

## **AValiação DO TRATAMENTO COM TRAMADOL ADMINISTRADO POR VIA INTRATECAL EM MODELO DE ARTRITE EM RATOS.**

Elba Marina Miotto Mujica<sup>1\*</sup>, Flora Lucena<sup>2</sup>, Maíra Norões<sup>2</sup>, Taciane Stein da Silva<sup>3</sup>, Carlos Rogério Tonussi<sup>4</sup>

1. Estudante de IC do Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica da UFSC

2. Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Farmacologia da UFSC

3. Pós-doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Biociências e Saúde da UNIOESTE

4. Professor do Departamento de Farmacologia da UFSC.

### **Resumo:**

As doenças inflamatórias crônicas, como a artrite, afetam grande parte da população mundial e a muito tempo vem sendo alvo de estudos que buscam ferramentas para o controle da dor e da inflamação, através de terapêuticas que evitam a progressão da doença e melhoram a qualidade de vida dos pacientes. O tramadol, um fármaco analgésico opioide, já é utilizado na clínica para o tratamento da dor em diferentes artropatias, administrado por via sistêmica. Seus efeitos adversos, quando comparado ao seu análogo, a morfina, são muito mais brandos e sobretudo, ele apresenta como diferencial um mecanismo não-opioide, envolvendo o sistema monoaminérgico. Neste trabalho buscamos obter efeito anti-inflamatório, além do analgésico, através da aplicação direta deste fármaco na medula espinhal. A administração intratecal de fármacos aumenta a sua eficácia de ação, permitindo diminuir substancialmente a dose administrada, além de minimizar os efeitos adversos sistêmicos.

**Autorização legal:** Todos os procedimentos realizados neste estudo, assim como a utilização dos animais, foram aprovados pelo Comitê de Ética para o Uso de Animais da UFSC (CEUA – UFSC) sob o protocolo de nº 3007200716.

**Palavras-chave:** Medula espinhal; Dor; Inflamação.

**Apoio financeiro:** Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica da UFSC (PIBIC/UFSC), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

**Trabalho selecionado para a JNIC pela instituição:** UFSC

### **Introdução:**

As doenças articulares, como a artrite reumatoide e a osteoartrite, são doenças inflamatórias crônicas que acometem uma ou mais articulações, causando dor, inchaço, rigidez e em muitos casos deformidade e perda da função articular. Dentre elas, a artrite reativa, que pertence ao grupo das espondiloartropatias, é caracterizada por um processo inflamatório que está geralmente associado a um trauma prévio, como uma infecção bacteriana.

Atualmente, o tratamento para a artrite é limitado, e está principalmente associado a efeitos colaterais severos e/ou ao alto custo, o que dificulta a adesão dos pacientes ao tratamento. Por isso, cada vez mais torna-se evidente a necessidade de novos estudos que busquem alternativas para o tratamento da artrite, através de novos medicamentos ou novas estratégias terapêuticas. Alguns trabalhos em nosso laboratório vêm mostrando como o Sistema Nervoso Central (SNC) através da medula espinhal, é capaz de modificar processos nociceptivos e inflamatórios que ocorrem na periferia, como no caso das articulações. A administração intratecal em baixas doses de fármacos já utilizados na clínica para o tratamento de artropatias, como a Morfina, a Leflunomida e o Metotrexato, mostrou-se eficaz em atenuar a inflamação periférica.

O objetivo desse trabalho foi avaliar o efeito do Tramadol, um fármaco analgésico opioide já existente no mercado, administrado pela via intratecal, em atenuar não somente a dor, mas também o edema encontrado no processo inflamatório da artrite.

### **Metodologia:**

Após a aprovação pela Comitê de Ética para o Uso de Animais da UFSC (CEUA – UFSC), os experimentos foram realizados utilizando-se ratos *wistar* machos com peso entre 280 – 330g. Os animais foram mantidos em biotério, sob temperatura controlada ( $20 \pm 2^\circ\text{C}$ ), ciclo claro-escuro de 12h/12h com livre acesso a água e ração. Todos os procedimentos foram realizados no Laboratório de Neurobiologia da Nocicepção (Departamento de Farmacologia/UFSC).

