



# REVISTA BRASILEIRA DE ANESTESIOLOGIA

Publicação Oficial da Sociedade Brasileira de Anestesiologia  
[www.sba.com.br](http://www.sba.com.br)



## ARTIGO CIENTÍFICO

# O efeito analgésico de tramadol não é mediado por receptores opioides na dor de ratos no pós-operatório imediato



Angela Maria Sousa e Hazem Adel Ashmawi\*

Laboratório de Investigação Médica (LIM-08), Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brasil

Recebido em 24 de maio de 2014; aceito em 26 de junho de 2014

Disponível na Internet em 2 de abril de 2015

### PALAVRAS-CHAVE

Tramadol;  
Dor no  
pós-operatório;  
Receptores opioides;  
Ratos Wistar

### Resumo

**Justificativa e objetivos:** Tramadol é conhecido como um fármaco analgésico de ação central, usado para o tratamento de dor moderada a grave. O efeito analgésico local foi demonstrado, em parte devido ao efeito semelhante ao anestésico local, mas outros mecanismos permanecem obscuros. O papel dos receptores opioides periféricos no efeito analgésico local não é conhecido. Neste estudo, examinamos o papel dos receptores opioides periféricos no efeito analgésico local de tramadol em modelo de incisão plantar.

**Métodos:** Ratos Wistar, jovens e machos, foram divididos em sete grupos: controle, tramadol intraplantar, tramadol intravenoso, tramadol intraplantar-naloxona intravenosa, tramadol intraplantar-naloxona intraplantar, tramadol intravenoso-naloxona intravenosa e naloxona intravenosa. Após receber os medicamentos designados (5 mg de tramadol, 200 mg de naloxona ou NaCl a 0,9%, os ratos foram submetidos à incisão plantar e os limiares de retirada após estímulos mecânicos com filamentos de von Frey foram avaliados no início do estudo e nos minutos 10, 15, 30, 45 e 60 após a incisão.

**Resultados:** A incisão plantar levou à hiperalgesia mecânica acentuada durante todo o período de observação no grupo controle; hiperalgesia mecânica não foi observada nos grupos tramadol intraplantar, tramadol intraplantar-naloxona intraplantar e tramadol intraplantar-naloxona intravenosa. No grupo tramadol intravenoso, um aumento tardio do limiar de retirada (após 45 minutos) foi observado. Os grupos tramadol intravenoso-naloxona intravenosa e naloxona intravenosa permaneceram hiperalgésicos durante todo o período.

**Conclusões:** Tramadol apresentou efeito analgésico local inicial e diminuiu a hiperalgesia mecânica induzida pela incisão plantar. Esse efeito analgésico não foi mediado por receptores opioides periféricos.

© 2014 Sociedade Brasileira de Anestesiologia. Publicado por Elsevier Editora Ltda. Todos os direitos reservados.

\* Autor para correspondência.

E-mail: [hazem.ashmawi@hc.fm.usp.br](mailto:hazem.ashmawi@hc.fm.usp.br) (H.A. Ashmawi).

**KEYWORDS**

Tramadol;  
Postoperative pain;  
Opioid receptors;  
Wistar rats

**Local analgesic effect of tramadol is not mediated by opioid receptors in early postoperative pain in rats****Abstract**

*Background and objectives:* Tramadol is known as a central acting analgesic drug, used for the treatment of moderate to severe pain. Local analgesic effect has been demonstrated, in part due to local anesthetic-like effect, but other mechanisms remain unclear. The role of peripheral opioid receptors in the local analgesic effect is not known. In this study, we examined role of peripheral opioid receptors in the local analgesic effect of tramadol in the plantar incision model.

*Methods:* Young male Wistar rats were divided into seven groups: control, intraplantar tramadol, intravenous tramadol, intravenous naloxone-intraplantar tramadol, intraplantar naloxone-intraplantar tramadol, intravenous naloxone-intravenous tramadol, and intravenous naloxone. After receiving the assigned drugs (tramadol 5 mg, naloxone 200 µg or 0.9% NaCl), rats were submitted to plantar incision, and withdrawal thresholds after mechanical stimuli with von Frey filaments were assessed at baseline, 10, 15, 30, 45 and 60 min after incision.

*Results:* Plantar incision led to marked mechanical hyperalgesia during the whole period of observation in the control group, no mechanical hyperalgesia were observed in intraplantar tramadol group, intraplantar naloxone-intraplantar tramadol group and intravenous naloxone-intraplantar tramadol. In the intravenous tramadol group a late increase in withdrawal thresholds (after 45 min) was observed, the intravenous naloxone-intravenous tramadol group and intravenous naloxone remained hyperalgesic during the whole period.

