

Angela Maria Sousa

**Efeito analgésico periférico do tramadol em ratos.**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências.

Área de Concentração: Anestesiologia

Orientador: Prof. Dr. Hazem Adel Ashmawi

São Paulo

2009

# **Livros Grátis**

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

Milhares de livros grátis para download.

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)**

Preparada pela Biblioteca da  
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Sousa, Angela Maria  
Efeito analgésico periférico do tramadol em ratos / Angela Maria Sousa. -- São Paulo, 2009.  
Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.  
Departamento de Cirurgia.  
Área de concentração: Anestesiologia.  
Orientador: Hazem Adel Ashmawi.

Descritores: 1.Tramadol 2.Ratos 3.Medições da dor 4.Boqueio nervoso

USP/FM/SBD-445/09

## Dedicatória

Aos meus pais, Nelson e Sebastiana, meus primeiros mestres.

Com sua simplicidade e dedicação, me ensinaram que para superar obstáculos é preciso, primeiro, nunca desistir.

Ao meu esposo, Alexandre. Meu amigo, e incansável companheiro de todas as horas.

À minha filha, Amanda: meu tesouro!

# Agradecimentos

Ao meu orientador e amigo, Dr. Hazem Adel Ashmawi, que além de orientar-me na pesquisa, tranqüiliza-me pelos infortúnios.

Ao Prof. Dr. Irimar de Paula Posso, por entender as dificuldades de se fazer pesquisa e precisar ganhar a vida, tudo ao mesmo tempo.

Ao Sr. Gilberto Mello Nascimento, por estar sempre disposto a cooperar na realização dos experimentos.

À Dra. Denise Aya Otsuki, pelo grande auxílio e orientação nos experimentos.

Ao Dr. Ricardo Barbosa pela prontidão em ajudar-me nesta tarefa.

À Dra Cláudia Simões pelo incentivo a continuar a tarefa iniciada.

Aos meus colegas do grupo de dor do ICHC ( Eloísa, George, Juliana, Marcelo, Flávio) pela disposição em auxiliar-me neste empreendimento.

À Cristália Prod. Farm. pelo fornecimento do tramadol e naloxona.

À Regina Contadin pelo empréstimo do estimulador de nervos.

À Sra. Maria do Carmo, bibliotecária do INCOR pela gentileza em corrigir as referências.

À Sra. Marinalva, bibliotecária da Faculdade de Medicina pela gentileza em confeccionar a ficha catalográfica.

## Normalização adotada

Esta tese está de acordo com as seguintes normas em vigor no momento desta publicação:

Referências: adaptado de International Committee of Medical Journals Editors (Vancouver)

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Serviço de Biblioteca e documentação. Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A.L. Freddi, Maria F Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Sueli Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 2a. ed. São Paulo: Serviço de Biblioteca e Documentação; 2005.

# Sumário

Lista de símbolos e siglas

Lista de figuras

Resumo

Summary

1 INTRODUÇÃO .....	15
1.1. Tramadol.....	15
1.1.1. Farmacologia .....	15
1.1.2. Uso clínico do tramadol via sistêmica: metabolismo e eliminação.....	17
1.1.3. Utilização clínica do tramadol no local da lesão.....	20
1.1.4. Ação do tramadol na condução neural .....	21
1.2. Modelos experimentais .....	22
1.2.1. Modelo de dor experimental induzida por formalina .....	22
1.2.2. Modelo de incisão plantar .....	24
2. OBJETIVOS .....	28
3. MÉTODOS.....	30
3.1. Animais .....	30
3.2. Fármacos utilizados .....	30
3.3. Anestesia .....	31
3.4. Teste de elevação da pata induzida por formalina.....	31
3.5. Incisão plantar.....	33
3.6. Hiperalgia mecânica.....	33
3.7. Bloqueio do nervo ciático .....	34
3.8. Bloqueio simulado do nervo ciático.....	36
3.9. Avaliação do bloqueio motor em membro posterior.....	36
3.10. Seqüência experimental.....	37
3.11. Análise estatística .....	41
4. RESULTADOS .....	44
4.1. Resposta à formalina .....	44
4.2. Efeito da injeção perineural de tramadol.....	49

4.3. Resposta à lidocaína perineural em bloqueio do nervo ciático .....	50
4.4. Resposta ao modelo de incisão plantar .....	52
5. DISCUSSÃO .....	57
5.1. Modelo de elevação da pata induzida por formalina .....	57
5.2. Curva dose-resposta de tramadol .....	57
5.3. Antagonismo do tramadol por naloxona: teste da formalina .....	59
5.4. Bloqueio do nervo ciático com tramadol e lidocaína .....	61
5.5. Tramadol no modelo de incisão plantar .....	66
5.6. Antagonismo do tramadol por naloxona: incisão plantar .....	67
6. CONCLUSÕES .....	70
7. ANEXOS .....	72
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	102
APÊNDICE	



## Lista de símbolos e siglas

ANOVA = Análise de Variância

CAPPEsq = Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa

cm= centímetro

CY2D6= citocromo 2D6

ev= endovenoso

g= grama

Hz= hertz

IASP = International Association for the Study of Pain

Ip= intraperitoneal

Ipl= intraplantar

Lim-08 = Laboratório de investigação médica número 08

M1 = o-desmetil-tramadol

mg= miligramas

mA= miliampere

mg/kg= miligrama/kilograma

μl= microlitros

mN= milinewton

NaCl= cloreto de sódio

USP= Universidade de São Paulo

## Lista de figuras

Figura 1. Curva dose-resposta de tramadol no teste de elevação da pata induzida por formalina

Figura 2. Tramadol intraplantar na primeira fase do teste de elevação da pata induzida por formalina

Figura 3. Tramadol intraplantar na segunda fase do teste de elevação da pata induzida por formalina

Figura 4. Tramadol intraplantar ou intraperitoneal no teste de elevação da pata induzida por formalina

Figura 5. Naloxona venosa ou intraplantar na analgesia do tramadol intraplantar

Figura 6. Bloqueio do nervo ciático com tramadol 1,25 mg perineural

Figura 7. Duração do bloqueio motor com lidocaína ou tramadol em bloqueio de nervo ciático.

Figura 8. Tramadol intraplantar ou endovenoso no teste de incisão plantar.

Figura 9. Efeito da naloxona na analgesia do tramadol intraplantar no modelo de incisão plantar: naloxona intraplantar.

Figura 10. Efeito da naloxona na analgesia do tramadol intraplantar no modelo de incisão plantar: naloxona endovenosa.

## Lista de tabelas

Tabela I. Classificação da Intensidade do Bloqueio Motor com Lidocaína 2%

## Resumo

Sousa, AM. Efeito analgésico periférico do tramadol em ratos [tese], São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2010. 58p

**INTRODUÇÃO:** O tramadol é um fármaco de ação central e periférica, comercializado como uma mistura racêmica de dois enantiômeros (+) e (-)-tramadol e eficaz no tratamento da dor moderada a intensa. Possui efeito agonista  $\mu$  opióide dez vezes menos potente que a codeína. Após o metabolismo de primeira passagem, o tramadol é metabolizado em diversos compostos e seus principais metabólitos, (+) e (-)-O-dimetil-tramadol (M1), são terapeuticamente ativos como analgésicos e possuem afinidade por receptores opióides semelhante à codeína. O tramadol reduz o pico de amplitude de potenciais de ação do nervo ciático isolado e é utilizado como adjuvante à lidocaína no bloqueio do plexo braquial em humanos.

**MÉTODOS:** ratos machos, da linhagem Wistar, 5 a 6 por grupo foram incluídos nos experimentos. Dois modelos animais de hiperalgesia foram estudados: comportamento de elevação da pata induzida por formalina e hiperalgesia mecânica após incisão plantar. Tramadol por via sistêmica e intraplantar foi utilizado nos dois modelos e foi realizado bloqueio do nervo ciático com tramadol após a localização deste com estimulador de nervo periférico. O antagonista dos receptores de opióides, naloxona, foi utilizada em ambos os métodos.

**RESULTADOS:** Efeito analgésico relacionado à dose foi observado no teste da formalina. Tramadol nas

mg injetado intraplantar, bloqueou completamente a hiperalgesia no teste da formalina durante a primeira fase, enquanto 1,25 mg aboliu a primeira e diminuiu, mas não bloqueou, a segunda fase do teste. Esta mesma dose de tramadol por via perineural em bloqueio de nervo ciático foi tão efetiva quanto a injeção intraplantar. Tramadol 5 mg por via sistêmica reduziu apenas a segunda fase do teste da formalina. No modelo de incisão plantar, tramadol 5 mg injetado intraplantar, bloqueou completamente a hiperalgesia mecânica induzida por monofilamentos de Von Frey, enquanto a mesma dose de tramadol via sistêmica, foi eficaz somente após 45 minutos da injeção. O efeito analgésico do tramadol intraplantar foi antagonizado por naloxona administrada por via sistêmica, 45 minutos após a injeção, enquanto a injeção intraplantar de naloxona não inibiu o efeito do tramadol. CONCLUSÕES: O tramadol induz analgesia de um modo dependente da dose. Tramadol intraplantar tem efeito analgésico rápido, prolongado e não mediado por receptores opióides nos dois modelos estudados. Além disso possui ação analgésica intensa e precoce quando administrado por via perineural de modo semelhante aos anestésicos locais.

## Summary

Sousa, AM. Local analgesic effect of tramadol in rats [thesis]. São Paulo: "Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo"; 2010. 59 p.

**INTRODUCTION:** Tramadol is a centrally and peripherally-acting drug, found as a racemic mixture of two enantiomers (+) and (-)-tramadol and effective in the treatment of moderate to severe pain. Tramadol has an  $\mu$ -opioid effect ten times less potent than codeine. After first pass metabolism, tramadol is metabolized to various compounds and its major metabolites, (+) and (-)-o-desmethyl-tramadol (M1), are therapeutically active as an analgesic and has opioid affinity similar to codeine. Tramadol reduces the peak amplitude of compound action potentials of isolated sciatic nerves and is utilized as adjuvant to lidocaine in brachial plexus blockade in humans. **METHODS:** Male Wistar rats, 5 to 6 per group were enrolled in the experiments. Two animal models of hyperalgesia were studied: nociceptive flinching behavior induced by formalin and mechanical hyperalgesia after plantar incision. Systemic and intraplantar tramadol were utilized in the two models. Perineural tramadol was injected by the sciatic nerve after localization with nerve stimulator. Opioid receptor antagonist, naloxone, was used in both methods. **RESULTS:** Dose dependent effect was observed in the flinching behavior test. Five and 2.5 mg intraplantar tramadol completely blocked the first phase formalin test while 1.25 mg abolished the first phase and diminished, but not blocked the second phase. Systemic 5 mg tramadol reduced the second phase of the flinching behavior test without interfering with the first phase. Perineural tramadol was equally effective as intraplantar tramadol at the same dose. In the plantar incision model, 5 mg intraplantar tramadol completely blocked mechanical hyperalgesia with Von Frey monofilaments test; systemic tramadol in the same dose was effective only after 45 minutes of injection. Systemic naloxone antagonized the analgesic effect after 45 minutes of intraplantar tramadol, while intraplantar naloxone was not effective. **CONCLUSIONS:** Tramadol reduces analgesia in a dose-

dependent way. Intraplantar tramadol has an early and prolonged analgesic effect not mediated by opioid receptors in the two studied models. Besides, it has an early and important analgesic effect when perineurally administered with a weak motor effect similar to local anesthetics.

# **1 INTRODUÇÃO**

---

# 1.Introdução

## 1.1.Tramadol

### 1.1.1. Farmacologia

O tramadol ((1RS,2RS)-2-[(dimetilamino)-metil]-1(3-metoxifenil)-ciclohexanol) é um fármaco analgésico de ação central, análogo sintético da codeína, utilizado para tratamento de dores moderadas e intensas, agudas ou crônicas e bastante difundido no tratamento da dor pós-operatória (Rawal et al., 2001), da dor neuropática (Sindrup et al., 1999), de dor musculoesquelética, nas condições álgicas em emergências clínicas e da dor oncológica (Mishra et al., 2008). A indicação do uso do tramadol nessas condições baseia-se no mecanismo de ação central, sendo habitualmente administrado por via oral e venosa, embora a ação analgésica possa ocorrer quando da administração por outras vias.

A estrutura química do tramadol é próxima àquela da codeína. Apresenta o grupamento metil na parte fenólica da molécula que lhe rende certa atividade agonista para receptores  $\mu$ ,  $\delta$  e  $\kappa$  opióides. Sua afinidade por receptores  $\mu$  opióides é muito reduzida, cerca de 6000 vezes inferior à morfina, 100 vezes inferior ao dextropropoxifeno e 10 vezes inferior à codeína (Bamigbade e Langford, 1998). Após administração por qualquer via, tanto em animais como em humanos, o tramadol é metabolizado no fígado no derivado desmetilado (o-desmetil-tramadol) (M1) que é farmacologicamente ativo e cuja afinidade por receptores  $\mu$  é 200 vezes superior à molécula original (Raffa et al., 1992).



O tramadol é comercializado sob a forma de mistura racêmica de dois enantiômeros [(+) e (-)tramadol], que apresentam diferentes propriedades farmacológicas, sobretudo no que diz respeito à afinidade por receptores opioidérgicos, possuindo, no entanto, atividade sinérgica e complementar que resulta em efeito analgésico (Raffa et al., 1992). A atividade antinociceptiva desta mistura é desprezível, sendo o metabolismo pelo sistema de citocromos, o fator determinante responsável pela analgesia induzida pelo fármaco (Garrido et al., 2003).

O metabolismo hepático do tramadol origina metabólitos levógiros e dextrógiros que acompanham, respectivamente, os enantiômeros originais, tanto em estrutura química quanto em função.

O tramadol exerce dois mecanismos de ação distintos e complementares: atividade opioidérgica de baixa intensidade e atividade monoaminérgica não opioidérgica sobre as vias de controle inibitório descendentes. In vitro, o tramadol tanto se fixa aos receptores opioidérgicos quanto inibe a recaptação de noradrenalina e serotonina em concentrações semelhantes (Driessen et al., 1993). O aumento da concentração extraneuronal de noradrenalina e serotonina, ocorre por interferência na recaptação destes neurotransmissores em autoreceptores da fenda sináptica (Driessen et al., 1993; Bamigbade et al., 1997), que lhe confere ação analgésica e antidepressiva (Berrocoso et al., 2006).

As ações opioidérgicas e não opioidérgicas do tramadol ocorrem sinergicamente sobre as vias descendentes inibitórias, reduzindo a atividade de neurônios de segunda ordem da medula espinhal. Tais vias originam-se

em alguns núcleos no tronco cerebral, como no núcleo da rafe, na substância cinzenta periaquedutal, na porção ventromedial do bulbo, no *locus ceruleus* e nas vias reticuloepinhais. Estas se projetam sobre a medula espinhal reduzindo a condução de estímulos dolorosos em animais e humanos (Goffaux et al., 2007).

O tramadol aumenta a efetividade das vias descendentes inibitórias à medida que induz o aumento da concentração de neurotransmissores inibitórios no corno dorsal da medula espinhal. A mistura racêmica de tramadol [(+) M1 e (-)M1] é mais eficaz que os respectivos metabólitos isolados. O (+)M1 induz a liberação de noradrenalina na fenda sináptica, enquanto o (-)M1 inibe a recaptação deste neurotransmissor. Tal mecanismo determina o sinergismo da mistura racêmica (Garrido et al., 2000). Náuseas e vômitos, contudo, tem maior incidência com a forma dextrógira, sendo a mistura racêmica, portanto, superior em eficácia e tolerância aos enantiômeros isolados (Gentili e Chauvin, 2004).

### 1.1.2. Uso clínico do tramadol via sistêmica: metabolismo e eliminação

Estudos em voluntários sadios relatam alívio da hiperalgesia induzida por estimulação elétrica e do reflexo RIII em membros inferiores com tramadol 100 mg por via oral. A naloxona administrada por via endovenosa antagoniza apenas parcialmente a analgesia induzida pelo tramadol enquanto a ioimbina, antagonista  $\alpha$ 2-adrenérgico, abole quase completamente a analgesia. Em animais, o antagonismo do efeito analgésico opióide do tramadol com naloxona produz resultados

contraditórios. Em alguns estudos, a naloxona bloqueia completamente a analgesia pelo tramadol enquanto em outros esta inibição ocorre parcialmente (Collart (1992) apud Dayer et al.,1997). Kayser et al. (1991) referem aproximadamente 30% de inibição do efeito do tramadol pela naloxona.

Além da ação analgésica mista, o tramadol apresenta reduzida afinidade por receptores opióides, com mínimo potencial para indução de dependência física. Tais características associadas à necessidade de biotransformação hepática e atividade agonista monoaminérgica tornam o fármaco pouco suscetível ao abuso de medicamentos (Dayer et al., 1997). Em animais observa-se pouca tolerância aos efeitos analgésicos desta substância. É necessário ainda definir se o risco de tolerância tão reduzido deve-se a pouca ação agonista opióide, às diferenças na formação de metabólitos opióides ou, se a tolerância é menos freqüente quando associam-se opióides a agonistas adrenérgicos (Dayer et al., 1997).

A biodisponibilidade do tramadol administrado por via oral é elevada (70 a 90%) e não tão rápida (15 a 45 minutos). Após múltiplas doses, a biodisponibilidade se aproxima de 100%, provavelmente por saturação do sistema de primeira passagem hepática. A administração concomitante a alimentos aumenta a disponibilidade, sendo recomendada por via oral, dose semelhante à dose venosa, administrada 3 a 4 vezes ao dia em humanos. O início de ação aparece após 30 a 45 minutos da administração oral ou venosa, devido à necessidade de metabolização hepática do tramadol para a plena atividade analgésica. Isto se deve ao fato de que, além do

predomínio do componente monoaminérgico sobre o opioidérgico, o metabólito M1 tem participação importante na analgesia desencadeada pelo tramadol. Este metabólito resulta da desmetilação da molécula original pelo sistema de citocromo P450 (CYP2D6) hepático, que é pouco funcionante em cerca de 6 a 8% dos indivíduos caucasianos, tornando-os pouco responsivos ao efeito analgésico do tramadol (Poulsen et al., 1996). Por outro lado, pequena parcela da população (~1%) apresenta duplicação genética do codificador desta enzima, tornando esses indivíduos metabolizadores rápidos do tramadol, fato este que pode acarretar não somente aumento dos efeitos analgésicos, mas também de efeitos adversos decorrentes do excessivo metabolismo do fármaco (Kirchheiner et al., 2008).

A utilização concomitante de outras substâncias cuja metabolização é dependente do sistema de citocromos, é um item importante a ser observado no momento da prescrição médica. A administração de tramadol juntamente com carbamazepina, por exemplo, aumenta em duas vezes o metabolismo do tramadol, reduzindo a meia-vida do mesmo em 50% . Contrariamente, a cimetidina aumenta a meia vida de eliminação do tramadol e de seus metabólitos ativos. A quinidina bloqueia o sistema de citocromos e aumenta a meia-vida do tramadol, reduzindo a concentração plasmática do metabólito M1. Este efeito acarreta diminuição da analgesia pelo tramadol. Na insuficiência hepática, existe redução do metabolismo do tramadol e aumento da sua meia-vida de eliminação (Raffa et al., 1992). A dose e intervalo de prescrição do tramadol devem ser observados, portanto, em pacientes usuários de vários medicamentos.

Tanto o tramadol, quanto seus metabólitos são em sua maioria, eliminados por via renal. Pacientes portadores de insuficiência renal, com clearance de creatinina < 80ml/minuto, apresentam diminuição da excreção de tramadol e de seu metabólito M1. A diálise é pouco efetiva em eliminar estas substâncias, e em situações em que ocorre insuficiência renal grave e anúria (Stamer et al., 2008), recomenda-se reduzir em 50% a dose de tramadol pelo risco de insuficiência respiratória.

### 1.1.3. Utilização clínica de tramadol no local da lesão

O tramadol administrado por via intradérmica promove analgesia em voluntários estudados com a utilização de modelo de dor cutânea (Pang et al., 1998). A possibilidade de utilizar o tramadol por injeção local em pacientes submetidos a procedimentos cirúrgicos de pequeno porte, como herniorrafias inguinais em crianças (Demiraran et al., 2006), é motivo de interesse de muitos pesquisadores clínicos, devido ao seu possível mecanismo de ação local ao ser injetado no subcutâneo.

O tramadol associado a anestésicos locais, aumenta o tempo de analgesia (Buttner et al., 1992) e de bloqueio motor (Kaabachi et al., 2009) em pacientes submetidos a bloqueios do plexo braquial. Associado à lidocaína, tramadol reduz a dose total de anestésico local utilizado na técnica de anestesia venosa regional (Acalovschi et al., 2001) e aumenta o tempo para a solicitação da primeira dose de analgésicos após infiltração direta na incisão de herniorrafia inguinal em crianças (Demiraran et al., 2006). Kesimci et al. (2007), contudo, não comprovaram tais resultados utilizando ropivacaína.

A associação de tramadol à lidocaína (Kaabachi et al., 2009) melhora a analgesia e prolonga o bloqueio motor, mas aumenta o tempo de latência do bloqueio de plexo braquial em pacientes submetidos a cirurgia de mão. Em cirurgia urológica, tramadol associado à bupivacaína prolonga o tempo de latência, mas não a duração do bloqueio peridural caudal em crianças (Prosser et al., 1997). Tampouco a associação de tramadol à bupivacaína em bloqueio locorregional de membro inferior, melhorou a qualidade e a duração da analgesia em pacientes submetidos à cirurgia ortopédica (Kumar et al., 2009).

