



REVISTA BRASILEIRA DE ANESTESIOLOGIA

Publicación Oficial de la Sociedade Brasileira de Anestesiologia
www.sba.com.br



ARTÍCULO CIENTÍFICO

El efecto analgésico del tramadol no está mediado por receptores opiáceos en el dolor en ratones en el postoperatorio inmediato



Angela Maria Sousa y Hazem Adel Ashmawi*

Facultad de Medicina de la USP, Laboratorio de Investigación Médica – LIM-08, São Paulo, SP, Brasil

Recibido el 24 de mayo de 2014; aceptado el 26 de junio de 2014

Disponible en Internet el 30 de marzo de 2015

PALABRAS CLAVE

Tramadol;
Dolor en el
postoperatorio;
Receptores opiáceos;
Ratones Wistar

Resumen

Justificación y objetivos: Al tramadol se le conoce como un medicamento analgésico de acción central usado para el tratamiento del dolor moderado a intenso. El efecto analgésico local quedó demostrado, en parte, a causa del efecto similar al del anestésico local, pero otros mecanismos permanecen sin clarificar. El rol de los receptores opiáceos periféricos en el efecto analgésico local no se conoce. En este estudio, examinamos el papel de los receptores opiáceos periféricos en el efecto analgésico local del tramadol en un modelo de incisión plantar.

Métodos: Ratones Wistar, jóvenes y machos, fueron divididos en 7 grupos: control, tramadol intraplantar, tramadol intravenoso, tramadol intraplantar-naloxona intravenosa, tramadol intraplantar-naloxona intraplantar, tramadol intravenoso-naloxona intravenosa, y naloxona intravenosa. Después de recibir los medicamentos designados (5 mg de tramadol, 200 µg de naloxona o NaCl al 0,9%), los ratones fueron sometidos a la incisión plantar, y los umbrales de retirada de la pata posteriores a los estímulos mecánicos con filamentos de von Frey fueron evaluados al inicio del estudio y en los minutos 10, 15, 30, 45 y 60 después de la incisión.

Resultados: La incisión plantar conllevó hiperalgesia mecánica acentuada durante todo el período de observación en el grupo control; la hiperalgesia mecánica no fue observada en los grupos tramadol intraplantar, tramadol intraplantar-naloxona intraplantar, y tramadol intraplantar-naloxona intravenosa. En el grupo tramadol intravenoso, fue observado un aumento tardío del umbral de retirada (después de 45 min); los grupos tramadol intravenoso-naloxona intravenosa y naloxona intravenosa permanecieron hiperalgésicos durante todo el período.

Conclusiones: El tramadol presentó un efecto analgésico local inicial, disminuyendo la hiperalgesia mecánica inducida por la incisión plantar. Ese efecto analgésico no fue mediado por receptores opiáceos periféricos.

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

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: 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.

Introducción

El tramadol, (1-RS, 2RS)-2-[(dimetilamino)-metil]-1-(3-metoxifenil)-ciclohexanol clorhidrato, es un analgésico usado principalmente para el tratamiento del dolor moderado a intenso, y también del dolor agudo y crónico^{1,2}. Posee un efecto opiáceo débil y otro mecanismo diferente de acción a través de la reducción de la recaptación de los neurotransmisores monoaminérgicos (5-hidroxitriptamina y noradrenalina)³. Además, el tramadol presenta un efecto analgésico en los nervios periféricos que en parte se asemeja al del anestésico local⁴⁻⁶.

El efecto analgésico periférico del tramadol también fue identificado en humanos después de la infiltración para la extracción del tercer molar, procedimientos quirúrgicos menores en niños y como adyuvante en los anestésicos locales para reducir el dolor en el postoperatorio⁷⁻¹². Hace mucho tiempo que fueron descritos los receptores opiáceos periféricos y su papel en la analgesia en animales y humanos ya fue demostrado¹³⁻²⁰, pero poco se sabe sobre el efecto del tramadol mediado por un opiáceo periférico.

El objetivo de este estudio fue evaluar el papel de los receptores opiáceos en los efectos analgésicos del tramadol intraplantar en modelo de dolor postoperatorio.

Materiales y métodos**Animales**

Los experimentos fueron realizados después de la aprobación del Comité de Bioética del Hospital de Clínicas de la

Facultad de Medicina de la Universidad de São Paulo y de acuerdo con el Comité para Cuestiones Éticas en Investigación del IASP²¹. Todos los experimentos se hicieron con ratones Wistar machos, con un peso de 250 g, que fueron suministrados por el Criadero Central de la Facultad de Medicina de la Universidad de São Paulo. En total, 35 animales fueron usados en el estudio. Todos los experimentos comportamentales fueron realizados entre las 09:00 y las 12:00 h. Todos los animales fueron alojados en pares, en jaulas forradas, con acceso libre a la comida y al agua.