*Conclusions:* Tramadol presented an early local analgesic effect decreasing mechanical hyperalgesia induced by plantar incision. This analgesic effect was not mediated by peripheral opioid receptors.

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

**Introdução**

Tramadol (1-RS, 2RS)-2-[(dimetilamino)-metil]-1-(3-metoxifenil)-ciclohexanol cloridrato é um analgésico usado principalmente para o tratamento de dor moderada a intensa, bem como de dor aguda e crônica.<sup>1,2</sup> Tem efeito opiáceo fraco e outro mecanismo diferente de ação por meio da redução da recaptção dos neurotransmissores monoaminérgicos (5-hidroxitriptamina e noradrenalina).<sup>3</sup> Além disso, apresenta efeito analgésico nos nervos periféricos que, em parte, é semelhante ao de anestésico local.<sup>4-6</sup>

O efeito analgésico periférico de tramadol também foi identificado em humanos após infiltração para extração de terceiro molar, procedimentos cirúrgicos menores em crianças e como adjuvante aos anestésicos locais para reduzir a dor no pós-operatório.<sup>7-12</sup> Os receptores opioides periféricos há muito foram descritos e seu papel na analgesia em animais e humanos já foi demonstrado,<sup>13-20</sup> mas pouco se sabe sobre o efeito de tramadol mediado por opiáceo periférico.

O objetivo deste estudo foi avaliar o papel dos receptores opioides nos efeitos analgésicos de tramadol intraplantar em modelo de dor pós-operatória.

**Material e métodos****Animais**

Os experimentos foram feitos após a aprovação do Comitê de Bioética do Hospital de Clínicas da Faculdade de Medicina

da Universidade de São Paulo e de acordo com o Comitê para Questões Éticas em Pesquisa da IASP.<sup>21</sup> Todos os experimentos foram feitos com ratos Wistar machos, com 250 g, fornecidos pelo Biotério Central da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. Foram usados no estudo 35 animais. Todos os experimentos comportamentais foram feitos entre as 9 e 12 horas. Todos os animais foram alojados em pares, em gaiolas forradas, e tiveram acesso livre à comida e água.

**Incisão plantar**

O modelo de incisão plantar na pata posterior do rato foi feito como descrito previamente.<sup>22</sup> Resumidamente, os ratos foram anestesiados com isoflurano a 2%-3% administrado via cone de focinho. O aspecto plantar da pata traseira direita foi preparado de modo estéril com uma solução de iodo-povidona a 10% e um campo cirúrgico colocado. Uma incisão de 1 cm longitudinal foi feita com uma lâmina de número 11, através da pele e da fáscia do aspecto plantar da pata do rato. Começou a partir de 0,5 cm da borda proximal do calcanhar e estendeu-se para os dedos dos pés. O músculo flexor foi elevado e incisado longitudinalmente e a origem e a inserção do músculo permanecem intactas. Após a hemostasia com pressão suave, a pele foi oposta com duas suturas simples de mononylon 5-0.

**Hiperálgesia mecânica**

Os ratos foram colocados sobre um piso elevado de malha plástica em gaiola com capa de plástico transparente.

Os animais podiam deambular, explorar e, eventualmente, deitar-se sobre a malha e descansar. Para testar os comportamentos de dor, filamentos de von Frey calibrados (filamentos finos de plástico com forças calibradas) foram aplicados sob a gaiola adjacente à ferida. Cada filamento foi aplicado uma vez e continuamente até uma retirada da pata ocorrer, o que foi considerado como o limiar de retirada. Filamentos com forças de flexão de 5,9; 9,8; 13,7; 19,7; 39,2; 58,8; 78,4; 98; 147; 255; 588 e 980 mN foram usados no estudo.

