

# Atividade analgésica em camundongos Swiss submetidos a diferentes doses de cloreto de magnésio ( $MgCl_2$ ) associado ou não a paracetamol e clonazepam

## Analgesic activity in mice, treated with magnesium chloride linked or not with paracetamol and clonazepam

Rafael Ramón Rodríguez Treto<sup>1</sup>. Renildo Moura da Cunha<sup>1</sup>. Wagner de Jesus Pinto<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> Universidade Federal do Acre (UFAC), Fortaleza, Ceará, Brasil.

### RESUMO

A percepção dolorosa, avaliada funcionalmente através do sistema analgésico endógeno, reflete a atividade do sistema nociceptivo, o qual depende do nível de excitabilidade do sistema nervoso, portanto, a procura de vias e formas que reduzam a excitabilidade deste sistema tornou-se uma preocupação humana para assim aliviar a percepção da dor. **Objetivo:** Determinar o limiar de excitação do sistema nociceptivo em animais (camundongos) submetidos a tratamento com diferentes doses de cloreto de magnésio ( $MgCl_2$ ), associado ou não com paracetamol e clonazepam. **Material e Métodos:** Camundongos Swiss foram submetidos a tratamento com  $MgCl_2$ , paracetamol e clonazepam. O limiar de excitação foi determinado através do teste da “placa quente”. **Resultados e Discussão:** O  $MgCl_2$  ( $130mgKg^{-1}$ ) e o paracetamol ( $12.5mgKg^{-1}$ ) mostraram efeito analgésico sinérgico, provavelmente devido à diminuição da excitabilidade neuronal nociceptiva, acompanhado de uma ação despolarizante sobre o sistema analgésico endógeno. O clonazepam ( $0.066 mgKg^{-1}$ ) parece bloquear o efeito analgésico do  $MgCl_2$  no sistema analgésico endógeno, devido à hiperpolarização neuronal decorrente do influxo de  $Cl^-$ . **Conclusões:** A dose de  $130mgKg^{-1}$  de massa corporal de  $MgCl_2$  teve efeito sinérgico com o paracetamol. O clonazepam parece ter bloqueado o efeito analgésico do  $MgCl_2$ , provavelmente atuando no sistema analgésico endógeno.

**Palavras-chave:** Clonazepam. Cloreto de magnésio. Paracetamol.

### ABSTRACT

The pain perception represents an important adapting mechanism based on the nociceptive system function, which depends on the excitability of the nervous system, thus, searching new methods of control for the excitability in the nociceptive system is very important for the human analgesia. **Objective:** To determine the excitation threshold of nociceptive system in mice treated with different doses of magnesium chloride, associated or not with paracetamol and clonazepam. **Material and Methods:** Swiss mice were treated with magnesium chloride, paracetamol and clonazepam. The excitation threshold was determined by the “hot plate” test. **Result and Discussion:** Magnesium chloride ( $130mgKg^{-1}$ ) showed a synergistic action with Paracetamol ( $12.5mgKg^{-1}$ ) probably due to a low excitability in the nociceptive system and depolarization in the endogenous analgesic system. The clonazepam ( $0.066mgKg^{-1}$ ) seems to block an analgesic action of the magnesium chloride in the endogenous analgesic system by the neural hyperpolarization, due to the chloride influx. **Conclusions:** Magnesium chloride ( $130mgKg^{-1}$ ) strengthened the analgesic action of paracetamol. The clonazepam seems to have blocked an analgesic action of magnesium chloride probably in the endogenous analgesic system.

**Keywords:** Clonazepam. Magnesium chloride. Paracetamol.

**Autor correspondente:** Wagner de Jesus Pinto, Universidade Federal do Acre, Rodovia BR 364, Km 04, Distrito Industrial, Rio Branco, Acre. CEP: 69920-900. Telefone: +55 68 99224-3005. E-mail: wagner.wjp@outlook.com

**Conflito de interesses:** Não há qualquer conflito de interesses por parte de qualquer um dos autores.

Recebido em: 09 Abr 2019; Revisado em: 25 Jul 2020; Aceito em: 26 Ago 2020.

## INTRODUÇÃO

O sistema da dor, é um dos mais importantes mecanismos adaptativos do homem, uma vez que sua função é alertar o organismo sobre o dano tissular. A dor como manifestação “psico-fisiológica” é também uma das experiências sensoriais mais desagradáveis para o ser humano, aliviada fisiologicamente pelo sistema “analgésico endógeno”,<sup>1</sup> que modula a intensidade da sua percepção. De acordo com a “*International Association from Study of Pain*” a dor é uma experiência sensorial e emocional desagradável secundária a um dano tecidual corrente, potencial ou descrito com relação a tal dano.<sup>2</sup> Epistemologicamente a dor é uma manifestação em primeira pessoa,<sup>2</sup> fisiologicamente, a dor tem três componentes: a) tissular; b) neural e; c) de conduta.<sup>1</sup> Fatores morfológicos, fisiológicos e bioquímicos são os responsáveis pelas diferenças na percepção da dor entre os sexos,<sup>2</sup> está comprovado, por exemplo, que a testosterona, apresenta ação hipoálgica<sup>3</sup> no modelo da dor induzida por “formalina” em ratos fêmeas e machos.

