

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ACRE
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA, INOVAÇÃO E TECNOLOGIA
PARA A AMAZÔNIA - CITA**

**Caracterização farmacológica do $MgCl_2$ e extrato
hidroalcoólico da raiz de *Eclipta alba* a 30% através de
modelos experimentais de analgesia e atividade motora em
camundongos swiss**

Rafael Ramón Rodríguez Treto

Rio Branco- AC

2015



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ACRE
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA, INOVAÇÃO E TECNOLOGIA
PARA A AMAZÔNIA - CITA

**Caracterização farmacológica do $MgCl_2$ e extrato
hidroalcoólico da raiz de *Eclipta alba* a 30% através de
modelos experimentais de analgesia e atividade motora em
camundongos swiss**

Rafael Ramón Rodríguez Treto

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência, Inovação e Tecnologia para a Amazônia, da Universidade Federal do Acre, como requisito parcial para a obtenção do grau de **Mestre *Stricto Sensu*** em Ciências. Área de Concentração: Ciência e Inovação Tecnológica

Orientador _____

Prof. Dr. Renildo Moura da Cunha

Co-orientador _____

Prof. Dr. Wagner de Jesus Pinto

**Rio Branco- AC
2015**

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ACRE
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA, INOVAÇÃO E TECNOLOGIA PARA A AMAZÔNIA-
CITA

Rafael Ramón Rodríguez Treto

Caracterização farmacológica do $MgCl_2$ e extrato hidroalcoólico da raiz de *Eclipta alba* a 30% através de modelos experimentais de analgesia e atividade motora em camundongos swiss

DISSERTAÇÃO APROVADA EM:

.....
Prof. Dr Renildo Moura da Cunha (orientador)
Universidade Federal do Acre

.....
Prof. Dr Quintino Moura Dias
Laboratório Fio Cruz (Rondônia)

.....
Prof. Dr Fernando Ferrari Alves
Universidade Federal do Acre

A Yolaine y Amandita,

Para que sirva de ejemplo en el duro bregar
por el camino del conocimiento.

Dedico

AGRADECIMENTOS

Aos orientadores Dr. Renildo Moura da Cunha e Dr. Wagner de Jesus Pinto pelo apoio na realização do trabalho.

À Universidade Federal do Acre, ao PPG-CITA pela oportunidade de realizar esta pesquisa.

Aos professores das diferentes disciplinas cursadas, pela contribuição à minha formação individual e indiretamente na realização desta pesquisa.

Aos alunos do curso de Medicina da UFAC, Lukas Vieira de Lima, Mardelson Nery de Souza e Luis Aaron Silverio Gutierrez pela ajuda na realização dos experimentos.

A todos os colegas do curso de mestrado que enriqueceram as aulas com suas experiências e conhecimentos.

A Nágila pelo apoio recebido em todo momento.

*No pretendas que las cosas cambien, si siempre
actúas de la misma manera*

Albert Einstein

*A mente que se abre a uma nova idéia, jamais
voltará a seu tamanho original*

Albert Einstein

RESUMO

A dor, considerada manifestação “psicofisiológica” onde se integram sinais interpretados como “desagradáveis”, resulta de vital importância dentre os mecanismos adaptativos nos mamíferos devido ser o sistema de aviso dos danos tissulares. Diferentes fatores modulam esta especial percepção, tal é o caso do íon magnésio e dos medicamentos Paracetamol e Clonazepam bem como extratos de plantas que ao alterar a excitabilidade do sistema nociceptivo modulam a percepção dolorosa. A atividade motora somática nos mamíferos depende dentre outros, de um sistema aversivo e outro de inibição comportamental, onde diversos estímulos(sinais) podem definir condutas motoras exploratórias quanto de esquiva. Diversos fatores modulam esta conduta por exemplo a distribuição iônica em ambos os lados das membranas neuronais, determinando assim diferentes níveis de excitabilidade neuronal do sistema motor somático.

Objetivos: Determinar os tempos de reação ao calor nos animais de experimentação (camundongos) submetidos a diferentes doses de Cloreto de Magnésio (combinado ou não com Paracetamol ou Clonazepam); Determinar os tempos de reação ao calor nos animais submetidos a tratamento com extrato hidroalcoólico a 30% da raiz de *Eclipta alba*; Determinar a ação de diferentes doses de Cloreto de Magnésio, Clonazepam bem como exercício físico (combinados ou não) sobre a atividade motora em camundongos. **Material e Métodos:** Foram utilizados 144 camundongos Swiss machos adultos jovens, cronômetro, analgesímetro, Cloreto de Magnésio ($MgCl_2$) hexahidratado, Paracetamol, Clonazepam e extrato hidroalcoólico a 30% obtido da raiz de *Eclipta alba*. A analgesia foi determinada através do teste da “placa quente” sendo a atividade motora avaliada através do teste do “campo aberto”. **Resultados e Discussão:** A dose de 130mg/kg de Cloreto de Magnésio combinada ou não com Paracetamol induziu analgesia provavelmente através da despolarização dos sistemas nociceptivo e analgésico endógeno. A suposta hiperpolarização do sistema analgésico endógeno ocasionada por Clonazepam provavelmente bloqueou a atividade analgésica do Cloreto de Magnésio (130mg/Kg). É provável que as atividades antioxidante e inibidora da fosfolipase A2 por parte de polifenóis e flavonóides respectivamente, junto a fenóis e mandelolactona, (inibidores estes das prostaglandinas), encontrados todos nos extratos fluídos de *Eclipta Alba* (500 e 250 mg/kg), também tenham induzido analgesia através da diminuição na sínteses de prostaglandinas. As doses de 24,4 e 27,7 mg de Mg/Kg induziram aumento da atividade motora nos animais de experimentação

provavelmente devido à despolarização parcial do sistema motor. As doses de 100 e 130 mg/Kg de MgCl₂ combinadas com Clonazepam provocaram aumento da atividade motora devido talvez à despolarização neuronal, o Clonazepam combinado com atividade física (natação) potencializou a atividade motora, provavelmente através de mecanismos de plasticidade neuronal. **Conclusões:** O Cloreto de Magnésio parece ter potencializado o efeito analgésico do Paracetamol. Já o Clonazepam na dose empregada (0.066mg/Kg), parece ter bloqueado o efeito analgésico do Cloreto de Magnésio. Pelo menos parte do efeito analgésico do Cloreto de Magnésio pode ser atribuído à ação despolarizante sobre o sistema analgésico endógeno. O extrato hidroalcoólico a 30% da raiz de *Eclipta alba* mostrou atividade analgésica “per si” comparável com o efeito do Paracetamol entre 60 e 120 minutos de prova. O Cloreto de Magnésio combinado ou não com Clonazepam (0.066mg/Kg) provocou aumento na atividade motora dos animais de experimentação. O Clonazepam (0.033mg/Kg) combinado com atividade física provocou aumento da atividade motora provavelmente através dos mecanismos de plasticidade neuronal.

Palavras chaves: Analgesia. Cloreto de Magnésio. *Eclipta alba*. atividade física. plasticidade neuronal.

ABSTRACT

Pain, considered as a “psycho-physiological” concept where signs interpreted as “uncomfortable” are integrated results of vital importance among the adapting mechanisms in the mammals, due to being an alarm system of the tissue damages. Different factors module this special perception, such as the magnesium and the Paracetamol, as well as the Clonazepam, as plant stratum when altering the excitability of the nociceptive system modulating the pain perception. The somatic motor activity in mammals depends on an aversive system and another one of behavioral inhibition, where different signs may define the motor activity(exploratory and avoidance). Different factors module this behavior, for instance, the ionic distribution in both sides of the neuronal membranes, determining different excitability neuronal levels in the somatic motor system. **Objectives:** To determine the reaction time to the heat in experimental mice subject to different doses of magnesium chloride (combined or not with, Paracetamol or Clonazepam) and hydro-alcoholic stratum, 30% of *Eclipta alba* dead root. To determine the motor activity in experimental mice subject to different doses of magnesium chloride, Clonazepam and physical activities combined or not. **Material and Methods:** 144 male Swiss mice, stopwatch, analgesic-set, hexahydrated magnesium chloride, Paracetamol, Clonazepam and hydro-alcoholic stratum, 30% of *Eclipta alba* dead root are used. The analgesic activity was evaluated through the “hot plate” test and the motor activity was evaluated through the “open field” test. **Results and Discussion:** 130mg/kg of magnesium chloride, combined or not, with Paracetamol, induced analgesia, probably, through the partial depolarization of the nociceptive and endogenous analgesic systems. The hiperpolarization of the endogenous analgesic system, by clonazepam probably blocked the analgesic action of MgCl₂ (130 mg/Kg). It is probable that the antioxidant activity and inhibition of A2 fosfolipase by polyphenols and flavonoids respectively, inhibition of prostaglandins by phenol and mandelolactone, all founds in the fluidity stratum of *Eclipta alba*, (500 e 250 mg/Kg) also induced analgesia(inhibition of prostaglandins syntheses).24.4 e 27.7 mg/Kg of Mg induced motor activity on animals in the process of testing, probably, due to the partial depolarization in the motor system.100 and 130 mg/Kg of MgCl₂ combined whit clonazepam, induced a great motor activity by neuronal depolarization. Clonazepam combined with physical activity potentiated the motor activity, probably by mechanisms of neuronal plasticity. **Conclusions:** The magnesium chloride potentiated the analgesic effect of the Paracetamol, whereas the Clonazepam (0.066 mg/Kg)

seems to have blocked the analgesic effect of the magnesium chloride. At least part of its analgesic effect could be attributed to the depolarization on the endogenous analgesic system. The hydro-alcoholic stratum, 30% of *Eclipta alba* dead root, showed analgesic activity “per se”, compared to the effect of the Paracetamol between 60 and 120 minutes. Magnesium chloride, combined or not, with Clonazepam(0.066mg/Kg) increased the motor activity on animals in the process of testing. Clonazepam(0.033 mg/Kg) combined with the physical activity (swimming) potentiates the motor system (increase in the motor activity), probably through the mechanism of neuronal plasticity.

Key words: Analgesic. magnesium chloride. *Eclipta alba*. physical activity. neuronal plasticity.

LISTA DE ABREVIATURAS

NMDA	N-Metil D-Aspartato
AINES	Antiinflamatório não esteroidal
COX-2	Ciclooxigenase de ácidos graxos 2
TX	Tromboxanos
PG	Prostaglandinas
AMPc	Adenosina monofosfato cíclico
GABA	Ácido gama amino butírico
AMPA	Alfa-amino-3 hidroxi-metil-5-4-isoxazolpropiónico
NK-1	Receptor de neuroquinina
DNA	Ácido desoxiribonucléico
TNF	Fator de crescimento tumoral
MgSO ₄	Sulfato de magnésio
W	Trabalho físico
F	Força
L	Deslocamento
Ach	Acetilcolina
NA	Noradrenalina
+q	Íon com carga positiva
E	Vetor “Campo elétrico”
L-Dopa	Fármaco precursor da dopamina
SNA	Sistema Nervoso Autônomo
MgCl ₂	Cloreto de magnésio

ARTIGO 1

mg/Kg	Miligramas/Kg de massa corporal
UFAC	Universidade Federal do Acre
ph	Potencial de hidrogênio
CONSEA	Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal
Parac.	Paracetamol
Clon.	Clonazepam
Mg ⁺²	Magnésio
Cl ⁻	Cloreto
TRPV1	Receptor de potencial transiente do tipo vaniloide

ARTIGO 2

Mg	Magnésio
LTP	Potenciação em longo prazo
LTD	Depressão em longo prazo
mg Mg/Kg	Miligramas de magnésio/Kg de peso corporal
mg/Kg/peso	Miligramas/Kg de peso
PMR	Potencial de membrana em repouso
mEq/L	Mili equivalentes grama/litro

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Cascata do ácido araquidônico

Figura 2: Sistema nociceptivo em associação com o sistema analgésico endógeno

Figura 3: Controle motor voluntário

Figura 4: Estruturas presentes no sistema límbico

Figura 5: Estrutura da anfetamina

Figura 6: Estrutura química de dois antipsicóticos tradicionais

3.0 ARTIGO 1

Figura 1: *Eclipta alba*

Tabela 1: Esquema de tratamento do Experimento 1

Tabela 2: Esquema de tratamento do Experimento 2

Tabela 3: Esquema de tratamento do Experimento 3

Figura 2: Sistema nociceptivo em associação com o sistema analgésico endógeno

4.0 ARTIGO 2

Tabela 1: Esquema de tratamento do Experimento 1

Tabela 2: Esquema de tratamento do Experimento 2

Tabela 3: Esquema de tratamento do Experimento 3

Figura 1: Potenciação em longo prazo (LTP) e Depressão em longo prazo (LTD)

LISTA DE GRÁFICOS

3.0 ARTIGO 1

Gráfico 1: Ação analgésica do Paracetamol em animais pré-tratados com diferentes doses de $MgCl_2$ (90 minutos)

Gráfico 2: Ação analgésica do Paracetamol em animais pré-tratados com diferentes doses de $MgCl_2$ (120 minutos)

Gráfico 3: A e B. Ação do Clonazepam sobre a atividade analgésica induzida por $MgCl_2$

Gráfico 4: Ação do extrato fluído de *Eclipta alba* sobre os tempos de reação dos camundongos

Gráfico 5: Ação do Paracetamol sobre os tempos de reação dos camundongos

4.0 ARTIGO 2

Gráfico 1: A,B e C. Efeito do $MgCl_2$ sobre a atividade motora espontânea em camundongos aos 60,120 e 180 minutos

Gráfico 2: A e B. Efeito do $MgCl_2$ sobre a atividade motora espontânea em camundongos

Gráfico 3: A e B. Perfil da atividade motora dos grupos I, II e III tratados com a mesma dose de Clonazepam

Gráfico 4: Quociente entre o número de quadrados percorridos ao final e início do experimento

Gráfico 5: Perfil da atividade motora dos grupos I ,II e III tratados com diferentes doses de Clonazepam

Gráfico 6: Quociente entre o número de quadrados percorridos ao final e início do experimento

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS

LISTA DE FIGURAS E TABELAS

LISTA DE GRÁFICOS

1.0 INTRODUÇÃO.....	16
2.0 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	19
2.1 Nocicepção. Conceito e características.....	19
2.2 Classificação da dor	20
2.2.1 Dor aguda	20
2.2.2 Dor crônica	20
2.3 Mecanismo fisiológico-bioquímico da dor.....	22
2.4 Sistema analgésico endógeno.....	25
2.4.1 Estruturas do sistema analgésico endógeno.....	26
2.4.2 Sistema “on”/ “off”	26
2.5 Fatores que influenciam na dor.....	28
2.5.1 Exercício físico.....	28
2.5.2 O magnésio.....	29
2.5.3 Óleos essenciais e terpenóides.....	30
2.6 Escala para aferir a dor.....	30
2.7 Modelo experimental da placa quente (hot plate).....	31
2.8 O sistema motor somático. Características gerais.....	31
2.9 Estruturas do sistema motor somático.....	32
2.9.1 Córtex pré-motor e córtex motor primário.....	32
2.9.2 Núcleos da base (gânglios basais).....	33
2.9.3 Tronco cerebral.....	34
2.9.4 Cerebelo.....	34