### Delineamento experimental

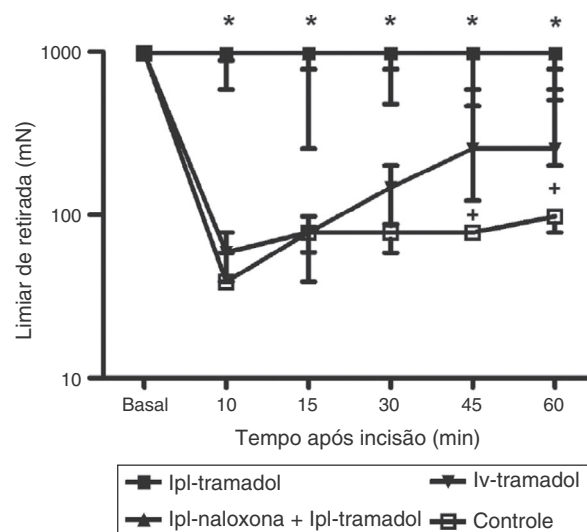
Depois da avaliação dos limiares de retirada pré-incisão para hiperalgisia mecânica, os animais foram alocados em sete grupos experimentais de cinco animais cada: 1) controle, 50  $\mu$ L de solução de NaCl a 0,9% injetados na face plantar da pata traseira direita e, 5 minutos depois, mais 50  $\mu$ L de solução de NaCl a 0,9%; 2) administração intraplantar de tramadol (Ipl-tramadol), 50  $\mu$ L de solução de NaCl a 0,9% injetados na superfície plantar da pata traseira direita e, depois de 5 minutos, 5 mg de tramadol (20 mg.kg<sup>-1</sup>) dissolvidos em 50  $\mu$ L de NaCl a 0,9% administrados na superfície plantar da pata traseira direita; 3) administração de tramadol por via intravenosa (Iv-tramadol), 50  $\mu$ L de solução de NaCl a 0,9% injetados na superfície plantar da pata traseira direita e, depois de 5 minutos, 5 mg de tramadol injetados na veia dorsal do pênis; 4) administração de naloxona intravenosa-tramadol intraplantar (Iv-naloxona + Ipl-tramadol), 200  $\mu$ g de naloxona injetados na veia dorsal do pênis 5 minutos antes de 5 mg de tramadol dissolvido em 50  $\mu$ L de NaCl a 0,9% injetados na face plantar da pata traseira direita; 5) administração de naloxona intraplantar-tramadol intraplantar (Ipl-naloxona + Ipl-tramadol), 200  $\mu$ g de naloxona injetados na pata traseira direita 5 minutos antes de tramadol intraplantar; 6) administração de naloxona intravenosa-tramadol intravenoso (Iv-naloxona + Iv-tramadol), 200  $\mu$ g de naloxona injetados na veia dorsal do pênis 5 minutos antes de 5 mg de tramadol dissolvido em 50  $\mu$ L de NaCl a 0,9% injetados na veia dorsal do pênis; 7) administração de naloxona (Iv-naloxona), 200  $\mu$ g de naloxona injetados na veia dorsal do pênis e 50  $\mu$ L de NaCl a 0,9% injetados na pata. Todas as injeções foram feitas sob anestesia geral com isoflurano 2%-3%. Os animais foram mantidos anestesiados e submetidos à incisão plantar 5 minutos após a segunda injeção. Logo que os animais se recuperaram, os testes foram iniciados e feitos 10, 15, 30, 45 e 60 minutos após a recuperação da anestesia. No fim das experiências, os animais foram mortos com uma dose letal de tiopental sódico.

### Medicamentos

Cloridrato de tramadol e cloridrato de naloxona foram fornecidos por Cristália Prod. Quim. Farm., São Paulo, SP, Brasil.

### Análise estatística

Todos os dados foram analisados com o software Prism 5.0 (GraphPad Software, Inc., EUA). Os limiares de retirada a



**Figura 1** Limiares de retirada ao estímulo mecânico após administração intraplantar ou intravenosa de tramadol. Os limiares de retirada foram maiores nos grupos Ipl-tramadol e Ipl-naloxona + Ipl-tramadol; o grupo Iv-tramadol apresentou analgesia tardia após 45 minutos de injeção. Os dados foram expressos como mediana  $\pm$  intervalo interquartil (do 25° ao 75° percentil);  $p < 0,05$ . \*Ipl-tramadol e Ipl-naloxona + Ipl-tramadol diferentes do controle; +Iv-tramadol diferente do controle.

estímulos mecânicos são descontínuos e foram analisados com testes não paramétricos. Os dados foram expressos como mediana e intervalo interquartil. As diferenças foram determinadas pelo teste de Kruskal-Wallis, seguido pelo teste *post hoc* de Dunn para comparação do limiar de retirada da pata.