O magnésio é considerado o segundo íon mais importante no líquido intracelular devido à participação como cofator enzimático em inúmeras reações metabólicas,<sup>4</sup> se comporta também como um antagonista natural do cálcio, uma vez que nos canais de sódio e cálcio dos receptores NMDA (N-metil-D-Aspartato) o campo eletropositivo criado pelo magnésio promove repulsão dos íons cálcio que apresentam também cargas positivas, portanto, o magnésio constitui uma barreira ao influxo de cálcio quando a célula se encontra submetida ao potencial de membrana em repouso.<sup>5</sup> Funções como aprendizado e memória, mediadas pelos receptores NMDA (glutamatérgicos), entre outros, também dependem dos níveis de magnésio no plasma,<sup>6</sup> daí que no hipocampo pode-se controlar a entrada massiva de cálcio ao interior dos neurônios por meio da administração de magnésio,<sup>7</sup> fato este que se torna extremamente relevante no tratamento de doenças neurais degenerativas. O sulfato de magnésio também é utilizado como analgésico<sup>8</sup> e como adjuvante na anestesia veterinária.<sup>9</sup> O paracetamol (acetaminofen) com ação analgésica e antipirética não possui ainda um mecanismo de ação devidamente esclarecido, acredita-se que atue na síntese da enzima cicloxigenase e como consequência interfere na síntese de prostaglandinas. Dessa forma, o paracetamol interfere na geração de potenciais de ação.

A inibição da ação de outras substâncias mediadoras da resposta nociceptiva também poderia ser pelo menos parte do mecanismo de ação do paracetamol.<sup>10</sup> O clonazepam é uma benzodiazepina com ação muito expressiva no sistema nervoso central,<sup>11</sup> diversas ações farmacológicas são descritas, inclusive ansiolíticas e sedativas. Assim, o clonazepam ao interagir com o receptor gabaérgico tipo A, potencializa o efeito inibitório do ácido gama amino butírico (GABA) de modo que ocorre maior influxo de cloreto, gerando hiperpolarização da face interna da membrana celular,<sup>12,13</sup> sendo assim, pode-se considerar que o clonazepam potencializa a ação do GABA e, portanto, participa na modulação da excitabilidade neural, interferindo funcionalmente com pelo menos parte dos diferentes sistemas neuronais encontrados no sistema nervoso. A busca de substâncias que de alguma forma diminuam a algia ou

auumentem a eficiência do sistema analgésico endógeno tem sido um objetivo do homem ao longo de séculos. Neste trabalho será abordado o segundo componente fisiológico do sistema da dor, componente este que será aferido quantitativamente, através do indicador “tempo de reação” do animal experimental, parâmetro que mesmo não sendo o limiar de excitação da dor, reflete o “limiar” da dor no nível do sistema nervoso.

## OBJETIVO GERAL

Determinar o limiar de excitação do sistema nociceptivo em animais (camundongos) submetidos a tratamento com diferentes doses de cloreto de magnésio (MgCl<sub>2</sub>), associado ou não com paracetamol e clonazepam.

## OBJETIVOS ESPECÍFICOS

a) Aferir os tempos de reação ao calor em camundongos Swiss submetidos a tratamento com diferentes doses de MgCl<sub>2</sub> combinado ou não com paracetamol.

b) Determinar os tempos de reação ao calor em camundongos Swiss submetidos a tratamento com uma dose de MgCl<sub>2</sub> combinado ou não com clonazepam.

## MATERIAIS E MÉTODOS

**Animais experimentais** – Foram utilizados camundongos albinos Swiss machos adultos, procedentes do Biotério do laboratório de Fisiologia farmacologia da Universidade Federal do Acre (UFAC), entre 8 e 10 semanas de idade e massa corporal entre 30 e 45 gramas, mantidos em regime de claro/escuro de 12/12 horas e com água e comida *ad libitum*, bem como temperatura ambiental constante de 25°C. Os grupos experimentais foram constituídos de 6 animais cada, escolhidos de forma aleatória, partindo do pré-requisito da homogeneidade da população e estratificação por massa corporal. As Tabelas 1 e 2 apresentam os tratamentos propostos e o desenho experimental. Todos os animais foram manipulados segundo as normas do CONSEA (Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal) atendendo às normas da Comissão de Ética no Uso de Animais da UFAC, processo nº 23107.014614/2014-90 e protocolo número 36/2014.

**Preparação e administração de MgCl<sub>2</sub>** – Em 1,0g de MgCl<sub>2</sub> hexahidratado (UNIPHAR/Brasil) adicionou-se água destilada até o volume de 10 mL (aproximadamente 100mgmL<sup>-1</sup>). Cada animal experimental recebeu as doses do MgCl<sub>2</sub> de acordo com o planejamento experimental presente nas Tabelas 1 e 2 enquanto que os animais controle negativo receberam água destilada.

**Preparação e administração do paracetamol** – Em 125mg de paracetamol (Tylaflex pela MEDQUIMICA/Brasil) adicionou-se água destilada até o volume de 60mL (aproximadamente 2.08mgmL<sup>-1</sup>). Cada animal experimental recebeu a dose de paracetamol de acordo com o planejamento experimental presente na Tabela 1, enquanto que os animais controle negativo receberam água destilada.

**Tabela 1.** Esquema de tratamento. Ação do cloreto de magnésio (MgCl<sub>2</sub>) sobre a atividade analgésica induzida por paracetamol (parac.) em camundongos Swiss adultos machos.

