

Avaliação do papel de opioides endógenos na analgesia do laser de baixa potência, 820 nm, em joelho de ratos Wistar*

Role of endogenous opioids in 820 nm low power laser analgesia in the knees of Wistar rats

Anamaria Meireles¹, Bruno Pogorzelski Rocha¹, Camila Thieime Rosa¹, Lígia Inez Silva¹, Maria Lúcia Bonfleur², Gladson Ricardo Flor Bertolini³

* Recebido do Laboratório de Estudos das Lesões e Recursos Fisioterapêuticos da Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE). Cascavel, PR.

RESUMO

JUSTIFICATIVA E OBJETIVOS: A sensação de dor pode resultar em incapacidade, sendo associada à lesão estrutural. O laser de baixa potência mostra-se útil em terapias que objetivam a redução da dor articular e o reparo tecidual, mas ainda com algumas controvérsias. O objetivo deste estudo foi avaliar se a analgesia produzida pelo laser de baixa potência, 820 nm, sofre interferência pela aplicação de um inibidor de opioides endógenos.

MÉTODO: Foram utilizados 24 ratos Wistar submetidos à hiperalgesia e divididos em quatro grupos: G1: não tratados; G2: tratados com laser 820 nm; G3: prévio a lesão, injeção de naloxona e não tratados; G4: naloxona e tratados com laser 820 nm. Para a produção de hiperalgesia foi administrado 100 µL de formalina a 5% no espaço articular tíbio-femoral direito. A avaliação da nocicepção ocorreu pelo tempo de elevação da pata (TEP), em cinco momentos, sendo AV1 (pré-lesão), AV2 (15 min/pós), AV3 (30 min/pós), AV4 (1 hora pós) e AV5 (2 horas pós).

RESULTADOS: Todos os grupos apresentaram diferença

significativa entre AV1 e AV2, mas, apenas G2 não apresentou diferença entre AV1 e AV3. Para os momentos seguintes não houve diferenças com relação à AV1.

CONCLUSÃO: A analgesia oriunda do laser de baixa potência, 820 nm, sofre interferências com aplicação de naloxona.

Descritores: Analgesia, Naloxona, Raios laser, Ratos.

SUMMARY

BACKGROUND AND OBJECTIVES: Pain may result in incapacity when it is associated to structural injury. Low power laser is useful in therapies aiming at decreasing joint pain and at tissue repair, but it is still somewhat controversial. This study aimed at evaluating whether analgesia induced by 820 nm low power laser is affected by the application of an endogenous opioids inhibitor.

METHOD: Twenty-four Wistar rats submitted to hyperalgesia were divided into four groups. G1: untreated; G2: treated with 820 nm laser; G3: naloxone injection before injury and untreated; G4: naloxone and treated with 820 nm laser. To induce hyperalgesia, 100 µL of 5% formalin were injected in the right tibiofemoral joint space. Nociception was evaluated by the time for flinching (TFF) in five moments: AV1 (pre-injury), AV2 (15 min/after), AV3 (30 min/after), AV4 (1 hour after) and AV5 (2 hours after).

RESULTS: All groups showed significant difference between AV1 and AV2, but only G2 showed no difference between AV1 and AV3. There have been no differences for remaining moments as compared to AV1.

CONCLUSION: Low power 820 nm laser analgesia is affected by naloxone.

Keywords: Analgesia, Laser beams, Naloxone, Rats.

1. Acadêmicos do Curso de Fisioterapia da Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE). Cascavel, PR, Brasil.

2. Doutora em Biologia Funcional e Molecular pela Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP); Docente da Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE). Cascavel, PR, Brasil.

3. Doutor em Ciências da Saúde Aplicadas ao Aparelho Locomotor pela Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (FMRP/USP); Docente da Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE). Cascavel, PR, Brasil.

Endereço para correspondência:

Dr. Gladson Ricardo Flor Bertolini

Rua Universitária, 2069 – Jardim Universitário
85819-110 Cascavel, PR.

