



ARTÍCULO CIENTÍFICO

El meloxicam subaracnoideo no inhibe la hipernocicepción mecánica en el test de la carragenina en ratones[☆]



Lanucha Fidelis da Luz Moura^{a,*}, Silvana Bellini Vidor^b, Anelise Bonilla Trindade^b, Priscilla Domingues Mörschbacher^b, Nilson Oleskovicz^c y Emerson Antonio Contesini^d

^a Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brasil

^b Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brasil

^c Universidad del Estado de Santa Catarina, Florianópolis, SC, Brasil

^d Facultad de Veterinaria, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brasil

Recibido el 21 de agosto de 2013; aceptado el 28 de octubre de 2013

Disponible en Internet el 13 de enero de 2015

PALABRAS CLAVE

AINE;
Carragenina;
Dolor;
Médula espinal

Resumen

Justificación y objetivo: Evaluar los efectos antinociceptivos del meloxicam subaracnoideo sobre la hipernocicepción mecánica inducida por la carragenina en ratones.

Métodos: Estudio aleatorizado y controlado. Dieciocho ratones Wistar, machos adultos, fueron sometidos a la implantación de una cánula subaracnoidea y aleatoriamente distribuidos en 2 grupos: el grupo I recibió 5 µl de solución salina, mientras que al grupo II se le administró 30 µg de meloxicam, ambos por vía subaracnoidea. La hipernocicepción mecánica fue inducida mediante inyección intraplantar de carragenina y fue calculada con el uso de un analgesímetro digital cada 30 min durante un período de 4 h. Los resultados fueron registrados como el Δ del umbral de retirada (g), calculado restandose el valor de las medidas posteriormente a los tratamientos, del valor basal.

Resultados: Los valores medios del Δ del umbral de retirada fueron menores en el grupo tratado con meloxicam en todos los momentos de evaluación entre 45 y 165 min, sin embargo, no se demostró significación estadística ($p=0,835$) para esa diferencia.

Conclusión: La administración subaracnoidea del meloxicam en la dosis de 30 µg/animal⁻¹ no fue capaz de suprimir la hipernocicepción mecánica en un modelo de dolor inflamatorio inducido por la administración intraplantar de carragenina en ratones. Los datos sugieren que deben investigarse otras dosis antes de descartar el efecto del fármaco.

© 2014 Sociedade Brasileira de Anestesiologia. Publicado por Elsevier Editora Ltda. Todos los derechos reservados.

[☆] Trabajo realizado en el Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), Porto Alegre, RS, Brasil.

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: lanucha.moura@terra.com.br (L.F.L. Moura).

KEYWORDS

NSAIDs;
Carrageenan;
Pain;
Spinal cord

Subarachnoid meloxicam does not inhibit the mechanical hypernociception on carrageenan test in rats**Abstract**

Background and objective: Evaluate the antinociceptive effects of subarachnoid meloxicam on the mechanical hypernociception induced by carrageenan in rats.

Methods: Randomized controlled trial. Eighteen adult male Wistar rats underwent a cannula implantation into the subarachnoid space and were randomly divided into two groups: group I received saline solution 5 μ L, while group II received meloxicam 30 μ g. The mechanical hypernociception was induced by intraplantar injection of carrageenan and evaluated using a digital analgesymeter every 30 min during a 4 h period. The results were recorded as the Δ withdrawal threshold (in g), calculated by subtracting the measurement value after.

Results: The Δ withdrawal threshold mean values were lower in the group of patients treated with meloxicam over all time points between 45 and 165 min, however, there was no statistical significance ($P = .835$) for this difference.

Conclusion: Subarachnoid meloxicam at a dose of 30 μ g \cdot animal⁻¹ did not suppress the mechanical hypernociception in a model of inflammatory pain induced by intraplantar administration of carrageenan in rats. The data suggest that other dosages should be investigated the drug effect is discarded.

© 2014 Sociedade Brasileira de Anestesiologia. Published by Elsevier Editora Ltda. All rights reserved.