2.9.5 Medula espinhal.....	35
2.9.6 Sistema Piramidal.....	35
2.10 Unidade motora.....	36
2.11 Fluxo de informação no sistema neuromuscular (sistema de sinais).....	37
2.12 Regulação da síntese e liberação de neurotransmissores.....	38
2.13 Movimentos voluntários Regulação.....	39
2.14 Sistema Límbico.....	42
2.15 Fármacos com atividade no sistema motor somático.....	44
2.15.1 Anfetamina.....	44
2.15.2 Antipsicóticos e Neurolépticos.....	44
2.16 Teste do “Campo aberto” (open field)	45
3.0 ARTIGO 1.....	46
4.0 ARTIGO 2.....	67
5.0 ARTIGO 3.....	91
6.0 ARTIGO 4.....	93
7.0 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	95
8.0 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	96
9.0 ANEXOS.....	102

1.0 INTRODUÇÃO

A dor, sem dúvidas é uma percepção extremamente complexa, considerada manifestação “psicofisiológica” onde se integram sinais interpretados como “desagradáveis”. A nocicepção resulta de vital importância dentre os mecanismos adaptativos nos mamíferos devido ser o sistema de aviso dos danos tissulares que acontecem ¹. Diferentes fatores fisiológicos, bioquímicos e de conduta modulam esta especial percepção, tal é o caso do íon magnésio e dos medicamentos Paracetamol e Clonazepam, que alterando a excitabilidade neuronal do sistema nociceptivo modulam a passagem do sinal doloroso através deste, até o córtex somato-sensitivo primário (giro pós central) modificando assim a percepção algica². Paralelamente, no nível do tronco cerebral os sinais nociceptivos induzem como consequência, maior ou menor atividade do sistema analgésico endógeno que terá como função, modular a informação nociceptiva no nível dos cornos posteriores da medula espinhal ³ e com isso, acrescenta-se mais uma forma de modular a percepção dolorosa. Segundo Krishnaswamy citado por Santos ⁴ os extratos fluídos da espécie *Eclipta alba* (agrião do brejo ou erva botão) mostram dentre outras ações, as analgésica e antiinflamatória ações estas, que de alguma forma também estão ligadas aos sistemas nociceptivo e analgésico endógeno, antes referidos. Uma das formas de aferir a atividade analgésica no nível neural, é através do teste da “placa quente”, onde mediante a determinação do tempo de reação do animal de experimentação ao calor, se afere indiretamente o limiar de excitação neural do sistema nociceptivo.³

A atividade motora somática nos mamíferos depende dentre outros mecanismos da necessidade fisiológica de conhecer o meio onde se desenvolvem, e do outro lado do temor de explorar esse novo meio ⁵, portanto dependerá de um sistema aversivo e outro de inibição comportamental, onde diversos sinais condicionados e incondicionados podem definir condutas de exploração, quanto de esquiva, seja esta última, ativa ou passiva e até mesmo em casos extremos de congelamento (ficar imóvel)⁵. Diversos fatores modulam esta conduta, dentre eles a distribuição iônica em ambos os lados das membranas neuronais⁶ e por sua vez essa distribuição iônica determina diferentes níveis de excitabilidade neuronal do sistema motor somático, formado por estruturas localizadas na medula espinhal, tronco encefálico, cérebro, córtex cerebral (giro pré central) ⁷ e músculos estriados. Fisiologicamente a atividade deste sistema depende da relação noradrenalina/serotonina e/ou dopamina /serotonina⁶, indicando num dado

momento o nível de atividade motora, que o sistema de inibição comportamental, antes referido modula. Uma das formas de aferir o grau de estimulação do sistema motor somático em animais (camundongos) é através do modelo de “campo aberto”^{8,9} onde além de se refletir o nível de atividade do sistema motor, também se reflete o nível de “ansiedade” do animal de experimentação através da tendência comportamental maior ou menor, ao congelamento.

Tendo em vista a informação anteriormente referida além de que, o íon magnésio (Mg^{+2}) é o quarto íon mais importante dos líquidos corporais é conhecido popularmente por induzir diversas melhoras nas funções orgânicas especialmente em pessoas da terceira idade, alivia as dores, melhora o estado de ânimo, aumenta a capacidade de memória⁶, ações reportadas para este íon pela Etnomedicina e considerando que cientificamente estão comprovados efeitos como, por exemplo, analgésico⁶. Sendo assim, este trabalho teve como objetivo primeiro: Contribuir à caracterização farmacológica do magnésio (cloreto de magnésio) e o extrato hidroalcoólico a 30% da raiz de *Eclipta alba* através de dois modelos experimentais “in vivo” (analgesia e atividade motora) em camundongos Swiss adultos machos utilizando como referência, medicamentos caracterizados e com ações conhecidas tais como Paracetamol e Clonazepam bem como o exercício físico, fatores todos que mudando a excitabilidade neuronal se colocam na base dos modelos experimentais que serão utilizados neste trabalho. O exercício físico, além de modificar a excitabilidade neuronal, atua simultaneamente e de forma expressiva pelo menos os principais sistemas fisiológicos. Esta pesquisa, sem dúvidas, contribuirá à caracterização farmacológica do $MgCl_2$ e do extrato fluído de *Eclipta alba*, e também, indiretamente estará contribuindo à caracterização dos medicamentos Paracetamol e Clonazepam, daí a sua importância.

O objetivo principal desta pesquisa como referido anteriormente foi: “contribuir à caracterização farmacológica do Cloreto Magnésio ($MgCl_2$), extrato fluído hidroalcoólico a 30% da raiz de *Eclipta alba*, Paracetamol e Clonazepam através dos modelos experimentais de analgesia e atividade motora em camundongos Swiss machos”. Sendo os objetivos específicos:

- a) Aferir os tempos de reação ao calor nos animais de experimentação (camundongos) submetidos a tratamento com diferentes doses de Cloreto de Magnésio combinado ou não com Paracetamol;

- b) Determinar os tempos de reação ao calor nos animais de experimentação (camundongos) submetidos a tratamento com uma dose de Cloreto de Magnésio combinado ou não com Clonazepam;
- c) Determinar os tempos de reação ao calor nos animais de experimentação (camundongos) submetidos a tratamento com diferentes doses do extrato hidroalcoólico a 30% da raiz de *Eclipta Alba*;
- d) Estudar a ação de diferentes doses de Cloreto de Magnésio sobre a atividade motora espontânea em camundongos;
- e) Aferir o nível de relaxamento muscular estriado em camundongos submetidos a diferentes doses de Cloreto de Magnésio combinado ou não com Clonazepam;
- f) Determinar a ação de diferentes doses de Cloreto de Magnésio combinado com uma única dose de Clonazepam sobre a atividade motora em camundongos;
- g) Determinar a ação de diferentes doses de Clonazepam combinado com exercício físico (natação) sobre a atividade motora em camundongos.

2.0 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 NOCICEPÇÃO. CONCEITO E CARACTERÍSTICAS

A dor constitui um mecanismo de alerta importante ao sistema nervoso central sobre os danos celulares e teciduais, de acordo com a “*International association from study of pain*” a dor é uma experiência sensorial e emocional desagradável secundária ao dano tissular corrente ou potencial ou descrito em relação a tal dano¹. A dor é uma manifestação sempre em primeira pessoa porque a experiência psicofísica e emocional gerada por ela, somente é vivenciada, apreciada e experimentada pelo próprio indivíduo¹. A dor apresenta três componentes básicos: a) Tissular, onde estão presentes toda uma série de mecanismos humorais que contribuem à estimulação dos terminais nervosos livres ou nociceptores; b) Neural, onde participam um conjunto de estruturas nervosas centrais e periféricas que transportam e integram sinais procedentes dos nociceptores; c) De conduta, típica expressão da atividade nervosa superior (gritar, chorar, caminhar, etc) que caracteriza a percepção dolorosa¹⁰.

A diferença da percepção da dor entre os sexos é significativa e provavelmente deve-se a diversos fatores de natureza morfológica, fisiológica e bioquímica¹. Os fatores morfológicos referem-se ao próprio desenvolvimento estrutural dos sistemas nervoso central e periférico em ambos os sexos com as suas particularidades, enquanto que os fatores fisiológicos e bioquímicos estão relacionados, por exemplo, ao perfil hormonal. De fato, na estrutura do sistema analgésico endógeno encontram-se receptores de estrogênios e androgênios, e os neurônios deste sistema têm capacidade para sintetizar vários esteróides sexuais e provavelmente, esses esteróides poderiam estar envolvidos na sínteses de mediadores ou neurotransmissores¹. O estradiol interage com os sistemas gabaérgico, glutamatérgico, colinérgico, dopaminérgico, β -endorfinérgico e finalmente, serotoninérgico¹.

O estradiol parece facilitar o processamento espinhal dos sinais nociceptivos², além disso, esse esteróide potencializa a interação do glutamato em seu receptor NMDA (N-metil D-aspartato) aumentando a intensidade dos potenciais pós-sinápticos no hipocampo mediante o aumento prévio do influxo de sódio dado pelo receptor de cainato¹. A testosterona tem efeito hipoálgico no modelo da dor induzida por “formalina” em ratos fêmeas e machos¹. No modelo de neuropatia periférica induzida por etanol, observa-se hiperalgesia mais rapidamente e com

maior intensidade em ratas quando comparadas com ratos¹¹. A quantificação da dor é uma tarefa complexa, uma vez que, envolve vários fatores fisiológicos e bioquímicos, também estão envolvidos aspectos psicológicos, emocionais, motivacionais e culturais¹². A percepção dolorosa não necessita de experiência sensorial prévia, contudo, a dor clínica em geral é mais intensa, duradoura e provoca desconforto pelas reações afetivas e cognitivas associadas, já a dor experimental (induzida pelo homem em animais) é menos intensa e duradoura, e não estão envolvidos processos emocionais e outros de caráter psicológicos¹².

2.2 CLASSIFICAÇÃO DA DOR

A dor pode ser classificada de várias formas, baseado em diferentes critérios como, por exemplo, fisiológico, fisiopatológico, clínico e temporal. Do ponto de vista temporal (duração) a dor pode-se dividir em:

2.2.1 Dor aguda

A dor aguda tem função de alerta e reflete dano celular e tissular real e/ou potencial, portanto, a dor aguda está geralmente ligada a dano nos tecidos ou a processos inflamatórios locais, se caracterizando por calor, rubor e edema¹³. Sua etiologia não é complexa e sua intensidade é variável e de localização espacial específica, nesse caso, portanto existe total correspondência da dor com a região lesada e a extensão da lesão¹⁴. A dor com essas características chama-se “dor fisiológica”.

Entretanto, quando os mecanismos neurofisiológicos envolvidos na gênese e manutenção da dor se modificam, então a dor se converte em “dor patológica”¹⁵. A “teoria da comporta” publicada em 1965 busca explicar o sistema nervoso como um todo interativo e multifuncional sendo capaz de receber, organizar, interpretar, modular e finalmente responder eficientemente aos estímulos de forma diferenciada com base nos mecanismos de plasticidade neuronal. Essa plasticidade neuronal inerente ao sistema nervoso está presente em todas as funções deste sistema e em particular na função nociceptiva.

2.2.2 Dor crônica

É aquela que persiste por mais de 3 meses no ser humano e mais de 6 meses na experimentação animal, pode ser contínua ou intermitente em geral está ligada a processos

patológicos crônicos e funcionalmente se caracteriza entre outros aspectos por diminuição da interleucina 2 (cinina mediadora da inflamação)¹⁶ e condicionar uma síndrome debilitante com resposta pobre às terapias analgésicas convencionais¹⁷. O sistema nociceptivo através da plasticidade neuronal, se transforma contribuindo assim para a síndrome dolorosa crônica¹⁸. A lesão tissular, ativa a produção de citocinas, quimiocinas e neurotoxinas, que se manifesta, por exemplo, na “dor neuropática” ou seja, dor causada por lesão dos nervos periféricos e/ou vias de transmissão dos sinais da dor¹⁹. A dor crônica é reflexo de uma resposta aumentada dos neurônios das colunas posteriores da medula espinhal, devido à ação de diferentes mediadores químicos liberados pelas terminações nervosas com participação de agonistas para os receptores NMDA²⁰.

A causa clínica mais freqüente de dor neuropática é a lesão aguda do axônio, sinais neuropáticos são transmitidos através de fibras amielínicas, associadas aos processos humorais, ou seja, mediados pelas citocinas. Os sinais nervosos de dor com origem na região da degeneração Walleriana, se propagam por meio das fibras nervosas do tipo C e do tipo A delta, (as fibras A delta, normalmente fazem sinapse na lâmina de Rexed III da coluna posterior da medula espinhal) junto com os sinais da dor neuropática²⁰. Estudos mostram que, esses sinais interagem com as vias nociceptivas da lâmina de Rexed II, com os neurônios de amplo padrão de resposta da lâmina de Rexed V e com as projeções tálamo-corticais, desencadeando um processo de sensibilização central e alterações anatômicas na medula espinhal com base na plasticidade neuronal correspondentes à dor crônica²⁰. A dor aguda, nas intervenções cirúrgicas é distinta da dor crônica antes referida e a intensidade da mesma é maior na primeira, imediatamente após o término da cirurgia, diminuindo esta com o tempo²¹. Os fatores desencadeantes da dor aguda pós-operatória são complexos e em grande parte estão relacionados ao processo inflamatório iniciado pelo trauma tissular cirúrgico, que, em função da destruição celular e tecidual, desencadeia a produção e a liberação de mediadores bioquímicos, em particular histamina, bradicinina e prostaglandinas²². Assim, ao controlar a extensão do processo inflamatório, ocorre redução da intensidade da dor²². Portanto, a administração de analgésicos e antiinflamatórios não-esteroidais (AINES) desde o período pré-operatório é um procedimento farmacológico importante no sentido de reduzir a dor. O mecanismo de ação dos analgésicos e antiinflamatórios baseia-se, geralmente, na inibição da síntese de prostaglandinas, responsáveis, pela dor leve e moderada, pela vasodilatação local e pelo aumento da permeabilidade vascular²².

2.3 MECANISMO FISIOLÓGICO-BIOQUÍMICO DA DOR

Os nociceptores bem como o restante do sistema da dor evoluíram no sentido de contribuir com a preservação da vida através dos mecanismos de neuroplasticidade, mudanças estruturais e funcionais que garantem a adequada adaptação e memória, especialmente para estímulos nociceptivos geradores de danos teciduais graves e assim poder responder de forma eficiente através de respostas adaptativas¹⁹. Diversos mediadores liberados por macrófagos, mastócitos, células endoteliais ou nervos traumatizados ativam nociceptores ligados a fibras nervosas de tipo A delta e tipo C, as quais facilitam a transmissão de sinais associados à dor e inflamação e, portanto facilitando a hiperalgesia (hiperalgesia primária).

Sabe-se que as células lesadas liberam enzimas que transformam os ácidos graxos de cadeia longa e atuam sobre os grãos de cimogênio se formando cininas (polipeptídeos). Simultaneamente o ácido araquidônico é liberado das membranas celulares pela ação da enzima fosfolipase A2, se transformando através de três vias possíveis: a) o ácido araquidônico sob a ação da enzima ciclooxigenase se transforma em prostaglandinas, tromboxanos e prostaclinas (Figura 1); b) o ácido araquidônico sob a ação da enzima lipooxigenase se transforma em leucotrienos e lipoxinas e c) o ácido araquidônico através da ação da enzima epooxigenase entra na via do citocromo P450.

Finalmente, os principais mediadores da resposta nociceptiva no nível fisiológico são: acetilcolina, bradicinina, leucotrienos, substância P, fator de ativação plaquetário, radicais ácidos, íon potássio, prostaglandinas, tromboxanos, interleucinas e fator de crescimento nervoso^{12,19}.