Grupo experimental	Det. Basal	Tratamento		Det. Pós-trat.	
GI	PQ	MgCl <sub>2</sub> (100mg Kg <sup>-1</sup> )	parac.(12,5mg Kg <sup>-1</sup> )	PQ	PQ
GII	PQ	MgCl <sub>2</sub> (130mg Kg <sup>-1</sup> )	parac.(12,5mg Kg <sup>-1</sup> )	PQ	PQ
GIIC+	PQ	água dest.(0,10ml)	parac.(12,5mg Kg <sup>-1</sup> )	PQ	PQ
GIVc-	PQ	água dest.(0,10ml)	água dest.(0,10ml)	PQ	PQ
Tempo (min.)	-60	0	30	90	120

DET. BASAL: determinação basal; DET. PÓS-TRAT.: determinação pós-tratamento; PQ: Placa quente; n=6; GI: grupo I; GII: grupo II; GIIC+: grupo III (controle positivo); GIVc-: grupo IV (controle negativo). A administração de MgCl<sub>2</sub> ocorreu via intraperitoneal enquanto que a administração do paracetamol se deu por via oral. Os valores referentes aos “tempos de reação” foram comparados estatisticamente. -60: indica uma hora anterior ao início do experimento.

**Tabela 2.** Esquema de tratamento. Ação do clonazepam (clon.) sobre a atividade analgésica induzida por cloreto de magnésio (MgCl<sub>2</sub>) em camundongos Swiss adultos machos.

Grupo experimental	Det. Basal	Tratamento		Det. Pós-trat.	
GI	PQ	clon.(0,066mg Kg <sup>-1</sup> )	MgCl <sub>2</sub> (130mg Kg <sup>-1</sup> )	PQ	PQ
GIIC+	PQ	água dest.(0,10ml)	MgCl <sub>2</sub> (130mg Kg <sup>-1</sup> )	PQ	PQ
GIIC-	PQ	água dest.(0,10ml)	Água dest.(0,10ml)	PQ	PQ
Tempo (min.)	-60	0	30	90	120

DET. BASAL: determinação basal; DET. PÓS-TRAT.: determinação pós-tratamento; PQ: Placa quente; n=6; GI: grupo I; GIIC+: grupo II (controle positivo); GIIC-: grupo III (controle negativo). A administração de clonazepam se deu via oral enquanto que a administração de MgCl<sub>2</sub> ocorreu via intraperitoneal. -60: indica uma hora anterior ao início do experimento. Os valores referentes aos “tempos de reação” foram comparados estatisticamente.

**Preparação e administração do clonazepam** – Em 0,125mg de clonazepam (clonam /Lab. Cristália/Brasil) adicionou-se água destilada até o volume de 10mL (aproximadamente 0,0125 mgmL<sup>-1</sup>). Cada animal experimental recebeu a dose de clonazepam de acordo com o planejamento presente na Tabela 2, enquanto que os animais controle negativo receberam água destilada. As doses utilizadas foram definidas da seguinte forma:

*a- cloreto de magnésio:* A partir de uma curva “dose-resposta” feita em camundongos, se determinou a dose com atividade mais expressiva segundo os objetivos do trabalho.

*b-paracetamol:* A partir das doses utilizadas no ser humano e referidas nas bulas do medicamento e por meio de uma curva “dose-resposta” realizada em camundongos, obteve-se a dose com atividade adequada para esses animais. O excipiente ligado ao medicamento não foi extraído.

*c-clonazepam:* A partir das doses utilizadas no homem e referidas nas bulas do medicamento realizou-se uma curva “dose-resposta” em camundongos, no sentido de se obter a dose adequada. O excipiente ligado ao medicamento não foi extraído.

**Determinação da atividade analgésica** – A analgesia foi determinada através do teste da “placa quente”,<sup>14</sup> utilizando um analgesímetro do tipo “hot plate” marca *Insight*. A placa foi mantida a temperatura constante de 51.0°C. Na prova, o animal de experimentação foi colocado sobre a placa de tal

forma que os membros posteriores ficaram em contato com a superfície quente da placa simultaneamente e se determinou por meio de observação visual e cronômetro digital o tempo que o animal demorou para lamber qualquer um dos membros posteriores (tempo de reação). Esse tempo é, de fato, uma medida indireta do “limiar de excitação” das terminações nervosas livres ou receptores de dor. O tempo máximo de prova foi de 25 segundos para não causar comprometimento dos receptores cutâneos. O primeiro controle nos experimentos 1 e 2 foi o próprio animal de experimentação de modo que antes do procedimento experimental o animal foi colocado na “placa quente” para determinar o tempo de reação basal. O segundo controle foi o próprio grupo de animais controle em cada um dos experimentos. Em todos os casos foi feito um estudo de amostras independentes. A variável utilizada foi de razões ou proporcional e o “indicador” para aferir a mesma foi o “tempo de reação”.

