

**Débora Maria Marques Callado de Oliveira**

**EFEITO ANTINOCICEPTIVO E ANTIEDEMATOGÊNICO DO  
TRAMADOL NOS MODELOS DE OSTEOARTRITE E ARTRITE  
REATIVA**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Farmacologia do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Santa Catarina, para a obtenção do Grau de Mestre em Farmacologia.

Orientador: Prof. Dr. Carlos Rogério Tonussi

Florianópolis

2017



**Débora Maria Marques Callado de Oliveira**

**EFEITO ANTINOCICEPTIVO E ANTIEDEMATOGÊNICO DO  
TRAMADOL NOS MODELOS DE OSTEOARTRITE E ARTRITE  
REATIVA**

Esta dissertação foi julgada adequada para obtenção do Título de Mestre em Farmacologia, e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-Graduação em Farmacologia.

Florianópolis, de de 2017.

---

Prof. Dr. Jamil Assreuy  
Coordenador do Curso

Banca Examinadora:

---

Prof. Dr. Carlos Rogério Tonussi  
Orientador  
Universidade Federal de Santa Catarina

---

Prof. Dr. Adair Roberto Soares dos Santos  
Universidade Federal de Santa Catarina

---

Prof. Dr. Alfeu Zanotto Filho  
Universidade Federal de Santa Catarina

---

Prof. Dr. José Eduardo da Silva Santos  
Universidade Federal de Santa Catarina



Dedico este trabalho aos meus pais, como  
forma de agradecimento pelo incentivo e  
apoio incondicionais.



## AGRADECIMENTOS

Ao professor e orientador Dr. Carlos Rogério Tonussi, pelos ensinamentos e oportunidade de fazer parte de sua equipe de pesquisa e de conhecer mais intensamente essa fascinante área da neurobiologia da nocicepção, pela qual me encantei.

Aos meus pais, Gilberto e Miriam, pelo amor incondicional e incentivo para seguir neste caminho, mesmo que muitas vezes precisando renunciar a convivência em família. Não há conquistas sem dedicação.

As minhas companheiras de laboratório e amigas nesta jornada, Marcele, Vanessa, Taciane, Elba e Aline. Em especial as minhas “coorientadoras” Maíra e Flora. Obrigada a todas pelo grande apoio e por tornarem meus dias mais doces durante esses anos.

As amigas queridas que o “cursão” da Farmacologia me deu, Clarissa e Daiana. Que nossa amizade perdure por muitos anos e possamos dar sempre boas risadas de nossas histórias.

Aos colegas professores do curso de Medicina Veterinária da UNISUL de Tubarão, em especial aos amigos veterinários do Hospital Veterinário UNISUL, pelo apoio e compreensão pelas faltas na rotina do hospital nesses dois anos. Não foi fácil assumir dois compromissos tão importantes ao mesmo tempo, mas tenho certeza que me ajudaram muito a crescer e espero poder contribuir daqui para frente com essa importante conquista.

A todos os professores e funcionários do Departamento de Farmacologia pela atenção e ensinamentos.

Aos animais que possibilitaram a realização deste trabalho, meu respeito.

A nossa Senhora, mãe de Deus, que me guiou e protegeu durante toda esta caminhada, me ajudando a manter a fé e perseverança para obter a graça dessa conquista.





“A mente que se abre a uma nova  
ideia jamais voltará ao seu tamanho original”

- Albert Einstein



## RESUMO

A osteoartrite (OA) e a artrite reativa (ReA) são artropatias que apresentam importante impacto social, médico e econômico mundial, devido a dor incapacitante que se desenvolve como principal sintoma. Recentemente, devido ao grande número de efeitos adversos observados com o uso de analgésicos e anti-inflamatórios administrados para o tratamento das doenças articulares, o tramadol foi proposto como analgésico de primeira escolha em diferentes condições musculoesqueléticas por fornecer analgesia multimodal e com melhor perfil de segurança que opioides convencionais. A escolha de um analgésico com mínimos efeitos colaterais, aliada à administração pela via intratecal, que permite a modulação da transmissão nociceptiva ao nível espinhal, pode ser um tratamento com significativas vantagens. O presente estudo objetivou demonstrar o efeito analgésico e antiedematogênico do tramadol administrado pela via intratecal no modelo de OA induzida por iodoacetato monossódico (MIA) e ReA induzida por carragenina/LPS. Os resultados demonstraram que a administração intratecal de tramadol reduz a incapacitação e o edema articular induzidos pelo MIA e LPS, confirmando o efeito antinociceptivo do tramadol evidenciado em outros modelos de dor e testes clínicos. Foi também proposto que este analgésico pode inibir o processo inflamatório, contudo, os mecanismos exatos da ação do tramadol na medula espinhal ainda não estão completamente elucidados. O tramadol foi capaz de inibir a nociceção e o edema articular nos modelos de OA e ReA, sugerindo que este fármaco pode ser efetivo no tratamento de artropatias como a OA e a ReA. Até onde é de nosso conhecimento, este trabalho é o primeiro a relatar o efeito simultâneo antinociceptivo e antiedematogênico do tramadol intratecal em modelos de OA e ReA. Além disso, este estudo demonstra que a administração do tramadol pela via intratecal pode ser uma alternativa ao tratamento pela via oral nas artropatias, proporcionando melhor eficácia e redução da quantidade de fármaco necessária para o efeito analgésico.

**Palavras-chave:** Artrite, edema, intratecal, tramadol.



## ABSTRACT

Osteoarthritis (OA) and reactive arthritis (ReA) are both threatening kinds of arthropaties which bring significant social, medical and economic burden, mainly due to the incapacitating pain among a multitude of symptoms. Recently, tramadol has been proposed as a first choice analgesic in several musculoskeletal diseases for its analgesic features associated with a lower side-effects profile than conventional analgesic and anti-inflammatory drugs. In addition, the use of intrathecal route for drug administration may even enhance the analgesic effects with further protection against systemic side-effects. The aim of the present study was to test the analgesic and anti-edematogenic effects of tramadol given by the intrathecal route in the monosodic iodoacetate (MIA) and carrageenan/LPS models of arthritis in rats, as an approach of osteoarthritis and reactive arthritis, respectively. Tramadol diminished both incapacitation and articular edema produced by MIA and LPS confirming its analgesic effect and also evidencing an anti-edematogenic property when given by intrathecal route. Such effects were obtained with doses at least a hundred times lower than systemic doses. In conclusion, tramadol given by intrathecal route was suggested to produce a better overall therapeutic effect than systemic administration, at least in the present experimental arthritis models. The lower doses needed to obtain such therapeutic effects also suggest the risk of systemic side-effects is lesser than that expected with oral or intravenous dosages.

**Keywords:** Arthritis, edema, intrathecal, tramadol.



## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1:</b> Ilustração comparativa das características anatomofisiológicas de articulação saudável, com osteoartrite e artrite reativa.....	26
<b>Figura 2:</b> Ilustração da via da dor.....	35
<b>Figura 3:</b> Resumo do efeito do tramadol sobre os receptores acoplados à proteína G, transportadores de aminas e canais iônicos.....	40
<b>Figura 4:</b> Foto ilustrativa da injeção intra-articular na articulação fêmuro-tíbio-patelar .....	47
<b>Figura 5:</b> A: Foto ilustrativa do cilindro usado para o registro da incapacitação articular. B: Foto ilustrativa da sapatilha metálica encaixada no membro .....	49
<b>Figura 6:</b> Protocolo experimental do modelo de osteoartrite.....	50
<b>Figura 7:</b> Protocolo experimental do modelo de artrite reativa..	50
<b>Figura 8:</b> Foto ilustrativa da medida do diâmetro articular (DA) com paquímetro .....	51
<b>Figura 9:</b> Foto ilustrativa da injeção intratecal .....	52
<b>Figura 10:</b> Incapacitação e edema articular induzidos por MIA (2 e 3 mg).....	56
<b>Figura 11:</b> Incapacitação e edema articular induzidos por MIA (1 e 2 mg) .....	57
<b>Figura 12:</b> Efeito do tramadol intratecal sobre a incapacitação e o edema articular em ratos com osteoartrite induzida por MIA ....	60
<b>Figura 13:</b> Efeito da dose de 10 µg de tramadol aplicada pela via subcutânea sobre a incapacitação articular em ratos com osteoartrite induzida por MIA .....	61
<b>Figura 14:</b> Efeito do tramadol via oral sobre a incapacitação e o edema articular em ratos com osteoartrite induzida por MIA .....	62
<b>Figura 15:</b> Efeito do tramadol intratecal sobre a incapacitação e o edema articular em ratos com artrite induzida por carragenina e LPS .....	63

<b>Figura 16:</b> Efeito do tramadol intratecal sobre a incapacitação e o edema articular em ratos com artrite induzida por carragenina e LPS (0,01 µg) .....	64
<b>Figura 17:</b> Efeito do tramadol via oral sobre a incapacitação e o edema articular em ratos com artrite induzida por carragenina e LPS.....	65
<b>Figura 18:</b> Efeito do tramadol via oral sobre a incapacitação e o edema articular em ratos com artrite induzida por carragenina e LPS (0,05 mg/kg) .....	66
<b>Figura 19:</b> Comparação do efeito do tramadol intratecal nos modelos de osteoartrite induzida por MIA e artrite induzida por LPS sobre a incapacitação e o edema articular .....	67
<b>Figura 20:</b> Comparação do efeito do tramadol oral nos modelos de osteoartrite induzida por MIA e artrite induzida por LPS sobre a incapacitação e o edema articular .....	68



## LISTA DE ABREVIATURAS

<b>μOPR</b>	receptor μ opioide
<b>5-HT</b>	5-hidroxitriptamina (serotonina)
<b>5-HT<sub>2c</sub>R</b>	receptor de serotonina tipo 2C
<b>ACh</b>	acetilcolina
<b>AINE</b>	anti-inflamatório não esteroidal
<b>AMPc</b>	adenosina monofosfato cíclico
<b>ATP</b>	adenosina trifosfato
<b>Ca<sup>+2</sup></b>	cálcio
<b>CGRP</b>	peptídeo relacionado ao gene da calcitonina
<b>Cl<sup>-</sup></b>	cloreto
<b>COX</b>	ciclooxigenase
<b>CYP 3A4</b>	citocromo hepático p450 3A4
<b>CYP2D6</b>	citocromo hepático p450 2D6
<b>DA</b>	diâmetro articular
<b>DMARD</b>	fármaco modificador de doença
<b>EMA</b>	agência europeia de medicamentos
<b>EpA</b>	espondiloartrites
<b>FDA</b>	<i>food and drug administration</i>
<b>FMLP</b>	peptídeo quimiotático formil-metionil-leucil-fenilalanina
<b>GABA</b>	ácido gama aminobutírico
<b>GAPDH</b>	gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase
<b>GMPc</b>	guanosina monofosfato cíclico
<b>GRD</b>	gânglio da raiz dorsal
<b>HIF-2α</b>	fator de transcrição 2 alfa induzível por hipóxia
<b>HLA-B27</b>	antígeno leucocitário humano B27
<b>IL</b>	interleucina
<b>INF-γ</b>	Interferon gama
<b>K<sup>+</sup></b>	potássio
<b>LPS</b>	lipopolissacarídeo
<b>M1</b>	metabólito O-desmetiltramadol
<b>M<sub>1</sub></b>	receptor muscarínico tipo 1
<b>M2</b>	metabólito N-desmetiltramadol
<b>M<sub>3</sub></b>	receptor muscarínico tipo 3
<b>MCH</b>	complexo de histocompatibilidade maior
<b>MEC</b>	matriz extracelular
<b>MIA</b>	iodoacetato monossódico
<b>MMP</b>	metaloproteinases

<b>Na<sup>+</sup></b>	sódio
<b>nAChR(α7)</b>	receptor nicotínico da acetilcolina alfa 7
<b>NET</b>	transportador de norepinefrina
<b>NKCC1</b>	cotransportador de sódio, potássio e cloreto
<b>NO</b>	óxido nítrico
<b>NS</b>	neurônio nociceptor específico
<b>OA</b>	osteoartrite
<b>PAD</b>	despolarização do aferente primário
<b>PAG</b>	substância cinzenta periaquedutal
<b>PB</b>	área parabraqueal
<b>PKA</b>	proteína quinase A
<b>PKC</b>	proteína quinase C
<b>ReA</b>	artrite reativa
<b>RRD</b>	reflexo da raiz dorsal
<b>RVM</b>	medula rostral ventromedial
<b>SET</b>	transportador de serotonina
<b>SNC</b>	sistema nervoso central
<b>TEP</b>	tempo de elevação de pata
<b>TNFα</b>	fator alfa de necrose tumoral
<b>WDR</b>	neurônio de ampla faixa dinâmica

## SUMÁRIO

<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>21</b>
1.1 DOENÇAS ARTICULARES .....	21
1.1.1 Osteoartrite .....	21
1.1.2 Artrite reativa .....	23
1.1.3 Dor inflamatória nas artropatias .....	26
1.1.4 Tratamento das artropatias .....	29
1.2 TRAMADOL .....	32
1.2.1 Efeito analgésico multimodal .....	33
1.3 APLICAÇÃO INTRATECAL DE ANALGÉSICOS .....	41
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	<b>43</b>
2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	43
<b>3 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>45</b>
3.1 ANIMAIS .....	45
3.2 DROGAS E REAGENTES .....	45
3.3 MODELO EXPERIMENTAL DE OSTEOARTRITE INDUZIDA POR MIA .....	46
3.4 MODELO EXPERIMENTAL DE ARTRITE REATIVA INDUZIDA POR CARRAGENINA E LPS .....	47
3.5 TESTE ALGESIMÉTRICO DE INCAPACITAÇÃO ARTICULAR .....	48
3.6 MENSURAÇÃO DO EDEMA ARTICULAR .....	51
3.7 INJEÇÃO INTRATECAL .....	51
3.8 ADMINISTRAÇÃO POR GAVAGEM .....	53
3.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	53
<b>4 RESULTADOS</b> .....	<b>55</b>
4.1 EFEITO DO MIA NA INCAPACITAÇÃO E EDEMA ARTICULAR .....	55

<b>4.1.1 Baixa concentração de MIA</b> .....	57
4.2 EFEITO DO TRAMADOL INTRATECAL NO MODELO DE OSTEOARTRITE INDUZIDA POR MIA .....	59
<b>4.2.1 Efeito do tramadol aplicado pela via subcutânea</b> .....	60
4.3 EFEITO DO TRAMADOL VIA ORAL NO MODELO DE OSTEOARTRITE INDUZIDA POR MIA .....	61
4.4 EFEITO DO TRAMADOL INTRATECAL NO MODELO DE ARTRITE INDUZIDA POR CARRAGENINA E LPS .....	62
4.5 EFEITO DO TRAMADOL VIA ORAL NO MODELO DE ARTRITE INDUZIDA POR CARRAGENINA E LPS .....	64
4.6 COMPARAÇÃO DO EFEITO DO TRAMADOL INTRATECAL NOS MODELOS DE OSTEOARTRITE E ARTRITE REATIVA .....	66
4.7 COMPARAÇÃO DO EFEITO DO TRAMADOL ORAL NOS MODELOS DE OSTEOARTRITE E ARTRITE REATIVA .....	68
<b>5 DISCUSSÃO</b> .....	<b>71</b>
<b>6 CONCLUSÃO</b> .....	<b>83</b>
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>85</b>

## INTRODUÇÃO

### 1.1 DOENÇAS ARTICULARES

As condições musculoesqueléticas compreendem mais de 150 doenças e síndromes que são frequentemente progressivas e associadas à dor. São classificadas como artropatias, incapacidade física, desordens espinhais e condições resultantes de traumas. Dentre as alterações com maior impacto na sociedade, incluem-se a osteoartrite, a artrite reumatoide, as espondiloartropatias (artrite reativa), a osteoporose, as desordens espinhais e o trauma em membros (Who, 2003). A osteoartrite é a forma mais prevalente, chegando a acometer 30% da população adulta, a artrite reumatoide cerca de 1% e as artrites reativas, pertencentes ao grupo das espondiloartropatias, 0,5% da população mundial (Helmick *et al.*, 2008; Tobón *et al.*, 2010).

Essas condições representam crescente impacto social, médico e econômico mundial, refletindo na causa mais comum de dor e incapacidade física (Brooks, 2006).

#### 1.1.1 Osteoartrite

A osteoartrite (OA) é a forma mais comum de doença articular, caracterizada pela alteração funcional das articulações sinoviais resultante de eventos mecânicos e biológicos que interferem na homeostase das células da matriz extracelular (MEC) da cartilagem e do osso subcondral (Sharma *et al.*, 2006).

Fatores de risco como gênero, idade, trauma, genética e obesidade contribuem para iniciar o processo de lesão nos diferentes componentes da articulação (Krasnokutsky *et al.*, 2008). Clinicamente, a doença é caracterizada por dor crônica articular associada à crepitação, rigidez e limitação de movimentos, com eventual efusão articular e graus variáveis de inflamação local (Altman *et al.*, 1986).

Comumente considerada uma patologia degenerativa característica do envelhecimento, na era genômica a OA pode ser classificada como doença inflamatória, caracterizada pela liberação e ativação de mediadores celulares tóxicos que promovem lesão tecidual, resultando em alguns sinais clássicos da inflamação como a perda da função (Attur *et al.*, 2002).

Embora a cartilagem articular tenha grande importância no estudo da OA devido à significativa destruição que ocorre no tecido cartilaginoso e a quantidade de processos biológicos nela ativados, a OA é considerada uma patologia de toda a articulação, incluindo alterações no osso subcondral, ligamentos, cápsula e membrana sinovial, evoluindo para a incapacitação articular (Martel-Pelletier *et al.*, 2016).

A sinovite, caracterizada por hiperplasia da sinóvia e infiltrados de linfócitos T e B, é uma característica comum da OA e ocorre desde as fases iniciais da doença; acredita-se que secundária à liberação de fragmentos da MEC da cartilagem no líquido sinovial resultando na liberação de mediadores inflamatórios e consequente degradação da cartilagem articular, gerando um ciclo ininterrupto (Martel-Pelletier, 2004). Condrócitos disfuncionais e danos na cartilagem possuem papel fundamental no desenvolvimento da inflamação sinovial (Martel-Pelletier *et al.*, 2016). Os condrocitos presentes na articulação com OA liberam mediadores inflamatórios capazes de iniciar e perpetuar a lesão tecidual (Attur *et al.*, 2002). Citocinas pró-inflamatórias, como a interleucina-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), fator de necrose tumoral (TNF- $\alpha$ ) e IL-6 podem ser detectadas no líquido sinovial, na sinóvia e na cartilagem de pacientes com AO, enquanto estão ausentes em articulações saudáveis (Kapoor *et al.*, 2011). As IL-1 $\beta$  e TNF- $\alpha$  são potentes reguladores de processos catabólicos nos condrocitos e células sinoviais, estimulando enzimas proteolíticas como as metaloproteinases (MMP), que tem como alvo o colágeno tipo II, entre outros substratos (Troeberg e Nagase, 2012;

Moon e Beier, 2015). No entanto, o papel exato destas citocinas na patogênese da AO ainda deve ser estabelecido (Martel-Pelletier *et al.*, 2016).

Mais recentemente, estudos mostraram outros fatores implicados na patogênese da OA além do processo proteolítico. A cartilagem é um tecido avascular e aneural, o que torna a regulação energética celular importante para a sobrevivência do condrócito. O oxigênio está disponível através de difusão simples pelo líquido sinovial ou osso subcondral, por conseguinte, existem condrócitos em hipóxia que necessitam de um mecanismo específico para a sobrevivência nestas condições. O fator de transcrição induzível por hipóxia  $2\alpha$  (HIF- $2\alpha$ ) é um mediador implicado na patogênese da OA, associado à destruição da cartilagem através da indução de IL-6 e aumento da expressão de enzimas proteolíticas (Schipani, 2005; Ryu *et al.*, 2011). A avascularidade da cartilagem também possui efeitos profundos na disponibilidade de nutrientes para os condrócitos. A autofagia é um mecanismo para a sobrevivência dos condrócitos durante demandas metabólicas alteradas, também associada à patogenia da OA (Caramés *et al.*, 2010; Moon e Beier, 2015).