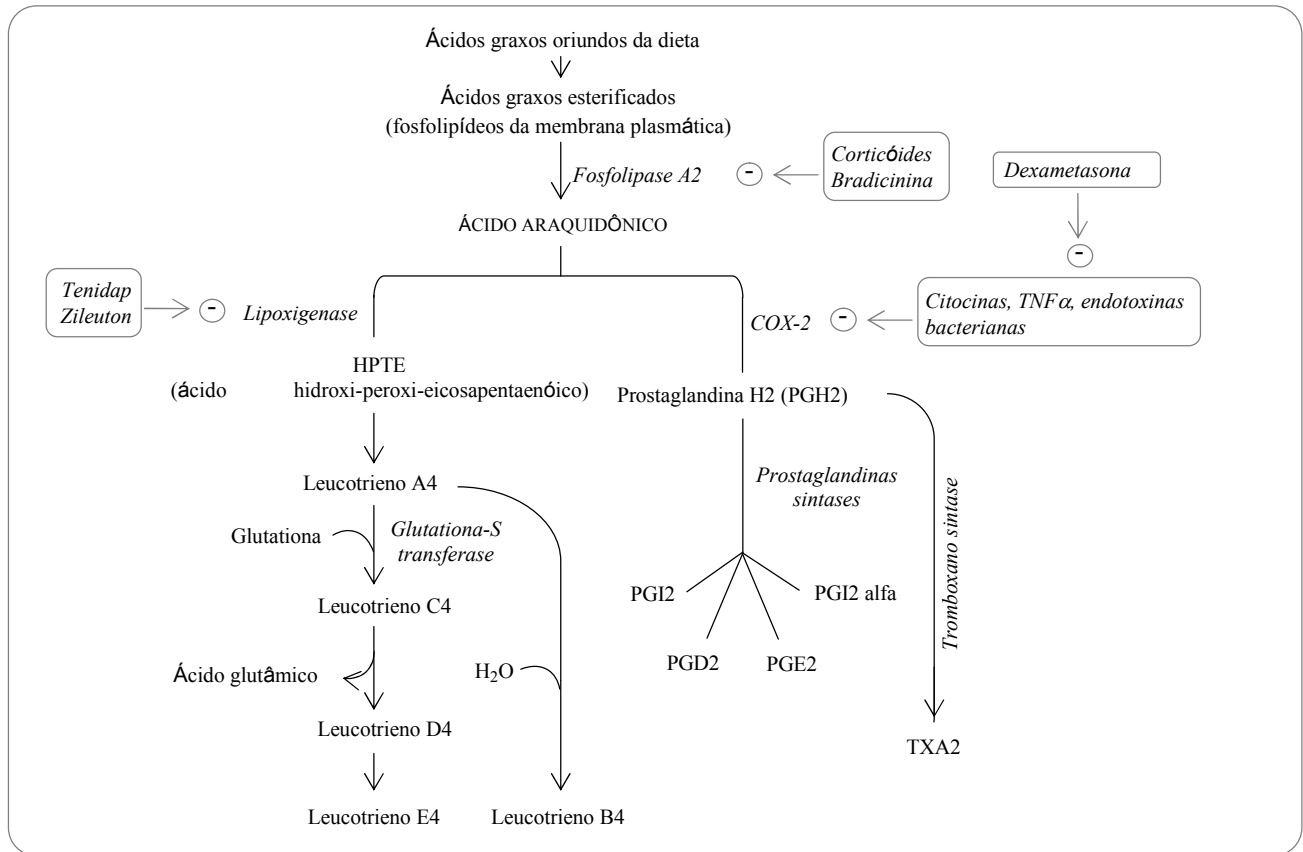


Figura 1 – Cascata do ácido araquidônico. Note que o ácido araquidônico é o precursor para leucotrienos, prostaglandinas e tromboxanos. Dentre outras funções, essas substâncias atuam como mediadores inflamatórios. No interior das caixas encontram-se as substâncias (medicamentos) que atuam na cascata do ácido araquidônico impedindo a formação desses mediadores inflamatórios. Um importante ponto de ação dos medicamentos é a inibição da COX-2. A classe de medicamentos que atua nessa etapa são os antiinflamatórios não estereoidais tais como a nimesulida e os coxibes.

COX-2 (Cicloxigenase de ácidos graxos-forma induzível); TX (Tromboxano); PG (Prostaglandina)

A bradicinina, prostaglandinas, fator de crescimento de nervo e interleucinas pró-inflamatórias exercem um papel fundamental na nocicepção periférica. Prostaglandinas e bradicinina causam alterações nos receptores vanilóides específicos acoplados aos canais iônicos membranares via ativação por adenosina monofosfato cíclico (AMPC) causando então redução do limiar de excitação da fibra nervosa²³. As neurotrofinas reduzem a atividade do neurotransmissor ácido gama amino butírico (GABA), provocando mudanças funcionais nos receptores vanilóides das fibras nervosas A delta acoplados a canais iônicos ligante dependentes e aciona as cinases intracelulares ativadas por mitógenos que podem fosforilar o AMPC e iniciar o processo de transcrição gênica responsável por alterações fenotípicas que contribuirão para o

aumento da eficácia do processo sináptico e assim, com a despolarização axonal prolongada, gerando portanto hiperalgesia (aumento da permeabilidade para o sódio e cálcio e diminuição do influxo de potássio e cloreto)¹⁹. As lesões no sistema nervoso periférico modificam a anatomia e fisiologia do sistema nervoso central aumentando a atividade dos neurônios localizados nas lâminas de Rexed I, II e V das colunas dorsais da medula espinhal através dos processos de sensibilização sináptica clássica e potenciação de longo prazo²⁴. A primeira é consequência da liberação de aminoácidos excitatórios (glutamato e aspartato), de peptídeos (substância P) e neurotrofinas.

Após a interação destas substâncias com seus receptores específicos, segundos mensageiros intracelulares são formados, trazendo como consequência a abertura dos canais de cálcio e a produção de prostaglandinas e óxido nítrico que deixam o interior da célula causando aumento na liberação de glutamato, aspartato e substância P. A estimulação com frequência inferior a 5 Hertz durante tempo prolongado, aumenta a liberação de glutamato e aspartato na coluna dorsal da medula espinhal e gera despolarização ligada à remoção de magnésio nos receptores NMDA, aumentando então a condutividade da membrana pós sináptica ao cálcio e portanto, a percepção e resposta da dor. A potenciação em longo prazo pode ser consequência de estímulos nociceptivos breves de alta frequência ativando os receptores AMPA, NK-1 (neuroquinina) e de canais de cálcio ocorrendo uma resposta neuronal pós-sináptica (excitatória) prolongada, principalmente nos neurônios da lâmina I da coluna dorsal da medula espinhal²⁵.

O estímulo nociceptivo também provoca a expressão de genes de formação imediata da enzima ciclooxigenase-2 (COX-2) e de genes de resposta lenta que codificam a pró-dimorfina, o receptor NK-1 e a tirosinase B, no nível da coluna dorsal da medula espinhal²⁵. A facilitação em longo prazo pode ser uma resposta restrita da fibra nociceptiva em função da lesão tissular ou difusa, caso o estímulo nociceptivo seja decorrente de alterações sistêmicas. Essa cadeia de fatos pode demandar várias horas para se manifestar e se prolongar por tempo indeterminado²⁵. A informação nociceptiva se projeta de forma contralateral à linha média, no nível da coluna dorsal (hastes dorsais) da medula espinhal e continua através dos tratos espinhotalâmico, espinhoreticular, espinho mesencefálico, coluna dorsal pós sináptica e sistema espinho-ponto-amigdalino, parte dessa informação se dirige ao tálamo (núcleo ventro-pósteromedial) e daí até o córtex somatosensorial (S1-S2) córtex insular e córtex do cíngulo anterior¹⁰.

Outras vias conectam a medula espinhal ao hipotálamo, formação reticular, substância cinza periaquedutal, núcleo medial e intratálâmico bem como estruturas do cérebro anterior²⁶. As fibras adrenérgicas aumentam a sensibilidade das fibras nociceptivas à ação da bradicinina, potencializando o espasmo muscular estriado e espasmo vascular, aumentando assim o nível de radicais ácidos e como conseqüência a redução do limiar de excitação da fibra nociceptiva.¹³

As citocinas são proteínas de baixo peso molecular que provocam alterações na síntese de DNA e proteínas em diferentes tipos celulares, elas agem no local onde são sintetizadas ou em regiões distantes¹⁹, As interleucinas, diminuem o limiar de excitação dos nociceptores, aumentam a intensidade e duração do potencial de ação e aumentam a tendência à geração de potenciais de ação em decorrência do efeito despolarizante do estímulo¹⁹.

A interleucina 1B e o fator de necrose tumoral (TNF) regulam a expressão do fator de crescimento nervoso, da enzima ciclooxigenase 2, da enzima óxido nítrico sintase e estimulam o brotamento simpático por exemplo no gânglio da raiz dorsal da medula espinhal¹⁹. A hiperalgesia térmica e alodínea mecânica se constata através da injeção de citocinas, intraperitoneal e intraplantar respectivamente, em razão do transporte axonal retrógrado de citocinas na coluna dorsal da medula espinhal, ativação dos receptores glutamatérgicos NMDA, produção de prostaglandinas a partir do ácido araquidônico, liberação de bradicinina ou ativação do sistema nervoso vegetativo¹⁹. As células da “Glia” possuem os mesmos tipos de receptores e transdutores de sinais se comparadas com os neurônios, portanto há interação entre essas células amplificando a resposta neuronal à compressão física periférica ou central¹⁹.

2.4 SISTEMA ANALGÉSICO ENDÓGENO

O sistema analgésico endógeno (Figura 2) é formado essencialmente por um conjunto de circuitos inibitórios que participam na modulação ou controle dos sinais nociceptivos, que operam nos cornos posteriores da medula espinhal³. Diferentes fatores ativam este sistema, tais como, dor, estímulos elétricos e opiáceos. Bioquimicamente este sistema analgésico endógeno atua através de dois componentes, o primeiro opióide (encefalinas) e o segundo aminérgico (noradrenalina e serotonina), ambos os componentes se sinergizam³.

2.4.1 Estruturas do sistema analgésico endógeno

Anatômicamente, este complexo sistema é formado pelas seguintes estruturas: córtex cerebral, córtex somatosensorial, hipotálamo, mesencéfalo, bulbo raquídeo e medula espinhal³. A estrutura principal deste sistema é a região que compreende o tronco cerebral, desde mesencéfalo até a região rostral e ventromedial do bulbo raquideano. No mesencéfalo localiza-se a substância cinzenta periaquedutal, núcleos dorsais do rafe e formação reticular do mesencéfalo, estas estruturas se projetam anatômica e funcionalmente sobre os núcleos bulbares (núcleo magno do rafe) e este último se projeta por sua vez sobre as colunas dorsais da medula espinhal, através do funículo dorso-lateral^{27,28}. Estruturas periaquedutais e periventriculares estão associadas às funções sensoriais, emocionais, motivacionais e de atenção, daí a modulação da informação nociceptiva no nível das colunas dorsais da medula espinhal³.

2.4.2 Sistema “on/off”

A região bulbar intermediária funciona como relevo “ativo” e estudos mostram que o sistema “on/off” garante modulação contínua sobre os sinais periféricos. O sistema “on” facilita a passagem da informação nociceptiva através da coluna dorsal medular e é inibida por morfina. O sistema “off” excita-se na presença de morfina. Especula-se que os opióides causem inibição de interneurônios que inibem às células “off” aumentando portanto, a atividade destas últimas e inibindo conseqüentemente o sinal nociceptivo²⁹. Na coluna dorsal da medula espinhal integram-se todos os sinais oriundos do sistema periférico, especialmente nas lâminas de Rexed I e II (substância gelatinosa) e lâmina V facilitando ou não a progressão do sinal nociceptivo³. Os interneurônios das lâminas de Rexed I e II, são gabaérgicos e encefalinérgicos³. Nas colunas dorsais existem receptores opióides assim como peptídeos opióides próprios dos circuitos medulares e dos sistemas descendentes “originados” nos núcleos da rafe³, portanto o sistema opióide espinhal parece ter uma função inibidora sobre os impulsos nociceptivos mediados por encefalinas locais e/ou mediante o sistema analgésico endógeno de natureza opióide e aminérgica.

O sistema “descendente” parece atuar tanto em neurônios pré-sinápticos quanto em neurônios pós-sinápticos. Os interneurônios (encefalinérgicos) exercem ação sobre neurônios pós-sinápticos e também sobre neurônios nociceptivos de projeção ascendente, portanto, na medula espinhal os neurônios “on” aumentam os sinais enviados para o cérebro enquanto que as células (neurônios) “off” diminuem esses sinais³⁰.

No sistema analgésico endógeno, encontram-se outros mediadores químicos tais como endorfinas e encefalinas. A morfina também atua neste sistema, além do glutamato, aspartato, substância P, neurocinina A e B, colecistocinina, somatostatina, prostaglandinas, óxido nítrico e galanina³⁰.

Estudos mostram que, quando opiáceos endógenos ou exógenos são injetados na substância cinzenta periaquedutal as células “off” são ativadas provocando queda na transmissão ascendente de sinais ou informação de dor³⁰. O ácido acetil salicílico, dipirona e kelorolac ativam as células “off” do bulbo raquideano, provocando queda na percepção da dor descrevendo assim o mecanismo de ação dos opiáceos e não opiáceos. As substâncias não opiáceas atuam na substância cinzenta periaquedutal, diminuindo a atividade analgésica quando a naloxona bloqueia previamente os receptores opiáceos³⁰.

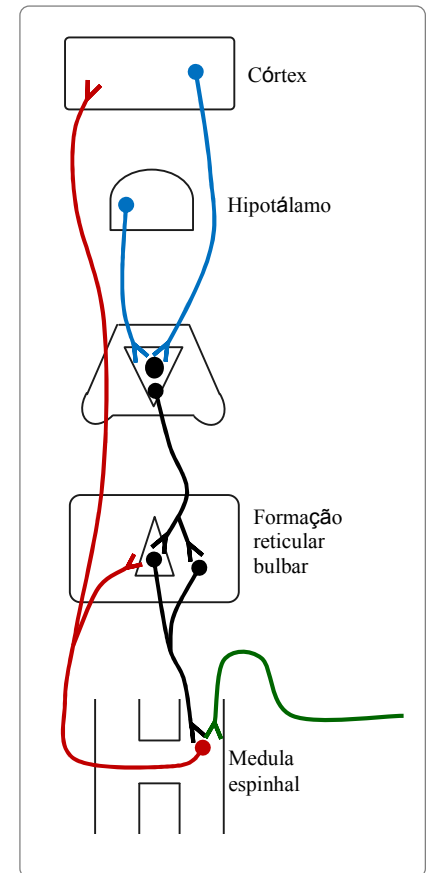


Figura 2 - Sistema nociceptivo em associação com o sistema analgésico endógeno. As linhas em vermelho indicam o trato espinotalâmico, uma via sensorial que se origina na medula espinhal. Ele transmite informações para o tálamo sobre dor, temperatura, pressão e tato protopático. As linhas em azul representam as vias que modulam o sistema antinociceptivo. As linhas em preto indicam as vias analgésicas endógenas e a linha em verde a raiz dorsal de um nervo espinhal.

