

USO DO EXERCÍCIO RESISTIDO ANTAGONIZADO POR NALOXONE COMO FATOR DE ANALGESIA EM SINOVITE AGUDA DE JOELHO DE RATOS WISTAR

CIÊNCIAS DO EXERCÍCIO
E DO ESPORTE



Artigo Original

USE OF RESISTANCE EXERCISE AS A FACTOR ANTAGONIZED BY NALOXONE OF ANALGESIA IN ACUTE KNEE SYNOVITIS IN WISTAR RATS

Gladson Ricardo Flor Bertolini¹
Camila Thieme Rosa¹
Lígia Inez Silva¹
Anamaria Meireles¹
Bruno Pogorzelski Rocha¹

1. Laboratório de Estudo das Lesões e Recursos Fisioterapêuticos da Universidade Estadual do Oeste do Paraná (Unioeste) – *Campus Cascavel*.

Correspondência:

Colegiado de Fisioterapia da Unioeste
Rua Universitária, 2.069 –
Jardim Universitário
85819-110 – Cascavel, PR
Caixa Postal 711
E-mail: gladson_ricardo@yahoo.com.br

RESUMO

A analgesia advinda do exercício físico pode ocorrer via liberação de opioides endógenos, no sistema nervoso central e na periferia. Contudo, a literatura ainda é controversa sobre vias e ações do exercício na dor. Assim, o objetivo da pesquisa foi avaliar se o exercício resistido produz alterações sobre o quadro nociceptivo e se sofre interferências pela aplicação de um inibidor de opioides. Foram utilizados 18 ratos, divididos em três grupos: G1 – hiperalgesia no joelho direito e não tratados; G2 – hiperalgesia e tratados com saltos em meio aquático; G3 – hiperalgesia, com prévia injeção de naloxone e posterior saltos. Para produzir a hiperalgesia, foi injetado no espaço articular tibiofemoral 100µl de formalina 5%. Para avaliação da dor foi utilizado o filamento de Von Frey digital na face medial da articulação tibiofemoral direita. Os momentos de avaliação foram: pré-lesão (AV1), após 15 (AV2) e 30 (AV3) minutos e uma hora (AV4). O exercício foi saltos em meio aquático e ocorreu após AV2. Com sobrecarga de 50% do peso, o animal realizou quatro séries de cinco saltos, com intervalo de três minutos. Para G1, houve aumento nociceptivo, com redução significativa e volta dos valores iniciais em AV4; G2 mostrou, após o exercício físico, restauração do limiar, com retorno aos valores basais; para G3, houve diminuição do limiar, sem restauração ou aumento significativo do mesmo. Conclui-se que houve analgesia com uso do exercício físico e que a mesma foi alterada por bloqueador de betaendorfina.

Palavras-chave: medição da dor, betaendorfina, articulação do joelho.

ABSTRACT

Analgesia arising from exercising can occur via release of endogenous opioids in the central nervous system and periphery. However, the literature remains controversial about exercise ways and actions in pain. Thus, the aim of this study was to evaluate whether resistance exercise produces changes on the nociception and suffers interference by applying an opioid inhibitor. 18 rats divided into three groups were used: G1 – hyperalgesia on right knee and untreated; G2 – hyperalgesia and treated with jumps in water; G3 – hyperalgesia with previous injection of naloxone and subsequent jumps. To produce hyperalgesia, 100 µl of 5% formalin was injected in the tibiofemoral joint space. Pain was assessed using a digital von Frey filament on the right medial tibiofemoral joint. The evaluation periods were: pre-injury (EV1) after 15 minutes (EV2) and 30 minutes (EV3) and one hour (EV4). The applied exercise was jumping in water and it occurred after EV2. The animal performed 4 sets of 5 jumps, with an interval of 3 minutes and overload of 50% of body weight. In G1, nociceptive increase was observed, with significant decrease and return to initial baseline values in AV4; G2 showed threshold restoration after exercise and return to baseline; G3 reduced thresholds, without restoration or significant increase in them. We concluded that there was analgesia with use of exercise and that it was altered by blocking beta-endorphin.