E-mail: gladson_ricardo@yahoo.com.br

INTRODUÇÃO

A dor pode estar associada à lesão tecidual real ou potencial, e causar incapacidade, pela redução da função do tecido lesado, devido à lesão estrutural e edema tecidual^{1,2}. O laser de baixa potência é um recurso amplamente utilizado em terapias que têm como objetivo, principalmente, a redução da dor¹ e o reparo tecidual. Esta técnica também apresenta efeitos na redução dos níveis de fibrinogênio, de edema e no conteúdo de células inflamatórias, sugerindo analgesia por redução do processo inflamatório³. Pode-se destacar a biomodulação, capacidade de estimular a divisão celular, vasodilatação, aumento da síntese proteica e de cortisol. Entretanto, ainda existem contestações quanto aos efeitos e forma que ocorre analgesia e sobre os parâmetros utilizados no tratamento^{4,6}. No que tange à atenuação da dor provocada por algum mecanismo desagradável ao organismo ou lesão tecidual, ela pode ser mediada por interações do sistema opioide endógeno. Este é responsável por modular a sensação dolorosa pela ação das encefalinas, bem como das β -endorfinas, incumbidas de induzir efeitos analgésicos e influenciar na percepção do estímulo nociceptivo devido a sua ação em receptores opioides⁷.

Uma das possibilidades aventadas para o efeito analgésico do laser de baixa potência é a liberação periférica de opioides das células do sistema imunológico, com significativa liberação de β -endorfina local^{8,9}, além de efeito independente sobre receptor opioide¹⁰. Nesse contexto, estuda-se a ação de substâncias e fármacos antagonistas aos opioides endógenos, se contrapondo a seus efeitos, a fim de exemplificar pode-se citar a naloxona. Tal fármaco é caracterizado como um antagonista de receptor opioide inespecífico³.

Pautando-se em algumas discrepâncias na literatura, com respeito a parâmetros do laser de baixa potência e sua ação analgésica, provocada por β -endorfina periférica, objetivou-se neste estudo avaliar se analgesia produzida pelo laser de baixa potência, 820 nm, sofre interferências pela aplicação de um inibidor de opioides endógenos, como a naloxona.

MÉTODO

Estudo com 24 ratos da linhagem Wistar, 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 ($24 \pm 1^\circ \text{C}$). O estudo realizou-se segundo as normas internacionais de ética em experimentação animal.

Os animais foram divididos aleatoriamente em quatro grupos:

- Grupo 1 (G1, n = 6) – submetidos à indução de hiperalgesia no joelho direito, e não tratados;
- Grupo 2 (G2, n = 6) – hiperalgesia no joelho direito e tratados com laser de 820 nm, com densidade de energia de 8 J/cm^2 ;
- Grupo 3 (G3, n = 6) – hiperalgesia no joelho direito, com injeção de naloxona prévia a lesão;
- Grupo 4 (G4, n = 6) – hiperalgesia no joelho direito e naloxona, sendo tratados com laser (8 J/cm^2).

Os animais foram contidos manualmente e administrado no espaço articular tíbio-femoral $100 \mu\text{L}$ solução de formalina a 5%, para a indução de hiperalgesia.

Os animais foram contidos manualmente e administrado $1 \mu\text{g}$ de naloxona, no espaço articular tíbio-femoral direito, nos animais de G3 e G4, 15 minutos antes da indução da hiperalgesia. Para G1 e G2 administrou-se solução fisiológica a 9%.

Avaliação da nocicepção

Utilizou-se o teste de incapacidade funcional, este teste tem como objetivo avaliar a nocicepção durante a marcha do animal e se caracteriza por um cilindro e um programa de computador com conexão a uma bota metálica adaptada à pata do animal.

O experimento iniciou com 5 dias de treino dos animais, eles deambularam sobre um cilindro com 30 cm de diâmetro, recoberto por tela de aço inoxidável, que por meio de um motor elétrico realizou 3 rpm. Foi acoplada, nos membros posteriores dos animais, uma bota metálica, que conduziu a informação, por meio de um fio conectando a bota ao computador, o qual possui um programa que mostrou os valores de tempo de falta de contato da pata do animal, deambulando sobre o cilindro, em um minuto (tempo de elevação da pata – TEP). A pata posterior esquerda também foi conectada a uma bota, porém sem entrada de informações para o computador, assim ambos os membros experimentaram a sensação de estar com a bota.

No dia posterior ao último treino, coletaram-se os valores de tempo da marcha normal (no momento pré-lesão: AV1), após 15 (AV2) e 30 (AV3) minutos da indução da hiperalgesia, realizaram-se reavaliações, bem como 1 hora (AV4) e 2 (AV5) horas.

Protocolo de tratamento

Após AV2, foi iniciado o tratamento, ou seja, após 15

minutos da indução da hiperalgesia. G1 e G3 não sofreram qualquer intervenção terapêutica, apenas simulação. Em G2 e G4 o tratamento consistiu na utilização do laser de baixa potência (Ibramed®), com comprimento de onda de 820 nm, potência de 30 mW, densidade de energia de 8 J/cm², com área de saída de 0,1160 cm², de forma pontual e contínua, sobre a região medial da interlinha articular do joelho. Logo após AV3 (30 minutos após a lesão), os animais receberam novo tratamento ou simulação. Após a última avaliação (AV5), todos os animais sofreram eutanásia por decapitação em guilhotina.