Introducción

Las evidencias han demostrado que los antiinflamatorios no esteroideos (AINE) tienen, además de la acción periférica reconocida, un poderoso efecto en los estados de dolor experimental que es independiente de sus efectos antiinflamatorios¹. Adicionalmente a su acción de inhibición de la síntesis de prostaglandinas periféricamente, ha sido mostrada una acción central de los AINE mediante estudios experimentales en los cuales esos fármacos demuestran una mayor potencia por la vía subaracnoidea cuando se compara con la administración sistémica^{2,3}. Varios estudios han evidenciado que ambas formas de la ciclooxigenasa (COX) están constitutivamente expresadas en el cerebro y en la médula espinal de los ratones⁴, siendo COX-2 la isoforma predominante en el cuerno dorsal de la médula espinal⁵. La administración espinal de los fármacos antiinflamatorios ha demostrado suprimir el reflejo de las fibras C, inhibir la sensibilización neuronal en el cuerno dorsal de la médula espinal y atenuar el dolor inflamatorio de larga duración^{2,6-11}.

El meloxicam es un analgésico y antiinflamatorio no esteroideo que pertenece a la clase del ácido enólico, presentando preferencia por la isoenzima COX-2¹². A diferencia de muchos otros AINE, tiene una alta biodisponibilidad oral y una larga vida media, aunque no esté exento de efectos colaterales¹³. Hay pocos estudios que abordan la administración del meloxicam por las vías espinales¹⁴⁻¹⁷ y no calculan sus efectos sobre el dolor inflamatorio agudo. El objetivo de la presente investigación fue calcular el poder antinociceptivo del meloxicam subaracnoideo sobre el dolor agudo inducido por la carragenina en ratones.

Materiales y métodos

El protocolo experimental utilizado fue analizado y aprobado por la Comisión de Ética en el Uso de Animales de la Institución. Los ratones fueron alojados individualmente a una temperatura controlada (21-24 °C) y ciclo luz-oscuridad de 12 h, con agua y alimento ofertados *ad libitum* como mínimo durante 14 días.

Los animales fueron preparados para cirugía bajo anestesia con quetamina y xilazina (100 y 10 mg/kg⁻¹ vía intraperitoneal, respectivamente), y a continuación, sometidos a la implantación de la cánula en el espacio subaracnoideo de acuerdo con una modificación de la técnica previamente descrita en la literatura¹⁸. En resumen, los animales fueron colocados en decúbito ventral, con los miembros anteriores y posteriores fijados en abducción y con la cabeza levemente elevada con relación al resto del cuerpo. Después de desinfectar la piel de la región atlantooccipital, se realizó una incisión vertical de aproximadamente 2 cm de extensión en la línea media de la región, iniciándose en el punto entre las orejas y extendiéndose hasta la cola. El tejido subcutáneo y los músculos *biventer cervicis* y *rectus capitis dorsalis mayor* fueron apartados por disección roma. Con la retracción de la musculatura, la duramadre y la cisterna magna fueron visualizadas, y después de la exposición de la membrana atlantooccipital, se usó una aguja 18 G para perforar su región central, hasta que ocurriese la salida del líquido cefalorraquídeo. Una cánula de polietileno PE-10 (#BB31695-PE/1, *Scientific Commodities*, Lake Havasu City-AZ, EE. UU.) se insertó a través del orificio y se dirigió 8,5 cm caudalmente en el interior del espacio subaracnoideo, hasta llegar a la región del alargamiento lumbar. La medida, el corte y la marcación de las cánulas con pintura de esmalte fueron realizados en el

período previo al experimento, siendo ese material individualmente empaquetado y esterilizado con óxido de etileno. La porción craneal de la cánula se insertó a través de una aguja 18 G, permitiendo su acomodación en el tejido subcutáneo, para poder salir de la piel cerca de la parte superior de la cabeza. Los músculos y la piel fueron suturados y el extremo externo del catéter fue ocluido con la inserción de un pequeño fragmento de aguja dental (30 G \times 21 mm). Finalmente, la porción externa de la cánula se fijó a la piel con una sutura. Durante el período posterior a la implantación de la cánula, los animales fueron mantenidos en unas cajas plásticas individuales bajo las mismas condiciones del período previo. El día siguiente a la colocación de la cánula, los animales fueron evaluados, de modo que los déficits neurológicos se pudiesen comprobar. Los que presentaron alteraciones neurológicas fueron excluidos del estudio.