### **1.1.2 Artrite reativa**

A artrite reativa (ReA) está inserida no grupo das espondiloartrites (EpA), que constituem nas doenças musculoesqueléticas de origem imunológica e que afetam predominantemente o esqueleto axial, podendo também acometer as articulações periféricas, tendões e inserções ligamentares (enteses). O conjunto das EpA compreende a ReA, a espondilite anquilosante, a artrite psoriásica, as espondiloartrites indiferenciadas e as artrites associada às doenças inflamatórias do intestino (Rudwaleit, 2010).

A prevalência das EpA varia de 1 a 1,4% da população mundial, dependendo da região geográfica estudada (Ehrenfeld, 2010). De acordo com estudos

populacionais, a incidência anual da ReA é de 0,6 a 27 casos em 100.000 adultos (Hannu, 2011) e alguns estudos vem demonstrando que as EpA podem ser mais prevalentes do que tem-se estimado, possuindo um claro impacto sócio-econômico (Braun *et al.*, 2002).

A ReA é caracterizada por um episódio artrítico agudo, periférico e asséptico, desenvolvendo-se de 1 a 4 semanas após uma infecção primária extraarticular. O termo reativa, refere-se ao desenvolvimento da artrite após infecção bacteriana, geralmente em trato gastrointestinal por bactérias Gram negativas (*Shigella*, *Salmonella*, *Yersinia* ou *Campylobacter*) ou no trato genitourinário por *Chlamydia trachomatis*, não havendo uma especificidade clara para o fator desencadeante da doença (Brebant *et al.*, 2000; Appel *et al.*, 2004). Foi demonstrado que antígenos bacterianos difundem-se para a articulação, possivelmente dando início à resposta local (Granfors *et al.*, 1989).

De fato, as bactérias que causam ReA possuem em sua membrana lipopolissacarídeos (LPS), que foram detectados em células do fluido sinovial de articulações afetadas por ReA (Granfors *et al.*, 1990), sugerindo importante papel na patogênese da doença devido a patogenicidade que confere à bactéria e sua modulação no sistema imune através da ativação policlonal de células linfoides, ativação de macrófagos, entre outras (Sieper *et al.*, 2000). Em modelos animais, a administração de LPS intra-articular representa um importante estimulador de macrófagos, levando à síntese e liberação de citocinas pró-inflamatórias (p. ex., TNF $\alpha$ , IL-1 $\beta$  e IL-6), resultando em um processo artrítico agudo de curta duração (Stimpson *et al.*, 1987). Sugere-se que um ambiente imunológico específico em pacientes com ReA, poderia dificultar a eliminação de bactérias no foco primário de infecção, aumentando assim a possibilidade de migração dos componentes bacterianos para as articulações (Appel *et al.*, 2004).

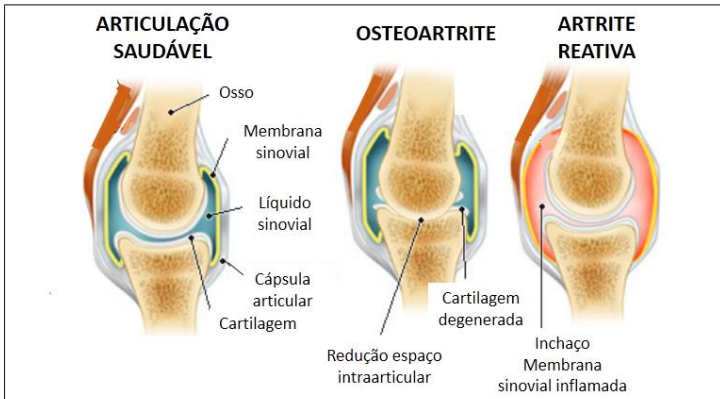
Existe também importante associação das EpA com um alelo do complexo de histocompatibilidade maior (MHC)



classe-I, o antígeno leucocitário humano B27 (HLA-B27). A positividade ao HLA-B27 é considerada um marcador de risco para o desenvolvimento de artrite e também para o envolvimento do esqueleto axial e maior agressividade da doença (Leirisalo-Repo, 2005; Hamdulay *et al.*, 2006). No entanto, existem outros fatores com impacto sobre o início da doença, como os fatores ambientais e outros fatores genéticos, incluindo outros alelos do MHC (Wagener *et al.*, 1984; Brown *et al.*, 1998; Londono *et al.*, 2015). Novas tecnologias estão permitindo o diagnóstico precoce e exame mais específico de susceptibilidade à doença, que ressaltam a natureza poligênica das EpA (Cortes *et al.*, 2013).

A síndrome clínica é caracterizada por artrite, uretrite, conjuntivite e lesões mucocutâneas. É uma doença multissistêmica desencadeada pela resposta imune do hospedeiro após exposição a um antígeno. As manifestações clínicas iniciais podem durar 5 meses e após este período, a ReA ter remissão completa. No entanto, em mais da metade dos pacientes acometidos os sintomas musculoesqueléticos persistem por mais de um ano.

A doença pode se manifestar de forma localizada e leve ou de forma grave e multissistêmica. O envolvimento articular varia desde monoartrite transitória até poliartrite com acometimento axial. A manifestação clínica mais comum é a presença de oligoartrite aguda e assimétrica dos membros inferiores, principalmente joelhos, calcanhares e articulações metatarsofalangianas (Figura 1) (Hamdulay *et al.*, 2006).



**Figura 1:** Ilustração comparativa das características anatomofisiológicas de articulação saudável, com osteoartrite e artrite reativa. Na articulação saudável, observa-se os componentes articulares inalterados. Na osteoartrite, ocorre principalmente a degeneração da cartilagem, ocorrendo a redução do espaço intra-articular. Na artrite reativa, ocorre principalmente a inflamação da membrana sinovial e consequente edema articular. Modificado de MedicinaNet, Inc.

### 1.1.3 Dor inflamatória nas artropatias

A dor é a manifestação clínica mais importante e incapacitante nas artropatias (Felson, 2005). Apesar da cartilagem articular não ser inervada, foi demonstrada a presença de fibras nervosas aferentes na cápsula articular, sinóvia, periósteo, osso subcondral, ligamentos e tendões próximos à articulação, sugerindo que danos em qualquer porção da estrutura articular podem estimular esses aferentes nociceptivos, provocando dor (Schaible e Grubb, 1993).

A articulação é inervada por quatro tipos diferentes de fibras nervosas; fibras do tipo I e II ( $A\beta$ ) de maior diâmetro, fibras do tipo III, ( $A\delta$ ) pouco mielinizadas, e do tipo

IV (fibras C), não-mielinizadas. As fibras A $\beta$  são os mecanorreceptores de baixo limiar e estão associadas ao movimento não-nocivo (Grubb, 2004). As fibras A $\delta$  e C, são os nociceptores primários, ativados por movimentos nocivos ou manipulação da articulação. Quando estimulados, os neurônios aferentes primários articulares fazem sinapse com neurônios secundários no corno dorsal da medula espinhal através da liberação de neurotransmissores, como o peptídeo relacionado ao gene da calcitonina (CGRP) e a substância P (Felson, 2005), conduzindo a informação até o sistema nervoso central (SNC) supraespinhal, onde será interpretada no córtex como sensação de dor (Millan, 1999).

No entanto, na presença de inflamação articular, comum nas artropatias, ocorrem importantes alterações na função do sistema nervoso, denominadas de neuroplasticidade. Este fenômeno ocorre periféricamente por redução do limiar de ativação dos nociceptores e centralmente, pela responsividade aumentada da medula espinhal aos estímulos sensoriais (Schaible, 2007). Como consequência, ocorrem manifestações conscientes como aumento da intensidade de resposta a estímulos nocivos (hiperalgesia) ou aumento da sensibilidade a estímulos não-nocivos (alodinia). Durante o desenvolvimento da inflamação, as fibras A $\beta$  respondem de forma aguda e transitória durante a manipulação articular, que cessam dentro de poucas horas. Em contrapartida, as fibras A $\delta$  e C podem demonstrar atividade espontânea na ausência de manipulação articular e resposta exagerada à manipulação, como na extensão e rotação da articulação (Grubb, 2004).

A hiperalgesia inflamatória ocorre pela participação dos mediadores inflamatórios liberados diretamente pelas células danificadas pela lesão tecidual articular ou pelo reconhecimento de um elemento estranho ao organismo pelos macrófagos (Ferreira *et al.*, 2009). Embora as células do sistema imune sejam consideradas como fonte primária de citocinas, estas também são produzidas por outros tipos celulares, como os condrócitos e os sinoviócitos (Pelletier *et*

*al.*, 2001). Deste modo, na sinóvia inflamada, monócitos e sinoviócitos tipo A (macrófagos) e tipo B (fibroblastos) tem sido apontados como produtores de grandes quantidades de citocinas, principalmente as pró-inflamatórias (TNF $\alpha$  e IL-1 $\beta$ ). Entretanto, o papel das células T (linfócitos T helper CD4+; Th0, Th1 e Th2) e suas citocinas na fisiopatologia de diferentes artropatias, ainda não está claro (Steiner *et al.*, 1999). Além disso, o padrão de secreção de citocinas pode ser distinto nas diferentes artropatias. Na ReA ocorre a expressão de citocinas tanto Th1 (Interferon gama - INF- $\gamma$ ) quanto Th2, com altos níveis de IL-4 (Appel *et al.*, 2004). Já em articulações osteoartríticas, demonstrou-se intensa expressão de prostaglandinas, IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IL-6 e IL-8 em condrócitos e na matriz da cartilagem (Pelletier *et al.*, 2001).

As citocinas são os principais mediadores inflamatórios que induzem e mantêm os processos patológicos como a artrite e a OA. Ademais, desempenham papel importante no sistema nociceptivo, sendo também consideradas como mediadores da dor (Schaible, 2014). Estudos em modelos experimentais (Boettger *et al.*, 2008) e em pacientes (Hess *et al.*, 2011) demonstraram que a neutralização de citocinas em processos artríticos pode reduzir a nocicepção rapidamente, antes da atenuação da doença ser documentada, sugerindo que algumas citocinas tem papel direto na geração e manutenção da dor. De fato, as citocinas contribuem indiretamente para a nocicepção através do estímulo inflamatório que provoca a liberação de mediadores que atuam sobre os neurônios, bem como diretamente, atuando sobre os próprios neurônios (Schaible, 2014).

Mediadores inflamatórios como a prostaglandina e as aminas simpáticas (como por exemplo, a noradrenalina), provocam modificações moleculares que sensibilizam os nociceptores através da interação com receptores celulares acoplados à proteína G na membrana neuronal, estimulando vias de sinalização intracelular (como a da adenosina monofosfato cíclico – AMPc e das proteínas

quinases A – PKA e C – PKC). A ativação dessas proteínas quinases altera o limiar de ativação de canais iônicos, como os de sódio ( $\text{Na}^+$ ), de potássio ( $\text{K}^+$ ) e de cálcio ( $\text{Ca}^{+2}$ ), presentes na membrana. Tais modificações induzem alteração nos potenciais de repouso e redução do limiar de ativação da membrana, facilitando a ação de estímulos anteriormente inócuos (Ferreira e Nakamura, 1979; Ferreira *et al.*, 2009).

Essas alterações nos nociceptores resultam no desencadeamento de uma resposta tecidual com dor, característica da resposta inflamatória aguda, como observada na ReA e no início da patologia da OA. Entretanto, a dor periférica que se cronifica devido a persistência do processo patológico, pode ocasionar a sensibilização de neurônios centrais da via nociceptiva e mesmo de centros associados à percepção da nocicepção, causando a amplificação do estímulo periférico e consequente dificuldade na terapêutica da dor inflamatória crônica (Ferreira *et al.*, 2009), como ocorre na OA. Neste contexto, o estado de dor pode refletir não apenas o processo da patologia na articulação, mas também o impacto direto das citocinas no sistema nervoso, sugerindo que as citocinas podem induzir alterações nas fibras nervosas a longo prazo (Deleo *et al.*, 1996; Sommer *et al.*, 1998).

#### **1.1.4 Tratamento das artropatias**

As doenças articulares são responsáveis por significativo número de consultas em unidades de saúde e principal indicação de prescrição de medicamentos (White *et al.*, 2008). Os principais objetivos no tratamento são reduzir os sintomas, minimizar a incapacidade funcional e limitar a progressão das alterações estruturais (Pelletier *et al.*, 1999).

Os tratamentos atuais visam aliviar os sintomas das artropatias através de medidas não farmacológicas (p. ex.

exercícios e mudança no estilo de vida); tratamento farmacológico (p. ex. analgésicos, anti-inflamatórios não esteroidais e fármacos modificadores da doença) e tratamento invasivo (p. ex. injeções intra-articulares e artroplastia) (Kiltz *et al.*, 2009; Bruyère *et al.*, 2016).

Os anti-inflamatórios não esteroidais (AINES) orais são utilizados no controle da dor inflamatória presente nas artropatias, no entanto, são heterogêneos em termos de perfil de segurança gastrointestinal e cardiovascular (Bruyère *et al.*, 2016). Com base nos eventos envolvidos na sensibilização dos nociceptores durante o processo inflamatório, os AINES são classificados como fármacos que previnem esta sensibilização através da inibição da síntese de mediadores hiperalgésicos (Ferreira *et al.*, 2009). De modo geral, a ação farmacológica deste grupo está relacionada à inibição das enzimas ciclooxigenases (COX), principalmente em nível periférico, bloqueando a cascata do ácido araquidônico e, conseqüentemente, a produção de prostanoídes e leucotrienos (Vanegas e Schaible, 2001). Entretanto, o uso contínuo destes fármacos causam graves danos gastrintestinais, levando ao tratamento ineficiente por desistência (Mckenna *et al.*, 2001). A COX-1 é classificada como constitutiva e desempenha importante papel fisiológico no controle da liberação de suco gástrico, participando da proteção da mucosa gástrica, função renal e função plaquetária. Já a COX-2 é expressa constitutivamente em diversos tecidos, incluindo SNC, ossos e rins e está presente de forma indutiva após injúrias teciduais, contribuindo para o processo inflamatório e hiperalgesia (Vanegas e Schaible, 2001). Os AINES com inibição seletiva da COX-2 tornaram-se uma alternativa mais segura quanto aos efeitos colaterais gástricos, mas ainda apresentam efeitos nocivos cardiovasculares (Ferreira *et al.*, 2009).

Os fármacos modificadores de doença (DMARD) são indicados para o tratamento das artrites por reduzirem os sintomas e retardarem a progressão da doença (Singh *et*

*al.*, 2016). Apesar de demonstrarem ser uma alternativa aos AINES no tratamento da ReA, efeitos colaterais como ulceração oral, alterações gastrointestinais, hepatotoxicidade e anormalidades hematológicas podem ser observadas com o uso dos DMARD não biológicos como o metotrexato, leflunomide e sulfassalazina (Alcorn *et al.*, 2009).

Os DMARD biológicos são uma classe de drogas terapêuticas que têm como alvo diferentes mediadores envolvidos na patogênese de doenças, dos quais, os primeiros bioequivalentes foram aprovados pela EMA (Agência Europeia de Medicamentos) em 2013 (Beck e Reichert, 2013) e mais recentemente pelo FDA (*Food and Drug Administration*) (Traynor, 2016). Estes fármacos, como o etanercept, infliximab e anakinra, bloqueiam seletivamente as citocinas TNF- $\alpha$  e IL-1, importantes mediadores pró-inflamatórios nas artrites, tornando a abordagem a essas doenças inflamatórias muito mais específica (Suresh, 2010). Estudos demonstraram a eficácia do tratamento de artrite com DMARD sintéticos convencionais e biológicos (Klarenbeek *et al.*, 2011; Inui e Koike, 2016). No entanto, os DMARD biológicos possuem a desvantagem de aumentar o risco de infecções, quando comparados aos DMARD convencionais. Ademais, ainda apresentam alto custo de aquisição e necessitam de mais estudos para estabelecer riscos a longo prazo (Raffeiner *et al.*, 2009).

Recentes orientações de sociedades médicas profissionais para o tratamento da dor musculoesquelética recomendam o uso de AINE apenas em circunstâncias rigorosamente definidas, na menor dose e tempo mais reduzido possível de tratamento. Essas diretrizes recentes, elevam o foco para o uso de opioides, ainda subutilizados, embora muito eficazes e de baixa toxicidade. O tramadol é considerado como primeira escolha de analgésicos em muitas artropatias por fornecer analgesia multimodal, eficaz na dor nociceptiva e neuropática, e com melhor perfil de segurança que opioides convencionais (Schug, 2007).

## 1.2 TRAMADOL

O tramadol é um analgésico que possui eficácia significativa no alívio da dor e na melhora da função articular em condições musculoesqueléticas (Schug, 2007). É amplamente usado como analgésico para dor aguda e crônica (de moderada a intensa) (Who, 2015), dor pós-operatória, neuropática e do câncer (Kimura *et al.*, 2012).

O tramadol, de fórmula química ( $\pm$ )-trans-2-[[dimetilamino)metil]-1-(3-metoxifenil) ciclohexanol, é absorvido quase que completamente após a administração pela via oral (>90%) e possui biodisponibilidade média de 70%. O metabolismo do tramadol ocorre a nível hepático por desmetilação, oxidação e conjugação (Compendium, 2015). Os metabólitos O-desmetiltramadol (M1) e N-desmetiltramadol (M2) são formados pela enzima do citocromo hepático P450 2D6 (CYP2D6) e citocromo P450 3A4 (CYP 3A4), respectivamente. A reação de O-desmetilação, que obtém o metabólito ativo M1, depende da atividade da enzima CYP 2D6, podendo afetar o efeito analgésico do tramadol por medicamentos que inibem sua atividade, como por exemplo, alguns antidepressivos (Barkin, 2008).

O tempo de vida do tramadol racêmico é de aproximadamente 6 horas, independente da via de administração e cerca de 8 horas para o metabólito M1. Em doses terapêuticas, o tramadol apresenta farmacocinética linear. O efeito analgésico é dose-dependente e concentrações séricas de 0,1 a 0,3 mg/L são consideradas efetivas (Compendium, 2015).

O tramadol é considerado um analgésico relativamente seguro, tendo como principais reações adversas náusea, tontura e vômito, principalmente no início da terapia. Não causa depressão respiratória clinicamente relevante e possui baixo potencial de dependência (Who, 2015).



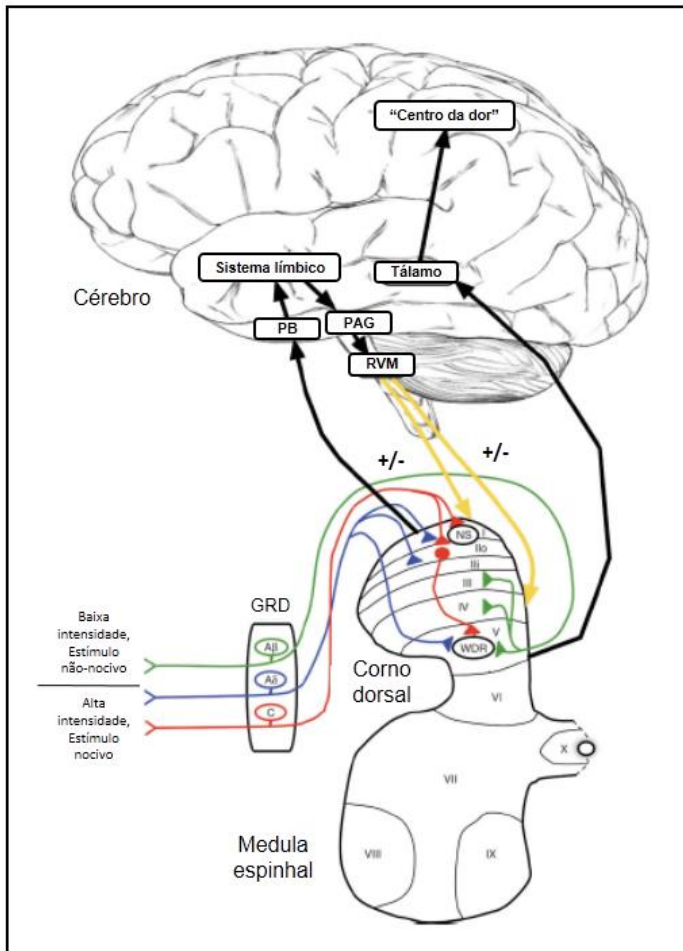
Apesar de considerado um analgésico opioide fraco, o tramadol é classificado como analgésico de ação multimodal por não possuir ação restrita aos mecanismos opioides. Foi demonstrado que a afinidade do tramadol para o receptor  $\mu$  opioide é aproximadamente 6000 vezes menor do que a morfina e que apenas 40% de seu efeito antinociceptivo é antagonizado pela naloxona, antagonista não-seletivo opioide, indicando que outro efeito não-opioide pode contribuir para o efeito analgésico completo do tramadol (Raffa *et al.*, 1992).