#### 1.1.4. Ação do tramadol na condução neural

A utilização clínica do tramadol como adjuvante a anestésicos locais, baseia-se em estudos experimentais que evidenciam bloqueio da condução neural com a administração desta substância. O tramadol, ao contrário do seu metabólito M1, reduz os potenciais de ação induzidos por estímulo elétrico em nervos isolados de rãs (Katsuki et al., 2006). Aplicação direta de tramadol sobre o nervo ciático reduz de modo relacionado à dose tanto a amplitude, quanto a velocidade de condução de potenciais evocados somatosensoriais na medula espinhal de ratos (Tsai et al., 2001). Diversos opióides como morfina, codeína, etilmorfina e dihidrocodeína reduzem a amplitude de potenciais de ação de nervos isolados, sendo a potência individual de cada substância em produzir este efeito, independente de sua afinidade por receptores opióides (Mizuta et al., 2008).

O tramadol, assim como a lidocaína, reduz a amplitude dos potenciais de ação de nervos ciáticos lesados de modo relacionado à concentração da

solução e à frequência dos estímulos. A lidocaína, contudo, induz redução destes potenciais em menores concentrações que o tramadol (Mert et al., 2006).

## 1.2. Modelos experimentais

### 1.2.1. Modelo de dor experimental induzida por formalina

O teste da formalina foi descrito por Dubuisson e Dennis (1977) e relata o comportamento de ratos após injeção de formalina subcutânea. A intensidade do comportamento é diretamente proporcional à concentração de formalina (Wheeler-Aceto e Cowan, 1991; Doak e Sawynok, 1997). O padrão de resposta à injeção, no entanto, é descrito como bifásico e independe do método de registro ou da concentração de formalina.

A primeira fase se inicia alguns segundos após a injeção da substância e na descrição original do teste (Dubuisson e Dennis, 1977; Tjolsen et al., 1992), a quantificação do comportamento foi idealizada e dividida em graus de intensidade: quando o animal não retira a pata da superfície, recebe grau 0; quando evita colocar seu peso sobre a pata afetada, recebe grau 1; quando eleva a pata, grau 2 e quando lambe e morde, grau 3. A duração de cada comportamento também é medida e atribuída pontuação (Abbott et al., 1995). Tais comportamentos atingem o ponto máximo 5 minutos após a injeção, duram cerca de 10 minutos e constituem a fase I. O período de quiescência do teste, denominado fase intermediária, se inicia logo após a primeira fase e é atribuído ao sistema de controle inibitório descendente (Coderre et al., 1993). A segunda fase, mais tardia, decorre do aumento de

estímulos aferentes primários, sensibilização de neurônios espinhais nociceptivos e da instalação do processo inflamatório (Coderre et al., 1993).

As duas fases do teste da formalina são chamadas respectivamente de fase aguda e de fase tônica. A fase I ocorre por estimulação química direta dos nociceptores na periferia (Dubuisson e Dennis, 1977; Munro, 2009). Dados experimentais indicam que, na fase I, a formalina estimula principalmente as fibras C e não os aferentes A $\delta$  (Heapy et al., 1987). A substância P participa da fase I, enquanto a histamina, serotonina, prostaglandinas e bradicinina estão envolvidas na fase II (Shibata et al., 1989), que é influenciada pela primeira. O uso de lidocaína e morfina antes da formalina, ou durante a primeira fase, diminuem significativamente o comportamento nociceptivo na segunda fase (Dickenson e Sullivan 1987; Coderre et al., 1990; Abram e Yaksh, 1993). O bloqueio com lidocaína ao final da fase I elimina a fase II, indicando que a atividade dos aferentes primários durante a fase II é necessária para a expressão do comportamento nociceptivo nesta fase (Taylor et al., 1995).

A confecção do teste da formalina da forma como foi descrita originalmente, é um método bastante trabalhoso. Atualmente é bem aceito que o número de elevações da pata possa substituir o teste clássico da formalina (Shibata et al., 1989; Wheeler-Aceto e Cowan, 1991; Taylor et al., 1995; Doak e Sawinok, 1997; Granados-Soto et al., 1997, Teng, e Abbott, 1998; Parada et al., 2001; Ashmawi et al., 2003). Ocorrem alterações na pressão arterial e na frequência cardíaca dos animais, também bifásicas,



simultaneamente ao aumento do número de elevações da pata do animal (Taylor et al., 1995).

### 1.2.2. Modelo de incisão plantar

Apesar do teste da formalina representar uma tentativa de aproximação à dor clínica em humanos, tal modelo não mimetiza o fenômeno equivalente em condições clínicas reais, que normalmente envolve mais de um mecanismo na geração e manutenção da dor. Isso se aplica à condição de dor aguda pós-operatória, que ainda é fator de alta morbidade e desconforto. Evidências indicam que o tratamento apropriado e adequado da dor aguda pós-operatória diminui a morbidade após cirurgia, melhora o estado do paciente, assim como reduz o custo total do tratamento (Kehlet e Holte, 2001; Kehlet e Wilmore, 2002). Sabe-se também que o alívio da dor pós-operatória previne a longo prazo, a cronificação da dor ou persistência patológica no período pós-operatório (Perkins e Kehlet, 2000; Gottschalk e Raja, 2004; Kehlet et al., 2006). Entretanto, apesar do desenvolvimento de novas técnicas e fármacos para analgesia pós-operatória, 50 a 70% dos pacientes ainda manifestam dor moderada ou intensa ao longo do período pós-operatório (Pavlin et al., 2002; Apfelbaum et al., 2003).

Vários são os modelos experimentais descritos de dor pós-operatória. Dentre eles estão a ovariectomia em ratas (Lascelles et al., 1995), a laparotomia subcostal (Martin et al., 2004) e a toracotomia em ratos (Buvanendran et al., 2004). Entretanto, o modelo mais consagrado e, a partir

do qual, se obteve maior conhecimento sobre a fisiopatologia e mecanismos da dor pós-operatória, foi o modelo de incisão plantar descrito por Brennan et al. (1996), a partir do qual, foi verificado que a dor pós-operatória experimental apresenta componente de dor espontânea e dor pós-estimulação. Este comportamento é semelhante ao observado na prática clínica, quando os pacientes operados apresentam dor espontânea durante o repouso, geralmente de curta duração, de intensidade moderada e com boa resposta aos opióides e antiinflamatórios não esteroidais. Observa-se, concomitantemente, dor relacionada ao movimento, como tosse, mobilização ou deambulação. Esta é mais intensa, prolongada e de mais difícil tratamento (Pogatzki-Zahn et al., 2007) e equivale à dor observada após estimulação do teste da incisão plantar.

A incisão cirúrgica leva à sensibilização de nociceptores periféricos, principalmente por estímulos térmicos e mecânicos. Tais nociceptores estão, normalmente, presentes em fibras A $\delta$  e C, ligadas à transdução e condução do estímulo doloroso até o sistema nervoso central. Paralelamente à sensibilização, ocorre a conversão de nociceptores mecanoinsensíveis, localizados em fibras A $\delta$ , em nociceptores mecanosensíveis (Zahn e Brennan, 1999; Hamalainen et al., 2002; Pogatzki et al., 2002; Woo et al., 2004). Verificado isto, não dever-se-ia classificar a dor pós-operatória, como sendo exclusivamente de origem inflamatória, como tem ocorrido ao longo do tempo. É mais razoável aceitar que tal sensibilização em neurônios gere disfunção transitória na função neuronal, o que pode ser considerado como lesão neuropática, e origem do componente neuropático da dor pós-

operatória. A liberação de mediadores inflamatórios após lesão tecidual faz parte da resposta inflamatória, mas também ocorre isquemia do tecido lesado com aumento da produção de lactato tecidual (Kim et al., 2007) e diminuição do pH (Woo et al., 2004) na área incisional. Respostas semelhantes à inflamação são induzidas pela lesão tecidual operatória e são, provavelmente, diferentes daquela induzida por substância irritativa como a formalina (Brennan et al., 2005; Lavand'homme, 2006). A hiperalgesia secundária, definida como aumento da nocicepção a estímulos mecânicos na área adjacente à incisão, está presente no modelo de dor pós-operatória e é secundária à sensibilização central no corno dorsal da medula espinhal. Este modelo tem sido utilizado para avaliação de hiperalgesia primária mecânica, alterações na excitabilidade neuronal na medula espinhal, efeito de opióides e anestésicos locais por via intratecal (Xu et al., 2009; Zahn et al., 1997; Brennan et al., 1997; Zahn e Brennan, 1999; Vandermeulen e Brennan, 2000).

No presente estudo, avaliamos o papel do tramadol na dor inflamatória e espontânea induzida pela formalina e também a dor evocada pelo estímulo mecânico no modelo de incisão plantar. A estimulação de aferentes primários na primeira fase da formalina é avaliada pela injeção local do tramadol. A hiperalgesia mecânica que ocorre no pós operatório imediato é mensurada pelo limiar de retirada da pata utilizando filamentos de Von Frey. A utilização simultânea de dois modelos distintos de dor em animais de experimentação é, portanto, um modo de se avaliar a ação da medicação proposta frente a mecanismos diversos de hiperalgesia.

**2 OBJETIVOS**

---

## 2.Objetivos

O objetivo principal deste trabalho foi verificar se o tramadol atua diretamente no local de lesão como analgésico de ação periférica. O efeito foi testado em dor inflamatória e dor pós-operatória.

Os objetivos secundários foram:

- 1) esclarecer o mecanismo farmacológico responsável pela analgesia induzida por tramadol injetado no local de lesão;
- 2) avaliar se os efeitos da administração local de tramadol ocorrem em modelos experimentais distintos;
- 3) avaliar se o tramadol induz padrão de resposta comportamental semelhante aos anestésicos locais quando injetado em bloqueio de nervo periférico de nervo ciático.

## **3 MÉTODOS**

---

## 3. Métodos

Para a realização deste estudo foram utilizados um total de 86 animais alocados em grupos experimentais conforme dois modelos de avaliação comportamental de dor: modelo da formalina e da incisão plantar.

### 3.1. Animais

Foram utilizados 98 ratos da linhagem Wistar, machos, pesando entre 280 e 380g, colocados aos pares em gaiolas, com ciclo claro-escuro de 12 horas. Água e alimento foram fornecidos *ad libitum*. Os animais eram provenientes do Biotério Central da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo e os experimentos realizados no LIM-08 da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. O estudo foi aprovado pela Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa (CAPPEsq) do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, processo número 051/02 . Os animais foram tratados de acordo com diretrizes éticas para investigações de dor experimental em animais conscientes da IASP (Zimmerman, 1983).

### 3.2. Fármacos utilizados

O cloridrato de tramadol e cloridrato de naloxona foram gentilmente cedidos pela Cristália Prod. Quim. Farm., (São Paulo, SP, Brasil).

A Lidocaína 2% sem vasoconstrictor foi adquirida da Cristália Prod. Quim. Farm., (São Paulo, SP, Brasil).

Todas as substâncias administradas por via subcutânea e perineural

na pata direita foram diluídas em um volume de 50 µl de NaCl 0,9% e aquelas administradas por via intraperitoneal foram diluídas em 100 µl. As soluções foram preparadas no dia do teste, alguns minutos antes da injeção.

### 3.3. Anestesia:

Os experimentos nos quais foi realizado bloqueio de nervo ciático ou incisão plantar ocorreram sob anestesia geral com halotano. Neste caso, os animais foram instalados em uma caixa transparente, fechada, na qual foi introduzida uma entrada de gases, pela qual se administrou halotano à fração inspirada de 3%, diluído em oxigênio 100%, proveniente de vaporizador calibrado para halotano. Após adormecerem, os animais eram retirados da caixa e mantidos anestesiados sob máscara com fração inspirada de 1% de halotano, diluído em oxigênio para a realização da incisão plantar ou bloqueio do nervo ciático, de acordo com a alocação do grupo no protocolo de estudo. Ao término do procedimento, permitia-se o despertar dos animais para posterior estudo. Após 2 a 3 minutos os animais estavam despertos e passíveis de serem avaliados quanto à hiperalgesia.

### 3.4. Teste de elevação da pata induzida por formalina

A escolha do teste de elevação da pata induzida por formalina, deu-se em função da necessidade de se estudar a analgesia pelo tramadol em modelo experimental de dor espontânea. O teste consiste na injeção de formalina a 1% na região dorsal da pata posterior direita diluída em 50 µl de solução salina.

Antes da administração de formalina, os ratos foram aclimatados ao ambiente de observação durante 20 minutos. Utilizou-se uma câmara



transparente cercada por espelhos, pelos quais se visualizava as patas dos animais independentemente de seu posicionamento.

Utilizou-se este teste em duas situações:

- 1) injeção de formalina com o animal desperto
- 2) injeção de formalina com o animal sob anestesia geral no grupo submetido ao bloqueio do nervo ciático.

Na primeira situação foi realizada curva dose resposta de tramadol. Na segunda situação, a dose correspondente à menor dose de tramadol testada no experimento anterior foi utilizada para injeção perineural.

O comportamento habitualmente observado após injeção de formalina consiste em reação imediata à injeção, seguida de reação inflamatória mais prolongada. Os animais apresentam comportamento bifásico de resposta, onde o animal lambe, chacoalha ou eleva a pata em reação ao estímulo nociceptivo produzido pela injeção de formalina. A primeira fase dura aproximadamente 5 a 10 minutos, quando o comportamento reacional é intenso. Segue-se um período de quiescência que precede uma segunda fase reacional, mais duradoura, que pode ser observada até o final do experimento, após 60 minutos.

Os ratos foram observados a partir do momento da injeção de formalina e registrou-se o número de elevações da pata a cada 5 minutos no período total de 60 minutos. Considerou-se como elevação da pata todo comportamento não associado à locomoção, que variou de elevação discreta do membro ou contratura da musculatura da coxa direita até um movimento vigoroso da pata, caracterizado por chacoalhar.

Com a finalidade de facilitar a análise dos dados, considerou-se como primeira fase os primeiros 10 minutos e a segunda fase o período correspondente do 11<sup>o</sup> ao 60<sup>o</sup> minuto.

### 3.5. Incisão plantar

A incisão plantar foi realizada conforme descrita por Brennan et al, (1996). Os animais foram anestesiados conforme a técnica descrita anteriormente, realizada antisepsia com solução de iodo/povidona 10% no local e injetados alternativamente salina ou tramadol 5 mg ipl no local da incisão cirúrgica. Em seguida foi feita incisão longitudinal de 1 cm na região plantar da pata traseira direita com lâmina de bisturi número 15, que se iniciava a 0,5 cm da margem do calcanhar até o início dos pododáctilos. A profundidade da incisão atingiu a musculatura plantar, que foi divulsionada, porém preservando a inserção muscular. A cirúrgica foi suturada com fio de mononylon 5-0 e suspenso o fornecimento do anestésico.

Após o despertar da anestesia, foram avaliados os limiares de hiperalgesia mecânica na área periincisional com filamentos de VonFrey. O teste foi realizado a cada 5 minutos durante 60 minutos.

### 3.6. Hiperalgesia mecânica

Após o término do procedimento cirúrgico, os ratos foram colocados na câmara de teste onde eram observados até o despertar da anestesia, que ocorria após 2 a 3 minutos da interrupção do fornecimento do agente inalatório. A câmara era confeccionada em acrílico transparente, com dimensões de 21x27x15 cm e cujo assoalho possui tela plástica com aberturas de 12x12 mm. O conjunto foi elevado a uma altura de cerca de 20

cm da superfície a fim de permitir o posicionamento de espelhos sob a câmara de teste para facilitar a visualização da região operada.

Os ratos foram testados com filamentos de nylon (VonFrey). O conjunto de filamentos é composto de 20 unidades confeccionados em nylon, com espessuras diferentes, que são calibrados pela empresa para aplicar na superfície de teste, força proporcional ao seu calibre. A força exercida na superfície é medida quando o filamento dobra-se sobre si mesmo. Utilizou-se apenas os filamentos que variam entre 0,04 e 100 gf (0,39 a 980 mN) (Stoelting Co, Wood Dale, IL, USA).

O teste foi iniciado com um dos filamentos de calibre intermediário (58,8 mN). Este foi aplicado perpendicularmente à pata dos animais, ao redor da incisão cirúrgica, através da abertura da tela plástica. Os filamentos foram pressionados contra a superfície plantar até o momento em que dobravam sobre si mesmos. Após 5 tentativas consecutivas, caso os animais não apresentassem nenhum sinal de resposta comportamental ao primeiro filamento, aplicado em distintos da região periincisional, aplicava-se o filamento mais calibroso contra a pata até que ocorresse resposta de retirada da mesma. O filamento de maior calibre (980 mN) foi considerado o limite superior tolerável, a fim de se evitar lesão da pata. Ao contrário, se o filamento intermediário (58,8 mN) produzisse alguma reação de retirada da pata, o filamento menos calibroso era testado.

### 3.7. Bloqueio do nervo ciático

Os animais foram anestesiados conforme a técnica anteriormente descrita. Em seguida foi localizado o nervo ciático para injeção perineural de

tramadol e avaliação da hiperalgesia induzida por formalina.

Localizou-se o trocanter maior da pata traseira direita e realizou-se incisão de 1 mm a cerca de 0,5 cm do trocanter e da haste femural direita, para permitir a introdução da agulha de neuroestimulação.

O aparelho Stimuplex com agulha de 2,5 cm (BBraun, Melsungen, Alemanha) foi utilizado neste experimento. Este gera corrente mínima de 0,2 mA e frequência de 1 a 2 Hz.

Instalou-se o eletrodo terra na orelha esquerda do animal e introduziu-se a agulha pela incisão da pele, utilizando como método de procura do nervo, corrente inicial de 0,5 mA e uma frequência de 1Hz, pesquisando-se a contratura da musculatura flexora da coxa.

A contração muscular produzida em consequência à estimulação neural aumenta progressivamente de intensidade à medida que se aproxima do nervo. Quando se obtém contração muscular da musculatura da coxa suficiente para causar contração exuberante da pata a cada estímulo, reduz-se a corrente para 0,2 mA. Caso a resposta muscular não se altere com a redução da intensidade da corrente, pode-se inferir que a agulha encontra-se próxima ao nervo ciático. Neste caso, injeção de tramadol ou salina era realizada através da agulha.

O volume de solução injetado por via perineural foi de 50  $\mu$ l, seguidos de 15  $\mu$ l de NaCl 0,9% para lavar a extensão do comprimento da agulha de injeção. As doses de tramadol injetadas via perineural foram alternativamente 1,25 mg e 5 mg.

### 3.8. Bloqueio simulado do nervo ciático

Após anestesiados, os animais eram submetidos à mesma técnica de bloqueio do nervo ciático anteriormente descrita. No entanto, após a detecção do nervo ciático por eletroestimulação, a agulha era tracionada discretamente. Após a confirmação de ausência de contração muscular com estímulos de 0,5 mA e com a agulha posicionada longe da musculatura, prosseguia-se à injeção de tramadol perineural como descrito.

### 3.9. Avaliação do bloqueio motor em membro posterior

Com a finalidade de se confirmar o bloqueio do nervo ciático pela técnica descrita anteriormente, foi realizada injeção de lidocaína perineural e observado o comportamento dos animais frente ao bloqueio, desde o despertar da anestesia até a completa recuperação do efeito da lidocaína.

Foram avaliados 10 ratos machos da linhagem Wistar, pesando 300-350 g. Os animais receberam injeção perineural de lidocaína 2%, sem vasoconstrictor, em volume de 50  $\mu$ l, através de agulha do estimulador de nervo. Após o despertar da anestesia, foi observado o comportamento dos animais e registrado o efeito da injeção do anestésico local até o momento em que o animal encontrava-se completamente livre dos efeitos da substância.

Foi registrado ainda o tempo decorrido desde o despertar da anestesia e a completa recuperação do bloqueio motor produzido pela lidocaína.

### 3.10. Seqüencia experimental:

**Primeira parte do estudo: Curva dose resposta de tramadol no teste da formalina. Foram observados 5 grupos, com 5 a 6 animais por grupo.**

1. Testamos inicialmente o efeito da formalina 1% por via intraplantar.

Formalina 1% ipl → Teste

2. Em seguida, utilizamos tramadol intraplantar na expectativa de impedir o aparecimento da hiperalgesia induzida por formalina. Foi realizada curva dose-resposta, com 3 doses diferentes.

Tramadol ipl... aguarda 5 minutos..... Formalina ipl → Teste

3. A maior dose de tramadol usada por via intraplantar (5 mg) foi injetada por via intraperitoneal para avaliar possível diferença na resposta analgésica do tramadol em função da via de administração.

Tramadol intraperitoneal..... aguarda 5 minutos..... Formalina ipl → Teste

**Segunda parte do estudo: Participação de receptores opióides na analgesia induzida pelo tramadol intraplantar no teste da formalina. Foram observados 4 grupos, 5 animais por grupo. O controle foi feito em relação aos animais da primeira fase.**

A maior dose de tramadol usada por via intraplantar foi testada para avaliar a participação de receptores opióides no mecanismo de analgesia. A dose de naloxona utilizada foi de 1 mg/kg.

1. Naloxona foi injetada por via intraperitoneal (IP) para avaliar o possível efeito sistêmico de receptores opióides do tramadol.