Dieciocho ratones Wistar, con un peso de 300-450 g, fueron preparados con éxito para el estudio, y un día después de la colocación de la cánula, fueron sometidos al test de evaluación de la hipernocicepción mecánica inducida por la carragenina. Para eso, se usó un analgesímetro digital (*Insight Ltda Equipamentos Científicos*, Ribeirão Preto-SP, Brasil), de acuerdo con la técnica previamente descrita¹⁹, en la cual un transductor de presión equipado con una punta de polipropileno de 7 mm² fue aplicado perpendicularmente a la superficie plantar derecha de los animales, con una presión linealmente creciente. El equipamiento registró la fuerza ejercida, expresada en gramos (g), con una exactitud de 0,1 g. La estimulación del miembro fue repetida hasta que el animal presentase 3 medidas similares (la diferencia entre el valor más alto y el más bajo fuese inferior a 10 g). Así, el comportamiento nociceptivo se cuantificó a través del promedio de 3 valores expresados en gramos, que representa el umbral de retirada de la pata al estímulo mecánico, en cada momento de la evaluación. Fueron considerados como respuesta positiva la retirada del miembro al contacto con la punta o el comportamiento de sacudir y/o lamer el miembro al momento o inmediatamente después de la estimulación (*flinch*). La ambulación fue considerada una respuesta ambigua, por tanto, cuando ocurrió en el momento de la aplicación del test, este se repitió.

Aproximadamente 30 min antes del inicio de las evaluaciones, los ratones fueron transferidos al lugar donde se iban a realizar los test: cajas acrílicas con un suelo de alambres no maleable, en una sala silenciosa, permitiendo su climatización, constatada por el cese del comportamiento de limpieza y la exploración de la región. A lo largo de ese período, fueron realizadas aproximadamente 5 estimulaciones de los miembros de los animales, para permitir su familiarización con el estímulo aplicado. A continuación, fueron establecidos los valores basales de cada animal.

Una vez registrados los valores basales, se cogieron los animales y se procedió a la retirada del fragmento metálico oclusivo del catéter. A continuación, los animales fueron distribuidos aleatoriamente en 2 grupos. Los del grupo I (GI, n=9) fueron sometidos a la administración subaracnoidea de 5 μ L de solución salina, mientras que los animales del grupo II (GII, n=9) recibieron 30 μ g de meloxicam diluidos en una solución salina hasta un volumen final de 5 μ L, por la misma vía. Las soluciones fueron administradas con la ayuda de una micro jeringuilla Hamilton de 10 μ L (701N,

Hamilton Company, Reno-NV, EE: UU.) durante un período de 30 seg. Realizado tal procedimiento, fueron inyectados 10 μ L de solución salina estéril para el lavado del catéter.

Inmediatamente después de la administración de las sustancias en el espacio subaracnoideo, carragenina-lambda (0,1 ml de carragenina 2,5%) se inyectó en la región intraplantar del miembro derecho, siguiendo la técnica descrita previamente en la literatura²⁰. El momento de la inyección de la carragenina fue registrado como tiempo 0 (T₀), y las evaluaciones posteriores fueron realizadas cada 30 min durante las 4 h posteriores a la administración del fármaco, para obtenerse un perfil temporal de acción de la misma. Todas las evaluaciones fueron realizadas por un componente del equipo que no conocía el tratamiento al cual cada animal se sometió. Una vez que los animales fueron testados en los períodos anteriores y posteriores a la administración de los fármacos, los resultados fueron registrados como el Δ del umbral de retirada (g), calculado restandose el valor de las medidas después de los tratamientos, del valor basal, y confrontado esos valores.