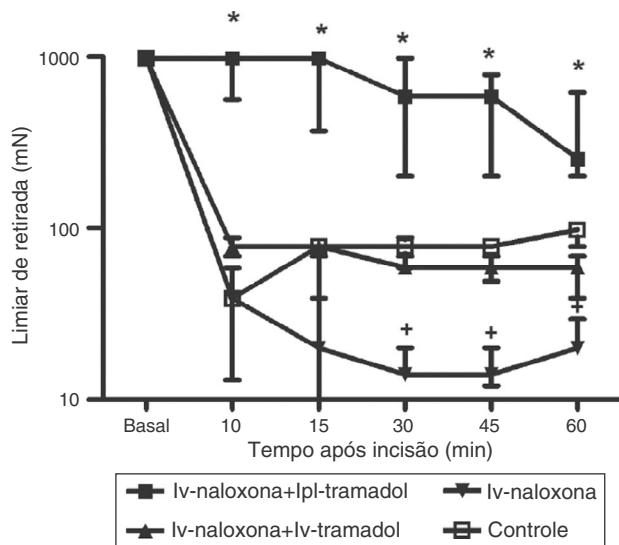
### Resultados

A incisão plantar levou à hiperalgisia mecânica durante todo o período de observação. No grupo controle, a mediana do limiar de retirada para os filamentos de von Frey diminuiu de 980 para 39 mN após 10 minutos e para 98 mN após 60 minutos; no grupo tramadol intraplantar, a mediana do limiar de retirada foi 980 mN durante todo o período; no grupo tramadol intravenoso, a mediana diminuiu de 980 para 59 mN após 10 minutos e aumentou após 45 minutos para 255 mN; no grupo naloxona intraplantar-tramadol intraplantar, a mediana do limiar de retirada foi de 980 mN durante os 60 minutos de observação (fig. 1).

No grupo naloxona intravenosa-tramadol intraplantar, a mediana do limiar de retirada variou de 588 a 980 mN ao longo de todo período de observação; no grupo naloxona intravenosa-tramadol intravenoso, a mediana foi de 980 a 59 mN e os ratos permaneceram hiperálgicos aos 60 minutos; no grupo naloxona intravenosa, a mediana passou de 980 para 20 mN aos 60 minutos da injeção, a mediana foi diferente daquela do grupo controle dos 15 aos 60 minutos (fig. 2).

### Discussão

O uso de modelos experimentais de dor está sob escrutínio devido ao fracasso parcial da tradução dos resultados



**Figura 2** Limiares de retirada ao estímulo mecânico após administração de naloxona com ou sem tramadol. Os limiares de retirada foram maiores no grupo Iv-naloxona+lpl-tramadol; o grupo Iv-naloxona+lv-tramadol não foi diferente do grupo controle e os limiares de retirada foram menores no grupo naloxona do que no grupo controle após 25 minutos de injeção. Os dados foram expressos como mediana  $\pm$  intervalo interquartil (do 25° ao 75° percentil);  $p < 0,05$ . \*Iv-naloxona+lpl-tramadol diferente do controle; \*naloxona diferente do controle.

obtidos experimentalmente para situações clínicas e reais.<sup>23,24</sup> O desenvolvimento e a busca de modelos que imitem cenários clínicos são muito importantes. Neste estudo, usamos o modelo de incisão plantar, um modelo de dor pós-operatória usado nas duas últimas décadas que traz para o ambiente experimental uma situação clínica de dor pós-operatória relevante. A característica clínica proeminente da dor pós-operatória é a hiperalgesia mecânica ou alodinia mecânica e decidimos observar essa modalidade de dor.

Os resultados obtidos mostraram um efeito analgésico de tramadol intraplantar no modelo de dor pós-operatória usado. O efeito analgésico permaneceu durante todo o período de observação e aumentou os limiares de retirada da pata mais do que o tramadol intravenoso. Tramadol é conhecido por ser um medicamento atípico, com diferentes mecanismos de ação para atingir a analgesia. Quando usado sistemicamente, é metabolizado pelo citocromo P450 (CYP) 2D6 e seu metabólito principal é o mono-o-desmetil-tramadol (M1), responsável pelo efeito analgésico sistêmico.<sup>3,25</sup> Seu efeito analgésico é observado 20-40 minutos após a ingestão oral.<sup>26</sup> No presente estudo, tramadol intravenoso diminuiu a hiperalgesia 45 minutos após a injeção, o tempo esperado para a analgesia sistêmica de tramadol. No entanto, tramadol intraplantar na mesma dose bloqueou a hiperalgesia desde o início e durante todo o período de observação. Esses resultados indicam que o fármaco parental, tramadol, apresenta um efeito analgésico mais precoce, expresso imediatamente após a sua injeção, um efeito que parece ser local, já que o efeito analgésico observado após a aplicação intravenosa não conseguiu induzir analgesia precoce. O efeito local observado não parece ser mediado por receptores opioides;