Keywords: pain measurement, beta-endorphin, knee joint.

INTRODUÇÃO

A osteoartrite (OA) do joelho é considerada a principal doença articular, sendo que a maioria dos pacientes relata dor e incapacidade, gerando efeitos devastadores sobre a qualidade de vida. A fraqueza muscular é uma limitação funcional bem estabelecida, podendo preceder ao desenvolvimento da OA. A lesão articular afeta os receptores que provêm informações aferentes para músculos e fusos, diminuindo a atividade motora e propriocepção. Além disso, o descondicionamento aeróbico também pode aumentar a incapacidade^{1,2}.

Por isso, o exercício físico é indicado para tais casos, apresentando resultados importantes na dor e incapacidade funcional. O treino de resistência melhora vários dos fatores que levam à incapacidade funcional, como a força muscular, inibição reflexa, propriocepção, amplitude de movimento (ADM), aptidão cardiovascular e dor, além de comorbidades como diabetes, hipertensão e obesidade. De forma semelhante, o exercício resistido também apresenta resultados positivos, sendo inclusive considerados mais benéficos¹⁻³.

O exercício físico regular tem um papel importante na prevenção,

ou como paliativo, para as limitações funcionais, associados com doença articular, e pode ser realizado na forma de programas de atividade recreacional aquática, sendo que, segundo Wang *et al.*⁴, o programa produz melhora na flexibilidade, força muscular e capacidade aeróbica em adultos com OA de quadril ou joelho.

Uma das explicações para a analgesia advinda do exercício físico é a opioide, que pode ser produzida no sistema nervoso central e na periferia, via ativação de receptores por opioides exógenos ou endógenos. Tais efeitos analgésicos são particularmente proeminentes em condições inflamatórias dolorosas. Nas fases iniciais da inflamação, receptores opioides centrais e periféricos estão envolvidos nos efeitos antinociceptivos, sendo que receptores localizados em terminais nervosos periféricos podem ser ativados por opioides exógenos e endógenos, expressos em células imune para produzir significativa antinocicepção^{5,6}.

Apesar de o exercício físico ser frequentemente recomendado para pacientes com dor crônica⁷ e exercícios em meio aquático serem comumente prescritos para quem deve evitar atividades de descarga de peso, a literatura ainda apresenta-se controversa^{8,9}. Assim, o objetivo da pesquisa foi avaliar se o exercício resistido produz alterações sobre o quadro nociceptivo e se sofre interferências pela aplicação de um inibidor de opioides.

MÉTODOS

Amostra e grupos experimentais

Foram utilizados 18 ratos, da linhagem Wistar, com massa de 407,00 ± 25,26g, obtidos do Biotério Central da Unioeste e mantidos em gaiolas de polipropileno, com livre acesso a água e ração *ad libitum*, com ciclo claro/escuro controlado de 12 horas e temperatura ambiente controlada (24 ± 1°C). O estudo foi conduzido segundo as normas internacionais de ética em experimentação animal, sendo aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal e Aulas Práticas da Unioeste, sob número 6.011.

Os animais foram divididos aleatoriamente em três grupos:

Grupo 1 (G1, n = 6) – composto por animais submetidos à hiperalgesia no joelho direito e não tratados;

Grupo 2 (G2, n = 6) – submetidos à hiperalgesia no joelho direito e tratados com saltos em meio aquático; e

Grupo 3 (G3, n = 6) – submetidos à hiperalgesia no joelho direito, com prévia injeção de naloxone e posterior saltos em meio aquático.

Modelo experimental de indução de hiperalgesia

Os animais foram contidos manualmente e injetados no espaço articular tibiofemoral 100µl de solução de formalina 5% para a indução de hiperalgesia¹⁰.