Los datos aparecen como media \pm desviación estándar. Los valores del Δ del umbral de retirada fueron comparados con el uso del análisis de variancias con medidas repetidas y 2 factores, siendo el grupo (GI o GII) el factor fijo y el momento (tiempo cada 30 min) el factor de repetición. Para el análisis se presupuso una matriz de correlaciones no estructuradas entre los momentos de evaluación. Los análisis fueron realizados con el software SAS versión 8.0 para Windows y el nivel de significación fue determinado en $p < 0,05$.

Resultados

Con el paso del tiempo se dio un aumento promedio del Δ del umbral de retirada, siendo sus valores estadísticamente mayores en las evaluaciones con 210 y 240 min con relación a las demás ($p < 0,05$). Pudieron ser constatadas diferencias entre otros momentos de evaluación, siempre existiendo un aumento promedio del Δ del umbral de retirada con el transcurrir del experimento, como se muestra en la [tabla 1](#).

Los valores promedio del Δ del umbral de retirada fueron menores en el grupo tratado con meloxicam en todos los momentos de evaluación entre 45 y 165 min, a pesar de no haber sido demostrada significación estadística ($p = 0,835$) para esa diferencia ([fig. 1](#)). Diferencias promedio en el Δ del umbral de retirada se dieron entre los momentos de evaluación dentro de cada grupo ($p < 0,001$).

Durante la evaluación de la antinocicepción, 2 ratones, ambos pertenecientes al GI, tuvieron respuestas clínicamente diferenciadas después de la inducción de la hiperalgesia. Esos animales mostraron la presencia de secreción ocular, un significativo cansancio, con vocalizaciones en reposo y negativa a apoyar el miembro sometido a la aplicación de carragenina, sugiriendo la presencia de dolor intenso. La evaluación antinociceptiva de esos ratones tuvo un grado de dificultad elevado con relación a los demás, visto que los animales no permitían que una fuerza se ejerciese contra la superficie plantar durante la comprobación. En esos casos, los animales levantaban el miembro afectado, seguido del movimiento de la punta, no ejerciendo resistencia a la presión ejercida. Como resultado, tales animales

Tabla 1 Diferencia media, error estándar y valor de p del Δ del umbral de retirada (g) en los ratones de los grupos GI y GII, en los diferentes momentos de evaluación de la hipernocicepción inducida por la inyección intraplantar de carragenina

Evaluaciones (min)	Diferencia media estimada	Error estándar	p
30-60	-4,13	3,38	0,914
30-90	-5,60	3,82	0,813
30-120	-7,59	2,96	0,234
30-150	-13,64	4,03	0,055
30-180	-15,30	4,24	0,036
30-210	-23,50	3,68	<0,001
30-240	-27,76	2,53	<0,001
60-90	-1,47	2,42	0,998
60-120	-3,46	2,58	0,872
60-150	-9,51	3,13	0,104
60-180	-11,16	3,67	0,104
60-210	-19,37	2,71	<0,001
60-240	-23,63	2,88	<0,001
90-120	-1,99	2,84	0,996
90-150	-8,04	2,67	0,111
90-180	-9,70	3,35	0,136
90-210	-17,90	2,71	<0,001
90-240	-22,16	2,99	<0,001
120-150	-6,06	2,41	0,254
120-180	-7,71	3,81	0,497
120-210	-15,92	2,22	<0,001
120-240	-20,18	2,80	<0,001
150-180	-1,65	3,37	1,000
150-210	-9,86	2,60	0,025
150-240	-14,12	3,02	0,004
180-210	-8,21	2,36	0,046
180-240	-12,47	3,03	0,013
210-240	-4,26	2,48	0,677