Naloxona IP... 5 minutos..... Tramadol 5 mg ipl., 5 minutos..... Formalina ipl → Teste

2. Naloxona foi injetada via intraplantar (ipl) para avaliar o possível efeito local mediado por receptores opióides da analgesia induzida por tramadol.

Naloxona.ipl]...5 minutos....Tramadol 5 mg ipl]. 5 minutos.....Formalina ipl]→Teste

3. Naloxona foi injetada por via intraplantar (ipl) para avaliar eventual atividade analgésica com esta dose do antagonista opióide.

Naloxone ipl]...5 minutos...Formalina ipl]→Teste

4.Naloxona foi injetada por via endovenosa (ipl) para avaliar possível atividade analgésica com esta dose do antagonista opióide.

Naloxone EV...5 minutos...Formalina ipl]→ Teste

**Terceira parte do estudo: Tramadol administrado através de bloqueio de nervo periférico no teste da formalina. Foram estudados 3 grupos, 5 a 6 animais por grupo.**

Com os resultados obtidos com injeção de tramadol intraplantar no teste da formalina, testou-se a injeção perineural de tramadol, procurando-se observar possível efeito local sobre o nervo ciático. A procura inicial foi bloqueio sensitivo durante o teste da formalina.

1. A menor dose de tramadol testada no experimento anterior (1,25 mg) foi injetada através da injeção perineural em bloqueio de nervo ciático.

Anestesia geral] →→Bloqueio ciático com tramadol] → Formalina ipl]→ Teste

2. A mesma dose de tramadol (1,25 mg) foi injetada por via subcutânea na pata traseira direita, longe do nervo ciático = bloqueio simulado ou falso bloqueio.

Anestesia geral → Localização do nervo ciático → Agulha afastada do nervo → Injeção de tramadol longe do nervo → Formalina ipl → Teste

3. O controle desta fase se fez com a injeção de salina 50 microlitos perineural.

Anestesia geral → Localização do nervo ciático → Injeção de tramadol perineural → Formalina ipl → Teste

**Quarta parte do estudo: Avaliação do efeito da lidocaína perineural. Um grupo com 10 animais.**

1. Lidocaína 2% sem vasoconstrictor foi injetada perineural para avaliação de bloqueio motor

Anestesia geral → Localização do nervo ciático → Injeção de lidocaína perineural → Avaliação do bloqueio motor

**Quinta parte do estudo: Avaliação do efeito de tramadol 5 mg perineural. Um grupo com 5 animais.**

1. Como a dose de 1,25 mg tramadol induziu analgesia e observou-se bloqueio motor discreto, estudou-se o efeito de maior dose de tramadol por via perineural no bloqueio do nervo ciático.

Anestesia geral → Localização do nervo ciático → Injeção de tramadol 5 mg perineural → Avaliação do bloqueio motor



**Sexta parte do estudo: Tramadol em modelo de incisão plantar**  
**Esta fase é composta de 3 grupos, 5 animais por grupo.**

Para verificar se o resultado obtido no modelo da formalina se repetiria em outro modelo, escolheu-se a maior dose de tramadol que havia sido usada no teste da formalina e testou-se, utilizando desta vez, o modelo de incisão plantar. Neste modelo usou-se dose única de tramadol (5 mg).

A) Primeiramente foi comprovada a hiperalgesia pós-operatória em ratos.

Anestesia geral → salina ipl → incisão plantar → despertar da anestesia → teste

B) Em seguida escolheu-se a maior dose de tramadol (5 mg) utilizada no modelo da formalina para testá-la utilizando-se o modelo de incisão plantar.

Anestesia geral → tramadol ipl → incisão plantar → despertar anestesia → teste

C) Testou-se a seguir, tramadol 5 mg por via endovenosa com o mesmo modelo.

Anestesia geral → tramadol EV → incisão plantar → despertar anestesia → teste

**Sétima parte: Participação de receptores opióides na analgesia induzida por tramadol intraplantar no teste de incisão plantar. Esta fase é composta de 2 grupos, com 5 animais em cada.**

Naloxona na dose de 1 mg/kg foi injetada para avaliar a participação de receptores opióides na analgesia induzida por tramadol 5 mg por via intraplantar utilizando-se o teste de incisão plantar.

A) Naloxona administrada por via endovenosa antes do tramadol 5 mg por via intraplantar.

Anestesia geral → naloxona EV ...aguarda 5 minutos... tramadol ipl → incisão plantar → teste

B) Naloxona administrada por via intraplantar antes de tramadol 5 mg também por via intraplantar.

Anestesia geral → naloxona ipl...aguarda 5 minutos...tramadol ipl → incisão plantar → teste

### 3.11. Análise estatística

Para analisar o comportamento dos animais no teste de elevação da pata induzida por formalina, foram realizadas três tipos de análises:

1) Análise de variância para medidas repetidas (ANOVA) para verificar existência de semelhança entre os grupos de animais que receberam diferentes doses de tramadol. Analisou-se separadamente a primeira e a segunda fase do teste e adotou-se nível de significância de 5% (0,05). Considerou-se como estatisticamente significativo, valores de  $p < 0,05$ . O teste de Tukey foi utilizado como pós-teste para se apontar as diferenças entre os grupos.

2) Teste de Kruskal-Wallis para se verificar possíveis diferenças entre os subgrupos de animais que receberam tramadol por via intraplantar, intraperitoneal ou a associação de tramadol por uma destas vias quando da administração do antagonista opióide (naloxona). O teste de Mann Whitney foi empregado para apontar a diferença entre os grupos e o momento desta ocorrência.

Utilizou-se o teste de Kruskal-Wallis seguido de Mann Whitney para avaliar possíveis diferenças entre os animais submetidos ao bloqueio de nervo ciático com tramadol comparado com seus controles (salina perineural

e bloqueio simulado).

3) Utilizou-se teste de Willcoxon para se avaliar possível diferença entre o tempo de bloqueio motor induzido por lidocaína 2% e o tramadol 5 mg perineural.

Para se avaliar o grupo de animais submetidos a teste de retirada da pata induzida por incisão plantar, utilizou-se o teste de Kruskal-Wallis para análise entre os grupos seguido de Mann Whitney para se avaliar a ocorrência de diferença intragrupos, quando comparados para a par.

Foram utilizados para análise estatística os programas: SPSS (Statistical Package for Social Sciences), em sua versão 17.0, para a obtenção dos resultados não paramétricos. O Prisma Software versão 5.0 e o Stat 3.11 foram utilizados para ANOVA seguido de Teste de Tukey e o teste t de Student.

## **4 RESULTADOS**

---

## 4.Resultados

### 4.1. Resposta à Formalina:

A injeção de formalina a 1% na região dorsal da pata direita de ratos induziu comportamento hiperalgésico típico, em duas fases, que permaneceu durante todo o período de observação de 60 minutos. Foi considerada como resposta à injeção de formalina, o comportamento de elevação da pata inflamada. Contabilizou-se o número de vezes que este comportamento se repetiu e registrou-se o número de elevações da pata a cada 5 minutos (Figura 1).

A administração subcutânea de tramadol previamente à injeção de formalina a 1%, produziu no indivíduo uma resposta analgésica relacionada à dose, sendo as maiores doses de tramadol (2,5 e 5 mg) capazes de abolir o comportamento hiperalgésico durante todo o período de observação. A injeção de 1,25 mg de tramadol por via intraplantar, inibiu o comportamento da primeira fase do teste e reduziu, sem abolir completamente, a segunda fase (Figura 1).

Curva dose-resposta de tramadol: Formalina

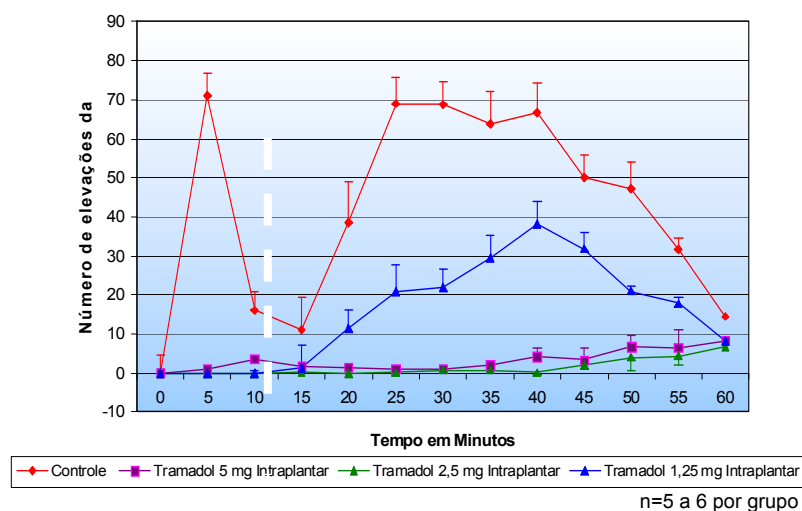


Figura 1. Curva dose-resposta de tramadol na hiperalgesia induzida por formalina a 1% intraplantar. Tramadol 5 e 2,5 mg bloquearam completamente a hiperalgesia induzida por formalina durante 60 minutos. Tramadol 1,25 mg bloqueou a primeira fase e reduziu a segunda fase. A linha pontilhada separa a primeira da segunda fase. Valores apresentados como Média  $\pm$  DP de 5 a 6 animais em cada grupo.

A análise das diferentes doses de tramadol frente à administração de formalina pode ser separada em primeira e segunda fase. As três doses de tramadol injetadas por via intraplantar neste estudo (5, 2,5 e 1,25 mg) bloqueiam a resposta à injeção de formalina a 1% na primeira fase do teste (Figura 2). Quando administrada via intraperitoneal, 5 mg de tramadol não difere de salina. Na segunda fase do teste, 2,5 e 5 mg de tramadol intraplantar bloquearam completamente a hiperalgesia. A dose de 1,25 mg

de tramadol intraplantar e de 5 mg de tramadol intraperitoneal apenas reduziram a resposta à formalina. A análise de variância de medidas repetidas (ANOVA) mostra diferença entre os grupos e o teste de Tukey confirma que todos os grupos de tramadol intraplantar são diferentes em relação ao grupo controle na primeira fase. Na segunda fase, as duas maiores doses de tramadol intraplantar (2,5 e 5 mg) não diferiram entre si. A dose de 1,25 mg diferiu das doses maiores e também do grupo controle ( $p < 0,05$ ) (Figura 2 e 3).

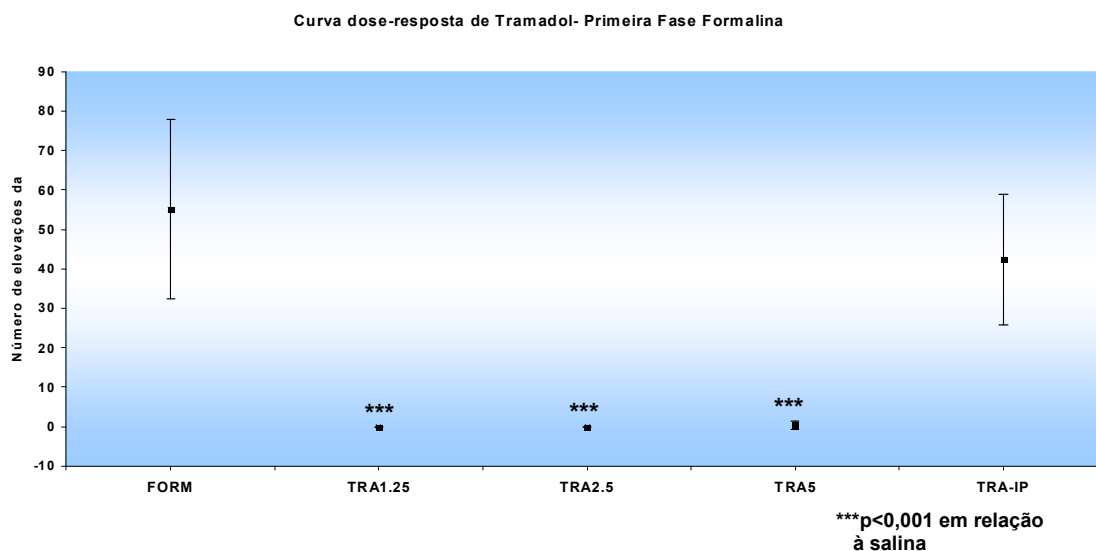


Figura 2. Efeito do tramadol intraplantar e intraperitoneal na primeira fase do teste da formalina. As 3 doses de tramadol ipl bloqueiam completamente a hiperalgesia. Dados apresentados como Média $\pm$ DP ANOVA seguido de teste de Tukey. \*\*\* $p < 0,001$  em relação ao grupo controle.

Curva dose-resposta de Tramadol - Segunda fase Formalina

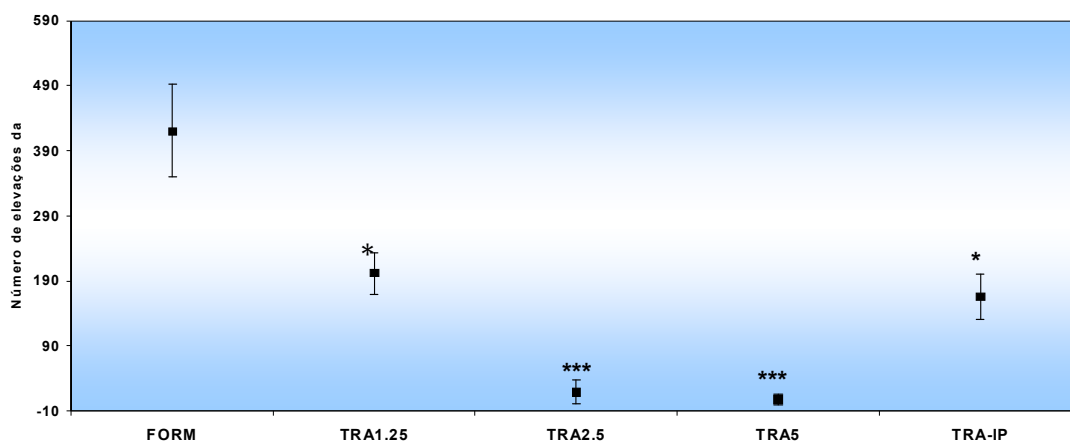


Figura 3. Efeito do tramadol intraplantar e intraperitoneal na segunda fase do teste da formalina. Tramadol 1,25 mg ipl e 5 mg ip reduz a hiperalgesia, enquanto 5 e 2,5 mg intraplantar bloqueiam-na completamente. Dados apresentados como Média±DP ANOVA seguido de teste de Tukey. \*\*\* $p < 0,001$  em relação ao grupo controle.

A dose de tramadol utilizada nos experimentos iniciais (5 mg) foi injetada por via intraperitoneal e comparada à injeção intraplantar. Enquanto por via intraplantar o tramadol inibe quase completamente a hiperalgesia induzida por formalina, por via intraperitoneal este efeito é mais tardio e menos intenso. Existe diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) entre tramadol por via intraperitoneal e o grupo controle após 25 minutos de teste (Figura 4).



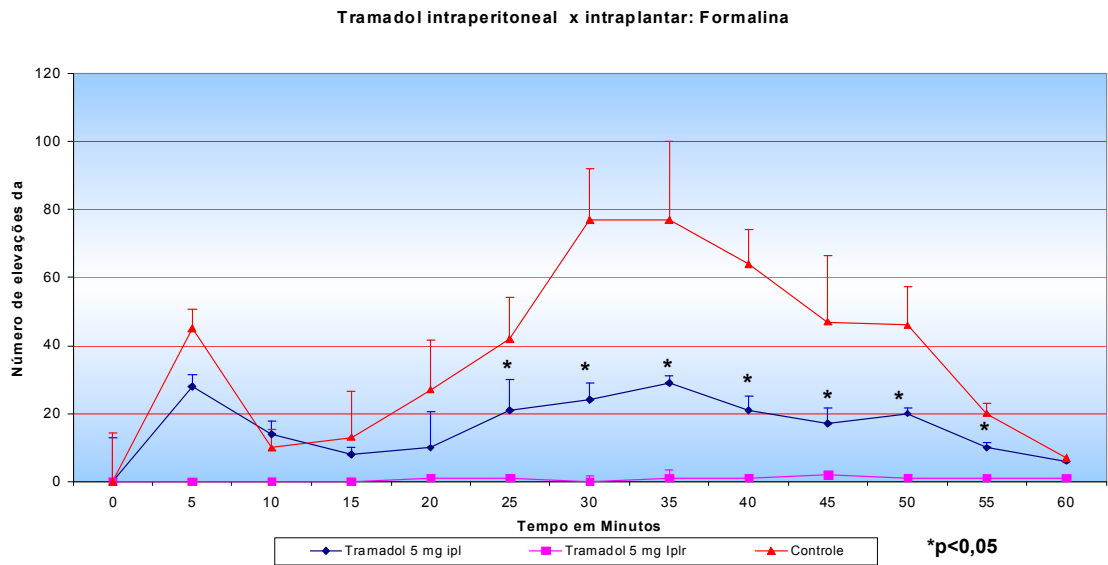


Figura 4. Efeito da administração de tramadol 5 mg por via intraperitoneal comparado a tramadol 5 mg por via intraplantar. Tramadol intraperitoneal é diferente do grupo controle após 25 minutos. Dados apresentados como Média±DP de 5 a 6 animais em cada grupo. Teste de Kruskal-Wallis seguido de Mann Whitney. \* p<0,05 em relação ao controle.

A administração de naloxona na dose de 1 mg/kg intraplantar na pata traseira previamente à injeção de tramadol 5 mg, não alterou a analgesia induzida pelo tramadol. De modo diverso, a administração intraperitoneal do antagonista opióide reduziu o efeito do tramadol, decorridos 40 minutos da injeção do mesmo (Figura 5).

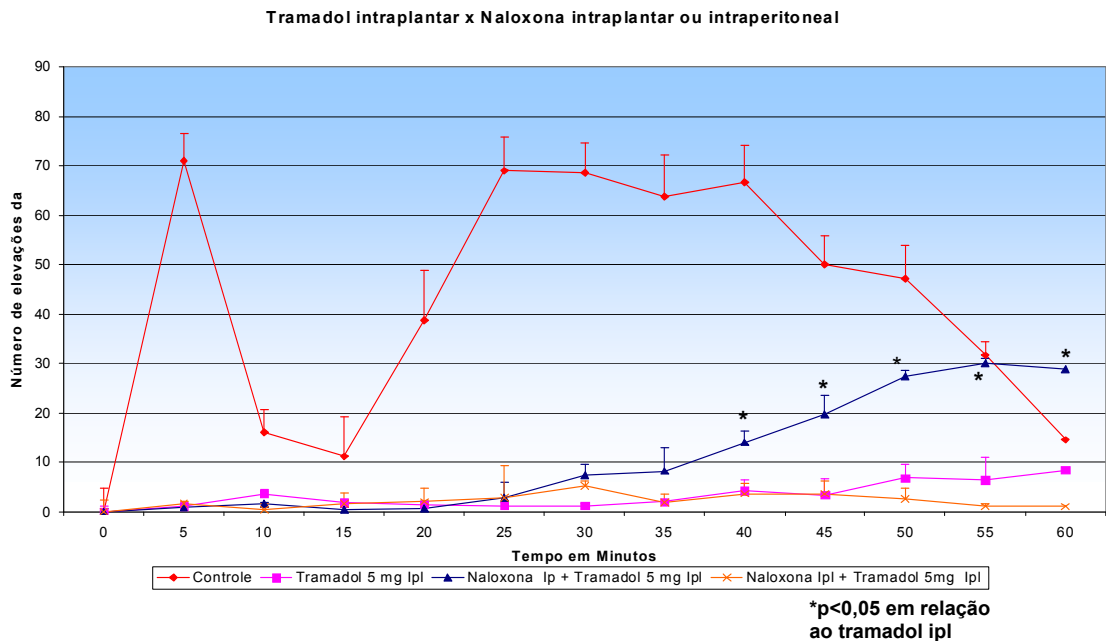


Figura 5. Efeito da injeção de naloxona na analgesia induzida por tramadol por via intraplantar. Naloxona Intraperitoneal reduz a analgesia por tramadol após 40 minutos da injeção. Naloxona Ipl não produz nenhuma alteração na analgesia induzida pelo tramadol. Dados apresentados como Média±DP de 5 a 6 animais em cada grupo. Teste de Kruskal-Wallis seguido de Mann Whitney . \* p<0,05.

Nenhum efeito foi obtido com a administração isolada de naloxona por via intraplantar ou por via endovenosa (figura não mostrada, ver anexo 2 para análise dos dados).

#### 4.2. Efeito da injeção perineural de tramadol

A administração de 1,25 mg de tramadol perineural após localização do nervo ciático por estimulador de nervos , reduziu o número de elevações da pata induzido por formalina a 1% (Figura 6). A mesma dose de tramadol administrada distante do nervo, designado de bloqueio simulado do nervo ciático, foi semelhante estatisticamente ao grupo controle com salina.