**Tratamento estatístico** – Foram utilizados os testes de Mann Whitney (não paramétrico) e o teste “t” de Student (paramétrico) para amostras consideradas muito pequenas (n<8) e independentes, com intervalo de confiança de 95% (p<0,05).<sup>15</sup> Para comprovar a distribuição normal dos valores obtidos nos experimentos utilizou-se a prova de Shapiro-Wilk com uma confiança de 95%. Os resultados foram expressos através da “média aritmética grupal” e o “erro padrão da média”. Para considerar diferenças entre grupos, ambas as provas devem indicar diferenças significativas.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

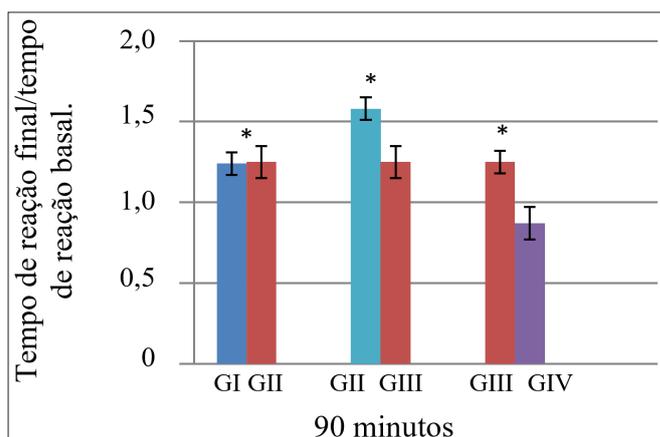
### Experimento 1

O Gráfico 1 mostra que aos 90 minutos da administração de MgCl<sub>2</sub>, os Grupos I (tratado) e III (controle positivo) mostraram atividade analgésica significativa com relação ao controle negativo (Grupo IV), entretanto, a resposta analgésica foi de igual magnitude, ou seja, estatisticamente igual para ambos os grupos (I e III). Dessa forma, não houve atividade analgésica do MgCl<sub>2</sub> na dose de 100 mgKg<sup>-1</sup> de massa corporal e que a analgesia obtida se deve à ação do paracetamol. O Grupo II (tratado) e o Grupo III (controle positivo) mostraram atividade analgésica estatisticamente diferente quando comparados com o grupo controle negativo (Grupo IV), sendo que a atividade analgésica maior esteve presente no Grupo II. Assim, a dose de 130mgKg<sup>-1</sup> de massa corporal de MgCl<sub>2</sub> parece ter efeito potencializador em associação com o paracetamol. Esses resultados podem ser explicados em função dos princípios da analgesia, de fato, para que ocorra a ação analgésica, a condução ou a geração de potenciais de ação no sistema de algesia deve estar bloqueada ou limitada. A percepção da dor depende fisiologicamente de: a) sistema de geração e condução de sinais dolorosos; b) sistema de interpretação dos sinais de dor. O primeiro é formado por terminações nervosas ou receptores de dor, assim como as vias periféricas de condução dos sinais e tratos espinho-talâmicos, enquanto que o segundo componente é constituído por estruturas localizadas no tálamo e córtex cerebral somato-sensitivo (giro pós-central), estas últimas analisam os sinais procedentes dos nociceptores e integram esses sinais, produzindo a percepção da dor.<sup>1,16,17</sup>

Aumentos nos níveis plasmáticos de Mg<sup>+2</sup> e no líquido extracelular, condicionam provavelmente a despolarização neuronal em função de sua tendência eletroquímica, de fato, sobre o íon magnésio atua uma força elétrica ( $F=q.E$ ) onde:  $+q$ =valor da carga iônica;  $E$ =campo elétrico transmembranar (reflexo do potencial de membrana) além do aumento do gradiente de concentração que também facilita probabilisticamente o influxo do íon. A despolarização pode tornar o neurônio mais ou menos excitável em dependência do valor do limiar de excitação do mesmo. O possível “bloqueio” dos receptores NMDA (N-metil-D-aspartato) por parte do íon magnésio<sup>5</sup> não condiciona hiperpolarização.

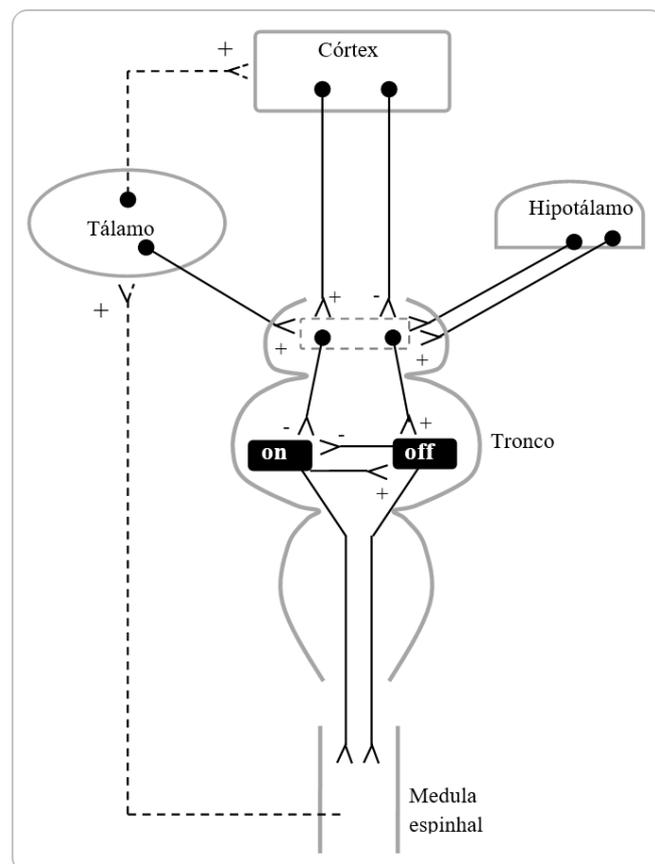
Dessa forma, é provável que, em um nível de despolarização acima do valor de limiar de excitabilidade do sistema da dor, associado ou não a um determinado grau de “bloqueio” dos canais de sódio e cálcio em função das concentrações de magnésio,<sup>5</sup> tragam como consequência final a não geração e/ou propagação de potenciais de ação. Outra possibilidade seria por meio do sistema analgésico endógeno,<sup>1,18</sup> formado por diversas estruturas situadas principalmente no tronco encefálico e medula espinhal as quais modulam as informações oriundas dos receptores de dor regulando assim as informações algésicas que chegam ao tálamo e córtex somato-sensorial. A seleção da informação no tronco cerebral e medula espinhal, se realiza por meio de múltiplas conexões neurais do tipo excitatórias e inibitórias (Figura 1).