não foi observada redução da analgesia após naloxona tanto intraplantar quanto intravenosa. Em outro estudo, o efeito analgésico de tramadol no mesmo modelo de dor pós-operatória foi antagonizado com naloxona, mas as vias usadas foram a intraperitoneal e intratecal e os efeitos analgésicos no sistema nervoso central são devidos à clássica diminuição da recaptação de monoaminas e efeitos mediados por opioides.<sup>3,26,27</sup> Embora nossos resultados não tenham encontrado uma ação dos opioides periféricos, não podemos excluir um efeito analgésico local tardio do opiáceo tramadol. Demonstrou-se que há um aumento da expressão do receptor opiáceo  $\mu$  (MOR) sintetizado no gânglio da raiz dorsal, depois traficados para terminações nervosas após injeção intraplantar de carragenina.<sup>28</sup> A suprarregulação de MOR nos gânglios da raiz dorsal foi maior um dia após a injeção e diminuiu no terceiro dia. Carragenina intraplantar induz um comportamento de dor que diminui quatro horas após a injeção. A dor pós-operatória em modelo de incisão plantar atinge o pico em um dia e dura até cinco dias, quando os limiares térmicos e mecânicos são semelhantes aos da fase basal.<sup>20</sup> A expressão de MOR pode ocorrer mais tarde nesse modelo de dor, o que pode afetar o papel do receptor opiáceo periférico. Um dado interessante observado ocorreu no grupo naloxona intravenosa, no qual os limiares foram mais baixos do que no grupo controle. Isso indica que a naloxona antagonizou os opioides endógenos na primeira hora após a incisão e levou a um aumento do comportamento de dor após a estimulação mecânica.

O efeito analgésico local de tramadol mostrou ser semelhante ao do anestésico local.<sup>4-6,29,30</sup> Os mecanismos envolvidos nessa ação periférica ainda não são bem compreendidos. Há relatos de efeito anti-inflamatório fraco e efeito dependente de cálcio para tramadol.<sup>31,32</sup> Curiosamente, tramadol também atua como um agonista do receptor transiente potencial do canal vaniloide-1 (TRPV1) e talvez presente, até certo ponto, um efeito pró-nociceptivo.<sup>33</sup>

Tramadol apresenta um efeito analgésico local precoce e diminuiu a hiperalgesia mecânica induzida pela incisão plantar. Esse efeito não é mediado, na primeira hora, pelos receptores opioides periféricos.

## Conflitos de interesse

Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

## Referências

1. Dayer P, Desmeules J, Collart L. Pharmacologie du tramadol. *Drugs*. 1997; Suppl. 2:18–24.
2. Lewis KS, Han NH. Tramadol: a new centrally acting analgesic. *Am J Health Syst Pharm*. 1997;54:643–52.
3. Raffa RB, Friderichs E, Reimann W, et al. Opioid and nonopioid components independently contribute to the mechanism of action of tramadol, an 'atypical' opioid analgesic. *J Pharmacol Exp Ther*. 1992;260:275–85.
4. Tsai YC, Chang PJ, Jou IM. Direct tramadol application on sciatic nerve inhibits spinal somatosensory evoked potentials in rats. *Anesth Analg*. 2001;92:1547–51.
5. Haeseler G, Foadi N, Ahrens J, et al. Tramadol, fentanyl and sufentanil but not morphine block voltage-operated sodium channels. *Pain*. 2006;126:234–44.