Os analgésicos não opiáceos não atuam sobre receptores opióides demonstrando, portanto, que analgésicos não opiáceos estão agindo na substância cinzenta periaquedutal por meio de opiáceos endógenos. Analgésicos não opiáceos inibem a enzima cicloxigenase causando aumento na concentração de ácido araquidônico. Opiáceos endógenos e exógenos quando atuam na região cinzenta periaquedutal, aumentam a concentração de ácido araquidônico nos neurônios

gabaérgicos, o ácido araquidônico também é catalisado pela enzima lipoxigenase transformando o mesmo em compostos inibidores da liberação de GABA. Dessa forma, o ácido araquidônico é o substrato comum, onde opiáceos e não opiáceos convergem na substância cinzenta periaquedutal, induzindo analgesia.^{30,31}

A ciclooxigenase é a enzima onde convergem os não opiáceos. Opiáceos e não opiáceos causam a ação inibitória atuando sobre os neurônios gabaérgicos presentes na região cinzenta peri aquedutal trazendo como consequência inibição modulação ou filtragem dos sinais por parte da medula espinhal³¹. Finalmente, o sistema opióide conecta com a medula espinhal as seguintes estruturas: amígdala, hipotálamo, substância cinza periaquedutal e rafe *magnus*. O sistema noradrenérgico une o “locus cerúleo” com a medula espinhal através do cordão dorso lateral e finalmente o sistema serotoninérgico conecta a rafe *Magnus* com a medula espinhal também através do cordão dorsolateral. A serotonina administrada na medula espinhal gera analgesia³.

2.5 FATORES QUE INFLUENCIAM NA PERCEPÇÃO DA DOR

2.5.1 Exercício físico

Diversos estudos mostram que a atividade física aeróbica exerce ação analgésica especialmente nas dores crônicas. Essa inibição da algésia ocorre através dos sistemas corticais sensoriais e motores, dos sistemas associados à motivação e finalmente do sistema nervoso autonômico. Especula-se que essa ação analgésica ocorra através dos sistemas descendentes noradrenérgicos, serotoninérgicos, peptídeos, opióides e GABA¹³. Uma das explicações para a analgesia advinda do exercício físico é a ação exercida pelos opióides, que pode ser produzida no sistema nervoso central e/ou periférico, via ativação de receptores, por opióides exógenos ou endógenos. Tais efeitos analgésicos são particularmente importantes em situações inflamatórias dolorosas como, por exemplo, doenças reumáticas. Nas fases iniciais da inflamação, receptores opióides centrais e periféricos estão envolvidos nos efeitos antinociceptivos, sendo que receptores localizados em terminais nervosos periféricos podem ser ativados por opióides exógenos e endógenos, presentes em células de defesa do organismo e assim produzir antinocicepção³².

Estudos indicam efeitos positivos do exercício de resistência sobre a nocicepção em ratos, diminuindo a resposta de dor por estímulo químico e lesão nervosa. O efeito analgésico é

revertido com a administração sistêmica de naloxona³³. Mazzardo & Martins e colaboradores³⁴ avaliaram os efeitos da natação em camundongos durante 30 minutos, por cinco dias, com diminuição do número de contorções abdominais causadas por ácido acético, houve reversão do efeito com uso de naloxona, clorofenilalanina e adrenalectomia bilateral. A natação produziu hiponocicepção provavelmente através dos sistemas de neurotransmissão química opióide e serotoninérgico. Sabe-se que a situação de alarme ativa sistemas neurais que inibem a sensação e/ou percepção de dor, tal resposta adaptativa, chamada de analgesia induzida por alarme, depende do recrutamento de vias cerebrais que se projetam, da amígdala para a substância cinzenta periaquedutal e descendem para o corno dorsal da medula espinhal¹².

2.5.2 O magnésio

O sulfato de magnésio ($MgSO_4$) é uma substância com propriedades analgésicas e sedativas com potencial para neuro e cardioproteção, embora não se saiba exatamente por quais mecanismos ele possa exercer a proteção cardíaca e neuronal^{35,36}. Trata-se de um composto com potencial analgésico e sedativo que pode ser utilizado como coadjuvante durante procedimentos de anestesia geral, atenuando a resposta pressórica à intubação traqueal e diminuindo as necessidades dos anestésicos^{35,36}. O $MgSO_4$ diminui as atividades sensoriais e motoras provavelmente bloqueando receptores glutamatérgicos de tipo NMDA já que o magnésio faz parte da estrutura do receptor^{29,35}. Segundo Glover³⁶, a medicina ainda não elucidou completamente o mecanismo de ação do $MgSO_4$ utilizado para fins terapêuticos. Entretanto, algumas proposições sobre este assunto foram desenvolvidas com o passar dos anos³⁷:

a) Inibição da liberação de acetilcolina na junção neuromuscular com efeito relaxante que é conhecido desde 1950. A hipermagnesemia diminui a sensibilidade da placa motora à acetilcolina e a amplitude do potencial de placa terminal;

b) O magnésio é antagonista do receptor NMDA responsável pelo processo de sensibilização central. A inibição desse receptor confere propriedades analgésicas, sedativas e anticonvulsivantes;

c) O magnésio pode aumentar a síntese de prostaciclina e inibir a enzima conversora de angiotensina, levando à vasodilatação;

d) O magnésio reduz a liberação de catecolaminas após o estímulo simpático. Tem sido utilizado para tratamento das crises hipertensivas que ocorrem no feocromocitoma durante procedimentos cirúrgicos ou fora do ambiente cirúrgico;

e) O magnésio inibe a liberação de histamina e acetilcolina e potencializa os efeitos dos agentes beta adrenérgicos sendo, portanto, útil em pacientes asmáticos.

Seu uso está indicado somente nos casos graves de hipertensão arterial, pois diminui a incidência de internações hospitalares e o tempo de permanência na unidade de terapia intensiva, possuindo poucos efeitos benéficos nos casos de hipertensão moderada e de leve intensidade. Finalmente, o potencial analgésico do magnésio deve-se em grande parte ao bloqueio dos receptores NMDA, mas também à diminuição da liberação de catecolaminas.

2.5.3 Óleos essenciais e terpenóides

Muitos óleos voláteis possuem uma grande variedade de atividades, tais como ansiolítica, anticonvulsivante e antinociceptiva. Compostos como linalol, limoneno e citronelol possuem ação anticonvulsivante, enquanto mentol e mirceno, atividade analgésica³⁸. Os terpenóides constituem um vasto grupo de metabólitos secundários com ações sobre o sistema nervoso central, destacando-se suas atividades sedativa, ansiolítica, antinociceptiva, anticonvulsivante e alucinógena³⁸.

2.6 ESCALA DE AFERIÇÃO DA DOR

A dor como percepção bem como o limiar da dor experimental em animais de experimentação se afere através de respostas motoras tais como, movimento da cauda, passar a língua pelos pés previamente aquecidos, contração forte e mantida dos músculos abdominais, etc. Entretanto, quantificar a percepção dolorosa é de fato impossível, mas métodos e parâmetros quali-quantitativos indiretos muitas vezes, pouco precisos, são as únicas ferramentas para esse propósito. Alguns métodos utilizados para aferir a dor compreendem: a) expressar a intensidade da dor percebida através de uma escala percentual referida ao máximo de dor que a pessoa possa suportar; b) expressar a intensidade da dor percebida através de uma escala numérica que varia de 1 até 10^{38,39}; c) expressar a intensidade da dor percebida através da frequência cardíaca, frequência respiratória e pressão arterial média⁴⁰ e d) método do bracelete irritante. Nesse caso, deve-se insuflar ar num esfigmomanômetro anaeróide até que o indivíduo indique o desconforto,

através desse método, a intensidade da dor e o limiar da dor são aferidos por meio do valor de pressão que aparece no manômetro.

2.7 MODELO EXPERIMENTAL DA PLACA QUENTE (HOT PLATE)⁴¹

Este modelo experimental descrito por (Woolf e McDonald 1944) visa o estudo do componente neural do sistema algico, resulta ser interessante devido a que na técnica operatória estão envolvidos um reduzido número de fatores experimentais pelo que a dispersão dos valores obtidos nos experimentos é mínima. Neste teste o animal é colocado numa superfície plana com temperatura constante e superior a 45 graus Celsius (temperatura onde o calor que representa o estímulo térmico se transforma em estímulo nociceptivo). Deve-se colocar o animal de forma tal que os quatro membros façam contato simultâneo com a placa quente e se afere o tempo que o animal demora (tempo de reação) para passar a língua por um dos membros posteriores, pode-se considerar também a possibilidade de aferir o tempo que o animal demora em passar a língua por um dos membros anteriores ou até mesmo o tempo que demora em pular. Neste modelo o calor gera toda uma série de mudanças tissulares que possibilitam a estimulação dos nociceptores, estes mediante a função de transdução geram um sinal nociceptivo que simultaneamente se integra no córtex somatosensorial e no nível do sistema motor, condicionando assim uma resposta motora, envolvendo a musculatura do pescoço e dos membros, portanto esta resposta motora é um indicador indireto do limiar de excitação do sistema nociceptivo (o verdadeiro limiar de excitação neural, se afere em milivoltios).

2.8 O SISTEMA MOTOR SOMÁTICO. CARACTERÍSTICAS GERAIS

O sistema motor somático diferentemente do sistema sensorial transforma a informação nervosa em energia, que neste caso específico se traduz em trabalho físico externo. Portanto, a função do sistema motor necessita constantemente de informações oriundas dos sistemas sensoriais⁴², uma vez que, em função dessa informação o organismo é capaz de expressar uma resposta e assim interagir com o ambiente caracterizando dessa forma a vida de relação. A atividade motora no músculo é lenta e apresenta certa inércia, sendo assim, é necessário um padrão de descargas elétricas eficientes e contínuas no sentido de garantir a uniformidade e regularidade do movimento, bem como o tônus muscular básico e a força muscular adequada

para exercer um determinado trabalho. De fato, o tônus muscular antes referido, é de essencial importância na manutenção postural bem como em movimentos voluntários e involuntários⁴¹.

Segundo Guyton⁴¹ o sinal contínuo motor que chega a cada momento aos músculos, é muito importante no controle da atividade motora, porque se estabelece simultaneamente a regulação da musculatura agonista e antagonista, condicionando a correta biomecânica geradora de trabalho físico externo ($W=F \cdot L$) onde: W representa o trabalho físico; F representa a força e L, o deslocamento do corpo no espaço⁴³. Em suma, a essência da função do controle motor é a “escolha da melhor resposta motora, entre todas as respostas motoras possíveis num dado movimento e a sua execução posterior com a qualidade necessária,” garantindo assim a plena interação do organismo com o ambiente.

2.9 ESTRUTURAS DO SISTEMA MOTOR SOMÁTICO

As estruturas mais relevantes do sistema motor somático são: córtex pré-motor, córtex motor primário, área motora suplementar, núcleos da base (gânglios da base), tálamo, cerebelo, tronco cerebral, formação reticular, medula espinhal e músculos estriados⁷. A resposta do sistema motor somático ocorre através do “reflexo nervoso” (forma básica de controle das funções no sistema nervoso⁴⁴.)

2.9.1 Córtex pré-motor e córtex motor primário

O córtex pré-motor (área 6 de Brodmann⁴⁵) se relaciona funcionalmente com as áreas pré frontal e parietal posterior do córtex cerebral. Considera-se que nesta região encontram-se os circuitos de planejamento da seqüência de movimentos (engrama motor) sendo a base funcional da categoria de movimentos nomeados “habilidades manuais⁴⁵”.

O córtex motor primário (I), localizado no lobo frontal (giro pré central), organizado somato-tópicamente conformando o “*homunculli motor*” (área 4 de Brodmann⁴⁵) controla os movimentos voluntários através do “sistema piramidal⁴⁶” regulando assim de forma específica a atividade dos diferentes grupos musculares. Este controle é influenciado pelos sinais sensoriais de origem diversa, que penetram através de outras áreas e estruturas tais como: cerebelo, núcleos da base, tronco cerebral, dentre outros. Toda essa cadeia de eventos se realiza mediante inúmeras conexões entre estas estruturas nervosas bem como entre elas e os motoneurônios espinhais e do tronco cerebral⁴⁷, controlando desse modo, toda a atividade motora estriada. O controle da

musculatura da região cefálica se realiza mais especificamente através do tronco cerebral e dos nervos cranianos⁴⁸.

De acordo com Guyton o núcleo Ruber, localizado no mesencéfalo,⁴⁵ estabelece o controle da musculatura das extremidades do corpo (porções proximais e distais), sobretudo da parte distal, mediante a formação reticular. O sistema “Piramidal” também controla de forma importante a musculatura estriada⁴⁵. O córtex motor, cerebelo e núcleos da base, não projetam os seus axônios diretamente na medula espinhal, em vez disso, essa conexão se dá através do tálamo, principalmente através das vias córtico-talâmicas⁴⁹.

2.9.2 Núcleos da base (gânglios basais)

Os núcleos cinzentos da base (gânglios basais)⁵⁰ estabelecem o controle principalmente através do tálamo, a maior estrutura dentro dos núcleos da base é o “*núcleo caudado*” sendo este o responsável pela programação de diversas condutas motoras. O bloqueio dos receptores dopaminérgicos presentes no núcleo caudado por meio do haloperidol conduz a alterações nos padrões motores, na vigência da aplicação de estímulos exteroceptivos⁵¹. Estudos mostraram que a dopamina é a substância que inicia a resposta motora^{5,12,51} e além do núcleo caudado existem outros núcleos envolvidos com respostas motoras tais como: *putamen*, *globo pálido*, *região subtalâmica* e *substância nigra*. O corpo estriado (estrutura que une o *núcleo putamen* e *núcleo caudado*) constitui a porta de entrada dos núcleos da base⁵² e sua atividade está ligada à dopamina. De fato, condições que conduzem à diminuição dos níveis de dopamina no corpo estriado como, por exemplo, a destruição da área tegmental ventral produz melhora significativa nas manifestações decorrentes da administração de anfetamina⁵³. Com relação ao *núcleo acumbens* ocorre algo similar⁵⁴. O corpo estriado recebe informação do neocórtex, áreas de associação, área sensorial I e substância nigra, sendo que desta última estrutura partem sinais em direção ao *globus pallidum*, que por sua vez envia sinais em direção às áreas motora e pré-motora, através do núcleo ventral anterior do tálamo⁵⁰. A união dos núcleos *globus pallidum* e *putamen*, denomina-se núcleo *lenticular ou lentiforme*⁵⁰. A integração funcional entre os principais núcleos cinzentos da base (gânglios basais) é extremamente complexa e constitui uma importante via de retroalimentação motora.

Os núcleos da base têm função relevante no comando do movimento, bem como nos momentos iniciais da atividade motora. Indivíduos com transtornos funcionais nos núcleos da

base apresentam dificuldades com o início do movimento (akinesia)⁵⁵, tal como ocorre, por exemplo, na doença de Parkinson⁵⁵. O subtálamo, através dos núcleos subtalâmicos, pode ser considerado como parte dos núcleos da base devido à estreita relação anatomo-funcional com as estruturas supracitadas, lesões nesta região (subtalâmica) geram movimentos erráticos e balísticos⁵⁶. Finalmente, podemos afirmar que os núcleos cinzentos da base (gânglios basais) participam de forma importante na modulação da atividade motora iniciada por outras estruturas, fato este que parece estar presente em todos os mamíferos.