Aplicação de naloxone

Aos animais foi injetado 1µg de cloridrato de naloxona (Narcan 0,4mg/ml, Cristália)¹¹ no espaço articular tibiofemoral direito dos animais de G3, 15 minutos antes da indução da hiperalgesia. Para G1 e G2 foi injetada solução de soro fisiológico 9%.

Avaliação da dor

Para avaliação da dor foi utilizado o equipamento filamento de Von Frey digital (Insight[®]), que é usado para avaliar a sensibilidade nociceptiva ao estímulo mecânico em animais. O teste foi realizado com o animal contido manualmente e o filamento de Von Frey aplicado na face medial da articulação tibiofemoral do membro posterior direito. A ponta de polipropileno do filamento foi aplicada perpendicularmente à área, com gradual aumento de pressão, e, logo que o animal retirou a pata, o teste foi interrompido para o registro do limiar de retirada. Os animais foram treinados com relação à forma de avaliação durante cinco dias. No dia posterior ao último treino,

foram coletados os valores de pressão no momento pré-lesão (AV1); após 15 (AV2) e 30 (AV3) minutos da indução da hiperalgesia, foram realizadas reavaliações, bem como em uma hora após (AV4).

Protocolo de exercício

Para G2 e G3, o protocolo de tratamento ocorreu após a avaliação do momento AV2. Os animais foram submetidos a saltos em meio aquático, utilizando um tubo de PVC com 20cm de diâmetro, com sobrecarga de 50% do peso do animal, realizada por meio de pesos de chumbo acoplados a uma tira de velcro posicionada no tórax do animal, visando não prejudicar a movimentação. O animal realizou quatro séries de cinco saltos cada, com intervalo de três minutos entre cada série, dentro do tubo de PVC. A contagem das repetições ocorreu cada vez que o animal se projetou em direção à superfície da água para respirar. O local utilizado foi um reservatório de água de 200 litros, oval, fabricado em plástico, com profundidade de 60cm e a temperatura da água mantida entre 30-32°C. O G1 não realizou exercícios, apenas foi colocado no meio aquático (menos de 30s) para receber estresse semelhante. Após a última avaliação (uma hora após a lesão), todos os animais foram eutanasiados por decapitação em guilhotina.

ANÁLISE ESTATÍSTICA

Foi verificada a normalidade dos dados, por meio do teste de Kolmogorov-Smirnov, com análise intragrupos pelo teste de ANOVA com medidas repetidas e unidirecional para comparação entre os grupos, com pós-teste de Tukey. Em todos os casos o nível de significância aceito foi de 5%.

RESULTADOS

Para G1 foi possível observar que houve diminuição significativa do limiar de retirada em AV2 e AV3 comparadas com AV1 ($p < 0,05$), mas houve restauração dos valores ao comparar com AV4 ($p > 0,05$). Com relação à AV2, tanto AV3 quanto AV4 mostraram aumento significativo dos limiares ($p < 0,05$) (figura 1).

G2 apresentou redução significativa do limiar ao comparar AV1 com AV2 ($p < 0,05$), mas, após o exercício físico, os valores basais foram retornados já em AV3, mantendo-se em AV4. Na comparação com AV2, tanto AV3 quanto AV4 foram significativamente maiores ($p < 0,05$) (figura 2).

Finalmente, para G3 houve redução significativa dos limiares, para todos os momentos após AV1 ($p < 0,05$), sem elevação significativa do limiar ao comparar com AV2 ($p > 0,05$) (figura 3), indicando que o exercício não produziu efeito quando associado a naloxone.

Nas comparações entre os grupos, houve diferença significativa apenas em AV1, ao comparar G2 com G1 e G3 ($p < 0,05$).