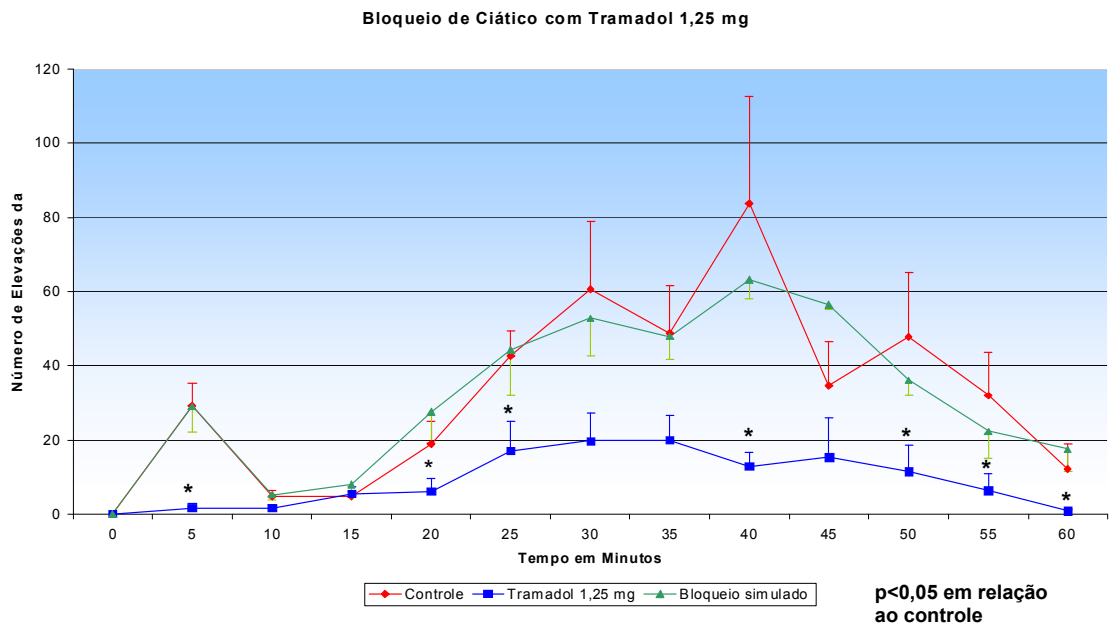


Figura 6. Efeito da administração de tramadol 1,25 mg perineural em nervo ciático direito. O tramadol bloqueou a hiperalgesia induzida por formalina 1% quando comparado ao grupo controle e ao bloqueio simulado. Dados apresentados como Média±DP de 5 a 6 animais em cada grupo. Teste de Kruskal-Wallis seguido de teste de Mann Whitney. \*p<0,05.

#### 4.3. Resposta à lidocaína perineural em bloqueio de nervo ciático

O bloqueio de nervo ciático com solução de lidocaína a 2 % induziu bloqueio motor completo da pata direita, que regrediu progressivamente durante o período de observação. Após o bloqueio do nervo ciático, o padrão comportamental dos animais repetiu-se de maneira idêntica em todos os ratos permitindo a classificação da intensidade do bloqueio motor, como mostra a tabela I. À medida que regride o bloqueio, o comportamento do animal é menos exuberante e o último comportamento observado é o discreto posicionamento lateral da pata, que cede lugar ao andar normal.

TABELA 1

<b>GRAU DE BLOQUEIO</b>	<b>PONTUAÇÃO</b>	<b>COMPORTAMENTO</b>
SEM BLOQUEIO	0	Anda normalmente
BLOQUEIO DISCRETO	1	Dedos contraídos, pata levemente flácida, não apóia a planta da pata na superfície, pisa na lateral ou medial da pata
BLOQUEIO MODERADO	2	Pisa com o dorso dos dedos, não flete o joelho, não apóia a planta da pata na superfície
	3	Usa a musculatura da coxa para tracionar a pata
BLOQUEIO COMPLETO	4	Arrasta a pata, não dobra o joelho, não usa a musculatura da coxa, pata completamente flácida

Tabela I. Escala de Bloqueio de Nervo Ciático em ratos. O comportamento observado advém da observação de 10 animais. Todos os animais apresentaram bloqueio motor grau 4, logo após o despertar da anestesia, que diminui progressivamente de intensidade até atingir grau 0 de bloqueio. O tempo médio para que atingissem grau 0 de bloqueio com a lidocaína foi  $45,55 \pm 10,7$  minutos.

A injeção de 5 mg de tramadol por via perineural promoveu bloqueio motor de intensidade semelhante àquele da lidocaína. Dos cinco animais estudados, todos apresentaram bloqueio motor grau 4 ao despertar da anestesia. O tempo de regressão completa do bloqueio até atingirem grau 0 foi de  $39,2 \pm 8,61$  minutos. A figura 7 mostra os resultados da duração do bloqueio motor induzido pelo tramadol em comparação ao bloqueio induzido pela lidocaína.

Bloqueio de ciático: Lidocaína x Tramadol

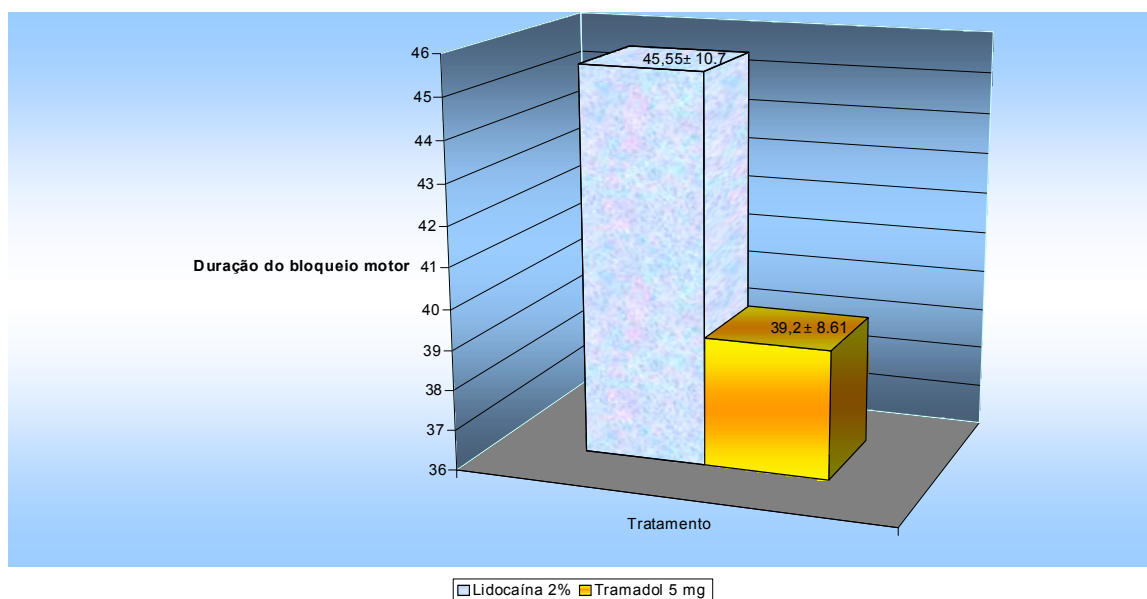


Figura 7. Duração do bloqueio motor induzido por tramadol 5 mg em comparação à lidocaína 2 % perineural. Os dados são apresentados como Média±DP de 5 e 10 animais respectivamente em cada grupo. Teste de Willcoxon não aponta diferença estatística entre os grupos ( $p>0,05$ ).

#### 4.4. Resposta ao modelo de incisão plantar:

Previamente à cirurgia, os animais foram testados com filamentos de Von Frey e não apresentavam resposta de retirada da pata a nenhum dos filamentos do conjunto. O filamento mais calibroso (980 mN) foi então considerado o limiar mecânico superior. A incisão cirúrgica reduziu o limiar de retirada da pata nos animais, verificada logo após o despertar da anestesia. Pode-se afirmar, portanto, que os animais apresentaram hiperalgesia mecânica no período pós-operatório.

A administração de tramadol por via intraplantar aboliu a hiperalgesia mecânica induzida pela incisão durante todo o período de observação. A injeção endovenosa do tramadol, por outro lado, só foi efetiva em reduzir a hiperalgesia após 45 minutos de observação (Figura 8).

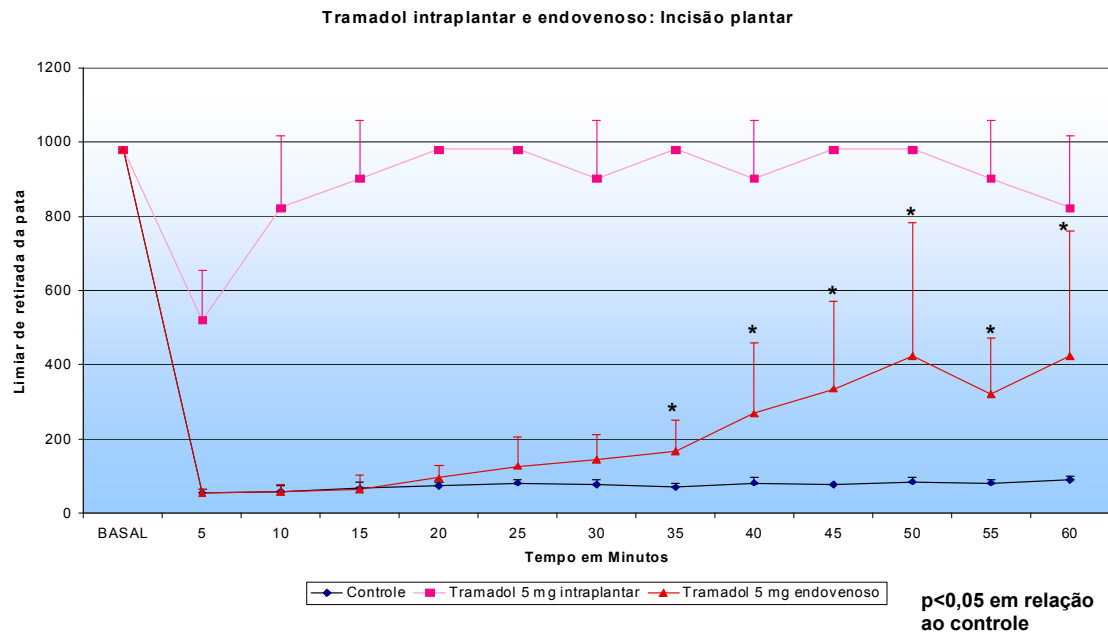


Figura 8. Tramadol pelas vias intraplantar e endovenosa na hiperalgesia mecânica induzida por incisão plantar. Dados apresentados como Média±DP de 5 animais em cada grupo. Teste de *Kruskal-Wallis* seguido por *Mann Whitney*. \* p<0,05 em relação ao grupo controle.

A administração de naloxona endovenosa, diminuiu a analgesia induzida por tramadol intraplantar nos últimos 15 minutos de observação (Figura 9).

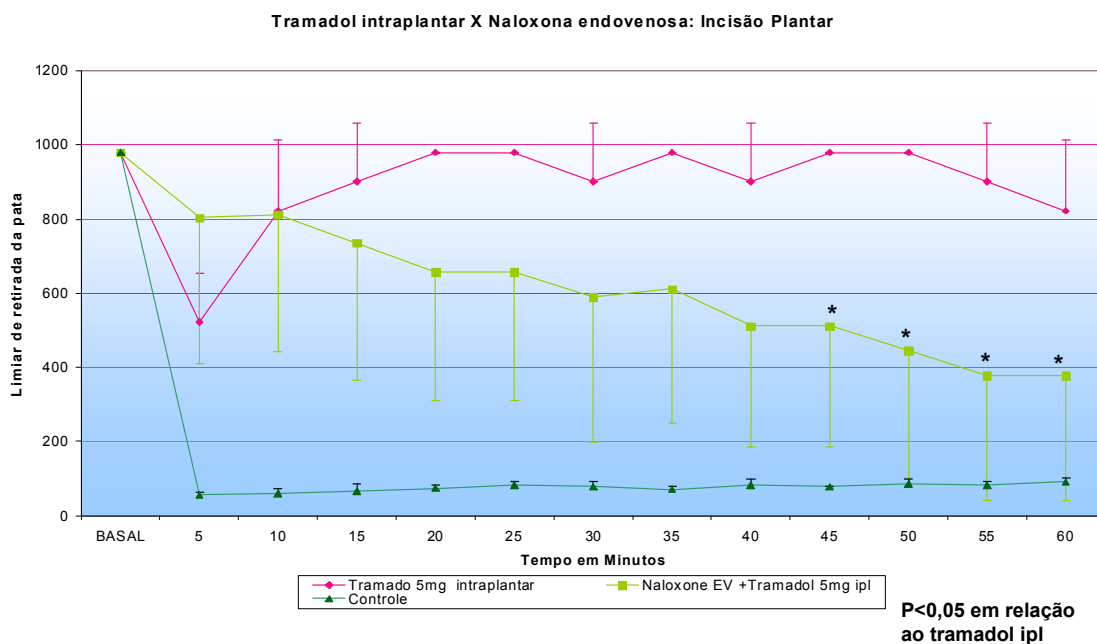


Figura 9. Efeito da administração de naloxona endovenosa na analgesia induzida por tramadol 5 mg intraplantar no teste da incisão plantar. Naloxona diminui a analgesia do tramadol após 45 minutos de injeção. Dados apresentados como Média±DP de 5 animais em cada grupo. Teste de Kruskal-Wallis seguido de Mann Whitney.  $p < 0,05$  em relação ao tramadol ipl.

O efeito analgésico do tramadol por via intraplantar não foi antagonizado pela administração de naloxona na dose de 1 mg/Kg, também por via intraplantar (Figura 10).

Tramadol Intraplantar X Naloxona intraplantar: Incisão plantar

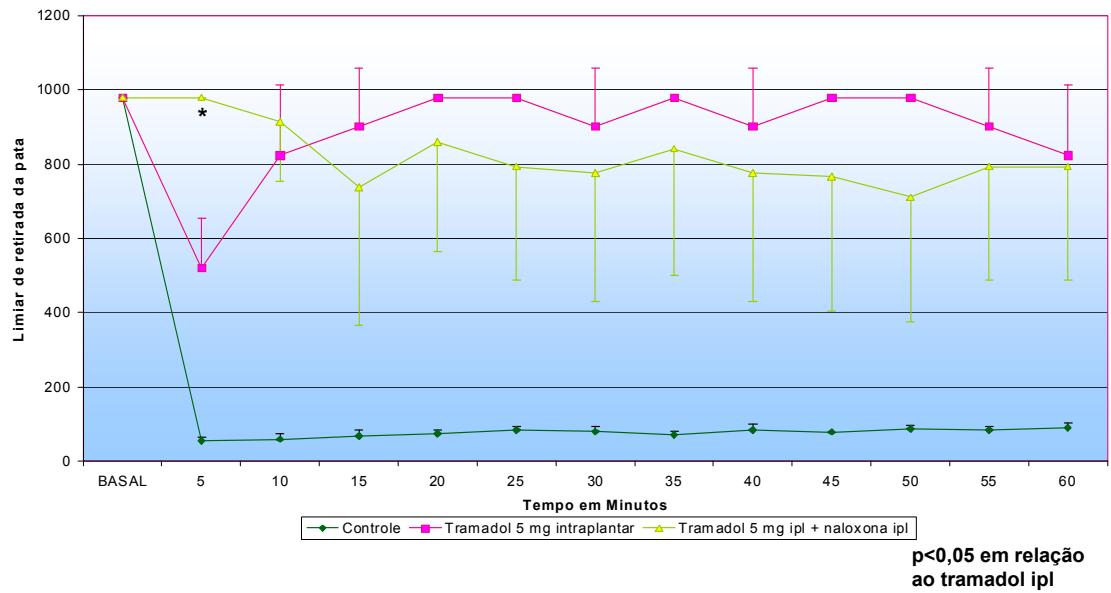


Figura 10 Efeito da administração intraplantar de naloxona previamente à injeção de tramadol. Não ocorreu antagonismo da analgesia induzida por tramadol intraplantar em nenhum momento do teste. Dados apresentados como Média±DP de 5 animais em cada grupo. Teste de Kruskal-Wallis seguido de Mann Whitney. \* p<0,05 em relação a tramadol 5 mg..



## **5 DISCUSSÃO**

---

## 5. Discussão

### 5.1. Modelo de elevação da pata induzida por formalina

As soluções mais concentradas de formalina, embora possam ativar o sistema inibitório descendente de forma mais pronunciada (Munro, 2009), produzem reação dolorosa muito intensa. Optou-se pela solução de formalina a 1 % a fim de minimizar o sofrimento dos animais. Tal solução induz reação dolorosa menos exacerbada que, no entanto, é suficientemente capaz de sensibilizar nociceptores periféricos e causar reação bifásica como originalmente descrita por Dubuisson e Dennis (1977).

### 5.2. Curva dose-resposta ao tramadol administrado por via intraplantar; efeito da administração intraperitoneal

A hipótese de ação analgésica local do tramadol vem sendo investigada por alguns pesquisadores (Khajavi et al., 2009; Mert et al., 2007; Hama e Sagen, 2007). Verificou-se previamente, que a infiltração subcutânea de 10 mg de tramadol na pata inflamada, mas não exatamente no local da lesão, não bloqueou a primeira fase do teste da formalina, apenas alterando a segunda fase. A injeção em menor dose deste fármaco diretamente no local da inflamação, no entanto, inibiu completamente a hiperalgesia no mesmo modelo, de modo precoce e intenso (Sousa et al., 2008).

Os resultados atuais são aprimoramentos de experimentos anteriores

que confirmam analgesia precoce induzida por tramadol administrado por via intraplantar. De duração prolongada, a intensidade da analgesia foi diretamente relacionada à dose utilizada. As maiores concentrações da solução de tramadol foram mais eficientes em reduzir a hiperalgesia na segunda fase do teste da formalina. Muito embora a dose de 2,5 mg de tramadol tenha sido tão eficaz quanto a de 5 mg, optou-se pela maior dose usada na primeira fase do estudo para prosseguir com a investigação das fases seguintes.

Nos experimentos em que se injetou formalina por via intraplantar, a via peritoneal foi utilizada para administração sistêmica do tramadol em substituição à venosa, devido à facilidade de acesso aos animais não anestesiados. Considera-se que as concentrações plasmáticas dos fármacos sejam muito semelhantes às aquelas obtidas com a administração pela via venosa. Assim, a administração intraperitoneal do tramadol permite a primeira passagem hepática e a desmetilação necessária para formação de metabólitos ativos. O tempo de latência é, portanto, tão longo quanto a via venosa. A analgesia induzida pelo tramadol por via intraperitoneal, iniciou após 20 minutos do teste, porém a sua intensidade, em comparação à injeção intraplantar, foi significativamente menos acentuada durante quase todo o período de observação. Efeito tão rápido como o demonstrado pela

injeção intraplantar de tramadol, dificilmente ocorreria por ação sistêmica do fármaco, visto que, o tempo de latência para induzir analgesia por via sistêmica é longo. Tal resultado não difere de dados clínicos, nos quais a analgesia por tramadol instala-se lentamente, devido à necessidade de biotransformação hepática do tramadol para ação analgésica.

### **5.3. Antagonismo do tramadol por naloxona: teste da formalina**

A analgesia induzida pelo tramadol por via intraplantar é intensa. Se naloxona é administrada intraperitoneal antes do tramadol, a analgesia tende a diminuir de intensidade progressivamente. Torna-se significativa aos 40 minutos e é completamente antagonizada aos 50 minutos de observação. Verifica-se com esses dados, a participação opioidérgica na analgesia induzida por tramadol, comprovada pela abolição completa da analgesia após 50 minutos da injeção.

Entretanto, mecanismos não opióides estão envolvidos na analgesia do tramadol. A injeção intraplantar do medicamento reduz precocemente a hiperalgesia induzida pela formalina, e a naloxona por via intraperitoneal não altera este efeito precoce. A administração de naloxona por via sistêmica ocorreu previamente à injeção local do tramadol. Se a analgesia do tramadol fosse inteiramente dependente de receptores opióides, deveria

haver algum grau de inibição da analgesia desde o início do teste. No entanto, naloxona sistêmica reduziu a intensidade da analgesia apenas após 20 minutos da injeção do analgésico.

A analgesia instantânea induzida pelo tramadol por via intraplantar não tem participação opióide sistêmica, muito embora receptores opióides periféricos sejam expressos após inflamação (Hassan et al., 2003; Hama e Sagen, 2007). Repetiu-se então o experimento em outro grupo de ratos, com administração de naloxona por via intraplantar. Neste caso, não ocorreu nenhuma alteração da intensidade de analgesia promovida pelo tramadol durante todo o período de observação. Se a analgesia precoce fosse mediada por receptores opióides periféricos, possivelmente esta seria antagonizada por naloxona por via intraplantar. No entanto, devido ao fato do teste ser interrompido aos 60 minutos após injeção de formalina talvez não haja tempo suficiente para ocorrer aumento da expressão de receptores opióides na periferia. Além disso, a absorção sistêmica da naloxona foi desprezível e tampouco foi capaz de antagonizar a analgesia tardia promovida pelo tramadol.

Conclui-se com esses resultados, que a analgesia exercida pelo tramadol nos primeiros minutos do teste da formalina, não depende de receptores opióides, pelo menos com os atuais experimentos. Não é

possível saber como se comportam esses animais após algumas horas ou dias de inflamação.

Os resultados desses dois experimentos nos mostram que a dose utilizada de tramadol na periferia (5 mg), foi suficientemente elevada para ser absorvida e induzir efeito opióide central, uma vez que a naloxona sistêmica bloqueou o efeito do tramadol. Assim sendo, o resultado atual não surpreende, mas confirma que a dose de 5 mg utilizada por via intraplantar foi elevada e que a analgesia decorrente da administração do tramadol por via intraplantar não é apenas de ação local.

