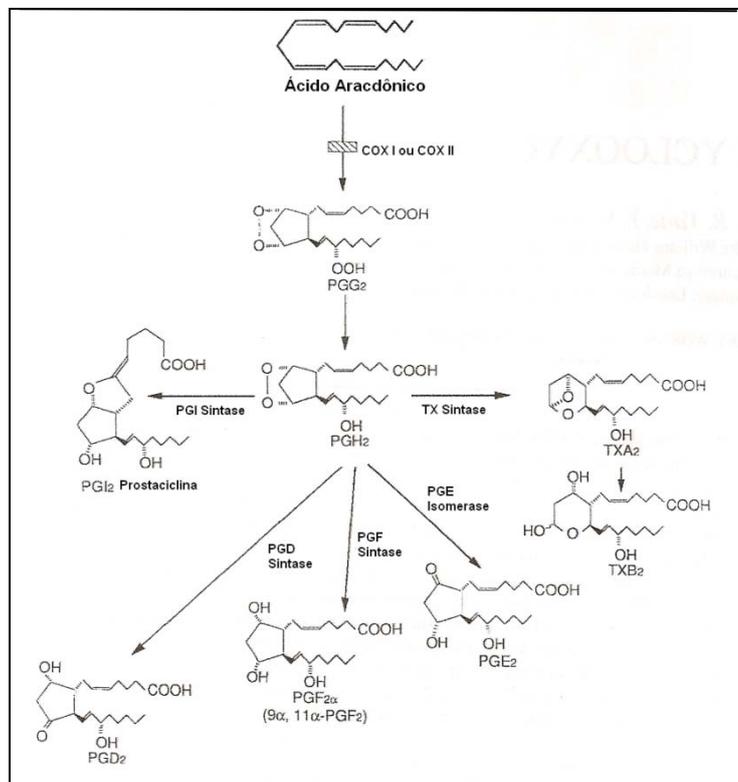
Diversos estudos têm demonstrado que a COX II não está somente relacionada ao desenvolvimento do processo inflamatório, mas também é responsável por ações fisiológicas mantenedoras da homeostase em diferentes tecidos, como rins, ovário, útero, cartilagens, ossos e endotélio vascular (KUMMER & COELHO, 2002; BRICKS & SILVA, 2005; HILÁRIO, et al., 2006; PAPICH, 2008; STEAGALL et al., 2009). No sistema nervoso central, a COX II é expressa de forma fisiológica, principalmente no córtex, no hipocampo, no hipotálamo e no cordão espinhal. Além de auxiliar no seu desenvolvimento, auxilia no desenvolvimento das funções cerebrais normais da atividade sináptica (neurotransmissão) e na consolidação da memória (VANE et al., 1998; KUMMER & COELHO, 2002; SPINOSA et al., 2006). O papel das PGs no sistema nervoso central envolve uma complexa integração de funções, como modulação do sistema nervoso autonômico e dos processos sensoriais. Seus níveis aumentam muito após convulsões (VANE et al., 1998; KUMMER & COELHO, 2002; CLARK, 2006). No tecido renal está presente constitutivamente na macula densa e nas células intersticiais da medula renal. É responsável pela manutenção dos níveis de reabsorção de sódio e de água devido a liberação de renina da macula densa e, no sistema vascular assegura a produção de prostaciclina, que produz efeitos vasodilatadores e que evitam a agregação plaquetária, mantendo taxa de filtração glomerular e o fluxo sanguíneo renal (MATHEWS et al., 1990; KUMMER & COELHO, 2002; CLARK, 2006; SPINOSA et al., 2006).

Da mesma forma, embora se saiba que a COX II possua propriedades pró-inflamatórias, a resposta inflamatória total é produzida tanto pela COX II como pela COX I (LEES, et al., 2004; HILÁRIO, et al., 2006). Diante de estímulos humorais há um aumento de 2 a 4 vezes da COX I e de 10 a 18 vezes da COX II (KUMMER & COELHO, 2002; SPINOSA et al., 2006).

A cascata inflamatória apresenta-se esquematizada na Figura 1 e 2.



**Figura 1:** Cascata inflamatória a partir do ácido aracdônico (Adaptado de SPINOSA et al., 2006).



**Figura 2:** Cascata Inflamatória (Adaptado de VANE et al., 1998).

Há ainda uma terceira isoforma de COX, isolada pela primeira vez no sistema nervoso central do cão, chamada COX III e seria uma variante da COX I. Essa isoforma tem sido implicada, em parte, na analgesia central produzida pelos AINES (LEES et al., 2004; PAPICH, 2008). Diferencia-se da COX I pois tem menor atividade na biossíntese de PGs, sendo inibida, no cão, preferencialmente por anti-inflamatórios como acetaminofeno e dipirona (CLARK, 2006; PAPICH, 2008), representando um possível alvo para a ação central apresentada por alguns AINES. A COX III parece ser mais proeminente em cães, do que em humanos e roedores (PAPICH, 2008)

## **2.4 A Via das Lipoxigenases**

As lipoxigenases, presentes principalmente no citosol, são encontradas nos pulmões, plaquetas, mastócitos e leucócitos. A principal enzima do grupo é a 5-lipoxigenase, que atua sobre o ácido aracdônico produzindo o ácido 5-hidroperoxieicosatetraenóico (5-HPETE), que é convertido em leucotrieno A<sub>4</sub> (LTA<sub>4</sub>). O LTA<sub>4</sub> pode ser convertido em leucotrieno B<sub>4</sub> (LTB<sub>4</sub>) ou, em uma série de cisteinil leucotrienos, LTC<sub>4</sub>, LTD<sub>4</sub> e LTE<sub>4</sub>. O LTB<sub>4</sub> é produzido principalmente por neutrófilos e macrófagos (GOODMAN et al., 2009), enquanto os cisteinil-leucotrienos, principalmente por eosinófilos, mastócitos, basófilos e macrófagos (GILMAN et al., 2006; KATZUNG, 2006; RANG et al., 2007).

O LTB<sub>4</sub> é um importante agente responsável pelo aumento da permeabilidade vascular, causa aderência, quimiotaxia e ativação de polimorfonucleares e monócitos, além de estimular a proliferação de macrófagos e linfócitos e a produção de citocinas por essas células (GOODMAN et al., 2009). Os cisteinil-leucotrienos provocam vasodilatação na maioria do leito vascular, vasoconstrição coronária e contração do músculo brônquico, sendo por isso muito importantes na asma (BERTOLINI et al., 2002). Os LTC<sub>4</sub> e LTD<sub>4</sub> causam edema decorrente do aumento da permeabilidade microvascular (ISHII et al., 1994).

## **2.5 O Papel de Citocinas e Quimiocinas**

As citocinas possuem papel essencial na formação dos sinais locais ou sistêmicos de inflamação, sendo polipeptídeos produzidos e liberados por vários tipos de células em resposta a uma variedade de estímulos desencadeados por vírus, parasitas, bactérias e seus produtos ou em resposta a outras citocinas, sendo responsáveis pela liberação dos mediadores finais do processo inflamatório, como os eicosanóides. As quimiocinas são consideradas citocinas de um grupo particular, com propriedades químicas e funcionais específicas, importantes nos processos de quimiotaxia, capazes de estimular o movimento leucocitário e a quimiotaxia, que é o movimento dirigido dessas células (COTRAN et al., 2000). Esses mediadores são fundamentais para desenvolvimento da dor e da inflamação. As primeiras citocinas descritas na fisiopatologia do processo inflamatório foram: IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IL-6 e as quimiocinas, IL-8, quimiocina quimio-atraente de neutrófilos 1 (CINC-1) e quimiocina derivada dos queratinócitos (KC) (VERRI et al., 2006).

A IL-1 $\beta$  é produzida principalmente por macrófagos, linfócitos e células da glia. Além de estar envolvida em muitas características do processo inflamatório, produz também outros mediadores. Essa citocina estimula recrutamento de células da série branca sangüínea, auxilia na produção de febre (pirógeno endógeno), na liberação de proteínas de fase aguda e no aumento da permeabilidade dos vasos sangüíneos (DINARELLO, 1984; 1998). A IL-1 $\beta$  estimula a expressão de COX II e, como consequência, a formação e liberação de

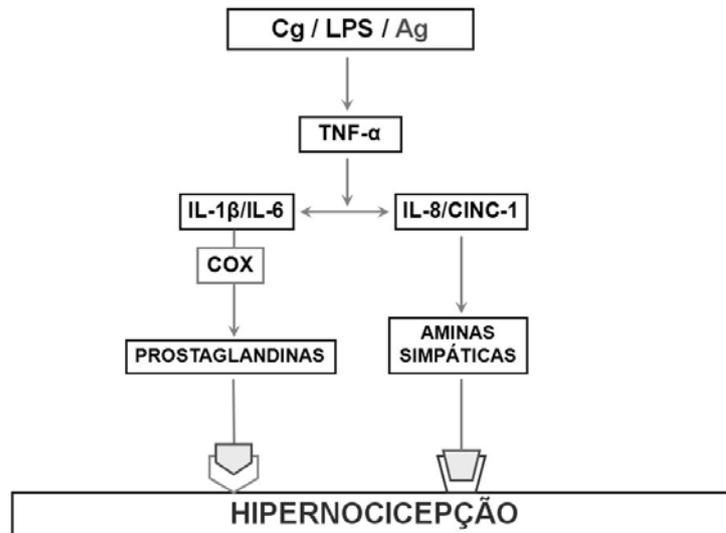
prostanóides que têm importante papel na sensibilização do nociceptor, assim, indiretamente, a IL-1 $\beta$  atua como mediador hipernociceptivo (VERRI et al., 2006).

O TNF- $\alpha$  é também uma potente citocina pró-inflamatória, que é produzida rapidamente e em grande quantidade, principalmente por macrófagos, após o estímulo inflamatório. Essa citocina interage com a célula alvo através de uma ligação de alta afinidade com os receptores TNFR1 (receptor de TNF, tipo 1) e TNFR2 (receptor de TNF, tipo 2). A ligação do mediador ao TNFR1 garante principalmente a migração de neutrófilos, o choque induzido por endotoxinas e a dor neuropática após lesão do nervo, enquanto que a ligação ao TNFR2 influencia a apoptose celular e necrose. O TNF- $\alpha$  induz hipernociceção em ratos através de duas vias, independentes e paralelas, uma envolvendo o estímulo a produção de IL-1 $\beta$ , com conseqüente liberação de prostanóides e a outra através ativação da quimiocina CINC-1 (quimiocina de ratos, análoga a IL-8 em humanos), com conseqüente liberação de aminas simpatomiméticas. Desta forma, os prostanóides e as aminas simpatomiméticas são os mediadores finais da hipernociceção inflamatória (VERRI et al., 2006).

A IL-6 é uma citocina com várias células alvo e muitas atividades biológicas, estando envolvida principalmente na regulação das respostas inflamatória e imune. Cunha et al. (1992), demonstraram que o anticorpo contra IL-6 inibe a hipernociceção mecânica causada pelo TNF- $\alpha$ , em ratos. Isso sugere-se que o TNF- $\alpha$  e as IL-6 e IL-1 $\beta$  precedem, seqüencialmente, a liberação de prostanóides (VERRI et al., 2006). Os maiores indutores da biossíntese de IL-6 são TNF- $\alpha$  e IL-1 $\beta$  (CHAI et al., 1996).

Conforme apresentado, duas vias participam na hipernociceção inflamatória envolvendo a formação final de prostanóides e de aminas simpatomiméticas. A participação desses mediadores finais decorrentes dessas vias é dependente do tipo de estímulo: enquanto a IL-1 $\beta$  induz a liberação de prostanóides, a quimiocinas IL-8 medeia a participação do componente simpático. (VERRI et al., 2006). Os ratos não produzem IL-8, mas sim um análogo que é CINC-1/CXCL-1, ambos exercendo as mesmas funções e o uso de soro anti IL-8, inibe a hipernociceção causada pelo CINC-1/CXCL-1, e vice-versa (CUNHA et al., 1991; LORENZETTI, et al., 2002). Em camundongos, as quimiocinas produzidas são quimiocina derivada dos queratinócitos (KC) e proteína inflamatória dos macrófagos 2 (MIP-2), relacionadas com IL-8 de humanos e a CINC-1/CXCL-1 de ratos (CUNHA et al., 2004).

As ações das interleucinas e as vias produtoras de prostanóides ou aminas simpatomiméticas podem ser demonstradas na Figura 3.



**Figura 3:** Estímulo inflamatório induzido por citocinas em ratos. O esquema acima representa a liberação de mediadores por diferentes estímulos como carragenina (Cg), LPS ou antígenos (Ag) (Adaptado de VERRI, et al., 2006).

## 2.6 Dinâmica do Processo Inflamatório

Os sinais cardeais da inflamação foram descritos por um médico romano Celsus, no século I, como rubor, calor, tumor e dor. Alguns séculos mais tarde, a perda da função foi adicionada (LEES et al., 2004).

O processo inflamatório inicia-se após qualquer tipo de lesão tecidual, ocorrendo a liberação de mediadores inflamatórios. A princípio, desenvolve-se a fase vascular da inflamação, caracterizada por vasodilatação, que confere o aspecto avermelhado ao tecido e o calor a região, bem como, o aumento da permeabilidade vascular. Esses eventos facilitam a passagem de proteínas plasmáticas para o tecido, carreando, conseqüentemente, uma grande quantidade de água, o que origina o edema. A fase celular ocorre concomitante à fase vascular devido às alterações do fluxo sanguíneo. Nesta fase, verifica-se a marginalização leucocitária no leito vascular e a passagem destes para o tecido através de diapedese. O tipo celular predominante nesta fase pode ser de células polimorfonucleares (neutrófilos, eosinófilos e basófilos), quando diante de um processo inflamatório agudo, ou de células mononucleares (monócitos e linfócitos), em um processo inflamatório crônico. Outras células tais como as células endoteliais, macrófagos, mastócitos e plaquetas podem estar envolvidos (LEES et al., 2004).

No caso de uma evolução favorável, o processo inflamatório passa então para fase de reparação havendo a eliminação do agente causal, a formação de tecido de granulação e a cicatrização. Se a evolução for desfavorável, pode ocorrer supuração, ou seja, os microorganismos superam as defesas orgânicas, lisando as células leucocitárias, formando coleção purulenta ou pode haver a crônificação do processo. (SPINOSA et al., 2006; GILMAN et al., 2006; KATZUNG, 2006).

## 2.7 A Dor

A dor é um dos sinais clássicos do processo inflamatório e decorre da sensibilização dos nociceptores. A dor pode ser definida como uma percepção desagradável, de uma sensação nociceptiva. Esse conceito envolve dois componentes: a nocicepção e a percepção.

A percepção da dor é a integração funcional dos sinais da via da dor, modulado por condições psicológicas, motivacionais e emocionais, além da história individual. A nocicepção ou a sensação nociceptiva resulta da ativação de subpopulações de neurônios sensoriais primários específicos que transmitem a informação nociceptiva para o cordão espinhal, sendo retransmitido até córtex (VERRI et al., 2006).

Citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias são mediadores liberados por células locais ou que migraram para área inflamada, modulando a intensidade da resposta. O estímulo inflamatório ou a lesão tecidual irão promover a liberação de citocinas, que disparam a liberação dos mediadores finais, que são prostanoídes e aminas simpatomiméticas, responsáveis pela resposta de dor (VERRI et al., 2006).

Dessa forma, a dor periférica é iniciada pela endotelina, substância P, histamina e pela bradicinina, sendo ampliada pela ação das PGs, principalmente a PGE<sub>2</sub> e a PGI<sub>2</sub>, através de sua ligação a receptores nociceptivos. A PGI<sub>2</sub> está relacionada com a hiperalgesia imediata e de curta duração, enquanto a PGE<sub>2</sub> se relaciona com a hiperalgesia longa, que pode persistir por até 6 horas (SPINOSA et al., 2006).

O acúmulo local de prostaglandinas, tromboxanos e outros mediadores químicos como as aminas simpatomiméticas e a substância P atuam nos nociceptores sensitivos primários (NSP), induzindo a sua sensibilização. Essa resposta decorre da diminuição do limiar de dor, devido à modulação de canais de sódio dependentes de voltagem específicos (BASBAUM & JULIUS, 2006; FERREIRA, 2009). Neste estágio, os animais experimentam então uma hiperalgia que se caracteriza pela sensibilidade exacerbada ao estímulo nocivo e/ou alodinia, quando sensações não dolorosas passam então a serem experimentadas como dor. Estes nociceptores sensibilizados enviam sinais, via fibras nervosas aferentes A delta e C, para o corno posterior da medula, onde fazem sinapses principalmente com neurônios das lâminas I, II e V. A partir da medula, o estímulo doloroso ainda prossegue via trato espinotalâmico para estruturas como o tálamo e, posteriormente, córtex cerebral (região parietal posterior), quando ocorre então a percepção da dor. Os estímulos nociceptivos também se dirigem para o sistema límbico (amígdala), que determina o aspecto afetivo da dor. (KUMMER & COELHO, 2002; FERREIRA, 2009).

Embora o tálamo e outros núcleos do sistema nervoso central, associados com a dor, não sejam ricos em COX I ou COX II, o cordão espinhal parece ser um local do processo nociceptivo que é intensamente influenciado pela COX II. Constitutivamente presente no cérebro e no cordão espinhal, a COX II está envolvida na transmissão nervosa, principalmente de estímulos dolorosos e febris (VANE et al., 1998; SHIN et al., 2006). Na dor inflamatória, as PGs são produzidas nos terminais periféricos dos neurônios sensoriais e causam hiperalgesia, o que é acompanhado da produção de citocinas pró-inflamatórias (IL-1, IL-8 e TNF $\alpha$ ) e pela indução de COX II nas células inflamatórias, bem como, nos terminais nervosos próximos destas (VANE et al., 1998).

Os AINES são fármacos utilizados como analgésicos periféricos que, ao exercerem sua ação, inibem a formação de mediadores químicos, produzidas em resposta as agressões teciduais. Mostram-se eficazes, portanto, a dor associada à inflamação ou à lesão tecidual, visto que diminui a produção de prostaglandinas que sensibilizam os nociceptores (RANG et al., 2007).

## 2.8 Febre e Efeito Antipirético

A termogênese, ou seja, a produção de energia na forma de calor - é um componente essencial das funções homeostáticas, mantendo a temperatura corporal mesmo em baixas temperaturas. A diminuição na temperatura celular reduz a eficiência das enzimas e capacidade de difusão, a disponibilidade de energia e o fluxo de íons nas membranas. Adicionalmente, a produção de calor contribui para febre, uma resposta de elevação da temperatura corporal que reduz a viabilidade dos patógenos e estimula a resposta imunológica. Como a energia consumida durante a termogênese envolve a oxidação de moléculas de lipídeos como combustível, a regulação desse mecanismo de produção de calor em resposta a sinais metabólicos, pode, também, contribuir para o balanço de energia e a regulação do tecido adiposo do corpo. O SNC é um órgão termorregulador e estimula a termogênese em resposta a baixas temperaturas, diminuição da temperatura corporal e a presença de citocinas pirogênicas. O tecido adiposo marrom, o coração e a musculatura esquelética são os principais órgãos, responsáveis pela produção efetiva de calor. O tecido adiposo marrom tem papel essencial na regulação da termogênese em mamíferos como roedores e crianças. Devido a sua área situada na escápula e omoplata, e também nos gânglios simpáticos e ao redor da glândula adrenal e do rim, esse tecido pode ser responsável pela produção basal de calor para a manutenção da temperatura corporal em baixas temperaturas. (MORRISON, et al., 2008).

A febre, um dos componentes da resposta inflamatória de fase aguda mais facilmente reconhecido, pode ser definida como uma elevação controlada da temperatura corporal em resposta a uma lesão, trauma ou invasão de agente infeccioso. Essa elevação regulada da temperatura interna do organismo para níveis acima dos normais ocorre em decorrência da alteração do balanço térmico modulado pelo hipotálamo (DINARELLO et al., 1988). O aumento da temperatura corporal ocorre para se adequar ao elevado *set point*, ou seja, o corpo se organiza para manter a temperatura elevada (devido a elevação do ponto de ajuste da temperatura), através de mecanismos que garantam a produção e a conservação de calor (ROTH, et al., 2009). A elevação da temperatura corporal decorre de respostas fisiológicas e comportamentais coordenadas, como vasoconstrição, imobilidade e depressão, tremores, piloereção, mobilização da gordura marrom em ratos. A terapia antipirética é necessária em pacientes em que a temperatura elevada, extrapola os benefícios de estimulação das defesas do hospedeiro e combate a infecção, e começa a causar danos ao tecido do animal (SOUZA et al., 2002; KANASHIRO, et al., 2008).

A febre é diferente da hipertermia que ocorre quando a produção ou ganho de calor excedem a capacidade de dissipação e perda de calor. Esse desbalanço pode ocorrer por diversas razões, como, por exemplo, um aumento nos mecanismos de absorção de calor devido a condições externas de calor excessivo ou uma resposta a drogas. Dessa forma, a hipertermia se manifesta quando o aumento da temperatura corporal ocorre de forma não controlada, não sendo acompanhado de mudanças na atividade dos mecanismos termorreguladores (ROTH et al., 2009).

Uma estreita associação entre febre e infecção tem sido reconhecida, motivo pelo qual a febre é, freqüentemente, chamada sinal de infecção. A manifestação da febre, porém, não é restrita a doenças infecciosas bacterianas, virais, protozoárias, fúngicas ou de outras origens. A febre é também uma resposta a uma lesão, como as lesões associadas a cirurgias, traumas, substâncias químicas e insultos. A febre pode decorrer também de mecanismos endógenos como as respostas auto-imunes e as tumorações. Dessa forma, os mecanismos que causam

febre são idênticos a aqueles capazes de iniciar uma resposta inflamatória (ROTH et al., 2009).

Os pirógenos exógenos ao entrarem no hospedeiro causam febre através da formação de citocinas pirogênicas. O sistema imune inato, predominantemente associado com neutrófilos, monócitos e macrófagos, representam a primeira linha de defesa contra uma variedade de patógenos. A presença no hospedeiro de patógenos que representem risco de infecção são reconhecidos por padrões moleculares associados aos patógenos ou PAMPs. Membros da família de receptores Toll-like (TLR) são receptores chave para reconhecimento dos PAMPs. Os mecanismos de transdução de sinal do TLR e, possivelmente, de outras células levam a produção das citocinas inflamatórias no hospedeiro infectado (ADEREM & ULEVICH, 2000; RIVEST, 2003; HÜBSCHLE et al., 2006; KANASHIRO, et al., 2008.). Essas citocinas e outros mediadores inflamatórios, como as interleucinas IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$  e interferons, estão implicadas na febre e são chamados pirógenos endógenos (ROTH et al., 2009). Estes afetam, direta ou indiretamente, a termogênese, através de sua ação no centro termorregulatório da POA-HA (área pré-óptica anterior do hipotálamo anterior). A produção da febre a partir desses mediadores vai depender da produção hipotalâmica de PGs (SOUZA et al., 2002; KANASHIRO, et al., 2008).

As mudanças no set point da temperatura para aumento da temperatura corporal e desenvolvimento de febre, ocorrem na área pré-óptica hipotalâmica. O órgão vascular da lâmina terminal (OVLT) e a área sub-fornical (chamados órgãos circonventriculares) têm especial importância para a febre, pois estão localizados próximos da área pré-óptica hipotalâmica e são ativado após a injeção de LPS. O OVLT parece agir como sensor para pirógenos endógenos circulantes e pode ser capaz de transferir os sinais de febre da área pré óptica hipotalâmica para estruturas vizinhas (ROTH et al., 2009).

A PGE<sub>2</sub> é considerada o principal mediador da febre no encéfalo, sendo responsável pela elevação do *set point* da temperatura corporal na febre. Isso foi comprovado através de experimentos, onde (1) mostrou-se que a administração de PGE<sub>2</sub> nos ventrículos cerebrais causa febre, pela ação desta em sítios sensíveis na área pré-óptica hipotalâmica (SCHAMMELL et al., 1996); ou (2) mostrou-se que os níveis de PGE<sub>2</sub> no sangue e no cérebro aumentam paralelamente com as mudanças na temperatura corporal que levam a febre (SEHIC et al., 1996,); ou (3) que drogas que bloqueiam a síntese de prostaglandinas efetivamente inibem febre (MILTON, 1998; ZEISBERGER, 1999; ROTH & DE SOUZA, 2001). Cao et al. (1995) demonstraram que a injeção sistêmica de LPS induz a expressão de RNAm para a COX-2, que acompanha o curso temporal da febre em diferentes tipos celulares no encéfalo de ratos. A expressão de COX-2 poderia constituir o mecanismo responsável pela elevação da concentração de PGE<sub>2</sub> no SNC e, conseqüente indução da resposta febril.

A PGE<sub>2</sub> exerce suas ações biológicas por meio de 4 subtipos de receptores (EP) - EP1, EP2, EP3 e EP4 (MALVAR, 2008), parecendo produzir a febre através da ativação do receptor de PG subtipo EP3 (ROTH et al., 2009). Experimentos anteriores com ratos knockout para esse receptor, demonstraram que a resposta de febre causada pelo LPS praticamente desaparece (USHIKUBI et al., 1998; OKA et al., 2003).

Utilizando nanoinjeções de pequenas doses de PGE<sub>2</sub>, as regiões dentro da POA foram detalhadamente avaliadas quanto a sua sensibilidade a PGs para a indução de febre, se evidenciando a importância da área pré-óptica medial (MPO) e da área pré-óptica mediana (MnPO). Nessas sub-regiões da POA, o receptor EP3 é localizado em muitos corpos celulares

e dendritos neuronais. O receptor EP3 na porção somato-dendrítica de neurônios da POA é o principal alvo da ação pirogênica da PGE<sub>2</sub> e a ativação desses receptores pela PGE<sub>2</sub> dispara o processo neuronal para a indução da febre (parte ventromedial da POA, ao redor do recesso óptico do terceiro ventrículo) (MORRISON et al., 2008; MALVAR, 2008).

Portanto, o tratamento sistêmico com drogas inibidoras não seletivas de COX (diclofenaco) ou com inibidores preferenciais para COX II (meloxicam), que bloqueiam a formação de PGE<sub>2</sub>, resultam em significativa atenuação da febre induzida pelo LPS em ratos (ROTH et al., 2009).

## **2.9 Os Anti-inflamatórios Não Esteroidais (AINES)**

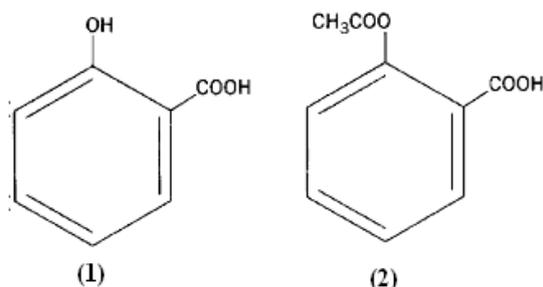
### **2.9.1 Histórico**

O efeito medicinal da casca do salgueiro e de algumas outras plantas é conhecido há séculos, por diversas culturas, como assírios, romanos e chineses. Hipócrates, influenciado pela doutrina médica egípcia, recomendava o uso de extratos da casca do salgueiro para aliviar a dor do parto e reduzir a febre (MACKOWIACK, 2000). No século I, Dioscorides, na primeira farmacopéia, se referiu as propriedades medicinais do salgueiro como “As folhas do salgueiro vem sendo batidas em pequenos pedaços e bebida com um pouco de pimenta e vinho para ajudar quem sofra com cólicas”, sendo a decocção das folhas e casca, excelente no tratamento da gota (LEES, et al., 2004). Em 1763, o Reverendo Edward Stone enviou uma carta ao presidente da Sociedade Real de Londres descrevendo a eficácia antipirética da casca do salgueiro para o tratamento da malária. Stone acreditava que a cura das doenças devia ser encontrada no local onde as doenças ocorriam. Então, a razão pelo qual o salgueiro crescia em solos úmidos e chuvosos era porque nessa região ocorriam muitos casos de malária. Essa suspeita foi reforçada por um estudo com 50 pacientes que sofriam da doença e mostraram resposta bastante favorável após uso de preparações da folha do salgueiro (MACKOWIACK, 2000; LEES, et al., 2004).