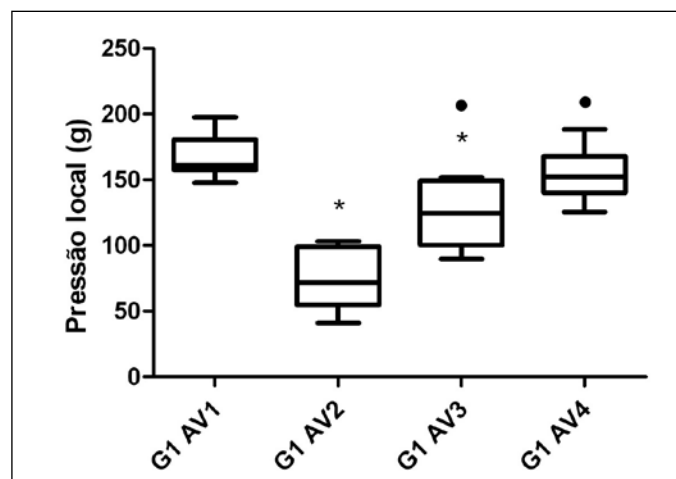


Figura 1. Representação gráfica dos valores obtidos no limiar de retirada para G1, de acordo com os diferentes momentos de avaliação.

* diferença significativa ao comparar com AV1. • diferença significativa ao comparar com AV2.

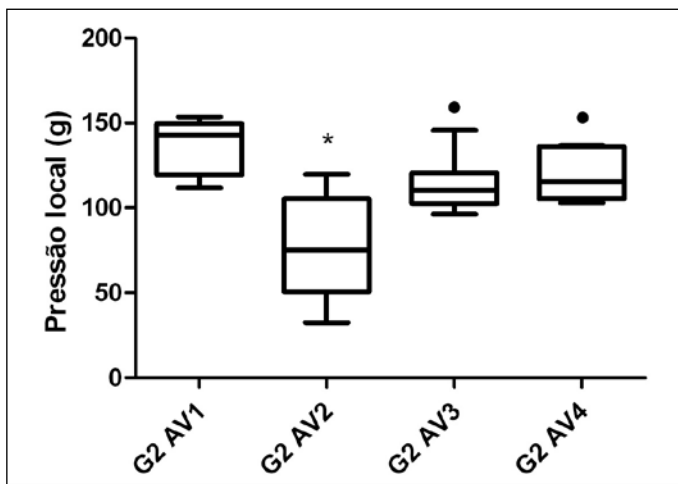


Figura 2. Representação gráfica dos valores obtidos no limiar de retirada para G2, de acordo com os diferentes momentos de avaliação.

* diferença significativa ao comparar com AV1. • diferença significativa ao comparar com AV2.

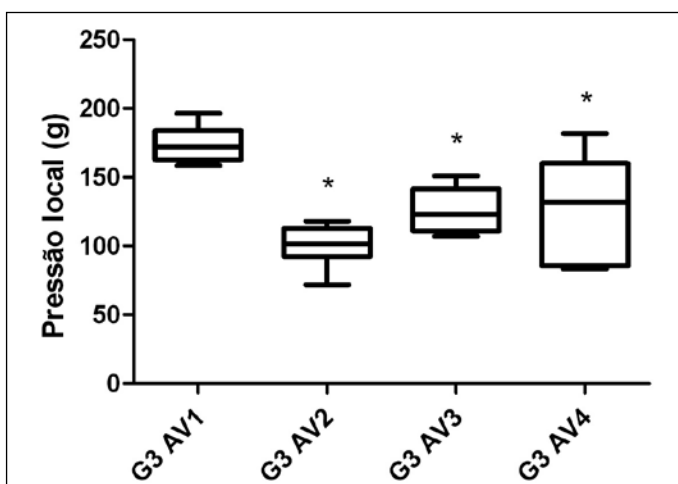


Figura 3. Representação gráfica dos valores obtidos no limiar de retirada para G3, de acordo com os diferentes momentos de avaliação.

* diferença significativa ao comparar com AV1.

DISCUSSÃO

O exercício físico resistido apresenta efeitos benéficos sobre a função musculoesquelética e composição corporal no sistema cardiovascular, na ação da insulina, no reparo ósseo, no metabolismo energético, na saúde psicológica e funcionalidade. Essas adaptações do treino resistido são potencialmente relevantes para a OA do joelho, sendo relatado que a progressão e desenvolvimento da OA são potencialmente modificáveis pelo treinamento³.