Em adição a sua ação opioide, o tramadol também atua nas vias serotoninérgica e noradrenérgica, que parece agir de forma sinérgica com os efeitos sobre os receptores  $\mu$  opioides. A explicação para a coexistência de componentes opioides e não opioides na antinocicepção induzida pelo tramadol parece estar relacionada à diferente farmacologia de seus enantiômeros, apesar de complementares e interativos. Na mistura racêmica de tramadol, existem dois enantiômeros [(+) e (-)] que apresentam efeitos analgésicos distintos. O enantiômero positivo possui ação analgésica mais potente e afinidade duas vezes mais elevada para o receptor opioide  $\mu$  do que a forma negativa. O (+)-tramadol é um potente inibidor da recaptção de serotonina e o (-)-tramadol, da recaptção de noradrenalina (Raffa *et al.*, 1993). Ainda, a afinidade do metabólito M1 para o receptor  $\mu$  opioide é duas vezes maior do que a do enantiômero positivo (Frink *et al.*, 1996).

### 1.2.1 Efeito analgésico multimodal

A nocicepção é um processo bidirecional com trajetos ascendentes e descendentes no sistema nervoso. Estímulos nociceptivos processados na periferia passam pelo corno dorsal da medula espinhal em direção aos centros superiores e, em resposta, projeções partem de regiões cerebrais até a medula. O sistema de controle descendente da dor consiste em áreas do SNC interligadas

com fibras que partem de diversas regiões cerebrais, inclusive hipotálamo, amígdala e córtex, em direção à substância cinzenta periaquedutal (PAG), rica em encefalinas e receptores opioides e, a partir desta, seguem para o tronco cerebral que por sua vez, envia fibras serotoninérgicas e noradrenérgicas para o corno dorsal da medula espinhal. O aumento da atividade serotoninérgica, noradrenérgica e opioidérgica iniciada por essa via descendente são mecanismos importantes no controle da dor, inibindo os neurônios nociceptivos, interneurônios e os tratos ascendentes no corno dorsal da medula espinhal (D'mello e Dickenson, 2008) (Figura 2).



**Figura 2:** Ilustração da via da dor. Fibras aferentes primárias (fibras Aβ, Aδ e C) transmitem impulsos da periferia, através do gânglio da raiz dorsal (GRD), para o corno dorsal da medula espinhal, onde entram em diferentes lâminas e comunicam-se com neurônios secundários. Os neurônios nociceptores específicos (NS), especializados em transmitir informações de estímulos nocivos, são encontrados no

corno dorsal superficial (lâminas I-II), enquanto os neurônios de ampla faixa dinâmica (WDR), capazes de conduzir informações de estímulos nocivos e não-nocivos, localizam-se mais profundamente (lâmina V). Os neurônios de projeção da lâmina I inervam áreas como a área parabraquial (PB) e a PAG, sendo afetadas pelas áreas límbicas. De núcleos do tronco cerebral ativados, como a medula rostral ventromedial (RVM), partem as vias descendentes (setas amarelas) que modulam o processamento espinhal. Os neurônios da lâmina V seguem em direção ao trato espinotalâmico e posteriormente, a diversas regiões corticais que formam o “centro da dor”. Adaptado de D'mello e Dickenson, (2008).

Os receptores opioides ( $\mu$ ,  $\delta$ ,  $\kappa$ ) estão distribuídos amplamente no SNC e também em terminações nervosas periféricas livres e sua ativação resulta em analgesia via inibição da transmissão nociceptiva ascendente excitatória e ativação de sistemas de inibição descendentes. São pertencentes à família de receptores acoplados à proteína  $G_i/G_o$ , exercendo importante efeito sobre os canais iônicos presentes na membrana neuronal, através do acoplamento direto da proteína G ao canal. De maneira geral, os opioides inibem a abertura de canais de cálcio controlados por voltagem na fenda pré-sináptica, reduzindo o influxo de  $Ca^{+2}$ , impedindo a liberação de transmissores, como a substância P, nas fibras aferentes primárias do corno dorsal da medula espinhal e conseqüentemente, inibindo a transmissão sináptica nociceptiva (Przewłocki e Przewłocka, 2001).

Promovem também, na fenda pós-sináptica, a abertura de canais de potássio específicos causando a hiperpolarização da membrana dos neurônios de projeção da medula espinhal e inibição da via nociceptiva ascendente. Outro mecanismo conhecido, é ativação da via antinociceptiva descendente supraespinhal na PAG, através da ativação de canais de  $K^+$  presentes nas terminações

GABAérgicas que inibem a liberação do GABA para a fenda sináptica. Foi demonstrado que a ativação de receptores opioides pode suprimir essa influência inibitória e aumentar a transmissão descendente antinociceptiva (Przewłocki e Przewłocka, 2001).

O efeito agonista direto do tramadol e seu principal metabólito ativo, M1, nos receptores opioides não está completamente elucidado (Minami *et al.*, 2015). Em estudo recente, Minami e colaboradores (2015) avaliaram o efeito do tramadol e M1 sobre a função do receptor  $\mu$  opioide no sistema de ensaio de correntes de  $\text{Cl}^-$  ativadas por  $\text{Ca}^{+2}$  para receptores acoplados a proteína  $G_i/G_o$ , em oócitos de *Xenopus*. O tramadol e seu metabólito evocaram correntes de  $\text{Cl}^-$  nos oócitos expressando o receptor  $\mu$  opioide fundido à proteína G ( $q_{i5}$ ), demonstrando o efeito direto sobre o receptor  $\mu$  opioide. Contudo, foram necessárias concentrações mais elevadas de tramadol e M1 do que o peptídeo opioide análogo da encefalina (Ala(2)-MePhe(4)-Gly(5)-encefalina), com elevada especificidade ao receptor  $\mu$  opioide, concluindo que o efeito do tramadol e seu metabólito são relativamente fracos e podem ter relevância clínica limitada.

Os transmissores monoaminérgicos estão envolvidos nos efeitos antinociceptivos de vias descendentes inibitórias no SNC. O controle da dor está associado à modulação descendente de grupos celulares presentes no tronco cerebral, como os núcleos *locus coeruleus* e complexo da rafe, que contêm noradrenalina e serotonina (Millan, 2002). A noradrenalina ativa receptores  $\alpha_2$ -adrenérgicos e a serotonina, receptores  $5HT_1$ , presentes na membrana da terminação central do aferente primário no corno dorsal da medula espinhal. Ambos os receptores são pertencentes à família de receptores acoplados à proteína  $G_i$ , exercendo função inibitória sobre a ciclase de adenil solúvel, abrindo canais de potássio e fechando canais de cálcio, reduzindo o influxo deste íon e resultando na hiperpolarização da célula neuronal. A liberação de

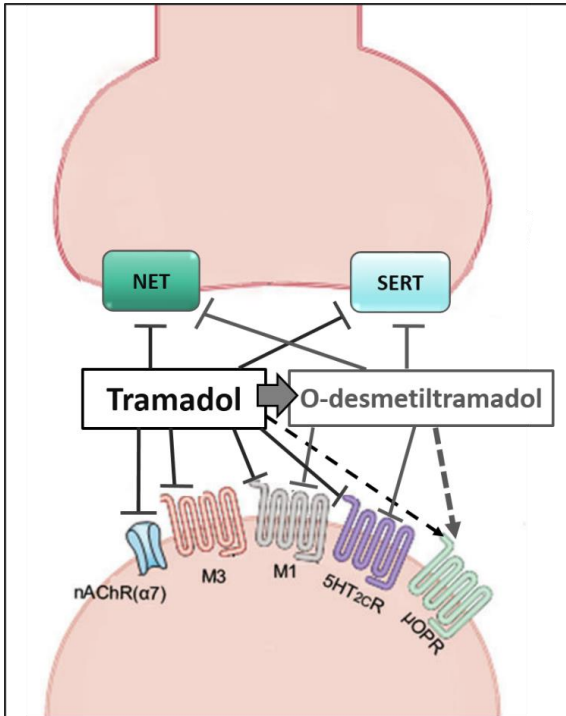
neurotransmissores na fenda sináptica é então diminuída, reduzindo a neurotransmissão medular com consequente analgesia (Starke *et al.*, 1989; Millan, 2002).

O tramadol inibe o transportador de serotonina (SERT) e o transportador de noradrenalina (NET) na mesma medida, evitando a recaptação dessas monoaminas e contribuindo para o efeito analgésico multimodal (Minami *et al.*, 2015). Em experimentos *in vitro* de ligação de receptor e recaptação sinaptossomal, o enantiômero positivo do tramadol mostrou-se específico para o SERT e o enantiômero negativo, ter maior afinidade para o NET (Frink *et al.*, 1996). Observou-se que o efeito antinociceptivo do tramadol foi significativamente reduzido em ratos após lesão da via serotoninérgica e que a injeção intratecal de antagonistas do receptor de serotonina (5HT) bloquearam a antinocicepção induzida pelo tramadol, indicando que as vias serotoninérgicas descendentes e os receptores 5HT espinhais desempenham papel fundamental nos efeitos antinociceptivos do tramadol (Yanarates *et al.*, 2010). Estudos sugerem que o tramadol e o M1 inibem a atividade do receptor 5HT<sub>2C</sub> através de um mecanismo inibitório que pode envolver deslocamento competitivo de 5HT no receptor 5HT<sub>2C</sub> (Ogata *et al.*, 2004; Horishita *et al.*, 2006).

De acordo com resultados obtidos em alguns estudos, Li e colaboradores (2011) sugeriram o papel dos adrenoreceptores- $\alpha_2$  na modulação da antinocicepção do tramadol a nível espinhal. No entanto, o estudo demonstrou fraca afinidade de ligação do tramadol aos receptores, indicando que o tramadol pode não ativar diretamente estes receptores. Sabe-se que a noradrenalina produz seu efeito antinociceptivo ativando os receptores  $\alpha_2$ -adrenérgicos, deduzindo que o tramadol intratecal pode produzir nocicepção elevando o nível de noradrenalina, ativando assim, esses receptores na medula espinhal de forma indireta (Jones, 1991). Halfpenny e colaboradores (1999) relataram o efeito do tramadol na captação de noradrenalina no *locus coeruleus* de ratos, concluindo que apenas o (-)-

tramadol foi capaz de bloquear a recaptação desta monoamina. Ainda, foi constatado o aumento dos níveis de noradrenalina e serotonina na medula espinhal após a administração intratecal de tramadol em ratos, confirmando que a inibição da recaptação dessas monoaminas na medula é um importante mecanismo analgésico mediado pelo tramadol (Kimura *et al.*, 2012).

Estudos ainda sugerem o envolvimento de receptores muscarínicos  $M_1$  e  $M_3$  no mecanismo de ação do tramadol (Minami *et al.*, 2004). O tramadol inibiu competitivamente as correntes induzidas pela acetilcolina (ACh) em oócitos de *Xenopus* que expressam os receptores  $M_1$  e  $M_3$  (Nakamura *et al.*, 2005). Efeito inibitório do tramadol sobre as funções da ACh nicotínica também foi sugerido como mecanismo antinociceptivo. O tramadol foi capaz de suprimir a secreção de catecolamina induzida por carbacol em células cromafins de adrenal bovina e inibir as correntes nicotínicas realizadas pelos receptores  $\alpha 7$  expressos em oócitos de *Xenopus* (Shiraishi *et al.*, 2002). Mais recentemente, estudos mostraram o envolvimento de receptores de adenosina  $A_1$  na antinocicepção do tramadol no modelo de formalina em camundongos (Sawynok *et al.*, 2013) (Figura 3).



**Figura 3:** Resumo do efeito do tramadol sobre os receptores acoplados à proteína G, transportadores de aminas e canais iônicos. SERT: transportador de 5HT, NET: transportador de norepinefrina, nAChR( $\alpha$ 7): receptor nicotínico da acetilcolina  $\alpha$ 7, M1/M3: receptores muscarínicos tipo 1 e 3, 5HT<sub>2c</sub>R: receptor 5HT<sub>2c</sub>,  $\mu$ OPR: receptor  $\mu$  opioide. Adaptado de (Minami *et al.*, 2007).

Embora seja um analgésico utilizado mundialmente para o tratamento da dor, os mecanismos de ação do tramadol não foram totalmente elucidados (Minami *et al.*, 2015), necessitando de mais estudos para compreendermos por completo o potencial analgésico deste fármaco.



### 1.3 APLICAÇÃO INTRATECAL DE ANALGÉSICOS

Embora a maioria dos analgésicos possa ser administrado pela via oral, a necessidade de doses elevadas e a ocorrência de efeitos adversos são frequentes, tornando a analgesia não satisfatória. Métodos que modulam a transmissão da dor em nível espinhal, como a aplicação de analgésicos pela via intratecal, são alternativas ao tratamento pela via oral, com vantagens significativas (Dougherty e Staats, 1999). A infusão de fármacos no espaço intratecal permite o acesso direto dos fármacos analgésicos aos receptores da medula espinhal e canais iônicos, proporcionando melhor eficácia e redução da quantidade de fármaco necessária. (Hayek *et al.*, 2011).

Muitos medicamentos podem ser administrados no espaço subaracnóideo espinal ou epidural para o tratamento da dor. Embora analgésicos aprovados para administração pela via intratecal sejam limitados a morfina e mais recentemente a ziconotida, muitos outros analgésicos, aplicados isoladamente ou em combinação, são usados (Smyth *et al.*, 2015). Os mais utilizados clinicamente são os opioides, principalmente morfina, fentanil, sufentanil, meperidina e buprenorfina; os anestésicos locais lidocaína, bupivacaína e ropivacaína; os agonistas adrenérgicos- $\alpha_2$  clonidina e tizanidina; os glicocorticoides metilprednisolona e triancinolona; os agonistas do ácido gama aminobutírico (GABA) midazolam e baclofeno e anestésicos gerais derivados da fenciclidina (Bennett *et al.*, 2000).

Tanto a terapia crônica intratecal como a terapia opiácea sistêmica possuem riscos inerentes e precisam ser comparadas no contexto das características individuais de cada paciente (Pope *et al.*, 2016). O uso de opioides orais em altas doses a longo prazo está associado a riscos importantes, como overdose, dependência, sedação e bloqueios intestinais (Baldini *et al.*, 2012). A terapia intratecal proporciona um método viável para reduzir ou

eliminar opioides e outros analgésicos e anti-inflamatórios orais, evitando assim os conhecidos efeitos colaterais sistêmicos (Pope *et al.*, 2016). Ainda, a administração de analgésicos pela via intratecal através de uma bomba de infusão pode beneficiar pacientes com dor que não respondem ao tratamento convencional (Smyth *et al.*, 2015).

Por tanto, a escolha de um analgésico com mínimos efeitos colaterais, aliada a administração pela via intratecal, que permite a modulação da transmissão nociceptiva em nível espinhal, pode tornar-se um tratamento potencialmente eficaz para as artropatias a longo prazo. A terapia avançada intratecal tem demonstrado eficácia no alívio de dor crônica (Hayek *et al.*, 2011) e bons resultados com o uso do tramadol intratecal para o controle da dor clínica (Alhashemi e Kaki, 2003; Demiraran *et al.*, 2005; Subedi *et al.*, 2013). No entanto, a eficácia do tratamento intratecal em modelos animais de dor articular e em pacientes com artropatias ainda não foi comprovada.

## 2 OBJETIVOS

Avaliar o efeito antinociceptivo e antiedematogênico do tramadol nos modelos de osteoartrite induzida por MIA e artrite reativa induzida por LPS.

### 2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar o efeito do tramadol administrado pela via intratecal na incapacitação e edema articular induzidos por MIA aplicado no joelho de ratos;
- Comparar o efeito do tramadol administrado pela via intratecal e pela via oral na incapacitação e edema articular induzidos por MIA aplicado no joelho de ratos;
- Avaliar o efeito do tramadol administrado pela via intratecal na incapacitação e edema articular induzidos por LPS aplicado no joelho de ratos;
- Comparar o efeito do tramadol administrado pela via intratecal e pela via oral na incapacitação e edema articular induzidos por LPS aplicado no joelho de ratos.



### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 ANIMAIS

Os experimentos foram realizados com ratos machos Wistar, da espécie *Rattus norvegicus*, com peso entre 250 e 350 gramas, provenientes do Biotério do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Santa Catarina (CCB, UFSC). Os ratos foram agrupados em caixas contendo 5 animais e mantidos sob temperatura controlada ( $21 \pm 2^\circ\text{C}$ ), ciclo claro/escuro (12 horas de claro e 12 horas de escuro) com água e ração *ad libitum*. Ao completarem 75 dias de idade, foram desvermifugados com ivermectina dissolvida em água (5 mg/ml; total de 500 ml/5 ratos), durante 5 dias consecutivos, permanecendo no biotério do Laboratório de Neurobiologia da Nocicepção (LANEN) durante 14 dias antes do início dos experimentos. Não foram observadas alterações nos experimentos devido ao tratamento prévio. Todos os experimentos foram realizados seguindo os preceitos éticos definidos pela Associação Internacional para Estudo da Dor e aprovados pelo Comitê de Ética para Uso de Animais (CEUA) da UFSC, sob o protocolo PP00723.

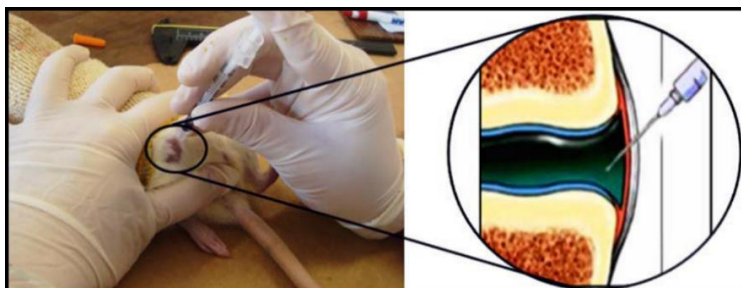
#### 3.2 DROGAS E REAGENTES

- Iodoacetato monossódico (MIA; Sigma-Aldrich.®)
- Carragenina ( $\kappa$ / $\lambda$ , BDH Chemicals Ltd., UK)
- LPS (lipopolissacarídeo de *E. coli*, 055:B5, Difco, USA)
- Cloridrato de tramadol (Tramadon®, Cristália, São Paulo, BR)

### 3.3 MODELO EXPERIMENTAL DE OSTEOARTRITE INDUZIDA POR MIA

O modelo de osteoartrite induzida por iodoacetato monossódico (MIA) é utilizado pela caracterização da dor associada à osteoartrite, além do estudo da fisiopatologia e progressão das lesões articulares (Rahman *et al.*, 2009; Vonsy *et al.*, 2009; Im *et al.*, 2010). A injeção intra-articular de MIA interrompe o metabolismo dos condrócitos pela ação inibitória da glicólise, através da inibição da enzima gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase (GAPDH). Assim, o número de condrócitos reduz progressivamente e, subsequentemente, a síntese de componentes da MEC, incluindo os proteoglicanos (Kalbhen, 1987; Dunham *et al.*, 1992). Ocorre a degeneração da cartilagem articular semelhante à observada na patologia humana (Rahman *et al.*, 2009; Im *et al.*, 2010). Ademais, a dor articular associada à exposição do osso subcondral e alteração da sinóvia em humanos pode ser observada nas fases posteriores das lesões articulares no modelo de osteoartrite induzida por MIA (Beyreuther *et al.*, 2007).