**Gráfico 1.** Ação analgésica do paracetamol em animais pré-tratados com diferentes doses de cloreto de magnésio.



Nota: Estão representados a média e o erro padrão da média do tempo de reação final/tempo de reação basal. GI - MgCl<sub>2</sub>(100mg Kg-1)+paracetamol.; GII - MgCl<sub>2</sub>(130mg Kg-1)+paracetamol.; GIII - paracetamol.; GIV - água destilada.(\* Diferença estatisticamente significativa.

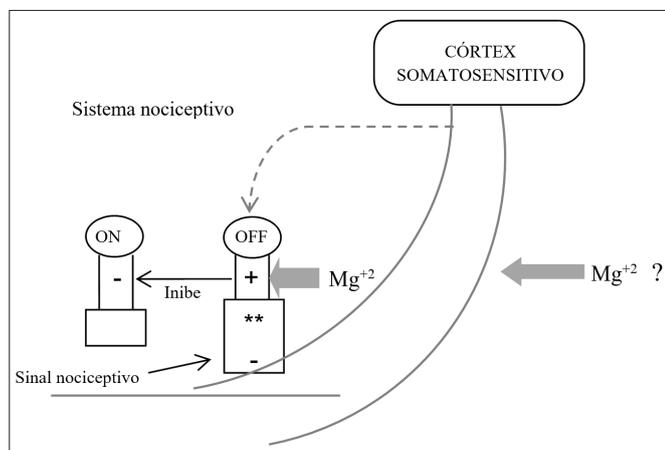
**Figura 1.** Sistema nociceptivo em associação com o sistema analgésico endógeno.



Nota: as linhas em vermelho indicam o trato anterolateral, via esta que transmite a informação da dor e temperatura. As linhas em preto indicam as vias do sistema analgésico endógeno e como estas, mediante circuitos ‘on-off’ modulam os sinais nociceptivos que penetram na medula espinhal.

De fato, a despolarização parcial ou total de parte deste sistema (componente OFF), poderia condicionar a liberação de neurotransmissores excitatórios e/ou inibitórios bem como a geração ou não de potenciais de ação a partir de estruturas centrais do mesmo tais como: núcleos do Rafe, substância cinzenta periaquedutal<sup>1,16</sup> e outras, como por exemplo, as vias descendentes da medula espinhal ou especificamente na substância gelatinosa (lâminas de Rexed) nos cornos posteriores da própria medula espinhal.<sup>18</sup> A ativação do componente OFF, inibe o componente ON e simultaneamente bloqueia a entrada dos sinais nociceptivos procedentes das raízes posteriores da medula espinhal (Figura 2). Diversos autores defendem que mudanças na integridade das membranas neuronais se refletem em importantes modificações do estado coloidal intracelular, que altera sua constituição de sistema sólido para gel,<sup>19</sup> estabilizando a membrana, e aumentando o limiar de excitabilidade, essa forma de interpretação é chamada de “teoria física”. Esses efeitos poderiam ter ocorrido tanto em nível periférico quanto central. A estabilidade da membrana aumenta o limiar de excitabilidade, dificultando, portanto, a gênese e/ou a condução do potencial de ação até as estruturas centrais envolvidas com a algisia.<sup>1</sup> Acredita-se que o paracetamol inibe a síntese de prostaglandinas provavelmente da série “E” (entre outros mecanismos propostos). O paracetamol devido a sua ação redutora intervém no metabolismo relacionado à síntese da enzima ciclooxigenase.<sup>20</sup>

**Figura 2.** Mecanismo proposto para a ação analgésica do MgCl<sub>2</sub>.

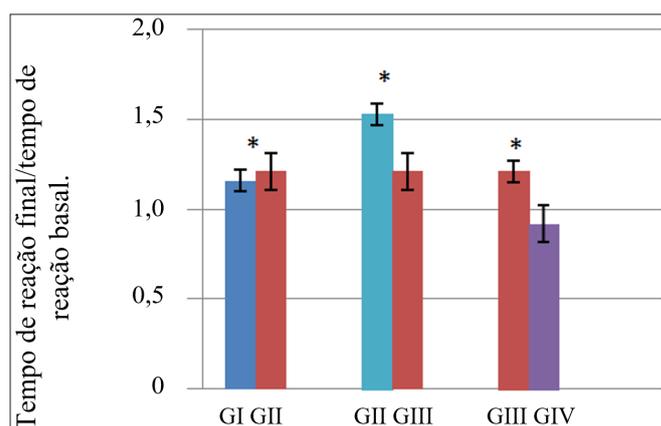


Nota: o influxo de Mg<sup>2+</sup> no sistema algésico poderia condicionar hiperalgisia ou hipoalgisia dependendo da magnitude do influxo. A despolarização causada pelo influxo de Mg<sup>2+</sup> no sistema analgésico endógeno (OFF), poderia estar ativando o mesmo e portanto, bloqueando a passagem do sinal nociceptivo através do sistema algésico. Os asteriscos representam neurotransmissores. Os sinais de + e - indicam estimulação e inibição respectivamente.