O ingrediente ativo da casca do salgueiro era um glicosídeo amargo conhecido como salicina, isolado pela primeira vez em sua forma pura por Leroux em 1829, que também demonstrou seus efeitos antipiréticos. (VANE et al, 1990). Pela hidrólise, a salicina produz glicose e álcool salicílico. Este último pode ser convertido em ácido salicílico, seja *in vivo* ou pela manipulação química. Kolbe e Lautermann (1878) foram os primeiros a sintetizar o ácido salicílico comercialmente (Figura 4). Kolbe havia descoberto a estrutura química do ácido salicílico 20 anos antes, e trabalhou para produzir ácido salicílico em escala industrial para diminuir os custos da extração de composto da casca do salgueiro. Em pouco tempo, o salicilato de sódio, forma comercial do ácido salicílico, se espalhou pelo mundo e ganhou popularidade para o tratamento de diversas condições inflamatórias, incluindo a febre, a artrite reumatóide e a gota. Porém, o gosto era ruim e os efeitos adversos gastrointestinais, tornavam difícil o uso além do que por curtos períodos.

Hoffmann, um químico contratado pela Bayer, preparou em 1897 o ácido acetilsalicílico (Figura 4), através da retomada de um trabalho antigo de um químico francês, Gerhardt. Gerhardt acetilou o ácido salicílico em 1853, aparentemente melhorando os efeitos adversos deste composto, porém sem aumentar sua eficácia, motivo que o levou a abandonar o projeto. Depois da demonstração de seus efeitos anti-inflamatórios através de testes com animais, esse composto foi introduzido na medicina em 1899 por Dreser sob o nome de Aspirina<sup>®</sup>. A razão para escolha do nome Aspirina é incerta, mas acredita-se que o “a” inicial

derive de acetil e “spirin”, da *Spirea*, gênero de planta, a partir da qual o ácido acetilsalicílico foi preparado durante algum tempo. Outra teoria seria que o nome da droga é uma homenagem a Santo Aspirinius, o santo patrono da cefaléia (MACKOWIACK, 2000; GILMAN, et al., 2006).



**Figura 4:** Estrutura química do ácido salicílico (1) e do ácido acetilsalicílico (2) (MACKOWIACK, 2000).

Outros compostos anti-inflamatórios foram descobertos e inseridos na clínica: fenacetina (1887), acetaminofeno (1888), piramidona (1896), fenilbutazona (1949), fenamatos (1950s), indometacina (1964), ibuprofeno (1969), o sulindaco (1977) e diclofenaco (1979) (MACKOWIACK, 2000; MARNETT, 2009).

Entretanto não havia uma explicação adequada para as propriedades antipiréticas, analgésicas e anti-inflamatórias apresentadas por grupos químicos tão diferentes. Foi então que Vane, em 1971, relacionou o efeito dessas drogas anti-inflamatórias não esteróides (AINES) à inibição da síntese das PGs (VANE et al., 1971; VANE et al., 1990; MARNETT, 2009).

Após a descoberta da COX-2 (1990), houve interesse em desenvolver inibidores específicos para essa isoforma (COXIBs). Desde a década de 1990, vêm sendo introduzido no mercado AINES com maior especificidade pra COX II, como o meloxicam, o carprofeno, a nimesulida e o celecoxibe, que têm diminuído drasticamente a incidência de efeitos colaterais (ALENCAR et al., 2003).

Em veterinária, o uso de AINES data da segunda metade do século XIX. O relato do primeiro uso de droga sintética ocorreu em 1875, com o sal do ácido salicílico (LEES et al., 2004).

## 2.9.2 Ações dos anti-inflamatórios não esteroidais

Os AINES são as drogas mais comumente prescritas no mundo todo (NA et al., 2006; YADAV et al., 2006). Constituem-se um grupo heterogêneo de compostos, que apesar de compartilharem do mesmo mecanismo de ação, tem fórmula estrutural e propriedades químicas bem diferentes (GAITAN et al., 2004). Inibem o sítio ativo da enzima cicloxigenase, levando a não formação de prostanóides, combatendo assim a inflamação, a dor e a febre (LEES, et al., 2004; BASBAUM & JULIUS, 2006; MIRANDA et al., 2006; SHIN et al., 2006; HAZEWINKEL et al., 2008); apresentando efeitos adversos principalmente no trato gastrointestinal, na função renal e na agregação plaquetária, que tornam limitantes o uso dessas drogas (CHAN et al., 1999; BRZOSOWSKI et al 2005; YADAV et al., 2006;

STEAGALL et al., 2009). A maior parte desses fármacos não inibe a atividade das lipoxigenases podendo resultar no desvio do catabolismo do AA para esta via, ocorrendo à formação de leucotrienos e levando a continuidade do processo inflamatório por outros mecanismos (BASBAUM & JULIUS, 2006).

Apesar da inibição da COX ser o principal mecanismo de ação dos AINES, essa classe de drogas pode exercer outros efeitos, o que justificaria a eficiente ação de alguns fármacos, com fraca ação antiprostaglandinas. Entretanto, a extensão na qual esses mecanismos adicionais são importantes, varia de droga para droga e seus efeitos terapêuticos ainda são incertos (LEES et al., 2004; PAPICH, 2008).

Em geral, esses fármacos inibem de forma variável as isoformas COX I e COX II em suas dosagens terapêuticas, passando assim a serem caracterizados de acordo com sua capacidade de inibição COX I e II. Tal característica é expressa em termos de IC50, que representa a concentração necessária para inibir 50% da atividade COX, usando sistemas de testes *in vitro*. Razões de IC50 para COX I e II têm sido calculadas para avaliar a capacidade de inibição de cada isoforma; uma baixa relação COX II / COX I implica em ser o agente relativamente seletivo para COX II (KUMMER & COELHO, 2002). Se em sua dosagem terapêutica, o agente inibe apenas a isoforma COX II, sem interferência na atividade COX I, denominam-se agente inibidor específico COX II, os coxibs, como o firocoxibe (KVATERNICK et al., 2007). Os fármacos que tem especificidade parcial para COX II, são chamados COX II preferenciais, e são exemplos o carprofeno e o meloxicam (LEES et al., 2004).

A partir de descobertas que rotulavam a COX I como fisiologicamente constitutiva, agindo como citoprotetora gástrica e mantenedora da homeostase renal e plaquetária e, a COX II ou indutiva, a qual surgia apenas em situações de trauma tissular e inflamação (YAKSH et al., 2001; PERAZELLA et al., 2001; FRANCO, et al., 2006; SHIN et al., 2006), surgiu à idéia de que inibidores específicos da COX II impediriam o processo inflamatório sem os efeitos colaterais indesejáveis (KUMMER & COELHO, 2002; YADAV et al., 2006; HANSON et al., 2006; KING et al., 2009). No entanto, evidências da presença de COX II em determinados tecidos humanos e de animais também envolvidas com a homeostase, pôs em discussão se o uso de agentes anti-inflamatórios com inibição específica desta isoforma apresentaria realmente vantagens sobre os não seletivos (KUMMER & COELHO, 2002; KING et al., 2009).

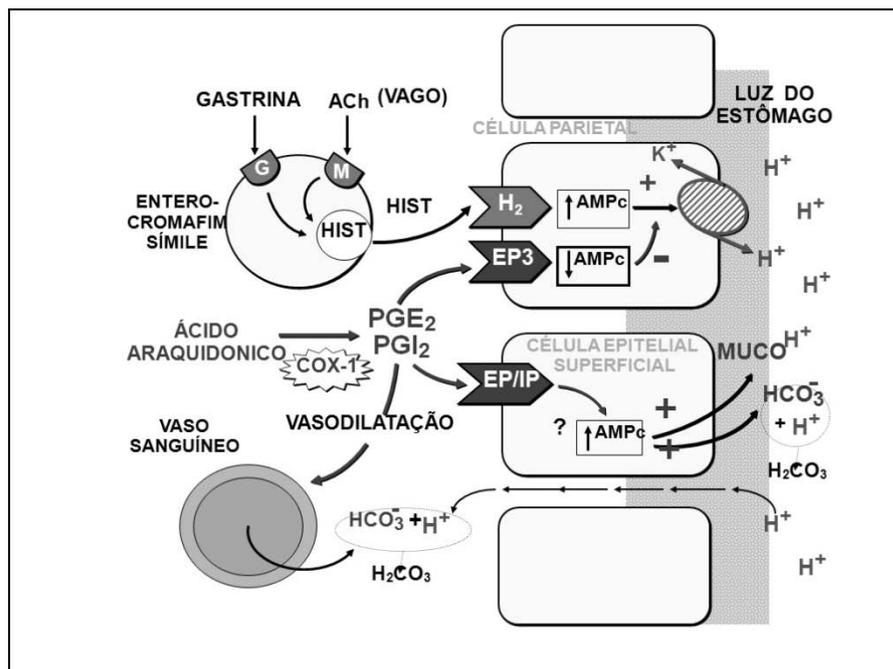
Os inibidores seletivos de COX II são potencialmente importantes em gatos, cães e cavalos, não só por serem uma perspectiva terapêutica, mas porque essas espécies parecem ser mais susceptíveis que os humanos aos danos gastrointestinais dos AINES não seletivos, que inibem a COX I *in vivo*, na dose terapêutica (KING et al., 2009).

## **2.10 Toxicidade Gastrointestinal dos AINES**

A toxicidade dos AINES depende, entre diversos fatores, da sua ação mais ou menos seletiva sobre as cicloxigenases I e II. Como ambas as enzimas estão presentes no trato gastrointestinal e nos rins, todos os AINES podem causar, em maior ou em menor grau, lesão nesses órgãos. Fármacos que inibem predominantemente a COX I estão associados ao maior risco de sangramento, tanto pela inibição na síntese de tromboxano A<sub>2</sub>, como pela possibilidade de causarem lesões na mucosa gastrointestinal. Fármacos com ação seletiva sobre a COX II apresentam maiores riscos de efeitos adversos cardiocirculatório, como a

hipertensão arterial, as arritmias cardíacas e a trombose cerebral (BERTOLINI et al., 2002; CLARK et al., 2004).

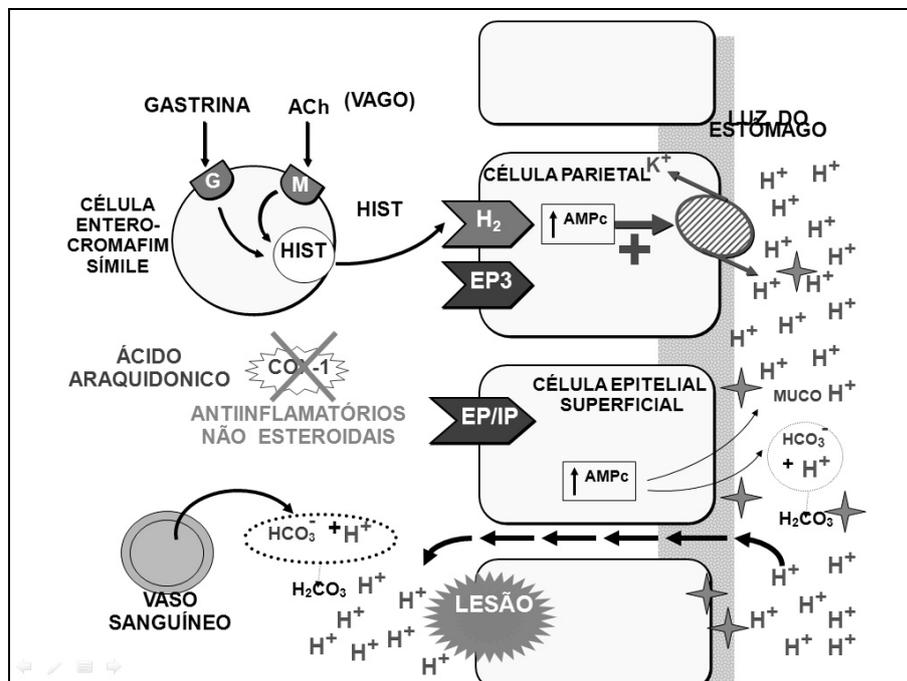
A COX I desempenha fundamental papel em manter a arquitetura glandular do estômago, constituindo a principal isoforma identificada na mucosa gástrica de animais normais, incluindo humanos, estando intimamente envolvida na prevenção de erosões e de ulcerações (LIPSKY, 2000). Apesar disso, pequenas quantidades de COX II estão presentes constitutivamente no estômago (VANE et al., 1998). A COX I exerce ação protetora sobre a mucosa gástrica, através da síntese de PGs, PGE<sub>2</sub> e PGI<sub>2</sub> principalmente, que são responsáveis pela liberação de muco protetor pelas células epiteliais superficiais, redução da secreção de ácido pelas células parietais e pelo efeito vasodilatador, que garante aporte sanguíneo adequada a região e proporciona um sistema de tamponamento pelo bicarbonato, conseguindo atenuar a ação corrosiva do HCl presente no suco gástrico (Figura 5). Quando a síntese dessas PGs está inibida, ocorre a erosão da mucosa (ECKMANN, 1997; BUTTGEREIT et al., 2001; SPINOSA et al., 2006; HILÁRIO et al., 2006). No trato gastrointestinal de animais saudáveis, a COX I é a principal enzima responsável pela síntese de PGs, principalmente PGE<sub>2</sub> e PGI<sub>2</sub>, mas a COX II também participa e pode ter sua expressão aumentada quando há a exposição a agentes irritantes (PAPICH, 2008).



**Figura 5:** Figura esquemática da regulação da secreção de ácidos no estômago. Note o papel citoprotetor da PGE<sub>2</sub> e PGI<sub>2</sub>, inibindo a bomba de próton, estimulando a secreção de muco e promovendo tamponamento pelo bicarbonato.

Lesões agudas gastrointestinais estão entre os efeitos colaterais mais frequentes e graves associados com AINES convencionais, com risco de perfurações e ulcerações gástricas (LIPSKY, 2000; BUTTGEREIT, et al., 2001) apresentando incidência de 3 a 4 vezes maior em humanos usuários destes compostos (BUTTGEREIT et al., 2001). Os principais efeitos adversos no trato gastrointestinal são vômito, diarreia, anorexia, podendo ocorrer ulcerações. Em animais, pode ocorrer desde gastrite moderada e vômito, até severas ulcerações, sangramento e, eventualmente, morte (PAPICH, 2008). Esses efeitos estão associados tanto a uma irritação local, como à inibição da COX e a sua subsequente interferência na síntese de

prostaglandinas, que tem papel fundamental na manutenção da integridade da mucosa gástrica. A irritação local se deve as características lipofílicas desses compostos, que no pH ácido do estômago sofrem difusão para a mucosa gástrica onde causam a lesão (PAPICH, 2008). Já a inibição da síntese de  $PGE_2$  e  $PGI_2$  diminuem a modulação da secreção de ácidos na célula parietal, inibem a produção de muco na célula epitelial superficial e diminuem o fluxo sanguíneo local (Figura 6). Para não ocorrer efeitos adversos no trato gastrointestinal, alguns autores citam que a inibição da COX I não pode ser superior a 10% (LEE et al., 2004; FILHO & RAHAL, 2008). A inibição da COX desvia o metabolismo do AA para a via das lipoxigenases, promovendo aumento da síntese de  $LTB_4$  na mucosa gástrica, tendo como consequência, quimiotaxia e adesão de leucócitos ao endotélio vascular (GOODMAN et al., 2009) e  $LTC_4$  e  $LTD_4$  que atuam como vasoconstritores (LEES et al., 2004), aumentando o dano gástrico causado pelos AINES.



**Figura 6:** Figura esquemática da ação dos AINES no estômago e a ocorrência de lesão.

Segundo Laudanno et al. (2000), os anti-inflamatórios não esteroidais administrados pela via oral em ratos, causam lesão principalmente na região do fundo gástrico e duodeno, diferentemente da administração por via subcutânea, lesionando principalmente a região antral do estômago e o duodeno. Em cães, as lesões gástricas parecem ser mais severas na região do antro pilórico (ALENCAR et al., 2003; NARITA et al., 2005), sob a forma de erosões múltiplas com ponto hemorrágicos adjacentes (ALENCAR et al., 2003).

Estudos experimentais e clínicos têm correlacionado os AINES com seletividade para COX II com uma maior segurança para paciente, especialmente com a diminuição das complicações gastrointestinais. Entretanto, já se sabe que os coxibes também causam lesões gástricas, acompanhadas ou não de sintomas (OFMAN et al., 2002; CHAN & GRAHAM, 2004; LAPORTE et al., 2004; FILHO & RAHAL, 2008). Diante de infecções ou úlceras gástricas já formadas, detecta-se maior expressão de COX II nas células epiteliais do estômago, induzindo a formação de prostaglandinas que contribuem para a cicatrização destas lesões (DUBOIS et al., 1998; TEGEDER et al., 2000; EMERY, 2001; FRANCO et al., 2006). Logo, o tratamento com inibidores específicos da COX II poderá retardar a cicatrização de

úlceras já formadas (BRZOZOWSKI et al., 2005), ou ainda, reduzir a capacidade de defesa diante da presença de microorganismos invasores, apesar de provavelmente não iniciarem o dano gástrico como observado com os AINES convencionais (SCHNITZER, 2001). Na cicatrização de úlceras, ocorre a ativação de células inflamatórias e liberação de mediadores químicos, que levam a maior expressão de COX II (VANE et al., 1998), demonstrando a importância dessa enzima para o processo de cicatrização de úlceras. Mizuno et al. (1997), induziram experimentalmente erosões e úlceras gástricas com etanol em ratos e evidenciaram que o tratamento com NS-398, um inibidor seletivo de COX II, durante o estágio agudo da inflamação, retardou a cicatrização de úlceras gástricas, embora o mesmo tratamento em ratos saudáveis, não tenha induzido a formação de úlceras.

A cicatrização de úlceras ocorre rapidamente com a terapia anti-ácida em pacientes que utilizam AINES de forma descontínua. Porém, em muitos casos, a terapia com anti-inflamatórios não pode ser interrompida, sendo necessário o uso de antagonistas dos receptores de histamina ou inibidores da bomba de próton. Agrawal et al. (2000), em um estudo com pacientes humanos que desenvolveram úlcera gástrica pelo uso de AINES, demonstraram que os antagonistas dos receptores de histamina promovem cicatrização de 90-100% das úlceras gástricas em oito semanas, quando o tratamento com os AINES é descontinuado. Já quando o uso dessa classe de fármacos é feita de forma contínua, a cicatrização se dá em 50-80% dos pacientes com terapia que associa antiácidos e antagonistas de histamina, durante o mesmo período, e quando se utiliza inibidores da bomba de próton, a cicatrização é de 80-87%.

## **2.11 Os Fármacos Utilizados**

### **2.11.1 O flunixin meglumine**

O flunixin meglumine (FM) é um AINE não seletivo, do grupo do ácido carboxílico e deriva-se do ácido fenamínico (SCHOSSLER et al., 2001). A fórmula química é  $C_{14}H_{11}F_3N_2O_2$  e a massa molar 296,2 g/mol (Figura 7). É um dos anti-inflamatórios mais usados na clínica médico-veterinária (SPINOSA et al., 2006).

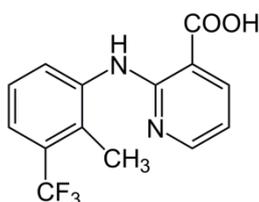
É classificado como um anti-inflamatório não seletivo, inibindo ambas as isoformas COX I e COX II. Jackman et al. (1994), numa análise de amostras sanguíneas de cavalos, após uso da droga por 6 dias, observaram uma diminuição do  $TXB_2$ , o que demonstra a inibição da cicloxigenase pela droga in vivo. A literatura carece de dados que demonstrem a razão  $ID_{50}$  COX II/ COX I para a droga. O cetoprofeno teve maior inibição do  $TXB_2$  no mesmo experimento, o que sugeriu ao autor uma maior ação do mesmo sobre a COX.

O flunixin meglumine foi descrito pela primeira vez em 1977 e seu uso foi aprovado apenas em cavalos na dose de 1,1 mg/kg, *p.o.*. Desde então tem sido utilizado no tratamento de lesões músculo-esquelético e cólicas nessa espécie, demonstrando ser mais potente na redução da dor que a fenilbutazona, a codeína e a meperidina. É uma das drogas mais usadas em eqüinos para cólica, desordens músculo-esqueléticas, choque endotóxico e diarreia secretória, entretanto, a administração por tempo prolongado pode causar ulcerações gástricas, sendo este efeito adverso bastante comum na espécie (CARRICK et al., 1989; SCHOSSLER et al., 2001).

A dose terapêutica recomendada em pequenos animais para esse fármaco, no tratamento de diversos processos inflamatórios, é de 1 mg/kg, via oral, *sid* (*semel in die*, uma vez ao dia),

não ultrapassando três dias de tratamento (MATHEWS et al., 1990; SCHOSSLER et al., 2001; PAPICH, 2008). Em ratos e camundongos, a dose recomendada é de 2,5 mg/kg, *sid* ou *bid, p.o.* (*bis in die*, duas vezes ao dia) (VIANA, 2007).

Segundo Schossler et al. (2001), vários estudos tem demonstrado que o flunixin meglumine é tão eficaz quanto alguns opiáceos no tratamento de dores agudas associadas a um trauma cirúrgico. Na avaliação do perfil farmacocinético e a farmacodinâmico do flunixin meglumine (1mg/kg, *sid, p.o.*, 7 dias) em gatos, Taylor et al., (1994) observaram que no primeiro dia de tratamento após a sua administração, esta atingiu a maior concentração plasmática após 1 hora, com 2,46 µg/mL. Decorridos sete dias, a concentração máxima encontrada no plasma após 1 hora decresceu para 1,68 µg/mL, levando os autores a sugerirem que gatos desenvolvem tolerância a esse composto, embora não tendo determinado se era devido a alterações de enzimas hepáticas ou por redução da absorção da droga.



**Figura 7:** Estrutura molecular do flunixin meglumine (www.wikipedia.org)

A meia vida do FM é de 4 horas em cães, 3 horas em gatos, 2 horas em equinos e 4-8 horas em bovinos. Porém, a duração da ação farmacológica tem demonstrado ser maior do que a esperada, partindo-se de sua meia vida e, provavelmente, se deve ao acúmulo da substância no foco inflamatório (SPINOSA et al., 2006).

As reações adversas mais comumente relatadas com o uso desse medicamento são as relacionadas com o trato gastrointestinal como a gastrite, bem como reações relacionadas às alterações hepáticas, hipersensibilidade e nefropatia (SCHOSSLER et al., 2001). Em cães, o flunixin meglumine tem sido associado a lesões no sistema digestório (CRUZ et al., 1998), a falência renal aguda (ELWOOD et al., 1992; MCNEIL, 1992) e ao aumento no tempo de coagulação (LUNA et al., 2007).

### 2.11.2 O cetoprofeno

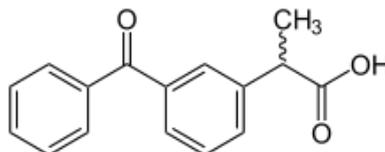
O cetoprofeno (CT) é um AINE não seletivo, do grupo do ácido carboxílico, porém deriva-se do ácido propiônico. A fórmula química estrutural é C<sub>16</sub>H<sub>14</sub>O<sub>3</sub> (Figura 8) e massa molar 254,3 g/mol (LU et al., 2004).

Tem ação anti-inflamatória, antipirética e alto poder analgésico. É classificado como COX não seletivo, ou seja, inibe ambas as isoformas da COX (FILHO & RAHAL, 2008) e também a via das lipoxigenases (NARITA et al., 2005). Esse fármaco apresenta menos que 5% de seletividade, inibindo mais de 80% da COX I quando a COX II é inibida em 80% em ensaio com sangue total humano (WARNER, et al., 1999). Possui atividade antibradicinina, diminuindo o efeito potencializante da fase vascular inflamatória e da dor, inibindo a síntese de PGs, levando a atividade antinociceptiva periférica comum dos AINES. (NARITA et al., 2005).

A dosagem utilizada na clínica veterinária para cães e gatos é de 1 mg/kg, *p.o., sid*, por 3 a 5 dias (ANDRADE, 2002; PAPICH, 2008). Sua meia vida em cães é de 4 horas, enquanto

em gatos é de 1,1 hora (ANDRADE, 2002). Em ratos, a dose recomendada é de 5 mg/kg, *sid* ou *bid, p.o.* (VIANA, 2007). As reações adversas mais comumente relatadas com o uso crônico do cetoprofeno são as relacionadas ao trato gastrointestinal e disfunção renal (SCHOSSLER et al., 2001).

Segundo Macallister et al. (1993), num estudo comparativo dos efeitos adversos da fenilbutazona, do flunixin meglumine e do cetoprofeno, administrados por via endovenosa em cavalos, esses fármacos mostram um efeito tóxico maior para a fenilbutazona, intermediário para o flunixin meglumine e menor para o cetoprofeno.



**Figura 8:** Estrutura molecular do cetoprofeno (LU et al., 2004).

Esse fármaco tem ação antinociceptiva em diferentes modelos de antinocicepção e é efetivo em reduzir a transmissão espinal de estímulos mecânicos e elétricos em animais com inflamações (GAITAN et al., 2004). É considerado tão potente como a indometacina em modelos animais, entretanto, se assemelha a esta em efeitos colaterais. Atua rapidamente na obtenção de analgesia e redução do edema, sendo cerca de 50-100 vezes mais potente como analgésico que a fenilbutazona. Em equínos, também é utilizado para alívio de inflamações e dores associadas com problemas músculo-esquelético e nos casos de cólica, é administrado preferencialmente por via intravenosa (SPINOSA et al., 2006).

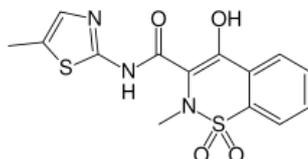
Forsyth et al. (1998), administrando cetoprofeno (1 mg/kg, *p.o.*) a cada 24 horas, durante 7 dias em cães, não detectaram sinais clínicos gastrointestinais, observando, entretanto, lesões gastroduodenais através de endoscopia em quase todos os animais. As alterações gastrointestinais produzidas pelo cetoprofeno foram menos intensas quando comparadas com as reportadas com a administração de aspirina, apesar de comuns (KATZUNG, 2006).

Schossler et al. (2001) avaliaram o uso em cães de cetoprofeno (2 mg/kg, *p.o.*) e flunixin meglumine (1,1 mg/kg, *p.o.*), por 3 dias, no pós-operatório de cirurgias eletivas e verificaram que não houve lesão renal após o uso das drogas.

### 2.11.3 O meloxicam

O meloxicam (MX) é um moderno derivado enolcarboxamídico relacionado com os oxicanos, com fórmula química é C<sub>14</sub>H<sub>13</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>S<sub>2</sub> e massa molar 351,4 g/mol (Figura 9). Tem potente ação analgésica, anti-inflamatória e antipirética (DA SILVA et al., 2006) e pequeno risco de toxicidade gástrica e renal (ENGELHARDT et al., 1996; LEACH et al., 2009). É extensivamente usado como analgésico em humanos e tem sido empregado rotineiramente para alívio da dor aguda e crônica numa variedade de espécies animais (LEACH et al., 2009). É usado na dosagem de 0,1 mg/kg, *p.o.*, *sid*, por até 14 dias em cães e gatos, podendo inicialmente, quando se deseja um efeito analgésico mais intenso, ser usado na dosagem de 0,2 mg/kg (ANDRADE, 2002; CLARK, 2006; PAPICH, 2008). Em ratos e camundongos a dose terapêutica é de 1 a 2 mg/kg, *sid, p.o.* (VIANA, 2007). Enquanto a meia vida do composto é de cerca de 12-36 horas em cães (PAPICH, 2008), em equínos é de 3 horas, 4 horas em suínos, 13 horas em bovinos e 16 horas no rato. (SPINOSA et al., 2006). No

homem, a meia-vida é de 16h, o que se assemelha ao rato que é de 20h, se ligando, nessas espécies, a proteínas plasmáticas numa taxa de 99,5-99,7% e apresentando clearance de 0,11 mL/min./kg (ENGELHARDT et al., 1996).