Para a indução da osteoartrite, foram administradas duas injeções intra-articulares de MIA (2 mg) através do ligamento infrapatelar no joelho direito de cada animal (Figura 4), com o intervalo de 96 horas entre as aplicações. O MIA foi diluído em 0,9% de solução salina estéril e administrado num volume de 50 µl. Imediatamente antes das injeções, os animais foram gentilmente contidos em um cone de borracha macio e a articulação fêmuro-tíbio-patelar direita tricotomizada.



**Figura 4:** Foto ilustrativa da injeção intra-articular na articulação fêmuro-tíbio-patelar. O diagrama mostra o local da inserção da agulha através do ligamento infrapatelar.

### 3.4 MODELO EXPERIMENTAL DE ARTRITE REATIVA INDUZIDA POR CARRAGENINA E LPS

O modelo experimental de artrite induzida por carragenina e LPS é baseado em sintomas característicos da ReA, induzindo uma artrite inflamatória na articulação fêmuro-tíbio-patelar de ratos, semelhante à que ocorre em humanos (Bressan *et al.*, 2006; Bressan *et al.*, 2010). A ReA manifesta-se como seqüela de uma infecção remota no trato gastrointestinal ou urogenital. (Hannu, 2011). Embora seja definida como uma inflamação articular estéril, componentes bacterianos como o LPS foram detectados nos tecidos articulares de pacientes com ReA (Granfors *et al.*, 1990). Tal fato sugere a importância do LPS bacteriano na indução e manutenção da resposta inflamatória nestes pacientes (Sieper *et al.*, 2000). Outro fato importante neste modelo de dor articular, é a sensibilização previa da articulação do joelho com carragenina com o intuito de mimetizar um trauma inespecífico. Um trauma prévio na articulação foi descrito como um fator que predispõe o desenvolvimento da ReA (Alcalay *et al.*, 1989). A carragenina é um mucopolissacarídeo extraído da alga marinha *Chondrus crispus*, que ao ser injetada na articulação induz sensibilização articular (Santer *et al.*,

1983) e incapacitação (Tonussi e Ferreira, 1992), prolongando a dor inflamatória.

Para a indução do modelo de artrite, foram injetadas duas substâncias no joelho direito dos animais. O primeiro composto administrado foi a carragenina, diluída em 0,9% de solução salina (300 µg/20 µl/articulação). Após 72 h, os animais receberam o LPS na mesma articulação (30 ng/50 µl/articulação). Os animais foram contidos com cone de borracha macio e a articulação tricotomizada antes da aplicação intra-articular.

### 3.5 TESTE ALGESIMÉTRICO – MEDIDA DE INCAPACITAÇÃO ARTICULAR

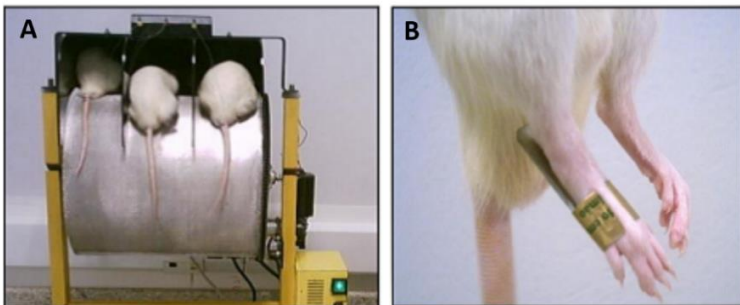
O estado funcional e nocicepção da articulação do joelho foram avaliados através do teste de incapacitação articular descrito por Tonussi e Ferreira (1992). O teste consiste em um cilindro giratório revestido por malha em aço inox, onde os animais são submetidos a deambulação durante um minuto com sapatilhas metálicas em ambos os pés. Para o registro da incapacitação articular, as sapatilhas do membro pélvico direito são conectadas ao computador através de um fio condutor, que registra o tempo de elevação de pata (TEP; segundos) (Figura 5). O tempo que o animal fica sem tocar o cilindro com a pata direita, durante um minuto, é registrado como TEP (Tonussi e Ferreira, 1992).

No modelo de osteoartrite induzida por MIA, o TEP basal foi registrado um dia antes da primeira aplicação do MIA no joelho direito e avaliado 24 h após a segunda administração do MIA (basal MIA), realizada no quarto dia após a primeira aplicação. Os resultados do TEP representam a média das horas avaliadas após a administração do tramadol (0,5; 1; 2 e 3 horas), que demonstraram efeitos constantes do tramadol na incapacitação e edema articular em avaliação prévia neste modelo (Figura 6).

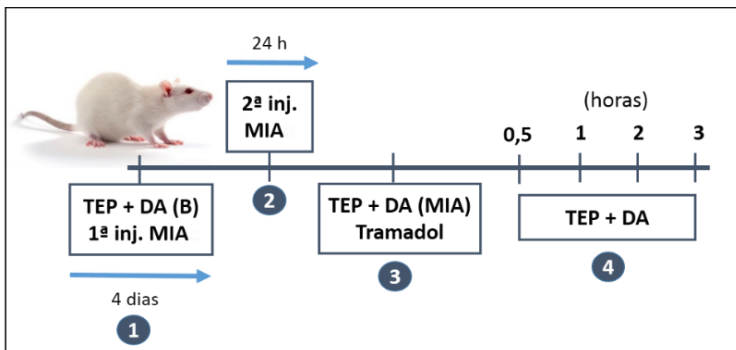


No modelo de carragenina e LPS, o TEP foi avaliado imediatamente antes da aplicação do LPS intra-articular (basal) e a partir da segunda hora após a injeção intra-articular de LPS, seguindo até a quinta hora. Neste modelo, os resultados representam a média das horas avaliadas 2, 3, 4 e 5 horas após a injeção intra-articular de LPS, que demonstraram pronunciado efeito nociceptivo e edematogênico do LPS, além do efeito constante do tramadol na incapacitação e edema articular (Figura 7).

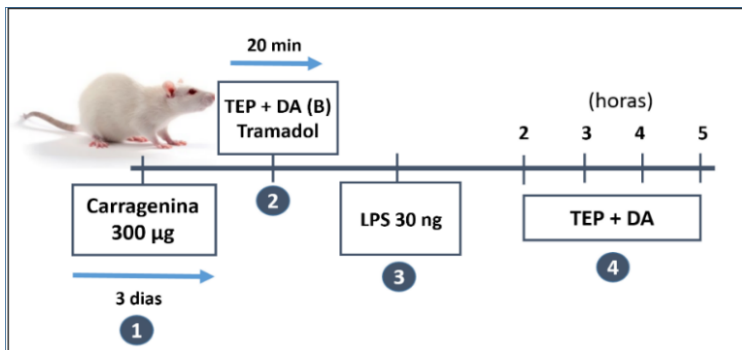
No dia anterior a cada experimento, os animais foram ambientados e treinados no sistema de registro de incapacitação articular para melhor adaptação.



**Figura 5:** A: Foto ilustrativa do cilindro usado para o registro da incapacitação articular. B: Foto ilustrativa da sapatilha metálica encaixada no membro.



**Figura 6: Protocolo experimental do modelo de osteoartrite.** (1) Foram avaliados o TEP e o DA basal (B) e em seguida, os animais receberam a primeira injeção intra-articular de MIA. A segunda injeção de MIA foi realizada 4 dias após a primeira (2). O TEP e o DA foram medidos 24 horas após a segunda injeção de MIA e o tratamento com o tramadol, realizado pelas vias intratecal e oral na sequência (3). Meia hora após o tramadol, iniciou-se as medidas do TEP e do DA até a terceira hora (4).



**Figura 7: Protocolo experimental do modelo de ReA.** (1) Animais receberam uma injeção intra-articular de carragenina e 3 dias após, foram avaliados o TEP e o DA basal (B) antes do tratamento (2). O tratamento com o tramadol foi realizado pelas vias intratecal e oral 20 minutos

(2) antes da injeção intra-articular de LPS (3). Duas horas após o LPS, iniciou-se as medidas do TEP e do DA até a quinta hora (4).

### 3.6 MENSURAÇÃO DO EDEMA ARTICULAR

O edema articular induzido pelo MIA e carragenina/LPS foi quantificado através da medida do diâmetro da articulação do joelho (eixo médio-lateral), com auxílio de um paquímetro (Figura 8). Os valores do DA foram expressos como a diferença entre o diâmetro articular mensurado antes da primeira injeção intra-articular de MIA ou a injeção de LPS e as quatro medidas subsequentes. As medidas do edema articular (DA) foram realizadas imediatamente após cada registro de TEP, conforme descrito anteriormente.



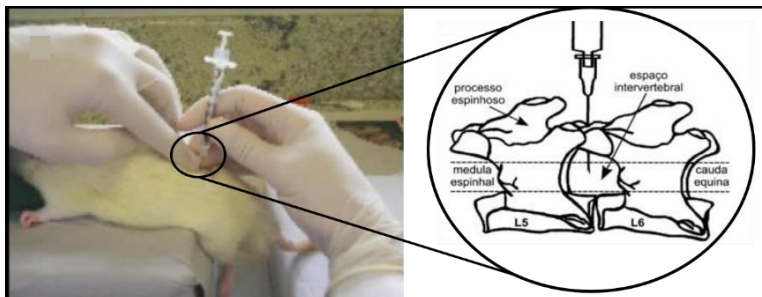
**Figura 8:** Foto ilustrativa da medida do diâmetro articular (DA) com paquímetro.

### 3.7 INJEÇÃO INTRATECAL

A injeção de fármacos pela via intratecal foi realizada segundo o método descrito por Mestre *et al.*, (1994). Neste procedimento, os animais foram previamente anestesiados com isoflurano (2% em oxigênio hospitalar) e posicionados

em decúbito esternal com os membros pélvicos e a cauda estendidos caudalmente. Em seguida, foi realizada a tricotomia da região dorsal lombar e cuidadosamente inserida uma agulha 29 gauge, de 12,7 mm de comprimento (Seringa BD Ultra Fine) perpendicularmente entre as vértebras L5 e L6 até atingir o espaço subaracnoideo (Figura 9). Um leve bater de cauda, denominado *flick*, foi observado quando a agulha entrou no espaço subaracnoideo indicando que o canal vertebral foi atingido corretamente.

O tramadol foi administrado nas doses de 0,1; 1; 10 e 100  $\mu\text{g}$ . No modelo de MIA, foi administrado 24 horas após a segunda aplicação de MIA, imediatamente após os registros de TEP e DA e no modelo carragenina-LPS, foi administrado 20 min após a injeção de LPS. O volume injetado no espaço intratecal foi de 20  $\mu\text{l}$ .



**Figura 9:** Foto ilustrativa da injeção intratecal. O diagrama mostra o local da inserção da agulha no espaço subaracnoideo entre as vértebras L5 e L6.

### 3.8 ADMINISTRAÇÃO POR GAVAGEM

O tramadol foi administrado por via oral nas doses de 0,5, 5 e 50 mg/kg com o auxílio de uma agulha de gavagem. No modelo de MIA, o tramadol foi administrado 24 h após a segunda aplicação de MIA, imediatamente após os registros de TEP e DA. No modelo carragenina-LPS, foi administrado 20 min após a injeção de LPS. Os animais

foram gentilmente contidos com o auxílio de uma flanela para a administração do fármaco.

### 3.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para a análise estatística deste estudo foi utilizado o software *GraphPad Prism 5.0®*. Aplicou-se ANOVA de duas vias, para a análise das curvas de incapacitação e edema articular do efeito antinociceptivo do MIA e para avaliação comparativa do efeito do tramadol nos dois modelos estudados, com teste de post-hoc Bonferroni quando a diferença de  $p < 0,05$  foi observada.

Os resultados do efeito do tramadol em ambos os modelos foram expressos como médias  $\pm$  erro padrão da média e ilustrados como barras. As diferenças estatísticas entre os grupos, exceto o efeito do tramadol aplicado pela via subcutânea, foram avaliadas com ANOVA de uma via. O teste post-hoc de Dunnett foi aplicado sempre que a diferença de  $p < 0,05$  foi detectada. A diferença estatística entre os dois grupos experimentais do efeito do tramadol aplicado pela via subcutânea foi detectada pelo teste t não pareado e o resultado considerado estatístico quando um nível de significância de pelo menos  $p < 0,05$  foi observado. Os grupos experimentais foram compostos de 6 a 8 animais.



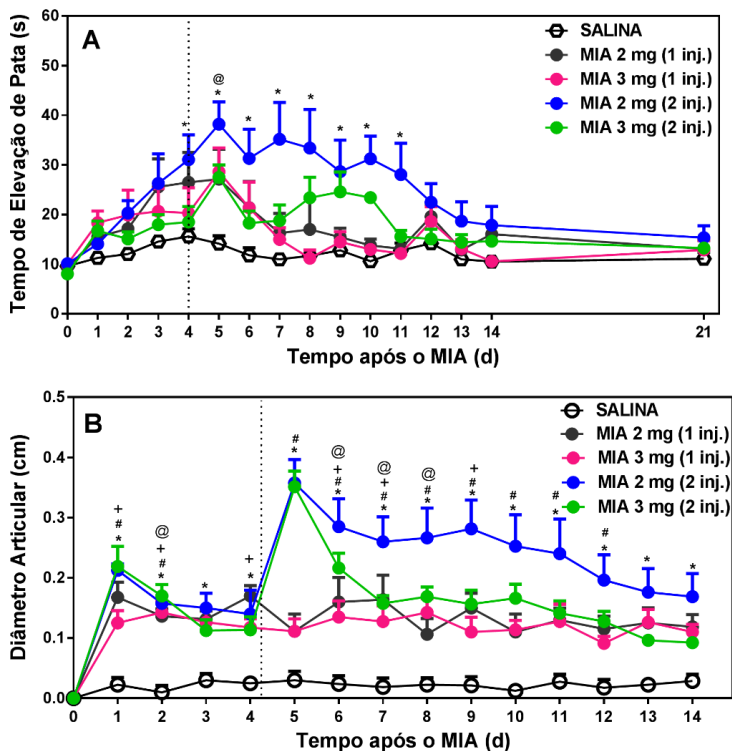
## 4 RESULTADOS

### 4.1 EFEITO DO MIA NA INCAPACITAÇÃO E EDEMA ARTICULAR

Primeiramente, foi realizada uma curva de MIA com doses frequentemente empregadas na literatura, afim de estabelecer a dose submáxima de MIA que demonstrasse a incapacitação e aumento do edema articular para a padronização do modelo em ratos Wistar machos. Foram empregadas as concentrações de 2 e 3 mg de MIA, num volume total de 50  $\mu$ l por articulação. Os grupos foram divididos em uma ou duas injeções de MIA (segunda injeção quatro dias após a primeira), baseado em estudos prévios do grupo, que mostraram melhor resposta na incapacitação articular com injeções repetidas de MIA (Mascarin, 2015). Os animais controle receberam somente solução salina (50  $\mu$ l).

Após o registro do tempo de elevação de pata (TEP, s) e diâmetro articular (DA, cm) basal, o MIA foi injetado no joelho direito dos animais, uma ou duas vezes, e reavaliados o TEP e o DA diariamente, durante 14 dias após a primeira injeção. As avaliações foram repetidas no 21<sup>o</sup> dia.

A dose de 2 mg de MIA, aplicada duas vezes, foi capaz de promover aumento significativo da incapacitação articular ( $p < 0,05$ ). A dose de 2 mg de MIA, reaplicada no quarto dia após a primeira injeção, atingiu resposta máxima entre o 5<sup>o</sup> e 8<sup>o</sup> dia, persistindo até o 11<sup>o</sup> dia após a primeira injeção. Na avaliação do edema articular, duas injeções da dose de 2mg de MIA demonstraram resposta semelhante à avaliação da incapacitação articular. No entanto, as demais concentrações de MIA, incluindo uma ou duas aplicações, demonstraram aumento do DA em algum momento da avaliação, mas em menor escala do que a dose de 2 mg aplicada duas vezes ( $p < 0,05$ ) (Figura 10).



**Figura 10: Incapacitação e edema articular induzidos por MIA (2 e 3 mg).** As medidas do tempo de elevação de pata (A) e do diâmetro articular (B) foram realizadas durante 14 dias após a primeira injeção de MIA e a avaliação do tempo de elevação de pata, repetida no 21<sup>o</sup> dia. A segunda injeção de MIA foi realizada no 4<sup>o</sup> dia após a primeira (linha tracejada). Nos gráficos estão representados os resultados dos grupos salina; 2 e 3 mg de MIA aplicados intra-articular uma ou duas vezes. Os dados representam a média  $\pm$  E.P.M. (n = 8). \* representa a diferença estatística em relação ao grupo salina com  $p < 0,05$  da dose de 2 mg (2 inj.); #  $p < 0,05$  da dose 3 mg (2 inj.); +  $p < 0,05$  da dose de



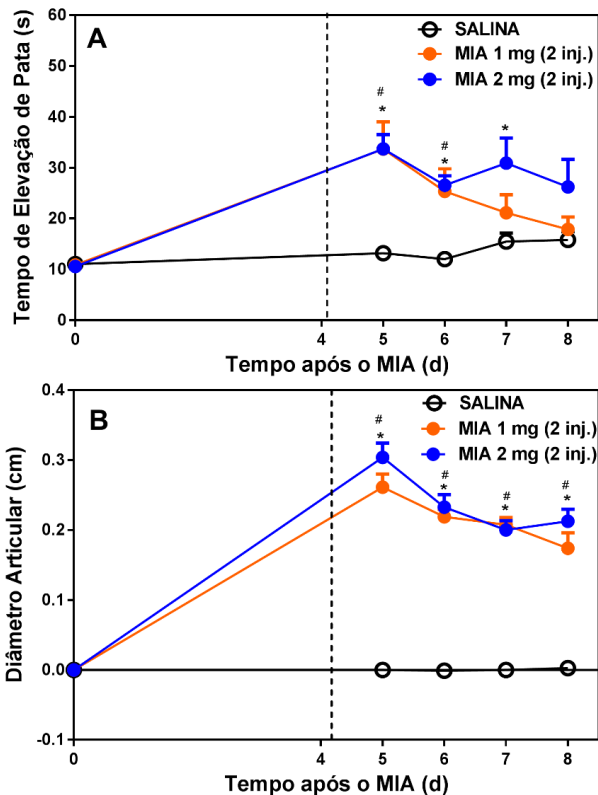
2 mg (1 inj.) e @  $p < 0,05$  da dose de 3 mg (1 inj.) (ANOVA de duas vias seguida do pós teste de Bonferroni).

#### **4.1.1 Baixa concentração de MIA**

Ao demonstrar-se o aumento significativo da incapacitação e edema articular com a dose de 2 mg, foi avaliado o efeito da dose de 1 mg de MIA, aplicada duas vezes, e comparadas as doses ao grupo controle salina. O TEP e o DA foram avaliados imediatamente antes das injeções e no 5º, 6º, 7º e 8º dias após a primeira injeção de MIA, período de resposta máxima na incapacitação articular. A segunda injeção de MIA foi realizada no quarto dia, conforme realizado no experimento anterior.

A dose de 2 mg, com duas injeções, novamente mostrou significativo efeito nociceptivo na incapacitação articular no 5º, 6º e 7º dia de avaliação ( $p < 0,05$ ), enquanto a dose de 1 mg de MIA, a partir do 6º dia, apresentou redução no efeito nociceptivo neste teste. Na avaliação do edema articular, ambas as doses elevaram significativamente a medida de diâmetro articular ( $p < 0,05$ ), quando comparadas ao controle salina (Figura 11).

Sendo assim, a dose escolhida para dar continuidade ao estudo foi a de 2 mg de MIA, sendo a segunda injeção intra-articular reaplicada no 4º dia após a primeira.