2.9.3 Tronco cerebral

O tronco cerebral é formado entre outras estruturas, por diversos núcleos motores, vários tratos motores e uma área difusa de neurônios (formação reticular) caracterizada por apresentar uma porção superior autoexcitável que estimula a função da medula espinhal através de sinais facilitadores e uma porção inferior que normalmente envia sinais inibidores para a medula espinhal⁵⁷. Os neurônios do tronco cerebral são ricos em dopamina, apresentando receptores onde atuam opióides e opiáceos desencadeando respostas específicas⁵⁸. O tronco cerebral integra ainda “sinais sensoriais” e envia “sinais motores” à medula espinhal, exceto os sinais que trafegam pela via córtico-espinhal (componente do sistema Piramidal) procedentes do córtex motor I^{7,14,46}.

2.9.4 Cerebelo

O cerebelo participa principalmente nos mecanismos de retroalimentação, recebe informação oriunda dos sistemas sensoriais e das estruturas motoras simultaneamente, e com participação das células de Purkinge (inibidoras), essas informações são integradas nos núcleos centrais e a resposta final é enviada ao córtex motor, estabelecendo-se assim a retroalimentação supracitada⁵⁹. Lesões no cerebelo geram dismetria, ou seja, a interpretação errônea da distância, desorientação espacial e incapacidade para alcançar com precisão um ponto pré determinado⁴⁵. Anatômicamente os axônios dos *pedúnculos cerebelaris* superiores, fazem sinapses com o tálamo no nível do núcleo ventrolateral, o sinal procedente deste núcleo, é transmitido, através de fibras localizadas na cápsula interna e daí até o giro pré-central. Assim como a outras áreas motoras, considera-se que provavelmente a conexão mais importante do cerebelo, é com o núcleo Ruber, que por sua vez conecta de forma relevante o cerebelo com a medula espinhal.

Este sistema de regulação é similar ao que está presente nos núcleos da base bem como com amplas regiões hemisféricas cerebrais⁵⁵.

2.9.5 Medula espinhal

As colunas ventrais ou anteriores da medula espinhal, na sua porção mais lateral, apresentam corpos neuronais que se acompanham de axônios que fazem contato com a porção mais externa dos músculos. Em contrapartida, os neurônios que apresentam os corpos neuronais situados na porção medial das colunas ventrais, se conectam com as regiões mais mediais dos músculos. Os interneurônios medulares são importantes não somente pela elevada capacidade de análise que possuem, mas também porque estabelecem sinapses com outros neurônios e vias proprioespinais⁷. As fibras ventromediais da medula espinhal controlam a postura uma vez que pertencem às vias vestibulo espinhal, tectoespinhal e reticuloespinhal. As fibras dorsolaterais da medula espinhal controlam os movimentos finos, mais exatos e pertencem à via rubroespinhal⁵⁵.

Os neurônios motores que se projetam na região intermediária da substância cinzenta e colunas dorsais da medula espinhal, pertencem à via corticoespinhal lateral. Simultaneamente através das raízes posteriores dos nervos espinais e colunas dorsais penetram sinais somatossensoriais^{7,44,60} portanto, a atividade dos neurônios espinais depende do somatório de sinais, tanto periféricos quanto centrais, assim como dos sinais próprios dos interneurônios da medula espinhal condicionando uma resposta de excitação ou de inibição de acordo com a situação^{7,14,46}.

2.9.6 Sistema piramidal

O sistema Piramidal (Figura 3) constitui-se de dois subsistemas ou componentes, trato córtico-nuclear e o trato córtico-espinhal^{46,47}. Este sistema apresenta os corpos celulares das fibras em diferentes camadas do córtex : A camada VI projeta seus axônios ao tálamo^{60,61}, regulando o fluxo de entrada de sinais ao córtex motor I. A camada V projeta longos axônios até a medula espinhal^{7,47}, reúne axônios procedentes de várias áreas corticais, conduz informação do córtex ou giro pré-central e finalmente faz sinapses com os motoneurônios da medula espinhal. Todas essas fibras com origem em áreas corticais localizam-se na substância branca subcortical, daí à cápsula interna e continuam através dos pedúnculos cerebrais, algumas delas atingem o núcleo Ruber, conjuntamente com fibras procedentes do cerebelo. Aproximadamente 5% de todas as fibras que se encontram no pedúnculo cerebral são fibras córtico-pontinas e córtico-

bulbares, as demais continuam e atingem a medula espinhal. Simultaneamente as fibras córtico-bulbares, se separam do trato e fazem sinapses com os núcleos dos pares cranianos, inervando assim parte importante da musculatura cefálica voluntária e, portanto conformando uma parte relevante do componente córtico-nuclear do sistema piramidal⁵³.

Outras fibras abandonam o trato na formação reticular e daí até a medula espinhal, participando no controle da postura e equilíbrio. Cerca de 90% das fibras corticoespinhais se dirigem diretamente à medula espinhal e decussam na porção inferior do bulbo raquideano e aproximadamente 10% dessas fibras continuam de forma ipsi ou homo lateral⁷.

O trato corticoespinhal controla as musculaturas axial e distal (movimentos mais exatos)⁴⁵, sendo neste último caso a correspondência neurônio-fibra muscular, em muitos casos até de 1:1. Na medula espinhal existem circuitos neuronais responsáveis pelos movimentos finos, os quais se manifestam principalmente durante a locomoção, estes circuitos neuronais estão modulados por sinais procedentes das estruturas motoras superiores⁶², por exemplo, através do trato reticulo-espinhal, que termina nos neurônios motores e interneurônios da medula espinhal. Como todo movimento deve ser harmônico e contínuo para ser efetivo, as porções mais complexas do sistema motor somático, tais como, córtex motor, núcleos da base, por exemplo, inervam a medula espinhal e, portanto essas estruturas participam também no controle tanto da porção distal, quanto da porção proximal dos músculos corporais.⁶²

2.10 UNIDADE MOTORA

O conceito de unidade motora muscular foi desenvolvido por Leyton e Sherrington em 1925 para denotar a relação entre o sistema nervoso e o sistema muscular, assim se definia que a unidade motora era a união de uma fibra nervosa e um grupo de fibras musculares. O número de fibras musculares varia de acordo com a região do organismo e da precisão do movimento e, portanto do tipo de resposta muscular⁶³. De fato, esta é a verdadeira estrutura executora da resposta motora somática.

2.11 FLUXO DE INFORMAÇÃO NO SISTEMA NEUROMUSCULAR (sistema de sinais)

Nos mamíferos, a sinalização para execução da resposta motora consta de quatro fases : a) condução do potencial de ação no nível da célula nervosa; b) condução do potencial de ação de uma célula nervosa para outra célula nervosa; c) resposta dos mediadores ou mensageiros químicos e, d) contração muscular⁶⁴. A condução do potencial de ação ao longo de uma célula nervosa ou muscular se estabelece de acordo com a seguinte seqüência de eventos: a) mudanças de condutância da membrana celular principalmente aos íons sódio, potássio e cálcio; b) despolarização da face interna das membranas celulares (neurais) em função do influxo de íons positivos⁶⁵.

Entre os anos 50 e 60 difundiu-se o conceito de que a condução de sinais entre dois neurônios contíguos era um fenômeno elétrico. Essa idéia era sustentada por diversos pesquisadores inclusive Paul Fat e Bernard Katz⁶⁶. Subseqüentemente foi demonstrado que a comunicação somente acontecia nos pontos críticos do citoplasma da célula pré-sináptica e pós-sináptica, atualmente sabe-se que nesses pontos de contato as células estão unidas por canais, que constituem regiões de baixa resistência elétrica⁶⁷ e que a condução de sinais estava ligada a condutas esteriotipadas em animais de experimentação⁶⁸. Essa forma de sinapse denomina-se sinapse elétrica e existe no organismo humano de forma restrita.

A forma predominante de sinapse no homem é a sinapse química, que se caracteriza por apresentar um espaço entre as fibras nervosas pré e pós-sináptica formando a fenda sináptica. O potencial de ação é “conduzido” de uma célula à outra através de neurotransmissores liberados pela célula pré-sináptica. Essas substâncias difundem-se pela fenda sináptica e podem seguir os seguintes destinos: a) serem metabolizados por enzimas específicas; b) serem recaptados pelo neurônio pré-sináptico; c) difundirem-se para além da fenda sináptica e e) interagir com seus receptores presentes na célula pós-sináptica.⁶⁹

Quando a interação neurotransmissor-receptor ocorre, evoca na célula pós-sináptica alterações na condutância aos íons envolvidos no processo, através da ativação ou inativação de canais iônicos gerando assim mudanças na atividade metabólica celular as quais podem ser rápidas ou lentas. A primeira depende da ação do neurotransmissor sobre o canal iônico, enquanto que a segunda se realiza através de segundos mensageiros intracelulares tais como, cálcio e adenosina monofosfato cíclico (AMPC). Cerca de 30 milissegundos após a liberação do

neurotransmissor inicia-se a recaptação do mesmo⁶⁹. Acredita-se que uma substância pode ser neurotransmissor quando: 1) é sintetizada pelo neurônio pré sináptico; 2) encontra-se no terminal axônico e consegue passar à fenda sináptica; 3) se a aplicação exógena da mesma, mimetiza a ação endógena e 4) se existem mecanismos funcionais que removam a substância da fenda sináptica^{70,71,72,73}. No sistema motor somático existem vários tipos de neurotransmissores ou mediadores, tais como glutamato, aspartato, ácido gama amino butírico (GABA), acetilcolina (Ach) e noradrenalina (NA)^{69,73}.

A resposta dada pelos mediadores químicos é diversa, e é decorrente da diversidade de neurotransmissores bem como de receptores pós-sinápticos. Os mediadores estão encapsulados em vesículas sinápticas as quais apresentam movimento browniano. O influxo de cálcio na célula pré-sináptica conduz ao deslocamento dessas vesículas através de movimentos do citoesqueleto, permitindo que a membrana das vesículas se coalesçam com a membrana celular de modo a permitir a extrusão do seu conteúdo para o exterior da célula pré-sináptica. Estudos mostram que a pressão osmótica dentro da vesícula aumenta progressivamente, seguido-se a fusão e posterior exocitose em forma de *quanta* ou pulsos⁷¹.

2.12 REGULAÇÃO DA SÍNTESE E LIBERAÇÃO DE NEUROTRANSMISSORES

A regulação da síntese e liberação de neurotransmissores se dá através de dois mecanismos: 1) Modificando os substratos e cofatores (coenzimas) da via metabólica e 2) Inibindo ou estimulando a atividade enzimática⁷⁴. Diversos estudos realizados indicam que a acetilcolina é o neurotransmissor da junção neuromuscular esquelética⁶⁵, o contato deste neurotransmissor com os receptores nicotínicos da placa motora gera uma série de mudanças biofísicas na membrana da célula que culminam com o aumento da condutância ao íon sódio que flui seguindo o gradiente de concentração, ou seja, do meio extracelular para o meio intracelular^{75,76}. Uma vez que o potencial elétrico no interior da célula, é negativo, sobre o íon de sódio se exerce uma força elétrica (no repouso e na fase ascendente do potencial de ação) que matematicamente pode se calcular através da fórmula: $F = +q \cdot E$, onde: F = força que atua sobre o íon; $+q$ = carga do íon e E = vetor campo elétrico transmembrana, no qual se armazena a energia elétrica e se dirige do exterior ao interior da membrana celular⁷⁷. Quando a entrada de sódio ao interior da célula muscular é suficiente, então tem-se a deflagração do potencial de placa motora ou motriz, que irá gerar despolarização sequencial limiar das proximidades à placa motora,

trazendo como conseqüência o surgimento de potenciais de ação, os quais se deslocam ao longo da célula muscular gerando assim a resposta contrátil⁶⁵. A seqüência de eventos cessa quando a enzima acetilcolinesterase, localizada na placa motora hidrolisa a acetilcolina.

2.13 MOVIMENTOS VOLUNTÁRIOS. REGULAÇÃO

Para a realização de movimentos voluntários (Figura 3) devemos considerar as seguintes fases: a) Identificação do objeto; b) Planejamento do movimento; c) Coordenação e execução do movimento. Esses processos dependem essencialmente de regiões básicas de controle motor, a saber: 1) córtex motor; 2) córtex pré-motor; 3) áreas motoras suplementares e 4) córtex parietal posterior⁷. Tanto o córtex motor quanto o córtex sensorial estão distribuídos em colunas, chamadas de “zonas corticais” uma delas provoca excitação e outra inibição da musculatura voluntária. Em particular os músculos distais estão muito bem representados nestas áreas^{78,79}. Cerca de 30% dos axônios piramidais se originam no córtex motor primário, 30% na área pré-motora suplementar e 40% na área somatosensorial⁴⁵.

O córtex motor controla os motoneurônios indiretamente através dos neurônios de associação ou interneurônios, além do controle direto estabelecido através das vias motoras específicas, modulando assim através da medula espinhal, a postura e locomoção. O córtex motor por meio do trato córtico-espinhal envia informações ao sistema extra-piramidal, gerando deste modo uma resposta motora adequada⁷⁸.

Acredita-se que a informação descendente modifica em grande parte o controle postural⁷⁸. O córtex motor inicia o movimento voluntário (Figura 3) e imediatamente se retro informa da qualidade do mesmo, através de sinais aferentes sensoriais e como conseqüência a orientação se ajusta^{40,79}. Este fato é de grande importância, para o processo harmônico da locomoção⁴⁶, embora o programa básico da locomoção esteja gravado na medula espinhal, para o qual não seria importante a retroalimentação sensorial. Contudo, foi demonstrado que animais espinhais desenvolvem locomoção ao estimular as raízes ventrais da medula espinhal ou ao se administrar por via intravenosa L-DOPA⁵⁰.

Nem todos os movimentos estão sob comando do córtex motor, mas podem sofrer controle por meio de diferentes porções do sistema motor ou subsistemas⁸⁰. Normalmente a atividade motora se inicia com a seleção do programa que se pretende, ou seja, ativação dos grupos musculares que se necessitam. Subseqüentemente, ocorre o ajuste da magnitude e

duração da contração, esses eventos operam no córtex motor, pré-motor e parietal. Em seguida, a área suplementar recebe informações do tálamo e este do *globus pallidum* e do córtex pré-motor. A ativação de todas essas áreas e estruturas permitem o desenvolvimento de capacidades motoras diversas⁸¹. O cerebelo participa no processo, através da sua função de retroalimentação, tem sido comprovado que a área motora suplementar planeja também a seqüência motora.