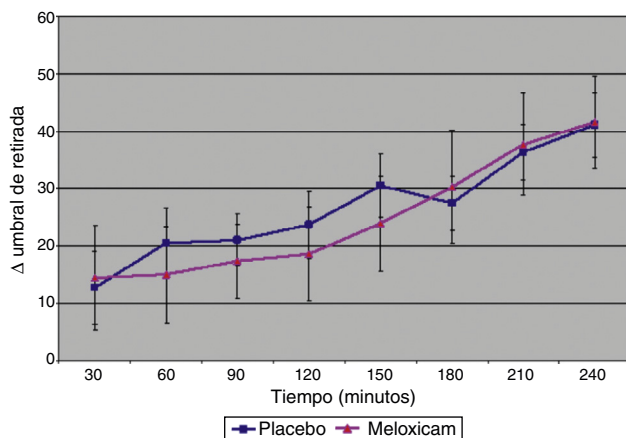


Figura 1 Valores promedios del Δ del umbral de retirada \pm desviación estándar (g) en los diferentes momentos de evaluación de la hipernocicepción mecánica, en ratones sometidos a la administración SA de solución salina (GI) o meloxicam (GII).

tuvieron altos valores del umbral de retirada, que no estaban a tono con lo que pudo ser clínicamente observado.

Discusión

La efectividad de los AINE convencionales, de los inhibidores de la COX-2 y de los anticuerpos monoclonales antiprostaglandina E_2 como agentes antiinflamatorios en los modelos experimentales utilizando la carragenina está hoy por hoy muy bien descrita en la literatura²⁰⁻²². Sus acciones fueron tradicionalmente atribuidas a la inhibición de las prostaglandinas periféricas, las cuales ejercen un importante papel en la sensibilización de los nociceptores en el sitio de lesión²³, una vez que la inyección intraplantar de carragenina induce un significativo aumento en la expresión de COX-2, como también en la producción de prostaglandina E_2 ²⁴. Las cantidades relativas de cada isoforma que están expresadas en los diferentes tejidos pueden sin embargo variar y ser moduladas en condiciones patológicas. Así, contrastando con otros órganos, el cerebro normal del ratón, como también la médula espinal, expresan más COX-2 que COX-1²⁵, y hay datos que confirman su papel en el procesamiento sensorial del dolor²⁶. Así, una serie de evidencias experimentales nos sugieren actualmente que los AINE ejercen su acción analgésica también por su actividad sobre el sistema nervioso central, por añadidura a su reconocida acción periférica²⁵.

Diversos fármacos han sido administrados por vía espinal en un intento de comprobar tal mecanismo, y la ausencia de efectos consistentes del meloxicam subaracnoideo sobre la nocicepción inducida en el modelo experimental utilizado se contraponen a los hallazgos de otros autores, que reportan una actividad antinociceptiva después del uso espinal de otros AINE^{2,14,15,20,27-32}. Resaltamos sin embargo, que aunque hay una variedad de trabajos que investigan el poder antinociceptivo de los inhibidores de la COX-2 administrados por vía subaracnoidea, los que abordan específicamente los efectos del meloxicam son todavía escasos. Esos trabajos ya fueron capaces de demostrar, sin embargo, un efecto inhibitorio sobre el fenómeno de *wind-up in vitro*³³, como también sobre la nocicepción inducida por la capsaicina o formalina³⁴. Adicionalmente, quedó demostrado un efecto analgésico sinérgico con la morfina después de su administración subaracnoidea en animales con dolor visceral experimental¹⁵. En un estudio previo¹⁷, una dosis similar a la del presente trabajo ($30 \mu\text{g}/\text{animal}^{-1}$) fue utilizada para investigar los efectos antialodínicos del meloxicam por vía subaracnoidea. Los autores, sin embargo, usaron un modelo de dolor neuropático experimental en ratones caseros diabéticos, siendo diferente del modelo de dolor inflamatorio de esta investigación. Los efectos del fármaco, sin embargo, fueron demostrados con la dosis usada, lo que no se dio en este estudio. Observando atentamente los datos presentados en la figura 1, se puede sin embargo notar que el grupo sometido a la administración del meloxicam tuvo valores promedios del Δ del umbral de retirada inferiores a los mostrados por el grupo que recibió la solución salina, durante todos los momentos de evaluación entre 45 y 165 min.