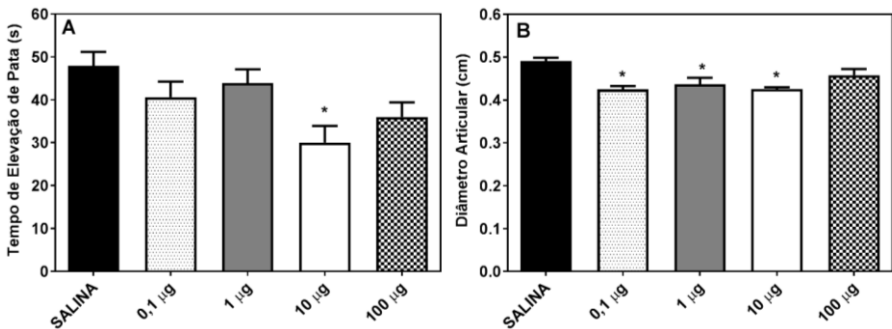
**Figura 11: Incapacitação e edema articular induzidos por MIA (1 e 2 mg).** As medidas do tempo de elevação de pata (A) e do diâmetro articular (B) foram realizadas do quinto ao oitavo dia após a primeira injeção de MIA. A segunda injeção de MIA foi realizada no 4º dia após a primeira (linha tracejada). Nos gráficos estão representados os resultados dos grupos salina; 1 e 2 mg de MIA aplicados intra-articular uma ou duas vezes. Os dados representam a média  $\pm$  E.P.M. ( $n = 8$ ). \* representa a diferença estatística em relação ao grupo salina com  $p < 0,05$  da dose de 2 mg (2 inj.) e #  $p < 0,05$  da dose de 1 mg (2 inj.) (ANOVA de duas vias seguida do pós teste de Bonferroni).

#### 4.2 EFEITO DO TRAMADOL INTRATECAL NO MODELO DE OSTEOARTRITE INDUZIDA POR MIA

O efeito do tramadol na incapacitação e edema articular, administrado pela via intratecal, foi avaliado em animais submetidos a duas injeções de 2 mg de MIA. Após a avaliação do TEP e DA basal e após 24h da segunda injeção de MIA (tempo zero – basal do MIA), o tramadol foi injetado no espaço subaracnoideo nas doses de 0,1; 1; 10 e 100 µg, imediatamente após a mensuração do TEP e DA no tempo zero. As avaliações foram registradas 30 min, 1 h, 2 h, e 3 h após a administração do tramadol e demonstradas como média dos quatro tempos estudados.

No teste de incapacitação articular, a dose de 10 µg ( $p < 0,01$ ) de tramadol foi capaz de reduzir significativamente o TEP aumentado pelo MIA, mostrando o efeito analgésico quando comparado ao grupo salina. Na avaliação do edema articular, todas as concentrações de tramadol foram capazes de reduzir o DA ( $p < 0,01$ ), exceto a dose de 100 µg (Figura 12).

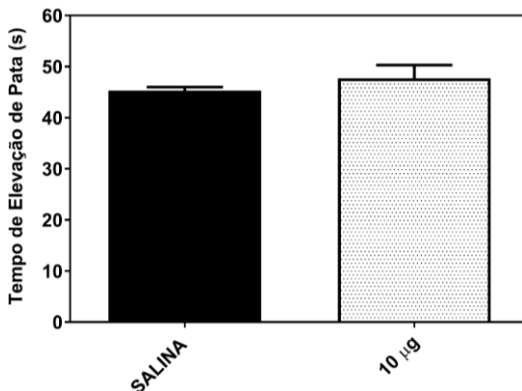
Nenhum efeito adverso como efeitos motores, agitação ou sedação, foi observado durante todo o estudo.



**Figura 12: Efeito do tramadol intratecal sobre a incapacitação e o edema articular em ratos com osteoartrite induzida por MIA.** O tramadol (0,1, 1, 10 e 100 µg) foi administrado pela via intratecal 24 horas após a segunda injeção de MIA (2 mg, i. art.). O grupo controle recebeu solução de NaCl 0,9% (salina/10 µl). As medidas do tempo de elevação de pata (A) e diâmetro articular (B) foram realizadas meia hora até 3 horas após o tramadol. Os dados representam a média ± E.P.M. (n = 6). \* representa a diferença estatística em relação ao grupo salina com  $p < 0,01$  (ANOVA de uma via seguida do pós teste de Dunnett).

#### 4.2.1 Efeito do tramadol aplicado pela via subcutânea

Após observar a importante redução da incapacitação articular no modelo de MIA com a concentração de 10 µg de tramadol intratecal, essa mesma dose foi aplicada pela via subcutânea (100 µl) para avaliar o efeito sistêmico, sugerindo que, nesta concentração, o tramadol não é capaz de reduzir o TEP quando administrado pela via subcutânea, reforçando o efeito analgésico intramedular. Os registros de TEP foram realizados nos tempos descritos anteriormente, não sendo observada diferença significativa na incapacitação articular quando comparada a injeção de solução salina na via subcutânea (Figura 13).



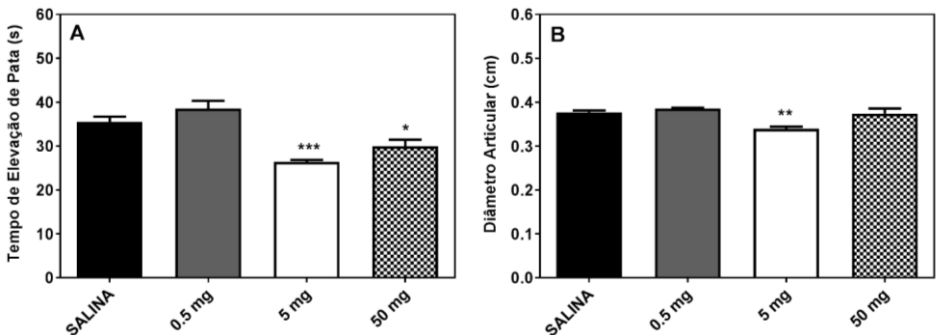
**Figura 13: Efeito da dose de 10 µg de tramadol aplicada pela via subcutânea sobre a incapacitação articular em ratos com osteoartrite induzida por MIA.** O tramadol foi administrado pela via subcutânea 24 horas após a segunda injeção de MIA (2 mg, i. art.). O grupo controle recebeu solução de NaCl 0,9% (salina/100 µl). As medidas do tempo de elevação de pata foram realizadas meia hora até 3 horas após o tramadol. Os dados representam a média ± E.P.M. (n = 6). Não houve diferença estatística em relação ao grupo controle (Teste t não pareado).

#### 4.3 EFEITO DO TRAMADOL VIA ORAL NO MODELO DE OSTEOARTRITE INDUZIDA POR MIA

Para comparação do efeito do tramadol administrado pela via intratecal, foi também administrado pela via oral e avaliado o efeito antinociceptivo e antiedematogênico na incapacitação e edema articular no modelo de OA. Foram registrados o TEP e DA basal (B) e após 24 h da segunda injeção de MIA, no quinto dia (tempo zero – basal do MIA). O tramadol foi administrado por gavagem nas doses de 0,5, 5 e 50 mg/kg imediatamente após a mensuração do TEP e DA no tempo zero. As avaliações foram registradas 30 min, 1 h, 2 h, e 3 h após a

administração do tramadol e demonstradas como média destes quatro tempos.

As doses de 5 mg/kg ( $p < 0,001$ ) e 50 mg/kg ( $p < 0,05$ ) de tramadol via oral foram capazes de reduzir a incapacitação e somente a dose de 5 mg/kg ( $p < 0,01$ ), o edema articular (Figura 14).



**Figura 14: Efeito do tramadol via oral sobre a incapacitação e o edema articular em ratos com osteoartrite induzida por MIA.** O tramadol (0,5, 5 e 50 mg/kg) foi administrado pela via oral 24 horas após a segunda injeção de MIA (2 mg, i. art.). O grupo controle recebeu solução de NaCl 0,9% (salina). As medidas do tempo de elevação de pata (A) e diâmetro articular (B) foram realizadas meia hora até 3 horas após o tramadol. Os dados representam a média  $\pm$  E.P.M. ( $n = 7$ ). \* representa a diferença estatística em relação ao grupo salina com  $p < 0,05$ , \*\*  $p < 0,01$  e \*\*\*  $p < 0,001$  (ANOVA de uma via seguida do pós teste de Dunnett).

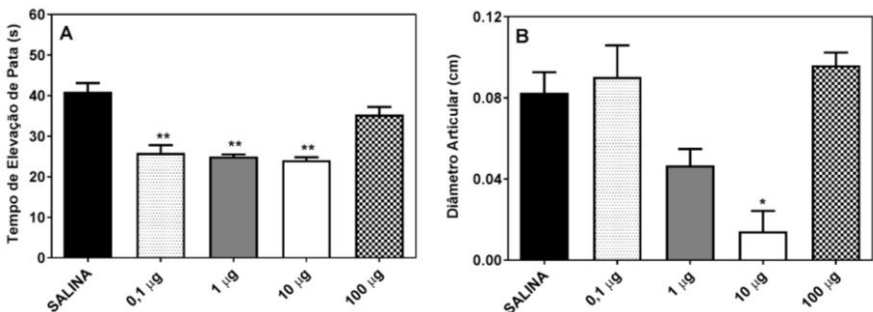
#### 4.4 EFEITO DO TRAMADOL INTRATECAL NO MODELO DE ARTRITE INDUZIDA POR CARRAGENINA E LPS

Para induzir a monoartrite característica do modelo de ReA, foram administrados 30 ng de LPS na articulação do joelho direito dos animais, 72 h após a aplicação intra-articular de carragenina (300  $\mu$ g). O tramadol foi

administrado pela via intratecal nas doses de 0,1; 1; 10 e 100  $\mu\text{g}$ , 20 min antes do LPS. A incapacitação e edema articular foram registrados imediatamente antes da injeção de LPS (basal) e após 2 h, 3 h, 4 h e 5 h, quando o efeito da incapacitação e edema articular induzidos pelo LPS é mais significativo. O resultado foi representado como média dos quatro tempos avaliados.

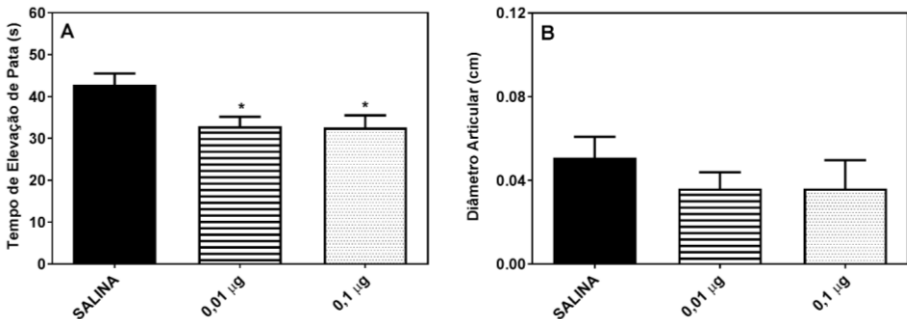
Todas as doses de tramadol, exceto a de 100  $\mu\text{g}$ , foram capazes de reduzir significativamente o TEP na avaliação da incapacitação articular ( $p < 0,001$ ). Já na avaliação do edema articular, apenas a dose de 10  $\mu\text{g}$  mostrou-se eficaz na redução do DA ( $p < 0,01$ ) (Figura 15).

Diante deste resultado, o efeito do tramadol intratecal na dose de 0,01  $\mu\text{g}$  foi também avaliado, também mostrando-se eficaz na redução da incapacitação articular ( $p < 0,05$ ), entretanto, este efeito não foi observado na redução do edema articular (Figura 16).



**Figura 15: Efeito do tramadol intratecal sobre a incapacitação e o edema articular em ratos com artrite induzida por carragenina e LPS.** O tramadol (0,1, 1, 10 e 100  $\mu\text{g}$ ) foi administrado pela via intratecal 20 minutos antes do LPS (30 ng, i. art.). O grupo controle recebeu solução de NaCl 0,9% (salina/10  $\mu\text{l}$ ). As medidas do tempo de elevação de pata (A) e diâmetro articular (B) foram realizadas de 2 até 5 horas após o LPS. Os dados representam a média  $\pm$  E.P.M. (n=7). \* e \*\* representam a diferença estatística em

relação ao grupo salina com  $p < 0,01$  e  $p < 0,001$ , respectivamente (ANOVA de uma via seguida do pós teste de Dunnett).



**Figura 16: Efeito do tramadol intratecal sobre a incapacitação e o edema articular em ratos com artrite induzida por carragenina e LPS (0,01 µg).** O tramadol (0,01 e 0,1 µg) foi administrado pela via intratecal 20 minutos antes do LPS (30 ng, i. art.). O grupo controle recebeu solução de NaCl 0,9% (salina/10 µl). As medidas do tempo de elevação de pata (A) e diâmetro articular (B) foram realizadas de 2 até 5 horas após o LPS. Os dados representam a média ± E.P.M. (n = 7). \* representa a diferença estatística em relação ao grupo salina com  $p < 0,05$  (ANOVA de uma via seguida do pós teste de Dunnett).

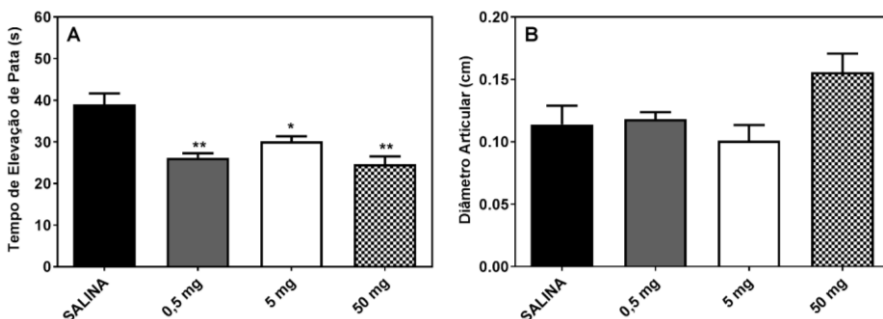
#### 4.5 EFEITO DO TRAMADOL VIA ORAL NO MODELO DE ARTRITE INDUZIDA POR CARRAGENINA E LPS

Da mesma forma que no modelo de OA, o efeito do tramadol administrado pela via oral foi avaliado para posteriormente compará-lo à administração diretamente no espaço subaracnóideo. Todas as doses de tramadol oral foram capazes de reduzir o TEP na incapacitação articular (0,5mg/kg,  $p > 0,001$ ; 50 mg/kg,  $p > 0,001$  e 5 mg/kg,  $p > 0,05$ ), no entanto, nenhuma dose de tramadol oral reduziu

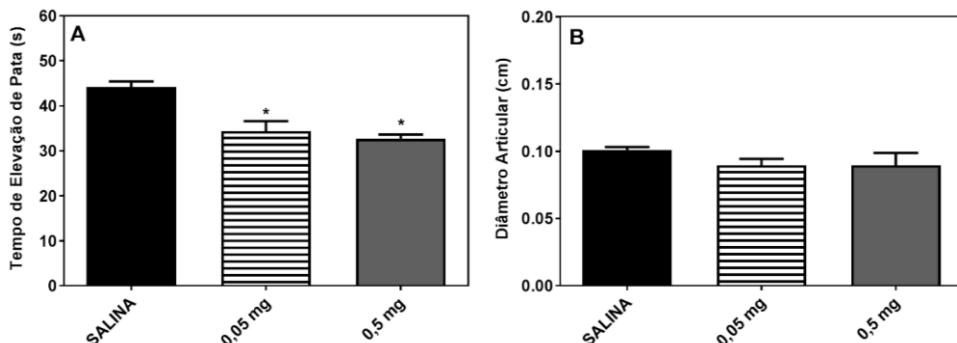


significativamente o edema articular no modelo de LPS (Figura 17).

A dose de 0,05 mg/kg de tramadol via oral foi avaliada em seguida, mostrando-se eficaz na redução da incapacitação articular, assim como a dose de 0,5 mg/kg ( $p > 0,01$ ). Em nova avaliação do DA, a dose de 0,05 mg/kg não foi capaz reduzir o edema induzido pelo LPS, confirmando a resposta anteriormente observada com as demais doses (Figura 18).



**Figura 17: Efeito do tramadol via oral sobre a incapacitação e o edema articular em ratos com artrite induzida por carragenina e LPS.** O tramadol (0,5, 5 e 50 mg/kg) foi administrado pela via intratecal 20 minutos antes do LPS (30 ng, i. art.). O grupo controle recebeu solução de NaCl 0,9% (salina). As medidas do tempo de elevação de pata (A) e diâmetro articular (B) foram realizadas de 2 até 5 horas após o LPS. Os dados representam a média  $\pm$  E.P.M. ( $n = 7$ ). \* e \*\* representam a diferença estatística em relação ao grupo salina com  $p < 0,05$  e  $p < 0,01$ , respectivamente (ANOVA de uma via seguida do pós teste de Dunnett).



**Figura 18: Efeito do tramadol via oral sobre a incapacitação e o edema articular em ratos com artrite induzida por carragenina e LPS (0,05 mg/kg).** O tramadol (0,05 e 0,5 mg/kg) foi administrado pela via intratecal 20 minutos antes do LPS (30 ng, i. art.). O grupo controle recebeu solução de NaCl 0,9% (salina). As medidas do tempo de elevação de pata (A) e diâmetro articular (B) foram realizadas de 2 até 5 horas após o LPS. Os dados representam a média  $\pm$  E.P.M. (n = 7). \* representa a diferença estatística em relação ao grupo salina com  $p < 0,01$  (ANOVA de uma via seguida do pós teste de Dunnett).

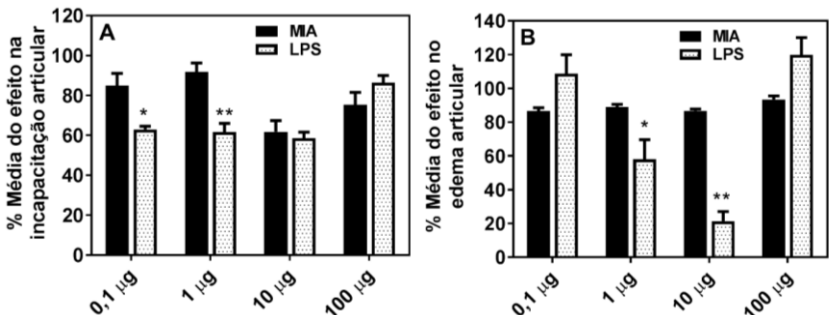
#### 4.6 COMPARAÇÃO DO EFEITO DO TRAMADOL INTRATECAL NOS MODELOS DE OSTEOARTRITE E ARTRITE REATIVA

Para a avaliação comparativa do efeito do tramadol intratecal em ambos os modelos estudados, os dados TEP e DA, foram transformados em porcentagem e desta forma, cada dose de tramadol pôde ser comparada entre o modelo de OA e de ReA. A porcentagem média do efeito do tramadol foi calculada com base nos dados do controle salina (efeito de 100%) de cada modelo.

Quanto ao efeito do tramadol intratecal na incapacitação articular, as doses de 1 e 0,1  $\mu$ g mostraram-se distintas entre os dois modelos. A porcentagem de redução do efeito nociceptivo foi mais significativa no

modelo de LPS do que no modelo de OA nas doses de 1  $\mu\text{g}$  ( $p > 0,001$ ) e 0,1  $\mu\text{g}$  ( $p > 0,5$ ) de tramadol.

Quanto ao efeito sobre o edema articular, as doses de 10 e 1  $\mu\text{g}$  de tramadol induziram significativa redução do efeito edematogênico induzido pelo LPS, quando comparadas as mesmas doses no modelo de OA (10  $\mu\text{g}$   $p > 0,001$  e 1  $\mu\text{g}$   $p > 0,05$ ) (Figura 19).