**Figura 9:** Estrutura molecular do meloxicam (www.wikipedia.org)

Esse fármaco desenvolve algum grau de inibição "preferencial" pela COX II na cascata biossintética das PGs, porém, as doses terapêuticas também resultarão em redução na atividade COX I (BROOKS et al., 1999; ALENCAR, et al., 2003; FILHO & RAHAL, 2008). Em ratos, a administração oral do meloxicam foi 14 vezes mais potente na inibição da biossíntese de PGE<sub>2</sub> no exsudato pleural, do que como inibidor da biossíntese de PGE<sub>2</sub> intragástrica. Portanto, o meloxicam, preserva a atividade da COX I *in vivo*, não alterando a produção de PGE<sub>2</sub> da mucosa gástrica (ENGELHARDT, et al., 1995). A análise *in vitro* do meloxicam, utilizando monócito/macrófago canino revelou maior seletividade deste pela COX II em até 12 vezes em comparação com a COX I. Essa maior seletividade pela COX II *in vitro* e *in vivo* proporciona um efeito anti-inflamatório considerável com uma menor tendência para desenvolvimento de lesões digestivas em usuários desse medicamento (SANTOS et al., 1998; DA SILVA et al., 2006). De acordo com Warner et al. (1999), o meloxicam é um composto que apresenta entre 5-50% de seletividade, sendo que a concentração desta droga necessária para inibir 80% da COX II, inibe a COX I em apenas 25% em ensaio que utiliza sangue total humano. Usando sangue total felino, para uma inibição de 80% da COX II, ocorre inibição de 40,1% da COX I (LEES et al., 2004).

Os humanos apresentam excelente tolerância quanto aos efeitos colaterais do MX, com uma menor incidência de efeitos indesejáveis comparativamente aos produzidos pelo piroxicam, diclofenaco e naproxeno. Ocorre boa absorção digestiva e ótima biodisponibilidade, assim como, longa meia vida de eliminação, o que permite sua administração em dose única diária (ALENCAR et al., 2003).

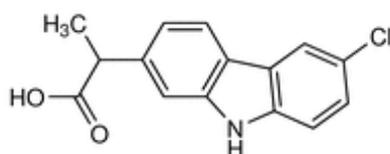
Embora meloxicam iniba a síntese de TXA<sub>2</sub>, este composto parece não alcançar níveis que resultem em diminuição da função plaquetária, mesmo em doses elevadas (KATZUNG, 2006).

A inibição da via das cicloxigenases pode ocasionar um deslocamento do metabolismo do AA para a via das lipoxigenases, promovendo a continuação do processo inflamatório por outros mecanismos. Entretanto, Engelhardt et al. (1996) demonstraram que concentrações de meloxicam suficientes para reduzirem a formação de PGE<sub>2</sub> no exsudato pleural, após a administração de carragenina; ou no exsudato peritoneal, após a administração de zimosan, ambos em camundongos, não afeta as concentrações de LTB<sub>4</sub> ou LTC<sub>4</sub>. Tanto o diclofenaco como a indometacina causam aumento da produção de LTB<sub>4</sub> nessas mesmas condições.

#### 2.11.4 O carprofeno

O carprofeno (CP) é um anti-inflamatório não esteroide derivado do ácido propiônico, com fórmula química  $C_{15}H_{21}ClNO_2$  e massa molar 273,7 g/mol (Figura 10). Apresenta inibição preferencial pela COX II e atividade anti-inflamatória, analgésica e antipirética. Em estudo da atividade *in vivo* do carprofeno, através da administração do medicamento, via oral, por 10 dias, em cães com osteoartrite crônica unilateral do joelho, na análise das concentrações de PGs ( $PGE_2$  e  $PGE_1$ ) e tromboxano ( $TXB_2$ ) concluiu-se que carprofeno atua, *in vivo*, em tecidos alvo como fármaco que evita a COX I (FILHO & RAHAL, 2008). Porém, em doses altas essa seletividade parece ser perdida (ALBRESTSEN, 2002; STEAGALL et al., 2009). Segundo Hanson et al. (2006), a droga tem seletividade de 6,5 a 16,8 vezes para COX II em relação a COX I, em ensaios utilizando sangue total canino. Usando sangue total felino, para uma inibição de 80% da COX II, ocorre inibição de 5,2% da COX I (LEES et al., 2004). Entretanto, Lees et al. (2004), numa revisão que envolve trabalhos de diversos autores, classificaram este fármaco como COX I preferencial em humanos, COX não seletivo em eqüinos e COX II preferencial ou seletivo no cão e no gato. Dessa forma, a seletividade do carprofeno não é um consenso entre autores, e pode depender da dose e da espécie em que ele estiver sendo utilizado (PAPICH, 2008).

É usado no tratamento de diversas condições inflamatórias, em cães, na dosagem de 2,2 mg/kg, *bid*, *p.o.*, por até 14 dias (ANDRADE, 2002; BRICKS & SILVA, 2005; PAPICH, 2008; FILHO & RAHAL, 2008). Em ratos e camundongos a dose recomendada é de 2 a 4 mg/kg, *sid* ou *bid*, *p.o.* (VIANA, 2007). A meia vida desse composto em cães é de cerca de 8-12 horas, em gatos, de 20 horas, em eqüinos, de 22 horas e em bovinos, por volta de 30 horas (SPINOSA et al., 2006). O uso deste fármaco em gatos não é indicado devido a toxicidade gástrica observada, mesmo na dose terapêutica (PAPICH, 2008) e a dose letal em cães é de 160 mg/kg (ALBRESTSEN, 2002). Tem potente ação analgésica, anti-inflamatória, anti-edematosa e antipirética (SPINOSA et al., 2006). É o agente mais lipofílico dentre os derivados do ácido propiônico e, em animais, o carprofeno é tão potente como a indometacina e mais potente que a aspirina ou a fenilbutazona. O carprofeno é também um inibidor potente da enzima  $PLA_2$  e parece estar envolvido nas respostas humorais e celulares imunomediadas e na inibição da migração de neutrófilos (CAVALCANTE et al., 2008). É indicado principalmente para o alívio da dor e inflamação associadas a osteoartrite e para o controle da dor pós-operatória associada a cirurgias ortopédicas e de tecidos moles (CLARK, 2006).



**Figura 10:** Estrutura molecular do carprofeno (www.wikipedia.org)

Em cães e gatos, essa droga apresenta efetiva atividade analgésica em tecidos moles e procedimentos ortopédicos, e na analgesia pós-operatória (LINDENMUTH et al., 1989; STEAGALL et al., 2009).

Aparentemente, o carprofeno é seguro em relação aos efeitos colaterais no sistema digestório (STRUB et al., 1982) e parece não apresentar efeitos adversos na função renal em cães (LASCELLES et al., 1995). Segundo Luna et al. (2007), esse fármaco (4mg/kg, *p.o.*), administrado por 90 dias em cães, causa menos lesão no trato gastrointestinal quando

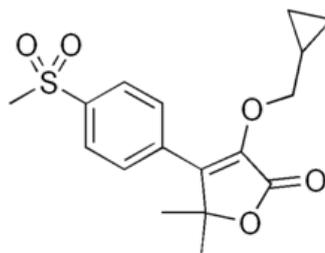
comparado com o cetoprofeno (2mg/kg, *p.o.*, 4 dias; após, 1mg/kg, ao dia) ou o flunixin meglumine (1mg/kg, *p.o.*, por 3 dias, com intervalos de 4 dias). O meloxicam (0,1mg/kg, *p.o.*) foi o fármaco que apresentou menor incidência de lesões no trato gastrointestinal nesse estudo. Entretanto, como qualquer outro AINE, o carprofeno possui potencial em causar danos ao trato gastrointestinal, renal e hepático, apesar de a prevalência de complicações associadas a esse fármaco ser baixa em várias espécies incluindo humanos e cães (CAVALCANTE et al., 2008).

A administração oral crônica (90 dias) de carprofeno (4 mg/kg), flunixin meglumine (1 mg/kg, por 3 dias, com intervalo de quatro dias), cetoprofeno (2 mg/kg por 4 dias, após 1 mg/kg) e meloxicam (0,1 mg/kg) em cães, não produziu qualquer indicio de lesão renal, avaliado pela urinálise e bioquímica sérica (LUNA et al., 2007).

### 2.11.5 O firocoxibe

O firocoxibe (FC) é uma nova droga desenvolvida especificamente para uso veterinário, que tem sido aprovada no seu uso em cães. Tem fórmula química  $C_{17}H_{20}O_5S$  e massa molar de 336,4g/mol (Figura 11). Inibe a COX II de forma seletiva, ou seja, é capaz de inibir a COX II com um mínimo impacto sobre a COX I. Através de testes sanguíneos foi observado que este medicamento apresenta seletividade de 350 a 430 vezes para a COX II (RYAN et al., 2006; HAZEWINDEL et al., 2008; PAPICH, 2008; FILHO & RAHAL, 2008). Segundo Hanson et al. (2006), a razão IC 50 COX I/ COX II para o FC foi de 384 e a razão IC 80, 427, em ensaio com sangue total canino. A quantidade da droga necessária para promover a inibição da COX II tem mínimo impacto sobre a COX I, sendo menor que a necessária por outros AINES como o carprofeno (RYAN et al., 2006).

A dose para cães é de 5,7mg/kg, *bid, p.o.* (ANDRADE, 2002) e para eqüinos é de 0,1 mg/kg, *p.o.* (KVATERNICK et al., 2007). A meia-vida do fármaco em cães é de 8,7 a 12,2 horas (CLARK, 2006).



**Figura 11:** Estrutura molecular do firocoxibe (www.wikipedia.org)

McCann et al. (2005) demonstraram o efeito antipirético do firocoxibe (3 mg/kg, *p.o.*), administrado em gatos, 14 horas antes do desafio, na febre induzida pelo LPS. Este fármaco tem sido utilizado de forma efetiva e segura para controle da dor e da inflamação em cães com osteoartrite (HANSON et al., 2006). Ryan et al. (2006) realizaram um estudo de triagem com 864 cães com osteoartrite, tratados diariamente (40 dias), via oral, com o firocoxibe, observando que 92,8% dos cães tiveram melhora de acordo com os investigadores ou proprietários, não sendo constatado efeitos adversos graves e apenas 2,9% apresentaram eventos gastrointestinais, demonstrando a efetividade e a segurança do FC. Relataram ainda, que a melhora com o tratamento foi notória já nos primeiros 10 dias e que esta foi aumentando conforme o tempo de tratamento. Embora bastante seguro, o emprego de doses

maiores que a recomendada em filhotes com menos de 7 meses foi associada a sérias reações adversas, incluindo morte (FILHO & RAHAL, 2008). Hazewinkel et al. (2008) induziram sinovite em cães e avaliaram a resposta do firocoxibe em 8 horas, havendo redução da dor aguda promovida pela sinovite.

### 3. OBJETIVOS

Este estudo visa determinar comparativamente a potência analgésica, anti-edematogênica e antipirética do flunixin meglumine, cetoprofeno, meloxicam, carprofeno e do firocoxibe, fármacos anti-inflamatórios não esteroidais usados na clínica médica-veterinária, bem como, avaliar sua atividade ulcerogênica gástrica em roedores. Estes fármacos foram selecionados de acordo com a disponibilidade no mercado veterinário.

Justifica-se sua importância, pois apesar dos inúmeros estudos envolvendo esses compostos, faz-se necessário uma avaliação comparativa tanto de seu efeito antinociceptivo e/ou anti-inflamatório, como de reações indesejáveis, subsidiando o médico veterinário clínico, no estabelecimento da relação risco/benefício desses fármacos.

Além disso, na medicina veterinária, em especial na clínica de pequenos animais, há uma carência de protocolos terapêuticos que padronizem o uso clínico de inibidores de COX II. Por serem fármacos de alto custo, torna-se fundamental uma correta avaliação custo/eficácia/segurança para o uso adequado dos atuais e futuros inibidores COX II.

### 4. MATERIAIS E MÉTODOS

#### 4.1 Animais

No teste da febre induzida pelo LPS foram utilizados ratos albinos Wistar (*Ratus norvegicus*), machos, com peso de 180 a 200 g e provenientes do Biotério Central do Campus da Universidade de São Paulo / Ribeirão Preto. Estes animais foram mantidos à temperatura de  $24\pm 1^{\circ}\text{C}$  e ciclo claro/escuro de 12/12h, com livre acesso à água e à ração.

Nos demais testes farmacológicos, foram utilizados camundongos albinos Swiss (*Mus musculus*), machos, adultos, pesando entre 25 e 35g, fornecidos pelo Biotério do Departamento de Ciências Fisiológicas da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, sempre mantidos com ciclo claro/escuro de 12/12h e com regime de água e ração *ad libitum*.

Os animais permaneceram no laboratório por um período de adaptação de pelo menos uma hora antes dos experimentos, normalmente realizados entre 08:00h e 17:00h e após os testes de atividades farmacológicas, os animais foram eutanasiados por anestesia etérea profunda ou deslocamento cervical.

Todos os experimentos foram desenvolvidos seguindo normas que envolvem cuidados com animais de laboratório e normas éticas para seu uso em experimentos com dor (ZIMMERMANN, 1983; 1986; PORTER, 1992) e foram aprovados pela Comissão de Ética

em Pesquisa e Experimentação animal - CEPEB da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, sob protocolo de nº 010/2007.

## **4.2 Drogas, Reagentes, Solventes e Sais**

Carprofeno (Carproflan®, Laboratório Agener União), cetoprofeno (Ketofen®, Laboratório Merial), flunixin meglumine (Banamine®, Laboratório Shering-Ploug), meloxicam (Meloxivet®, Laboratório Duprat), firocoxibe (Previcox®, Laboratório Merial), LPS (*Escherichia coli*, 0111:b4, Sigma Chemical Co, St Louis, MO, USA), óleo de cróton (Sigma Chemical Co., St. Louis, USA), acetona (Merck AG, Darmstadt, Germany) e ácido acético glacial (Merck AG, Darmstadt, Germany).

Os pré-tratamentos dos animais com o veículo (animais controle), fármacos ou diferentes substâncias foram sempre em concentrações adequadas para a administração de um volume constante de 10mL/kg. As administrações antecederam 60 minutos (via oral, por gavagem) os testes de atividades farmacológicas.

Todos os fármacos ou soluções testados e injetados por via parenteral foram solubilizados, antes do seu uso, em salina fisiológica (NaCl 0,9%) e a sua diluição para administração oral foi com água.

Para se determinar as doses dos anti-inflamatórios selecionados, foram considerados dados pré-estabelecidos na literatura e para cada metodologia farmacológica, com exceção do potencial ulcerogênico dos fármacos sobre a mucosa gástrica, foi feita a curva dose-efeito. Para a metodologia supracitada, foi usada a ID50 obtida através do teste das contorções abdominais induzidas pelo ácido acético.

## **4.3 Métodos Farmacológicos**

### **4.3.1 Avaliação da atividade antinociceptiva**

#### **4.3.1.1 Teste das contorções abdominais induzidas por ácido acético**

Empregando a metodologia descrita por Koster e colaboradores (1959), grupos experimentais de pelo menos 6 camundongos foram tratados, via oral (*p.o.*), com o veículo (água), com flunixin meglumine (0,1, 0,3 e 1 mg/kg), cetoprofeno (1, 3 e 10 mg/kg), carprofeno (1, 3 e 10 mg/kg), meloxicam (30, 100 e 300 µg/kg) ou firocoxibe (0,3, 1 e 3 mg/kg). Após 60 minutos dos tratamentos, injetou-se ácido acético diluído em salina (1,2%; 1mL/10g, *i.p.*) em todos os animais e as contorções abdominais, consideradas como contrações da parede abdominal seguida por extensão de pelo menos uma das patas posteriores (VACHER et al., 1964), foram contadas por 30 minutos. Para isso, os camundongos foram colocados individualmente, sob funis de vidro, com um período de adaptação prévia de 15 minutos. Os resultados foram expressos como as médias ( $\pm$  erro padrão das médias) dos números de contorções acumuladas durante os 30 minutos de avaliação experimental, ou como percentagem de inibição das contorções comparativamente ao grupo controle, permitindo dessa forma, a determinação da dose inibitória 50% (ID50).

### **4.3.2 Avaliação da atividade anti-edematogênica**

#### **4.3.2.1 Teste do edema de orelha induzido por óleo de cróton**

Grupos experimentais de 8 camundongos foram tratados oralmente com o veículo (água), com flunixin meglumine (3, 10 e 30 mg/kg), cetoprofeno (3, 10 e 30 mg/kg), carprofeno (3, 10 e 30 mg/kg), meloxicam (3, 10 e 30 mg/kg) ou firocoxibe (3, 10 e 30 mg/kg). Uma hora após os tratamentos, foram aplicados topicamente 10µL de óleo de cróton (2,5 % v/v em acetona) na orelha direita e o mesmo volume de acetona na orelha esquerda. Após 4 horas, os animais foram eutanasiados por deslocamento cervical, retirados fragmentos de 6mm de diâmetro de cada orelha e pesados em balança analítica. Os resultados foram representados como médias e erros padrões das médias da diferença de peso entre as duas orelhas ( $\Delta$ ), comparando os resultados obtidos com o grupo controle, tratados com o veículo / água (TUBARO, et al. 1986; ZANINI, et al. 1992).

### **4.3.3 Avaliação da atividade antipirética**

#### **4.3.3.1 Atividade antipirética na febre induzida pelo LPS**

A temperatura retal dos animais foi medida por inserção de sonda (YSI, n° 402, USA) conectada a um teletermômetro (modelo 46 TUC, YSI, EUA) a quatro centímetros de profundidade no reto dos animais, sem que os animais fossem retirados de suas respectivas caixas. Os animais foram adaptados às condições experimentais por meio da realização desse procedimento duas vezes no dia anterior ao experimento, a fim de minimizar variações de temperatura induzidas por estresse decorrente do manuseio. No mínimo 48 horas antes do início do experimento, os animais foram colocados em uma sala cuja temperatura ambiente foi controlada a  $24\pm 1^{\circ}\text{C}$ . Durante o experimento a temperatura ambiente foi controlada a  $28\pm 1^{\circ}\text{C}$ . Após o transporte dos animais para a sala onde os experimentos foram realizados, permitiu-se que os animais permanecessem por no mínimo 15 horas em repouso e, só então, suas temperaturas basais foram determinadas por 3 ou mais medidas, a intervalos de 30 minutos e antes da administração de qualquer estímulo pirogênico. Somente os animais com temperatura corporal estável e na faixa de  $36,8$  a  $37,4^{\circ}\text{C}$  foram utilizados.

Grupos experimentais de 5 ratos foram então tratados, via oral, com o veículo (água), com flunixin meglumine (1, 3 e 10 mg/kg), cetoprofeno (1, 3 e 10 e 30 mg/kg), carprofeno (1, 3 e 10 mg/kg), meloxicam (3, 10 e 30 mg/kg) ou firocoxibe (0,1, 0,3, 1 e 3 mg/kg). Decorridos 30 minutos dos tratamentos, injetou-se LPS (5µg/kg) ou salina, via intravenosa, através da veia da cauda dos animais. Após 60 minutos, as medidas foram feitas e repetidas a intervalos de 30 minutos, até o total de 6 horas (360 minutos). Para a injeção de salina ou do LPS, os animais foram cuidadosamente imobilizados e o rabo foi previamente introduzido num recipiente com água quente a aproximadamente  $40^{\circ}\text{C}$ , para promover vasodilatação e facilitar a injeção. A cauda foi então seca e limpa com álcool em algodão para que fosse feita a aplicação (SOUZA et al., 2002, KANASHIRO, et al., 2008). As médias foram expressas como a diferença de temperatura entre os valores de temperatura basais de cada animal e a temperatura após a aplicação de estímulo e/ou droga ( $\Delta T^{\circ}\text{C}$ ). O percentual de inibição foi determinado através da área sobre a curva: água/salina, água/LPS ou droga/LPS. A curva água/salina representou a ausência de atividade pirética e a curva água/LPS representou 100% de atividade pirética. A área sobre a curva de cada uma das drogas foi então comparada com a curva água/LPS para determinação do percentual de inibição.

#### 4.3.4 Avaliação toxicológica

##### 4.3.4.1 Potencial ulcerogênico dos fármacos sobre a mucosa gástrica. Determinação do Índice de Ulceração (IU)

Para cada fármaco testado, foram utilizados grupos experimentais de doze animais, subdivididos em um grupo (n = 6) tratado durante três dias, e outro grupo (n = 6) tratado durante 7 dias, sempre pela via oral e uma vez ao dia, com as ID<sub>50</sub> previamente determinadas através da curva dose-efeito analgésica pelo método das contorções abdominais induzidas pelo ácido acético (MX: 0,09 mg/kg; FM: 0,4 mg/kg; FC: 1,9 mg/kg; CP: 2,3 mg/kg e CT: 3,6 mg/kg).

Decorridos três ou sete dias dos tratamentos (Adaptado de ENGELHARD et al., 1995), os animais foram sacrificados com anestesia etérea profunda, removendo-se em seguida os estômagos, que foram abertos ao longo da grande curvatura, a mucosa lavada delicadamente com água destilada e estendidos, com o auxílio de alfinetes, sobre uma superfície de parafina em uma placa de Petri para a observação. As lesões gástricas foram então avaliadas sob aumento de 10 vezes com o auxílio do estereoscópio Olympus, permitindo assim a obtenção do índice de ulceração gástrica através das pontuações (Tabela 1) atribuídas às alterações e lesões da mucosa, cuja soma refletiu a intensidade da lesão desta (MARINHO JR. et al., 2002).

ALTERAÇÕES / LESÕES	PONTUAÇÃO
Descoloração da mucosa < 30%	0,5
Descoloração da mucosa > 30% a 70%	1,0
Descoloração da mucosa > 70%	1,5
Petéquias leves (até 25% do estômago)	1,0
Petéquias moderadas (de 25 a 75% do estômago)	1,5
Petéquias intensas (mais que 75% do estômago)	2,0
Erosões ou úlceras simples	0,5 x nº x tamanho (mm)
Úlceras hemorrágicas	2,0 x nº x tamanho (mm)
Úlceras perfuradas	4,0 x nº x tamanho (mm)
Hemorragia cavitária	2,0

**Tabela 1:** Pontuações atribuídas às alterações e lesões da mucosa gástrica para a obtenção do Índice de Ulceração (Adaptada à descrita por MARINHO JR. et al., 2002).

#### 4.3.5 Análise estatística

Os resultados foram expressos como a média mais ou menos o erro padrão. As diferenças estatísticas entre os grupos experimentais foram detectadas pela análise de variância (ANOVA). Para comparação entre as médias dos grupos experimentais utilizamos o teste “t” não pareado, admitindo diferença significativa a partir de  $p < 0,05$  (SOKAL & ROHLF, 1981). A análise estatística e apresentação gráfica dos resultados foram feitas através dos programas InStat 3.0 e Graphic Prism 4.0.

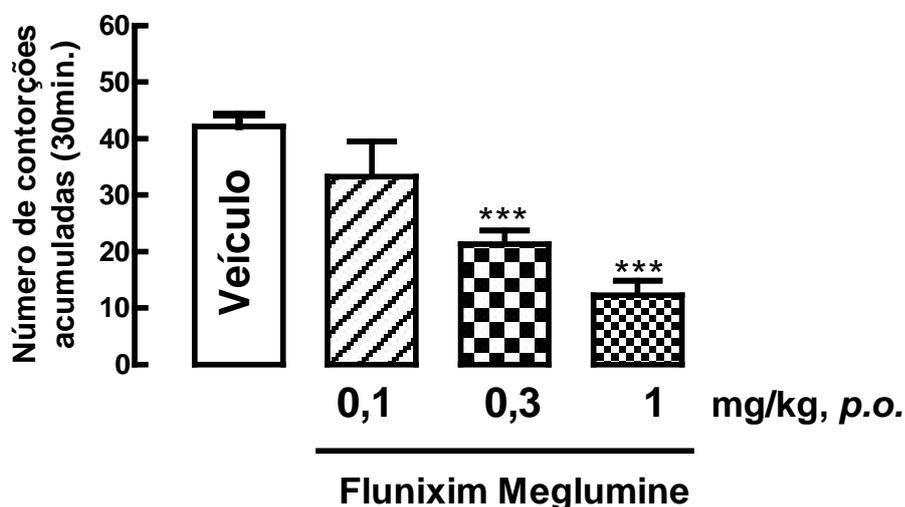
## 5 RESULTADOS

### 5.1 Teste das Contorções Abdominais Induzidas por Ácido Acético

Utilizando sempre a via oral (*p.o.*) no teste das contorções abdominais, a administração do FM (0,1, 0,3 e 1mg/kg) reduziu de forma dose dependente o número de contorções em 21,1% ( $33,3 \pm 6,2$  contorções), 49,5% ( $21,3 \pm 2,4$  contorções) e 70,9% ( $12,3 \pm 2,6$  contorções), comparado ao grupo tratado com o veículo que apresentou  $42,2 \pm 2,0$  contorções (Tabela 2 e Figura 12). De forma semelhante, o CT (1, 3 e 10mg/kg) inibiu em 15,9% ( $38 \pm 5$  contorções), 43,8% ( $25,4 \pm 4,6$  contorções) e 87,2% ( $5,8 \pm 1,1$  contorções), sendo a média do grupo veículo de  $45,2 \pm 3,6$  contorções (Figura 13 e Tabela 3).

Tratamentos	Doses (mg/kg, <i>p.o.</i> )	Contorções Abdominais (30 min.)	% Inibição
Veículo		$42,2 \pm 2$	-
FM	0,1	$33,3 \pm 6,2$	<b>21,1%</b>
FM	0,3	$21,3 \pm 2,4$ ***	<b>49,5%</b>
FM	1	$12,3 \pm 2,6$ ***	<b>70,9%</b>

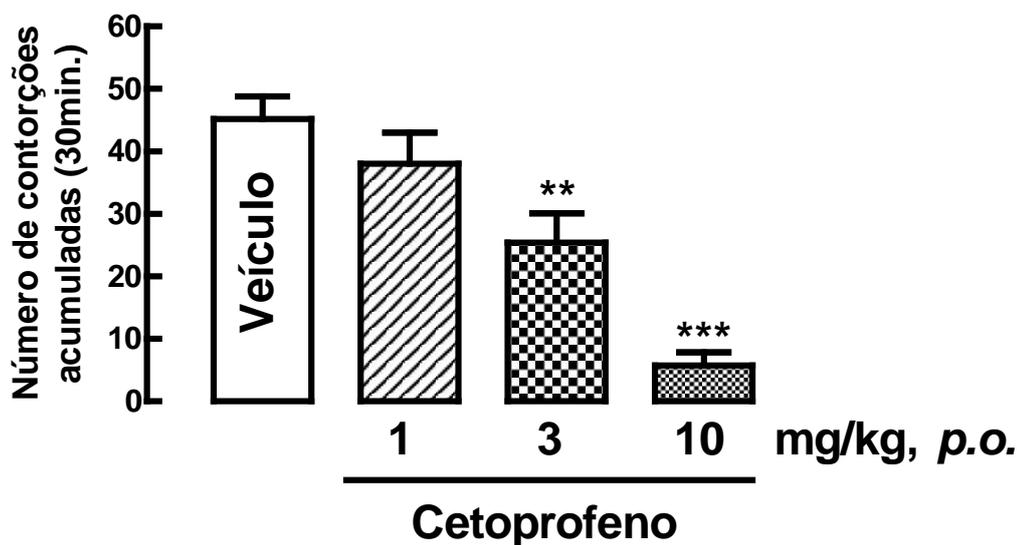
**Tabela 2:** Influência do pré-tratamento com o flunixin meglumine (FM) no número de contorções abdominais induzidas pelo ácido acético (1,2% em salina, 100 $\mu$ L/10g, *i.p.*). \*\*\*  $p < 0,001$  para  $n = 5$  a 8 animais.



**Figura 12:** Contorções abdominais induzidas pelo ácido acético (1,2% em salina, 100 $\mu$ L/10g, *i.p.*). As colunas e barras verticais representam as médias  $\pm$  o erro padrão em grupos experimentais de até 8 animais. \*\*\* $p < 0,001$ .

Tratamentos	Doses (mg/kg, p.o.)	Contorções Abdominais (30 min.)	% Inibição
Veículo		45,2 ± 3,6	-
CT	1	38 ± 5	15,9%
CT	3	25,4 ± 4,6 **	43,8%
CT	10	5,8 ± 1,1 ***	87,2%

**Tabela 3:** Influência do pré-tratamento com o cetoprofeno (CT) no número de contorções abdominais induzidas pelo ácido acético (1,2% em salina, 100µL/10g, *i.p.*). \*\*  $p < 0,01$  e \*\*\*  $p < 0,001$  para  $n = 5$  a 8 animais.