Além disso, o paracetamol pode interferir nos mecanismos de síntese e/ou ação fisiológica de determinados mediadores químicos da resposta nociceptiva, em nível central e/ou periférico, diminuindo assim a percepção da dor.<sup>10</sup> Aos 120 minutos após a administração de MgCl<sub>2</sub> (Gráfico 2) a resposta dos animais não foi diferente quando comparado com o tempo de 90 minutos.

De fato, a resposta foi essencialmente igual, e nos gráficos obtidos observa-se somente uma pequena tendência no Grupo I de retornar aos valores basais. É provável que neste caso a presença do MgCl<sub>2</sub> na dose de 100 mgKg<sup>-1</sup> de massa corporal, além de não ser efetiva, também não atua de forma a potencializar a resposta analgésica mediada pelo paracetamol. Além disso, poderia estar reduzindo a sua possível efetividade analgésica (não estatisticamente significativa) aos 120 minutos e, portanto, acelerando a queda da resposta analgésica. Provavelmente, a dose de 100 mgKg<sup>-1</sup> de massa corporal de cloreto de magnésio não foi suficiente ou então não houve adequada absorção capilar resultando em níveis abaixo da concentração plasmática terapêutica. Os Grupos II e IIIc+ permaneceram estatisticamente diferentes, semelhante ao que ocorreu entre esses dois grupos aos 90 minutos, e finalmente os Grupos IIIc+ e IVc- conservaram também a diferença estatística significativa que mostraram aos 90 minutos, sendo que a tendência à redução da resposta no Grupo IIIc+ foi verificada no tempo de 120 minutos.

**Gráfico 2.** Ação analgésica do paracetamol em animais pré-tratados com diferentes doses de cloreto de magnésio.



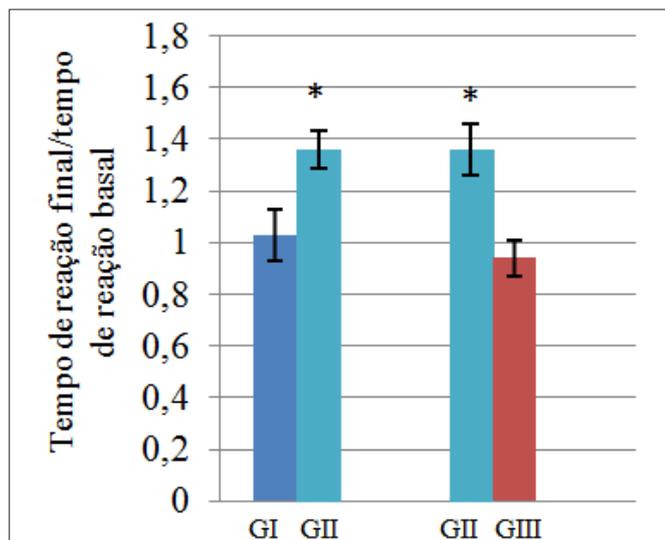
Nota: Estão representados a média e o erro padrão da média do tempo de reação final/tempo de reação basal. GI - MgCl<sub>2</sub> (100mg Kg<sup>-1</sup>)+paracetamol; GII - MgCl<sub>2</sub> (130mg Kg<sup>-1</sup>)+paracetamol.; GIII - paracetamol.; GIV - água destilada.(\*) Diferença estatisticamente significativa.

## Experimento 2

O GrupoIIc+ apresentou atividade analgésica estatisticamente significativa quando comparado com o Grupo I aos 90 minutos (Gráfico 3A). Quando comparados os GIIc+ e GIIIc- (controle positivo e negativo respectivamente) a diferença estatística também existe, o que deve ser atribuído ao tratamento com MgCl<sub>2</sub> administrado ao Grupo IIc+. Aos 120 minutos o Grupo IIc+ mostrou maior atividade analgésica se comparado com os Grupos I e IIIc- (Gráfico 3B). Esses resultados podem ser explicados em função da ausência de atividade analgésica no Grupo I (clonazepam) em ambos os tempos de provas, e da atividade analgésica no Grupo IIc+ (MgCl<sub>2</sub>), reforçando a ideia de que a atividade analgésica encontrada neste último grupo parece estar associada à despolarização (parcial ou total) e não a uma hiperpolarização, uma vez que, no Grupo I (pré