Picard *et al.*¹² relatam que não há evidências do papel de opioides na analgesia periférica para a dor aguda; contudo, vale salientar que não avaliaram o papel de drogas opioides de ação intra-articular, diferindo do presente estudo que pretendeu avaliar o efeito antinociceptivo do exercício e se este poderia ocorrer via opioide periféricamente e intra-articular, visto que a injeção de naloxone fugiu daquela dose e via indicadas para ação sistêmica¹³⁻¹⁵.

A sensibilização de nociceptores aferentes primários articulares (sensibilização periférica) e de neurônios da medula espinhal (sensibilização central) são processos neuronais básicos na dor e hiperalgias mecânica. As duas formas de sensibilização são geradas por interações de numerosos mediadores e receptores neuronais. Evidências sugerem que citocinas pró-inflamatórias não apenas mediam a inflamação e destruição articular, mas, também, contribuem para geração e manutenção da dor¹⁶. Contudo, amostras de membrana sinovial apresentam células

imune, com abundância de β -endorfina e encefalina. Tais células são recrutadas, e, devido à secreção de opioides, reduzem a dor⁶.

Alguns estudos apresentam efeitos positivos do exercício de resistência sobre a nocicepção em ratos, como Kuphal *et al.*⁸, os quais observaram que nove dias de natação, em água a 37°C, por 90 minutos por dia, diminuiu a resposta de dor por estímulo químico e lesão nervosa. Tal fato também foi observado por Bement e Sluka⁷, que realizaram protocolo leve de caminhada em esteira, por cinco dias, após aplicação de modelo de dor muscular não inflamatória. Ressaltam que o efeito analgésico foi revertido com a administração sistêmica de naloxone. Mazzardo-Martins *et al.*¹⁷ avaliaram o uso da natação em camundongos durante 30 minutos, por cinco dias, com diminuição do número de contorções abdominais causadas por ácido acético. Visto que houve reversão do efeito com uso de naloxone, clorfenilalanina e adrenalectomia bilateral, a natação produziu hiponocicepção via sistemas opioides e serotoninérgicos. Assim, os resultados aqui apresentados estão em consonância com os estudos anteriores, pois houve significativa redução da nocicepção com o exercício físico antagonizado pelo uso de naloxone; mas, salienta-se que o tipo de exercício utilizado não foi de resistência.

Contudo, há relatos controversos, como Vierck *et al.*¹⁸, que citam que o exercício físico produz elevação do limiar doloroso em indivíduos normais; contudo, para portadores de fibromialgia, o exercício extenuante aumenta a somação temporal da dor. E Quintero *et al.*⁹, que observaram em ratos que o estresse de natação subcrônico produziu aumento da hipernocicepção tanto térmica quanto química, e apontam uma possível interferência nos mecanismos centrais de serotonina, como fator causal.

Avaliando o exercício resistido, em três séries de 10 repetições, com carga de 75% de uma repetição máxima em humanos, Koltyn e Arbogast¹⁹ observaram aumento do limiar de dor. Contudo, salientam que o efeito analgésico após o exercício resistido foi curto, isto é, cinco minutos. Tal fato foi semelhante ao apresentado aqui, visto que a avaliação posterior ao exercício ocorreu menos de cinco minutos após seu fim, e a última avaliação que ocorreu além de 30 minutos (apesar de continuar apontando para restauração dos valores dos valores pré-lesão) não foi diferente do observado para o grupo controle, mas, sim, para o grupo naloxone, que não apresentou efeito analgésico como no grupo exercitado apenas.

Deve-se levar em consideração que o estresse ativa sistemas neurais que inibem a sensação de dor. Tal resposta adaptativa, chamada de analgesia induzida por estresse, depende do recrutamento de caminhos cerebrais que se projetam da amígdala para a substância cinzenta periaquedutal e descem para o corno dorsal da medula²⁰. Ou seja, o efeito analgésico observado pelo exercício pode ter ocorrido pelo estresse do animal no meio aquático, e não completamente pelo exercício resistido.