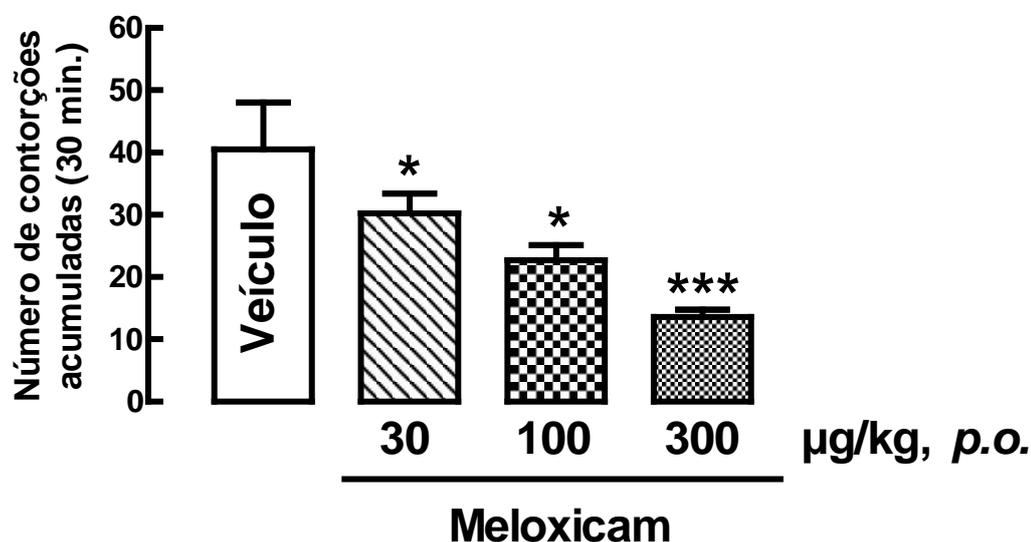


**Figura 13:** Contorções abdominais induzidas pelo ácido acético (1,2% em salina, 100µL/10g, *i.p.*). As colunas e barras verticais representam as médias ± o erro padrão em grupos experimentais de até 8 animais. \*\*  $p < 0,01$  e \*\*\*  $p < 0,001$ .

Os percentuais de inibição obtidos com o MX (3, 100 e 300µg/kg) foram de 25,2% (30,3 ± 3,2 contorções), 43,9% (22,7 ± 2,4 contorções) e 66,4% (13,6 ± 1,1 contorções) com veículo apresentando 40,5 ± 7,5 contorções e com o CP (1, 3 e 10mg/kg) foram de 32,6% (31,6 ± 3,7 contorções), 55% (21,1 ± 2,9 contorções), 82,5 % (8,2 ± 2 contorções) e veículo com 46,9 ± 3,5 contorções, conforme apresentado nas Tabelas 4 e 5 e Figuras 14 e 15, respectivamente.

Tratamentos	Doses ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ , <i>p.o.</i> )	Contorções Abdominais (30 min.)	% Inibição
Veículo		40,5 $\pm$ 7,5	-
MX	30	30,3 $\pm$ 3,2 *	25,2%
MX	100	22,7 $\pm$ 2,4 *	43,9%
MX	300	13,6 $\pm$ 1,1 ****	66,4%

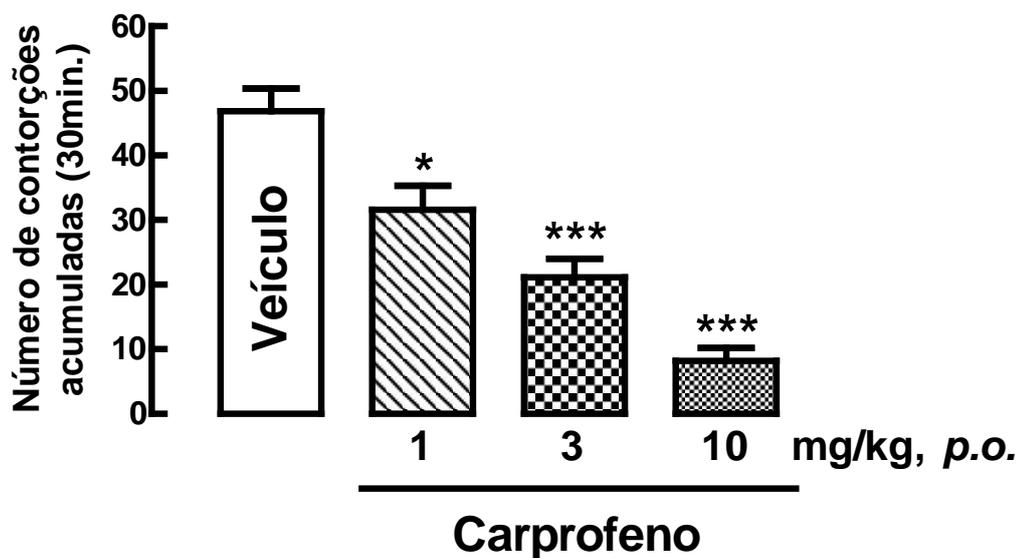
**Tabela 4:** Influência do pré-tratamento com o meloxicam (MX) no número de contorções abdominais induzidas pelo ácido acético (1,2% em salina, 100 $\mu\text{L}/10\text{g}$ , *i.p.*). \*  $p < 0,05$  e \*\*\*\*  $p < 0,001$  para  $n = 5$  a 8 animais.



**Figura 14:** Contorções abdominais induzidas pelo ácido acético (1,2% em salina, 100 $\mu\text{L}/10\text{g}$ , *i.p.*). As colunas e barras verticais representam as médias  $\pm$  o erro padrão em grupos experimentais de até 8 animais. \*  $p < 0,05$ ; \*\*\*\*  $p < 0,001$ .

Tratamentos	Doses ( $\text{mg}/\text{kg}$ , <i>p.o.</i> )	Contorções Abdominais (30 min.)	% Inibição
Veículo		46,9 $\pm$ 3,5	-
CP	1	31,6 $\pm$ 3,7 *	32,6
CP	3	21,1 $\pm$ 2,9 ****	55
CP	10	8,2 $\pm$ 2 ****	82,5

**Tabela 5:** Influência do pré-tratamento com o carprofeno (CP) no número de contorções abdominais induzidas pelo ácido acético (1,2% em salina, 100 $\mu\text{L}/10\text{g}$ , *i.p.*). \*  $p < 0,05$  e \*\*\*\*  $p < 0,001$  para  $n = 5$  a 8 animais.

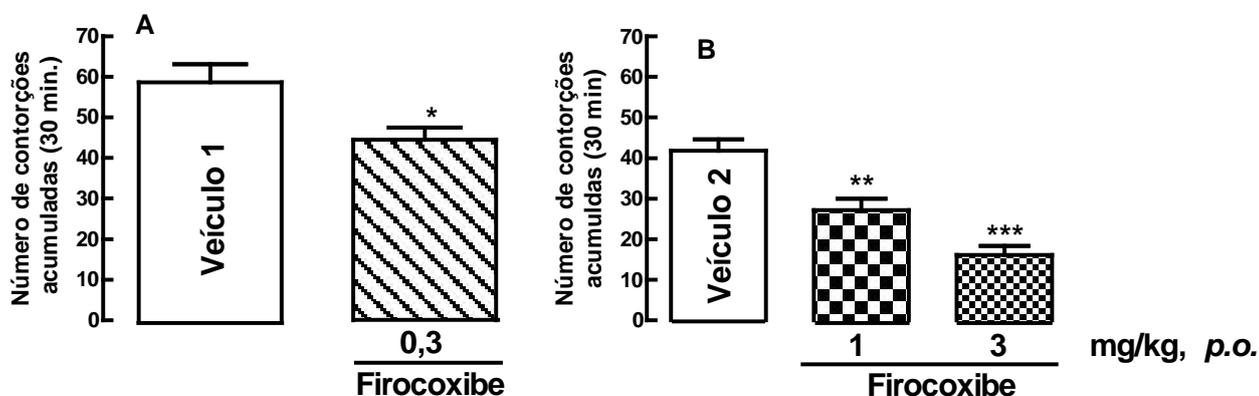


**Figura 15:** Contorções abdominais induzidas pelo ácido acético (1,2% em salina, 100 $\mu$ L/10g, *i.p.*). As colunas e barras verticais representam as médias  $\pm$  o erro padrão em grupos experimentais de até 8 animais. \*  $p < 0,05$ ; \*\*\*  $p < 0,001$ .

Utilizando dois experimentos para a obtenção da relação dose x efeito inibitória do FC, a administração oral da dose de 0,3 mg/kg, produziu inibição do número de contorções acumuladas de 24,2% ( $44,5 \pm 3$  contorções), comparado ao veículo (1) ( $58,7 \pm 4,4$  contorções). A efetividade inibitória das doses de 1 e 3 mg/kg foram de 35% ( $27,2 \pm 2,8$  contorções) e 61,5% ( $16,1 \pm 2,2$  contorções) respectivamente com veículo (2) de  $41,8 \pm 2,8$  contorções (Tabela 6 e Figuras 16 A e B).

Tratamentos	Doses (mg/kg, p.o.)	Contorções Abdominais (30 min.)	% Inibição
Veículo 1		$58,7 \pm 4,4$	-
FC	0,3	$44,5 \pm 3$ *	<b>24,2</b>
Veículo 2		$41,8 \pm 2,8$	-
FC	1	$27,2 \pm 2,8$ **	<b>34,9</b>
FC	3	$16,1 \pm 2,2$ ***	<b>61,5</b>

**Tabela 6:** Influência do pré-tratamento com o Firocoxibe (FC) no número de contorções abdominais induzidas pelo ácido acético (1,2% em salina, 100 $\mu$ L/10g, *i.p.*). \*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$  e \*\*\*  $p < 0,001$  para  $n = 5$  a 8 animais.

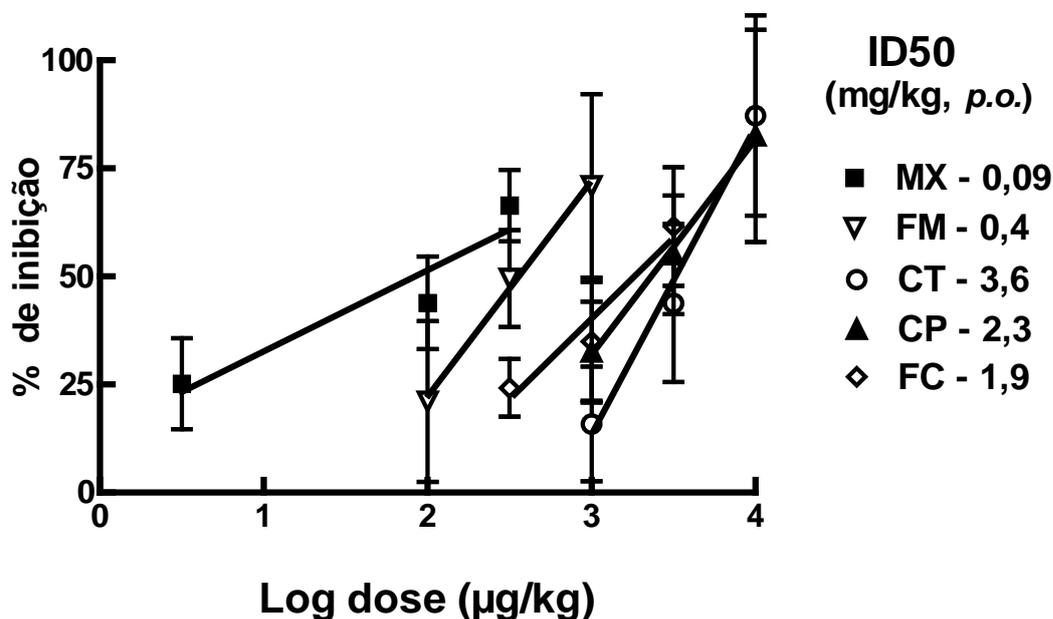


**Figura 16:** Contorções abdominais induzidas pelo ácido acético (1,2% em salina, 100 $\mu$ L/10g, *i.p.*). As colunas e barras verticais representam as médias  $\pm$  o erro padrão em grupos experimentais de até 8 animais. \*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$  e \*\*\*  $p < 0,001$ .

A obtenção destas relações dose x efeito inibitória pelo método das contorções abdominais, permitiu, por interpolações, o cálculo das doses inibitórias 50% (ID50) que foram: meloxicam - 0,09 mg/kg, flunixin meglumine - 0,4mg/kg, firocoxibe - 1,9 mg/kg, carprofeno - 2,3mg/kg e cetoprofeno - 3,6mg/kg, conforme apresentado na Tabela 7 e Figura 17.

FÁRMACOS	ID50 (mg/kg, <i>p.o.</i> )
Meloxicam	0,09
Flunixim Meglumine	0,4
Firocoxibe	1,9
Carprofeno	2,3
Cetoprofeno	3,6

**Tabela 7:** Dose Inibitória 50% (ID50) obtidas por interpolação no teste das contorções abdominais induzidas pelo ácido.



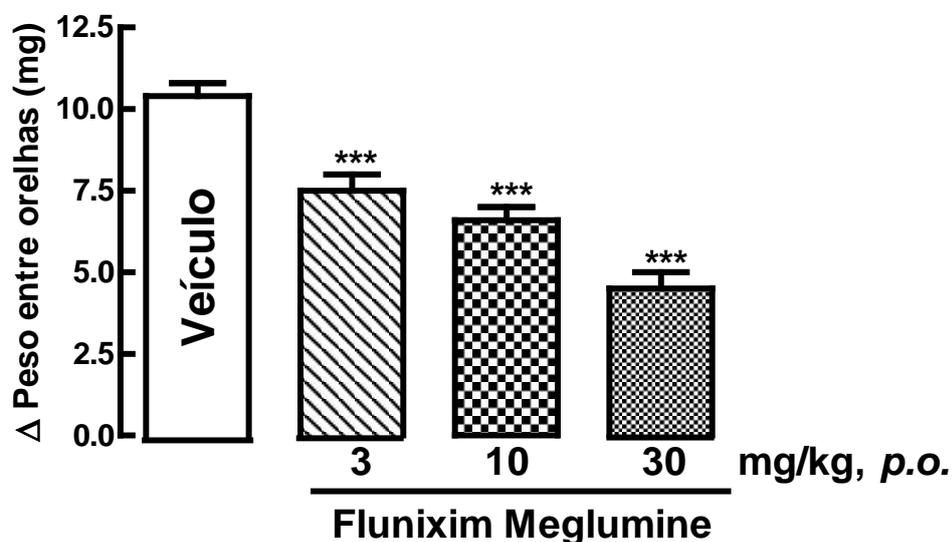
**Figura 17:** Porcentagem de inibição das contorções abdominais induzidas pelo ácido acético (1,2% em salina, 100µL/10g, *i.p.*) em camundongos previamente tratados (60 minutos) pela via oral com o meloxicam (MX), flunixin meglumine (FM), cetoprofeno (CT), carprofeno (CP) ou o firocoxibe (FC). Os símbolos e linhas verticais representam as médias  $\pm$  o erro padrão de 5 a 8 animais por grupo experimental.

## 5.2 Teste do Edema de Orelha Induzido por Óleo De Cróton

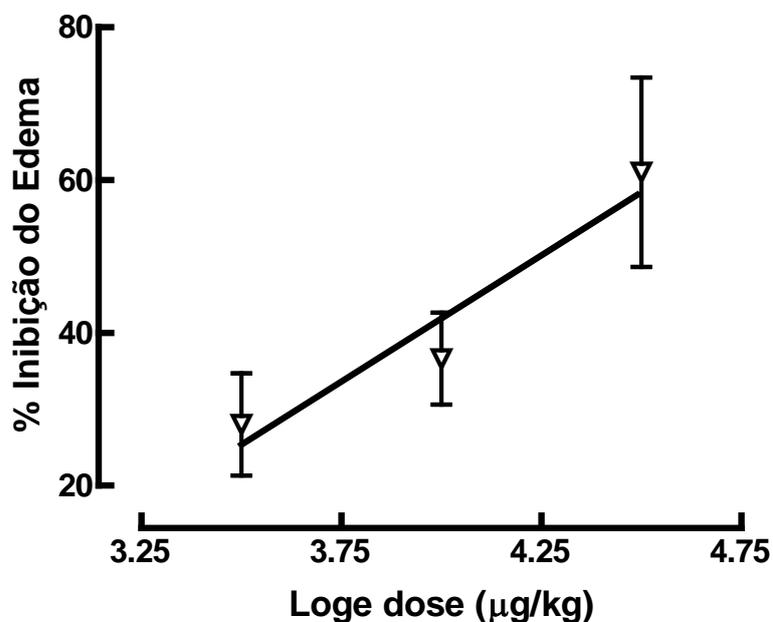
No teste do edema de orelha induzido pelo óleo de cróton, o pré-tratamento por via oral com o FM (3, 10 e 30mg/kg) inibiu, de forma dose dependente, a formação do edema em 28% ( $\Delta = 7,5 \pm 0,5$  mg), 36,6% ( $\Delta = 6,6 \pm 0,4$  mg) e 61,5% ( $\Delta = 4,0 \pm 0,8$  mg), respectivamente, sendo a média do veículo  $\Delta = 10,4 \pm 0,4$  mg (Tabela 8 e Figuras 18 e 19). De forma semelhante, o CT (3, 10 e 30mg/kg) promoveu uma inibição de 47,5% ( $\Delta = 5,3 \pm 0,1$  mg), 61,4% ( $\Delta = 3,9 \pm 0,4$  mg), 67,3% ( $\Delta = 3,3 \pm 0,2$  mg), respectivamente, com veículo  $\Delta = 10,1 \pm 0,3$  mg (Tabela 9 e Figuras 20 e 21).

Tratamentos	Dose (mg/kg, p.o.)	$\Delta$ (mg)	% Inibição
Veículo		$10,4 \pm 0,4$	-
FM	3	$7,5 \pm 0,5$ ***	<b>28</b>
FM	10	$6,6 \pm 0,4$ ***	<b>36,6</b>
FM	30	$4,0 \pm 0,5$ ***	<b>61,5</b>

**Tabela 8:** Influência do pré-tratamento com o flunixin meglumine (FM) no edema de orelha induzido pelo óleo de cróton.  $\Delta$  representa a diferença de peso em miligramas entre a orelha direita (10µL de óleo de cróton - 2,5 % v/v em acetona) e a orelha esquerda (acetona). \*\*\*  $p < 0,001$  para  $n = 6$  a 12 animais.



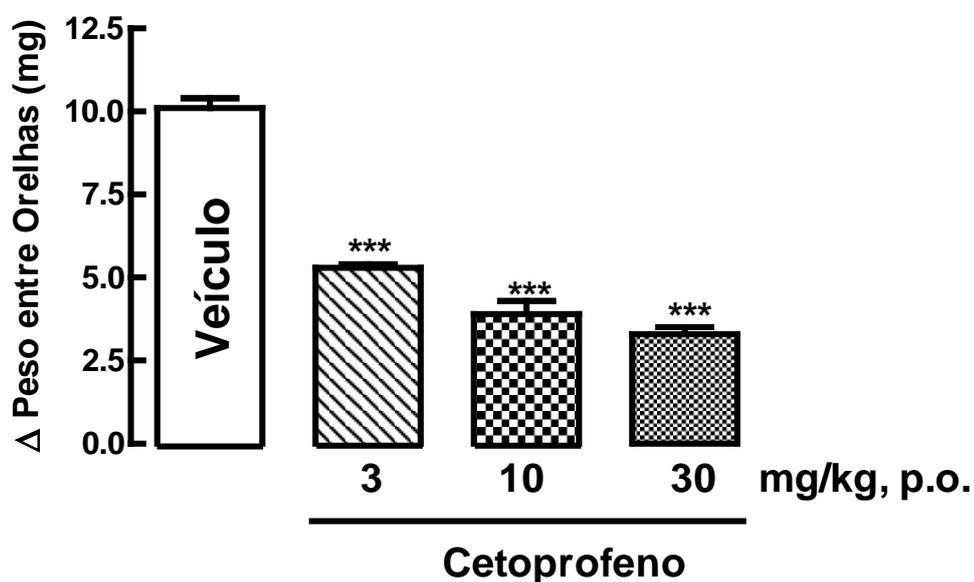
**Figura 18:** Edema de orelha induzido pelo óleo de cróton. As colunas e barras verticais representam as médias  $\pm$  o erro padrão de grupos experimentais de até 12 animais. \*\*\* $p < 0,001$ .



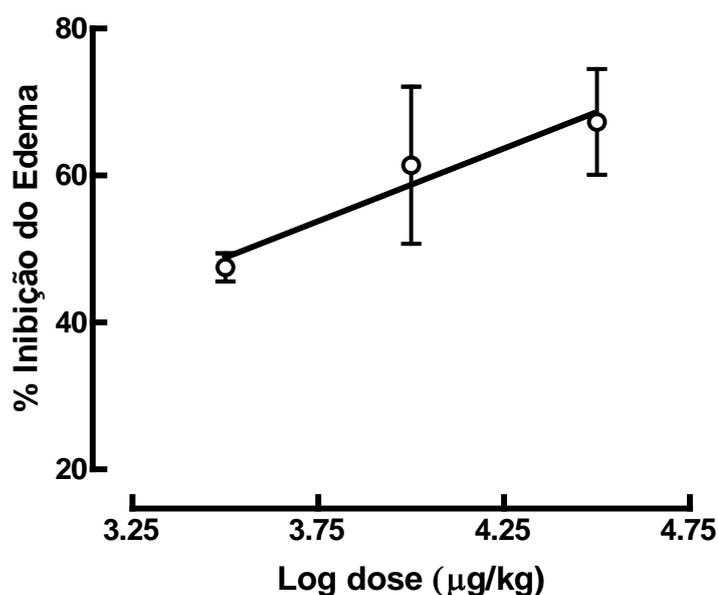
**Figura 19:** Relação dose-efeito inibitória do edema de orelha induzido pelo óleo de cróton em camundongos previamente tratados pela via oral com o flunixin meglumine nas doses de 3, 10 e 30 mg/kg. Os símbolos e linhas verticais representam as médias  $\pm$  o erro padrão para grupos experimentais de 5-12 animais.

Tratamentos	Dose (mg/kg, p.o.)	$\Delta$ (mg)	% Inibição
Veículo		10,1 $\pm$ 0,3	-
CT	3	5,3 $\pm$ 0,1 ***	47,5
CT	10	3,9 $\pm$ 0,4 ***	61,4
CT	30	3,3 $\pm$ 0,2 ***	67,3

**Tabela 9:** Influência do pré-tratamento com o cetoprofeno (CT) no edema de orelha induzido pelo óleo de cróton.  $\Delta$  representa a diferença de peso em miligramas entre a orelha direita (10 $\mu$ L de óleo de cróton - 2,5 % v/v em acetona) e a orelha esquerda (acetona). \*\*\*  $p < 0,001$  para  $n = 6$  a 12 animais.



**Figura 20:** Edema de orelha induzido pelo óleo de cróton. As colunas e barras verticais representam as médias  $\pm$  o erro padrão de grupos experimentais de até 12 animais. \*\*\*  $p < 0,001$ .

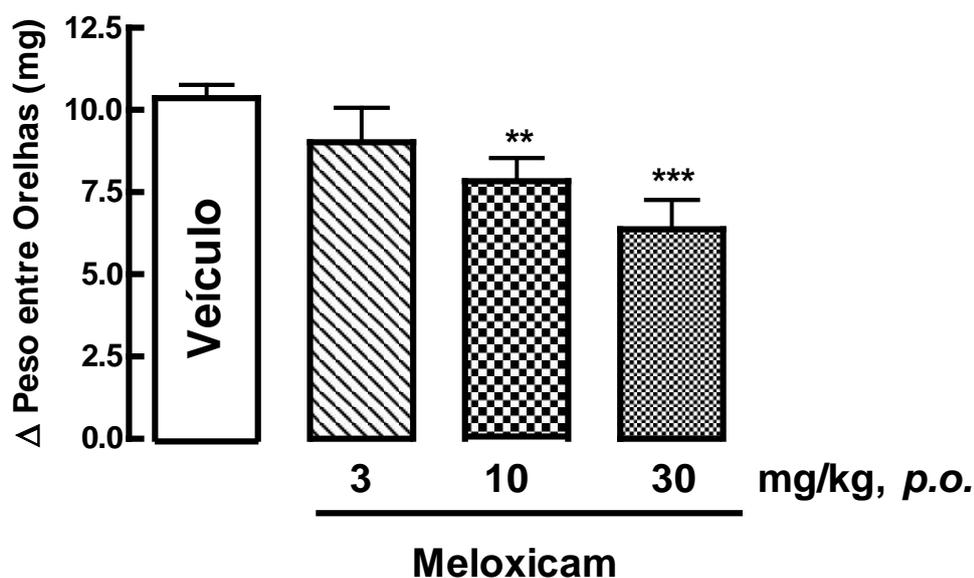


**Figura 21:** Relação dose-efeito inibitória do edema de orelha induzido pelo óleo de cróton em camundongos previamente tratados pela via oral com o cetoprofeno nas doses de 3, 10 e 30 mg/kg. Os símbolos e linhas verticais representam as médias  $\pm$  o erro padrão para grupos experimentais de 5-12 animais.

Prosseguindo na avaliação da atividade anti-edematogênica, o pré tratamento com o MX (3, 10 e 30 mg/kg) inibiu a formação do edema em 13,5% ( $\Delta = 9,0 \pm 1$  mg), 25% ( $\Delta = 7,8 \pm 0,7$  mg) e 35,6% ( $\Delta = 7,2 \pm 0,5$  mg), respectivamente, com veículo apresentando  $\Delta = 10,4 \pm 0,4$  mg (Tabela 10 e Figura 22).

Tratamentos	Dose (mg/kg, <i>p.o.</i> )	$\Delta$ (mg)	% Inibição
Veículo		$10,4 \pm 0,4$	-
MX	3	$9,0 \pm 1$	<b>13,5</b>
MX	10	$7,8 \pm 0,7$ **	<b>25</b>
MX	30	$7,2 \pm 0,5$ ***	<b>35,6</b>

**Tabela 10:** Influência do pré-tratamento com o meloxicam (MX) no edema de orelha induzido pelo óleo de cróton.  $\Delta$  representa a diferença de peso em miligramas entre a orelha direita (10µL de óleo de cróton - 2,5 % v/v em acetona) e a orelha esquerda (acetona). \*\*  $p < 0.01$  e \*\*\*  $p < 0,001$  para n = 6 a 12 animais.

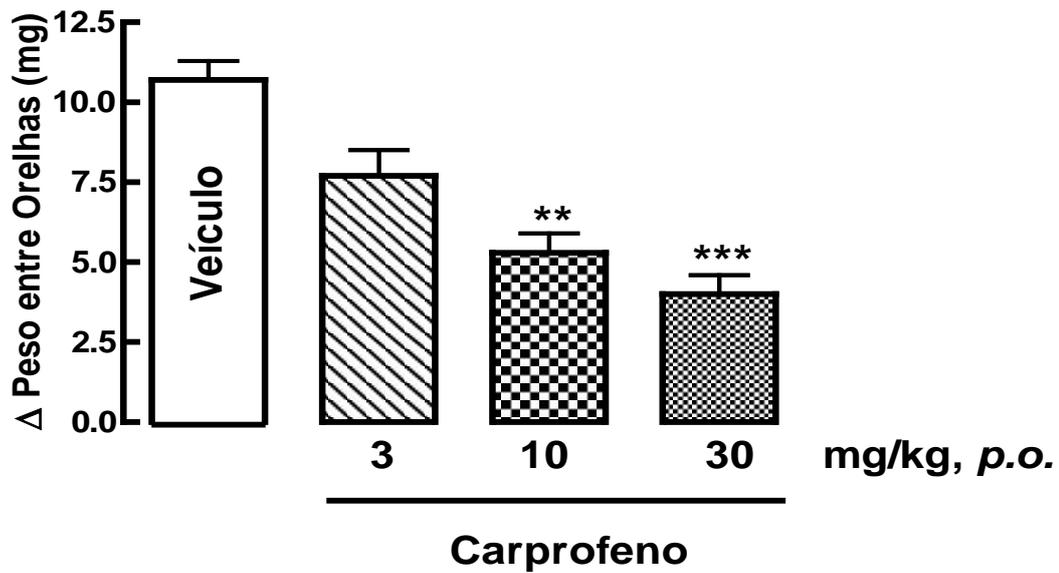


**Figura 22:** Edema de orelha induzido pelo óleo de cróton. As colunas e barras verticais representam as médias  $\pm$  o erro padrão de grupos experimentais de até 12 animais. \*\*  $p < 0.01$  e \*\*\*  $p < 0,001$ .