Primeiramente, os animais foram induzidos ao processo artrítico, através de uma injeção intra-articular de carragenina (300µg/20µL) no joelho direito, seguida por uma injeção de LPS (30ng/50µL) na mesma articulação, três dias após. O tratamento intratecal com o tramadol (10µg/20µL) foi realizado 20 minutos antes

da injeção de LPS. A injeção intratecal foi realizada no espaço intervertebral entre as vertebrae L5 e L6, atingindo diretamente o espaço subaracnóideo da medula espinhal, com os animais previamente anestesiados com isoflurano (2%). As avaliações do efeito antinociceptivo e antiedematogênico do tramadol foram realizadas através do Tempo de Elevação da Pata (TEP) e da mensuração do edema articular, seguidos da avaliação da migração de células leucocitárias para a cavidade articular inflamada. As medidas iniciaram-se 3 horas após a injeção intra-articular de LPS, onde os animais foram submetidos ao teste de incapacitação articular, que consiste de um aparato eletrônico com um sistema de registro da nocicepção articular através da medida do tempo, em segundos, em que os animais mantêm o membro elevado, indicando o estado funcional das articulações. Para avaliar o edema articular foram realizadas as mensurações do diâmetro articular fêmoro-tibial, com auxílio de um paquímetro não digital, juntamente com as medidas do TEP, na 3ª, 4ª e 5ª hora após o LPS. Ao final das avaliações os animais foram eutanasiados e o líquido sinovial da cavidade articular foi coletado. Realizou-se a contagem total de leucócitos em Câmara de Neubauer, e a contagem diferencial com coloração de May-Grünwald e Giemsa, diferenciando-se os leucócitos em polimorfonucleares (PMN) e mononucleares (MON). A articulação fêmoro-tibial foi coletada para análise histológica observando-se a morfologia geral do tecido através de cortes histológicos confeccionados em micrótomo e corados com Hematoxilina e Eosina (HE). A análise estatística utilizada para a avaliação do TEP e do diâmetro articular foi o teste de ANOVA de uma via seguida de post-hoc de Newman-Keuls, e para a avaliação da migração de leucócitos foi utilizado o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis seguido de post-hoc de Dunn. O nível de significância para ambos os testes foi considerado quando  $p < 0,05$ .

### Resultados e Discussão:

Os resultados mostraram que o tramadol (10µg) quando administrado pela via intratecal é capaz de atenuar a nocicepção e o edema articular provocados pelo processo inflamatório induzido na articulação através da injeção intra-articular de Carragenina e LPS. Observou-se nos animais do grupo que recebeu o tratamento a diminuição do TEP e do diâmetro articular, quando comparado ao grupo controle. Na avaliação da migração de células leucocitárias para a cavidade articular inflamada, o tratamento com o tramadol parece não interferir na migração de leucócitos para o local, pois na contagem total não houve diferença estatística entre o grupo tratado e não-tratado. Porém, sugere-se que o tramadol diminui a migração celular de leucócitos MON para a cavidade articular submetida ao processo inflamatório, pois na avaliação desse tipo celular pode-se observar uma diminuição de células MON no líquido sinovial dos animais que receberam o tratamento. Na análise histológica qualitativa da articulação fêmoro-tibial foram observadas alterações morfológicas na membrana sinovial, com intenso processo inflamatório e com a presença de infiltrado na cavidade articular, com células MON e PMN. O tratamento com o tramadol não promoveu melhora morfológica na membrana sinovial, pois o grupo tratado se apresentou com as mesmas características inflamatórias do grupo que não recebeu o tratamento. Neste estudo somente foi avaliado os efeitos do tratamento com apenas uma única administração do fármaco, mostrando-se necessário a avaliação do tratamento crônico com o tramadol.

### Conclusões:

Este trabalho, juntamente com outros estudos que vêm sendo desenvolvidos em nosso grupo de pesquisa vem auxiliando na compreensão dos mecanismos que envolvem o controle da dor e da inflamação em processos inflamatórios na artrite. Bem como propondo uma nova estratégia terapêutica para essas doenças degenerativas crônicas, através da modulação da medula espinhal.