#### **5.4. Bloqueio do nervo ciático com tramadol e lidocaína**

Não se pode afirmar o mecanismo exato de analgesia exercida pelo tramadol com experimentos farmacológicos simples. No entanto, tendo em vista a ação inibitória de potenciais de ação em nervos isolados (Mert et al., 2006), procurou-se neste estudo, demonstrar em mais de um experimento a ação local do fármaco.

Localizou-se o nervo ciático através da utilização de estimulador de nervo periférico (Stimuplex) e fez-se injeção de tramadol 1,25 mg/50µl por via perineural. Em seguida, injetou-se formalina na pata ipsilateral quando o animal estava começando a despertar da anestesia. Resultou deste experimento, a inibição da hiperalgesia típica da formalina durante todo o

período de observação de 60 minutos. A primeira fase do teste foi bloqueada e a segunda fase foi reduzida, da mesma forma que ocorreu com a injeção de tramadol por via intraplantar anteriormente descrita.

O controle deste experimento fez-se com injeção de salina perineural e injeção de tramadol em bloqueio simulado. A injeção de salina descartou efeito placebo, enquanto a injeção de tramadol em bloqueio simulado, descartou efeito sistêmico do fármaco.

É interessante observar que o bloqueio simulado do ciático não reduziu a hiperalgesia da formalina, embora dose similar por via intraplantar tenha sido analgésica no experimento anterior. Ao se observar o gráfico da curva dose-resposta de tramadol, verifica-se que o tramadol por via intraplantar nesta dose, aboliu a primeira fase do teste da formalina.

Ao se comparar o experimento em que se fez injeção intraplantar de 1,25 mg de tramadol com o experimento em que se fez bloqueio simulado de ciático com 1,25 mg de tramadol, observa-se que: apesar de em ambos experimentos, a mesma dose ser injetada no subcutâneo da pata inflamada, no primeiro, a injeção foi no local da inflamação enquanto no segundo, a injeção foi distante da inflamação. Em resposta, no primeiro experimento ocorre analgesia intensa enquanto no segundo experimento não há diferença entre o grupo tramadol e o grupo controle com salina. Não resta

dúvida, portanto, que o tramadol na dose de 1,25 mg atua localmente quando aplicada por via intraplantar durante o teste da formalina, sem evidência de efeito sistêmico. Ao mesmo tempo, esta dose de 1,25 mg sem efeito sistêmico, bloqueia a primeira fase da formalina quando injetada por via perineural, confirmando o efeito do tramadol na condução neural do nervo ciático.

A observação dos animais permitiu ainda verificar que, nesta dose, o tramadol não produziu bloqueio motor completo, embora os animais apresentassem discreta alteração do posicionamento da pata ao andar. Esta alteração não foi suficiente para impedir a utilização da musculatura da coxa, necessária para elevar a pata durante o teste da formalina. A quantificação de bloqueio motor em ratos, no entanto, é bastante difícil de ser executada (Thalhammer et al., 1995). Propôs-se então, observação do comportamento dos animais após injeção de lidocaína 2% perineural desde o momento do despertar até a completa recuperação do bloqueio. Esta observação permitiu a graduação do bloqueio motor da pata estudada e a criação de escala de bloqueio variando de 0 a 4 (0=ausência de bloqueio a 4=bloqueio motor completo).

Ao se utilizar solução de tramadol em maior concentração (5mg/50 $\mu$ l) em bloqueio de ciático direito, ocorreu bloqueio motor completo do membro



estudado. Em estudo de fibras isoladas de nervos periféricos lesados, lidocaína e tramadol bloqueiam a amplitude de potenciais de ação de modo relacionado à concentração do fármaco (Mert et al., 2006) e bloqueia canais de sódio voltagem dependente em experimentos eletrofisiológicos in vitro (Haeseler et al., 2006). No presente experimento, tramadol na concentração de 2,5% (1,25 mg/50 µl) por via perineural induziu efeito analgésico importante e bloqueio motor discreto, enquanto em maior concentração (5mg/50µl, ou 10%) o bloqueio motor foi completo com características e tempo de recuperação semelhantes aos animais que receberam lidocaína perineural. Doses de tramadol similares às utilizadas no presente estudo, aplicadas diretamente sobre o nervo ciático, inibe potenciais de ação somatosensoriais da pata ipsilateral de modo relacionado à dose (Tsai et al., 2001). Administrado por via intratecal, o tramadol tem efeito supressor de potenciais sensitivos somatossensoriais que não é antagonizado por naloxona (Jou et al., 2003).

Os resultados presentes vêm de encontro ao relato de Mert et al. (2006), onde foi demonstrado que o tramadol reduziu potenciais de ação de nervos isolados menos eficientemente que a lidocaína. A intensidade do bloqueio motor apresentada no atual relato está diretamente relacionada à concentração da solução de tramadol e o efeito analgésico desencadeado

pela menor dose pode ser decorrente da inibição de potenciais sensitivos, unicamente. A associação do tramadol a anestésicos locais, no entanto, não apenas aumenta o tempo de latência para a retirada da pata em animais de experimentação quanto prolonga o tempo de analgesia (Mert et al., 2007) e a duração do bloqueio motor em comparação à administração de lidocaína isoladamente (Zeidan et al., 2008). O efeito sinérgico de tramadol e anestésicos é relatado em humanos e pode ser decorrente não apenas do efeito supressor de potenciais de ação sensitivos como também do aumento da concentração de monoaminas exercida pelo tramadol. Sabe-se que a associação de adrenalina às soluções de lidocaína prolongam a duração do bloqueio motor e talvez seja esta a explicação para o efeito somatório da associação dos dois fármacos. Alguns estudos clínicos relatam efeito benéfico da associação de tramadol à bupivacaína ou ropivacaína pode prolongar o tempo de analgesia em alguns estudos (Günes et al., 2004; Zeidan et al., 2008), enquanto outros referem apenas aumento do tempo de latência do bloqueio pela ropivacaína.

Contudo, os presentes experimentos realizados com tramadol perineural evidenciaram bloqueio motor dependente da dose, reversível e semelhante à lidocaína, compatível com efeito anestésico local do fármaco. Possivelmente o resultado verificado seja manifestação *in vivo*, de inibição

de corrente iônica para sódio, como demonstrado em células de cultura (Haeseler et al., 2006).

## **5.5 .Tramadol no modelo de incisão plantar**

Os animais manifestaram dor espontânea, manifestada pelo ato de guardarem o membro operado junto ao corpo e evitarem apoiar a pata operada na superfície.

Métodos de avaliação do limiar de sensibilidade a estímulos mecânico e térmico, são facilmente reproduzíveis e capazes de detectar a ocorrência prolongada de hiperalgesia no período pós-operatório (Flatters, 2008).

A dose de tramadol utilizada foi 5 mg em todos os experimentos empregando este modelo. Como a injeção do fármaco ocorreu antes da incisão cirúrgica, não houve hiperalgesia nos animais que receberam tramadol por via intraplantar. Quando a administração de tramadol foi por via venosa, no entanto, a redução típica da hiperalgesia mecânica típica começou aos 30 minutos, mas não foi tão intensa quanto a analgesia induzida pelo tramadol por via intraplantar. Confirma-se com este experimento que a latência do tramadol por via sistêmica é longa e portanto não se deve esperar efeito rápido do tramadol após injeção endovenosa. A injeção local, contudo, atua rapidamente e independe de absorção sistêmica do fármaco.

O conhecimento desses dados pode ser útil na clínica diária e alerta aos médicos, sobretudo àqueles que realizam procedimentos cirúrgicos de pequeno porte, para a modificação da via de administração do fármaco em pequenas cirurgias, visto o curto período de latência após administração local. Em crianças submetidas a herniorrafias, por exemplo, a injeção de tramadol na incisão cirúrgica pode ser mais efetiva que a administração venosa, pois além de atuar imediatamente na redução da dor, pode ser absorvido e agir por via sistêmica. Aproveita-se desta forma o mecanismo local do medicamento, sem perder o efeito sistêmico tardio. A substituição do tramadol por anestésico local, como proposto por Altunkaya et al. (2004), talvez não seja indicada, mas a associação à lidocaína em infiltração de ferida operatória pode ser um método bastante eficaz de analgesia.

### **5.6. Antagonismo do tramadol por naloxona: incisão plantar**

Reproduz-se no modelo de dor pós-operatória o resultado obtido com formalina por via intraplantar. A naloxona endovenosa inibe a analgesia de tramadol intraplantar após 45 minutos da injeção do analgésico, de modo semelhante ao que ocorre durante o teste da formalina. O mecanismo de ação central do tramadol na dose de 5 mg é confirmado neste modelo, visto que a analgesia foi progressivamente antagonizada por naloxona. A dose de tramadol de 5 mg é suficientemente elevada para produzir efeito sistêmico,

mas não se pode desprezar o possível efeito local com esta dose. Quando da injeção de naloxona no local exato da pata onde ocorreu a injeção de tramadol, não houve antagonismo da analgesia, repetindo mais uma vez os resultados encontrados no outro modelo.

A ação periférica do tramadol ocorreu nos dois modelos testados de modo idêntico e independente de receptores opióides. Todavia, após 1 ou 2 dias de inflamação induzida, pode ser detectado aumento da expressão de receptores opióides no gânglio da raiz dorsal e terminações nervosas livres (Hassan et al., 1993), sendo possível a participação de receptores opióides periféricos na analgesia. Se no modelo de dor pós-operatória esse fenômeno se repete, este não foi objetivo de avaliação no presente estudo. Esta é uma etapa do estudo que está em investigação no nosso laboratório, assim como a avaliação de doses menores de tramadol no teste da formalina.

## **6 CONCLUSÕES**

---

## 6. Conclusões

O tramadol possui ação sistêmica e periférica que promove analgesia relacionada à dose. Após o uso por via intraplantar, o início é precoce tanto no modelo de dor pós-operatória quanto no modelo de dor induzida por formalina.

Existe efeito analgésico periférico do tramadol não mediado por receptor opióide periférico nas doses utilizadas e nos modelos utilizados.

O tramadol perineural bloqueia a condução neural sensitiva e motora do nervo ciático de modo relacionado à dose. Em concentração elevada, o tramadol promove bloqueio motor de intensidade e duração semelhantes à lidocaína. Demonstra-se, in vivo, efeito bloqueador da condução neural pelo tramadol.





# 7. Anexos

## Anexo 1

FOTO A: Formalina



FOTO B: Bloqueio de ciático



FOTO C: Incisão plantar

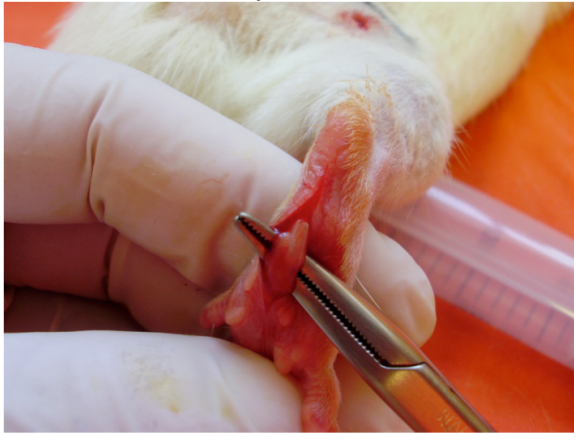


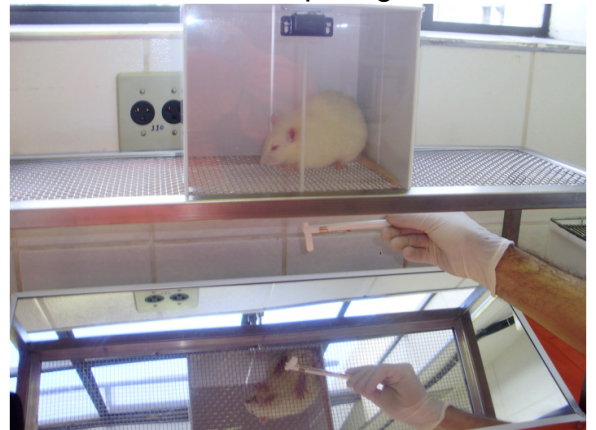
FOTO D: Incisão plantar



FOTO E: Von Frey



FOTO F: Teste de hiperalgesia mecânica



## ANEXO 2

Tabela de conversão de grama-força para mN. O valor em gf deve ser multiplicado por 9,8.

<b>Filamento</b>	<b>gf</b>	<b>mN</b>
3,84	0,6	5,88
4,08	1	9,8
4,17	1,4	13,72
4,31	2	19,6
4,56	4	39,2
4,74	6	58,8
4,93	8	78,4
5,07	10	98
5,18	15	147
5,46	26	254,8
5,88	60	588
6,10	100	980

## ANEXO 3

Comportamento após injeção perineural de lidocaína 2%

### Rato 1

- 1.arrasta inteiramente o membro posterior
- 2.não dobra o joelho
- 3.pisa com dorso dos dedos
- 4.firma a pata, mas pisa na face medial da mesma
- 5.dificuldade de apoiar a pata
- 6.dedos contraídos, pisa na medial da pata
- 7.pisa na medial da pata
- 8.anda normal

### Rato 2

- 1.arrasta inteiramente o membro posterior
- 2.traciona a pata, tenta andar sobre o dorso dos dedos
- 3.tenta puxar a pata
- 4.tenta pisar com a planta da pata na superfície
- 5.anda com o dorso dos dedos
- 6.não consegue pisar com a planta da pata na superfície
- 7.pata voltada medialmente, pé caído, tenta pisar com a planta da pata na superfície
- 8.consegue pisar com a planta do pé na superfície
- 9.dificuldade de lidar com o posicionamento do membro no espaço, pata voltada medialmente
- 10.pata ligeiramente voltada medialmente, dificuldade de percepção da pata no espaço
- 11.pata ligeiramente voltada medialmente
- 12.anda normalmente

### Rato 3

- 1)arrasta inteiramente o membro posterior
- 2)não dobra o joelho
- 3)pisa com o dorso da pata
- 4)firma a pata, pisa na medial, pata ainda relaxada
- 5)dedos contraídos, pata ligeiramente medial, anda com o dorso dos dedos
- 6)dedos ligeiramente contraídos, pata ligeiramente voltada medialmente
- 7)anda normal

### Rato 4

- 1)arrasta inteiramente o membro posterior
- 2)traciona a pata usando a musculatura da coxa, tenta andar sobre o dorso dos dedos
- 3)dobra o joelho, anda com o dorso dos dedos
- 4)tenta puxar a pata para apoiar na superfície, só consegue andar sobre o dorso dos dedos
- 5)anda com o dorso dos dedos
- 6)pata voltada medialmente, pé caído, tenta apoiar a planta da pata na superfície
- 7)apóia sobre a superfície, dificuldade de lidar com a força muscular, flacidez no membro
- 8)pata ligeiramente voltada medialmente
- 9)dificuldade de perceber a pata no espaço
- 10)pata ligeiramente voltada medialmente
- 11)anda normal

#### Rato 5

- 1) arrasta completamente o membro posterior
- 2) tenta pisar com o dorso dos dedos
- 3) traciona a pata, tenta apoiar o dorso dos dedos no solo
- 4) traciona a pata usando a musculatura da coxa, apóia a pata na superfície
- 5) anda sobre o dorso dos dedos
- 6) tenta apoiar a planta da pata na superfície
- 7) dedos não estendem, apóia peso sobre o calcâneo
- 8) dedos contraídos, não estendem
- 9) pata flácida, dedos contraídos, não apóia a planta
- 10) pata voltada medialmente, dificuldade de localização da pata no espaço
- 11) anda normal

#### Rato 6

- 1) arrasta o membro posterior totalmente flácido
- 2) tenta pisar com o dorso dos dedos usando a musculatura da coxa
- 3) arrasta a pata, anda com dorso dos dedos
- 4) apóia a planta da pata na superfície, pata voltada medialmente, dedos contraídos
- 5) pata flácida, mas apóia na superfície
- 6) pata ligeiramente voltada medialmente, dedos não estendem
- 7) dificuldade de percepção do espaço, dedos contraídos, ligeiramente voltada medialmente
- 8) anda normal

#### Rato 7

- 1) arrasta completamente o membro posterior
- 2) tenta apoiar o dorso dos dedos
- 3) pata voltada medialmente
- 4) traciona a pata, dobra o joelho
- 5) não estende os dedos
- 6) apóia a pata na superfície, mas não tem força suficiente
- 7) pata flácida, anda com o peso sobre o calcanhar ou o dorso dos dedos
- 8) dedos não estendem
- 9) pata ligeiramente voltada medialmente, dedos não estendem
- 10) dificuldade de perceber a pata no espaço (eleva a pata excessivamente para andar)
- 11) pata ligeiramente voltada medialmente
- 12) anda normal

#### Rato 8

- 1) arrasta completamente o membro posterior
- 2) traciona a pata usando a mm da coxa
- 3) tenta apoiar na superfície com o dorso dos dedos
- 4) anda com dorso dos dedos
- 5) apóia a pata na superfície, dedos contraídos
- 6) para voltada medialmente
- 7) dificuldade de localizar a pata no espaço
- 8) dedos contraídos, pata voltada medialmente
- 9) pata flácida, voltada medialmente, dedos contraídos, apóia principalmente nos calcanhares
- 10) anda normalmente

Rato 9

- 1) arrasta completamente o membro posterior flácido
- 2) não dobra o joelho
- 3) não reposiciona a pata se esta for posicionada pelo observador
- 4) anda sobre o dorso dos dedos
- 5) pata voltada medialmente, dedos contraídos, anda sobre o dorso dos dedos
- 6) apóia a pata na superfície com dificuldade
- 7) pata voltada medialmente, anda sobre o dorso dos dedos
- 8) apóia a pata, não estende os dedos
- 9) pata caída, pata voltada medialmente
- 10) pata ligeiramente voltada medialmente
- 11) anda normalmente

Rato 10

- 1) arrasta completamente o membro posterior
- 2) não dobra o joelho
- 3) tenta dobrar o joelho usando a musculatura da coxa
- 4) pisa com dorso dos dedos
- 5) pata voltada medialmente
- 6) dedos contraídos, pata apoiada com dificuldade
- 7) anda com a face lateral da pata
- 8) pata ligeiramente voltada para a lateral
- 9) anda normal

Efeito do Bloqueio do Ciático com Tramadol 5 mg:

Rato 1. Arrasta a pata; pata totalmente bloqueada;  
Rato 2. Arrasta a pata; pata totalmente bloqueada;  
Rato 3. Arrasta a pata; pata totalmente bloqueada;  
Rato 4. Arrasta a pata; pata totalmente bloqueada;  
Rato 5. Arrasta a pata; pata totalmente bloqueada.

## ANEXO 4

Dados referentes ao Bloqueio Motor com Lidocaína e Tramadol 5 mg

perineural

rato	tempo de bloqueio	
	lidocaína	tramadol
	51	51
	50	32
	37,5	45
	37	37
	60	31
	30	
	59	
	55	
	41	
	35	
média	45,55	39,2
dp	10,7508398	8,61394219

grau de bloqueio			
lidocaína	tramadol	salina	
4	4		0
4	4		0
4	4		0
4	4		0
4	4		0
4			
4			
4			
4			
4			

## ANEXO 5

### Análise estatística do Bloqueio de Ciático com Tramadol e Lidocaína

Table Analyzed	lidocaína x tramadol
Column A	lidocana 2%
VS	vs
Column B	Tramadol 5 mg
Wilcoxon signed rank test	
P value	0,5000
Exact or approximate P value?	Exact
P value summary	ns
Are medians signif. different? (P < 0.05)	No
One- or two-tailed P value?	Two-tailed
Sum of positive, negative ranks	5.000 , -1.000
Sum of signed ranks (W)	4,000
How effective was the pairing? rs (Spearman)	
P Value (one tailed)	
P value summary	
Was the pairing significantly effective?	

## ANEXO 6

Registro do número de elevações da pata no teste da formalina

### Controle formol 1 %

	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>
<b>5.</b>	80.	55.	64.	65.	78.	84.
<b>10.</b>	4.	15.	6.	5.	36.	30.
<b>15.</b>	8.	10.	0.	10.	33.	6.
<b>20.</b>	61.	8.	44.	26.	57.	36.
<b>25.</b>	95.	24.	70.	61.	80.	84.
<b>30.</b>	60.	43.	71.	86.	65.	87.
<b>35.</b>	58.	76.	37.	65.	77.	70.
<b>40.</b>	74.	58.	34.	95.	62.	77.
<b>45.</b>	55.	63.	20.	71.	39.	52.
<b>50.</b>	59.	38.	24.	53.	46.	63.
<b>55.</b>	21.	35.	15.	37.	22.	60.
<b>60.</b>	23.	19.	5.	11.	10.	19.

### Tramal 5 mg pata

	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>
<b>5.</b>	5.	0.	0.	0.	0.
<b>10.</b>	2.	5.	3.	6.	2.
<b>15.</b>	3.	4.	0.	2.	0.
<b>20.</b>	1.	6.	0.	0.	0.
<b>25.</b>	3.	0.	0.	1.	2.
<b>30.</b>	0.	2.	1.	0.	3.
<b>35.</b>	2.	3.	3.	1.	1.
<b>40.</b>	0.	6.	0.	13.	2.
<b>45.</b>	0.	9.	0.	8.	0.
<b>50.</b>	3.	14.	1.	15.	1.
<b>55.</b>	7.	10.	0.	14.	1.
<b>60.</b>	9.	4.	0.	26.	3.