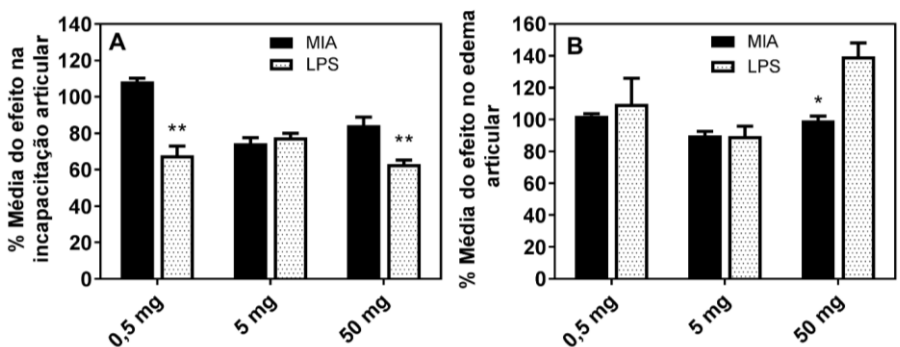


**Figura 19: Comparação do efeito do tramadol intratecal nos modelos de osteoartrite induzida por MIA e artrite induzida por LPS sobre a incapacitação e o edema articular.** Os dados foram transformados em porcentagem para a comparação do efeito do tramadol em ambos os modelos. Foram comparadas as doses de 100, 10, 1 e 0,1  $\mu\text{g}$  administradas pela via intratecal. A porcentagem média do efeito do tramadol foi calculada com base no controle salina (efeito de 100%) de cada modelo. (A) Representa a porcentagem média do efeito do tramadol intratecal na incapacitação articular e (B) no edema articular. Os dados representam a média  $\pm$  E.P.M. ( $n = 7$ ). \* e \*\* representam a diferença estatística em relação ao modelo de OA (MIA) com  $p < 0,05$  e  $p < 0,001$ , respectivamente (ANOVA de duas vias seguida do pós teste de Bonferroni).

#### 4.7 COMPARAÇÃO DO EFEITO DO TRAMADOL ORAL NOS MODELOS DE OSTEOARTRITE E ARTRITE REATIVA

Quando foi comparado o efeito do tramadol administrado pela via oral nos dois modelos de artropatias, também com os dados transformados em porcentagem com base no efeito de 100 % do grupo controle salina, observou-se significativa redução do efeito nociceptivo induzido pelo LPS, quando comparado ao induzido pelo MIA, nas doses de 50 ( $p < 0,001$ ) e 0,5 mg/kg ( $p < 0,001$ ) de tramadol.

Quanto ao efeito sobre o edema articular, apenas a dose de 50 mg/kg de tramadol apresentou diferente efeito entre os dois modelos ( $p < 0,01$ ) (Figura 20).



**Figura 20: Comparação do efeito do tramadol oral nos modelos de osteoartrite induzida por MIA e artrite induzida por LPS sobre a incapacitação e o edema articular.** Os dados foram transformados em porcentagem para a comparação do efeito do tramadol em ambos os modelos. Foram comparadas as doses de 50, 5 e 0,5 mg/kg administradas pela via oral. A porcentagem média do efeito do tramadol foi calculada com base no controle salina (efeito de 100%) de cada modelo. (A) Representa a porcentagem média do efeito do tramadol intratecal na incapacitação articular e (B) no edema articular. Os dados representam a média  $\pm$  E.P.M. ( $n = 7$ ). \* e \*\* representam a diferença

estatística em relação ao modelo de ReA (LPS) com  $p < 0,01$  e ao modelo de OA (MIA) com  $p < 0,001$ , respectivamente (ANOVA de duas vias seguida do pós teste de Bonferroni).



## 5 DISCUSSÃO

Os resultados do presente estudo demonstram que a administração intratecal de tramadol reduz a incapacitação e o edema articular induzidos pelo MIA e LPS. O tramadol foi capaz de inibir a nocicepção e o edema articular nos modelos de OA e ReA, sugerindo que este fármaco pode ser efetivo no tratamento de artropatias.

O tramadol administrado pela via intratecal em ratos foi avaliado em outros modelos de dor, diferentes dos apresentados neste estudo (Dhasmana *et al.*, 1989; Kimura *et al.*, 2012; Li *et al.*, 2012). Portanto, até onde é de nosso conhecimento, este trabalho é o primeiro a relatar o efeito simultâneo antinociceptivo e antiedematogênico do tramadol intratecal em modelos de OA e ReA. Além disso, este estudo demonstra que a administração do tramadol pela via intratecal pode ser uma alternativa ao tratamento pela via oral em artropatias, proporcionando melhor eficácia e redução da quantidade de fármaco necessária para o efeito analgésico.

A OA e ReA são condições musculoesqueléticas que apresentam importante impacto na sociedade devido a dor incapacitante que se desenvolve como principal sintomatologia clínica. Deste modo, o alívio da dor e consequente melhoria na qualidade de vida destes pacientes, associado a um medicamento com mínimos efeitos nocivos, são os objetivos do tratamento para estas artropatias.

Em virtude dos efeitos adversos observados com o uso de medicamentos analgésicos e anti-inflamatórios comumente administrados no tratamento das artropatias, o tramadol foi proposto como analgésico em diferentes condições musculoesqueléticas por fornecer analgesia multimodal e com melhor perfil de segurança que opioides convencionais (Schug, 2007). A escolha de um analgésico com mínimos efeitos colaterais, associada à administração

pela via intratecal, aqui proposta, que permite a modulação da transmissão nociceptiva ao nível espinhal, torna-se um tratamento potencialmente eficaz.

O tramadol possui ação antinociceptiva atribuída principalmente ao efeito agonista  $\mu$  opioide e ao efeito modulador das vias centrais monoaminérgicas, inibindo a recaptação de noradrenalina e serotonina (Raffa *et al.*, 1992). Além da via intravenosa e oral, o tramadol tem sido usado para o alívio da dor clínica pela via intratecal (Alhashemi e Kaki, 2003; Demiraran *et al.*, 2005; Afolayan *et al.*, 2014). Contudo, os mecanismos exatos da ação deste analgésico na medula espinhal ainda não estão completamente elucidados (Li *et al.*, 2012). O presente estudo objetivou demonstrar o efeito analgésico e anti-dematogênico do tramadol administrado pela via intratecal em diferentes modelos de artropatias.

Sabe-se que a dor é o principal sintoma nas artropatias e sua quantificação pode contribuir para elucidar os mecanismos das doenças articulares e avaliar os efeitos de medicações analgésicas. À vista disso, muitos métodos empregando modelos animais, que permitem explorar a dor artrítica, tem sido desenvolvidos (Min *et al.*, 2001). A exemplo, o modelo de incapacitação articular em ratos, desenvolvido por Tonussi e Ferreira (1992). O teste de incapacitação articular foi adotado neste estudo por permitir a quantificação da dor artrítica no momento da deambulação, proporcionando uma avaliação que reflete o principal sintoma das artropatias, a dor evocada ao movimento. O teste representa a avaliação direta e objetiva da funcionalidade articular, além de ser sensível a todas as classes de analgésicos e independe do observador (Tonussi e Ferreira, 1992; Bressan *et al.*, 2006).

A medida do diâmetro articular, realizada em conjunto com o teste de incapacitação articular, é uma ferramenta útil para quantificar o edema inflamatório articular e também a ação antiinflamatória de diversos fármacos (Bressan *et al.*, 2003). Desta forma, os modelos



de artropatias usados neste estudo permitem a análise simultânea da nocicepção e do edema articular, o que geralmente não é realizado em outros estudos, que avaliam somente parâmetros inflamatórios ou nociceptivos separadamente.

O modelo experimental de incapacitação articular induzida pelo MIA foi padronizado em nosso laboratório em ratos Wistar fêmeas (Mascarin, 2015). Em ratos Wistar machos, foi demonstrado neste estudo que duas injeções de 2 mg de MIA na articulação do joelho causa importante incapacitação e edema articular, que se mantêm durante 11 dias, possibilitando o estudo do efeito álgico por um período prolongado. O modelo de OA induzido por MIA tem sido proposto para induzir processos nociceptivos crônicos, devido ao longo processo degenerativo que ocorre na articular e ativação das fibras sensoriais periféricas tipo C e A $\delta$  (Kelly *et al.*, 2012). Numerosos estudos demonstraram que o MIA em roedores produz alterações comportamentais importantes que podem representar a experiência dolorosa de pacientes com OA, nos testes de distribuição de peso (*weight bearing*), hiperalgesia e dor referida (Combe *et al.*, 2004; Ivanavicius *et al.*, 2007; Okun *et al.*, 2012). Os resultados deste estudo mostraram que a administração de MIA intra-articular foi capaz de causar incapacitação e edema articular consistentes e duradouros, possibilitando evidenciar o efeito antinociceptivo e anti-edematogênico do tramadol intratecal e oral, o que torna este modelo uma importante ferramenta para a avaliação de mecanismos e fármacos relacionados à OA. Combe e colaboradores (2004), ao avaliarem o efeito do MIA intra-articular no teste de distribuição de peso, obtiveram efeito nociceptivo de até 70 dias, na mesma dose usada neste estudo, com apenas uma aplicação. Tal resultado diverge do presente estudo possivelmente pelas distintas formas de avaliação realizadas, pois diferentes modelos animais de nocicepção podem exercer efeitos aversivos distintos sobre o indivíduo. Foi demonstrado que a ansiedade ou o medo podem alterar

a resposta nociceptiva em animais. Em modelos animais em que a nocicepção é a principal fonte de ansiedade ou medo, como por exemplo, em modelos não escapáveis com contenção constante, ocorre o aumento da nocicepção, enquanto modelos em que a atenção não é focada somente na nocicepção, esse aumento da nocicepção não é observado (Martins *et al.*, 2010). O teste de distribuição de peso avalia a incapacidade medindo alterações na distribuição de peso dos membros pélvicos, apoiados sobre uma placa de força com o animal imobilizado. No teste de incapacitação articular, a avaliação é realizada com o animal deambulando sobre o cilindro, dividindo assim a atenção do animal com a tarefa que lhe é designada e este não sofre o estresse da imobilização durante a avaliação. Além disso, a incapacitação articular medida durante a deambulação representa de forma mais semelhante a dor e incapacitação que ocorrem no paciente com OA (Felson, 2005).

O modelo de ReA induzida por carragenina e LPS tem sido uma ferramenta útil para avaliar a nocicepção e edema articular em um modelo de monoartrite aguda em ratos, por apresentar sintomas característicos comuns a diversos tipos de artrites em humanos, além da ReA. A incapacitação articular induzida por carragenina e LPS é sensível aos fármacos analgésicos clássicos e tem permitido detectar a importância de outros fármacos e mediadores inflamatórios envolvidos no processo artrítico (De-Melo *et al.*, 1998; Bressan *et al.*, 2003; Motta *et al.*, 2003; Bressan *et al.*, 2010). Neste estudo, a incapacitação articular induzida por carragenina e LPS mostrou-se sensível ao tramadol intratecal e oral, analgésico até então não estudado neste modelo.

No modelo de OA induzido por MIA, a dose de 10 µg de tramadol intratecal foi eficiente em reduzir a incapacitação articular, resultado semelhante ao obtido em estudos com o modelo de elevação de pata induzido por formalina, que mostraram antinocicepção significativa com esta dose intratecal em ratos (Granados-Soto e Argüelles,

2005; Li *et al.*, 2012). Com a finalidade de demonstrar que o efeito antinociceptivo do tramadol observado neste estudo foi restrito à medula espinhal, esta mesma dose (10 µg) foi administrada pela via subcutânea, não apresentando alteração na incapacitação articular. A administração sistêmica do tramadol não foi capaz de induzir o efeito antinociceptivo observado na administração intratecal, confirmando que o efeito do tramadol observado no experimento anterior ocorreu a nível espinhal, possivelmente pela ligação do tramadol e seu metabólito O-desmetiltramadol com receptores  $\mu$  opioides e inibição de transportadores de noradrenalina e serotonina.

Em comparação a administração do tramadol pela via intratecal neste mesmo modelo, a menor dose administrada pela via oral que promoveu analgesia, foi 150 vezes maior do que a intratecal. Essa diferença entre as doses aplicadas pelas diferentes vias foi ainda mais importante no modelo de LPS, onde a dose via oral eficaz em reduzir a incapacitação articular foi 1.500 vezes superior a intratecal, corroborando com a proposta deste estudo em abordar o tratamento das artropatias pela via intratecal como alternativa à via oral. A via intratecal pode proporcionar analgesia com doses muito menores e reduzir a incidência de toxicidade relacionada a produtos de degradação, já que o fármaco é administrado próximo ao seu local de ação no SNC, evitando o metabolismo de primeira passagem e a barreira hematocefálica (Yaksh e Rudy, 1976), no entanto, mais estudos devem ser realizados para a avaliação do tratamento a longo prazo.

Quando comparamos o efeito antinociceptivo do tramadol intratecal e via oral nos dois modelos estudados, podemos perceber que doses mais baixas de tramadol reduzem a incapacitação articular no modelo de artrite, enquanto não são efetivas no modelo de OA. As doses de 1 e 0,1 µg de tramadol intratecal foram capazes de reduzir o efeito da incapacitação articular induzida pelo LPS em 38,3 e 37%, respectivamente; enquanto as mesmas doses, no

modelo de OA, apenas 8,4 e 15,1%. Resultado semelhante foi observado quando comparadas as doses do tramadol administrado pela via oral entre os dois modelos; as doses de 50 e 0,5 mg/kg de tramadol oral reduziram o efeito antinociceptivo no modelo de artrite em 36,8 e 32 %, respectivamente, enquanto no modelo de OA, a dose de 50 mg/kg de tramadol oral foi capaz de reduzir o efeito nociceptivo em apenas 15,6 % e a dose mais baixa, de 0,5 mg/kg, não mostrou efeito na incapacitação articular.

Tratando-se de dois modelos distintos, que objetivam representar artropatias com diferentes conceitos de dor, a menor sensibilidade do modelo de OA ao tramadol pode ser explicada pela complexa etiologia e difícil terapêutica da dor crônica que ocorre nesta patologia. Assim como os sintomas referidos nos pacientes com OA, o modelo de OA induzido por MIA possui características semelhantes de dor crônica (Combe *et al.*, 2004; Kelly *et al.*, 2012). Diferente das características da dor aguda observadas na ReA, a dor crônica osteoarticular está associada a lesão ou disfunção no SNC ou periférico e sua fisiopatologia é multifatorial e não está completamente elucidada (Ferreira *et al.*, 2014).

Na dor aguda, o estímulo doloroso sensibiliza nociceptores periféricos, ativando fibras A $\delta$  e C que conduzem a informação nociceptiva até o corno dorsal da medula, ocorrendo a modulação. Após, a informação é conduzida até centros supraespinhais, sendo processada no córtex somatossensitivo e interpretada como dor. Já na dor crônica, ocorrem alterações de excitabilidade neuronal nas vias periféricas e centrais decorrentes de sua lesão ou disfunção por trauma, inflamação, entre outras. A complexa etiologia da dor crônica osteoarticular pode estar relacionada à ação de mediadores químicos da nociceção, tanto de ativadores quanto da serotonina, bradicinina, histamina, ATP, adenosina, íons de cálcio, hidrogênio e sensibilizadores, como prostaglandinas, leucotrienos,

substância P, noradrenalina, NO e CGRP (Ximenes *et al.*, 2009), tornando o controle da dor muito mais difícil. Apesar do mecanismo de ação multimodal do tramadol, doses mais baixas que induziram resposta antinociceptiva no modelo de dor aguda induzido pelo LPS, talvez não tenham sido suficientes para reduzir a transmissão nociceptiva nas vias de sinalização, condução, modulação e percepção da dor no modelo de OA.

Em ambos os modelos estudados, além da redução na incapacitação, o tramadol intratecal foi capaz de reduzir o edema articular. No modelo de OA, após a administração intra-articular de MIA, inicia-se uma resposta inflamatória, caracterizada histologicamente pela expansão da membrana sinovial por líquido de edema proteináceo e fibrina com macrófagos, neutrófilos, células plasmáticas e linfócitos, até aproximadamente sete dias após a injeção (Bove *et al.*, 2003), justificando o aumento do DA que ocorreu após as duas injeções de MIA. O edema é um sinal característico da inflamação aguda e sua formação também está bem relatada no modelo de ReA induzida por LPS, onde foram observados aumentos significativos de células mononucleares e leucócitos totais no líquido sinovial, além do aumento do DA (Bressan, 2005).

Embora o efeito antiedematogênico do tramadol intratecal tenha sido observado em ambos os modelos de artropatias, quando comparamos este efeito entre os dois modelos, observamos clara redução do edema no modelo de artrite quando comparado ao de OA, principalmente com a dose de 10 µg. A resposta edematogênica articular no modelo de ReA é superior ao modelo de OA, em que a degradação da cartilagem sobressai ao edema articular, da mesma forma em que ocorre nos pacientes com essas artropatias. Este fato pode explicar a redução do edema mais significativa no modelo de ReA quando comparada ao modelo de OA, que apresenta edema menos evidente. A dose de 10 µg de tramadol intratecal foi capaz de reduzir em 78,6% o efeito edematogênico induzido pelo LPS, sugerindo

importante ação antiedematogênica do tramadol administrado pela via intratecal no modelo de artrite. O efeito antinociceptivo do tramadol está bem relatado na literatura, entretanto, são escassos os estudos que o relacionam à inflamação. O efeito antiedematogênico do tramadol aplicado pela via intratecal, até o presente momento, não foi relatado.

Foi observada também a redução do edema articular com o tramadol administrado pela via oral, na dose de 5 mg/kg no modelo de OA. No entanto, a dose referida foi 15.000 vezes superior à administrada pela via intratecal capaz de reduzir o edema articular, sugerindo a necessidade de doses sistêmicas muito superiores. No modelo de ReA, o tramadol administrado pela via oral não foi capaz de reduzir o edema articular. Ademais, quando comparado o efeito antiedematogênico do tramadol oral nos dois modelos, com nenhuma dose obteve-se importante efeito na redução do edema articular.

O efeito antiedematogênico do tramadol pode ser sugerido por sua ação opioidérgica. Agonistas de receptores  $\mu$  opioides, além de produzirem potente analgesia, também são capazes de reduzir manifestações da inflamação, como o edema. A morfina, importante analgésico opioide, administrada pela via intratecal em modelo de carragenina na pata foi capaz de reduzir o edema (Brock e Tonussi, 2008), efeito este não observado com a administração local do opioide (Whiteside *et al.*, 2005). Estudos demonstraram que a administração sistêmica de morfina também foi capaz de reduzir o edema articular (Sacerdote *et al.*, 1996; Whiteside *et al.*, 2005). A via do efeito antiedematogênico da morfina ainda é inconclusiva, mas foi demonstrado o envolvimento da via L-arginina/NO/GMPc (Brock e Tonussi, 2008) e de canais de potássio medular (Foletto *et al.*, 2013).

Outro aspecto importante para justificar o efeito antiedematogênico do tramadol, são as evidências demonstradas por Sacerdote e colaboradores (1997), de que fármacos com ação inibitória da recaptação de

serotonina e noradrenalina, como a clomipramina, são capazes de diminuir a migração espontânea e estimulada de macrófagos de ratos, uma vez que o recrutamento de macrófagos e monócitos para os locais de inflamação é fundamental no desenvolvimento e manutenção do processo inflamatório. De fato, essas evidências associadas a importante ação analgésica do tramadol em diversas condições clínicas de dor inflamatória, impulsionaram pesquisadores a estudar a possibilidade de este analgésico reduzir a inflamação. Foi observado que o tramadol administrado pela via intraperitoneal reduziu significativamente o edema e a hiperalgesia induzida por injeção de levedura na pata de ratos e também a quantidade de exsudato, bem como a atividade da prostaglandina no exsudato. No entanto, a quantidade de leucotrienos no exsudato não foi alterada, nem a capacidade dos macrófagos migrarem para o peptídeo quimiotático formil-metionil-leucil-fenilalanina (FMLP), sugerindo que o tramadol é capaz de inibir diferentes tipos de inflamação no rato sem afetar os mecanismos imunológicos (Bianchi *et al.*, 1999).

Embora os mecanismos do efeito antiedematogênico dos opioides não estejam claramente compreendidos, hipóteses sugerem a ativação de receptores neuronais presentes no SNC e periférico. A morfina e outros opioides com atividade central reduzem o tônus muscular em conjunto com a sedação, podendo ter efeito sobre o fluxo sanguíneo local nos tecidos periféricos. Alternativamente, os opioides podem reduzir o edema através da interação com células do sistema imune como leucócitos e macrófagos circulantes ou no local da inflamação (Whiteside *et al.*, 2005).