La inflamación generada por la aplicación intraplantar de carragenina se caracteriza por mostrar un comportamiento bifásico con relación al edema. La fase precoz

(0-1 h) ha sido atribuida a la liberación de histamina, 5-hidroxitriptamina y bradicinina, de modo que la eficacia de los AINE en ese período ha sido cuestionada. En la fase tardía (1-6 h), por otro lado, se ha verificado una elevada producción de prostaglandinas³⁵. La hiperalgesia, sin embargo, parece desarrollarse en paralelo con la elevación de los niveles espinales de COX-2 y su pico solo ocurre después de 4 h de la inyección de carragenina³⁶. No obstante, al observar la [figura 1](#) podemos notar que los efectos del meloxicam sobre la hiperalgesia se dieron justamente en el período anterior a las 4 h de evaluación, con valores significativamente elevados del Δ del umbral de retirada después de 165 min de la administración, contraponiéndose a tales afirmaciones.

Ese comportamiento de la curva de respuesta, sin embargo, también se observó en trabajos que, usando el modelo de la carragenina, constataron efectos antihiperálgicos térmicos cuando se administró por vía subaracnoidea el SC58125 (un inhibidor selectivo de la COX-2) solamente durante los 170 min iniciales de la evaluación³⁷. Visto que la hiperalgesia térmica ha demostrado ser mediada de forma similar por la acción de la COX-2 espinal³⁸, estudios que caractericen el estándar de expresión medular de la COX-2 en la inflamación inducida por la carragenina, y hasta la fecha aparentemente inexistentes, podrán elucidar tales observaciones. En ambos grupos experimentales fue observado un significativo aumento en la intensidad de la hipernocicepción, caracterizado por la elevación del Δ del umbral de retirada, especialmente en las evaluaciones con 210 y 240 min. Tales constataciones pueden ser explicadas por las afirmaciones de otros autores, según las cuales la repetición del estímulo mecánico puede producir una elevación en la sensibilidad del área estimulada³⁹. La administración del meloxicam, por tanto, tampoco fue capaz de impedir ese aumento de la hipernocicepción en el transcurso del tiempo.

Entre los diferentes factores que pueden haber influido en la obtención de los presentes resultados, el establecimiento de una dosis adecuada surgió como una necesidad esencial cuya importancia puede haber sido decisiva para los datos aquí reflejados. Actualmente, los escasos trabajos con el meloxicam por vía subaracnoidea traen protocolos de administración distintos del preconizado en ese estudio, como técnicas de infusión continua¹⁶ o su asociación con opiáceos¹⁵. La necesidad de determinar una dosis capaz de demostrar efectos consistentes, o incluso la ausencia de tales efectos, estuvo fundamentada en la extrapolación de los resultados obtenidos en tales estudios, con su adecuación a las necesidades de este trabajo. Así, tomando como base investigaciones previas que tuvieron resultados satisfactorios con el uso de $30 \mu\text{g}/\text{animal}^{-1}$ de meloxicam subaracnoideo sobre el dolor neuropático experimental en animales diabéticos¹⁷, fue preconizada la utilización de una dosis similar para poder observar sus efectos sobre la hiperalgesia inflamatoria.

El dolor neuropático, sin embargo, es un síndrome complejo que involucra teorías inflamatorias e inmunes que todavía están poco clarificadas, y cuya hiperalgesia resulta tanto en el compromiso de los tejidos neurales como no neurales, estando asociada con la activación de fibras A β , además de las fibras A δ ⁴⁰. Sin embargo, la complejidad del

sistema nociceptivo ha demostrado que después de las alteraciones mínimas en la naturaleza del proceso doloroso se activan diferentes vías sensoriales⁴¹, lo que nos hace creer que pueden ser necesarias dosis diferenciadas de un mismo fármaco para la supresión de los dolores de distintos orígenes. Esa posibilidad puede ser rápidamente contemplada en el presente estudio, ya que una dosis capaz de controlar la hiperalgesia neuropática no obtuvo los mismos resultados sobre la de origen inflamatorio. Así, demostramos la necesidad de hacer futuras investigaciones con las diferentes dosis del fármaco.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Agradecimientos

Le agradecemos al CNPQ/CAPES la asignación de incentivo a la investigación.