### Tramadol 2,5 mg pata

	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>
<b>5.</b>	0.	0.	0.	0.	0.
<b>10.</b>	0.	0.	0.	0.	0.
<b>15.</b>	0.	0.	1.	0.	0.
<b>20.</b>	0.	0.	0.	0.	0.
<b>25.</b>	0.	0.	0.	1.	0.
<b>30.</b>	4.	0.	0.	0.	0.
<b>35.</b>	1.	0.	1.	0.	2.
<b>40.</b>	0.	0.	1.	0.	0.
<b>45.</b>	3.	0.	2.	2.	3.
<b>50.</b>	5.	2.	1.	7.	5.
<b>55.</b>	0.	0.	1.	17.	4.
<b>60.</b>	10.	3.	0.	13.	8.



**Tramal 1,25 mg pata**

	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>
<b>5.</b>	0.	0.	0.	0.	0.
<b>10.</b>	0.	0.	0.	0.	0.
<b>15.</b>	1.	0.	2.	3.	1.
<b>20.</b>	2.	1.	33.	14.	7.
<b>25.</b>	11.	13.	30.	35.	15.
<b>30.</b>	13.	46.	12.	11.	28.
<b>35.</b>	18.	30.	45.	26.	28.
<b>40.</b>	61.	35.	38.	29.	28.
<b>45.</b>	28.	27.	24.	25.	55.
<b>50.</b>	22.	7.	25.	19.	32.
<b>55.</b>	17.	20.	16.	21.	15.
<b>60.</b>	5.	6.	13.	6.	11.

**Tramal pata/naloxone pata**

<b>Tempo</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>
<b>5.</b>	6.	0.	0.	0.	2.
<b>10.</b>	1.	0.	0.	0.	1.
<b>15.</b>	1.	0.	3.	1.	3.
<b>20.</b>	2.	0.	1.	1.	6.
<b>25.</b>	8.	0.	1.	3.	2.
<b>30.</b>	18.	0.	2.	2.	4.
<b>35.</b>	1.	1.	3.	3.	1.
<b>40.</b>	6.	1.	3.	5.	3.
<b>45.</b>	3.	1.	5.	7.	2.
<b>50.</b>	0.	5.	2.	6.	0.
<b>55.</b>	0.	5.	0.	0.	0.
<b>60.</b>	1.	2.	1.	0.	1.

**Tramal pata/naloxona intraperitoneal**

<b>Tempo</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>
<b>5.</b>	3.	0.	0.	0.	1.
<b>10.</b>	1.	3.	0.	4.	0.
<b>15.</b>	1.	0.	0.	1.	0.
<b>20.</b>	2.	0.	0.	0.	1.
<b>25.</b>	7.	1.	0.	0.	6.
<b>30.</b>	6.	2.	3.	6.	20.
<b>35.</b>	10.	5.	1.	13.	12.
<b>40.</b>	17.	12.	7.	3.	31.
<b>45.</b>	20.	14.	27.	21.	16.
<b>50.</b>	15.	36.	33.	22.	31.
<b>55.</b>	12.	21.	18.	77.	22.
<b>60.</b>	6.	4.	42.	61.	31.

**Naloxona intraperitoneal controle**

	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>
<b>5.</b>	89.	59.	66.	85.	39.
<b>10.</b>	28.	7.	6.	42.	7.
<b>15.</b>	14.	13.	10.	20.	29.
<b>20.</b>	50.	58.	28.	34.	67.
<b>25.</b>	82.	95.	70.	70.	65.
<b>30.</b>	90.	76.	66.	47.	82.
<b>35.</b>	74.	81.	93.	37.	36.
<b>40.</b>	37.	80.	86.	58.	46.
<b>45.</b>	53.	91.	65.	47.	67.
<b>50.</b>	40.	77.	57.	25.	7.
<b>55.</b>	33.	90.	13.	3.	10.
<b>60.</b>	18.	43.	10.	7.	10.

**Naloxona  
intraplantar  
controle**

	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>
<b>5.</b>	67.	55.	86.	48.	93.
<b>10.</b>	14.	18.	56.	4.	31.
<b>15.</b>	9.	60.	39.	4.	17.
<b>20.</b>	17.	75.	40.	31.	76.
<b>25.</b>	77.	108.	49.	107.	92.
<b>30.</b>	115.	66.	55.	68.	92.
<b>35.</b>	68.	83.	28.	66.	63.
<b>40.</b>	57.	33.	13.	54.	60.
<b>45.</b>	38.	61.	16.	53.	21.
<b>50.</b>	5.	12.	9.	49.	11.
<b>55.</b>	3.	6.	9.	27.	5.
<b>60.</b>	5.	10.	8.	9.	5.

## ANEXO 7

Bloqueio do Ciático com Tramadol 1,25 mg ou bloqueio simulado durante o teste da Formalina

### Tramadol 1,25 mg bloqueio ciático

	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>
<b>5.</b>	6.0	3.0	0.0	0.0	0.0
<b>10.</b>	3.0	5.0	0.0	1.0	0.0
<b>15.</b>	6.0	7.0	2.0	1.0	12.0
<b>20.</b>	3.0	3.0	3.0	2.0	20.0
<b>25.</b>	1.0	7.0	35.0	5.0	38.0
<b>30.</b>	4.0	14.0	41.0	6.0	34.0
<b>35.</b>	1.0	27.0	41.0	14.0	17.0
<b>40.</b>	7.0	23.0	18.0	15.0	2.0
<b>45.</b>	3.0	11.0	57.0	1.0	5.0
<b>50.</b>	4.0	12.0	39.0	2.0	1.0
<b>55.</b>	0.0	7.0	24.0	0.0	1.0
<b>60.</b>	1.0	1.0	2.0	1.0	0.0

### Bloqueio sham tramadol

Tempo	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>
<b>5.0</b>	10.0	27.0	20.0	19.0	57.0	42.0
<b>10.0</b>	1.0	5.0	3.0	5.0	12.0	6.0
<b>15.0</b>	5.0	5.0	1.0	6.0	11.0	20.0
<b>20.0</b>	13.0	29.0	4.0	17.0	59.0	44.0
<b>25.0</b>	13.0	19.0	38.0	36.0	72.0	88.0
<b>30.0</b>	28.0	60.0	69.0	19.0	85.0	56.0
<b>35.0</b>	54.0	45.0	54.0	21.0	46.0	68.0
<b>40.0</b>	82.0	58.0	71.0	55.0	68.0	46.0
<b>45.0</b>	41.0	67.0	101.0	11.0	64.0	55.0
<b>50.0</b>	48.0	47.0	35.0	30.0	32.0	25.0
<b>55.0</b>	46.0	42.0	2.0	15.0	9.0	20.0
<b>60.0</b>	27.0	29.0	2.0	6.0	6.0	36.0

### Bloqueio ciático com salina

Tempo	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>
<b>5.0</b>	44.0	21.0	19.0	44.0	18.0
<b>10.0</b>	9.0	2.0	8.0	4.0	2.0
<b>15.0</b>	8.0	2.0	8.0	2.0	4.0
<b>20.0</b>	19.0	8.0	26.0	38.0	4.0
<b>25.0</b>	57.0	37.0	52.0	48.0	19.0
<b>30.0</b>	94.0	34.0	32.0	116.0	27.0
<b>35.0</b>	87.0	10.0	35.0	56.0	56.0
<b>40.0</b>	94.0	13.0	33.0	103.0	176.0
<b>45.0</b>	37.0	74.0	12.0	8.0	42.0
<b>50.0</b>	111.0	48.0	6.0	42.0	32.0
<b>55.0</b>	75.0	28.0	8.0	17.0	32.0
<b>60.0</b>	39.0	8.0	6.0	4.0	4.0

## ANEXO 8

Registro do número de elevações da pata (valores agrupados) na primeira e segunda fase da formalina:

1a fase: primeiros 10 minutos

2a fase: 11 a 60 minutos.

### Segunda fase

Controle	tram 5 mg	tram 2,5 mg	tram 1,25 mg
514	35	23	178
374	59	5	185
296	5	7	238
515	80	40	189
491	13	22	192

### Primeira fase

Controle	tram 5 mg	tram 2,5 mg	tram 1,25 mg
84	7	0	0
70	5	0	0
70	3	0	0
70	6	0	0
114	2	0	0

### Controle

1a fase	84	70	70	70	114
2a fase	514	374	296	515	491

### Tramadol 5 mg

1a fase	7	5	3	6	2
2a fase	35	59	5	80	13

### Tramadol 2,5 mg

1a fase	0	0	0	0	0
2a fase	23	5	7	40	22

### Tramadol 1,25 mg

1a fase	0	0	0	0	0
2a fase	178	185	238	189	192

## ANEXO 9

Registro do limiar de retirada da pata no teste de hiperalgesia pós incisão plantar: VonFrey

<b>INCISÃO PLANTAR</b>					
<b>Controle</b>					
<b>tempo</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>
<b>Basal</b>	980	980	980	980	980
<b>5</b>	39	59	59	59	59
<b>10</b>	39	59	59	78	59
<b>15</b>	39	78	59	78	78
<b>20</b>	59	78	78	78	78
<b>25</b>	78	78	78	98	78
<b>30</b>	59	78	78	98	78
<b>35</b>	59	78	59	78	78
<b>40</b>	59	98	78	78	98
<b>45</b>	78	78	78	78	78
<b>50</b>	78	98	78	78	98
<b>55</b>	78	98	78	78	78
<b>60</b>	98	98	78	78	98

<b>Tramadol endovenoso</b>					
<b>Tempo</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>
<b>Basal</b>	980	980	980	980	980
<b>5</b>	59	59	39	59	59
<b>10</b>	39	59	39	78	78
<b>15</b>	59	7	59	98	98
<b>20</b>	59	78	98	98	147
<b>25</b>	59	78	147	98	255
<b>30</b>	78	98	147	255	147
<b>35</b>	78	98	147	255	255
<b>40</b>	98	147	255	588	255
<b>45</b>	98	147	588	588	255
<b>50</b>	147	147	980	588	255
<b>55</b>	255	255	588	255	255
<b>60</b>	147	255	980	488	255

<b>Tramadol intraplantar</b>					
<b>Tempo</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>
<b>Basal</b>	980	980	980	980	980
<b>5</b>	255	588	588	588	588
<b>10</b>	588	588	980	980	980
<b>15</b>	588	980	980	980	980
<b>20</b>	980	980	980	980	980
<b>25</b>	980	980	980	980	980
<b>30</b>	980	980	980	588	980

<b>35</b>	980	980	980	980	980
<b>40</b>	980	588	980	980	980
<b>45</b>	980	980	980	980	980
<b>50</b>	980	980	980	980	980
<b>55</b>	588	980	980	980	980
<b>60</b>	980	588	980	588	980

**Tramadol Ipl + naloxona EV**

<b>Tempo</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>
<b>Basal</b>	980	980	980	980	980
<b>5</b>	98	980	980	988	980
<b>10</b>	147	980	980	988	980
<b>15</b>	147	980	980	588	980
<b>20</b>	147	980	588	588	980
<b>25</b>	147	980	588	988	588
<b>30</b>	147	980	255	988	588
<b>35</b>	255	980	255	988	588
<b>40</b>	147	588	255	988	588
<b>45</b>	147	588	255	988	588
<b>50</b>	147	588	255	988	255
<b>55</b>	147	255	255	988	255
<b>60</b>	147	255	255	988	255

**Tramadol intraplantar/naloxona intraplantar**

<b>Tempo</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>
<b>Basal</b>	980	980	980	980	980	980
<b>5</b>	980	980	980	980	980	980
<b>10</b>	588	980	980	980	980	980
<b>15</b>	254,8	980	254,8	980	980	980
<b>20</b>	254,8	980	980	980	980	980
<b>25</b>	254,8	980	588	980	980	980
<b>30</b>	147	980	588	980	980	980
<b>35</b>	147	980	980	980	980	980
<b>40</b>	147	980	980	980	980	588
<b>45</b>	98	980	980	980	588	980
<b>50</b>	147	980	980	980	588	588
<b>55</b>	254,8	980	980	588	980	980
<b>60</b>	254,8	980	980	980	588	980

## ANEXO 10

Análise estatística das duas fases da formalina na curva dose-resposta de Tramadol

### Primeira fase da Formalina

"Table Analyzed""primeira fase tramadol"

"Repeated Measures ANOVA"

" P value""< 0.0001"

" P value summary""\*\*\*"

" Are means signif. different? (P < 0.05)"Yes

" Number of groups"4

" F"84,03

" R square"0,9546

" Was the pairing significantly effective?"

" R square"0,01285

" F"0,8592

" P value"0,5154

" P value summary"ns

" Is there significant matching? (P < 0.05)"No

"ANOVA Table"SSdfMS

" Treatment (between columns)"2411138037

" Individual (between rows)"328,7482,18

" Residual (random)"11481295,64

" Total"2558719

"Tukey's Multiple Comparison Test""Mean Diff."q"Significant? P < 0.05?"

Summary"95% CI of diff"

" 1a fase controle vs 1a fase tram 5 mg"77,0017,61Yes\*\*\*\*"58.64 to 95.36"

" 1a fase controle vs 1a fase tram 2,5 mg"81,6018,66Yes\*\*\*\*"63.24 to 99.96"

" 1a fase controle vs 1a fase tram 1,25 mg"81,6018,66Yes\*\*\*\*"63.24 to 99.96"

" 1a fase tram 5 mg vs 1a fase tram 2,5 mg"4,6001,052Nons"-13.76 to 22.96"

" 1a fase tram 5 mg vs 1a fase tram 1,25 mg"4,6001,052Nons"-13.76 to 22.96"

" 1a fase tram 2,5 mg vs 1a fase tram 1,25 mg"0,00,0Nons"-18.36 to 18.36"

## Segunda fase da Formalina

" F"1,052  
" P value"0,4213  
" P value summary"ns  
" Is there significant matching? (P < 0.05)"No

"ANOVA Table"SSdfMS

" Treatment (between columns)"5624133187471  
" Individual (between rows)"1188542971  
" Residual (random)"33894122825  
" Total"60819319

"Tukey's Multiple Comparison Test""Mean Diff."q"Significant? P < 0.05?"  
Summary"95% CI of diff"

" 2a fase controle vs 2a fase tram 5 mg"399,616,81Yes\*\*\*\*"299.8 to 499.4"  
" 2a fase controle vs 2a fase tram 2,5 mg"418,617,61Yes\*\*\*\*"318.8 to 518.4"  
" 2a fase controle vs 2a fase tram 1,25 mg"241,610,17Yes\*\*\*\*"141.8 to 341.4"  
" 2a fase tram 5 mg vs 2a fase tram 2,5 mg"19,000,7994Nons"-80.80 to 118.8"  
" 2a fase tram 5 mg vs 2a fase tram 1,25 mg"-158,06,648Yes\*\*\*"-257.8 to -58.20"  
" 2a fase tram 2,5 mg vs 2a fase tram 1,25 mg"-177,07,447Yes\*\*\*\*"-276.8 to -77.20"



## ANEXO 11

### Análise estatística

Aplicação do *Teste de Kruskal-Wallis*, com o intuito de verificar possíveis diferenças entre os grupos considerados, para as variáveis de interesse.

#### TESTE DA FORMALINA

##### SALINA.TRAM IPL/TRAM IP

Momento	Grupo	n	Média	Desvio-padrão	Mínimo	Máximo	Percentil 25	Mediana	Percentil 75	Sig. (p)
min_05	3	5	68,4	10,46	55	80	59,5	65	79	0,002
	4	5	1	2,24	0	5	0	0	2,5	
	10	5	28,4	12,88	15	49	18	27	39,5	
	Total	15	32,6	30,01	0	80	0	27	64	
min_10	3	5	13,2	13,48	4	36	4,5	6	25,5	0,025
	4	5	3,6	1,82	2	6	2	3	5,5	
	10	5	14	3,32	10	19	11,5	13	17	
	Total	15	10,27	8,94	2	36	4	6	15	
min_15	3	5	12,2	12,34	0	33	4	10	21,5	0,071
	4	5	1,8	1,79	0	4	0	2	3,5	
	10	5	7,6	3,65	2	12	4,5	8	10,5	
	Total	15	7,2	8,22	0	33	2	7	10	
min_20	3	5	39,2	22,15	8	61	17	44	59	0,005
	4	5	1,4	2,61	0	6	0	0	3,5	
	10	5	10,2	1,92	8	13	8,5	10	12	
	Total	15	16,93	20,56	0	61	1	9	26	
min_25	3	5	66	26,66	24	95	42,5	70	87,5	0,003
	4	5	1,2	1,3	0	3	0	1	2,5	
	10	5	20,6	10,48	11	36	11,5	18	31	
	Total	15	29,27	32,01	0	95	2	18	61	
min_30	3	5	65	15,7	43	86	51,5	65	78,5	0,002
	4	5	1,2	1,3	0	3	0	1	2,5	
	10	5	23,6	8,93	13	34	15	23	32,5	
	Total	15	29,93	29,02	0	86	2	23	60	
min_35	3	5	62,6	16,35	37	77	47,5	65	76,5	0,002
	4	5	2	1	1	3	1	2	3	
	10	5	29,2	4,92	22	35	24,5	31	33	
	Total	15	31,27	27,23	1	77	3	31	58	
min_40	3	5	64,6	22,36	34	95	46	62	84,5	0,002
	4	5	4,2	5,5	0	13	0	2	9,5	
	10	5	20,6	1,14	19	22	19,5	21	21,5	
	Total	15	29,8	29,13	0	95	6	21	58	
min_45	3	5	49,6	20,34	20	71	29,5	55	67	0,003
	4	5	3,4	4,67	0	9	0	0	8,5	

	10	5	19,4	2,07	16	21	17,5	20	21	
	Total	15	24,13	22,78	0	71	8	20	39	
	3	5	44	13,66	24	59	31	46	56	
	4	5	6,8	7,09	1	15	1	3	14,5	
min_50	10	5	19,2	3,11	15	22	16	20	22	0,002
	Total	15	23,33	18,07	1	59	14	20	38	
	3	5	26	9,54	15	37	18	22	36	
	4	5	6,4	5,94	0	14	0,5	7	12	
min_55	10	5	9,4	1,14	8	11	8,5	9	10,5	0,008
	Total	15	13,93	10,77	0	37	8	10	21	
	3	5	13,6	7,27	5	23	7,5	11	21	
	4	5	8,4	10,36	0	26	1,5	4	17,5	
min_60	10	5	5,8	1,79	3	7	4	7	7	0,162
	Total	15	9,27	7,61	0	26	4	7	11	

Encontramos diferenças estatisticamente significantes para quase todas as variáveis estudadas (momentos de observação). Assim, vamos aplicar o *Teste de Mann-Whitney*, de modo complementar, para identificarmos quais grupos diferenciam-se entre si, em cada momento estudado

#### SALINA/TRAM IPL/TRAM IP

Variável	GRUPO 3=SALINA GRUPO 4= TRAMADOL IPL GRUPO 10=TRAMADOL IP		
	G3 x G4	G3 x G10	G4 x G10
min_05	0,007	0,009	0,007
min_10	0,073	0,401	0,009
min_15	0,071	0,528	0,036
min_20	0,008	0,094	0,008
min_25	0,009	0,028	0,009
min_30	0,009	0,009	0,009
min_35	0,009	0,009	0,008
min_40	0,009	0,009	0,009
min_45	0,008	0,036	0,008
min_50	0,009	0,009	0,011
min_55	0,009	0,009	0,401
min_60	0,175	0,056	0,832

**Descrição e comparação entre os Grupos 3, 11 e 12  
Salina (GRUPO 3), tramadol pata + naloxona na pata (GRUPO 11),  
tramadol na pata + naloxona ip (GRUPO 12)**

Aplicação do *Teste de Kruskal-Wallis*, com o intuito de verificarmos possíveis diferenças entre os grupos considerados, para as variáveis de interesse

tempo	Grupo	n	Média	Desvio-padrão	Mínimo	Máximo	Percentil 25	Mediana	Percentil 75	Sig. (p)
min_05	3	5	68,4	10,46	55	80	59,5	65	79	0,006
	11	5	1,6	2,61	0	6	0	0	4	
	12	6	1,33	1,75	0	4	0	0,5	3,25	
	Total	16	22,38	32,54	0	80	0	2,5	61,75	
min_10	3	5	13,2	13,48	4	36	4,5	6	25,5	0,006
	11	5	0,4	0,55	0	1	0	0	1	
	12	6	1,33	1,75	0	4	0	0,5	3,25	
	Total	16	4,75	9,18	0	36	0	1	4,75	
min_15	3	5	12,2	12,34	0	33	4	10	21,5	0,037
	11	5	1,6	1,34	0	3	0,5	1	3	
	12	6	0,33	0,52	0	1	0	0	1	
	Total	16	4,44	8,41	0	33	0	1	6,75	
min_20	3	5	39,2	22,15	8	61	17	44	59	0,006
	11	5	2	2,35	0	6	0,5	1	4	
	12	6	1,5	2,35	0	6	0	0,5	3	
	Total	16	13,44	21,35	0	61	0,25	2	21,5	
min_25	3	5	66	26,66	24	95	42,5	70	87,5	0,008
	11	5	2,8	3,11	0	8	0,5	2	5,5	
	12	6	3	3,1	0	7	0	2,5	6,25	
	Total	16	22,63	33,28	0	95	1	5	51,75	
min_30	3	5	65	15,7	43	86	51,5	65	78,5	0,005
	11	5	5,2	7,29	0	18	1	2	11	
	12	6	7,33	6,5	2	20	2,75	6	10,25	
	Total	16	24,69	29,71	0	86	2,25	6,5	55,75	
min_35	3	5	62,6	16,35	37	77	47,5	65	76,5	0,005
	11	5	1,8	1,1	1	3	1	1	3	
	12	6	6,83	5,64	0	13	0,75	7,5	12,25	
	Total	16	22,69	29,31	0	77	1	7,5	52,75	
min_40	3	5	64,6	22,36	34	95	46	62	84,5	0,002
	11	5	3,6	1,95	1	6	2	3	5,5	
	12	6	12,83	10,13	3	31	6	9,5	20,5	
	Total	16	26,13	30,03	1	95	3,5	9,5	52	
min_45	3	5	49,6	20,34	20	71	29,5	55	67	0,005
	11	5	3,6	2,41	1	7	1,5	3	6	
	12	6	16,67	8,48	2	27	11	18	22,5	
	Total	16	22,88	22,65	1	71	3,5	18	36	