Incisión plantar

El modelo de incisión plantar en la pata posterior del ratón fue realizado como se describió anteriormente²². En resumen, los ratones fueron anestesiados con isoflurano al 2-3% administrado vía cono del hocico. La zona plantar de la pata trasera derecha fue preparada de modo estéril con una solución de povidona yodada al 10% y cubierta. Se hizo una incisión de 1 cm longitudinal con una cuchilla del número 11, a través de la piel y la fascia de la zona plantar de la pata del ratón, empezando a partir de 0,5 cm del borde proximal del talón y extendiéndose hacia los dedos de los pies. El músculo flexor fue elevado y recibió incisión longitudinalmente, y el origen e inserción del músculo permanecieron intactos. Después de la hemostasia con presión suave, la piel fue cerrada con 2 suturas sencillas de mononylon 5-0.

Hiperálgesia mecánica

Los ratones fueron colocados sobre un piso elevado de red de plástico en una jaula con una capa de plástico transparente.

Los animales podían deambular, explorar y eventualmente, descansar acostándose sobre la red. Para comprobar los comportamientos de dolor, fueron aplicados filamentos de von Frey calibrados (filamentos finos de plástico con fuerzas calibradas) por debajo de la jaula adyacente a la herida. Cada filamento fue aplicado una vez y continuamente hasta que se retirase una pata, lo que fue considerado como el umbral de retirada. En el estudio fueron utilizados filamentos con fuerzas de flexión de 5,9; 9,8; 13,7; 19,7; 39,2; 58,8; 78,4; 98, 147, 255, 588 y 980 mN.

Diseño experimental

Después de la evaluación de los umbrales de retirada pre-incisión para hiperalgesia mecánica, los animales fueron divididos en 7 grupos experimentales de 5 animales cada uno: 1) control, 50 μ L de solución de NaCl al 0,9% inyectados en la zona plantar de la pata trasera derecha, y 5 min después, otros 50 μ L de solución de NaCl al 0,9% fueron reinyectados; 2) administración intraplantar de tramadol, 50 μ L de solución de NaCl al 0,9% inyectados en la zona plantar de la pata trasera derecha y después de 5 min, 5 mg de tramadol (20 mg/kg) disueltos en 50 μ L de NaCl al 0,9% administrados en la zona plantar de la pata trasera derecha; 3) administración de tramadol por vía intravenosa, 50 μ L de solución de NaCl al 0,9% inyectados en la zona plantar de la pata trasera derecha y después de 5 min, 5 mg de tramadol inyectados en la vena dorsal del pene; 4) administración naloxona intravenosa-tramadol intraplantar, 200 μ g de naloxona inyectados en la vena dorsal del pene 5 min antes de 5 mg de tramadol disuelto en 50 μ L de NaCl al 0,9% en la zona plantar de la pata trasera derecha; 5) administración de naloxona intraplantar-tramadol intraplantar), 200 μ g de naloxona inyectados en la pata trasera derecha 5 min antes de tramadol intraplantar; 6) administración de naloxona intravenosa-tramadol, 200 μ g de naloxona inyectados en la vena dorsal del pene 5 min antes de 5 mg de tramadol disuelto en 50 μ L de NaCl al 0,9% inyectados en la vena dorsal del pene; 7) administración de naloxona intravenosa, 200 μ g de naloxona inyectados en la vena dorsal del pene y 50 μ L de NaCl al 0,9% inyectados en la pata. Todas las inyecciones se hicieron bajo anestesia general con isoflurano al 2-3%. Los animales se mantuvieron anestesiados y 5 min después de la segunda inyección fueron sometidos a la incisión plantar. En cuanto los animales se recuperaron, los test fueron iniciados y realizados 10, 15, 30, 45 y 60 min después de la recuperación de la anestesia. Al final de los experimentos, los animales fueron sometidos a la eutanasia con una dosis letal de tiopental sódico.

Medicamentos

Clorhidrato de tramadol y clorhidrato de naloxona que fueron suministrados por Cristália Prod. Quím. Farm, São Paulo, SP, Brasil.

Análisis estadístico

Todos los datos fueron analizados usando el software Prism 5.0 (GraphPad Software, Inc., EE. UU.). Los umbrales de

retirada a estímulos mecánicos no son continuos y fueron analizados con test no paramétricos. Los datos fueron expresados como mediana e intervalo intercuartílico. Las diferencias fueron determinadas por el test de Kruskal-Wallis, seguido del test *post hoc* de Dunn para comparación del umbral de retirada de la pata.