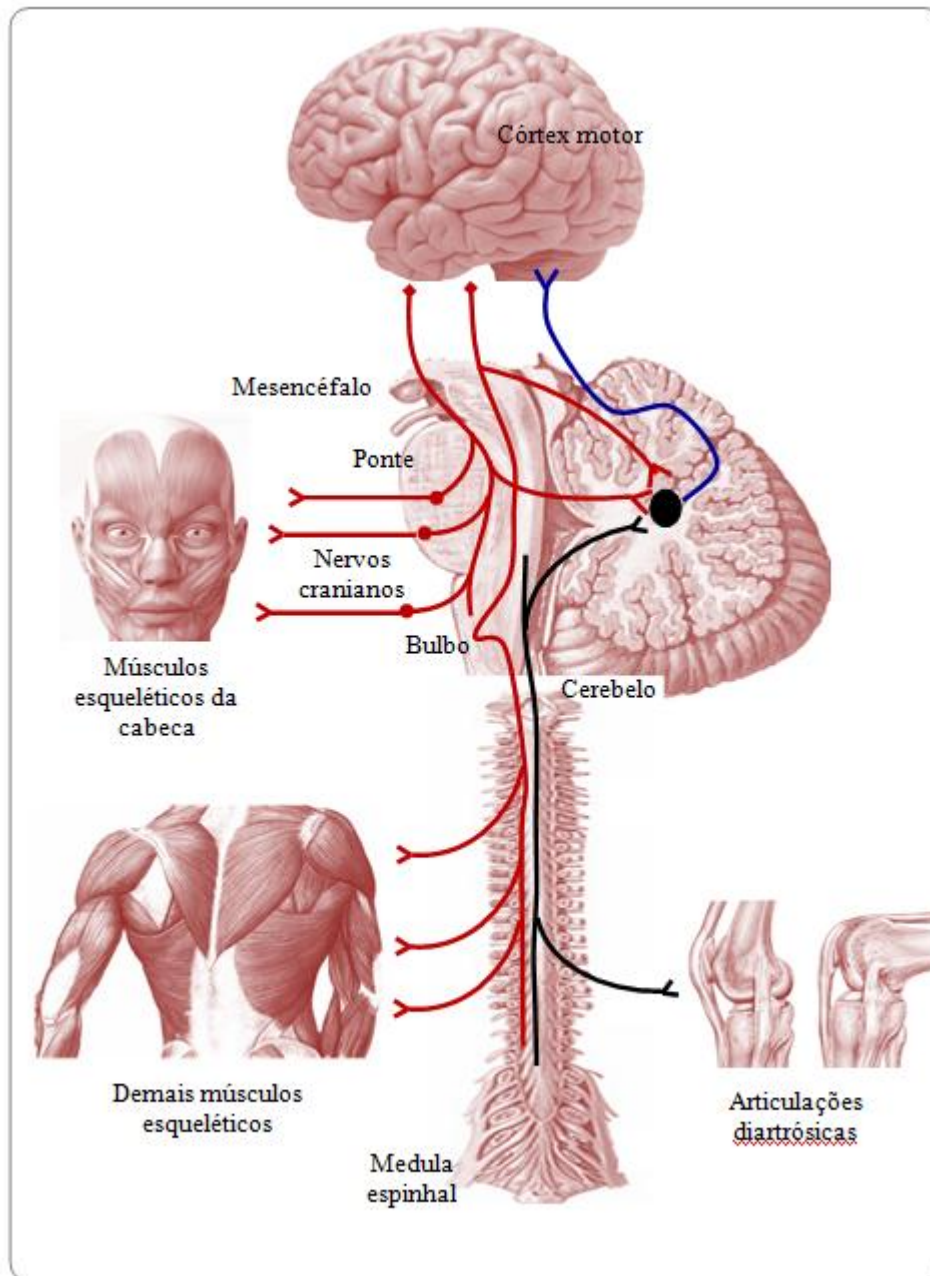


Figura 3 - Controle motor voluntário. As linhas em vermelho indicam o sistema piramidal, formado por dois componentes: córtex-nuclear e córtex-espinhal. Através destas vias se controlam os movimentos voluntários. As vias propiceptivas estão representadas em preto, estas fibras nervosas captam informações propiceptivas e as envia ao cerebelo que integraliza esse sinais junto ao resto das suas aferências. As linhas em azul indicam vias nervosas de retroalimentação que informam ao córtex motor sobre a concordância ou não entre a intenção do movimento e sua realização. Fonte: Sobotta, J. Atlas de Anatomia Humana.220,Ed.Rio de Janeiro:Guanabara Koogan,2006.

Roland⁸² estudou o fluxo sanguíneo em várias áreas cerebrais, correlacionando este, com o grau de complexidade da prova e observou que provas simples geravam aumento no fluxo sanguíneo em áreas motora e sensorial contralateral, enquanto que, provas complexas geram aumento do fluxo sanguíneo em áreas motoras suplementares de ambos os hemisférios.

As porções corticais pré-motora e parietal posterior, têm como função dar o sinal inicial do movimento e processamento da informação sensorial respectivamente, esta última informação pode passar ao córtex pré-motor e /ou aumentar o nível de atenção. Durante a locomoção, os tratos rubro espinhal, vestibulo espinhal, (especialmente o núcleo de DEITER) e retículo espinhal se ativam, além disso, o *locus ceruleus* e a parte baixa do mesencéfalo (neurônios noradrenérgicos), enviam sinais em direção da medula espinhal especialmente à região lumbosacra, modulando assim a função locomotora⁴⁶. Baseado nestas informações, demonstrou-se que a estimulação elétrica do mesencéfalo ou administração de L-DOPA(precursor da noradrenalina) induzem movimentos de locomoção⁵⁰. O efeito oposto acontece com a serotonina⁸³. Finalmente, se considera a existência de outros sistemas de mediadores químicos ou neurotransmissores relacionados com as funções antes referidas.

2.14 SISTEMA LÍMBICO

O termo límbico corresponde a um adjetivo que dá o valor de relativo ou pertencente ao limbo, ou seja, remete ao conceito de margem. O Sistema límbico (Figura 4) compreende todas as estruturas cerebrais que estejam relacionadas, principalmente, com comportamentos emocionais e sexuais, aprendizagem, memória, motivação, mas também com algumas respostas homeostáticas. Resumindo, a sua principal função será a integração de informações sensitivo-sensoriais com o estado psíquico interno, onde é atribuído um conteúdo afetivo a esses estímulos, a informação é registrada e relacionada com as memórias pré-existentes, o que leva à produção de uma resposta emocional adequada, consciente e/ou vegetativa.

O controle das emoções assim como a participação do sistema límbico na conduta motora são processos não plenamente esclarecidos, embora sejam conhecidas a estreita relação entre estas funções, sabe-se que a informação visual ligada a sistemas emocionais, estimulam com maior propriedade o córtex motor⁸⁴. De fato, o limiar de excitação do sistema límbico depende em grande parte de mecanismos opiáceos ligados aos mecanismos opióides endógenos e drogas bloqueadoras ou excitadoras dos receptores opiáceos, podendo assim modificar a atividade

motora. O Sistema límbico através da sua mais importante estrutura eferente, o hipotálamo estabelece relação com o sistema nervoso autonômico (SNA), no controle da vida vegetativa, mediante interações entre emoções e função motora visceral⁸⁵. Essa relação pode ser percebida, por exemplo, quando o aumento da pressão arterial média, dilatação do diâmetro pupilar dentre outros processos são acompanhados de outras respostas motoras somáticas.

Além disso, o sistema límbico influi sobre o sistema endócrino, controlando desta forma o nível de hormônios e fatores de secreção hipotalâmicos⁸⁶, finalmente, sabe se que o hipocampo é uma estrutura muito importante nos mecanismos de aprendizado e memória⁸⁷, processos estes relacionados à atividade motora (aprendizado motor, memória motora)⁸⁸.

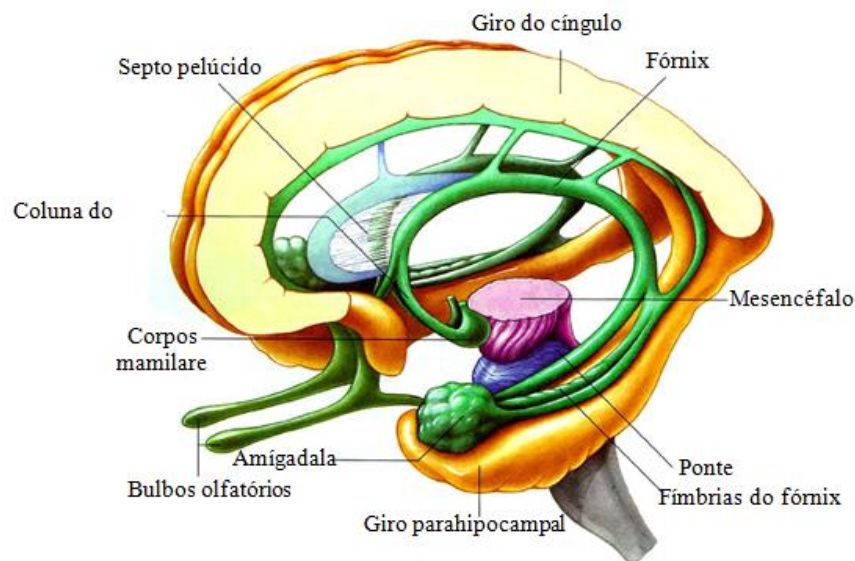


Figura 4 – Estruturas presentes no sistema límbico. Através do sistema nervoso autonômico, ele controla certos comportamentos necessários à sobrevivência, interferindo positiva ou negativamente na função visceral e na regulação metabólica.
Fonte: http://163.178.103.176/Fisiologia/neurofisiologia/Objetivo_9/Clayman76b.jpg

2.15 FÁRMACOS COM ATIVIDADE NO SISTEMA MOTOR SOMÁTICO

2.15.1 Anfetamina

A ação da anfetamina é muito parecida à ação do Desaktedron, em ambos os casos ocorre aumento da liberação de aminas biogênicas a partir dos seus locais de armazenamento nas terminações nervosas⁸⁹. A resposta de alerta ou pelo menos parte de ela, está ligada à atividade motora, mediada pela noradrenalina nas terminações adrenérgicas centrais. Tem-se demonstrado ainda que diversos efeitos sobre a conduta são mediados pela liberação de dopamina, substância precursora da noradrenalina. Estima-se que a Anfetamina (Figura 5) exerça efeito antagônico direto sobre o sistema serotoninérgico gerando um desequilíbrio dinâmico entre noradrenalina e serotonina, com conseqüente mudança (aumento) na atividade locomotora^{90,91}.

Além disso, pode ainda ocorrer desequilíbrio na relação dopamina/serotonina, em ambos os casos a alteração se inclina para o aumento da dopamina e/ou noradrenalina. Uma possível explicação para esse fenômeno considera a diminuição da recaptação da dopamina e/ou noradrenalina, outra alternativa seria o aumento da liberação de dopamina e noradrenalina na fenda sináptica. Algumas destas ações são atribuídas também ao metilfenidato cujas ações se contrapõem às dos neurolépticos tranqüilizantes.

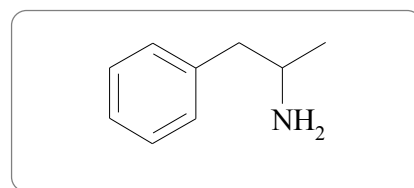


Figura 5 – Estrutura química da anfetamina, uma droga estimulante do sistema nervoso central, que provoca o aumento das capacidades físicas e psíquicas.

2.15.2 Antipsicóticos e neurolépticos

São medicamentos inibidores das funções psicomotoras⁹², tais funções podem encontrar-se aumentadas em estados, de excitação e de agitação. Paralelamente essas substâncias atenuam também os sintomas neuro-psíquicos considerados psicóticos, como por exemplo os delírios e as alucinações. São substâncias químicas sintéticas, capazes de atuar seletivamente nas células nervosas que regulam os processos psíquicos no ser humano e a conduta em animais. Apesar dos neurolépticos tradicionais bloquearem ora os receptores adrenérgicos e serotoninérgicos, ora os receptores colinérgicos e histaminérgicos, todos eles têm em comum a ação farmacológica de bloquear os receptores dopaminérgicos, e é em relação a estes últimos que os estudos têm demonstrado os efeitos clínicos dos neurolépticos.

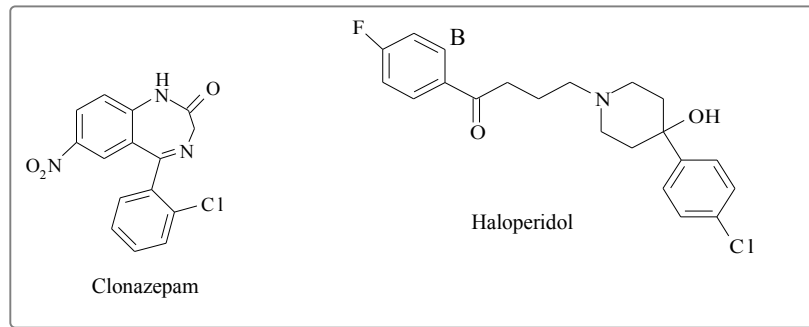


Figura 6-Estrutura química de dois antipsicóticos tradicionais. O clonazepam é uma droga pertencente à classe dos benzodiazepínicos, que possui como principal propriedade inibição leve das funções do sistema nervoso central permitindo assim uma ação anticonvulsivante, algum grau de sedação, relaxamento muscular e efeito tranqüilizante. O haloperidol tem como mecanismo de ação o bloqueio seletivo do sistema nervoso central, atingindo por competição os receptores dopaminérgicos pós-sinápticos. É, portanto, um bloqueador do receptor D₂ da dopamina. O aumento da troca de dopaminas no cérebro produz o efeito antipsicótico.

O bloqueio dos outros receptores, além dos dopaminérgicos, estaria relacionado mais aos efeitos colaterais da droga do que aos terapêuticos. Os antipsicóticos tradicionais, Haloperidol (Figura 6) e Clorpromazina são eficazes em mais de 80% dos pacientes com esquizofrenia, atuando predominantemente nos sintomas chamados produtivos ou positivos (alucinações e delírios) e, em grau muito menor, nos chamados sintomas negativos (apatia, embotamento e desinteresse).⁹²

2.16 TESTE DO CAMPO ABERTO (*open field*)

Uma das formas de quantificar a variável “atividade motora” seja espontânea ou induzida dos animais de experimentação, é através do modelo experimental animal de “campo aberto”, onde se coloca o animal numa caixa com assoalho quadriculado com o propósito de se medir o número de quadrados percorridos pelo animal durante 5 ou 10 minutos. Subseqüentemente, divide-se o número de quadrados percorridos, pelo tempo de prova em minutos, obtendo-se assim, um índice quantificador que é importante, uma vez que ao longo do tempo de prova, o animal diminui a atividade motora em função do fenômeno de habituação. O índice também é útil para se determinar o nível de ansiedade do animal já que a atividade motora pode ser atribuída ao interesse do animal em conhecer o ambiente novo e o temor (“ansiedade”) de explorar esse ambiente simultaneamente, portanto este modelo também é útil no estudo dos efeitos de compostos ansiolíticos. Outros parâmetros a serem mensurados na prova, incluem o número de defecações, número de vezes e tempo que o animal fica imóvel (congelamento) e finalmente, número vezes que pratica movimentos de asseio individual^{8,9}.