	3	5	44	13,66	24	59	31	46	56	
	11	5	2,6	2,79	0	6	0	2	5,5	
	12	6	23,33	12,63	3	36	12	26,5	33,75	0,004
min_50	Total	16	23,31	19,76	0	59	3,5	23	37,5	
	3	5	26	9,54	15	37	18	22	36	
	11	5	1	2,24	0	5	0	0	2,5	
	12	6	25	26,73	0	77	9	19,5	35,75	0,013
min_55	Total	16	17,81	20,02	0	77	0	16,5	22	
	3	5	13,6	7,27	5	23	7,5	11	21	
	11	5	1	0,71	0	2	0,5	1	1,5	
	12	6	25,5	23,14	4	61	5,5	20	46,75	0,007
min_60	Total	16	14,13	17,38	0	61	1,25	7,5	22	

Encontramos diferenças estatisticamente significantes para todas as variáveis estudadas (momentos de observação). Assim, vamos aplicar o *Teste de Mann-Whitney*, de modo complementar, para identificarmos quais grupos diferenciam-se entre si, em cada momento estudado:

Variável	Par de Grupos		
	Salina x tram/nalox ipl	Salina x tram ipl/nalox IP	Tram/nalox ipl x tram ipl/nalox IP
min_05	0,008	0,006	0,921
min_10	0,008	0,007	0,481
min_15	0,091	0,034	0,076
min_20	0,009	0,006	0,507
min_25	0,009	0,006	0,926
min_30	0,009	0,006	0,196
min_35	0,008	0,006	0,223
min_40	0,009	0,006	0,027
min_45	0,009	0,022	0,035
min_50	0,009	0,028	0,017
min_55	0,007	0,359	0,022
min_60	0,008	0,715	0,006

**Descrição e comparação entre os Grupos 13, 14 e 15  
13 (bloqueio ciático com tramadol), 14 (bloqueio sham). 15 (salina)**  
Aplicação do *Teste de Kruskal-Wallis*, com o intuito de verificarmos possíveis diferenças entre os grupos considerados, para as variáveis de interesse

Tempo	Grupo	n	Média	Desvio-padrão	Mínimo	Máximo	Percentil 25	Mediana	Percentil 75	Sig. (p)
min_05	13	5	18	26,83	0	60	0	0	45	0,007
	14	6	291,67	173,14	100	570	167,5	235	457,5	
	15	5	292	135,54	180	440	185	210	440	
	Total	16	206,25	179,63	0	570	37,5	190	382,5	
min_10	13	5	18	21,68	0	50	0	10	40	0,135
	14	6	53,33	37,24	10	120	25	50	75	
	15	5	50	33,17	20	90	20	40	85	
	Total	16	41,25	33,84	0	120	12,5	35	57,5	
min_15	13	5	56	43,93	10	120	15	60	95	0,854
	14	6	80	66,93	10	200	40	55	132,5	
	15	5	48	30,33	20	80	20	40	80	
	Total	16	62,5	49,6	10	200	20	55	80	
min_20	13	5	62	77,27	20	200	25	30	115	0,045
	14	6	276,67	206,85	40	590	107,5	230	477,5	
	15	5	190	137,48	40	380	60	190	320	
	Total	16	182,5	171,17	20	590	32,5	150	282,5	
min_25	13	5	172	177,82	10	380	30	70	365	0,094
	14	6	443,33	296,83	130	880	175	370	760	
	15	5	426	151,1	190	570	280	480	545	
	Total	16	353,13	244,64	10	880	145	365	510	
min_30	13	5	198	167,69	40	410	50	140	375	0,124
	14	6	528,33	249,75	190	850	257,5	580	730	
	15	5	606	413,5	270	1160	295	340	1050	
	Total	16	449,38	324,99	40	1160	210	340	667,5	
min_35	13	5	200	149,67	10	410	75	170	340	0,067
	14	6	480	155,82	210	680	390	500	575	
	15	5	488	285,43	100	870	225	560	715	
	Total	16	395	232,9	10	870	180	430	555	
min_40	13	5	130	84,56	20	230	45	150	205	0,021
	14	6	633,33	128,63	460	820	527,5	630	737,5	
	15	5	838	643,56	130	1760	230	940	1395	
	Total	16	540	454,96	20	1760	157,5	505	792,5	
min_45	13	5	154	235,54	10	570	20	50	340	0,065
	14	6	565	298,65	110	1010	335	595	755	
	15	5	346	266,05	80	740	100	370	580	
	Total	16	368,13	307,16	10	1010	87,5	390	622,5	
min_50	13	5	116	159,15	10	390	15	40	255	0,062

	14	6	361,67	93,68	250	480	287,5	335	472,5	
	15	5	478	388,1	60	1110	190	420	795	
	Total	16	321,25	269,69	10	1110	75	320	457,5	
	13	5	64	102,62	0	240	0	10	155	
	14	6	223,33	178,74	20	460	72,5	175	430	
	15	5	320	258,17	80	750	125	280	535	0,058
min_55	Total	16	203,75	205,91	0	750	32,5	160	310	
	13	5	10	7,07	0	20	5	10	15	
	14	6	176,67	146,24	20	360	50	165	307,5	
	15	5	122	150,73	40	390	40	60	235	0,008
min_60	Total	16	107,5	135,47	0	390	12,5	50	222,5	

Encontramos diferenças estatisticamente significantes para algumas variáveis estudadas (momentos de observação). Assim, vamos aplicar o *Teste de Mann-Whitney*, de modo complementar, para identificarmos quais grupos diferenciam-se entre si, em cada momento estudado.

Variável	Par de Grupos		
	G13 x G14 Bloqueio com tramadol x sham	G13 x G15 Bloqueio com tramadol x salina	G14 x G15 Boqueio
min_05	0,006	0,008	0,927
min_10	0,064	0,115	0,854
min_15	0,854	0,916	0,462
min_20	0,027	0,045	0,522
min_25	0,082	0,047	0,784
min_30	0,045	0,142	0,715
min_35	0,017	0,116	0,714
min_40	0,006	0,047	0,584
min_45	0,035	0,117	0,273
min_50	0,045	0,047	0,582
min_55	0,067	0,028	0,584
min_60	0,007	0,008	0,712

## ANEXO 12

### Análise Estatística

#### Teste da Incisão Plantar

#### Descrição e comparação entre os Grupos A (controle), B tramadol 5 mg EV e C (tramadol 5 mg ipl)

Aplicação do *Teste de Kruskal-Wallis*, com o intuito de verificarmos possíveis diferenças entre os grupos considerados, para as variáveis de interesse:

Tempo	Grupo	N	Média	Desvio-padrão	Mínimo	Máximo	Percentil 25	Mediana	Percentil 75	Sig. (p)
min_basal	A	5	980	0	980	980	980	980	980	> 0,999
	B	5	980	0	980	980	980	980	980	
	C	5	980	0	980	980	980	980	980	
	Total	15	980	0	980	980	980	980	980	
min_05	A	5	55	8,94	39	59	49	59	59	0,004
	B	5	55	8,94	39	59	49	59	59	
	C	5	521,4	148,92	255	588	421,5	588	588	
	Total	15	210,47	241,19	39	588	59	59	588	
min_10	A	5	58,8	13,79	39	78	49	59	68,5	0,008
	B	5	58,6	19,5	39	78	39	59	78	
	C	5	823,2	214,71	588	980	588	980	980	
	Total	15	313,53	390,5	39	980	59	78	588	
min_15	A	5	66,4	17,39	39	78	49	78	78	0,008
	B	5	64,2	37,45	7	98	33	59	98	
	C	5	901,6	175,31	588	980	784	980	980	
	Total	15	344,07	419,28	7	980	59	78	980	
min_20	A	5	74,2	8,5	59	78	68,5	78	78	0,004
	B	5	96	32,79	59	147	68,5	98	122,5	
	C	5	980	0	980	980	980	980	980	
	Total	15	383,4	437,14	59	980	78	98	980	
min_25	A	5	82	8,94	78	98	78	78	88	0,005
	B	5	127,4	78,5	59	255	68,5	98	201	
	C	5	980	0	980	980	980	980	980	
	Total	15	396,47	429,61	59	980	78	98	980	
min_30	A	5	78,2	13,79	59	98	68,5	78	88	0,003
	B	5	145	68,57	78	255	88	147	201	
	C	5	901,6	175,31	588	980	784	980	980	
	Total	15	374,93	399,46	59	980	78	147	980	
min_35	A	5	70,4	10,41	59	78	59	78	78	0,002
	B	5	166,6	84,51	78	255	88	147	255	
	C	5	980	0	980	980	980	980	980	
	Total	15	405,67	424,78	59	980	78	147	980	
min_40	A	5	82,2	16,38	59	98	68,5	78	98	0,002

	B	5	268,6	191,23	98	588	122,5	255	421,5	
	C	5	901,6	175,31	588	980	784	980	980	
	Total	15	417,47	388,68	59	980	98	255	980	
	A	5	78	0	78	78	78	78	78	
	B	5	335,2	237,66	98	588	122,5	255	588	
	C	5	980	0	980	980	980	980	980	0,001
min_45	Total	15	464,4	412,76	78	980	78	255	980	
	A	5	86	10,95	78	98	78	78	98	
	B	5	423,4	359,88	147	980	147	255	784	
	C	5	980	0	980	980	980	980	980	0,002
min_50	Total	15	496,47	427,34	78	980	98	255	980	
	A	5	82	8,94	78	98	78	78	88	
	B	5	321,6	148,92	255	588	255	255	421,5	
	C	5	901,6	175,31	588	980	784	980	980	0,002
min_55	Total	15	435,07	376,82	78	980	78	255	980	
	A	5	90	10,95	78	98	78	98	98	
	B	5	425	334,32	147	980	201	255	734	
	C	5	823,2	214,71	588	980	588	980	980	0,003
min_60	Total	15	446,07	376	78	980	98	255	980	

Para as diferenças estatisticamente significantes que foram encontradas, vamos aplicar o *Teste de Mann-Whitney*, para identificarmos quais grupos diferenciam-se entre si, quando comparados par a par:

Variável	Par de Grupos		
	controle x EV	CONTROLE X IPL	EV X IPL
	A x B	A x C	B x C
min_basal	> 0,999	> 0,999	> 0,999
min_05	> 0,999	0,005	0,005
min_10	> 0,999	0,007	0,008
min_15	0,914	0,006	0,007
min_20	0,178	0,004	0,005
min_25	0,371	0,004	0,005
min_30	0,039	0,006	0,007
min_35	0,017	0,005	0,005
min_40	0,014	0,007	0,009
min_45	0,005	0,003	0,005
min_50	0,008	0,005	0,018
min_55	0,005	0,005	0,007
min_60	0,008	0,007	0,051



**Descrição e comparação entre os Grupos A (controle), C (tramadol ipl) e D (tramadol ipl + naloxone EV) controle, tramadol ipl, tramadol ipl+naloxone EV**

Aplicação do *Teste de Kruskal-Wallis*, com o intuito de verificarmos possíveis diferenças entre os grupos considerados, para as variáveis de interesse:

Momento	Grupo	N	Média	Desvio-padrão	Mínimo	Máximo	Percentil 25	Mediana	Percentil 75	Sig. (p)
min_basal	A	5	980	0	980	980	980	980	980	> 0,999
	C	5	980	0	980	980	980	980	980	
	D	5	980	0	980	980	980	980	980	
	Total	15	980	0	980	980	980	980	980	
min_05	A	5	55	8,94	39	59	49	59	59	0,004
	C	5	521,4	148,92	255	588	421,5	588	588	
	D	5	803,6	394,44	98	980	539	980	980	
	Total	15	460	391,03	39	980	59	588	980	
min_10	A	5	58,8	13,79	39	78	49	59	68,5	0,005
	C	5	823,2	214,71	588	980	588	980	980	
	D	5	813,4	372,53	147	980	563,5	980	980	
	Total	15	565,13	436,16	39	980	59	588	980	
min_15	A	5	66,4	17,39	39	78	49	78	78	0,005
	C	5	901,6	175,31	588	980	784	980	980	
	D	5	735	369,94	147	980	367,5	980	980	
	Total	15	567,67	433,05	39	980	78	588	980	
min_20	A	5	74,2	8,5	59	78	68,5	78	78	0,003
	C	5	980	0	980	980	980	980	980	
	D	5	656,6	345,79	147	980	367,5	588	980	
	Total	15	570,27	429,76	59	980	78	588	980	
min_25	A	5	82	8,94	78	98	78	78	88	0,003
	C	5	980	0	980	980	980	980	980	
	D	5	656,6	345,79	147	980	367,5	588	980	
	Total	15	572,87	426,55	78	980	78	588	980	
min_30	A	5	78,2	13,79	59	98	68,5	78	88	0,004
	C	5	901,6	175,31	588	980	784	980	980	
	D	5	590	391,37	147	980	201	588	980	
	Total	15	523,27	419,59	59	980	78	588	980	
min_35	A	5	70,4	10,41	59	78	59	78	78	0,003
	C	5	980	0	980	980	980	980	980	
	D	5	611,6	362,74	255	980	255	588	980	
	Total	15	554	432,61	59	980	78	588	980	
min_40	A	5	82,2	16,38	59	98	68,5	78	98	0,003
	C	5	901,6	175,31	588	980	784	980	980	
	D	5	511,6	327,81	147	980	201	588	784	
	Total	15	498,47	399,44	59	980	98	588	980	
min_45	A	5	78	0	78	78	78	78	78	0,002

	C	5	980	0	980	980	980	980	980
	D	5	511,6	327,81	147	980	201	588	784
	Total	15	523,2	419,6	78	980	78	588	980
	A	5	86	10,95	78	98	78	78	98
	C	5	980	0	980	980	980	980	980
	D	5	445	341,93	147	980	201	255	784
min_50	Total	15	503,67	421,91	78	980	98	255	980
	A	5	82	8,94	78	98	78	78	88
	C	5	901,6	175,31	588	980	784	980	980
	D	5	378,4	339,54	147	980	201	255	617,5
min_55	Total	15	454	405,91	78	980	78	255	980
	A	5	90	10,95	78	98	78	98	98
	C	5	823,2	214,71	588	980	588	980	980
	D	5	378,4	339,54	147	980	201	255	617,5
min_60	Total	15	430,53	378,94	78	980	98	255	980

Para as diferenças estatisticamente significantes que foram encontradas, vamos aplicar o *Teste de Mann-Whitney*, para identificarmos quais grupos diferenciam-se entre si, quando comparados par a par:

Variável	Par de Grupos		
	A x C	A x D	C x D
min_basal	> 0,999	> 0,999	> 0,999
min_05	0,005	0,005	0,095
min_10	0,007	0,006	0,699
min_15	0,006	0,007	0,439
min_20	0,004	0,007	0,053
min_25	0,004	0,007	0,053
min_30	0,006	0,008	0,156
min_35	0,005	0,008	0,053
min_40	0,007	0,008	0,055
min_45	0,003	0,005	0,018
min_50	0,005	0,008	0,018
min_55	0,005	0,006	0,032
min_60	0,007	0,007	0,049

**Descrição e comparação entre os Grupos A (controle), C (tramadol ipl) e E (tramadol ipl + naloxone ipl) controle, tramadol ipl, tramadol ipl+naloxone ipl**

Momento	Grupo	N	Média	Desvio-padrão	Mínimo	Máximo	Percentil 25	Mediana	Percentil 75	Sig. (p)
min_basal	A	5	980	0	980	980	980	980	980	> 0,999
	C	5	980	0	980	980	980	980	980	
	E	5	980	0	980	980	980	980	980	
	Total	15	980	0	980	980	980	980	980	
min_05	A	5	55	8,94	39	59	49	59	59	0,001
	C	5	521,4	148,92	255	588	421,5	588	588	
	E	5	980	0	980	980	980	980	980	
	Total	15	518,8	398,94	39	980	59	588	980	
min_10	A	5	58,8	13,79	39	78	49	59	68,5	0,005
	C	5	823,2	214,71	588	980	588	980	980	
	E	5	901,6	175,31	588	980	784	980	980	
	Total	15	594,53	420,55	39	980	59	588	980	
min_15	A	5	66,4	17,39	39	78	49	78	78	0,005
	C	5	901,6	175,31	588	980	784	980	980	
	E	5	689,92	397,21	254,8	980	254,8	980	980	
	Total	15	552,64	434,29	39	980	78	588	980	
min_20	A	5	74,2	8,5	59	78	68,5	78	78	0,002
	C	5	980	0	980	980	980	980	980	
	E	5	834,96	324,32	254,8	980	617,4	980	980	
	Total	15	629,72	446,26	59	980	78	980	980	
min_25	A	5	82	8,94	78	98	78	78	88	0,003
	C	5	980	0	980	980	980	980	980	
	E	5	756,56	327,85	254,8	980	421,4	980	980	
	Total	15	606,19	432,26	78	980	78	980	980	
min_30	A	5	78,2	13,79	59	98	68,5	78	88	0,005
	C	5	901,6	175,31	588	980	784	980	980	
	E	5	735	369,94	147	980	367,5	980	980	
	Total	15	571,6	428,15	59	980	78	588	980	
min_35	A	5	70,4	10,41	59	78	59	78	78	0,002
	C	5	980	0	980	980	980	980	980	
	E	5	813,4	372,53	147	980	563,5	980	980	
	Total	15	621,27	455,2	59	980	78	980	980	
min_40	A	5	82,2	16,38	59	98	68,5	78	98	0,004
	C	5	901,6	175,31	588	980	784	980	980	
	E	5	813,4	372,53	147	980	563,5	980	980	
	Total	15	599,07	439,33	59	980	98	980	980	
min_45	A	5	78	0	78	78	78	78	78	0,002
	C	5	980	0	980	980	980	980	980	
	E	5	725,2	389,54	98	980	343	980	980	
	Total	15	594,4	444,76	78	980	78	980	980	

min_50	A	5	86	10,95	78	98	78	78	98	
	C	5	980	0	980	980	980	980	980	
	E	5	735	369,94	147	980	367,5	980	980	0,003
	Total	15	600,33	437,69	78	980	98	980	980	
min_55	A	5	82	8,94	78	98	78	78	88	
	C	5	901,6	175,31	588	980	784	980	980	
	E	5	756,56	327,85	254,8	980	421,4	980	980	0,004
	Total	15	580,05	419,71	78	980	78	588	980	
min_60	A	5	90	10,95	78	98	78	98	98	
	C	5	823,2	214,71	588	980	588	980	980	
	E	5	756,56	327,85	254,8	980	421,4	980	980	0,006
	Total	15	556,59	401,67	78	980	98	588	980	

Para as diferenças estatisticamente significantes que foram encontradas, vamos aplicar o *Teste de Mann-Whitney*, para identificar quais grupos diferenciam-se entre si, quando comparados par a par:

GRUPO A=controle,  
 GRUPO C= tramadol ipl,  
 GRUPO E= tramadol ipl+naloxone ipl

Variável	Par de Grupos		
	A x C	A x E	C x E
min_basal	> 0,999	> 0,999	> 0,999
min_05	0,005	0,004	0,004
min_10	0,007	0,006	0,513
min_15	0,006	0,007	0,366
min_20	0,004	0,005	0,317
min_25	0,004	0,006	0,136
min_30	0,006	0,007	0,439
min_35	0,005	0,006	0,317
min_40	0,007	0,007	0,881
min_45	0,003	0,005	0,136
min_50	0,005	0,007	0,136
min_55	0,005	0,006	0,439
min_60	0,007	0,007	0,811

## Anexo 13



**Ao**

**Departamento de Cirurgia**

A Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa - CAPPesq da Diretoria Clínica do Hospital das Clínicas e da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, em sessão de 24.08.06, tomou conhecimento que o Protocolo de Pesquisa nº **051/02**, intitulado: "**Efeitos analgésicos periféricos do tramadol em ratos**", será **tese de doutorado** da **Ângela Maria de Souza**, tendo como orientador Prof.Dr. Hazem Adel Ashmawi

CAPPesq, 24 de agosto de 2006.

  
**PROF. DR. EUCLIDES AYRES DE CASTILHO**  
Presidente da Comissão de Ética para Análise  
de Projetos de Pesquisa

## **8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

---

## 8. Referências Bibliográficas

Abbott FV, Franklin KBJ, Westbrook RF. The formalin test: scoring properties of first and second phases of pain response in rats. *Pain*. 1995; 60:91-102.