Resultados

La incisión plantar conllevó hiperalgesia mecánica durante todo el período de observación. En el grupo control, la mediana del umbral de retirada para los filamentos de von Frey disminuyó de 980 a 39 mN después 10 min y a 98 mN después 60 min; en el grupo tramadol intraplantar, la mediana del umbral de retirada fue 980 mN durante todo el período; en el grupo tramadol intravenoso, la mediana disminuyó de 980 a 59 mN después de 10 min, aumentando después de 45 min a 255 mN; en el grupo naloxona intraplantar-tramadol intraplantar, la mediana del umbral de retirada fue de 980 mN durante los 60 min de observación (fig. 1).

En el grupo naloxona intravenosa-tramadol intraplantar, la mediana del umbral de retirada varió de 588 a 980 mN a lo largo de todo el período de observación; en el grupo naloxona intravenosa-tramadol intravenoso, la mediana fue de 980 a 59 mN, permaneciendo hiperálgico a los 60 min; en el grupo naloxona intravenosa, la mediana pasó de 980 a 20 mN a los 60 min de la inyección, y la mediana fue diferente de la del grupo control de los 15 a los 60 min (fig. 2).

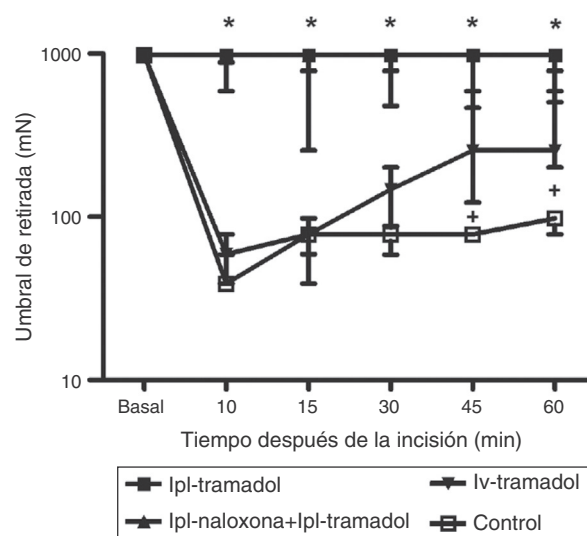


Figura 1 Umbrales de retirada al estímulo mecánico después de la administración intraplantar (lpl) o intravenosa (lv) de tramadol. Los umbrales de retirada fueron mayores en los grupos lpl-tramadol e lpl-naloxona+lpl-tramadol; el grupo lv-tramadol presentó analgesia tardía después de 45 min de inyección. Los datos fueron expresados como mediana \pm intervalo intercuartílico (percentil 25-75); $p < 0,05$. *lpl-tramadol e lpl-naloxona+lpl-tramadol diferentes del control; *lv-tramadol diferente del control.

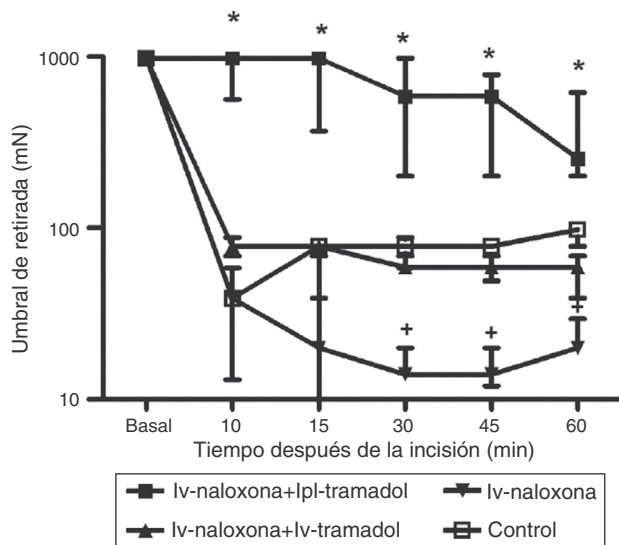


Figura 2 Umbrales de retirada al estímulo mecánico después de la administración de naloxona con o sin tramadol. Los umbrales de retirada fueron mayores en el grupo Iv-naloxona + lpl-tramadol; el grupo Iv-naloxona + lv-tramadol no fue diferente del grupo control y los umbrales de retirada fueron menores en el grupo naloxona que en el grupo control después de 25 min de inyección. Los datos fueron expresados como mediana \pm intervalo intercuartílico (percentil 25-75); $p < 0,05$. *Iv-naloxona + lpl-tramadol diferente del control; *naloxona diferente del control. lpl, administración intraplantar; lv administración intravenosa.