Os opioides atenuam a excitabilidade de nociceptores, a propagação de potenciais de ação e liberação de neuropeptídeos pró-inflamatórios²¹. A atividade de receptores opioides, em aferentes primários, é aumentada sob condições inflamatórias. Mas, dentro do tecido inflamado, opioides são expostos a hidrólise por enzimas, que, pela acidose local, ocorre a desnaturação de proteínas e peptídeos. Em particular, opioides liberados endogenamente são muito susceptíveis à ação proteolítica, resultando em curta ação antinociceptiva periférica e central⁵. Assim, imagina-se que mesmo o grupo controle, no qual não foi utilizado o exercício físico, produziu algum tipo de efeito analgésico, observado pelo aumento significativo do limiar mecânico na terceira e quarta avaliações comparadas com a segunda, explicado também via opioides endógenos, visto que seu comportamento não foi seguido pelo grupo naloxone.

Salienta-se que a forma de avaliação por pressão é mais comumente encontrada utilizando filamentos de Von Frey²²⁻²⁴, mas o filamento digital mostra-se como uma alternativa de fácil uso e visualização para

avaliação da nocicepção, com crescente uso em pesquisas²⁵⁻²⁷. Contudo, a ausência de avaliação bioquímica e a dificuldade em estabelecer se a analgesia foi por causa do estresse ou do exercício são limitações do presente estudo, sendo indicações como temas de futuros estudos.

CONCLUSÃO

Com os métodos utilizados foi possível observar diminuição da nocicepção, a qual foi mediada por opioides endógenos.

AGRADECIMENTOS

A pesquisa foi parcialmente financiada pela Unioeste, e o dorímetro tipo filamento de Von Frey digital foi adquirido com apoio financeiro do CNPq.

Todos os autores declararam não haver qualquer potencial conflito de interesses referente a este artigo.