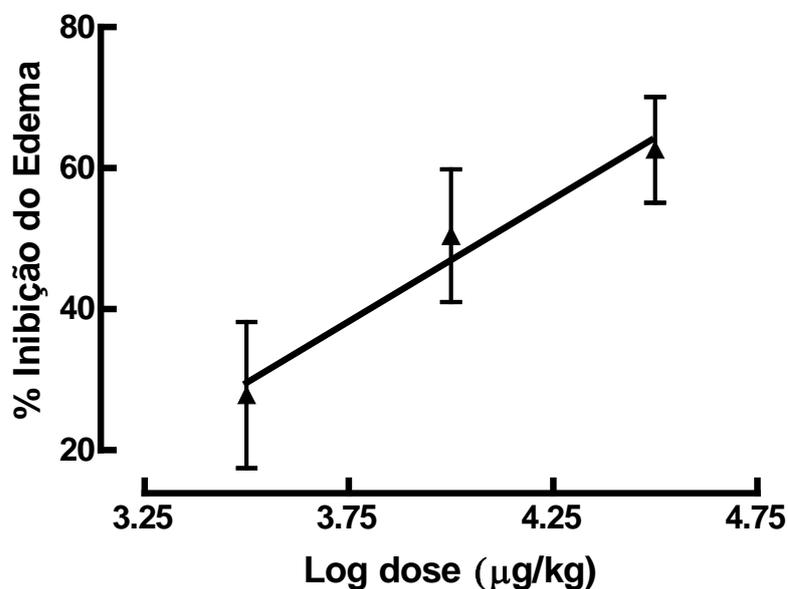
Os percentuais de inibição do edema obtidos com o CP (3, 10 e 30mg/kg) foram de 28% ( $\Delta = 7,7 \pm 0,8$  mg), 50,5% ( $\Delta = 5,3 \pm 0,6$  mg) e 62,6% ( $\Delta = 4,0 \pm 0,6$  mg), com  $\Delta = 10,7 \pm 0,6$  mg para o grupo veículo (Tabela 11 e Figuras 23 e 24) enquanto que a influência do FC (3, 10 e 30mg/kg) sobre o edema foram de 6,9% ( $\Delta = 9,5 \pm 0,7$  mg), 18,6% ( $\Delta = 8,3 \pm 0,4$  mg) e 28,4% ( $\Delta = 7,3 \pm 0,7$  mg) respectivamente, quando comparados ao veículo ( $\Delta = 10,2 \pm 0,4$  mg), conforme descrito na Tabela 12 e Figura 25.

Tratamentos	Dose (mg/kg, <i>p.o.</i> )	$\Delta$ (mg)	% Inibição
Veículo		$10,7 \pm 0,6$	-
CP	3	$7,7 \pm 0,8$ **	<b>28%</b>
CP	10	$5,3 \pm 0,6$ ***	<b>50,5%</b>
CP	30	$4,0 \pm 0,6$ ***	<b>62,6%</b>

**Tabela 11:** Influência do pré-tratamento com o carprofeno (CP) no edema de orelha induzido pelo óleo de cróton.  $\Delta$  representa a diferença de peso em miligramas entre a orelha direita (10 $\mu$ L de óleo de cróton - 2,5 % v/v em acetona) e a orelha esquerda (acetona). \*\*  $p < 0.01$  e \*\*\*  $p < 0,001$  para n = 6 a 12 animais.



**Figura 23:** Edema de orelha induzido pelo óleo de cróton. As colunas e barras verticais representam as médias  $\pm$  o erro padrão de grupos experimentais de até 12 animais. \*\*  $p < 0.01$  e \*\*\*  $p < 0,001$ .

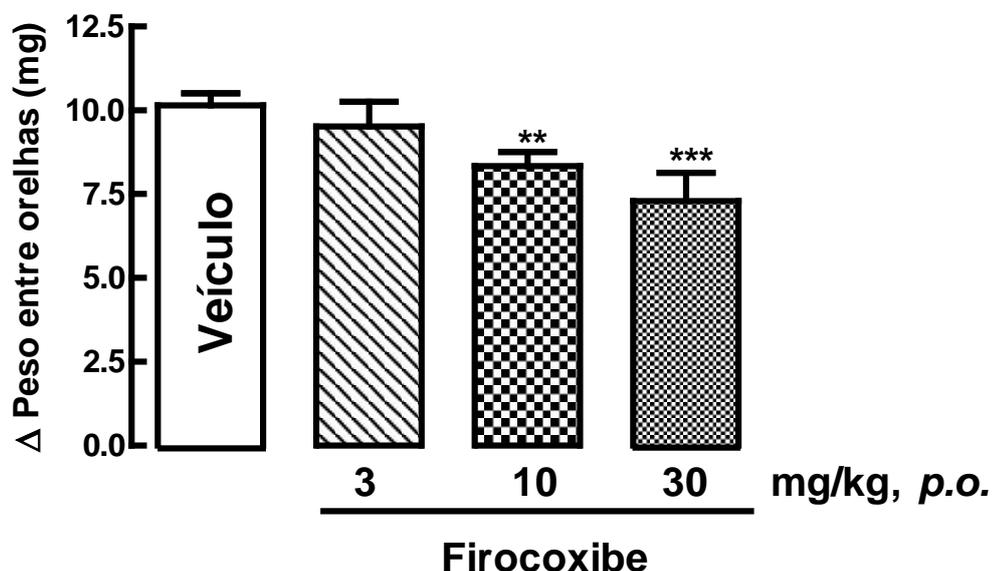


**Figura 24:** Relação dose-efeito inibitória do edema de orelha induzido pelo óleo de cróton em camundongos previamente tratados pela via oral com o carprofeno nas doses de 3, 10 e 30 mg/kg. Os símbolos e linhas verticais representam as médias  $\pm$  o erro padrão para grupos experimentais de 5-12 animais.

Tratamentos	Dose (mg/kg,	$\Delta$ (mg)	% Inibição
-------------	--------------	---------------	------------

	<i>p.o.</i> )		
Veículo		10,2 ± 0,4	-
FC	3	9,5 ± 0,7	<b>6,9</b>
FC	10	8,3 ± 0,4 **	<b>18,6</b>
FC	30	7,3 ± 0,4***	<b>28,4</b>

**Tabela 12:** Influência do pré-tratamento com o firocoxibe (FC) no edema de orelha induzido pelo óleo de cróton.  $\Delta$  representa a diferença de peso em miligramas entre a orelha direita (10 $\mu$ L de óleo de cróton - 2,5 % v/v em acetona) e a orelha esquerda (acetona). \*\*  $p < 0.01$  para  $n = 6$  a 12 animais.

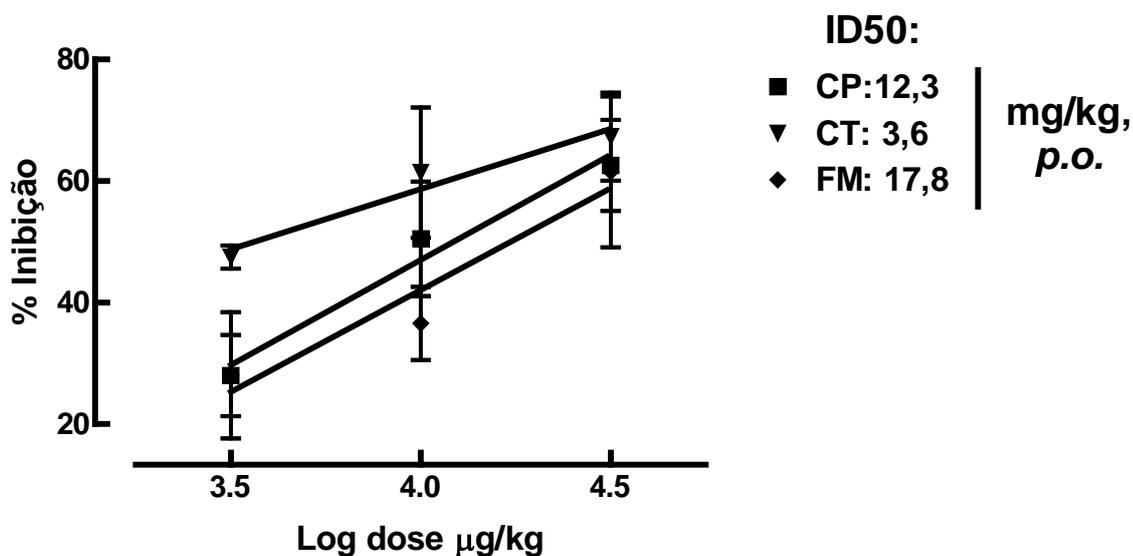


**Figura 25:** Edema de orelha induzido pelo óleo de cróton. As colunas e barras verticais representam as médias  $\pm$  o erro padrão de grupos experimentais de até 12 animais. \*\*  $p < 0.01$ .

As doses inibitórias 50% (ID50) obtidas com o edema de orelha induzido pelo óleo de cróton foram de: cetoprofeno - 3,6 mg/kg, carprofeno - 12,3 mg/kg e flunixin meglumine - 17,8 mg/kg, conforme apresentado na Tabela 13 e Figura 26. As doses usadas para o firocoxibe e o meloxicam não permitiram a determinação da ID50 desses fármacos.

DROGAS	ID50 (mg/kg, <i>p.o.</i> )
Meloxicam	-
Flunixim Meglumine	<b>17,8</b>
Firocoxibe	-
Carprofeno	<b>12,3</b>
Cetoprofeno	<b>3,6</b>

**Tabela 13:** Dose Inibitória 50% (ID50) obtidas por interpolação no teste do edema de orelha induzido pelo óleo de cróton.



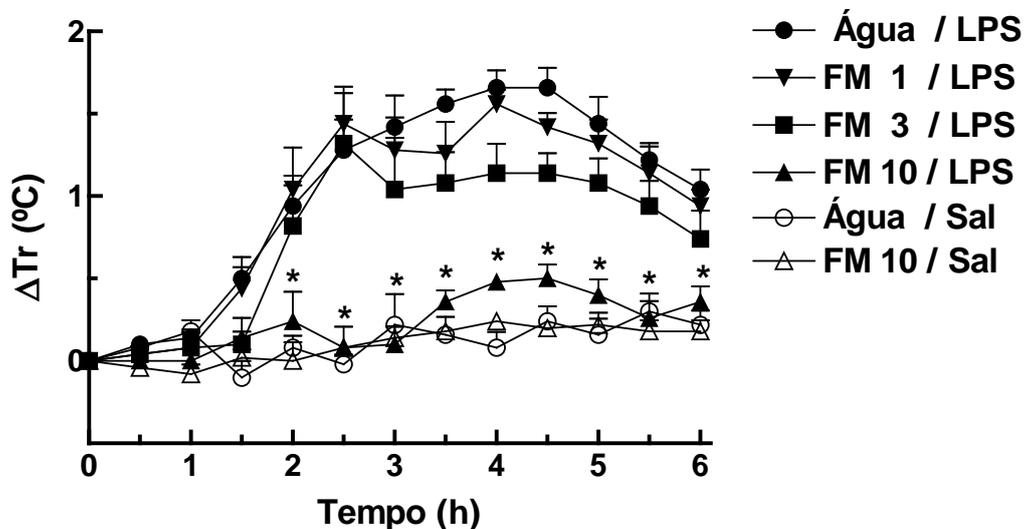
**Figura 26:** Porcentagem de inibição do edema de orelhas induzido pelo óleo de cróton (10 $\mu\text{L}$  de óleo de cróton - 2,5 % v/v em acetona) em camundongos previamente tratados (60 minutos) pela via oral com o carprofeno (CP), o cetoprofeno (CT) ou o flunixin meglumine (FM). Os símbolos e linhas verticais representam as médias  $\pm$  o erro padrão de 6 a 12 animais por grupo experimental.

### 5.3 Atividade Antipirética na Febre Induzida pelo LPS

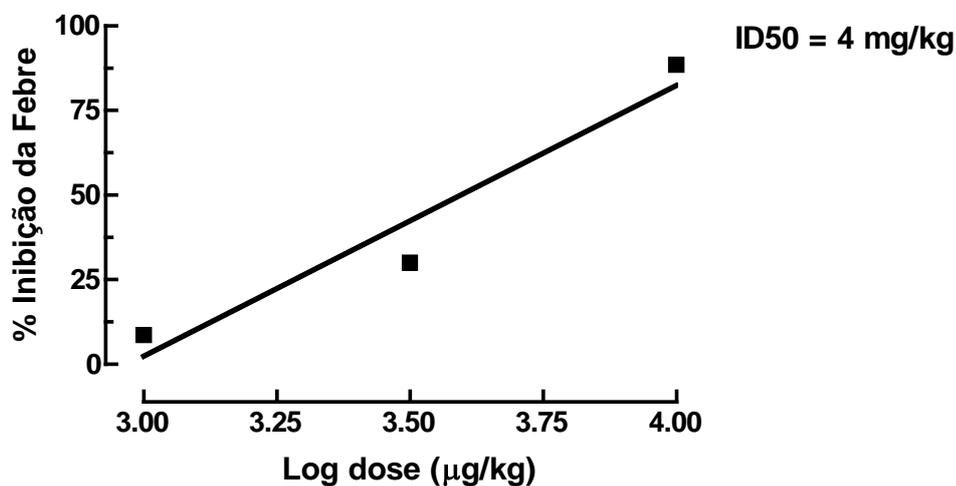
Sempre utilizando a administração oral no teste da atividade antipirética induzida pelo LPS, o FM (1, 3 e 10 mg/kg) reduziu, de forma dose dependente, a febre induzida pelo LPS em 8,7%, 30% e 88,6%, comparado ao grupo tratado com o veículo que apresentou variação de temperatura ( $\Delta T^{\circ}\text{C}$ ) de 3,6 $^{\circ}\text{C}$  (Tabela 14 e Figuras 27 e 28). De forma semelhante, o CT (1, 3, 10 e 30 mg/kg) inibiu em 26%, 42,9%, 79,6% e 100%, sendo a média de variação do veículo de 3,7 $^{\circ}\text{C}$  ( $\Delta T^{\circ}\text{C}$ ) (Tabela 15 e Figuras 29 e 30).

Tratamentos (p.o.)	$\Delta$ TR ( $^{\circ}$ C) após aplicação Salina (i.v.)		$\Delta$ TR ( $^{\circ}$ C) após aplicação LPS (5 $\mu$ g/kg, i.v.)			
	Veículo (água)	FM (mg/kg)	Veículo (água)	FM (mg/kg)		
Tempo (min.)		10		1	3	10
Basal	37	36,8	37	37	37	36,9
0	0	0	0	0	0	0
30	0,1	0	0,1	0	0	0
60	0,2	-0,1	0,1	0,1	0,1	0
90	-0,1	0	0,5	0,4	0,1	0,1
120	0,1	0,1	0,9	1,0	0,8	0,2 *
150	0	0,1	1,3	1,4	1,3	0,1 *
180	0,2	0,1	1,4	1,3	1,0	0,1 *
210	0,2	0,2	1,6	1,3	1,1	0,4 *
240	0,1	0,2	1,7	1,6	1,1	0,5 *
270	0,2	0,2	1,7	1,4	1,1	0,5 *
300	0,2	0,2	1,4	1,3	1,1	0,4 *
330	0,3	0,2	1,2	1,1	0,9	0,3 *
360	0,2	0,2	1,0	0,9	0,7	0,4 *
<b>AUC Salina</b>	3,7	-	-	-	-	-
<b>AUC LPS</b>	-		5,5	5,0	3,8	0,6
<b>% Inibição</b>	-		-	<b>8,7%</b>	<b>30%</b>	<b>88,6%</b>

**Tabela 14:** Efeito do flunixin meglumine (FM) sobre a febre induzida pelo LPS. Os valores contidos na tabela representam a variação da temperatura retal ( $\Delta$ TR) de 5 animais após a administração do fármaco e/ou estímulo. Na parte inferior da tabela estão representados os valores da área sobre a curva (AUC) e os percentuais de inibição na mesma, considerando 100% de atividade pirética a AUC da Água/LPS. (\* $p$ <0,05)



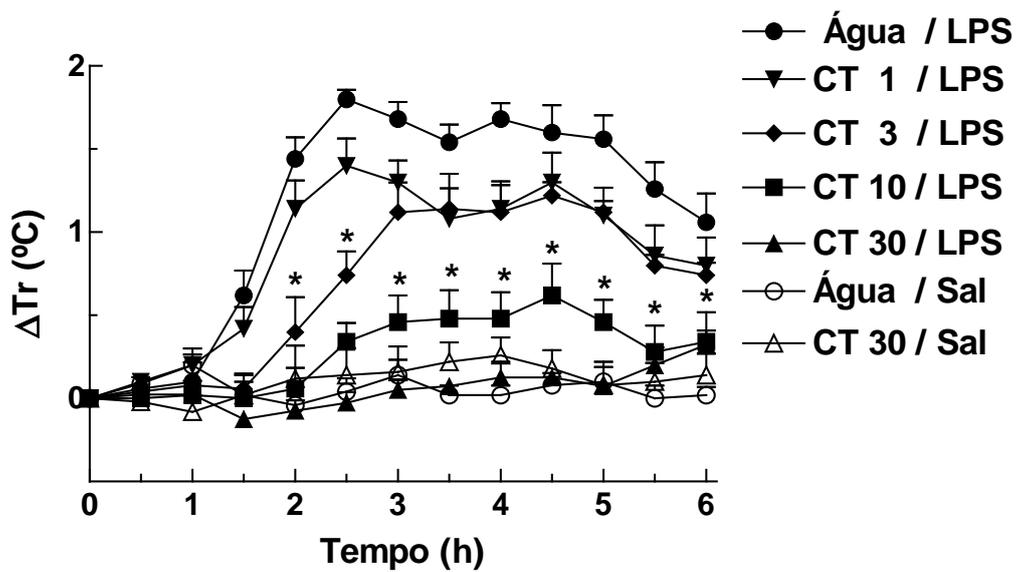
**Figura 27:** Efeito do flunixin meglumine (FM - 1, 3 e 10 mg/kg, *p.o.*) sobre a febre induzida pelo LPS em ratos. Os símbolos e barras verticais representam as médias  $\pm$  erro padrão das variações na temperatura retal ( $\Delta Tr$ ) de 5 animais por grupo experimental. (\* $p < 0,05$ )



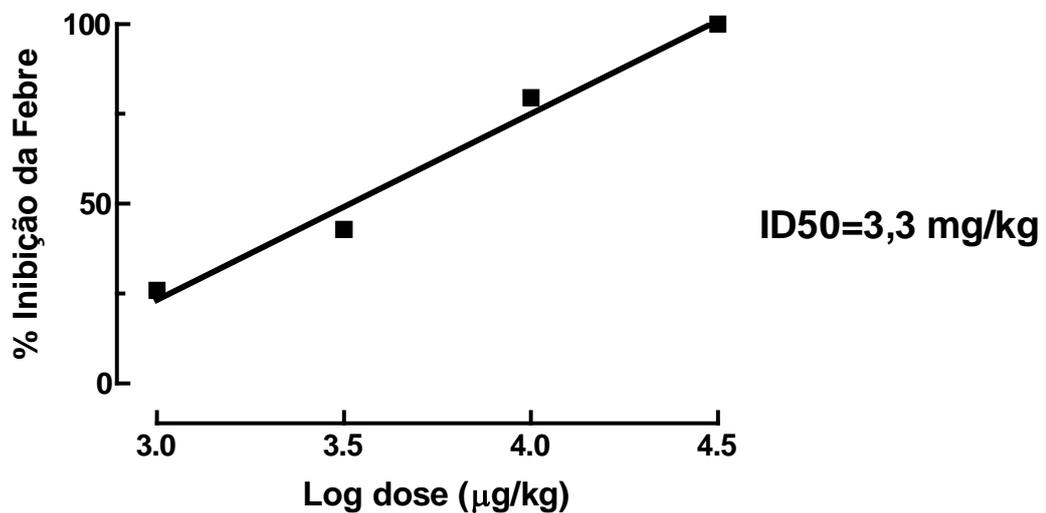
**Figura 28:** Porcentagem de inibição e dose inibitória 50% (ID50) na área sobre a curva da Figura 27 no teste da febre induzida pelo LPS, em ratos previamente tratados pela via oral com o flunixin meglumine nas doses de 1, 3 e 10 mg/kg, *p.o.*.

Tratamentos (p.o.)	$\Delta TR$ ( $^{\circ}C$ ) após aplicação Salina (i.v.)		$\Delta TR$ ( $^{\circ}C$ ) após aplicação LPS (5 $\mu g/kg$ , i.v.)				
	Veículo (água)	CT (mg/kg)	Veículo (água)	CT (mg/kg)			
Tempo (min.)		30		1	3	10	30
Basal	36,9	37	37	36,9	36,9	37	37
0	0	0	0	0	0	0	0
30	0,1	0	0,1	0,1	0	0	0
60	0,2	0	0,1	0,2	0,1	0	0
90	0	0	0,6	0,4	0,1	0	0,1
120	0	0,1	1,4	1,1	0,4 *	0,1*	0,1*
150	0	0,1	1,8	1,4	0,7*	0,3*	0*
180	0,1	0,2	1,7	1,3	1,1	0,5*	0,1*
210	0	0,2	1,5	1,1	1,1	0,5*	0,1*
240	0	0,3	1,7	1,1	1,1	0,5*	0,1*
270	0,1	0,2	1,6	1,3	1,2	0,6*	0,1*
300	0,1	0,1	1,6	1,1	1,1	0,5*	0,1*
330	0	0,1	1,3	0,9	0,8	0,3*	0,2*
360	0	0,1	1,1	0,8	0,7	0,3*	0,3*
<b>AUC Salina</b>	3,3	-	-	-	-	-	-
<b>AUC LPS</b>	-		6,6	4,9	3,8	1,3	0
<b>% Inibição</b>	-		-	<b>26%</b>	<b>42,9%</b>	<b>79,6%</b>	<b>100%</b>

**Tabela 15:** Efeito do cetoprofeno (CT) sobre a febre induzida pelo LPS. Os valores contidos na tabela representam a variação da temperatura  $\Delta TR$  (de 5 animais após a administração do fármaco e/ou estímulo. Na parte inferior da tabela estão representados os valores da área sobre a curva (AUC) e os percentuais de inibição na mesma, considerando 100% de atividade pirética a AUC da Água/LPS. (\* $p < 0,05$ )



**Figura 29:** Efeito do cetopropfen (CT - 1, 3, 10 e 30 mg/kg, *p.o.*) sobre a febre induzida pelo LPS em ratos. Os símbolos e barras verticais representam as médias  $\pm$  erro padrão das variações na temperatura retal ( $\Delta$ TR) de 5 animais por grupo experimental. (\* $p < 0,05$ ).

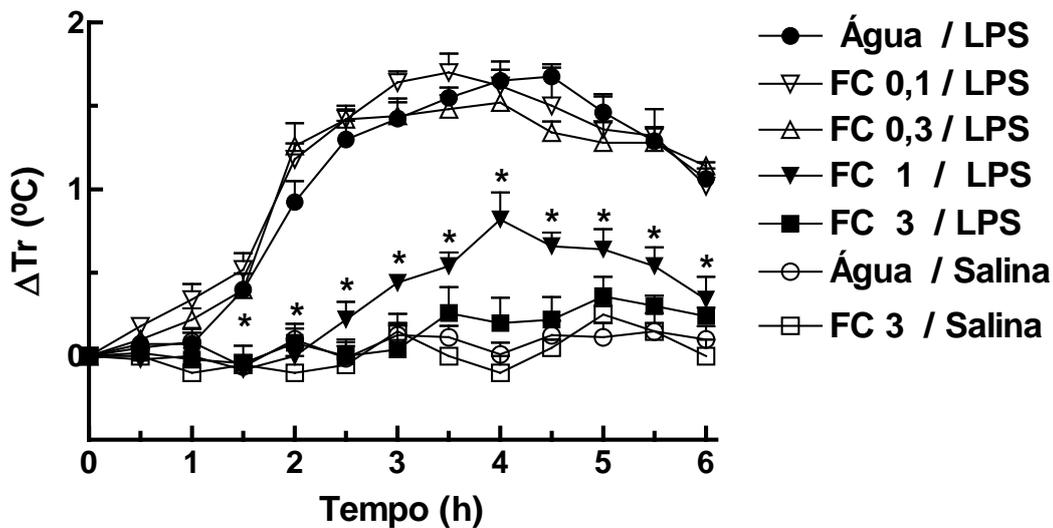


**Figura 30:** Porcentagem de inibição e dose inibitória 50% (ID50) na área sobre a curva da Figura 29 no teste da febre induzida pelo LPS, em ratos previamente tratados pela via oral com o cetopropfen nas doses de 1, 3, 10 e 30 mg/kg, *p.o.*.

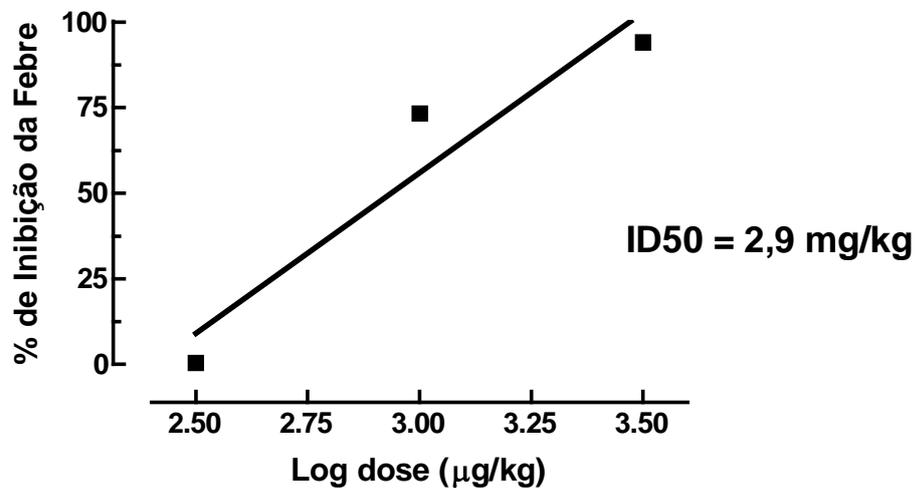
O FC (0,1, 0,3, 1 e 3 mg/kg, *p.o.*) inibiu a febre em 0%, 0,4%, 73,2% e 94, respectivamente, comparado ao grupo tratado com o veículo ( $\Delta T = 3,6^{\circ}\text{C}$ ) (Tabela 16 e Figuras 31 e 32).

Tratamentos ( <i>p.o.</i> )	$\Delta\text{TR}$ ( $^{\circ}\text{C}$ ) após aplicação Salina ( <i>i.v.</i> )		$\Delta\text{TR}$ ( $^{\circ}\text{C}$ ) após aplicação LPS (5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ , <i>i.v.</i> )				
	Veículo (água)	FC (mg/kg)	Veículo (água)	FC (mg/kg)			
Tempo (min.)		3		0,1	0,3	1	3
Basal	37	37	37,1	37	37	36,9	36,9
0	0	0	0	0	0	0	0
30	0,1	0	0,1	0,2	0,1	0	0
60	0,1	-0,1	0,1	0,3	0,2	0	0
90	-0,1	-0,1	0,4	0,5	0,4	-0,1 *	0 *
120	0,1	-0,1	0,9	1,2	1,3	0 *	0,1 *
150	0	-0,1	1,3	1,4	1,4	0,2 *	0 *
180	0,1	0	1,4	1,7	1,4	0,4 *	0 *
210	0,1	0	1,6	1,7	1,5	0,5 *	0,3 *
240	0	0	1,7	1,6	1,5	0,8 *	0,2 *
270	0,1	0,1	1,8	1,5	1,3	0,7 *	0,2 *
300	0,1	0,1	1,5	1,4	1,3	0,6 *	0,4 *
330	0,2	0	1,3	1,3	1,3	0,5 *	0,3 *
360	0,1	0	1,1	1,0	1,1	0,3 *	0,2 *
<b>AUC Salina</b>	3,4	-	-	-	-	-	-
<b>AUC LPS</b>	-		5,8	6,2	5,7	1,4	0,4
<b>% Inibição</b>	-		-	<b>0</b>	<b>0,4</b>	<b>73,2</b>	<b>94</b>

**Tabela 16:** Efeito do firocoxibe (FC) sobre a febre induzida pelo LPS. Os valores contidos na tabela representam a variação da temperatura retal ( $\Delta\text{TR}$ ) de 5 animais após a administração do fármaco e/ou estímulo. Na parte inferior da tabela estão representados os valores da área sobre a curva (AUC) e os percentuais de inibição na mesma, considerando 100% de atividade pirética a AUC da Água/LPS. (\* $p < 0,05$ )



**Figura 31:** Efeito do firocoxibe (FC: 0,1, 0,3, 1 e 3 mg/kg, *p.o.*) sobre a febre induzida pelo LPS em ratos. Os símbolos e barras verticais representam as médias  $\pm$  erro padrão das variações na temperatura retal ( $\Delta$ TR) de 5 animais por grupo experimental. (\* $p < 0,05$ ).