3.0 ARTIGO 1

Estudo da atividade analgésica em camundongos Swiss submetidos a diferentes doses de Cloreto de magnésio ($MgCl_2$) e de extrato hidroalcoólico a 30% da raiz de *Eclipta alba* associado ou não a Paracetamol e Clonazepam

Treto RRR, Cunha RM, Pinto, WJ, Graebner IB, Lima LV

Estudo da atividade analgésica em camundongos Swiss submetidos a diferentes doses de Cloreto de magnésio (MgCl₂) e de extrato hidroalcoólico a 30% da raiz de *Eclipta alba* associado ou não a Paracetamol e Clonazepam

Autores: Treto RRR, Cunha RM, Pinto WJ, Graebner IB, Lima LV

Resumo

A percepção dolorosa, aliviada 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 (MgCl₂) e extrato hidroalcoólico a 30% da raiz de *Eclipta alba*, associado ou não com Paracetamol ou Clonazepam. **Material e Métodos:** Camundongos Swiss foram submetidos a tratamento com cloreto de magnésio, extrato hidroalcoólico a 30% da raiz de *Eclipta alba*, Paracetamol e Clonazepam. O limiar de excitação foi determinado através do teste da “Placa quente”. **Resultados e Discussão:** O Cloreto de Magnésio(130mg/Kg) e o Paracetamol (12.5mg/Kg) mostraram efeito analgésico sinérgico, provavelmente devido a uma diminuição da excitabilidade neuronal nociceptiva acompanhado de uma ação despolarizante sobre o sistema analgésico endógeno. O Clonazepam (0.066mg/Kg) parece bloquear o efeito analgésico do cloreto de magnésio em nível do sistema analgésico endógeno (componente OFF), devido à hiperpolarização neuronal por causa do influxo de cloreto. O extrato fluido da raiz de *Eclipta alba* (500 e 250mg/Kg) parece ter tido ação analgésica comparável com o Paracetamol devido provavelmente à ação antioxidante de fenóis e polifenóis presentes no extrato bem como à ação inibidora da fosfolipase A2 por parte dos flavonóides. Fenóis e mandelolactona também presentes nos extratos poderiam ter contribuído à analgesia através da inibição direta da sínteses de prostaglandinas. **Conclusões:** A dose de 130mg/Kg de massa corporal de cloreto de magnésio teve efeito sinérgico com o Paracetamol. O Clonazepam parece ter bloqueado o efeito analgésico do cloreto de magnésio em nível do sistema analgésico endógeno. O extrato hidroalcoólico da raiz de *Eclipta alba* nas doses de 500 e 250mg/Kg de massa corporal mostraram atividade analgésica comparável com a ação do Paracetamol entre 60 e 120 minutos.

Palavras chaves: Analgesia. cloreto de magnésio. paracetamol. *Eclipta alba*.

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 and hydroalcoholic fluid stratum of Eclipta alba dead root either associated or not with Paracetamol or Clonazepam. **Material and Methods:** Swiss mice were treated with magnesium chloride, hydro-alcoholic fluid stratum 30% of Eclipta alba, Paracetamol and Clonazepam. The excitation threshold was determined by the “hot plate” test. **Result and Discussion:** Magnesium chloride(130mg/Kg) showed a synergistic action with Paracetamol(12.5mg/Kg) probably due to a low excitability in the nociceptive system and depolarization in the endogenous analgesic system(OFF component). The Clonazepam (0.066mg/Kg) seems to block an analgesic action of the magnesium chloride in the endogenous analgesic system by the neural hyperpolarization, due to the chloride influx. The fluid stratum of Eclipta alba,30%,(500 and 250 mg/Kg)seems to have shown a similar analgesic action compared to the Paracetamol analgesic action, due to the antioxidant action of phenol and polyphenol compounds ,the inhibitory action of the phospholipasic A2 by flavonoids compounds and the specific inhibition of prostaglandins syntheses by phenols and mandelolactone compounds, all presents in the fluid stratum of Eclipta alba, as well. **Conclusions:** Magnesium chloride(130mg/Kg) strengthen the analgesic action of Paracetamol. The Clonazepam seems to have blocked an analgesic action of magnesium chloride in the endogenous analgesic system. The fluid stratum of Eclipta alba dead root (500 and 250mg/Kg) showed a similar analgesic activity of Paracetamol between 60 and 120 minutes.*

Key words: Analgesic. magnesium chloride. paracetamol. Eclipta alba.

INTRODUÇÃO

O sistema da dor, sem dúvida é um dos mais importantes sistemas 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”¹, 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 dano². Epistemologicamente a dor é uma manifestação em primeira pessoa², fisiologicamente, a dor tem três componentes: a) tissular; b) neural e c) de conduta¹. Fatores morfológicos, fisiológicos e bioquímicos são os responsáveis pelas diferenças na percepção da dor entre sexos², está comprovado, por exemplo, que a testosterona, apresenta ação hipoálgica³ no modelo da dor induzida por “formalina” em ratos fêmeas e machos.

O magnésio considerado o segundo íon mais importante no líquido intracelular devido à participação como co-fator enzimático em inúmeras reações metabólicas⁴, 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 eletro positivo criado pelo magnésio promove repulsão dos íons cálcio que apresentam também cargas positivas, portanto o magnésio constitui uma barreira eletro positiva ao influxo de cálcio quando a célula se encontra submetida ao potencial de membrana em repouso⁵. Funções como aprendizado e memória, mediadas pelos receptores NMDA (glutamatérgicos) entre outros também dependem dos níveis de magnésio no plasma⁶, daí que no hipocampo pode-se controlar a entrada massiva de cálcio ao interior dos neurônios por meio do tratamento com magnésio⁷ fato este que se torna extremamente relevante no tratamento de doenças neurais degenerativas. O sulfato de magnésio também é utilizado como analgésico⁸ e como adjuvante na anestesia veterinária⁹.

O Paracetamol (acetaminofen) com ação analgésica e antipirética, não possui ainda um mecanismo de ação devidamente esclarecido, acredita-se que participa na inibição da síntese de prostaglandinas (PG) tanto no sistema nervoso central quanto no periférico, bloqueando a geração de potenciais de ação. A inibição da síntese de PG e/ou a inibição da ação de outras

substâncias mediadoras da resposta nociceptiva, também poderia ser pelo menos parte do mecanismo de ação deste medicamento¹⁰.

O Clonazepam é uma benzodiazepina com ação muito expressiva no sistema nervoso central¹¹ 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 (neuronal)^{12 13}, sendo assim, pode-se considerar que o clonazepam potencializa a ação do GABA e portanto participa na modulação da excitabilidade neuronal, interferindo funcionalmente com pelo menos parte dos diferentes sistemas neuronais encontrados no sistema nervoso.

Segundo Krishnaswamy, citado por Santos¹⁴, a *Eclipta alba* conhecida popularmente como agrião do brejo ou erva botão (Figura 1), pertence à família *Asteraceae* e é uma planta nativa dos países de clima tropical e sub-tropical como Brasil, China, Austrália, etc. É conhecida popularmente através da Etnomedicina por apresentar várias ações farmacológicas importantes, tais como analgésica, anti-inflamatória, hepatoprotetora e antiviral, além de atividades imuno moduladora e nootrópica. Segundo Shaikh, citado por Santos¹⁴, esta planta tem sido utilizada desde os tempos antigos em sistemas tradicionais de medicamentos e especificamente no tratamento da epilepsia.



Figura 1 - *Eclipta alba*

Fonte: www.plantasmedicinainsefisioterapia.com

Portanto a busca de substâncias e seus mecanismos de ação, que de alguma forma diminuam a algesia ou aumentem a eficiência do sistema analgésico endógeno tem sido um objetivo do homem ao longo de séculos, para assim contribuir com o alívio da percepção da dor

humana e animal mais eficientemente. Neste trabalho será abordado o segundo componente fisiológico (fase ou etapa neural) 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

Caracterizar a ação farmacológica do Cloreto de Magnésio ($MgCl_2$), extrato fluido hidroalcoólico a 30% da raiz de *Eclipta alba*, Paracetamol e Clonazepam através de um modelo de analgesia em camundongos.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Aferir os tempos de reação ao calor em camundongos Swiss submetidos a tratamento com diferentes doses de $MgCl_2$ combinado ou não com Paracetamol;
- b) Determinar os tempos de reação ao calor em camundongos Swiss submetidos a tratamento com uma dose de $MgCl_2$ combinado ou não com Clonazepam;
- c) Determinar os tempos de reação ao calor em camundongos Swiss submetidos a tratamento com diferentes doses do extrato hidroalcoólico a 30% da raiz de *Eclipta alba*.

MATERIAIS E MÉTODOS

MATERIAIS

Foram utilizados 84 camundongos machos Swiss adultos jovens, além de equipamento laboratorial e vidraria, luvas, seringas e agulhas para administração oral, cronômetro digital e analgesímetro. $MgCl_2$ hexahidratado da UNIPHAR/Brasil, comprimidos de 500mg de Paracetamol (Tylaflex pela MEDQUIMICA/Brasil), comprimidos de 0,5mg, de Clonazepam (clopam /Lab. Cristália/Brasil) e extrato hidroalcoólico a 30% obtido da raiz de *Eclipta alba*.

MÉTODOS

Preparação e administração de $MgCl_2$ – em 1,0grama de $MgCl_2$ hexahidratado adicionou-se água destilada até o volume de 10 mililitros (aproximadamente 100mg/mL). Cada animal experimental recebeu as doses do $MgCl_2$ 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 adicionou-se água destilada até o volume de 60 mL (aproximadamente 2,08mg/mL). Cada animal experimental recebeu a dose de Paracetamol de acordo com o planejamento experimental presente nas tabelas 1 e 3, enquanto que os animais controle negativo receberam água destilada.

Preparação e administração do Clonazepam – em 0,125mg de Clonazepam adicionou-se água destilada até o volume de 10 mL (aproximadamente 0.0125 mg/mL). 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.

Preparação e administração do extrato de *Eclipta alba* - O material vegetal foi coletado de plantas de acordo com as normas higiênicas e sanitárias estabelecidas. As raízes foram secas e moídas para posterior estocagem e uso. O extrato hidroalcoólico foi elaborado nos laboratórios da Universidade Federal do Acre (UFAC). Para uso experimental o extrato foi dissolvido em água destilada, ajustando o pH para 7.4. Posteriormente foi administrado aos animais de experimentação segundo o planejamento que aparece na tabela 3. O grupo controle negativo recebeu água destilada.

A toxicidade aguda em camundongos foi avaliada através da administração oral de doses crescentes do extrato hidroalcoólico a 30% da raiz de *Eclipta alba* a diferentes grupos de animais (n=6), as doses foram: 250mg/Kg, 500mg/Kg e 1000mg/kg de massa corporal, verificando o número de óbitos e/ou alterações sensori-motoras e na conduta após 48 horas¹⁵. Não se reportaram óbitos, nem outras alterações funcionais e de conduta evidentes.

As doses utilizadas foram definidas da seguinte forma:

a- Cloreto de magnésio: A partir das doses de magnésio utilizadas em trabalhos clínicos anteriores e fazendo uma curva dose-resposta em camundongos, se definiu a faixa de doses com atividade mais expressiva segundo os objetivos do trabalho; *b- Paracetamol*: A partir das doses utilizadas no humano e referidas nas bulas do medicamento e fazendo uma curva dose-resposta em camundongos, se escolheu a dose com atividade mais adequada tendo em vista que, se precisava saber se era possível potencializar a ação do medicamento, portanto a dose deste último deveria ser relativamente baixa. O excipiente ligado ao medicamento, não foi extraído; *c- Clonazepam*: A partir das doses utilizadas no humano e referidas nas bulas do medicamento e

fazendo uma curva dose-resposta em camundongos, se escolheu a dose mais adequada tendo em vista que tratávamos induzir no neurônio o influxo de cloreto para gerar assim uma relativa hiperpolarização neuronal e não sedação e sono no animal. O excipiente ligado ao medicamento não foi extraído; *d*- As doses do extrato hidroalcoólico da raiz de *Eclipta alba* se tomaram a partir das doses utilizadas no teste de toxicidade aguda realizado com antecedência.

Procedimento - 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 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 1,2 e 3 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 23107.014618/2014-78.

Determinação da atividade analgésica - A analgesia foi determinada através do teste da “placa quente”¹⁶, 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 mesma simultaneamente e se determinou (observação visual e cronômetro digital) o tempo que o animal demorou em lambear 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 da dor. O tempo máximo de prova foi de 25 segundos para não desencadear 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”.

Experimento 1

Tabela 1 - Esquema de tratamento. Ação do Cloreto de Magnésio ($MgCl_2$) sobre a atividade analgésica induzida por Paracetamol (Parac.) em camundongos Swiss adultos machos.

GRUPO EXPERIMENTAL	DET. BASAL	TRATAMENTO		DET. PÓS-TRAT.	
GI	PQ	$MgCl_2$ (100mg/Kg)	Parac.(12,5mg/Kg)	PQ	PQ
GII	PQ	$MgCl_2$ (130mg/Kg)	Parac.(12,5mg/Kg)	PQ	PQ
GIIC+	PQ	Água dest.(0,10ml)	Parac.(12,5mg/Kg)	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 $MgCl_2$ 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. (*):Diferença estatisticamente significativa.

Experimento 2

Tabela 2 - Esquema de tratamento. Ação do Clonazepam (Clon.) sobre a atividade analgésica induzida por Cloreto de Magnésio ($MgCl_2$) em camundongos Swiss adultos machos.

GRUPO EXPERIMENTAL	DET. BASAL	TRATAMENTO		DET. PÓS-TRAT.	
GI	PQ	Clon.(0,066mg/Kg)	$MgCl_2$ (130mg/Kg)	PQ	PQ
GIIC+	PQ	Água dest.(0,10ml)	$MgCl_2$ (130mg/Kg)	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 $MgCl_2$ ocorreu via intraperitoneal. -60: indica uma hora anterior ao início do experimento. Os valores referentes aos “tempos de reação” foram comparados estatisticamente. (*):Diferença estatisticamente significativa.

Experimento 3

Tabela 3 - Esquema de tratamento. Ação do extrato hidroalcoólico a 30% da raiz de *Eclipta alba* sobre a nocicepção em camundongos Swiss adultos machos.

GRUPO	TRATAMENTO	DET. PÓS-TRAT.			
EXPERIMENTAL					
GI	Extrato fluido(500mg/Kg)	PQ	PQ	PQ	PQ
GII	Extrato fluido(250mg/Kg)	PQ	PQ	PQ	PQ
GIIIc+	Paracetamol(12,5mg/Kg)	PQ	PQ	PQ	PQ
GIVc-	Água destilada(0,10ml)	PQ	PQ	PQ	PQ
Tempo (min.)	0	60	90	120	150

DET. PÓS-TRAT.: determinação pós-tratamento;PQ:placa quente; n=6; GI: grupo I; GII: grupo II; GIIIc+: grupo III (controle positivo); GIVc-: grupo IV (controle negativo). A administração do Paracetamol (Parac.) e extrato fluido de *Eclipta alba* se deram por via oral.Os resultados “tempos de reação” foram comparados estatisticamente. (*):Diferença estatisticamente significativa.

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% ($p < 0,05$)¹⁷. Para comprovar a distribuição normal dos valores obtidos nos experimentos se utilizou a prova de Shapiro-Wilk com uma confiança de 95%. Os resultados se expressam 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 DISCUSÃO

Experimento 1

O Gráfico 1 mostra que aos 90 minutos da administração de $MgCl_2$, 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 ação analgésica do $MgCl_2$ na dose de 100 mg/Kg de massa corporal e que a analgesia obtida deve-se 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 130mg/Kg de massa corporal de $MgCl_2$ 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:

- Sistema de geração e condução de sinais dolorosos;
- Sistema de interpretação dos sinais de dor.