Bibliografía

1. Vinegar R, Truax JF, Selph JL, et al. Pathway to carrageenan-induced inflammation in the hind limb of the rat. *Fed Proc.* 1987;46:118-26.
2. Malmberg AB, Yaksh TL. Antinociceptive actions of spinal nonsteroidal anti-inflammatory agents on the formalin test in the rat. *J Pharmacol Exp Ther.* 1992;263:136-46.
3. Malmberg AB, Yaksh TL. Hyperalgesia mediated by spinal glutamate or substance P receptor blocked by spinal cyclooxygenase inhibition. *Science.* 1992;257:1276-9.
4. Breder CD, Dewitt D, Kraig RP. Characterization of inducible cyclooxygenase in rat brain. *J Comp Neurol.* 1995;355:296-315.
5. Burian M, Geisslinger G. COX-dependent mechanisms involved in the antinociceptive action of NSAIDs at central and peripheral sites. *Pharmacol Ther.* 2005;107:139-54.
6. Beiche F, Scheuerer S, Brune K, et al. Up-regulation of cyclooxygenase-2 mRNA in the rat spinal cord following peripheral inflammation. *FEBS Lett.* 1996;390:165-9.
7. Bianchi M, Panerai AE. The dose-related effects of paracetamol on hyperalgesia and nociception in the rat. *Br J Pharmacol.* 1996;117:130-2.
8. Bustamante D, Paeile C, Willer JC, et al. Effects of intrathecal or intracerebroventricular administration of nonsteroidal anti-inflammatory drugs on a C-fiber reflex in rats. *J Pharmacol Exp Ther.* 1997;281:1381-91.
9. Herrero JF, Parrado A, Cervero F. Central and peripheral actions of the NSAID ketoprofen on spinal cord nociceptive reflexes. *Neuropharmacology.* 1997;36:1425-31.
10. McCormack K. Non-steroidal anti-inflammatory drugs and spinal nociceptive processing. *Pain.* 1994;59:9-43.
11. Willingale HL, Gardiner NJ, McLymont N, et al. Prostanoids synthesized by cyclo-oxygenase isoforms in rat spinal cord and their contribution to the development of neuronal hyperexcitability. *Br J Pharmacol.* 1997;122:1593-604.
12. Leal LB, Silva MCT, Bedor DCG, et al. Desenvolvimento de teste de dissolução para o meloxicam utilizando o planejamento fatorial: estudo comparativo de produtos industrializados x produtos magistrais. *Rev Bras Farm.* 2008;89:160-3.
13. Turner PV, Chen HC, Taylor WM. Pharmacokinetics of meloxicam in rabbits after single and repeat oral dosing. *Comp Med.* 2006;56:63-7.