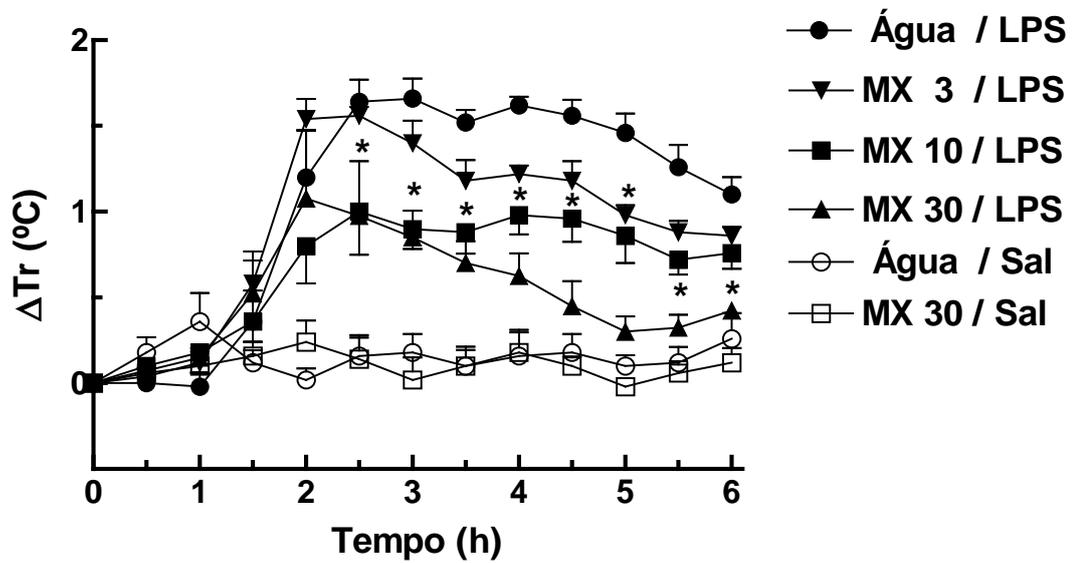


**Figura 32:** Porcentagem de inibição e dose inibitória 50% (ID50) na área sobre a curva da Figura 31 no teste da febre induzida pelo LPS, em ratos previamente tratados pela via oral com o firocoxibe nas doses de 0,1, 0,3, 1 e 3 mg/kg, *p.o.*.

Os percentuais de inibição da febre obtidos com o MX (3, 10 e 30 mg/kg, *p.o.*) foram de 15,5%, 42,6% e 61,4% com veículo apresentando  $\Delta T^{\circ}C$  de 3,6 $^{\circ}C$  (Tabela 17 e Figuras 33 e 34) e com o CP (1, 3 e 10mg/kg, *p.o.*) foram de 20,5%, 49,2% e 72,1% (veículo: $\Delta T^{\circ}C = 3,6^{\circ}C$ ), conforme descrito na Tabela 18 e Figuras 35 e 36.

Tratamentos (p.o.)	$\Delta$ TR ( $^{\circ}$ C) após aplicação Salina (i.v.)		$\Delta$ TR ( $^{\circ}$ C) após aplicação LPS (5 $\mu$ g/kg, i.v.)			
	Veículo (água)	MX (mg/kg)	Veículo (água)	MX (mg/kg)		
Tempo (min.)		30		3	10	30
Basal	36,9	37	36,9	37	36,9	37
0	0	0	0	0	0	0
30	0,2	0,1	0	0	0,1	0,1
60	0,4	0,1	0	0,1	0,2	0,2
90	0,1	0,2	0,4	0,6	0,4	0,5
120	0	0,2	1,2	1,5	0,8	1,1
150	0,2	0,1	1,6	1,6	1	1,0
180	0,2	0	1,7	1,4	0,9	0,9
210	0,1	0,1	1,5	1,2	0,9	0,7
240	0,2	0,2	1,6	1,2	1	0,6
270	0,2	0,1	1,6	1,2	1	0,5
300	0,1	0	1,5	1,0	0,9	0,3
330	0,1	0,1	1,3	0,9	0,7	0,3
360	0,3	0,1	1,1	0,8	0,8	0,4
<b>AUC Salina</b>	3,9	-	-	-	-	-
<b>AUC LPS</b>	-	-	5,5	4,6	3,2	2,2
<b>% Inibição</b>	-	-	-	<b>15,5</b>	<b>42,6</b>	<b>59,5</b>

**Tabela 17:** Efeito do meloxicam (MX) sobre a febre induzida pelo LPS. Os valores contidos na tabela representam a variação da temperatura retal ( $\Delta$ TR) de 5 animais após a administração do fármaco e/ou estímulo. Na parte inferior da tabela estão representados os valores da área sobre a curva (AUC) e os percentuais de inibição na mesma, considerando 100% de atividade pirética a AUC da Água/LPS. (\* $p$ <0,05).



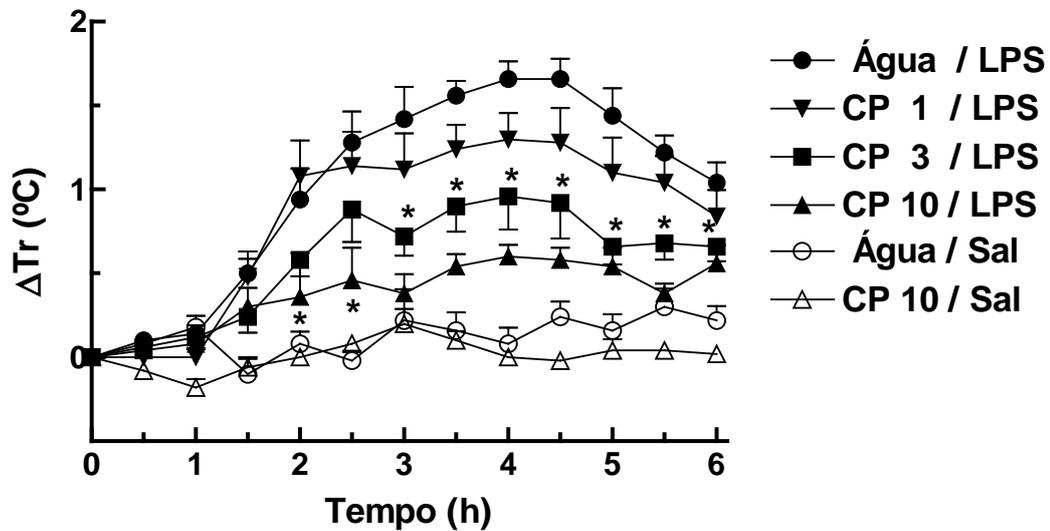
**Figura 33:** Efeito do meloxicam (MX - 3, 10 e 30 mg/kg, *p.o.*) sobre a febre induzida pelo LPS em ratos. Os símbolos e barras verticais representam as médias  $\pm$  erro padrão das variações na temperatura retal ( $\Delta Tr$ ) de 5 animais por grupo experimental. (\* $p < 0,05$ ).



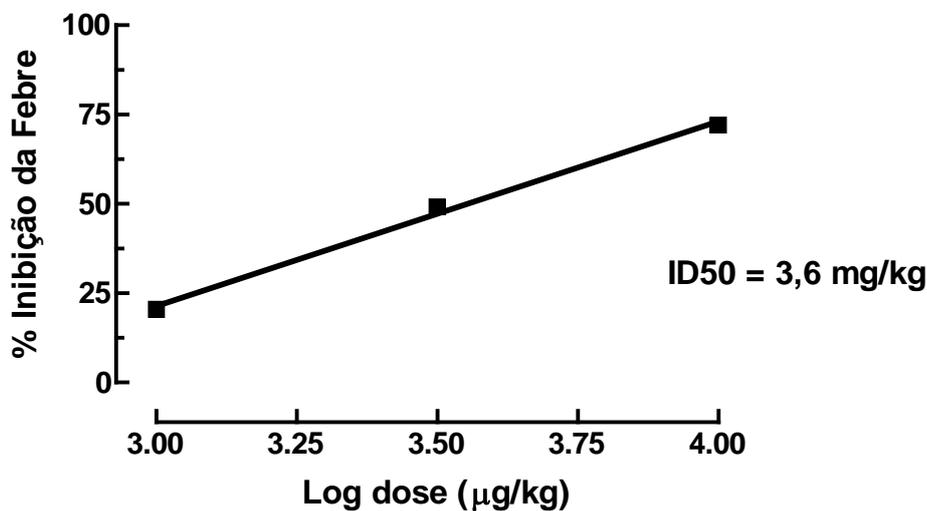
**Figura 34:** Porcentagem de inibição e dose inibitória 50% (ID50) na área sobre a curva da Figura 33 no teste da febre induzida pelo LPS, em ratos previamente tratados pela via oral com o meloxicam nas doses de 3, 10 e 30 mg/kg, *p.o.*.

Tratamentos ( <i>p.o.</i> )	$\Delta$ TR ( $^{\circ}$ C) após aplicação Salina ( <i>i.v.</i> )		$\Delta$ TR ( $^{\circ}$ C) após aplicação LPS (5 $\mu$ g/kg, <i>i.v.</i> )			
	Veículo (água)	CP (mg/kg)	Veículo (água)	CP (mg/kg)		
Tempo (min.)		10		1	3	10
Basal	37	36,9	37	37	37	36,9
0	0	0	0	0	0	0
30	0,1	-0,1	0,1	0	0,1	0
60	0,2	-0,2	0,1	0	0,1	0,1
90	-0,1	-0,1	0,5	0,5	0,2	0,3 *
120	0,1	0	0,9	1,1	0,6	0,4 *
150	0	0,1	1,3	1,1	0,9	0,5 *
180	0,2	0,2	1,4	1,1	0,7 *	0,4 *
210	0,2	0,1	1,6	1,2	0,9 *	0,5 *
240	0,1	0	1,7	1,3	1,0 *	0,6 *
270	0,2	0	1,7	1,3	0,9 *	0,6 *
300	0,2	0	1,4	1,1	0,7 *	0,5 *
330	0,3	0	1,2	1,0	0,7 *	0,4 *
360	0,2	0	1,0	0,8	0,7 *	0,6 *
<b>AUC Salina</b>	3,7	-	-	-	-	-
<b>AUC LPS</b>	-	-	5,5	4,4	2,8	1,5
<b>% Inibição</b>	-	-	-	<b>20,5</b>	<b>49,2</b>	<b>72,1</b>

**Tabela 18:** Efeito do carprofeno (CP) sobre a febre induzida pelo LPS. Os valores contidos na tabela representam a variação da temperatura retal ( $\Delta$ TR) de 5 animais após a administração do fármaco e/ou estímulo. Na parte inferior da tabela estão representados os valores da área sobre a curva (AUC) e os percentuais de inibição na mesma, considerando 100% de atividade pirética a AUC da Água/LPS. (\* $p$ <0,05).



**Figura 35:** Efeito do carprofeno (CP – 1, 3 e 10 mg/kg, *p.o.*) sobre a febre induzida pelo LPS em ratos. Os símbolos e barras verticais representam as médias  $\pm$  erro padrão das variações na temperatura retal ( $\Delta$ Tr) de 5 animais por grupo experimental. (\* $p < 0,05$ ).

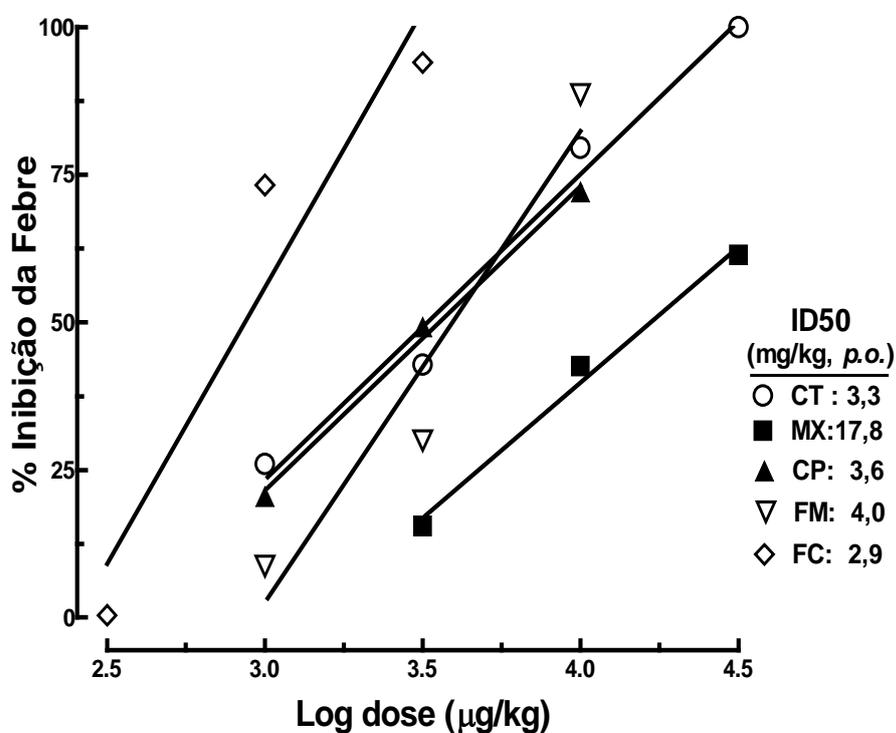


**Figura 36:** Porcentagem de inibição e dose inibitória 50% (ID50) na área sobre a curva da Figura 35 no teste da febre induzida pelo LPS, em ratos previamente tratados pela via oral com o carprofeno nas doses de 1, 3 e 10 mg/kg, *p.o.*

As doses inibitórias 50% (ID50) da febre induzida pelo LPS, obtidas após a oral administração desses fármacos em ratos foram: firocoxibe – 2,9 mg/kg, cetoprofeno - 3,3 mg/kg, carprofeno - 3,6mg/kg, flunixin meglumine - 4mg/kg e meloxicam - 17,8 mg/kg, conforme apresentado na Tabela 19 e Figura 37.

DROGAS	ID50 (mg/kg, p.o.)
Meloxicam	17,8
Flunixin Meglumine	4
Firocoxibe	2,9
Carprofeno	3,6
Cetoprofeno	3,3

**Tabela 19:** Dose Inibitória 50% (ID50) obtidas por interpolação no teste da febre induzida pelo LPS.



**Figura 37:** Porcentagem de inibição e dose inibitória 50% (ID50) da febre induzida pelo LPS (5 µg/kg, *i.v.*) em ratos previamente tratados pela via oral com o cetoprofeno (CT), meloxicam (MX), carprofeno (CP), flunixin meglumine (FM) ou o firocoxibe (FC).

#### 5.4 Avaliação do Potencial Ulcerogênico dos Fármacos Sobre a Mucosa Gástrica. Determinação do Índice de Ulceração (IU)

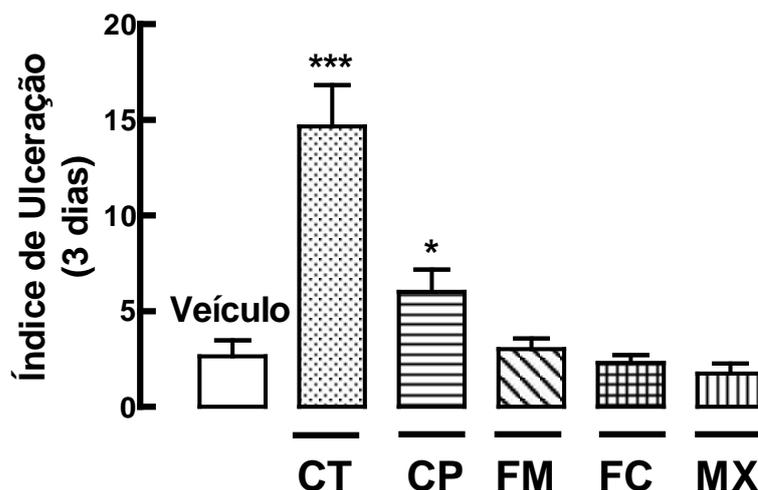
Na análise feita três dias após a administração das drogas, pela via oral e em camundongos; comparativamente ao grupo veículo (água) que apresentou índice de ulceração gástrica (IU) de  $2,6 \pm 0,8$ , o CT (3,6 mg/kg) revelou um aumento significativo deste índice, com valor de  $14,6 \pm 2,2$  e de forma semelhante ao CP (2,3 mg/kg), com IU =  $6,0 \pm 1,2$ . O FM (0,4 mg/kg), o FC (1,9 mg/kg) e o MX (0,09 mg/kg) não demonstraram aumento no índice de

ulceração gástrica, obtendo pontuações de (IU = 3,0 ± 0,5), (IU = 2,3 ± 0,4) e (IU = 1,7 ± 0,5) respectivamente, conforme apresentado na Tabela 20 e Figura 38.

Na análise feita sete dias após a administração oral crônica das drogas, o CT (3,6 mg/kg) não influenciou o índice de ulceração gástrica (IU = 6,3 ± 1,5) quando comparado ao grupo veículo (água) com IU = 4,3 ± 0,8. De forma semelhante, o FM (0,4 mg/kg), o CP (2,3 mg/kg), o MX (0,09 mg/kg) e o FC (1,9 mg/kg) também não demonstraram aumento no índice de ulceração gástrica, quando comparados ao mesmo grupo controle, obtendo pontuações de 4,8 ± 1,1 , 4,1 ± 0,6 , 4,0 ± 0,5 e 4,1 ± 0,4 respectivamente (Tabela 21 e Figura 39).

Tratamentos	Doses (mg/kg, p.o.)	Índice de Ulceração (IU) 3 dias
Veículo	-	2,6 ± 0,8
Cetoprofeno	3,6	14,6 ± 2,2 ***
Carprofeno	2,3	6,0 ± 1,2 *
Flunixin Meglumine	0,4	3,0 ± 0,5
Firocoxibe	1,9	2,3 ± 0,4
Meloxicam	0,1	1,7 ± 0,5

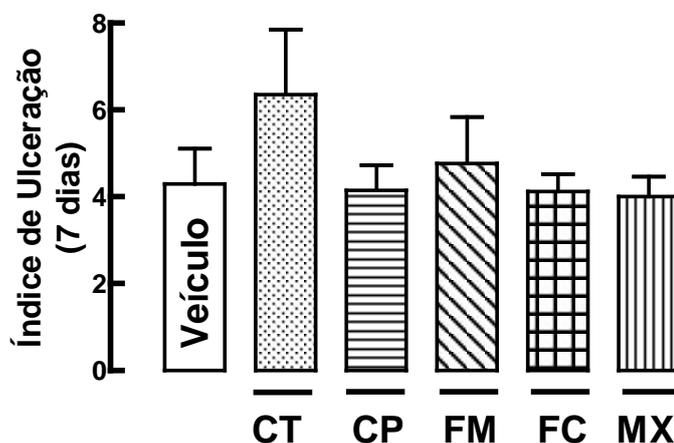
**Tabela 20:** Índice de ulceração gástrica (IU) obtidos após a administração durante três dias, pela via oral de camundongos, do veículo (água), cetoprofeno, carprofeno, flunixin meglumine, firocoxibe e do meloxicam. IU representado pelas médias ± o erro padrão de grupos experimentais com 6 animais. \* $p < 0,05$  e \*\*\* $p < 0,001$ .



**Figura 38:** Índice de ulceração gástrica (IU) obtidos após a administração durante três dias, pela via oral de camundongos, do veículo (água), cetoprofeno (CT- 3,6 mg/kg), carprofeno (CP- 2,3 mg/kg), flunixin meglumine (FM- 0,4 mg/kg), firocoxibe (FC- 1,9mg/kg) e meloxicam (MX- 0,09 mg/kg). As colunas e barras verticais representam as médias ± o erro padrão de grupos experimentais de 6 animais.\* $p < 0,05$ , \*\*\* $p < 0,001$ .

Tratamentos	Doses (mg/kg, <i>p.o.</i> )	Índice de Ulceração (IU) 7 dias
Veículo	-	4,3 ± 0,8
Cetoprofeno	3,6	6,3 ± 1,5
Carprofeno	2,3	4,1 ± 0,6
Flunixin Meglumine	0,4	4,8 ± 1,1
Firocoxibe	1,9	4,1 ± 0,4
Meloxicam	0,09	4,0 ± 0,5

**Tabela 21:** Índice de ulceração gástrica (IU) obtidos após a administração durante sete dias, pela via oral de camundongos, do veículo (água), cetoprofeno, carprofeno, flunixin meglumine, firocoxibe e do meloxicam. IU representado pelas médias ± o erro padrão de grupos experimentais com 6 animais.



**Figura 39:** Índice de ulceração gástrica (IU) obtidos após a administração durante sete dias, pela via oral de camundongos, do veículo (água), cetoprofeno (CT- 3,6 mg/kg), carprofeno (CP- 2,3 mg/kg), flunixin meglumine (FM- 0,4 mg/kg), firocoxibe (FC- 1,9mg/kg) e meloxicam (MX- 0,09 mg/kg). As colunas e barras verticais representam as médias ± o erro padrão de grupos experimentais de 6 animais.

## 6. DISCUSSÃO

Os AINES são fármacos muito empregados para aliviar a dor de intensidades e tempos variáveis, contudo, como qualquer medicamento, requerem cuidados na sua prescrição e utilização. Possuem potente atividade analgésica e anti-inflamatória, inibindo a transmissão nociceptiva, além da prevenção do edema e da inflamação (STEAGALL et al., 2009). O conceito geral é que o emprego de AINES que seletivamente inibam a COX II sem influenciar a COX I propicia analgesia, sem os efeitos colaterais atribuídos ao bloqueio da COX I; especialmente as toxicidades gastrointestinal e renal e a inibição da função trombocítica (FILHO & RAHAL, 2008). Apresentam formulações comerciais geralmente bem absorvidas por via oral e com biodisponibilidade alta, de aproximadamente 100% (LEES et al., 2004).

Notar-se-á ao longo dessa discussão que os fármacos mais amplamente estudados são aqueles utilizados simultaneamente na medicina veterinária e humana, como o meloxicam e o cetoprofeno. As demais drogas muitas vezes carecem de estudos mais específicos que demonstrem suas particularidades de efeito, sendo alguns desses estudos divergentes, escassos, restritivos e/ou pouco confiáveis.

O teste das contorções abdominais é usado para a avaliação da atividade antinociceptiva periférica (PARVEEN et al., 2007) e para a determinação do potencial analgésico de drogas, através da ID50 (SANTOS et al., 1998). Trabalhos anteriores postularam que o ácido acético, quando injetado por via intraperitoneal, induz a contorções abdominais através de uma ação indireta, induzindo a liberação de mediadores endógenos, que estimulam os neurônios nociceptivos sensíveis tanto aos anti-inflamatórios como aos analgésicos opióides (FISCHER et al., 2008). A sensibilização de nociceptores ocorre por liberação e/ou produção de mediadores como histamina, serotonina, bradicinina, citocinas, óxido nítrico e, principalmente, das prostaglandinas. Esse modelo de nocicepção também induz a liberação de TNF- $\alpha$  e IL-1 $\beta$ , sendo demonstrado que os anticorpos contra esses mediadores inibem as contorções abdominais. Outro componente importante da dor produzida nesse modelo são as quimiocinas, que medeiam a participação do simpático na atividade álgica observada (VERRI et al., 2006). Entretanto, as PGS são os mediadores inflamatórios mais importantes para causar a hiperalgesia, por tornar as fibras aferentes nociceptivas potencialmente sensível aos diversos mediadores (SANTOS et al., 1998), resultando no comportamento das contorções abdominais dos animais. Os AINES, como os testados nesse protocolo experimental, exercem seus efeitos analgésicos e anti-inflamatórios, pelo menos em parte, devido à inibição da via das cicloxigenases, havendo a não produção de PGs, sugerindo que possam haver outros mecanismos que gerem o efeito antinociceptivo observado nesses fármacos. Este teste é útil para avaliar a analgesia moderada produzidas por compostos anti-inflamatórios (FERREIRA & VANE, 1974; BERKENKOPF & WEICHMAN, 1988; MIRANDA et al., 2006).

Em nossos experimentos com o teste das contorções abdominais, todas as drogas exibiram significativa atividade antinociceptiva de forma dose dependente. Baseado na ID50 obtida para cada um dos fármacos testados pela via oral, o meloxicam (0,1mg/kg) foi droga de maior potência antinociceptiva dentre as testadas, uma vez que foi necessária uma menor dose para obtenção do mesmo percentual antinociceptivo (ID50), seguida do flunixin meglumine (0,4mg/kg), do firocoxibe (1,9mg/kg), do carprofeno (2,3mg/kg) e do cetoprofeno (3,6mg/kg) (Tabela 22). Tem sido reportado que os receptores peritoneais locais estão envolvidos na resposta das contorções abdominais. Associa-se este método à liberação de prostanóides em geral, ao aumento dos níveis de PGE<sub>2</sub> e PGF<sub>2</sub> $\alpha$  nos fluidos peritoneais, assim como, produtos da via das lipoxigenases (PARVEEN et al., 2007), relacionando-se essa atividade a uma maior inibição da COX periférica, segundo demonstrado por diversos autores (BALLOU et al., 2000; ZAKARIA et al., 2006 e ZAKARIA et al., 2007).

Tratamentos	ID50 antinociceptiva (mg/kg)	ID50 anti- edematogênica (mg/kg)	ID50 antipirética (mg/kg)
Flunixim Meglumine	0,4 (2)	17,8 (3)	4,0 (4)
Cetoprofeno	3,6 (5)	3,6 (1)	3,3 (2)
Carprofeno	2,3 (4)	12,3 (2)	3,6 (3)
Meloxicam	0,09 (1)	-	17,8 (5)
Firocoxibe	1,9 (3)	-	2,9 (1)

**Tabela 22:** ID50 antinociceptiva no teste das contorções abdominais induzidas pelo ácido acético, ID50 anti-edematogênica no teste do edema de orelha induzido pelo óleo de cróton e ID50 antipirética no teste da febre induzida pelo LPS, do flunixim meglumine, cetoprofeno, carprofeno, meloxicam e firocoxibe.

Neste mesmo modelo experimental, o cetoprofeno demonstrou atividade analgésica, com ID50 de 1,34 mg/kg, *p.o.* (INOUE et al., 1994) e o meloxicam com ID50 = 7,4 µmol/kg, *i.p.*, mostrando-se este último, 5 vezes mais potente que diclofenaco e 18 vezes mais potente que a aspirina (SANTOS et al., 1998) . Quando administrados por via intraperitoneal, em modelo semelhante, o CT demonstrou ID50 de 30,3 mg/kg e o MX, de 6,5 mg/kg (MIRANDA et al., 2008), resultados estes bastante diferentes dos encontrados nesse trabalho. Essa diferença pode estar relacionada a biodisponibilidades para cada via de administração utilizada e a pequenas diferenças no protocolo experimental. Miranda et al. (2006 e 2008) administraram as drogas intraperitonealmente, 30 minutos antes da aplicação do ácido acético e contaram as contorções abdominais por 5 minutos, sendo muito questionável a utilização desta via de administração para se avaliar a atividade de fármacos

Assim como estamos demonstrando em camundongos, estudos revelaram que o MX tem efeito analgésico bastante pronunciado em cães, podendo ser superior ao butorfanol ao se mensurar a dor pós operatória (MATHEWS et al., 2001; BUDSBERG et al., 2002).

Não foram encontrados estudos com o carprofeno, o flunixim meglumine e o firocoxibe no teste das contorções abdominais. O efeito analgésico do firocoxibe foi avaliado em estudos clínicos, que demonstraram a eficácia deste medicamento na dor causada pela osteoartrite, em relação a outros fármacos como o carprofeno (POLLMEIER et al., 2006; HAZEWINKEL et al., 2008) e o etodolac (HANSON et al., 2006). O CP (LINDENMUTH et al., 1989; CLARK, 2006) e o FM (MATHEWS et al., 1996; SCHOSSLER et al., 2001) tem sido utilizados de forma eficiente para controle da dor em medicina veterinária, podendo o último ser até mais eficiente que alguns opióides.