REFERÊNCIAS

1. Baker MT. Exercise for knee osteoarthritis. *Curr Opin Rheumatol* 2000;12:456-63.
2. Bennell KL, Hunt MA, Wrigley TV, Lim B-W, Hinman RS. Role of muscle in the genesis and management of knee osteoarthritis. *Rheum Dis Clin N Am* 2008;34:731-54.
3. Lange AK, Vanwanseele B, Singh MAF. Strength training for treatment of osteoarthritis of the knee: a systematic review. *Arthritis Rheum* 2008;59:1488-94.
4. Wang TJ, Belza B, Thompson FE, Whitney JD, Bennett K. Effects of aquatic exercise on flexibility, strength and aerobic fitness in adults with osteoarthritis of the hip or knee. *J Adv Nurs* 2007;57:141-52.
5. Hua S, Cabot PJ. Mechanisms of peripheral immunecell-mediated analgesia in inflammation: clinical and therapeutic implications. *Trends Pharmacol Sci* 2010;31:427-33.
6. Lesniak A, Lipkowski AW. Opioid peptides in peripheral pain control. *Acta Neurobiol Exp* 2011;71:129-38.
7. Bement MKH, Sluka KA. Low-intensity exercise reverses chronic muscle pain in the rat in a naloxone-dependent manner. *Arch Phys Med Rehabil* 2005;86:1736-40.
8. Kuphal KE, Fibuch EE, Taylor BK. Extended swimming exercise reduces inflammatory and peripheral neuropathic pain in rodents. *J Pain* 2007;8:989-97.
9. Quintero L, Moreno M, Avila C, Arcaya J, Maixner W, Suarez-Roca H. Long-lasting delayed hyperalgesia after subchronic swim stress. *Pharmacol Biochem Behav* 2000;67:449-58.
10. Martins MA, Bastos LC, Tonussi CR. Formalin injection into knee joints of rats: pharmacologic characterization of a deep somatic nociceptive model. *J Pain* 2006;7:100-7.
11. Serra AP, Ashmawi HA. Influência da naloxona e metisergida sobre o efeito analgésico do laser em baixa intensidade em modelo experimental de dor. *Rev Bras Anestesiol* 2010;60:302-10.
12. Picard PR, Tramèr MR, McQuay HJ, R. Moore A. Analgesic efficacy of peripheral opioids (all except intra-articular): a qualitative systematic review of randomised controlled trials. *Pain* 1997;72:309-18.
13. Pinelli A, Trivulzio S. Quantitative evaluation of opioid withdrawal signs in rats repeatedly treated with morphine and injected with naloxone, in the absence or presence of the antiabstinence agent clonidine. *J Pharmacol Toxicol Methods* 1997;38:117-31.
14. Sánchez EM, Bagües A, Martín MI. Contributions of peripheral and central opioid receptors to antinociception in rat muscle pain models. *Pharmacol Biochem Behav* 2010;96:488-95.
15. Schröder W, Vry JD, Tzschentke TM, Jahnel U, Christoph T. Differential contribution of opioid and noradrenergic mechanisms of tapentadol in rat models of nociceptive and neuropathic pain. *Eur J Pain* 2010;14:814-21.
16. Schaible H-G, Von Banchet GS, Boettger MK, Bräuer R, Gajda M, Richter F et al. The role of proinflammatory cytokines in the generation and maintenance of joint pain. *Ann NY Acad Sci* 2010;1193:60-9.
17. Mazzardo-Martins L, Martins DF, Marcon R, Dos Santos UD, Speckhann B, Gadotti VM, et al. High-intensity extended swimming exercise reduces pain-related behavior in mice: involvement of endogenous opioids and the serotonergic system. *J Pain*. 2010;11:1384-93.
18. Vierck CJ, Staud R, Price DD, Cannon RL, Mauderli AP, Martin AD. The effect of maximal exercise on temporal summation of second pain (windup) in patients with fibromyalgia syndrome. *J Pain* 2001;2:334-44.
19. Koltyn KF, Arbogast RW. Perception of pain after resistance exercise. *Br J Sports Med* 1998;32:20-4.
20. Hohmann AG, Suplita RL, Bolton NM, Neely MH, Fegley D, Mangieri R, et al. An endocannabinoid mechanism for stress-induced analgesia. *Nature* 2005;435:1108-12.
21. Brock SC, Tonussi CR. Intrathecally injected morphine inhibits inflammatory paw edema: the involvement of nitric oxide and cyclic-guanosine monophosphate. *Anesth Analg* 2008;106:965-71.
22. Mecs L, Tuboly G, Nagy E, Benedek G, Horvath G. The peripheral antinociceptive effects of endomorphin-1 and kynurenic acid in the rat inflamed joint model. *Anesth Analg* 2009;109:1297-304.
23. Mecs L, Tuboly G, Toth K, Nagy E, Nyari T, Benedek G, et al. Peripheral antinociceptive effect of 2-arachidonoyl-glycerol and its interaction with endomorphin-1 in arthritic rat ankle joints. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2010;37:544-50.
24. Leánez S, Hervera A, Pol O. Peripheral antinociceptive effects of μ - and δ -opioid receptor agonists in NOS2 and NOS1 knockout mice during chronic inflammatory pain. *Eur J Pharmacol* 2009;602:41-9.
25. Möller KA, Johansson B, Berge O-G. Assessing mechanical allodynia in the rat paw with a new electronic algometer. *J Neurosci Methods* 1998;84:41-7.
26. Vivancos GG, Verri Jr WA, Cunha TM, Schivo IR, Parada CA, Cunha FQ, et al. An electronic pressure-meter nociception paw test for rats. *Braz J Med Biol Res* 2004;37:391-9.
27. Udina E, Puigdemasa A, Navarro X. Passive and active exercise improve regeneration and muscle reinnervation after peripheral nerve injury in the rat. *Muscle Nerve* 2011;43:500-9.