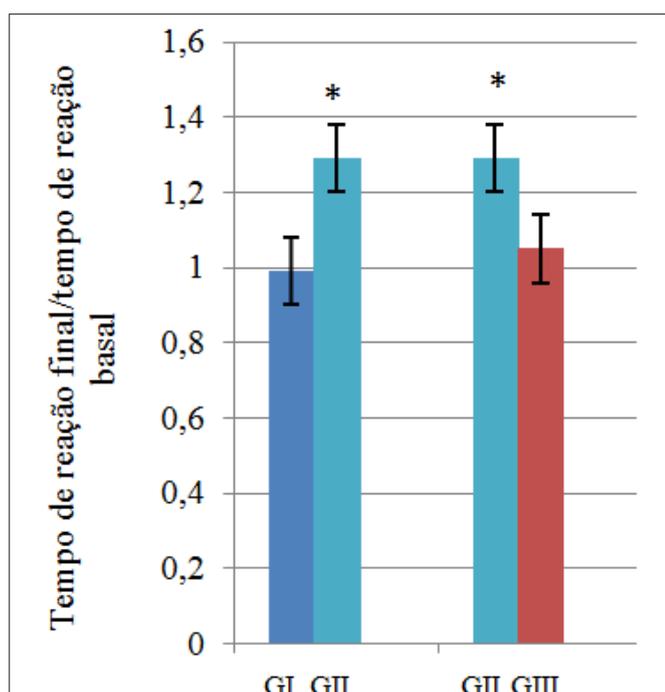
tratado com clonazepam), parece ter ocorrido bloqueio total ou quase total da ação analgésica do  $MgCl_2$ , provavelmente devido ao conteúdo supostamente elevado de  $Cl^-$  no interior dos neurônios dos animais deste grupo.

**Gráfico 3A.** Ação do clonazepam sobre a atividade analgésica induzida por cloreto de magnésio, se representa a média e o erro padrão da média do tempo de reação final/tempo de reação basal. (90 minutos).



Nota: GI - clon.+ $MgCl_2$  (130mg  $Kg^{-1}$ ); GII -  $MgCl_2$  (130mg  $Kg^{-1}$ ); GIII - água destilada.(\*). Diferença estatisticamente significativa.

**Gráfico 3B.** Efeitos do clonazepam sobre a atividade analgésica induzida por cloreto de magnésio, se representa a média e o erro padrão da média do tempo de reação final/tempo de reação basal. (120 minutos).

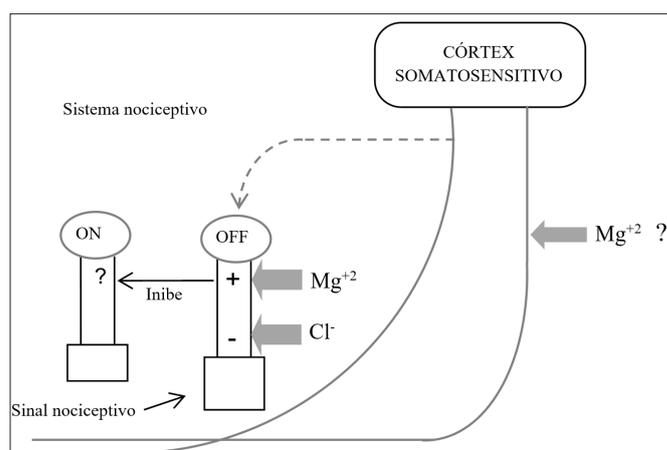


Nota: GI - clon.+ $MgCl_2$  (130mg  $Kg^{-1}$ ); GII -  $MgCl_2$  (130mg  $Kg^{-1}$ ); GIII - água destilada.(\*). Diferença estatisticamente significativa.

Provavelmente neste caso, a ação farmacológica do clonazepam na dose empregada foi expressiva no nível do sistema analgésico endógeno (principalmente no componente OFF), causando “hiperpolarização”, devido à entrada massiva de  $Cl^-$  no meio intracelular neuronal (Figura 3) o que impediu a despolarização efetiva por parte do íon  $Mg^{+2}$ , e/ou devido à possível ação do clonazepam<sup>11</sup> na redução direta ou indireta da síntese e/ou liberação de neurotransmissores,<sup>1</sup> que não permitiu a ação estimuladora correta do íon  $Mg^{+2}$ . A inibição do componente OFF, facilita o componente ON (Figura 3). Se a ação do clonazepam ocorreu no sistema nociceptivo, então provavelmente o Grupo I mostraria ação analgésica. O fato de aumentar o nível de  $MgCl_2$  nos líquidos extracelulares implica na elevação do  $Cl^-$  extracelular, substrato básico da ação do clonazepam. O  $Cl^-$  se distribui passivamente dependendo do potencial de membrana em repouso.<sup>1</sup>

Quando comparados entre si os Grupos IIc+ e IIIc-, os resultados complementam os dados previamente discutidos, uma vez que o Grupo IIc+ mostrou ação analgésica estatisticamente significativa com relação a si próprio e com relação ao Grupo IIIc-, que recebeu tratamento com água destilada, demonstrando mais uma vez a atividade analgésica do  $MgCl_2$ . Aos 120 minutos de experimentação, os resultados são similares aos obtidos anteriormente (90 minutos) o que reafirma a permanência das diferenças estatisticamente significativas. Assim, o Grupo I continua sem atividade analgésica enquanto que o Grupo IIc+ continua mostrando ação analgésica, e finalmente o Grupo IIIc- sustenta a sua condição de não analgesia (Gráfico 3 B).