Outra hipótese a ser considerada neste contexto, é a manipulação espinhal de alguns neurotransmissores, que pode modular a despolarização das fibras aferentes e como consequência, modificar a inflamação periférica (Rees *et al.*, 1994). A medula espinhal não somente participa do controle

da nocicepção, como também, pode modular a inflamação periférica. De maneira geral, as fibras aferentes primárias transmitem a informação sensorial da periferia para a medula espinhal de forma ortodrômica. Entretanto, sob algumas circunstâncias patológicas, esta atividade pode ser detectada emergindo da medula espinhal, através das fibras sensoriais primárias de forma antidrômica (Willis, 1999), modulando a inflamação ao estimular a liberação de peptídeos vasoativos (Averbeck *et al.*, 2001) dos nociceptores nos tecidos periféricos, contribuindo para o processo inflamatório. Este processo é denominado de reflexo da raiz dorsal (RRD) e ocorre após estímulos álgicos sustentados, que podem causar sensibilização medular, resultando na despolarização de terminais centrais dos nociceptores e a consequente deflagração de potenciais de ação anterógrados (Willis, 1999).

Para que ocorra a deflagração do RRD, deve haver uma despolarização das fibras aferentes primárias (PAD) na medula espinhal. A PAD ocorre quando o impulso ortodrômico em uma fibra aferente primária despolariza o terminal central de outra fibra aferente, através de um interneurônio GABAérgico com ligação axo-axônica pré-sináptica (Willis, 1999). Essa despolarização do terminal central pelo neurotransmissor GABA ocorre através da ligação com o receptor GABA<sub>A</sub>, que induz a saída de íons de cloreto através da abertura do canal iônico associado e consequente despolarização da membrana do aferente primário. Esse efluxo é resultante de um padrão de expressão de transportadores de Cl<sup>-</sup> nos aferentes primários, diferente dos demais neurônios centrais.

No corno dorsal da medula espinhal, os aferentes primários expressam de forma mais significativa o cotransportador de Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> e Cl<sup>-</sup> (NKCC1), que carrega dois íons de Cl<sup>-</sup>, um de K<sup>+</sup> e um de Na<sup>+</sup> através da membrana celular para dentro do citoplasma, do que o de K<sup>+</sup> e Cl<sup>-</sup> (KCC2), que cotransporta Cl<sup>-</sup> e K<sup>+</sup> para fora do citoplasma (Blaesse *et al.*, 2009). Como consequência, a concentração



de  $\text{Cl}^-$  intracelular em neurônios sensoriais primários permanece acima do equilíbrio eletroquímico (Scherrer *et al.*, 2009). Desta forma, quando o GABA ativa seus receptores, ocorre o efluxo de cloreto ao invés do influxo, despolarizando a membrana do aferente primário (Willis, 1999).

Em condições normais, a PAD, mesmo causando despolarização, é um evento inibitório, pois a despolarização ocorre somente no terminal central do aferente primário. Como consequência, ocorre a redução da amplitude dos potenciais de ação que invadem os terminais pré-sinápticos por encontrarem canais de  $\text{Na}^+$  e de  $\text{Ca}^{+2}$  já inativados. A redução do potencial de ação pré-sináptico resulta em menor influxo de  $\text{Ca}^{+2}$  para dentro do terminal pré-sináptico, diminuindo a quantidade de neurotransmissor a ser liberado na sinapse entre o terminal aferente primário e o neurônio de segunda ordem, caracterizando a inibição pré-sináptica (Willis, 1999; 2006) Entretanto, sob condições patológicas, a despolarização excessiva das fibras sensoriais aumenta a magnitude da PAD, superando a inibição pré-sináptica e deflagrando o RRD.

Os neurônios aferentes primários contém diversos receptores em toda sua extensão, porém, o papel destes receptores na despolarização dos aferentes primários ou na inibição pré-sináptica ainda é incerto. Foi sugerido que os opioides ao agirem em seus receptores localizados nos terminais aferentes, tornam estes neurônios mais susceptíveis à inibição pré-sináptica, além de hiperpolarizarem os terminais aferentes (Willis, 1999).

Diante do exposto, a modulação da transmissão medular pode ser um potencial mecanismo para o tratamento das artropatias, em que a inflamação é um fator importante e frequentemente presente, reforçando nossa proposta de terapêutica pela via intratecal.



## 6 CONCLUSÃO

- O modelo de osteoartrite induzida por MIA foi eficiente em demonstrar a incapacitação e edema articular em ratos Wistar machos, possibilitando a avaliação do efeito analgésico e antiedematogênico do tramadol;
- O tramadol administrado pela via intratecal reduziu a incapacitação e o edema articular nos modelos de OA induzida por MIA e artrite induzida por LPS, com resultados mais significativos no modelo de ReA;
- A administração do tramadol pela via intratecal possui grande potencial antinociceptivo e antiedematogênico como tratamento para OA e ReA, apresentando vantagens significativas quando comparado à via oral.



## REFERÊNCIAS

AFOLAYAN, J. M. et al. Intrathecal tramadol versus intrathecal fentanyl for visceral pain control during bupivacaine subarachnoid block for open appendectomy. **Niger J Clin Pract**, v. 17, n. 3, p. 324-30, 2014 May-Jun 2014. ISSN 1119-3077. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24714011> >.

ALCALAY, M. et al. [Post-traumatic reactive arthritis. Etiologic, clinical and diagnostic aspects. Apropos of 6 cases]. **Rev Rhum Mal Osteoartic**, v. 56, n. 11, p. 725-9, Nov 1989. ISSN 0035-2659. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2609084> >.

ALCORN, N.; SAUNDERS, S.; MADHOK, R. Benefit-risk assessment of leflunomide: an appraisal of leflunomide in rheumatoid arthritis 10 years after licensing. **Drug Saf**, v. 32, n. 12, p. 1123-34, 2009. ISSN 1179-1942. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19916579> >.

ALHASHEMI, J. A.; KAKI, A. M. Effect of intrathecal tramadol administration on postoperative pain after transurethral resection of prostate. **Br J Anaesth**, v. 91, n. 4, p. 536-40, Oct 2003. ISSN 0007-0912. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14504156> >.

ALTMAN, R. et al. Development of criteria for the classification and reporting of osteoarthritis. Classification of osteoarthritis of the knee. Diagnostic and Therapeutic Criteria Committee of the American Rheumatism Association. **Arthritis Rheum**, v. 29, n. 8, p. 1039-49, Aug 1986. ISSN 0004-3591. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3741515> >.

APPEL, H. et al. An elevated level of IL-10- and TGFbeta-secreting T cells, B cells and macrophages in the synovial membrane of patients with reactive arthritis compared to rheumatoid arthritis. **Clin Rheumatol**, v. 23, n. 5, p. 435-40,

Oct 2004. ISSN 0770-3198. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15459815> >.

ATTUR, M. G. et al. Osteoarthritis or osteoarthrosis: the definition of inflammation becomes a semantic issue in the genomic era of molecular medicine. **Osteoarthritis Cartilage**, v. 10, n. 1, p. 1-4, Jan 2002. ISSN 1063-4584. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11795977> >.

AVERBECK, B.; REEH, P. W.; MICHAELIS, M. Modulation of CGRP and PGE2 release from isolated rat skin by alpha-adrenoceptors and kappa-opioid-receptors. **Neuroreport**, v. 12, n. 10, p. 2097-100, Jul 2001. ISSN 0959-4965. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11447314> >.

BALDINI, A.; VON KORFF, M.; LIN, E. H. A Review of Potential Adverse Effects of Long-Term Opioid Therapy: A Practitioner's Guide. **Prim Care Companion CNS Disord**, v. 14, n. 3, 2012. ISSN 2155-7780. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23106029> >.

BARKIN, R. L. Extended-release Tramadol (ULTRAM ER): a pharmacotherapeutic, pharmacokinetic, and pharmacodynamic focus on effectiveness and safety in patients with chronic/persistent pain. **Am J Ther**, v. 15, n. 2, p. 157-66, 2008 Mar-Apr 2008. ISSN 1536-3686. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18356636> >.

BECK, A.; REICHERT, J. M. Approval of the first biosimilar antibodies in Europe: a major landmark for the biopharmaceutical industry. **MAbs**, v. 5, n. 5, p. 621-3, 2013 Sep-Oct 2013. ISSN 1942-0870. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23924791> >.

BENNETT, G. et al. Evidence-based review of the literature on intrathecal delivery of pain medication. **J Pain Symptom Manage**, v. 20, n. 2, p. S12-36, Aug 2000. ISSN 0885-3924.

Disponível em: <  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10989255> >.

BEYREUTHER, B.; CALLIZOT, N.; STÖHR, T. Antinociceptive efficacy of lacosamide in the monosodium iodoacetate rat model for osteoarthritis pain. **Arthritis Res Ther**, v. 9, n. 1, p. R14, 2007. ISSN 1478-6362. Disponível em: <  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17284318> >.

BIANCHI, M. et al. Effects of tramadol on experimental inflammation. **Fundam Clin Pharmacol**, v. 13, n. 2, p. 220-5, 1999. ISSN 0767-3981. Disponível em: <  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10226767> >.

BLAESSE, P. et al. Cation-chloride cotransporters and neuronal function. **Neuron**, v. 61, n. 6, p. 820-38, Mar 2009. ISSN 1097-4199. Disponível em: <  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19323993> >.

BOETTGER, M. K. et al. Antinociceptive effects of tumor necrosis factor alpha neutralization in a rat model of antigen-induced arthritis: evidence of a neuronal target. **Arthritis Rheum**, v. 58, n. 8, p. 2368-78, Aug 2008. ISSN 0004-3591. Disponível em: <  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18668541> >.

BOVE, S. E. et al. Weight bearing as a measure of disease progression and efficacy of anti-inflammatory compounds in a model of monosodium iodoacetate-induced osteoarthritis. **Osteoarthritis Cartilage**, v. 11, n. 11, p. 821-30, Nov 2003. ISSN 1063-4584. Disponível em: <  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14609535> >.

BRAUN, J. et al. Anti-tumour necrosis factor alpha therapy for ankylosing spondylitis: international experience. **Ann Rheum Dis**, v. 61 Suppl 3, p. iii51-60, Dec 2002. ISSN 0003-4967. Disponível em: <  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12381511> >.

BREBAN, M. et al. Animal models of the spondyloarthropathies. **Curr Rheumatol Rep**, v. 2, n. 4, p. 282-7, Aug 2000. ISSN 1523-3774. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11123072> >.

BRESSAN, E. **Comparação do efeito de fármacos antiartríticos e anticorpos anti-citocinas na artrite reativa ao LPS em ratos** 2005. 97 (mestrado). Farmacologia, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

BRESSAN, E.; CUNHA, F. E. Q.; TONUSSI, C. R. Contribution of TNFalpha, IL-1beta and CINC-1 for articular incapacitation, edema and cell migration in a model of LPS-induced reactive arthritis. **Cytokine**, v. 36, n. 1-2, p. 83-9, Oct 2006. ISSN 1043-4666. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17166735> >.

BRESSAN, E. et al. Comparison of two PBR ligands with classical antiinflammatory drugs in LPS-induced arthritis in rats. **Life Sci**, v. 72, n. 23, p. 2591-601, Apr 2003. ISSN 0024-3205. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12672505> >.

BRESSAN, E.; MITKOVSKI, M.; TONUSSI, C. R. LPS-induced knee-joint reactive arthritis and spinal cord glial activation were reduced after intrathecal thalidomide injection in rats. **Life Sci**, v. 87, n. 15-16, p. 481-9, Oct 2010. ISSN 1879-0631. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20837031> >.

BROCK, S. C.; TONUSSI, C. R. Intrathecally injected morphine inhibits inflammatory paw edema: the involvement of nitric oxide and cyclic-guanosine monophosphate. **Anesth Analg**, v. 106, n. 3, p. 965-71, table of contents, Mar 2008. ISSN 1526-7598. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18292447> >.



BROOKS, P. M. The burden of musculoskeletal disease--a global perspective. **Clin Rheumatol**, v. 25, n. 6, p. 778-81, Nov 2006. ISSN 0770-3198. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16609823> >.

BROWN, M. A. et al. The effect of HLA-DR genes on susceptibility to and severity of ankylosing spondylitis. **Arthritis Rheum**, v. 41, n. 3, p. 460-5, Mar 1998. ISSN 0004-3591. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9506574> >.

BRUYÈRE, O. et al. A consensus statement on the European Society for Clinical and Economic Aspects of Osteoporosis and Osteoarthritis (ESCEO) algorithm for the management of knee osteoarthritis-From evidence-based medicine to the real-life setting. **Semin Arthritis Rheum**, v. 45, n. 4 Suppl, p. S3-11, Feb 2016. ISSN 1532-866X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26806188> >.

CARAMÉS, B. et al. Autophagy is a protective mechanism in normal cartilage, and its aging-related loss is linked with cell death and osteoarthritis. **Arthritis Rheum**, v. 62, n. 3, p. 791-801, Mar 2010. ISSN 1529-0131. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20187128> >.

COMBE, R.; BRAMWELL, S.; FIELD, M. J. The monosodium iodoacetate model of osteoarthritis: a model of chronic nociceptive pain in rats? **Neurosci Lett**, v. 370, n. 2-3, p. 236-40, Nov 2004. ISSN 0304-3940. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15488329> >.

COMPENDIUM, E. M. Tramadol hydrochloride. 2015. Disponível em: < <http://www.medicines.org.uk/emc/medicine/24186/SPC#companyDetails> >.

CORTES, A. e al. Identification of multiple risk variants for ankylosing spondylitis through high-density genotyping of immune-related loci. **Nat Genet**, v. 45, n. 7, p. 730-8, Jul 2013. ISSN 1546-1718. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23749187> >.

D'MELLO, R.; DICKENSON, A. H. Spinal cord mechanisms of pain. **Br J Anaesth**, v. 101, n. 1, p. 8-16, Jul 2008. ISSN 1471-6771. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18417503> >.

DE-MELO, J. D. et al. Articular nociception induced by endothelin-1, carrageenan and LPS in naive and previously inflamed knee-joints in the rat: inhibition by endothelin receptor antagonists. **Pain**, v. 77, n. 3, p. 261-9, Sep 1998. ISSN 0304-3959. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9808351> >.

DELEO, J. A. et al. Interleukin-6-mediated hyperalgesia/allodynia and increased spinal IL-6 expression in a rat mononeuropathy model. **J Interferon Cytokine Res**, v. 16, n. 9, p. 695-700, Sep 1996. ISSN 1079-9907. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8887053> >.

DEMIRARAN, Y.; KOCAMAN, B.; AKMAN, R. Y. A comparison of the postoperative analgesic efficacy of single-dose epidural tramadol versus morphine in children. **Br J Anaesth**, v. 95, n. 4, p. 510-3, Oct 2005. ISSN 0007-0912. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16100237> >.

DHASHMANA, K. M. et al. Analgesic effect of tramadol in the rat. **Zhongguo Yao Li Xue Bao**, v. 10, n. 4, p. 289-93, Jul 1989. ISSN 0253-9756. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2624109> >.

DOUGHERTY, P. M.; STAATS, P. S. Intrathecal drug therapy for chronic pain: from basic science to clinical practice. **Anesthesiology**, v. 91, n. 6, p. 1891-918, Dec 1999. ISSN 0003-3022. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10598634> >.

DUNHAM, J.; HOEDT-SCHMIDT, S.; KALBHEN, D. A. Structural and metabolic changes in articular cartilage induced by iodoacetate. **Int J Exp Pathol**, v. 73, n. 4, p. 455-64, Aug 1992. ISSN 0959-9673. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1390193> >.

EHRENFELD, M. Geoepidemiology: the environment and spondyloarthropathies. **Autoimmun Rev**, v. 9, n. 5, p. A325-9, Mar 2010. ISSN 1873-0183. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20026258> >.

FELSON, D. T. The sources of pain in knee osteoarthritis. **Curr Opin Rheumatol**, v. 17, n. 5, p. 624-8, Sep 2005. ISSN 1040-8711. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16093843> >.

FERREIRA, F. S.; ROMANEK, R. M.; POSSO, I. D. P. **Tratamento farmacológico da dor aguda e crônica. Tratamento farmacológico da dor crônica.** São Paulo: Europa Press Comunicação Brasil Ltda: 27 p. 2014.

FERREIRA, S. H. et al. Dor Inflamatória. In: (Ed.). **Dor Princípios e Práticas**. 1ª. Porto Alegre: Artmed, 2009. cap. 19, p.265-279.

FERREIRA, S. H.; NAKAMURA, M. I - Prostaglandin hyperalgesia, a cAMP/Ca<sup>2+</sup> dependent process. **Prostaglandins**, v. 18, n. 2, p. 179-90, Aug 1979. ISSN 0090-6980. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/230542> >.

FOLETTI, V. R.; MARTINS, M. A.; TONUSSI, C. R. The involvement of potassium channels in the peripheral

antiedematogenic effect of intrathecally injected morphine in rats. **Anesth Analg**, v. 116, n. 1, p. 232-8, Jan 2013. ISSN 1526-7598. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23223096> >.

FRINK, M. C. et al. Influence of tramadol on neurotransmitter systems of the rat brain. **Arzneimittelforschung**, v. 46, n. 11, p. 1029-36, Nov 1996. ISSN 0004-4172. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8955860> >.

GRANADOS-SOTO, V.; ARGÜELLES, C. F. Synergic antinociceptive interaction between tramadol and gabapentin after local, spinal and systemic administration. **Pharmacology**, v. 74, n. 4, p. 200-8, Jul 2005. ISSN 0031-7012. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15886505> >.

GRANFORS, K. et al. Salmonella lipopolysaccharide in synovial cells from patients with reactive arthritis. **Lancet**, v. 335, n. 8691, p. 685-8, Mar 1990. ISSN 0140-6736. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1690327> >.

\_\_\_\_\_. Yersinia antigens in synovial-fluid cells from patients with reactive arthritis. **N Engl J Med**, v. 320, n. 4, p. 216-21, Jan 1989. ISSN 0028-4793. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2643047> >.

GRUBB, B. D. Activation of sensory neurons in the arthritic joint. **Novartis Found Symp**, v. 260, p. 28-36; discussion 36-48, 100-4, 277-9, 2004. ISSN 1528-2511. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15283442> >.

HAMDULAY, S. S.; GLYNNE, S. J.; KEAT, A. When is arthritis reactive? **Postgrad Med J**, v. 82, n. 969, p. 446-53, Jul 2006. ISSN 1469-0756. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16822921> >.

HANNU, T. Reactive arthritis. **Best Pract Res Clin Rheumatol**, v. 25, n. 3, p. 347-57, Jun 2011. ISSN 1532-1770. Disponível em: <  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22100285> >.

HAYEK, S. M. et al. Intrathecal therapy for cancer and non-cancer pain. **Pain Physician**, v. 14, n. 3, p. 219-48, 2011 May-Jun 2011. ISSN 2150-1149. Disponível em: <  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21587327> >.

HELMICK, C. G. et al. Estimates of the prevalence of arthritis and other rheumatic conditions in the United States. Part I. **Arthritis Rheum**, v. 58, n. 1, p. 15-25, Jan 2008. ISSN 0004-3591. Disponível em: <  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18163481> >.

HESS, A. et al. Blockade of TNF- $\alpha$  rapidly inhibits pain responses in the central nervous system. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 108, n. 9, p. 3731-6, Mar 2011. ISSN 1091-6490. Disponível em: <  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21245297> >.

HORISHITA, T. et al. The tramadol metabolite, O-desmethyl tramadol, inhibits 5-hydroxytryptamine type 2C receptors expressed in *Xenopus* Oocytes. **Pharmacology**, v. 77, n. 2, p. 93-9, 2006. ISSN 0031-7012. Disponível em: <  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16679816> >.