Discusión

El uso de modelos experimentales de dolor está bajo investigación a causa del fracaso parcial de la traducción de los resultados obtenidos experimentalmente para situaciones clínicas y reales^{23,24}. El desarrollo y la búsqueda de modelos que imiten escenarios clínicos son muy importantes. En este estudio usamos el modelo de incisión plantar, un modelo de dolor postoperatorio usado en las 2 últimas décadas que trae al ambiente experimental una situación clínica de dolor postoperatorio relevante. La característica clínica prominente del dolor postoperatorio es la hiperalgesia mecánica o anodinia mecánica, así que decidimos observar esa modalidad de dolor.

Los resultados obtenidos demostraron un efecto analgésico del tramadol intraplantar en el modelo de dolor postoperatorio usado. El efecto analgésico permaneció durante todo el período de observación y aumentó los umbrales de retirada de la pata más que el tramadol intravenoso. El tramadol es conocido por ser un medicamento atípico, con diferentes mecanismos de acción para alcanzar la analgesia. Cuando se usa sistémicamente, el tramadol es metabolizado por el citocromo P450 (CYP) 2D6, y su metabolito principal es el mono-o-desmetil-tramadol (M1), responsable del efecto analgésico sistémico^{3,25}. Su efecto analgésico se observa 20-40 min después de la ingestión oral²⁶. En el presente estudio, el tramadol intravenoso disminuye la hiperalgesia 45 min después de la inyección, el tiempo esperado para la analgesia sistémica del tramadol. Sin embargo, el tramadol intraplantar en la misma dosis

bloqueó la hiperalgesia desde el inicio y durante todo el período de observación. Esos resultados indican que el fármaco parental, tramadol, presenta un efecto analgésico más precoz, expresado inmediatamente después de su inyección, un efecto que parece ser local, ya que el efecto analgésico observado después de la aplicación intravenosa no logró inducir la analgesia precoz. El efecto local observado no parece ser mediado por receptores opiáceos; no se vio una reducción de la analgesia después de la naloxona tanto intraplantar como intravenosa. En otro estudio, el efecto analgésico del tramadol en el mismo modelo de dolor postoperatorio fue antagonizado con naloxona, pero las vías usadas fueron la intraperitoneal e intratecal, y los efectos analgésicos en el sistema nervioso central se deben a la clásica disminución de la recaptación de monoaminas y efectos mediados por opiáceos^{3,26,27}. Aunque nuestros resultados no hayan encontrado una acción de los opiáceos periféricos, no podemos excluir un efecto analgésico local del opiáceo tramadol que ocurre más tarde. Se ha demostrado que existe un aumento de la expresión del receptor opiáceo μ (MOR) sintetizado en el ganglio de la raíz dorsal, después de conducidos para las terminaciones nerviosas después de la inyección intraplantar de carragenina²⁸. La suprarregulación de MOR en los ganglios de la raíz dorsal fue mayor un día después de la inyección, reduciéndose al tercer día. La carragenina intraplantar induce un comportamiento de dolor que disminuye 4 h después de la inyección. El dolor postoperatorio en el modelo de incisión plantar alcanza el pico en un día y dura hasta 5 días, cuando los umbrales térmicos y mecánicos son similares a los de la fase basal²⁰. La expresión de MOR puede ocurrir más tarde en ese modelo de dolor, lo que puede afectar el papel del receptor opiáceo periférico. Un dato interesante observado ocurrió en el grupo naloxona intravenosa, en el cual los umbrales fueron más bajos que en el grupo control, indicando que la naloxona antagonizó los opiáceos endógenos en la primera hora después de la incisión, conllevando un aumento del comportamiento del dolor después de la estimulación mecánica.

El efecto analgésico local del tramadol mostró ser similar al del anestésico local^{4-6,29,30}. Los mecanismos involucrados en esa acción periférica todavía no se comprenden muy bien. Existen informes del efecto antiinflamatorio débil y el efecto dependiente de calcio para tramadol^{31,32}. Curiosamente, el tramadol también actúa como un agonista del receptor transitorio potencial del canal vaniloide-1, tal vez presentando, hasta cierto punto, un efecto pronociceptivo³³.

Los resultados de este estudio indican que el tramadol tiene un efecto analgésico local precoz, disminuyendo la hiperalgesia mecánica inducida por la incisión plantar. Ese efecto no está mediado, en la primera hora, por los receptores opiáceos periféricos.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Bibliografía

1. Dayer P, Desmeules J, Collart L. Pharmacologie du tramadol. *Drugs*. 1997;53 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;10:237S–45S.
14. Stein C, Yassouridis A. Peripheral morphine analgesia. *Pain.* 1997;71:119–21.
15. Hervera A, Negrete R, Leánez S, et al. Peripheral effects of morphine and expression of μ -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 κ 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 β -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. En: *Conférences d'Actualisation.* 2004. p. 715–722.
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 μ -, δ -, and κ -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.