Análise estatística

Para análise estatística utilizou-se o teste ANOVA para medidas repetidas, nas comparações dentro dos grupos, e unidirecional para comparação intragrupos, com pós-teste de Tukey. Em todos os casos o nível de significância aceito foi 5%.

Estudo aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal e Aulas Práticas da Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE), processo n° 02911/2011.

RESULTADOS

Para G1, G3 e G4, houve aumento do TEP ao comparar AV1 com AV2 e AV3 ($p < 0,05$). Já para G2 houve diferença apenas entre AV1 e AV2 ($p < 0,05$). Para G2, G3 e G4 havia diminuição significativa do TEP ao comparar AV2 com AV4 e AV5, sendo que para G2 houve também diminuição já com respeito à AV3 ($p < 0,05$) (Gráfico 1).

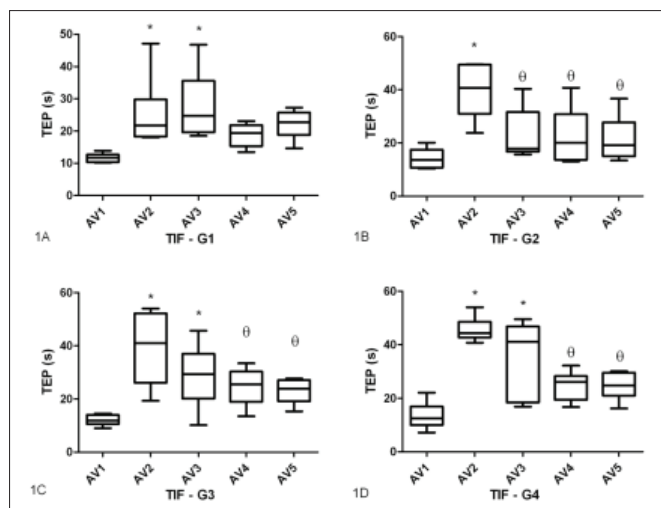


Gráfico 1 – Teste de Incapacidade Funcional (TIF), apresentado os valores do tempo de elevação da pata (TEP) – 1A:G1, 1B:G2, 1C:G3, 1D:G4. * Diferença significativa ao comparar com AV1. θ Diferença significativa ao comparar com AV2.

Nas comparações entre os grupos, houve diferença significativa apenas em AV2 quando foram comparados G1 com G4 ($p < 0,05$).

DISCUSSÃO

Na busca por métodos analgésicos e anti-inflamatórios, o laser de baixa intensidade apresenta-se como um método interessante, por diminuir a dor, o processo inflamatório e produzir poucos efeitos colaterais⁸. Os efeitos do laser são dependentes da dose, não se obtendo a resposta esperada quando empregado em sub ou superdosagem, mas observando-se efeito analgésico eficaz quando utilizado em doses apropriadas^{11,12}, apesar de uma imensa discrepância com respeito à dose e comprimento de onda adequados¹³, suscitando assim a necessidade de pesquisas para avaliar tais parâmetros dosimétricos. No estudo em questão, observou-se que a dose utilizada (8 J/cm²), com o laser de 820 nm, foi adequada para produzir efeito analgésico, conforme já observado em outro estudo¹. O instrumento de avaliação utilizado também é uma forma já referenciada na literatura, mostrando que animais com aumento da nocicepção demonstram maior tempo de elevação da pata, ao deambular em um minuto, do que animais sem estímulo algico¹⁴.

A naloxona foi o primeiro antagonista do receptor opioide amplamente utilizado em pesquisas e na prática clínica. No presente estudo foi possível observar que o efeito analgésico do laser de baixa potência, 820 nm, sofreu significativa interferência e foi antagonizado com a aplicação de naloxona. A fim de justificar esse efeito, inferiu-se que o grupo no qual foi realizada a associação entre naloxona e laser de baixa potência, os animais apresentaram manutenção do quadro algico, na comparação intragrupos, para o terceiro momento de avaliação. Acredita-se então que o laser pode ter induzido a produção e liberação de opioides endógenos pelas células sanguíneas¹⁵, explicando os resultados observados.