### Referências bibliográficas

- BOLASH, Robert; MEKHAIL, Nagy. Intrathecal Pain Pumps. **Neurosurgery Clinics Of North America**, [s.l.], v. 25, n. 4, p.735-742, out. 2014.
- BRESSAN, Elisângela. **Comparação do efeito de fármacos antiartríticos e anticorpos anti-citocinas na artrite reativa ao LPS em ratos**. 2005. 97 f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, Departamento de Farmacologia, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2005.
- CALLADO, Débora Maria Marques. **Efeito antinociceptivo e antiedematogênico do tramadol nos modelos de osteoartrite e artrite reativa**. 2017. 78 f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, Departamento de Farmacologia, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2017.
- CEPEDA, M Soledad et al. Tramadol for osteoarthritis. **Cochrane Database Of Systematic Reviews**, [s.l.], 19 jul. 2006.
- DESMEULES, J. A. et al. Contribution of monoaminergic modulation to the analgesic effect of tramadol. **British Journal Of Clinical Pharmacology**, [s.l.], v. 41, n. 1, p.7-12, jan. 1996.
- DONCK, Ann Ver et al. Intrathecal Drug Administration in Chronic Pain Syndromes. **Pain Practice**, [s.l.], p.461-476, set. 2013.
- FATTORI, Victor; AMARAL, Flavio A.; VERRI, WaldiceuA.. Neutrophils and arthritis: Role in disease and pharmacological perspectives. **Pharmacological Research**, [s.l.], v. 112, p.84-98, out. 2016.

- FOLETTTO, Vanessa Rafaella. **A medula espinhal modula a simetria da artrite induzida por CFA em ratos**. 2015. 239 f. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, Departamento de Farmacologia, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2015.
- HAYEK, Salim M.; HANES, Michael C.. Intrathecal Therapy for Chronic Pain: Current Trends and Future Needs. **Current Pain And Headache Reports**, [s.l.], v. 18, n. 1, p.1-9, 13 dez. 2013.
- LANGLEY, Paul C. et al. Adverse event profile of tramadol in recent clinical studies of chronic osteoarthritis pain. **Current Medical Research And Opinion**, [s.l.], v. 26, n. 1, p.239-251, 24 nov. 2009.
- MACHELSKA, Halina. Targeting of opioid-producing leukocytes for pain control. **Neuropeptides**, [s.l.], v. 41, n. 6, p.355-363, dez. 2007.
- MESTRE, Christine et al. A method to perform direct transcutaneous intrathecal injection in rats. **Journal Of Pharmacological And Toxicological Methods**, [s.l.], v. 32, n. 4, p.197-200, dez. 1994.
- NINKOVIĆ, Jana; ROY, Sabita. Role of the mu-opioid receptor in opioid modulation of immune function. **Amino Acids**, [s.l.], v. 45, n. 1, p.9-24, 15 dez. 2011.
- RAFFA, R. B. et al. Opioid and nonopioid components independently contribute to the mechanism of action of tramadol, an 'atypical' opioid analgesic. **Journal Of Pharmacology And Experimental Therapeutics**, [s.l.], v. 260, n. 1, p.275-285, 1 jan. 1992.
- RAFFA, R.B.; FRIDERICHS, E.. The basic science aspect of tramadol hydrochloride. **Pain Reviews**, [s.l.], v. 4, n. 3, p.249-271, jan. 1996.
- ROTH, S. H. Efficacy and safety of tramadol HCl in breakthrough musculoskeletal pain attributed to osteoarthritis. **J Rheumatol**, [s.l.],v. 25, n. 7, p.1358-1363, jul. 1998.
- SCHUG, Stephan A. The role of tramadol in current treatment strategies for musculoskeletal pain. **Therapeutics And Clinical Risk Management**, [s.l.], v. 3, n. 5, p.717-723, out. 2007.
- TOIVANEN, A.; TOIVANEN, P. Reactive arthritis. **Best Practice & Research Clinical Rheumatology**, [s.l.], v. 18, n. 5, p.689-703, out. 2004.
- TONUSSI, C.R.; FERREIRA, S.H. Rat knee-joint carrageenin incapacitation test: an objective screen for central and peripheral analgesics. **Pain**, [s.l.], v.48, n. 3, p. 421-427, 1992.