**Figura 3.** Mecanismo proposto para a ação do clonazepam.



Nota: a despolarização causada pelo influxo de  $Mg^{+2}$  no sistema analgésico endógeno (OFF) poderia estar sendo bloqueada pelo influxo de cloreto, e portanto facilitando a passagem do sinal nociceptivo através do sistema algésico. Se o cloreto estivesse penetrando no sistema algésico, então, provavelmente haveria analgesia. Os sinais de + e - indicam estimulação e inibição respectivamente.

## CONCLUSÕES

As doses administradas aos animais e o modelo experimental escolhido para realizar as determinações do efeito analgésico, assim como os tempos de provas utilizados, levaram a concluir que o MgCl<sub>2</sub> na dose de 100 mgkg<sup>-1</sup> de massa corporal não mostrou atividade analgésica nos tempos 90 e 120 minutos, enquanto que, na dose de 130 mgkg<sup>-1</sup> de massa corporal, potencializou a ação analgésica do paracetamol nos tempos de 90 e 120 minutos.

## REFERÊNCIAS

1. Puopolo M. The hypothalamic-spinal dopaminergic system: a target for pain modulation. *Neural Regen Res.* 2019;14(6):925-30.
2. Araújo CC, Ashmawi HA, Paula PI. Sexo e percepção da dor e analgesia. *Rev Bras Anestesiologia.* 2011;61(6):814-28.
3. Gaumont I, Arsenault P, Marchand S. Specificity of female and male sex hormone on excitatory and inhibitory phases of formalin-induced nociceptive response. *Brain Res.* 2005;1052(1):105-11.
4. Barbosa FT, Barbosa L, Cunha RM. Uso do sulfato de magnésio por via intravenosa e nebulização para tratamento de asma aguda na emergência. *Rev Bras Ter Int.* 2007;19(3):369-73.
5. Li X, Markou A. Metabotropic glutamate receptor 7 (mGluR7) as a target for the treatment of psychostimulant dependence. *CNS Neurol Disord Drug Targets.* 2015;14(6):738-44.
6. Boanca M, Popa EG, Lupusoru RV, Poroch V, Mititelu-Tartau L, Luposoru CE. The effects of magnesium nanovesicle formulations on spatial memory performance in mice. *Rev Med Chir Soc Med Nat Iasi.* 2014;118(3):847-53.
7. Zhou HX, Wollmuth LP. Advancing NMDA receptor physiology by integrating multiple approaches. *Trends Neurosci.* 2017;40(3):129-37.
8. Barbosa FT, Barbosa L, Cunha RM. Usos do sulfato de magnésio em obstetrícia e em anestesia. *Ver Bras Anestesiologia.* 2010;60(1):104-10.
9. De Rossi R, Pompermeyer CT, Silva-Neto AB, Barros AL, Jardim PH, Frazílio FO. Sulfato de magnésio prolonga a analgesia epidural lombosacral induzida pela quetamina em carneiros. *Acta Cir Bras.* 2012;27(2):137-43.
10. Tauben D. Nonopioid medications for pain. *Phys Med Rehabil Clin N Am.* 2015;26(2):219-48.
11. Corrigan R, Derry S, Wiffen PJ, Moore RA. Clonazepam for neuropathic pain and fibromyalgia in adults. *Cochrane Database Syst Rev.* 2012;16(5):1-13.
12. Sankar R. GABA(A) receptor physiology and its relationship to the mechanism of action of the 1,5-benzodiazepine clobazam. *CNS Drugs.* 2012;26(3):229-44.
13. Altamura AC, Moliterno D, Paletta S, Maffini M, Mauri MC, Bareggi S. Understanding the pharmacokinetics of anxiolytic drugs. *Expert Opin Drug Metab Toxicol.* 2013;9(4):423-40.
14. Cabral JS, Saraiva SR, Oliveira RG Júnior, Almeida JR. Modelos experimentais para avaliação de atividade antinociceptiva de produtos naturais: uma revisão. *Rev Bras Farm.* 2013;94(1):18-23.
15. Fonseca JS. Distribuições amostrais. In.: Fonseca JS, Andrade G. *Curso de Estatística.* 6. ed. São Paulo: Atlas; 1996. p. 240-3.
16. Machado A. *Neuroanatomia funcional.* 2. ed. São Paulo: Atheneu; 2000. Capítulo 15, Estrutura da medula espinhal; p. 35-47.
17. Calixto JB, Yunes RA. Natural bradykinin antagonist. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 1991;86(2):195-202.
18. Reschetniak VK, Kukushkin ML, Gurko NS. [The importance of the cortex and subcortical structures of the brain in the perception of acute and chronic pain]. *Patol Fiziol Eksp Ter.* 2014;4:96-110. Article in Russian.
19. Sonner JM, Cantor RS. Molecular mechanisms of drug action: an emerging view. *Annu Rev Biophys.* 2013;42:143-67.
20. Smith HS. Potential analgesic mechanism of acetaminophen. *Pain Physician.* 2009;12(1):269-80.

### Como citar:

Treto RR, Cunha RM, Pinto WJ. Atividade analgésica em camundongos Swiss submetidos a diferentes doses de cloreto de magnésio (MgCl<sub>2</sub>) associado ou não a paracetamol e clonazepam. *Rev Med UFC.* 2021;61(1):1-7.