Considerando-se a formação do edema como parâmetro de avaliação da intensidade do processo inflamatório, a aplicação tópica de óleo de cróton induz a uma resposta inflamatória aguda, caracterizada por edema, infiltração de neutrófilos, produção de PGs e LTs e aumento da permeabilidade vascular. O edema se forma, principalmente, pela atividade de eventos vasculares do processo inflamatório, como a vasodilatação e o aumento da permeabilidade vascular, com extravasamento de proteínas e, conseqüentemente, de água para manutenção da pressão oncótica local (SHIN et al., 2006; ZHANG et al., 2007). A produção do edema se deve inicialmente a histamina e serotonina e, posteriormente, a síntese de prostaglandinas (PARVEEN et al., 2007) e leucotrienos (ISHII et al., 1994), sendo as atividades pró-inflamatórias deste óleo dependentes, em sua maior parte, da formação do AA. Dessa forma,

tanto os inibidores da PLA<sub>2</sub>, como das vias das cicloxigenases ou lipoxigenases, assim como os corticosteróides, são efetivos na supressão do edema de orelha (ZHANG et al., 2007).

O cetoprofeno (40-80mg/kg, *p.o.*), quando testado no modelo do edema de orelha induzido pela aplicação tópica de AA, produziu uma potente inibição da formação do edema sendo este efeito reduzido quando foi realizada concomitante aplicação tópica de PGE<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>: 1 µg/orelha), demonstrando que a formação do edema é mediada por PGs, que são produzidas via COX (ISHII et al., 1994).

Nossos resultados demonstram que todos os fármacos testados foram capazes de inibir a formação do edema, em maior ou menos grau. O CT foi o mais potente, seguido do CP e FM. O MX e FC apesar de efetivos, não permitiram a determinação da ID<sub>50</sub> nas doses que foram utilizados (até 30 mg/kg), indicando a baixa influência sobre a inibição da formação do edema, quando comparados com os demais anti-inflamatórios testados (Tabela 22). Esses resultados são típicos dos inibidores de COX, como a indometacina (10 mg/kg, *p.o.*), que no mesmo modelo experimental, pode promover uma inibição de até 66% (DE MELO et al., 2005). Já a dexametasona, um anti-inflamatório esteroidal, apresentou atividade mais efetiva, com inibição de até 84% na dose de 1 mg/kg, *p.o.* (BRAGGIO et al., 2002). Essa atividade da dexametasona se deve a inibição da expressão da COX e da LOX, além da diminuição na síntese de proteínas inflamatórias pela droga.

O efeito anti-exsudativo do meloxicam foi avaliado em outro teste para atividade anti-edematogênica, por Engelhardt et al. (1996), o ensaio da pleurisia induzida pela carragenina, que avalia a formação de exsudato e a migração leucocitária. Este fármaco causou uma inibição dose dependente da formação de exsudato (4 mg/kg, *p.o.* - 33,2% e 8mg/kg, *p.o.* - 40,4% de inibição) e da migração de monócitos e polimorfonucleares, sendo a atividade anti-exsudativa mais pronunciada que a atividade antiquimiotáxica, resultados esses indicativos da baixa atividade anti-edematogênica do meloxicam, corroborando com os obtidos em nosso experimento. Os anti-inflamatórios esteróides, como a dexametasona, inibem tanto o volume como a contagem de células, em doses bem inferiores (0,1 e 0,3 mg/kg, *p.o.*). (ENGELHARDT et al., 1995).

Não foi encontrado nenhum relato da atividade anti-edematogênica do carprofeno, firocoxibe ou flunixin meglumine, em modelo semelhante ao utilizado neste trabalho.

A febre experimental é induzida pela injeção de um pirógeno exógeno, que, geralmente é um componente ou um produto microbiano, resultando numa resposta inflamatória generalizada. Na maior parte dos experimentos que estudam a febre, são usados lipopolissacarídeos (LPS) de bactéria gram negativas para induzir a resposta febril. O LPS é uma endotoxina bacteriana que causa uma febre de 6 a 8 horas.

Os AINES não influenciam a temperatura em animais normotêrmicos. Eles são efetivos para a febre induzida por pirógenos (Engelhardt et al., 1995). Isso pode ser comprovado em nossos experimentos pela relação temperatura versus tempo inalterada que representa a injeção intravenosa de salina na cauda dos ratos, após administração de cada uma das drogas (controle salina/droga), mostrando que as drogas utilizadas neste trabalho não são capazes de causar hipotermia, garantindo que o efeito observado deve-se a atividade anti-pirética de cada um dos fármacos testados. Em nosso protocolo experimental, o firocoxibe foi a droga mais potente (ID<sub>50</sub> = 2,9 mg/kg), seguido do CT (ID<sub>50</sub> = 3,3 mg/kg), CP (ID<sub>50</sub> = 3,6

mg/kg) e FM (ID50 = 4,0 mg/kg). O meloxicam, entretanto, apesar de efetivo, mostrou baixa atividade antipirética quando comparado às demais drogas (ID50 = 17,8 mg/kg).

Acredita-se que o efeito antipirético seja devido, em grande parte, à inibição de PGs no hipotálamo. Durante a reação inflamatória, as endotoxinas bacterianas causam a liberação de pirógenos pelos macrófagos, principalmente a IL-1, o TNF $\alpha$  e a IL-6, que estimulam a produção de PGs do tipo E no hipotálamo, que induzem a elevação do ponto de ajuste da temperatura, produzindo vasoconstrição periférica, piloereção e tremores para aumento da temperatura corporal. A COX II é particularmente importante nesse processo, visto que ela é induzida pela IL-1, podendo assim estar implicada na produção da febre (RANG et al., 2007; SPINOSA et al., 2006; GILMAN et al., 2006). Entretanto, a resposta febril é bastante complexa, pois bloqueando-se uma etapa dessa resposta por uma classe de drogas como os AINES, não se está totalmente esclarecido até que ponto outros eventos celulares podem estar sendo responsáveis pela permanência ou leve atenuação da resposta febril (KANASHIRO, et al., 2008), o que pode explicar a baixa atividade antipirética do meloxicam nesse modelo. Engelhardt et al. (2005) avaliaram a atividade deste fármaco na febre induzida por yeast, obtendo uma diminuição dose dependente da temperatura, porém com baixa potência (ID50 para diminuição de temperatura de 1°C: 9 mg/kg), comparativamente, com apenas metade da atividade obtida com o piroxicam no mesmo modelo (ID50 para diminuição de temperatura de 1°C: 4,5 mg/kg).

Num estudo em coelhos, onde a febre foi induzida pela aplicação intravenosa do LPS, demonstrou-se o aumento na expressão de PGE<sub>2</sub> no plasma e no líquido cérebro-espinhal, durante um período de 5 horas, mas com pico de atividade uma hora após a aplicação do estímulo. O CT (3 mg/kg, *s.c.*) impediu o aumento no líquido plasmático e cérebro-espinhal de PGE<sub>2</sub> e, conseqüentemente, não houve aumento da temperatura (DAVIDSON et al., 2001), corroborando com os nossos resultados, que demonstram potente a atividade antipirética da droga, com dose bastante semelhante e administrada pela via oral.

O flunixin meglumine (1,1 mg/kg, *i.v.*) demonstrou atividade antipirética em eqüinos, após a administração intravenosa de LPS (0,3  $\mu$ g/kg) (DANEK, 2006). McCann et al. (2005) demonstraram este mesmo efeito no firocoxibe, via oral, em gatos, administrados uma (0,75 mg/kg) ou quatorze (3mg/kg) horas antes da aplicação do LPS.

Não foram encontrados estudos avaliando a atividade do carprofeno após administração de LPS.

Considerando que a análise do potencial analgésico, anti-inflamatório e antipirético da droga isoladamente não define qual a melhor a ser utilizada na terapêutica, pois o anti-inflamatório ideal e de escolha deve ser aquele que associe alta potência a uma baixa incidência de efeitos colaterais, procedeu-se então a avaliação dos potenciais ulcerogênicos destes. No terceiro dia de tratamento, com as ID50 dos fármacos obtidas no teste das contorções abdominais, apenas o cetoprofeno e o carprofeno demonstraram atividade ulcerogênica, ao apresentarem diferença significativa no índice de ulceração quando comparados ao grupo controle. O mecanismo para tal toxicidade pode decorrer da inibição da atividade da isoforma COX I, como ocorre com o CT, com conseqüente diminuição da produção de PGs citoprotetoras (PGE<sub>2</sub> e PGI<sub>2</sub>). Com a falha dos processos protetores da mucosa gástrica, ocorrem as erosões e ulcerações gástricas (MIZUNO et al., 1997; FRANCO et al., 2006). Pode-se justificar o efeito observado com o carprofeno, pelo fato desse fármaco ser um inibidor preferencial da COX II, podendo inibir também a COX I em doses

terapêuticas. Esta inibição de ambas as isoformas, freqüentemente pode resultar em danos a mucosa do estômago (TEGEDER et al., 2000; HAZEWINKEL et al., 2008). Segundo Lees et al. (2004), o CP apresenta diferença de seletividade conforme a espécie, sendo, por exemplo, COX II seletivo ou preferencial em cães e gatos, COX não seletivo em equinos e COX I preferencial em humanos. Como nossos estudos foram feitos em camundongos, diferenças na seletividade do carprofeno para essa espécie podem justificar sua alta incidência de efeitos colaterais, quando comparado ao MX e FC, fármacos COX II preferencial e seletivo, respectivamente.

Porém, no sétimo dia do tratamento, ambas as drogas não demonstraram efeitos ulcerogênicos significativos, resultados estes que corroboram com aqueles descritos por Narita et al. (2005), ao utilizarem o cetoprofeno (1mg/kg, *sid, p.o.*) em cães em um tratamento crônico de 30 dias. Neste estudo, apesar de não haver diferença estatística em relação ao controle, cães do grupo cetoprofeno apresentaram lesões gástricas, tendendo a reduzir sua gravidade após um período de tempo, sendo que ao final do experimento, nenhum dos animais apresentam lesões.

Segundo Forsyth et al. (1998), em humanos, o período de maior risco de lesões ocorre horas ou dias após a administração, diminuindo-se posteriormente os riscos. Esse efeito pode estar relacionado ao desenvolvimento de tolerância aos danos causados por essa classe de drogas na mucosa gástrica.

A exposição da mucosa gástrica a aspirina pode causar lesões severas, mas com a aplicação repetida do fármaco, ocorre atenuação dessas lesões, apesar da maior inibição da produção de PGE<sub>2</sub> (BRZOZOWSKI et al., 2005). Esse processo de resistência da mucosa e tolerância ao dano freqüente induzido por esses agentes foi chamado de adaptação gástrica, e parece não depender da biossíntese de PGs, mas sim de um aumento na produção de fatores de crescimento, que estimulariam a proliferação de células e a regeneração da mucosa (BRZOZOWSKI et al.; 2005; PAPICH, 2008). Um exemplo seria o fator de crescimento epidermal que é capaz de reduzir as ulcerações gástricas causadas pela aspirina em ratos e em gatos, em situações onde a biossíntese de PGs está completamente inibida pela administração da droga. A adaptação gástrica é acompanhada de redução dos neutrófilos circulantes, além de atenuação da infiltração dessas células na mucosa gástrica, o que leva a um aumento do fluxo sanguíneo regional em humanos e animais. Esse último mecanismo é suspenso pelo uso de inibidores da NO sintase, sem a eliminação do mecanismo de adaptação da mucosa, mostrando que o NO contribui na manutenção do fluxo sanguíneo, mas não é o único mediador envolvido no processo (BRZOZOWSKI et al.; 2005).

Estudos sobre adaptação gástrica foram feitos primeiramente em animais de laboratório, principalmente roedores e após, em cães, mostrando que a adaptação gástrica ocorre em ambas as espécies. As lesões aparecem com o tratamento com a aspirina por 1 a 2 semanas e se resolvem mesmo que o tratamento seja continuado. A adaptação a esta droga em cães é acompanhada de aumento do fluxo sanguíneo, redução da infiltração de células inflamatórias, aumento na proliferação de células gástricas e regeneração da mucosa e aumento da taxa do fator de crescimento epidermal (PAPICH, 2008). Segundo Dowers et al. (2006), a adaptação gástrica ocorre com a administração repetida de outros AINES, além da aspirina, ao observarem que as lesões gastrointestinais após administração oral do decarboxibe (4 mg/kg) ou carprofeno (4 mg/kg), foram piores até segundo dia, tendo melhorado até o 5º dia, resultados esses semelhantes aos nossos.

Num estudo da toxicidade gástrica do meloxicam (0,2mg/kg), cetoprofeno (1mg/kg) e carprofeno (4mg/kg) em cães, após 28 dias de tratamento, não se observou diferença significativa entre os grupos e entre estes e o veículo, embora animais de ambos os tratamentos apresentassem lesões gástricas (Forsyth et al., 1998). Apesar desses resultados serem diferentes dos encontrados em nosso trabalho, deve-se notar que a dose de cetoprofeno utilizada foi mais de três vezes menor e as doses de meloxicam e do carprofeno foram cerca de duas vezes maiores, respectivamente. Em outro estudo, após a administração oral diária de meloxicam (1 mg/kg), carprofeno (4 mg/kg), cetoprofeno (2mg/kg por 4 dias, após 1 mg/kg) e flunixin meglumine (1 mg/kg por 3 dias, com 4 dias de intervalo), por 90 dias, foram realizadas gastroscopias antes e após os tratamentos. Lesões gástricas foram observadas em todos os cães do grupo cetoprofeno e flunixin meglumine e, em apenas um cão do grupo carprofeno. O meloxicam não mostrou alteração na gastroscopia (LUNA et al., 2007). Mais uma vez nota-se que as doses de CP e FM foram, aproximadamente, duas vezes maior que a utilizada no presente estudo.

Em nossa avaliação, o meloxicam, o firocoxibe e o flunixin meglumine não apresentaram alterações significativas no índice de ulceração no terceiro ou no sétimo dia dos tratamentos. Estudos com meloxicam observaram um efeito muito menor na inibição da síntese de prostaglandinas na mucosa do estômago de ratos após o uso da droga, do que no exsudato inflamatório e, adicionalmente, se verificou um aumento suave na secreção de suco gástrico e na acidez gástrica, demonstrando ser o fármaco apenas um fraco inibidor da biossíntese de PGE<sub>2</sub> na mucosa gástrica, o que pode explicar a boa tolerância do animal a droga (ENGELHARDT et al., 1995; ENGELHARDT et al.1996). Da Silva et al. (2006) avaliaram por endoscopia, a ocorrência de lesões gastroduodenais em animais tratados com meloxicam (0,05 e 0,1 mg/kg, *p.o.*), por 7 dias, não observando diferença significativa entre os grupos e entre estes e o controle.

O firocoxibe foi um dos fármacos com menor IU tanto no 3º como no 7º dia, sendo um dos agentes mais seguros. Ryan et al. (2006) avaliaram a efetividade e a segurança do firocoxibe em 864 cães, durante 40 dias, não sendo constatados efeitos adversos graves em apenas uma baixa porcentagem de cães (2,9%) que apresentaram transtornos gastrointestinais. Hanson et al. (2006) num estudo com 249 cães com osteoartrite tratados com a droga, por 30 dias e Steagall et al. (2007), com 6 cães hígdidos (5 mg/kg) por 28 dias, não observaram efeitos gástricos significativos com o uso do fármaco.

A diferença entre a dose necessária para achar os efeitos desejados e a dose ulcerogênica é uma importante chave terapêutica, pois o aparecimento de efeito ulcerogênico gástrico é a dose limite para o desenvolvimento de reações adversas, uma vez que este é o primeiro sinal que ocorre (ENGELHARDT et al., 1995; TEGEDER, et al., 2000). Entretanto, os achados de diferentes métodos de investigação para este tipo de atividade são conflituosos e difíceis de serem comparados, uma vez que diferenças no método podem afetar grandemente os resultados. Além da espécie, a escala de ulceração depende ainda do peso do animal, da idade, do sexo, da alimentação, do estresse, da dose e da frequência de administração, entre outros fatores individuais (ENGELHARDT et al., 1995).

Na análise conjunta do potencial analgésico, antipirético e anti-edematogênico e considerando as ID<sub>50</sub>, o MX foi a droga mais potente para atividade analgésica, porém possui fraca atividade anti-edematogênica e fraca atividade antipirética. O CT foi o mais potente para atividade anti-edematogênica, tendo na dose semelhante, a mesma ação para atividade antinociceptiva e antipirética (inibição de 50%). O FC foi o melhor fármaco para a atividade

antipirética, tendo também boa atividade antinociceptiva, porém fraca atividade anti-edematogênica. O FM e o CP tiveram boa atividade analgésica, sendo o FM mais potente, semelhante a atividade antipirética e mediana atividade anti-edematogênica.

Na análise do potencial analgésico juntamente com potencial ulcerogênico, temos o meloxicam, o firocoxibe e o flunixin meglumine como os fármacos mais eficientes, pois ambos, com doses menores, promoveram inibição de 50% das contorções abdominais, sendo também os fármacos mais seguros considerando que não geraram alterações significativas na mucosa gástrica após três e sete dias de tratamentos.

O mesmo se aplica ao firocoxibe, visto que este fármaco pertence a classe dos coxibes, que engloba anti-inflamatórios com excelente atividade em modelos de nocicepção, inflamação e pirexia e boa tolerabilidade gastrointestinal (CHAN et al., 1999; RYAN et al., 2006; HANSON et al., 2006; STEAGALL et al., 2007).

Já o flunixin meglumine, apesar de ser uma droga não seletiva, demonstrou potente atividade analgésica numa dose inferior a dose terapêutica. Isso pode explicar a baixa incidência de efeitos colaterais.

O cetoprofeno e o carprofeno foram fármacos que necessitaram de maiores doses para gerar a atividade antinociceptiva e produziram elevado grau de alterações/lesões da mucosa gástrica no terceiro dia de experimento, apesar de no sétimo dia de avaliação este índice apresentar-se diminuído.

## **7 CONCLUSÃO**

Nossos resultados revelam que a atividade analgésica da quase totalidade desses fármacos independe da atividade anti-edematogênica e antipirética, tendo o CT revelado ID50 semelhantes em todos os testes farmacológicos, demonstrando boa atividade anti-inflamatória, com a inibição da dor, da febre e do edema. O flunixin meglumine e firocoxibe tiveram boa ação analgésica e antipirética, mas fraca ação antiedematogênica. O meloxicam foi a droga mais potente para atividade antinociceptiva, porém teve fraca ação antipirética e anti-edematogênica. Já o carprofeno teve boa atividade analgésica e antipirética e mediana atividade anti-edematogênica.

A atividade ulcerogênica gástrica evidenciada teve relação inversa com a atividade analgésica desses fármacos, sendo que neste modelo experimental e com ID50 do teste das contorções abdominais, o meloxicam, o firocoxibe e o flunixin meglumine apresentaram maior potência antinociceptiva e segurança, comparativamente ao cetoprofeno e o carprofeno.

Dessa forma, nos últimos anos, muito se tem investigado sobre drogas anti-inflamatórias, com a obtenção de informações, as quais muitas divergentes, que envolvem as atividades preferenciais desses fármacos, e que são de fundamental importância para auxiliar o clínico veterinário na escolha do AINE mais adequado. Esse estudo demonstra que não existe um fármaco melhor que o outro, uma vez que todos eles apresentam vantagens e desvantagens, cuja escolha irá depender, portanto, de inúmeros fatores individuais, da situação encontrada e do efeito clínico desejado.

## 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADEREM, A. & ULEVICH, R.J. Toll-like receptors in the induction of innate immune response. **Nature**, v.406, p.702-787, 2000.

AGRAWAL, N.M., CAMPBELL, D.R., SAFDI, M.A., LURASIK, N.L., HUANG, B., HABER, M.M. Superiority of lansoprazol versus ranitidine in healing nonsteroidal anti-inflammatory drug-associated gastric ulcers. **ARC II Intern Med**, v.160, p.1455-1460, 2000

ALBRETSSEN, J.C. Oral medications. **Vet Clin Small Anim**, v.32, p.421-442, 2002.

ALENCAR, M.M.A., PINTO, M.T., OLIVEIRA, D.M., PESSOA, A.W. de P., CANDIDO, I.A., VIRGÍNIO, C.G., COELHO, H. de S.M., ROCHA, M.F.G. Margem de segurança do meloxicam em cães: efeitos deletérios nas células sanguíneas e trato gastrointestinal. **Ciência Rural**, v.33, n.3, p.525-532, 2003.

ANDRADE, S.F. **Manual de terapêutica Veterinária**. 2a ed. São Paulo: Roca, 2002. p. 99-113.

BALLOU, L.R., BOTTING, R.M., GOORHA, S., ZHANG J., VANE, J.R. **Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.**, v.97, n.18, p.10272-10276, 2000.

BASBAUM, A. I. & JULIUS, D. Novos alvos contra a dor. **Scientific American Brasil**, v.50, p.76-83, 2006.

BERKENKOPT, J.W. & WEICHMAN, B.M. Production of prostacyclin in mice following intraperitoneal injection of acetic acid, phenybenzoquinone and zymosan: Its role in the writhing response. **Prostaglandins**, v.36, p.693-709, 1988.

BERTOLINI A, OTTANI A., SANDRINI, M. Selective COX-2 inhibitors and dual acting anti-inflammatory drugs: critical remarks. **Curr Med Chem**, v. 9, n. 10, p. 1033-1043, 2002.

Biblioteca on-line Wikipédia. Disponível em: [www.wikipedia.org](http://www.wikipedia.org) Acessado em junho/2009.

BRAGGIO, M.M., LIMA, M.E.L., VEASEY, E.A, HARAGUCHI, M. Atividades farmacológicas das folhas da *Sesbania virgata* (Cav.) PERS. **Arq Inst Biol SP**, v.69, p.49-53, 2002.

BRICKS, L.F. & SILVA, C.A.A. Toxicidade dos antiinflamatórios não-hormonais. **Pediatria**, v.27, n.3, p.181-193, 2005.

BROOKS P, EMERY E, EVANS F. Interpreting the clinical significance of the differential inhibition of cyclooxygenase I and cyclooxygenase II. **Rheumatology**, v.38, p. 779-788, 1999.

BRZOZOWSKI, T., KOUTUREK, P.C., KONTUREK, S.J., BRZOZOWSKA, I., PAWLI, T. Role of prostaglandins in gastroprotection and gastric adaptation. **Journal of Physiology and Pharmacology**, v.56, p.33-55, 2005.

BUDSBERG, S.C.; CROSS, A.R.; QUANDT, J.E., PABLO, L.S., RUNK, A.R. Evaluation of intravenous administration of meloxicam for perioperative pain management following stifle joint surgery in dogs. **Am J Vet Res**, v.63, n.11, p.1557-1563, 2002.

BUTTGEREIT F, BURMESTER G.R., SIMON L.S. - Gastrointestinal toxic side effects of nonsteroidal antiinflammatory drugs and cyclooxygenase II specific inhibitors. **Am J Med**, v. 110, p. 13-19, 2001.

CAO, C., MATSUMURA, K., WATANABE, Y. Induction by lipopolysaccharide of COX-2 mRNA in the brain: its possible role in the febrile response. **Brain Res.**, v. 697, p. 187-96, 1995.

CARRICK, J.B., PAPICH, M.G., MIDDLETON, D.M., NAYLOR, J.M., TOWNSEND, H.G.G. Clinical and pathological effects of flunixin meglumine administration to neonatal foals. **Can J Vet Res**, v.53, p.195-201, 1989.

CAVALCANTE, L.F.H., MARQUES, J.M.V., GOUVÊA, A.S., CONTESINI, E.A. Intoxicação por carprofeno em cães – Artigo de Revisão. **Revista da FZVA**, v.15, n.1, p.160-171, 2008.

CHAI, Z.; GATTI, S.; TONIATTI, C.; POLI, V.; BARTFAI, T. Interleukin (IL)-6 gene expression in the central nervous system is necessary for fever response to lipopolysaccharide or IL-1 $\beta$ : a study on IL-6 deficient mice. **J Exp Med**, v.183, p.311-316, 1996.

CHAN, C.C., BOYCE, S., BRIDEAU, C., CHARLESON, S., CROMLISH, W., ETHIER, D., EVANS, J., FORD-HUTCHINSON, A.W., FORREST, M.J., GAUTHIER, Y., GORDON, R., GRESSER, M., GUAY, J., KARGMAN, S., KENNEDY, B., LEBLANC, Y., LEGER, S., MANCICI, J., O'NEILL, G.P., OUELLET, M., PATRICK, D., PERCIVAL, M.D., PERRIER, H., PRASIT, P., RODGER, I., TAGARI, P., THERIEN, M., VICKERS, P., VISCO, D., WANG, Z., WEBB, J., WONG, E., XU, L.J., YOUNG, R.N., ZAMBONI, R., RIENDEAU, D. **J Pharmacol Exp Ther**, v.290, n.2, p.551-560, 1999.

CHAN, F.K & GRAHAM, D.Y. Review article: prevention of non steroidal antiinflammatory drug gastrointestinal complications – review and recommendations based on risk assessment. **Alim Pharmacol Ther**, v. 19, p. 1051-1061, 2004.

CLARK, D.W, LAYTON, D., SHAKIR, S.A. Do some inhibitors of COX II increase the risk of thromboembolic events? Linking pharmacology with pharmacoepidemiology. **Drug Saf**, v,27, p. 426-456, 2004.

CLARK, T.P. The clinical pharmacology of cyclooxygenase-2-selective and dual inhibitors. **Vet Clin Small Anim.**, v.36, p.1061-1085, 2006.

COTRAN, R. S, KUMAR, V., COLLINS, T. **Patologia Estrutural e Funcional**. 6<sup>a</sup> ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 2000.

CRUZ, M. L., LUNA, S. P. L., SAMPAIO, R. L., LAUFER, R. Avaliação de efeitos gastrointestinais do flunixin meglumine em cães. **Hora Vet**, v. 18, p.33-38, 1998.

CUNHA, F.Q., LORENZETTI, B.B., POOLE, S., FERREIRA, S.H. Interleukin-8 as a mediator of sympathetic pain. **Br J Pharmacol**, v.104, n.3, p.765-767, 1991.

CUNHA, F.Q., POOLE, S., LORENZETTI, B.B., FERREIRA, S.H. The pivotal role of tumour necrosis factor alpha in the development of inflammatory hyperalgesia. **Br J Pharmacol**, v.107, n.3, p.660-664, 1992.

CUNHA, T.M., VERRI JR, W.A., VIVANCOS, G.G., MOREIRA, I.F., REIS, S., PARADA C.A., CUNHA, F.Q., FERREIRA, S.H. An electronic pressure-meter nociception paw test for mice. **Braz J Med Biol Res**, v.37, n.3, p.401-407, 2004.

DA SILVA, J.G., SOUZA, H.J.M., TROUILLET, A.V.P., FIRME, M.P.P., GARCIA, A.P.M.G., DA SILVA, L.E. Resultados preliminares da avaliação endoscópica após administração oral de meloxicam em gatas: dose única de 0,3mg/kg e 0,05 ou 0,1mg/kg, durante 7 dias. **Rev Univ Rural, Sér Ci Vida**, v.26, p.315-316, 2006.

DANEK, J. Effects of flunixin meglumine on selected clinicopathologic variables and serum testosterone concentration in stallion after endotoxin administration. **J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med**, v.53, n.7, p.357-363, 2006.

DAVIDSON, J., ABUL, H.T., MILTON, A.S., ROTONDO, D. Cytokines and cytokines inducers stimulate prostaglandin E<sub>2</sub> entry into the brain. **Eur J Physiol.**, v.442, p.526-533, 2001.

DE MELO, G.O., MALVAR, D. do C., VANDERLINDE, F.A., PIRES, P.A., CÔRTEZ, W.S., FILHO, P.G., MUZITANO, M.F., KAISER, C.R., COSTA, S.S. Phytochemical and pharmacological study of *Sedum dendroideum* leaf juice. **Journal of Ethnopharmacology**, v.102, p.217-220, 2005.

DINARELO, C.A. Interleukin 1 as mediator of the acute-phase response. **Surv Immunol Res.**, v.3, n.1, p.29-33, 1984

DINARELLO, C.A., CANNON, J.G., WOLFF, S.M. New concepts on the pathogenesis of fever. **Rev Infect Dis**, v. 10, n. 1, p. 168-89, 1988.