IM, H. J. et al. Alteration of sensory neurons and spinal response to an experimental osteoarthritis pain model. **Arthritis Rheum**, v. 62, n. 10, p. 2995-3005, Oct 2010. ISSN 1529-0131. Disponível em: <  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20556813> >.

INUI, K.; KOIKE, T. Combination therapy with biologic agents in rheumatic diseases: current and future prospects. **Ther Adv Musculoskelet Dis**, v. 8, n. 5, p. 192-202, Oct 2016. ISSN 1759-720X. Disponível em: <  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27721905> >.

IVANAVICIUS, S. P. et al. Structural pathology in a rodent model of osteoarthritis is associated with neuropathic pain: increased expression of ATF-3 and pharmacological characterisation. **Pain**, v. 128, n. 3, p. 272-82, Apr 2007. ISSN 1872-6623. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17276007> >.

JONES, S. L. Descending noradrenergic influences on pain. **Prog Brain Res**, v. 88, p. 381-94, 1991. ISSN 0079-6123. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1813927> >.

KALBHEN, D. A. Chemical model of osteoarthritis--a pharmacological evaluation. **J Rheumatol**, v. 14 Spec No, p. 130-1, May 1987. ISSN 0315-162X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3625668> >.

KAPOOR, M. et al. Role of proinflammatory cytokines in the pathophysiology of osteoarthritis. **Nat Rev Rheumatol**, v. 7, n. 1, p. 33-42, Jan 2011. ISSN 1759-4804. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21119608> >.

KELLY, S. et al. Spontaneous firing in C-fibers and increased mechanical sensitivity in A-fibers of knee joint-associated mechanoreceptive primary afferent neurones during MIA-induced osteoarthritis in the rat. **Osteoarthritis Cartilage**, v. 20, n. 4, p. 305-13, Apr 2012. ISSN 1522-9653. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22285737> >.

KILTZ, U. et al. ASAS/EULAR recommendations for the management of ankylosing spondylitis: the patient version. **Ann Rheum Dis**, v. 68, n. 9, p. 1381-6, Sep 2009. ISSN 1468-2060. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18930993> >.

KIMURA, M.; OBATA, H.; SAITO, S. Antihypersensitivity effects of tramadol hydrochloride in a rat model of postoperative pain. **Anesth Analg**, v. 115, n. 2, p. 443-9,

Aug 2012. ISSN 1526-7598. Disponível em: <  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22575568> >.

KLARENBECK, N. B. et al. The impact of four dynamic, goal-steered treatment strategies on the 5-year outcomes of rheumatoid arthritis patients in the BeSt study. **Ann Rheum Dis**, v. 70, n. 6, p. 1039-46, Jun 2011. ISSN 1468-2060. Disponível em: <  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21415052> >.

KRASNOKUTSKY, S. et al. Current concepts in the pathogenesis of osteoarthritis. **Osteoarthritis Cartilage**, v. 16 Suppl 3, p. S1-3, 2008. ISSN 1522-9653. Disponível em: <  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18723377> >.

LEIRISALO-REPO, M. Reactive arthritis. **Scand J Rheumatol**, v. 34, n. 4, p. 251-9, 2005 Jul-Aug 2005. ISSN 0300-9742. Disponível em: <  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16195157> >.

LI, C. et al. The antinociceptive effect of intrathecal tramadol in rats: the role of alpha 2-adrenoceptors in the spinal cord. **J Anesth**, v. 26, n. 2, p. 230-5, Apr 2012. ISSN 1438-8359. Disponível em: <  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22038618> >.

LONDONO, J. et al. Analysis of HLA-B15 and HLA-B27 in spondyloarthritis with peripheral and axial clinical patterns. **BMJ Open**, v. 5, n. 11, p. e009092, Nov 2015. ISSN 2044-6055. Disponível em: <  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26560062> >.

MARTEL-PELLETIER, J. Pathophysiology of osteoarthritis. **Osteoarthritis Cartilage**, v. 12 Suppl A, p. S31-3, 2004. ISSN 1063-4584. Disponível em: <  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14698638> >.

MARTEL-PELLETIER, J. et al. Osteoarthritis. **Nat Rev Dis Primers**, v. 2, p. 16072, 10 2016. ISSN 2056-676X.

Disponível em: <  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27734845> >.

MARTINS, M. A. et al. Dependency of nociception facilitation or inhibition after periaqueductal gray matter stimulation on the context. **Behav Brain Res**, v. 214, n. 2, p. 260-7, Dec 2010. ISSN 1872-7549. Disponível em: <  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20561964> >.

MASCARIN, L. Z. **Padronização do modelo de incapacitação articular induzida por monoiodoacetado de sódio para estudo pré-clínico da osteoartrite** 2015. 60 (mestrado). Farmacologia, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

MCKENNA, F. et al. Celecoxib versus diclofenac in the management of osteoarthritis of the knee. **Scand J Rheumatol**, v. 30, n. 1, p. 11-8, 2001. ISSN 0300-9742. Disponível em: <  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11252686> >.

MESTRE, C. et al. A method to perform direct transcutaneous intrathecal injection in rats. **J Pharmacol Toxicol Methods**, v. 32, n. 4, p. 197-200, Dec 1994. ISSN 1056-8719. Disponível em: <  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7881133> >.

MILLAN, M. J. The induction of pain: an integrative review. **Prog Neurobiol**, v. 57, n. 1, p. 1-164, Jan 1999. ISSN 0301-0082. Disponível em: <  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9987804> >.

\_\_\_\_\_. Descending control of pain. **Prog Neurobiol**, v. 66, n. 6, p. 355-474, Apr 2002. ISSN 0301-0082. Disponível em: <  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12034378> >.

MIN, S. S. et al. A novel method for convenient assessment of arthritic pain in voluntarily walking rats. **Neurosci Lett**, v.



308, n. 2, p. 95-8, Aug 2001. ISSN 0304-3940. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11457568> >.

MINAMI, K. et al. Intramuscular tramadol increases gastric pH during anesthesia. **Can J Anaesth**, v. 51, n. 6, p. 545-8, 2004 Jun-Jul 2004. ISSN 0832-610X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15197115> >.

MINAMI, K.; OGATA, J.; UEZONO, Y. What is the main mechanism of tramadol? **Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol**, v. 388, n. 10, p. 999-1007, Oct 2015. ISSN 1432-1912. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26292636> >.

MINAMI, K.; UEZONO, Y.; UETA, Y. Pharmacological aspects of the effects of tramadol on G-protein coupled receptors. **J Pharmacol Sci**, v. 103, n. 3, p. 253-60, Mar 2007. ISSN 1347-8613. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17380034> >.

MOON, P. M.; BEIER, F. Novel Insights into Osteoarthritis Joint Pathology from Studies in Mice. **Curr Rheumatol Rep**, v. 17, n. 8, p. 50, Aug 2015. ISSN 1534-6307. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26113010> >.

MOTTA, A. F. et al. The antinociceptive effect of iontophoretic direct application of diclofenac to arthritic knee-joints of rats. **Life Sci**, v. 73, n. 15, p. 1995-2004, Aug 2003. ISSN 0024-3205. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12899924> >.

NAKAMURA, M. et al. The effects of the tramadol metabolite O-desmethyl tramadol on muscarinic receptor-induced responses in *Xenopus* oocytes expressing cloned M1 or M3 receptors. **Anesth Analg**, v. 101, n. 1, p. 180-6, table of contents, Jul 2005. ISSN 0003-2999. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15976229> >.

OGATA, J. et al. The inhibitory effects of tramadol on 5-hydroxytryptamine type 2C receptors expressed in *Xenopus* oocytes. **Anesth Analg**, v. 98, n. 5, p. 1401-6, table of contents, May 2004. ISSN 0003-2999. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15105221> >.

OKUN, A. et al. Afferent drive elicits ongoing pain in a model of advanced osteoarthritis. **Pain**, v. 153, n. 4, p. 924-33, Apr 2012. ISSN 1872-6623. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22387095> >.

PELLETIER, J. P. et al. Pharmacologic therapy of osteoarthritis. **Curr Rheumatol Rep**, v. 1, n. 1, p. 54-8, Oct 1999. ISSN 1523-3774. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11123016> >.

POPE, J. E. et al. Clinical Uses of Intrathecal Therapy and Its Placement in the Pain Care Algorithm. **Pain Pract**, Feb 2016. ISSN 1533-2500. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26914961> >.

PRZEWŁOCKI, R.; PRZEWŁOCKA, B. Opioids in chronic pain. **Eur J Pharmacol**, v. 429, n. 1-3, p. 79-91, Oct 2001. ISSN 0014-2999. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11698029> >.

RAFFA, R. B. et al. Opioid and nonopioid components independently contribute to the mechanism of action of tramadol, an 'atypical' opioid analgesic. **J Pharmacol Exp Ther**, v. 260, n. 1, p. 275-85, Jan 1992. ISSN 0022-3565. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1309873> >.

\_\_\_\_\_. Complementary and synergistic antinociceptive interaction between the enantiomers of tramadol. **J Pharmacol Exp Ther**, v. 267, n. 1, p. 331-40, Oct 1993. ISSN 0022-3565. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8229760> >.

RAFFEINER, B. et al. [TNFalpha blockers and infectious risk in rheumatoid arthritis]. **Reumatismo**, v. 61, n. 3, p. 165-73, 2009 Jul-Sep 2009. ISSN 0048-7449. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19888501> >.

RAHMAN, W. et al. Descending serotonergic facilitation and the antinociceptive effects of pregabalin in a rat model of osteoarthritic pain. **Mol Pain**, v. 5, p. 45, Aug 2009. ISSN 1744-8069. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19664204> >.

REES, H. et al. Do dorsal root reflexes augment peripheral inflammation? **Neuroreport**, v. 5, n. 7, p. 821-4, Mar 1994. ISSN 0959-4965. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8018857> >.

RUDWALEIT, M. New approaches to diagnosis and classification of axial and peripheral spondyloarthritis. **Curr Opin Rheumatol**, v. 22, n. 4, p. 375-80, Jul 2010. ISSN 1531-6963. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20473175> >.

RYU, J. H. et al. Interleukin-6 plays an essential role in hypoxia-inducible factor 2 $\alpha$ -induced experimental osteoarthritic cartilage destruction in mice. **Arthritis Rheum**, v. 63, n. 9, p. 2732-43, Sep 2011. ISSN 1529-0131. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21590680> >.

SACERDOTE, P.; BIANCHI, M.; PANERAI, A. E. Involvement of beta-endorphin in the modulation of paw inflammatory edema in the rat. **Regul Pept**, v. 63, n. 2-3, p. 79-83, Jul 1996. ISSN 0167-0115. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8837214> >.

SANTER, V.; SRIRATANA, A.; LOWTHER, D. A. Carrageenin-induced arthritis: V. A morphologic study of the development of inflammation in acute arthritis. **Semin Arthritis Rheum**, v. 13, n. 2, p. 160-8, Nov 1983. ISSN

0049-0172. Disponível em: <  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6673111> >.

SAWYNOK, J.; REID, A. R.; LIU, J. Spinal and peripheral adenosine A<sub>1</sub> receptors contribute to antinociception by tramadol in the formalin test in mice. **Eur J Pharmacol**, v. 714, n. 1-3, p. 373-8, Aug 2013. ISSN 1879-0712. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23872384> >.

SCHAIBLE, H. G. [Pathophysiology of pain]. **Orthopade**, v. 36, n. 1, p. 8, 10-2, 14-6, Jan 2007. ISSN 0085-4530. Disponível em: <  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17106742> >.

\_\_\_\_\_. Nociceptive neurons detect cytokines in arthritis. **Arthritis Res Ther**, v. 16, n. 5, p. 470, 2014. ISSN 1478-6362. Disponível em: <  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25606597> >.

SCHAIBLE, H. G.; GRUBB, B. D. Afferent and spinal mechanisms of joint pain. **Pain**, v. 55, n. 1, p. 5-54, Oct 1993. ISSN 0304-3959. Disponível em: <  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8278210> >.

SCHERRER, G. et al. Dissociation of the opioid receptor mechanisms that control mechanical and heat pain. **Cell**, v. 137, n. 6, p. 1148-59, Jun 2009. ISSN 1097-4172. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19524516> >.

SCHIPANI, E. Hypoxia and HIF-1 alpha in chondrogenesis. **Semin Cell Dev Biol**, v. 16, n. 4-5, p. 539-46, 2005 Aug-Oct 2005. ISSN 1084-9521. Disponível em: <  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16144691> >.

SCHUG, S. A. The role of tramadol in current treatment strategies for musculoskeletal pain. **Ther Clin Risk Manag**, v. 3, n. 5, p. 717-23, Oct 2007. ISSN 1176-6336. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18472996> >.

SHARMA, L.; KAPOOR, D.; ISSA, S. Epidemiology of osteoarthritis: an update. **Curr Opin Rheumatol**, v. 18, n. 2, p. 147-56, Mar 2006. ISSN 1040-8711. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16462520> >.

SHIRAISHI, M. et al. Inhibitory effects of tramadol on nicotinic acetylcholine receptors in adrenal chromaffin cells and in *Xenopus* oocytes expressing alpha 7 receptors. **Br J Pharmacol**, v. 136, n. 2, p. 207-16, May 2002. ISSN 0007-1188. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12010769> >.

SIEPER, J.; BRAUN, J.; KINGSLEY, G. H. Report on the Fourth International Workshop on Reactive Arthritis. **Arthritis Rheum**, v. 43, n. 4, p. 720-34, Apr 2000. ISSN 0004-3591. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10765916> >.

SINGH, J. A. et al. 2015 American College of Rheumatology Guideline for the Treatment of Rheumatoid Arthritis. **Arthritis Care Res (Hoboken)**, v. 68, n. 1, p. 1-25, Jan 2016. ISSN 2151-4658. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26545825> >.

SMYTH, C. et al. Intrathecal Analgesia for Chronic Refractory Pain: Current and Future Prospects. **Drugs**, v. 75, n. 17, p. 1957-80, Nov 2015. ISSN 0012-6667. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26501979> >.

SOMMER, C.; SCHMIDT, C.; GEORGE, A. Hyperalgesia in experimental neuropathy is dependent on the TNF receptor 1. **Exp Neurol**, v. 151, n. 1, p. 138-42, May 1998. ISSN 0014-4886. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9582261> >.

STARKE, K.; GÖTHERT, M.; KILBINGER, H. Modulation of neurotransmitter release by presynaptic autoreceptors. **Physiol Rev**, v. 69, n. 3, p. 864-989, Jul 1989. ISSN 0031-

9333. Disponível em: <  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2568648> >.

STEINER, G. et al. Cytokine production by synovial T cells in rheumatoid arthritis. **Rheumatology (Oxford)**, v. 38, n. 3, p. 202-13, Mar 1999. ISSN 1462-0324. Disponível em: <  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10325658> >.

STIMPSON, S. A. et al. Lipopolysaccharide induces recurrence of arthritis in rat joints previously injured by peptidoglycan-polysaccharide. **J Exp Med**, v. 165, n. 6, p. 1688-702, Jun 1987. ISSN 0022-1007. Disponível em: <  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3295108> >.

SUBEDI, A. et al. Analgesic effects of intrathecal tramadol in patients undergoing caesarean section: a randomised, double-blind study. **Int J Obstet Anesth**, v. 22, n. 4, p. 316-21, Nov 2013. ISSN 1532-3374. Disponível em: <  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23962470> >.

SURESH, E. Recent advances in rheumatoid arthritis. **Postgrad Med J**, v. 86, n. 1014, p. 243-50, Apr 2010. ISSN 1469-0756. Disponível em: <  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20354048> >.

TOBÓN, G. J.; YOUINOU, P.; SARAUX, A. The environment, geo-epidemiology, and autoimmune disease: Rheumatoid arthritis. **J Autoimmun**, v. 35, n. 1, p. 10-4, Aug 2010. ISSN 1095-9157. Disponível em: <  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20080387> >.

TOIVANEN, A.; TOIVANEN, P. Reactive arthritis. **Best Pract Res Clin Rheumatol**, v. 18, n. 5, p. 689-703, Oct 2004. ISSN 1521-6942. Disponível em: <  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15454127> >.

TONUSSI, C. R.; FERREIRA, S. H. Rat knee-joint carrageenin incapacitation test: an objective screen for

central and peripheral analgesics. **Pain**, v. 48, n. 3, p. 421-7, Mar 1992. ISSN 0304-3959. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1594266> >.

TRAYNOR, K. FDA approves biosimilar version of infliximab. **Am J Health Syst Pharm**, v. 73, n. 10, p. 604-6, May 2016. ISSN 1535-2900. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27147206> >.

TROEBERG, L.; NAGASE, H. Proteases involved in cartilage matrix degradation in osteoarthritis. **Biochim Biophys Acta**, v. 1824, n. 1, p. 133-45, Jan 2012. ISSN 0006-3002. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21777704> >.

VANEGAS, H.; SCHAIBLE, H. G. Prostaglandins and cyclooxygenases [correction of cyclooxygenases] in the spinal cord. **Prog Neurobiol**, v. 64, n. 4, p. 327-63, Jul 2001. ISSN 0301-0082. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11275357> >.

VONSY, J. L.; GHANDEHARI, J.; DICKENSON, A. H. Differential analgesic effects of morphine and gabapentin on behavioural measures of pain and disability in a model of osteoarthritis pain in rats. **Eur J Pain**, v. 13, n. 8, p. 786-93, Sep 2009. ISSN 1532-2149. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18955000> >.

WAGENER, P. et al. Increased frequency of HLA-Bw62 and Bw35 CREG antigens in HLA-B27 negative ankylosing spondylitis. **Z Rheumatol**, v. 43, n. 5, p. 253-7, 1984 Sep-Oct 1984. ISSN 0340-1855. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6335328> >.

WHITE, A. G. et al. Direct and indirect costs of pain therapy for osteoarthritis in an insured population in the United States. **J Occup Environ Med**, v. 50, n. 9, p. 998-1005, Sep 2008. ISSN 1536-5948. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18784547> >.

WHITESIDE, G. T.; BOULET, J. M.; WALKER, K. The role of central and peripheral mu opioid receptors in inflammatory pain and edema: a study using morphine and DiPOA ([8-(3,3-diphenyl-propyl)-4-oxo-1-phenyl-1,3,8-triazaspiro[4.5]dec-3-yl]-acetic acid). **J Pharmacol Exp Ther**, v. 314, n. 3, p. 1234-40, Sep 2005. ISSN 0022-3565. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15937151> >.

WHO. The burden of musculoskeletal conditions at the start of the new millennium. **World Health Organ Tech Rep Ser**, v. 919, p. i-x, 1-218, back cover, 2003. ISSN 0512-3054. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14679827> >.

\_\_\_\_\_. WHO Expert Committee on Drug Dependence. Thirty-sixth report. **World Health Organ Tech Rep Ser**, n. 991, p. 1-50, back cover, 2015. ISSN 0512-3054. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26062388> >.

WILLIS, W. D. Dorsal root potentials and dorsal root reflexes: a double-edged sword. **Exp Brain Res**, v. 124, n. 4, p. 395-421, Feb 1999. ISSN 0014-4819. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10090653> >.

\_\_\_\_\_. John Eccles' studies of spinal cord presynaptic inhibition. **Prog Neurobiol**, v. 78, n. 3-5, p. 189-214, 2006 Feb-Apr 2006. ISSN 0301-0082. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16650518> >.

XIMENES, A. C.; MELO, A. M. P.; CUSTÓDIO, D. M. E. J. Dor Osteoarticular. In: (Ed.). **Dor Princípios e Práticas**. 1ª. Porto Alegre: Artmed, 2009. cap. 40, p.486-490.

YAKSH, T. L.; RUDY, T. A. Analgesia mediated by a direct spinal action of narcotics. **Science**, v. 192, n. 4246, p. 1357-8, Jun 1976. ISSN 0036-8075. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1273597> >.



YANARATES, O. et al. Spinal 5-HT<sub>7</sub> receptors play an important role in the antinociceptive and antihyperalgesic effects of tramadol and its metabolite, O-Desmethyltramadol, via activation of descending serotonergic pathways. **Anesthesiology**, v. 112, n. 3, p. 696-710, Mar 2010. ISSN 1528-1175. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20179508> >.