14. Pinardi G, Sierralta F, Miranda HF. Atropine reverses the antinociception of nonsteroidal anti-inflammatory drugs in the tail-flick test of mice. *Pharmacol Biochem Behav.* 2003;74:603-8.
15. Pinardi G, Prieto GC, Miranda HF. Analgesic synergism between intrathecal morphine and cyclooxygenase-2 inhibitors in mice. *Pharmacol Biochem Behav.* 2005;82:120-4.
16. Takeda K, Sawamura S, Tamai H, et al. Role for cyclooxygenase 2 in the development and maintenance of neuropathic pain and spinal glial activation. *Anesthesiology.* 2005;103:837-44.
17. Kimura S, Kontani H. Demonstration of antiallodynic effects of the cyclooxygenase-2 inhibitor meloxicam on established diabetic neuropathic pain in mice. *J Pharmacol Sci.* 2009;110:213-7.
18. Yaksh TL, Rudy T. Chronic catheterization of the spinal subarachnoid space. *Physiol Behav.* 1976;17:1031-6.
19. Vivancos GG, Verri WA Jr, Cunha TM, et al. An electronic pressure-meter nociception paw test for rats. *Braz J Med Biol Res.* 2004;37:401-7.
20. Francisci JN, Chaves CT, Moura AC, et al. Selective inhibitors of cyclo-oxygenase-2 (COX-2) induce hypoalgesia in a rat paw model of inflammation. *Br J Pharmacol.* 2002;137:837-44.
21. Zhang Y, Shaffer A, Portanova J, et al. Inhibition of cyclooxygenase-2 rapidly reverses inflammatory hyperalgesia and prostaglandin E2 production. *J Pharmacol Exp Ther.* 1997;283:1069-75.
22. Riendeau D, Percival MD, Brideau C, et al. Etoricoxib (MK-0663): preclinical profile and comparison with other agents that selectively inhibit cyclooxygenase-2. *J Pharmacol Exp Ther.* 2001;296:558-66.
23. Kelly DJ, Ahmad M, Brull SJ. Preemptive analgesia I: physiological pathways and pharmacological modalities. *Can J Anaesth.* 2001;48:1000-10.
24. Nantel F, Denis D, Gordon R, et al. Distribution and regulation of cyclooxygenase-2 in carrageenan-induced inflammation. *Br J Pharmacol.* 1999;128:853-9.
25. Martin F, Fletcher D, Chauvin M, et al. Constitutive cyclooxygenase-2 is involved in central nociceptive processes in humans. *Anesthesiology.* 2007;106:1013-8.
26. Vanegas H, Schaible HG. Prostaglandins and cyclooxygenases in the spinal cord. *Prog Neurobiol.* 2001;64:327-63.
27. Wang BC, Hiller JM, Simon EJ, et al. Analgesia following subarachnoid sodium ibuprofen in rats. *Anesthesiology.* 1992;79:856.
28. Wang BC, Li D, Hiller JM, et al. The antinociceptive effect of S-(+)-ibuprofen in rabbits: epidural versus intravenous administration. *Anesth Analg.* 1995;80:92-6.
29. Parris WC, Janicki PK, Johnson B Jr, et al. Intrathecal ketorolac tromethamine produces analgesia after chronic constriction injury of sciatic nerve in rat. *Can J Anesth.* 1996;43:867-70.
30. Massue T, Dohi S, Asano T, et al. Spinal antinociceptive effect of epidural nonsteroidal antiinflammatory drugs on nitric oxide induced hyperalgesia in rats. *Anesthesiology.* 1999;91:198-206.
31. Miranda HF, Pinardi G. Lack of effect of naltrexone on the spinal synergism between morphine and non steroidal anti-inflammatory drugs. *Pharmacol Rep.* 2009;61:266-74.
32. Eisenach JC, Curry R, Tong C, et al. Effects of intrathecal ketorolac on human experimental pain. *Anesthesiology.* 2010;112:1216-24.
33. Lopez-Garcia JA, Laird JM. Central antinociceptive effects of meloxicam on rat spinal cord in vitro. *Neuroreport.* 1998;9:647-51.
34. Santos AR, Vedana EM, de Freitas GA. Antinociceptive effect of meloxicam, in neurogenic and inflammatory nociceptive models in mice. *Inflamm Res.* 1998;47:302-7.
35. Di Rosa M, Sorrentino L. Some pharmacodynamic properties of carrageenin in the rat. *Br J Pharmacol.* 1970;38:214-20.
36. Hilário MO, Terreri MT, Len CA. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs: cyclooxygenase 2 inhibitors. *J Pediatr.* 2006;82:S206-12.
37. Dirig DM, Isakson PC, Yaksh TL. Effect of COX-1 and COX-2 inhibition on induction and maintenance of carrageenan-evoked thermal hyperalgesia in rats. *J Pharmacol Exp Ther.* 1998;285:1031-8.
38. Yamamoto T, Nozaki-Taguchi N. Role of spinal cyclooxygenase (COX)-2 on thermal hyperalgesia evoked by carrageenan injection in the rat. *Neuroreport.* 1997;8:2179-82.
39. Le Bars D, Gozariu M, Cadden SW. Animal models of nociception. *Pharmacol Rev.* 2001;53:597-652.
40. Kraychete DC, Gozzani JL, Kraychete AC. Dor neuropática - aspectos neuroquímicos. *Rev Bras Anesthesiol.* 2008;58:492-505.
41. Millan MJ. The induction of pain: an integrative review. *Prog Neurobiol.* 1999;66:1-164.