Abram, SE, Yaksh TL. Morphine, but not inhalation anesthesia, blocks post-injury facilitation. *Anesthesiology*. 1993;78:713-21.

Acalovschi I, Cristea T, Margarit S, Gavrus R. Tramadol added to lidocaine for intravenous regional anesthesia. *Anesth Analg*. 2001;92:209-14.

Altunkaya H, Ozer Y, Kargi E, Ozkocak I, Hosnuter M, Demirel CB, Babuccu O. The postoperative analgesic effect of tramadol when used as subcutaneous local anesthetic. *Anesth Analg*. 2004;99:1461-4.

Apfelbaum JL, Chen C, Mehta SS, Gan TJ. Postoperative pain experience: results from a national survey suggest postoperative pain continues to be undermanaged. *Anesth Analg*. 2003;97:534-40.

Ashmawi HA, Chambergo FS, Palmeira CAP, Posso, IP. Effects of pyrilamine and cimetidine on mRNA cfos expression and nociceptive behaviour in rats. *Anesth Analg.* 2003;97:541-6.

Bamigbade TA, Davidson C, Langford RM, Stamford JA. Actions of tramadol, its enantiomers and principal metabolite, O-Desmethyltramadol, on serotonin (5-HT) efflux and uptake in the rat dorsal raphe nucleus. *Br J Anaesth.* 1997;79:352-56.

Bamigbade T, Langford R. The clinical use of tramadol hydrochloride. *Pain Reviews.* 1998;5:155-82.

Berrocso E, Roja-Corrales, MO, Mico, JA. Differential role of 5-HT<sub>1A</sub> and 5-HT<sub>1B</sub> receptors on the antinociceptive and antidepressant effect of tramadol in mice. *Psychopharmacology.* 2006;188:111-8.

Brennan TJ, Umali EF, Zahn PK. Comparison of pre versus post-incision administration of intrathecal bupivacaine and intrathecal morphine in a rat model of postoperative pain. *Anesthesiology.* 1997; 87:1517-28.



Brennan TJ, Vandermeulen EP, Gebhart GF. Characterization of a rat model of incisional pain. *Pain*. 1996; 64: 493-501.

Brennan TJ, Zahn PK, Pogatzki-Zahn EM. Mechanisms of incisional pain, *Anesthesiology Clinics of North America*. 2005; 23:1–20.

Buttner J, Ott B, Klose R. Effects of adding clonidine to mepivacaine: axillary brachial plexus blockade. *Anaesthesist*. 1992;41:548-554.

Buvanendran A, Kroin JS, Kerns JM, Nagalla SN, Tuman KJ. Characterization of a new animal model for evaluation of persistent postthoracotomy pain. *Anesth Analg*. 2004;99:1453-60.

Coderre TJ, Fundytus ME, McKenna JE, Dalal S, Melzack R. The formalin test: a validation of the weighted-scores method of behavioral pain rating. *Pain*. 1993; 54:43-50.

Coderre TJ, Vacarino AL, Melzack R. Central nervous system plasticity in the tonic pain response to subcutaneous formalin injection. *Brain Res.* 1990; 535:1558.

Dayer P, Desmeules J, Collart L. Pharmacologie du tramadol. *Drugs.* 1997;53:supl 2:18-26.

Demiraran Y, Ilce Z, Kokaman B, Bozkurt P. Does tramadol wound infiltration offer an advantage over bupivacaine for postoperative analgesia in children following herniotomy? *Pediatr Anaesth.* 2006;16:1047-50.

Dickenson AH, Sullivan AF. Peripheral origins and central modulation of subcutaneous formalin-induced activity of rat dorsal horn neurons. *Neurosci Lett.* 1987;83: 207-11.

Doak GJ, Sawinok J. Formalin induced nociceptive behavior and edema: involvement of multiple peripheral 5Hydroxytryptamine receptor subtypes. *Neuroscience.* 1997;80: 939-49.

Driessen B, Reinmann W, Giertz H. Effects of the central analgesic tramadol on the uptake and release of noradrenalin and dopamine in vitro. *Br J Pharmacol.* 1993;108:806-11.

Dubuisson D, Dennis SG. The formalin test: A quantitative study of analgesic effects of morphine, meperidine, and brain stem stimulation in rats and cats. *Pain.* 1977;4:61-74.

Flatters SJL. Characterization of model of persistent of persistent postoperative pain evoked by skin/muscle incision and retraction (SMIR). *Pain.* 2008; 135:119-30.

Garrido MJ, Sayar O, Segura C, Rapado J, Dios-Vieitez MC, Renedo MJ, Troconiz IF. Pharmacokinetic/Pharmacodynamic modeling of the antinociceptive effects of (+)-tramadol in the rat: role of the cytochrome P4502D activity. *J Pharmacol Exp Ther.* 2003;305;710-8.

Garrido MJ, Valle M, Campanero MA, Calvo R, Troconiz IF. Modeling of the in vivo interaction between an opioid agonist, (+)-o-desmethyltramadol, and a monoamine reuptake inhibitor, (-)-o-desmethyltramadol, in rats. *J Pharmacol Exp Ther.* 2000;295: 352-59.

Gentili ME, Chauvin M. Tramadol et prise en charge de la douleur. *Conférences d'actualisation*. Paris: Elsevier, 2004.

Goffaux P, Redmond WJ, Rainville P, Marchand S. Descending analgesia – when the spine echoes what the brain expects. *Pain*. 2007;130:137-43;26.

Gottschalk A, Raja SN. Severing the link between acute and chronic pain: the anesthesiologist's role in preventive medicine. *Anesthesiology*. 2004;101:1063-5.

Granados-Soto V, Rufino MO, Lopes LDG, Ferreira SH. Evidence for the involvement of the nitric oxide - cGMP pathway in the antinociception of morphine in the formalin test. *Eur J Pharmacol*. 1997; 340:177-80.

Günes Y, Seçen M, Özcengiz D, Gündüz M, Balcioglu O, Izik G. Comparison of caudal ropivacaine, ropivacaine plus ketamine and ropivacaine plus tramadol administration for postoperative analgesia in children. *Paediatr Anaesth*. 2004; 14:557-63.

Haeseler G, Foadi N, Ahrens J, Dengler R, Hecker H, Leuwer M. Tramadol, fentanyl and sufentanil but not morphine block voltage-operated sodium channels. *Pain*. 2006;234-44.

Hama A, Sagen J. Altered antinociceptive efficacy of tramadol over time in rats with painful peripheral neuropathy. *Eur J Pharmacol*. 2007; 559:32-7.

Hamalainen MM, Gebhart GF, Brennan TJ. Acute effect of an incision on mechanosensitive afferents in the plantar rat hindpaw. *J Neurophysiol*. 2002;87: 712-20.

Hassan AHS, Ableitner A, Stein C, Herz A. Inflammation of the rat paw enhances axonal transport of opioid receptors in the sciatic nerve and increases their density in the inflamed tissue. *Neuroscience*. 1993; 55:185-95.

Heapy CG, Jamieson A, Russell NJW. Afferent C-fibre and A-delta activity in models of inflammation. *Br J Pharmacol*. 1987;90: 164P.

Jou IM, Chu KS, Chen HH, Chang PJ, Tsai YC. The effects of intrathecal tramadol on spinal somatosensory-evoked potentials and motor-evoked response in rats. *Anesth Analg*. 2003; 96:783-8.

Kaabachi O, Ouezini R, Koubaa W, Ghrab W, Zargouni A, Abdelaziz AB. Tramadol as an adjuvant to lidocaine for axillary brachial plexus block. *Anesth Analg.* 2009;108 :367-70.

Katsuki R, Fujita T, Koga A, Liu T, Nakatsuka T, Nakashima M, Kumamoto E. Tramadol, but not its major metabolite (mono-O-desmethyl tramadol) depresses compound action potentials in frog sciatic nerves. *Br J Pharmacol.* 2006;149:319-27.

Kayser V, Besson JM, Reinmann W. Effects of the analgesic agent tramadol in normal and arthritic rats: comparison with the effects of different opioids, including tolerance and cross-tolerance to morphine. *Eur J Pharmacol.* 1991;195:35-47.

Kehlet H, Holte K. Effect of postoperative analgesia on surgical outcome. *Br J Anaesth.* 2001;87: 62-72.

Kehlet H, Jensen TS, Woolf CJ. Persistent postsurgical pain: risk factors and prevention. *Lancet*. 2006;367: 1618-25.

Kehlet H, Wilmore DW. Multimodal strategies to improve surgical outcome. *Am J Surg*. 2002;183: 630-41.

Kesimci E, Gozdemir M, Kanbak O. Tramadol does not prolong the effect of ropivacaine 7,5 mg/ml for axillary brachial plexus block. *Acta Anaesth Scand*. 2007;51:736-41.

Khajavi MR, Aghilli SB, Moharari RS, Najafi A, Mohtaram R, Khashayar P, Mojtahedzade M. Subcutaneous tramadol infiltration at the wound site versus intravenous administration after pyelolithotomy. *Ann Pharmacother*. 2009; 43:430-5.

Kim TJ, Freml L, Paark SS, Brennan TJ. Lactate concentrations in incisions indicate ischemic-like conditions may contribute to postoperative pain. *J Pain*. 2007; 8:59-66.

Kirchheiner J, Keulen JT, Bauer S, Roots I, Brockmöller J. Effects of CYP2D gene duplication on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of tramadol. *J Clin Psychopharmacol*. 2008;28:78-83.

Kumar M, Batra YK, Panda NB, Rajeev S. Tramadol added to bupivacaine does not prolong analgesia of continuous psoas compartment block. *Pain Practice*. 2009; 9:43-50.

Lascelles BD, Waterman AE, Cripps PJ, Livingston A, Henderson G. Central sensitization as a result of surgical pain: investigation of the pre-emptive value of pethidine for ovariohysterectomy in the rat. *Pain*. 1995; 62:201–12.

Lavand'homme P. Perioperative pain. *Curr Opin Anaesthesiology*. 2006; 19:556–561.

Martin TJ, Buechler NL, Kahn W, Crews JC, Eisenach JC. Effects of laparotomy on spontaneous exploratory activity and conditioned of operant responding in the rat — A model for postoperative pain. *Anesthesiology*. 2004; 101:191–203.



Mert T, Gunes Y, Gunay I. Local analgesic efficacy of tramadol following intraplantar injection. *Eur J Pharmacol.* 2007;558:68-72.

Mert T, Gunes Y, Ozcengiz D, Gunay I, Polat S. Comparative effects of lidocaine and tramadol on injured peripheral nerves. *Eur J Pharmacol.* 2006; 543: 54-62.

Mishra S, Bhatnagar S, Gupta D, Nirwani Goyal G, Jain R, Chauhan H. Management of neuropathic pain following WHO analgesic ladder: a prospective study. *Am J Hosp Palliat Care.* 2008; 25:447-51.

Mizuta K, Fujita T, Nakatsuka T, Kumamoto E. Inhibitory effects of opioids on compound action potentials in frog sciatic nerves and their chemical structures. *Life Sci.* 2008; 83:198-207.

Munro G. Pharmacological assessment of the rat formalin test utilizing the clinically used analgesic drugs gabapentin, lamotrigin, morphine, duloxetine, tramadol and ibuprofen: influence of low and high formalin concentrations. *Eur J Pharmacol.* 2009; 605:95-102.

Pang WW, Mok MS, Chang DP, Huang MH. Local anesthetic effect of tramadol, metoclopramide, and lidocaine following intradermal injection. *Reg Anesth Pain Med.* 1998; 23:580-583.

Parada CA, Tambeli, CH, Cunha FQ, Ferreira SH. The major role of peripheral release of histamine and 5hydroxytryptamine in formalin induced nociception. *Neuroscience.* 2001; 102: 937-944.

Pavlin DJ, Chen C, Penaloza DA, Polissar NL, Buckley FP. Pain as a factor complicating recovery and discharge after ambulatory surgery. *Anesth Analg.* 2002; 95: 627-34.

Perkins FM, Kehlet H. Chronic pain as an outcome of surgery. A review of predictive factors. *Anesthesiology.* 2000; 93: 1123-33.

Pogatzki EM, Gebhart GF, Brennan TJ. Characterization of Adelta- and C-fibers innervating the plantar rat hindpaw one day after an incision. *J Neurophysiol.* 2002; 87: 721-31.

Pogatzki-Zahn E M, Zahn PK, Brennan TJ. Postoperative pain-clinical implications of basic research. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol.* 2007; 1:3-13.

Poulsen L, Arendt-Nielsen L, Brosen K. The hypoalgesic effect of Tramadol in relation to CYP2D6. *Clin Pharmacol Ther.* 1996; 60 :636-44.

Prosser DP, Booker PD, Murray A. Caudal tramadol for posoperative analgesia in paediatric hypospadias surgery. *Br J Anaesth.* 1997; 293-6.

Raffa RB, Friderichs E, Reinmann W. Opioid and non-opioid components independently contribute to the mechanism of action of tramadol, an atypical opioid analgesic. *J Pharmacol Exp Ther.* 1992; 260:275-85.

Rawal N, Allvin R, Amilon A, Ohlsson T, Hallén J. Postoperative analgesia at home after ambulatory hand surgery: a controlled comparison of Tramadol, Metamizol, and Paracetamol. *Anesth Analg.* 2001; 92: 347–51.

Shibata M, Ohkubo T, Takahashi H, Inoki R. Modified formalin test: characteristic bifasic pain response. *Pain.* 1989; 38: 347-52.

Sindrup SH, Andersen G, Madsen C, Smith T, Brøsen K, Jensen TS. Tramadol relieves pain and allodynia in polyneuropathy: a randomized, double-blind, controlled trial. *Pain*. 1999; 83:85-90.

Sousa AM, Franco PAB, Ashmawi HA, Posso IP. Efeito analgésico local do tramadol em modelo de dor provocada por formalina em ratos. *Rev Bras Anesthesiol*. 2008; 58:371-9.

Stamer UM, Stuber F, Muders T, Musshoff F. Respiratory depression with tramadol in a patient with renal impairment and CYP2D6 gene duplication. *Anesth Analg*. 2008; 107:926-9.

Taylor BK, Peterson MA, Basbaum AI. Persistent cardiovascular and behavioural nociceptive responses to subcutaneous formalin require peripheral nerve input. *J Neurosci*. 1995; 15: 7575-84.

Thalhammer JG, Vladiimirova M, Bershinsky B, Strichartz GR. Neurologic evaluation of the rat during sciatic nerve block with lidocaine. *Anesthesiology*. 1995;82:1013-25.

Teng CJ, Abbott FV. The formalin test: a dose response analysis at three developmental stages. *Pain*. 1998; 76: 337-47.

Tjølsen A, Berge OG, Hunskaar S, Rosland JH, Kole K. The formalin test: an evaluation of the method. *Pain*. 1992; 51:5-18.

Tsai YC, Chang PJ, Jou IM. Direct Tramadol application on sciatic nerve inhibits spinal somatosensory evoked potentials in rats. *Anesth Analg*. 2001; 92:1547-51.

Vandermeulen EP, Brennan TJ. Alterations in ascending dorsal horn neurons by a surgical incision in the rat foot. *Anesthesiology*. 2000; 93:1294-302.

Xu J, Richebe P, Brennan TJ. Separate groups of dorsal horn neurons transmit spontaneous activity and mechanosensitivity one day after plantar incision. *Eur J Pain*. 2009; 13:820-8.

Wheeler-Aceto H, Cowan A. Standardization of the rat paw formalin test for the evaluation of analgesics. *Psychopharmacology*. 1991; 104: 35-44.

Woo YC, Park SS, Subieta AR, Brennan TJ. Changes in tissue pH and temperature after incision indicate acidosis may contribute to postoperative pain. *Anesthesiology*. 2004; 101:468-75.

Zahn PK, Brennan TJ. Primary and secondary hyperalgesia in a rat model for human postoperative pain. *Anesthesiology*. 1999; 90: 863-72.

Zahn PK, Gysbers D, Brennan TJ. Effect of systemic and intratecal morphine in a rat model of postoperative pain. *Anesthesiology*. 1997; 86:1066-77.

Zeidan A, Kassem R, Nahleh N, Maaliki H, El-khatib M, Struys MMRF, Baraka A. Intraarticular tramadol-bupivacaine combination prolongs the duration of postoperative analgesia after outpatient arthroscopic knee surgery. *Anesth Analg*. 2008;107:292-9.

Zimmermann M. Ethical guidelines for investigation for experimental pain in conscious animals. *Pain*. 1983;16:109-10.

## **APÊNDICE**

---

# Apêndice

Rev Bras Anestesiol  
2008; 58: 4: 371-379

ARTIGO CIENTÍFICO  
SCIENTIFIC ARTICLE

## Efeito Analgésico Local do Tramadol em Modelo de Dor Provocada por Formalina em Ratos\* *Local Effect of Tramadol on Formalin Evoked Flinching Behavior in Rats.*

Angela Maria Sousa, TSA<sup>1</sup>, Paula Andrea Baptista Franco<sup>2</sup>, Hazem Adel Ashmawi, TSA<sup>3</sup>, Irimar de Paula Posso, TSA<sup>4</sup>

### RESUMO

Sousa AM, Franco PAB, Ashmawi HA, Posso IP — Efeito Analgésico Local do Tramadol em Modelo de Dor Provocada por Formalina em Ratos.

**JUSTIFICATIVA E OBJETIVOS:** O cloridrato de tramadol é um fármaco analgésico de ação central, utilizado no tratamento de dores moderadas e intensas. Foi demonstrado efeito analgésico local do tramadol, mas seu mecanismo de ação não foi estabelecido.

**MÉTODO:** Estudou-se o efeito da administração local, sistêmica e por bloqueio de nervo periférico do tramadol sobre o comportamento de elevação da pata gerado pela injeção de 50 µL de formalina a 1% na região dorsal da pata de ratos. O número de elevações da pata foi observado pelo período de 60 minutos.

**RESULTADOS:** A administração local de tramadol em concentrações maiores (2,5 e 5 mg) levou ao bloqueio praticamente completo do comportamento de elevação da pata durante todo o teste. A administração sistêmica e por bloqueio de nervo periférico não afetou o comportamento de elevação da pata na fase I e diminuiu parcialmente na fase II.

**CONCLUSÕES:** O tramadol apresentou efeito analgésico local no modelo de comportamento de elevações da pata com formalina,

que é diferente de sua ação central. Esse efeito, nesse modelo, não parece ser ligado a efeito anestésico local.

**Unitermos:** ANALGÉSICOS: tramadol; ANIMAIS: ratos; DOR, Experimental: formalina; FARMACOLOGIA, Farmacodinâmica: mecanismos de ação.

### SUMMARY

Sousa AM, Franco PAB, Ashmawi HA, Posso IP — Local Effect of Tramadol on Formalin Evoked Flinching Behavior in Rats.

**BACKGROUND AND OBJECTIVES:** Tramadol hydrochloride is known as a centrally acting analgesic drug, used for the treatment of moderate to severe pain. A local analgesic effect has been demonstrated, but its mechanism of action remains unclear.

**METHODS:** In this study, we examined the effect of local, systemic and nerve block tramadol on the nociceptive flinching behavior elicited by injection of 50 µL of 1% formalin into the dorsal region of hind paw of rats. Nociceptive flinching behavior was observed for 60 minutes.

**RESULTS:** Local tramadol in higher concentrations (2.5 and 5mg) almost eliminated flinching behavior during the entire test. Systemic and neural block tramadol did not affect flinching behavior in phase I and partially decreased it in phase II.

**CONCLUSIONS:** Tramadol presented a local analgesic effect in formalin nociceptive flinching behavior that is different from its central analgesic effect. This analgesic effect, in this model, seems not to be linked to a local anesthetic like effect.

**Key Words:** ANALGESICS: tramadol; ANIMALS: rats; PAIN: Experimental: formalin; PHARMACOLOGY, Pharmacodynamic: action mechanisms.

\*Recebido do (Received from) Laboratório de Investigação Médica — LIM-08 da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP), São Paulo, SP

1. Mestre em Farmacologia pela Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da USP; Médica Assistente da Equipe de Controle de Dor da Divisão de Anestesia do Instituto Central do Hospital das Clínicas da FMUSP e do Laboratório de Investigação Médica — LIM 08, FMUSP
2. Anestesiologista; Médica Assistente do Serviço de Anestesia do Instituto do Coração do Hospital das Clínicas da FMUSP
3. Doutor em Medicina; Professor Adjunto do Departamento de Medicina do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Federal de São Carlos; Professor Colaborador do Departamento de Cirurgia FMUSP e Laboratório de Investigação Médica — LIM-08 da FMUSP
4. Livre-Docente pela FMUSP; Professor-Associado do Departamento de Cirurgia da FMUSP; Supervisor da Equipe de Controle de Dor da Divisão de Anestesia do Instituto Central do Hospital das Clínicas da FMUSP

Apresentado (Submitted) em 13 de novembro de 2007  
Aceito (Accepted) para publicação em 14 de abril de 2008

Endereço para correspondência (Correspondence to):  
Dr. Hazem Adel Ashmawi  
LIM-08, Anestesiologia Experimental  
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo  
Av. Dr. Arnaldo, 455, 2º andar  
01246-903 São Paulo, SP  
E-mail: hazem@hcnnet.usp.br, hazem@ufscar.br

© Sociedade Brasileira de Anestesiologia, 2008

Revista Brasileira de Anestesiologia  
Vol. 58, Nº 4, Julho-Agosto, 2008

371



# Livros Grátis

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

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

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

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

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