Tal situação corrobora com os achados de um estudo que utilizou antagonistas de receptores opioides periféricamente, porém com comprimento de onda de 660 nm, ou seja, dentro do comprimento visível³. Porém, conforme já descrito com respeito às controvérsias, em outro estudo o efeito analgésico do laser, em modelo nociceptivo por carragenina, não foi antagonizado pela naloxona¹⁰. Em contrapartida, outros estudos apontam efeitos analgésicos do laser, mediados por opioides, antagonizados por naloxona sistemicamente, ou seja, injetados por via intraperitoneal^{8,9}. Vale lembrar que no presente estudo a dose utilizada de naloxona foi baixa, sendo assim

esperado apenas um efeito intra-articular do fármaco e não sistêmico.

Salienta-se que para o presente estudo foi utilizado somente a naloxona como antagonista de receptores opioides endógenos, sugerindo-se a utilização de outros fármacos em associação ao laser com o intuito de avaliar seus possíveis efeitos e eficácia sobre a analgesia e edema articular.

CONCLUSÃO

A analgesia oriunda do laser de baixa potência, 820 nm, sofre interferências com aplicação de um antagonista de opioide endógeno como a naloxona de forma periférica.

REFERÊNCIAS

1. Bertolini GRF, Matos CMP, Artifon EL, Ferrari D, Vituri RF. Avaliação funcional da nocicepção do joelho de ratos tratada com laser de baixa potência e natação. *Rev Bras Med Esporte* 2011;17(1):45-8.
2. Cruz M. Lesão estrutural e incapacidade – nem só da artrite, também da artrose. *Acta Reum Port* 2008;33(4):475-6.
3. 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 Anesthesiol* 2010;60(3):302-10.
4. Kujawa J, Zavodnik L, Zavodnik I, et al. Effect of low-intensity (3.75-25 J/cm²) near-infrared (810 nm) laser radiation on red blood cell ATPase activities and membrane structure. *J Clin Laser Med Surg* 2004;22(2):111-7.
5. Campana VR, Moya M, Gavotto A, et al. Laser therapy on arthritis induced by urate crystals. *Photomed Laser Surg* 2004;22(6):499-503.
6. Bortone F, Santos HA, Albertini R, et al. Low level laser therapy modulates kinin receptors mRNA expression in the subplantar muscle of rat paw subjected to carrageenan-induced inflammation. *Int Immunopharmacol* 2008;8(2):206-10.
7. Lana AC, Paulino CA, Gonçalves ID. Influência dos exercícios físicos de baixa e alta intensidade sobre o limiar de hipernocicepção e outros parâmetros em ratos. *Rev Bras Med Esporte* 2006;12(5):248-54.
8. Honmura A, Ishii A, Yanase M. Analgesic effect of Ga-Al-As diode laser irradiation on hyperalgesia in carrageenin-induced inflammation. *Lasers Surg Med* 1993;13(4):463-9.
9. Hagiwara S, Iwasaka H, Okuda K, et al. GaAlAs (830 nm) low-level laser enhances peripheral endogenous opioid analgesia in rats. *Lasers Surg Med* 2007;39(10):797-802.
10. Ferreira DM, Zângaro RA, Villaverde AB. Analgesic effect of He-Ne (632.8 nm) low-level laser therapy on acute inflammatory pain. *Photomed Laser Surg* 2005;23(2):177-81.
11. Albertini R, Aimbire FS, Correa FI, et al. Effects of different protocol doses of low power gallium-aluminum-arsenate (Ga-Al-As) laser radiation (650 nm) on carrageenan induced rat paw o edema. *J Photo-chem Photobiol B* 2004;74(2-3):101-7.
12. Schindl A, Schindl M, Pernerstorfer-Schön H, et al. Low-intensity laser therapy: a review. *J Investig Med* 2000;48(5):312-26.
13. Bjordal JM, Couppé C, Chow RT, et al. A systematic review of low level laser therapy with location-specific doses for pain from chronic joint disorders. *Aust J Physiother* 2003;49(2):107-16.
14. Martins MA, Bastos LC, Tonussi CR. Formalin injection into knee joints of rats: pharmacologic characterization of deep somatic nociceptive model. *J Pain* 2006;7(2):100-7.
15. Hagiwara S, Iwasaka H, Hasegawa A, et al. Pre-irradiation of blood by gallium aluminum arsenide (830 nm) low-level laser enhances peripheral endogenous opioid analgesia in rats. *Anesth Analg* 2008;107(3):1058-63.

Apresentado em 02 de fevereiro de 2012.

Aceito para publicação em 27 de maio de 2012.