6. Sousa AM, Ashmawi HA, Costa LS, et al. Percutaneous sciatic nerve block with tramadol induces analgesia and motor blockade in two animal pain models. *Braz J Med Biol Res.* 2012;45:147–52.
7. Al-Haideri Y. Comparison of local anesthetic efficacy of tramadol hydrochloride (with adrenaline) versus plain tramadol hydrochloride in the extraction of upper molar teeth. *J Oral Maxillofac Surg.* 2013;71:2035–8.
8. Polat F, Tuncel A, Balci M, et al. Comparison of local anesthetic effects of lidocaine versus tramadol and effect of child anxiety on pain level in circumcision procedure. *J Pediatr Urol.* 2013;9:670–4.
9. Kargi E, İşikdemir A, Tokgöz H, et al. Comparison of local anesthetic effects of tramadol with prilocaine during circumcision procedure. *Urology.* 2010;75:672–5.
10. Prakash S, Tyagi R, Gogia A, et al. Efficacy of three doses of tramadol with bupivacaine for caudal analgesia in paediatric inguinal herniotomy. *Br J Anaesth.* 2006;97:385–8.
11. Kaabachi O, Ouezini R, Koubaa W, et al. Tramadol as an adjuvant to lidocaine for axillary brachial plexus block. *Anesth Analg.* 2009;108:367–70.
12. Demiraran Y, Albayrak M, Yorulmaz IS, et al. Tramadol and levobupivacaine wound infiltration at Cesarean delivery for postoperative analgesia. *J Anesth.* 2013;27:175–9.
13. Ferreira SH. Peripheral analgesia: mechanism of the analgesic action of aspirin-like drugs and opiate-antagonists. *Br J Clin Pharmacol.* 1980;10:2375–455.
14. Stein C, Yassouridis A. Peripheral morphine analgesia. *Pain.* 1997;71:119–21.
15. Hervera A, Negrete R, Leáñez S, et al. Peripheral effects of morphine and expression of  $\mu$ -opioid receptors in the dorsal root ganglia during neuropathic pain: nitric oxide signaling. *Mol Pain.* 2011;7:25.
16. Saloman JL, Niu KY, Ro JY. Activation of peripheral delta-opioid receptors leads to anti-hyperalgesic responses in the masseter muscle of male and female rats. *Neuroscience.* 2011;190:379–85.
17. Auh QS, Ro JY. Effects of peripheral  $\kappa$  opioid receptor activation on inflammatory mechanical hyperalgesia in male and female rats. *Neurosci Lett.* 2012;524:111–5.
18. Khalefa BI, Shaqura M, Al-Khrasani M, et al. Relative contributions of peripheral versus supraspinal or spinal opioid receptors to the antinociception of systemic opioids. *Eur J Pain.* 2012;16:690–705.
19. Katsuyama S, Mizoguchi H, Kuwahata H, et al. Involvement of peripheral cannabinoid and opioid receptors in  $\beta$ -caryophyllene-induced antinociception. *Eur J Pain.* 2013;17:664–75.
20. Likar R, Schäfer M, Paulak F, et al. Intraarticular morphine analgesia in chronic pain patients with osteoarthritis. *Anesth Analg.* 1997;84:1313–7.
21. Zimmermann M. Ethical guidelines for investigations of experimental pain in conscious animals. *Pain.* 1983;16:109–10.
22. Brennan TJ, Vandermeulen EP, Gebhart GF. Characterization of a rat model of incisional pain. *Pain.* 1996;64:493–501.
23. Mogil JS. Animal models of pain: progress and challenges. *Nat Rev Neurosci.* 2009;10:283–94.
24. Mogil JS, Davis KD, Derbyshire SW. The necessity of animal models in pain research. *Pain.* 2010;151:12–7.
25. Stamer UM, Stuber F. Genetic factors in pain and its treatment. *Curr Opin Anaesthesiol.* 2007;20:478–84.
26. Gentilli ME, Chauvin M. Tramadol et prise en charge de la douleur. In: *Conférences d'Actualisation.* 2004. p. 715–22.
27. Kimura M, Obata H, Saito S. Antihypersensitivity effects of tramadol hydrochloride in a rat model of postoperative pain. *Anesth Analg.* 2012;115:443–9.
28. Ji RR, Zhang Q, Law PY, et al. Expression of  $\mu$ -,  $\delta$ -, and  $\kappa$ -opioid receptor-like immunoreactivities in rat dorsal root ganglia after carrageenan induced inflammation. *J Neurosci.* 1995;15:8156–66.
29. Mert T, Gunes Y, Guven M, et al. Comparison of nerve conduction blocks by an opioid and a local anesthetic. *Eur J Pharmacol.* 2002;439:77–81.
30. Mert T, Gunes Y, Ozcengiz D, et al. Comparative effects of lidocaine and tramadol on injured peripheral nerves. *Eur J Pharmacol.* 2006;543:54–62.
31. Bianchi M, Rossoni G, Sacerdote P, et al. Effects of tramadol on experimental inflammation. *Fundam Clin Pharmacol.* 1999;13:220–5.
32. Mert T, Gunes Y, Gunay I. Local analgesic efficacy of tramadol following intraplantar injection. *Eur J Pharmacol.* 2007;858:68–72.
33. Marincák R, Tóth BI, Czifra G, et al. The analgesic drug, tramadol. Acts as an agonist of the transient receptor potential vanilloid-1. *Anesth Analg.* 2008;106:1890–6.