DINARELLO, C.A. Interleukin-1, interleukin-1 receptors and interleukin-1 antagonist. **Int Rev Immunol**, v.16, p.457-499, 1998.

DOWERS, K.L.; UHRIG, S.R.; MAMA, K.R.; GAYNOR, J.S.; HELLYER, P.W. Effects of short-term sequential administration of nonsteroidal anti-inflammatory drugs on the stomach and proximal portion of the duodenum in healthy dogs. **Am J Vet Res**, v.67, n.10, p.1794-1801, 2006.

DUBOIS R.N., ABRAMSON S.B., CORFFORD L., GUPTA. RA., SIMON L.S., VAN DE PUTTE L.B., LIPSKY P.E. Cyclooxygenase in biology and disease. **Faseb J**, v.12, p. 1063-1088, 1998.

ECKMANN L, STENSON C, MATSUDA K . Induction of intestinal epithelial cells in the host secretory response to infection by invasive bacteria: bacterial entry induces epithelial prostaglandin H synthase-2 expression and prostaglandin E<sub>2</sub> and F<sub>2α</sub> production. **J Clin Invest**, v. 100, p. 269-309, 1997.

ELWOOD, C., BOSWOOD, A., SIMPSON, K., CARMICHAEL, S. Renal failure after flunixin meglumine administration. **Vet Rec**, v. 27, p. 582-583, 1992.

EMERY P. Cyclooxygenase II: A major therapeutic advance? **Am J Med**, v. 110, p. 42-45, 2001.

ENGELHARDT, G., HOMMA, D., SCHELEGEL, R., UTZMANN, R. & SCHNIZLER, C. Anti-inflammatory, analgesic, antipyretic and related properties of meloxicam, a new non-steroidal and antiinflammatory agent with favourable gastrointestinal tolerance. **Inflammatory Research**, v.44, p.423-433, 1995.

ENGELHARDT, G., BÖGEL, R., SCHNOTZLER, C., UTZMANN, R. Meloxicam: Influence on Arachidonic Acid Metabolism – Part II – *In vivo* findings. **Biochemical Pharmacology**, v.51, p.29-38, 1996.

FERREIRA, S. H. Dor on line. Disponível em: [www.dol.com.br](http://www.dol.com.br). Acessado em junho/2009.

FERREIRA, S.H. & VANE, J.R. New aspects of the mode of action of non-steroid antiinflammatory drugs. **Annu Rev Pharmacol**, v.14, p.57-73, 1974.

FILHO, M.M.M. & RAHAL, S.C. O uso de antiinflamatórios inibidores COX II seletivos na osteoartrite canina. **Vet e Zootec**, v.15, n.3. p.407-415, 2008.

FISCHER, L. G., SANTOS, D., SERAFIN, C., MALHEIROS, A., DELLE MONACHE, F., DELLE MONACHE, G., CECHINEL FILHO, V. SOUZA, M. M. De. Further antinociceptive properties of extracts and phenolic compounds from *Plinia glomerata* (Myrtaceae) Leaves. **Bio Pharm Bull**, v.31, n.2, p. 235-239, 2008.

FORSYTH, S. F., GUILFORD, W.G., HASLETT, S.J., GODFREY, J. Endoscopy of the gastroduodenal mucosa after carprofen, meloxicam and ketoprofen administration in dogs. **J Small Anim Pract**, v.39, p.421-424, 1998.

FRANCO, G.C.N., MORETTI, D., CAVALCANTE, P.F.C., LOPES, L.C. Uma análise crítica sobre viabilidade do uso dos inibidores seletivos de COX II em odontologia. **Rev. de Odontologia da Universidade Cidade de São Paulo**, v. 18, n.1, p.75-81, 2006.

GAITAN, G., AHUIR, J., DEL SOLDATO, P., HERRERO, J. Comparison of the antinociceptive activity of two new NO-releasing derivatives of the NSAID S-ketoprofen in rats. **British Journal of Pharmacology**, v.143, p.533-540, 2004.

GILMAN, A.G.; GOODMAN, L.S.; RALL, T.W.; MURAD, F. **Goodman & Gilman's the pharmacological basis of therapeutics**. 11a ed. Rio de Janeiro: Grow-Hill, 2006.

GOODMAN, L., TORRES, B., PUNKE, J., REYNOLDS, L., SPEAS, A., ELLIS, A., BUDSBERG, S. Effects of firocoxib and tepoxalin on healing in a canine gastric mucosal injury model. **J Vet Intern Med**, v.23, p.56-62, 2009.

HANSON, P.D., KENNETH, C.B., CASE, J., CONZEMIUS, M., GORDON, W., SCHUESSLER, J., SHELLEY, B., SIFFERMAN, R., DRAG, M., ALVA, R., BELL, L., ROMANO, D., FLEISHMAN, C. Efficacy and safety of firocoxib in the management of canine osteoarthritis under field conditions. **Vet Ther**, v.7, n.2, p.127-140, 2006.

HAZEWINKEL, H.A.W., VAN DEN BROM, W.E., THEYSE, L.F.H., POLLMEIER, M., HANSON, P.D. Comparison of the effects of firocoxib, carprofen and vedaprofen in a sodium urate crystal induced synovitis modelo of arthritis in dogs. **Research in Veterinary Science**, v.84, p.74-79, 2008.

HILÁRIO, M.O.E., TERRERI, M.T., LEN, C.A. Antiinflamatórios não-hormonais: inibidores da ciclooxigenase 2. **J Pediatr**, v.82, n.5, 2006.

HÜBSCHLE, T., MÜTZE, J., MÜHLRADT, P.F., KORTE, S., GERSTBERGER, R., ROTH, J. Pyrexia, anorexia, adipsia, and depressed motor activity in rats during systemic inflammation induced by the Toll-like receptors-2 and -6 agonists MALP-2 and FSL-1. **Am J Physiol**, v.290, p.180-187, 2006.

INOUE, K.; FUJISAWA, H.; MOTONAGA, A.; INOUE, Y.; KYOI, T.; UEDA, F.; KIMURA, K. Anti-inflammatory effects of etodolac: comparison with other non-steroidal anti-inflammatory drugs. **Biol Pharm Bull**, v.17, n.12, p.1577-1583, 1994.

ISHII, K., MOTOYOSHI, S., KAWATA, J., NAKAGAWA, H., TAKEYAMA, K. A useful method for differential evaluation of anti-inflammatory effects due to cyclooxygenase and 5-lipoxygenase inhibitors in mice. **Jpn J Pharmacol**, v.65, p.297-303, 1994.

JACKMAN, B.R., MOORE, J.N., BARTON, M.H., MORRIS, D.D. Comparison of the effects of ketoprofen and flunixin meglumine on the in vitro response of equine peripheral blood monocytes to bacterial endotoxin. **Can J Vet Res**, v.58, p.138-143, 1994.

KANASHIRO, A., MACHADO, R.R., MALVAR, D. do C., AGUIAR, F.A., SOUZA, G.E.P. Quercetin does not alter lipopolysaccharide-induced fever in rats. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**. v. 60, p.357-362, 2008.

KATZUNG, B.G. **Farmacologia básica e clínica**. 9a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006.

KING, J.N., DAWSON, J., ESSER, R.E., FUJIMOTO, R., KIMBLE, E.F., MANIARA, W., MARSHALL, P.J., O'BYRNE, L., QUADROS, E., TOUTAIN, P.L., LEE, P. Preclinical pharmacology of rofecoxib: a novel selective inhibitor of cyclooxygenase-2. **J Vet Pharmacol Therap**, v.32, p.1-17, 2009.

KOSTER, R., ANDERSON, M. and DE BEER, E.J. – Acetic acid for analgesic screening. **Fed Proc**, v. 18, p. 412, 1959.

KUMMER, C.L. & COELHO, T.C.R.B. Antiinflamatórios não esteróides inibidores da ciclooxigenase II (COX II): aspectos atuais. **Rev Bras Anestesiol**, v. 5, n. 4, 2002.

KVATERNICK, V., POLLMEIER, M., FISCHER, J., HANSON, P.D. Pharmacokinetics and metabolism of orally administered firocoxib, a novel second generation coxib, in horses. **J Vet Pharmacol Therap**, v.30, p.208-217, 2007.

LAPORTE, J.R., IBÁÑEZ, L., VIDAL, X., VENDRELL, L., LEONE, R. Upper gastrointestinal bleeding associated with the use of NSAIDS: newer versus older agents. **Drug Saf**, v. 27, p. 411-420, 2004.

LASCELLES, B. D. X., CRIPPS, P., MIRCHANDANI, S., WATERMAN, A. Carprofen as an analgesic for postoperative pain in cats: dose titration and assessment of efficacy in comparison to pethidine hydrochloride. **J Small Anim Pract**, v.12, p. 535-41, 1995.

LAUDANNO, O.M., CESOLARI, J.A., ESNARRIAGA, J., SAN MIGUEL, P., BERDINI, O.A. In vivo selectivity of nonsteroidal anti-inflammatory drugs and gastrointestinal ulcers in rats. **Digestive Diseases and Sciences**, v.45, n.7, p.1359-1365, 2000.

LEACH, M.C., ALLWEILER, S., RICHARDSON, C., ROUGHAN, J.V., NARBE, R., FLECKNELL, P.A. Behavioural effects of ovariohysterectomy and oral administration of meloxicam in laboratory housed rabbits. **Res Vet Sci.**, 2009.

LEE, P., GIRAUDEL, J., LANDONI, M.F., TOUTAIN, P.L. PK-PD integration and PK-PD modeling of nonsteroidal anti-inflammatory drugs in veterinary species. **J. Vet Pharmacol. Therap.**, v.27, p.491-502, 2004.

LEES, P., LANDONI, M.F., GIRAUDEL, J., TOUTAIN, P.L. Pharmacodynamics and pharmacokinetics of nonsteroidal anti-inflammatory drugs in species of veterinary interest. **J Vet Pharmacol Therap**, v.27, p.479-490, 2004.

LINDENMUTH, J.E., CLARK, M.S., FRYER, G.E. An evaluation of the analgesic efficacy and safety of carprofen. **Anesth Prog**, v.36, p.201-209, 1989.

LIPSKY, P.E. Unresolved issues in the role of cyclooxygenase II in normal physiologic processes and diseases. **Arch Intern Med**, v.160, p.913-920, 2000.

LORENZETTI, B.B., VEIGA, F.H., CANETTI, C.A., POOLE, S., CUNHA, F.Q., FERREIRA, S.H. Cytokine-induced neutrophil chemoattractant 1 (CINC-1) mediates the sympathetic component of inflammatory mechanical hypersensitivity in rats. **Eur Cytokine Netw**, v. 13, n.4, p. 456-461, 2002.

LU, W.L., ZHANG, Q., ZHENG, L., WANG, H, YU-LI, R., FENG-ZHANG, L., BIN-SHEN, W., DE-TU, X. Antipyretic, analgesic and anti-inflammatory activities of ketoprofen

$\beta$ -Cyclodextrin inclusion complexes in animals. **Biol Pharm Bull**, v.27, n.10, p.1515-1520, 2004.

LUNA, S.P., BASILIO, A.C., STEAGALL, P.V., MACHADO, L.P., MOUTINHO, F.Q., TAKAHIRA, R.K., BRANDAO, C.V. Evaluation of adverse effects of long-term oral administration of carprofen, etodolac, flunixin meglumine, ketoprofen, and meloxicam in dogs. **Am J Vet Res.**, v. 68, n.3, p.258-264, 2007.

MA, L., ELLIOT, S.N., CIRINO, G., BURET, A., IGNARRO, L.J., WALLACE, J.L. Platelets modulate gastric ulcer healing: Role of endostatin and vascular endothelial growth factor release. **PNAS**, v.98, n.11, p.6470-6475, 2001.

MA, L., DEL SOLDATO, P., WALLACE, J.L. Divergent effects of new cyclooxygenase inhibitors on gastric ulcer healing: Shifting the angiogenic balance. **PNAS**, v.99, n.20, p.13243-13247, 2002.

MACALLISTER, C.G., MORGAN, S.J., BORNE, A.T., POLLET, R.A. Comparison of adverse effects of phenylbutazone, flunixin meglumine and ketoprofen in horses. **J Am Vet Med Assoc**, v.202, n.1, p.71-77, 1993.

MACKOWIAK, P.A. Brief history of antipyretic therapy. **Clin Infect Dis**. v.31 (Suppl 5), p.154-156, 2000.

MALVAR, D. do C. Estudo do envolvimento da PGE<sub>2</sub> na resposta febril induzida pelo LPS, endotelina 1 e veneno de *Tityus serrulatus*. Tese de doutorado apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo. 2008.

MARINHO Jr. A, MEDEIROS MA, REIS L, INADA T, CERONI A, COSTA EA. Influência da acupuntura sobre a motilidade intestinal e a incidência de ulcerações gástricas em camundongos. **Revista de Ciências Biológicas e da Saúde**, v.3, p.68-72, 2002.

MARNETT, L.J. The COXIB experience: A look in the rear-view mirror. **Annu Rev Pharmacol Toxicol**, v.49, p.265-290, 2009.

MATHEWS, K.A., DOHERTY, T., DYSON, D.H., WILCOCK, B., VALLIANT, A. Nephrotoxicity in dogs associated with methoxyflurane anesthesia and flunixin meglumine analgesia. **Can Vet J**, v. 31, p.766-771, 1990.

MATHEWS, K.A.; PETTIFER, G.; FOSTER, R.; McDONELL, W. Safety and efficacy of preoperative administration of meloxicam, compared with that of ketoprofen and butorphanols in dogs undergoing abdominal surgery. **Am J Vet Res**, v.62, n.6, p.882-888, 2001.

McCANN, M.E., RICKES, E.L., HORA, D.F., CUNNINGHAM, P.K., ZHANG, D., BRIDEAU, C., BLACK, W.C., HICKEY, G.J. In vitro effects and in vivo efficacy of a novel cyclooxygenase-2 inhibitor in cats with lipopolysaccharide-induced pyrexia. **Am J Vet Res**, v.66, n.7, p.1278-1284, 2005.

McNEIL, P. E. Acute tubulo-interstitial nephritis in a dog after halothane anaesthesia and administration of flunixin meglumine and trimethoprim-sulphadiazine. **Vet Rec**, v. 15, p. 148-51, 1992.

MILTON, A.S. Prostaglandin and fever. **Prog Brain Res**, v.115, p.129-139, 1998.

MIRANDA, H.F., PUIG, M.M., PRIETO, J.C., PINARDI, G. Synergim between paracetamol and nonsteroidal anti-inflammatory drugs in experimental acute pain. **Pain**, v.121, p.22-28, 2006.

MIRANDA, H.F., PRIETO, J.C., PUIG, M.M., PINARDI, G. Isobolographic analysis of multimodal analgesia in an animal model of visceral acute pain. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, v.88, p.481-486, 2008.

MIZUNO, H., SAKAMOTO, C., MATSUDA, K., WADA, K., UCHIDA, T., NOGUCHI, H., ARAMATSU, T., KASUGA, M. Induction of cyclooxygenase 2 in gastric mucosal lesions and its inhibition by the specific antagonist delays healing in mice. **Gastroenterology**, v.112, n.2, p.387-397, 1997.

MORRISON, S.F., NAKAMURA, K., MADDEN, C.J. Central control of thermogenesis in mammals. **Exp Physiol**, v. 93, n. 7, p. 773-797, 2008.

NA, M., YIYUN, C., TONGWEN, X., YANG, D., XIAOMIN, W., ZHENWEI, L., ZHICHAO, C., GUANYI, H., YUNYU, S., LONGPING, W. Dendrimers as potential drug carriers. Part II. Prolonged delivery of ketoprofn by in vitro and in vivo studies. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v.41, p.670-674, 2006.

NARITA, T., TOMIZAWA, N., SATO, R., GORYO, M., HARA, S. Effects of long-term oral administration of ketoprofen in clinically healthy beagle dogs. **J Vet Med Sci**, v.67, n.9, p.847-853, 2005.

OFMAN, J.J., MACLEAN, C.H., STRAUS, W.L., MORTON, S.C., BERGER, M.L., ROTH, E.A., SHEKELLE, P. A metaanalysis of severe upper gastrointestinal complications of non steroidal antiinflamatory drugs. **J Rheumatol**, v.19, p. 804-812, 2002.

OKA, T., OKA, K., KOBAYASHI, T., SUGIMOTO, Y., ICHIKAWA, A., USHIKUBI, F., NARUMIYA, S., SAPER, C.B. Characteristic of thermoregulatory and febrile responses in mice deficient in prostaglandin EP1 e EP3 receptors. **J Physiol**, v.551, p.945-954, 2003.

PAPICH, M.G. An update on nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) in Small Animals. **Vet Clin Small Anim**, v.38, p.1243-1266, 2008

PARVEEN, Z., YULIN, D., SAEED, M. K., DAI, R., AHAMAD, W., YU, Y. H. Antiinflamtoy and analgesic activities of *Thesium chinese* Turcz Extracts and its major flavonoids, kaempferol and kaempferol-3-O-glucoside. **Yakugaku Zasshi**, v. 127, n. 8, p.1275-1279, 2007.

PERAZELLA MA, TRAY K - Selective cyclooxygenase II inhibitors: A pattern of nephrotoxicity similar to traditional nosteroidal anti-inflammatory drugs. **Am J Med**, v.111, p.64-67, 2001.

POLLMEIER,M., TOULEMONDE, C., FLEISHMAN, C., HANSON, P.D. Clinical evaluation of firocoxib and carprofen for the treatment of dogs with osteoarthritis. **The Veterinary Records**, v.159, p.547-551, 2006.

PORTER, D. G. – Ethical scores for animal experiments. **Nature**, v. 356, n. 6365, p.101-102, 1992.

RANG, H.P., DALE, M.M., RITTER, J.M., FLOWER, R. **Farmacologia**. 6a ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2007.

RIVEST, S. Molecular insights into the cerebral innate immune system. **Brain Behav Immun**, v.406, p.782-787, 2003.

ROTH, J. & DE SOUZA, G.E.P. Fever induction pathways: evidence from responses to systemic or local cytokine formation. **Braz J Med Biol Res**, v. 34, p. 301-314, 2001.

ROTH, J., RUMMEL, C., BARTH, S.W., GERSTBERGER, R., HÜBSCHLE, T. Molecular aspects of fever and hyperthermia. **Immunol Allergy Clin N Am**, v.29, p.229-245, 2009.

RYAN, W.G., MOLDAVE, K., CARITHERS, D. Clinical effectiveness and safety of a new NSAID, firocoxib: a 1000 dog study. **Vet Therap**, v. 7, n.2, p.119-140, 2006.

SANTOS,A.R.S., VEDANA, E.M.A. & FREITAS, G.A.G. Antinociceptive effects of meloxicam, in neurogenic and inflammatory nociceptive models in mice. **Inflamm Res**, v.47, p.302-307, 1998.

SCAMMELL, T.E., ELMQUIST, J.K., GRIFFIN, J.D., SAPER, C.B. Ventromedial preoptic prostaglandin E2 activates fever-producing autonomic pathways. **J Comp Neurol**, v.371, p.85-103, 1996.

SCHNITZER T.J. Cyclooxygenase II specific inhibitors - Are they safe? **Am J Med**, v.110, p.46-49, 2001.

SCHOSSLER, D.R., ALIEVI, M.M., EMANUELLI, M.P., SCHOSSLER, J.E. Função renal de cães tratados com doses terapêuticas de flunixin meglumine e ketoprofen durante o trans e pós-operatório. **Acta Cirurgica Brasileira**, v.16, n.1, p.46-51, 2001

SEHIC, E., SZÉKELY, M., UNGAR, A.L., OLADEHIN, A., BLATTEIS, C.M. Hypothalamic prostaglandin E2 during lipopolysaccharide-induced fever in guinea pigs. **Brain Res Bull**. v. 39, n. 6, p. 391-399, 1996.

SHIN, J.W., HWANG, K.S., KIM, Y.K., LEEM, J.G., LEE, C. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs suppress pain-related behaviors, but not referred hiperalgesia of visceral pain in mice. **Anesth Analg**, v.102, p.195-200, 2006.

SOKAL, R.R. & ROHLF, F.J. – **Biometry: The principles and Practice of Statistics**. New York: W. H. Freeman, 1981. p. 859.

SOUZA, G.E.P. de, CARDOSO, R.A., MELO, M.C.C., FABRICIO, A.S.C., SILVA, V.M.S., LORA, M., BRUM-FERNANDES, A.J. de, RAE, G.A., FERREIRA, S.H., ZAMPRONIO, A.R. A comparative study of the antipyretic effects of indomethacin and dipyron in rats. **Inflamm Res**, v.51, p.24-32, 2002.

SPINOSA, H.S., GÓRNIK, S.L., BERNARDI, M.M. **Farmacologia aplicada a Medicina Veterinária**. 4a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. p. 239-272.

STEAGALL, P.V., MANTOVANI, F.B., FERREIRA, T.H., SALCEDO, E.S., MOUTINHO, F.Q., LUNA, S.P. Evaluation of the adverse effects of oral firocoxib in healthy dogs. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, v.30, n.3, p.218-223, 2007.

STEAGALL, P.V.M., MOUTINHO, F.Q., MANTOVANI, F.B., PASSARELLI, D., THOMASSIAN, A. Evaluation of the adverse effects of subcutaneous carprofen over six days in healthy cats. **Research in Veterinary Science**, v.86, p.115-120, 2009.

STONE, E. An account of the success of the bark of the willow in the cure of agues. **Philos Trans R Soc Lond**, v. 53, p. 195-200, 1763.

STRUB, K. M., AEPPLI, L., MULLER, R. K. Pharmacological properties of carprofen. **Eur J Rheumatol Inflamm**, v. 5, p. 478-87, 1982.

TAKAHASHI, M., OTA, S., HATA, Y., MIKAMI, Y., AZUMA, N., NAKAMURA, T., TERANO, A., OMATA, M. Hepatocyte Growth Factor as a key to modulate anti-ulcer action of prostaglandins in stomach. **J Clin Invest**, v.98, n.11, p.2604-2611, 1996.

TAYLOR, P.M., WINNARD, J.G., JEFFERIES, R., LEES, P. Flunixin in the cat: a pharmacodynamic, pharmacokinetic and toxicological study. **Br Vet J**, v.150, n.3, p.253-262, 1994.

TEGEDER, I., NEUPERT, W., GÜHRING, H., GEISLINGER, G. Effects of selective and unselective cyclooxygenase inhibitors on prostanoid release from various rat organs. **JPET**, v.292, p.1161-1168, 2000.

TUBARO, A., DRI, P., MELATO, M., MULAS, G., BIANCHI, P., DEL NEGRO, P., DELLA LOGGIA, R. In the croton oil ear test the effects of non steroidal anti-inflammatory drug (NSAIDs) are dependent on the dose of the irritant. **Agents Actions**, v.19, p.371-373, 1986.

USHIKUBI, F., SEGI, E., SUGIMOTO, Y., MURATA, T., MATSUOKA, T., KOBAYASHI, T., HIZAKI, H., TUBOI, K., KATSUYAMA, M., ICHIKAWA, A., TANAKA, T., YOSHIDA, N., NARUMIYA, S. Impaired febrile response in mice lacking the prostaglandin E receptor subtype EP3. **Nature**, v. 395, n. 6699, p. 281-284, 1998.

VACHER, P. J., DUCHÉNE-MARULLAZ, P. and BARBOT, P. – A propos de quelques produits usuels – comparaison de deux méthodes d'étude des analgésiques. **Med Exp Int J Exp Med**, v.11, p. 51-58, 1964.

VANE, J.R. Inhibition of prostaglandin synthesis as a mechanism of action for aspirin-like drugs. **Nature New Biol**, v. 231, p. 232-235, 1971.

VANE, J.R., FLOWER, R.J., BOTTING, R.M. History of aspirin and its mechanism of action. **Stroke**, v. 21 (12 Suppl), p. IV12-23, 1990.

VANE, J. R., BAKHLE, Y.S., BOTTING, R.M. Cyclooxygenase 1 and 2. **Annu Rev Pharmacol Toxicol**, v. 38, p.97-120, 1998.

VERRI JR, W.A., CUNHA, T.M., PARADA, C.A., POOLE, F.Q.C., FERREIRA, S.H. Hypernociceptive role of cytokines and chemokines: Targets for analgesic drug development? **Pharmacology & Therapeutics**, v.112, p.116-138, 2006.

VIANA, F.B. **Guia Terapêutico Veterinário**. 2a ed. Minas Gerais: Editora CEM, 2007. 464p.

WARNER, T.D., GIULIANO, F., VOJNOVIC, I., BUKASA, A. MITCHEL, J.A., VANE, J.R. Nonsteroid drug selectivities for cyclooxygenase I rather than cyclooxygenase II are associated with human gastrointestinal toxicity: a full in vitro analysis. **Proc Natl Acad Sci**, v. 96, p.7563-7568, 1999.

YADAV, M.R., NIMEKAR, D.M., ANANTHAKRISHNAN, A., BRAHMKSHATRIYA, P.S., SHIRUDE, S.T., GIRIDHAR, R., PARMAR, A., BALARAMAN, R. Synthesis of new chemical entities from paracetamol and NSAIDs with improved pharmacodynamic profile. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v.14, p.8701-8706, 2006.

YAKSH T.L., DIRIG D.M., CONWAY C.M. The acute antihyperalgesic action of nonsteroidal, anti-inflammatory drugs and release of spinal prostaglandin E<sub>2</sub> is mediated by the inhibition of constitutive spinal cyclooxygenase II (COX II) but not COX I, **J Neurosci**, v. 21, p.5847-5853, 2001.

YEDGAR, S., KRIMSKY, M., COHEN, Y., FLOWER, R. Treatment of inflammatory diseases by a selective eicosanoid inhibitor: a double-edged sword? **Pharmacological Sciences**, v.28, n.9, p.459-464, 2007.

ZANINI JUNIOR, J.C., MEDEIROS, Y.S., CRUZ, A.B., YUNES, R.A., CALIXTO, J.B. Actions of compounds from *Mandevilla velutina* on croton oil-induced ear edema in mice. A comparative study with steroidal and nonsteroidal antiinflammatory drugs. **Phytother Res.**, v. 6, p. 1-5, 1992.

ZAKARIA, Z. A., ABDUL GHAN, D. F., RADEN MOHD, R. N. S., GOPALAN, H. K., SULAIMAN, M. R., ABDULLAH, F. C. Antinociceptive and antiinflammatory activities of *Dicranopteris linearis* Leaves chloroform extract in experimental animals. **Yakugaku Zasshi**, v. 126, n. 11, p.1197-1203, 2006.

ZAKARIA, Z.A., SULAIMAN, M. R., GOPALAN, H. K., ABDUL GHANI, Z. D. F., RADEN MOHD, R. N. S., MAT JAIS, A. M., ABDULLAH, F.C. Antinociceptive and antiinflammatory. Properties of *Corchorus capsularis* leaves chloroform extract in experimental animals models. **Yakugaku Zasshi**, v. 127, n. 2, p.359-365, 2007.

ZEISBERGER, E. From humoral fever to neuroimmunological control of fever. **J Therm Biol**, v. 24, p.287-326, 1999.

ZHANG, B., LI, B.J.B., ZHANG, D.M., DING,Y., DU, G.H. Analgesic and anti-inflammatory activities of a fraction rich in Gaultherin isolated from *Gaultheria yunnanensis* (Franch.) Rehder. **Biol Pharm Bull**, v.30, n.3, p.465-469, 2007.

ZIMMERMANN, M. – Ethical guidelines for investigations of experimental pain in conscious animals. **Pain**, v. 16, n. 2, p. 109-110, 1983.

ZIMMERMANN, M. – Ethical considerations in relation to pain in animal experimentation. **Acta Physiol Scand Suppl**, v.554, p. 221-233, 1986.

# Livros Grátis

( <http://www.livrosgratis.com.br> )

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)  
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)  
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)  
[Baixar livros de Matemática](#)  
[Baixar livros de Medicina](#)  
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)  
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)  
[Baixar livros de Meteorologia](#)  
[Baixar Monografias e TCC](#)  
[Baixar livros Multidisciplinar](#)  
[Baixar livros de Música](#)  
[Baixar livros de Psicologia](#)  
[Baixar livros de Química](#)  
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)  
[Baixar livros de Serviço Social](#)  
[Baixar livros de Sociologia](#)  
[Baixar livros de Teologia](#)  
[Baixar livros de Trabalho](#)  
[Baixar livros de Turismo](#)