O primeiro é formado por terminações nervosas ou receptores da 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 estruturas analisam os sinais procedentes dos receptores da dor e integram esses sinais, gerando-se assim a percepção da dor^{1,18,19}. Aumentos nos níveis plasmáticos de Mg^{+2} e no líquido extracelular, condicionam provavelmente despolarização neuronal em função de sua tendência eletroquímica, toda vez que sobre o íon magnésio estaria atuando uma força elétrica ($F = +q.E$) onde: $+q$ = valor da carga iônica; E = campo elétrico transmembrana (reflexo do potencial de membrana) além do aumento do gradiente de concentração que também facilita probabilisticamente o influxo do íon. A despolarização pode fazer o neurônio mais excitável 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 magnésio⁵ não condiciona hiperpolarização de modo que 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 magnésio⁵, tragam como consequência final a não geração e/ou condução de potenciais de ação no sistema

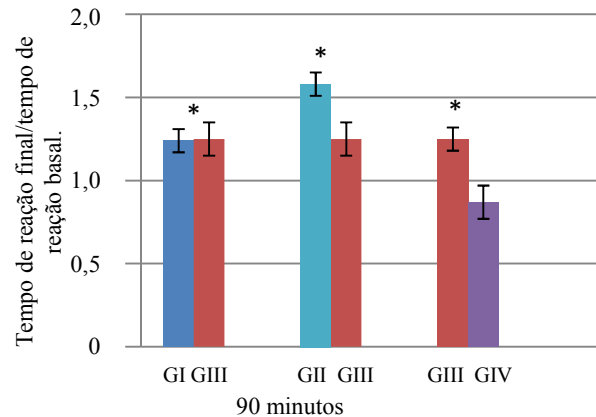


Gráfico 1 - Ação analgésica do Paracetamol em animais pré -tratados com diferentes doses de cloreto de magnésio. Estão representados a média e o erro padrão da média do tempo de reação final/tempo de reação basal. GI- $MgCl_2$ (100mg/Kg)+Parac.; GII- $MgCl_2$ (130mg/Kg)+Parac.; GIII-Parac.; GIV-Água destilada.

nociceptivo. Outra possibilidade seria por meio do sistema analgésico endógeno^{1,18}, formado por diversas estruturas situadas principalmente no tronco encefálico e medula espinal 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 espinal se realiza por meio de múltiplas conexões neurais do tipo excitatórias e inibitórias (Figura 2).

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 como os núcleos do Rafe, Substância cinzenta periaquedutal^{1,18} e outras, como por exemplo, as vias descendentes da medula espinal ou especificamente na substância gelatinosa (lâminas de Rexed) nos cornos posteriores da própria medula espinal²⁰. A ativação do componente OFF, inibe o componente ON. Diversos autores defendem que as mudanças na integridade das membranas neuronais do sistema da dor, devido às mais variadas causas²¹ podem provocar alterações metabólicas refletindo-se em importante modificação no estado coloidal intracelular de sol para gel²¹, estabilizando a membrana, e esta, portanto poderia ter sido a causa direta do aumento do limiar de excitação, essa forma de interpretação é chamada de “teoria física”.

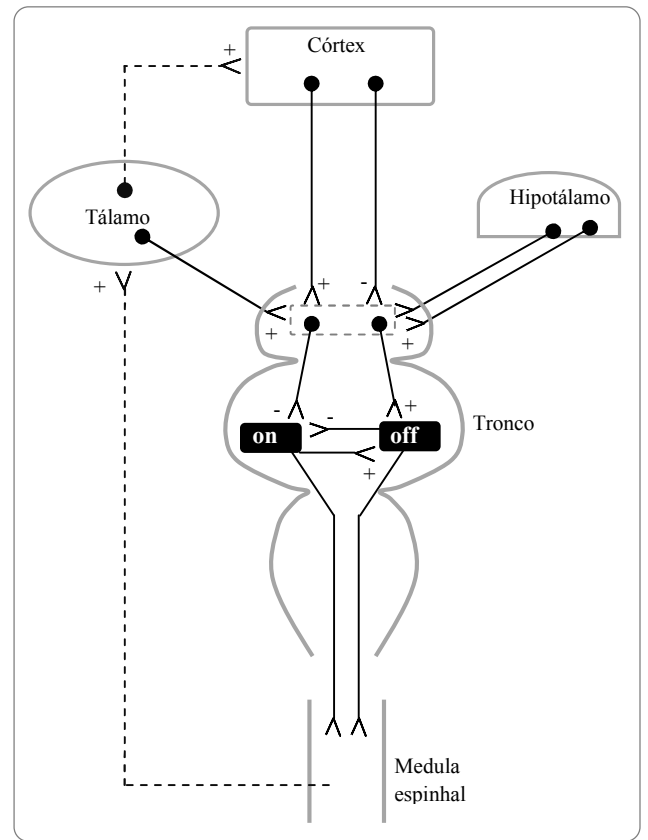


Figura 2 - Sistema nociceptivo em associação com o sistema analgésico endógeno. As linhas descontinuas indicam o trato anterolateral, via esta que transmite a informação da dor e temperatura. As linhas contínuas indicam as vias do sistema analgésico endógeno e como estas, mediante circuitos "on-off" modulam os sinais nociceptivos que penetram na medula espinal.

Esses efeitos poderiam ter ocorrido tanto em nível periférico quanto central. Em contrapartida, outros autores defendem uma seqüência de eventos contrária, ou seja, de que as mudanças metabólicas conduziram à estabilidade membranar, essa forma de entendimento denomina-se “teoria bioquímica”. A estabilidade da membrana aumenta o limiar de excitação dificultando, portanto, a gênese e/ou a condução do potencial de ação até as estruturas centrais envolvidas com a algesia¹.

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 de um substrato da enzima ciclooxigenase, diminuindo sua ação²². Também pode interferir nos mecanismos de sínteses e/ou ação fisiológica de determinados mediadores químicos da resposta nociceptiva, dita ação pode ser central e/ou periférica, diminuindo assim a percepção da dor¹⁰.

Aos 120 minutos após a administração de cloreto de magnésio (Gráfico 2) a resposta dos animais não foi diferente quando comparados 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 cloreto de magnésio na dose de 100 mg/Kg de massa corporal, além de não ser efetiva, também não atua de forma a potencializar a resposta analgésica mediada pelo Paracetamol. Além do anterior, 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 mg/Kg de massa corporal de cloreto de magnésio não foi suficiente ou não houve adequada absorção capilar resultando em níveis abaixo da concentração plasmática terapêutica.

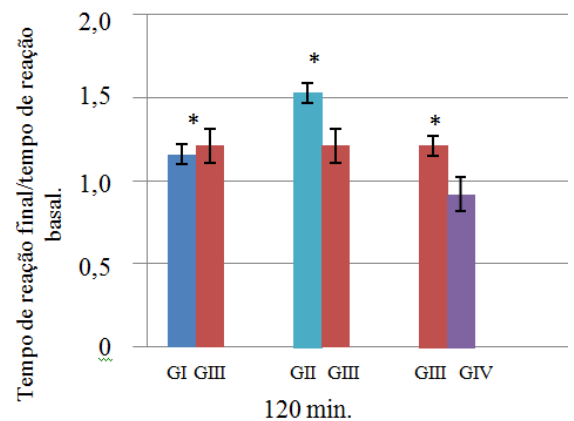


Gráfico 2 - Ação analgésica do Paracetamol em animais pré tratados com diferentes doses de cloreto de magnésio. Estão representados a média e o erro padrão da média do tempo de reação final/tempo de reação basal. GI-MgCl₂(100mg/Kg)+Parac.; GII-MgCl₂(130mg/Kg)+Parac.; GIII-Parac.; GIV-Água destilada.

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 neste tempo(120 minutos).

Experimento 2

O Grupo IIc+ apresentou efeito analgésico estatisticamente significativo quando comparado com o Grupo I aos 90 minutos (Gráfico 3 A). Quando comparados os GIIc+ e GIIIC- (controle positivo e negativo respectivamente) a diferença estatística também existe, a que deve ser atribuída ao tratamento com $MgCl_2$ administrado ao Grupo IIc+.

Aos 120 minutos o Grupo IIc+ mostrou (Gráfico 3 B) maior atividade analgésica se comparado com os Grupos I e IIIc-. 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+ ($MgCl_2$), reforçando a idéia de que a ação 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.

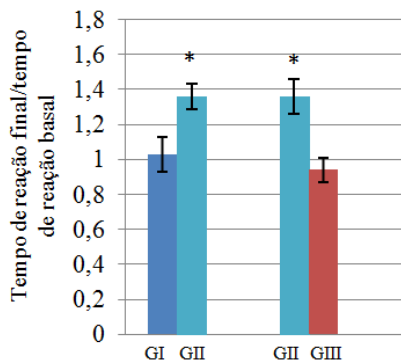


Gráfico 3 A - Ação do clonazepam sobre a atividade analgésica induzida por cloreto de magnésio, se representa a média e o erro padrão da média do tempo de reação final/tempo de reação basal.(90 minutos).GI-Clon.+ $MgCl_2$ (130mg/Kg); GII- $MgCl_2$ (130mg/Kg);GIII-Água destilada.

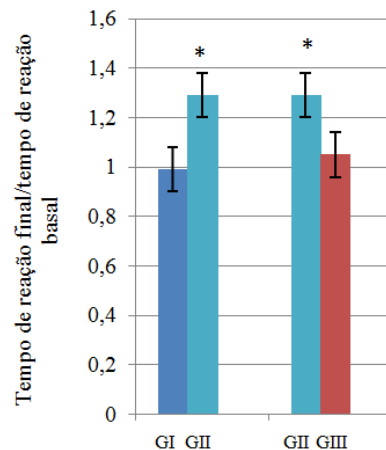


Gráfico 3 B - Efeitos do Clonazepam sobre a atividade analgésica induzida por cloreto de magnésio, se representa a média e o erro padrão da média do tempo de reação final/tempo de reação basal.(120 minutos).GI-Clon.+ $MgCl_2$ (130mg/Kg); GII- $MgCl_2$ (130mg/Kg);GIII-Água destilada.

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^- ao interior neuronal, o que impediu a despolarização efetiva por parte do íon Mg^{+2} , e/ou devido à possível ação do Clonazepam¹¹, na redução direta ou indireta da síntese e/ou liberação de neurotransmissores¹, que não permitiu a ação estimuladora correta do íon Mg^{+2} . A inibição do componente OFF, facilita o componente ON. Se a ação do clonazepam tivesse ocorrido no sistema nociceptivo então provavelmente o Grupo I, mostraria ação analgésica. O fato de aumentar o nível de MgCl_2 nos líquidos extracelulares, implica, conseqüentemente na elevação do Cl^- extracelular, substrato básico da ação do clonazepam. O Cl^- se distribui passivamente dependendo do potencial de membrana em repouso¹.

Quando comparados os Grupos IIc+ e IIIc-, entre si, os resultados complementam os dados previamente discutidos, uma vez que o Grupo IIc+ (controle positivo) mostrou ação analgésica estatisticamente significativa com relação a si próprio e com relação ao Grupo IIIc- que recebeu tratamento com água destilada, mostrando mais uma vez o efeito analgésico 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- (controle negativo), sustenta a sua condição de não analgesia (Gráfico 3 B).

Experimento 3

Quando comparados Grupos I e II (tratados com o extrato hidroalcoólico a 30% da raiz de *Eclipta alba*) com relação ao Grupo III (controle positivo), tratado previamente com Paracetamol, se confirma que aos 60 minutos não existem diferenças estatisticamente significativas nos tempos de reação entre os grupos (Gráfico 4), de modo que, nesse tempo o extrato hidroalcoólico a 30% da raiz de *Eclipta alba* parece mostrar igual atividade analgésica que o Paracetamol, nas doses utilizadas. A atividade analgésica também se mostrou presente nesses grupos aos 90 e 120 minutos. Na comparação da atividade analgésica dos três Grupos, no terceiro tempo de prova, contra os três Grupos no segundo tempo de prova, se comprovou que não houve diferenças entre eles estatisticamente significativas.

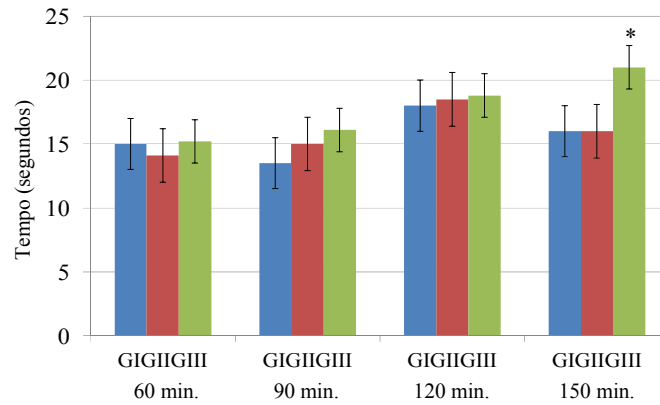


Gráfico 4 - Ação do extrato fluído de *Eclipta alba* sobre os tempos de reação dos camundongos no teste da placa quente, se representa a média e o erro padrão da média dos tempos antes referidos. Não houve diferenças estatisticamente significativas aos 60, 90 e 120 minutos. GI-Extrato fluído (500mg/Kg); GII-Extrato fluído (250mg/Kg); GIII-Paracetamol.

Em contraste, aos 150 minutos, os Grupos I e II, mostram tempos de reação similares aos obtidos no primeiro tempo (60 minutos), indicando claramente o início do declínio da atividade analgésica do extrato fluído de *Eclipta alba*. Por outro lado, o Paracetamol continuou aumentando a sua ação analgésica tanto em intensidade, quanto em tempo de duração. Assim, o extrato hidroalcoólico a 30 % da raiz de *Eclipta alba* parece ter mostrado efeito analgésico comparável com o Paracetamol aos 60, 90 e 120 minutos, no modelo animal e doses escolhidas.

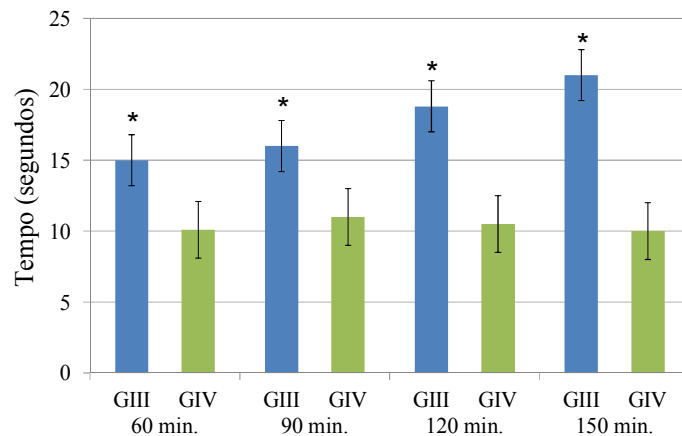


Gráfico 5 - Ação do Paracetamol sobre os tempos de reação dos camundongos no teste da placa quente, se representa a média e o erro padrão da média dos tempos antes referidos. As diferenças foram estatisticamente significativas em todos os tempos. GIII-Paracetamol; GIV-Água destilada.

O Gráfico 5 mostra que os animais do Grupo IIIc+ (que receberam Paracetamol), apresentam tempos de reação progressivamente maiores entre 15 e 21 segundos ao longo dos quatro tempos utilizados no experimento, evidenciando a ação analgésica do fármaco. Já o Grupo IVc- (que recebeu água destilada) mostra tempos de reação similares ao longo do experimento (entorno de 10 segundos). Finalmente, quando comparados os Grupos I e II, tratados com o extrato fluído de *Eclipta alba* e o Grupo IV (controle negativo), comprovamos diferenças estatisticamente significativas nos tempos de 120 e 150 minutos.

O extrato de *Eclipta alba* apresenta diversas substâncias biologicamente importantes tais como, ácido mandélico, dimetilmandelolactona (lactona), terlienilcarbinol (glicosídeo), apigenina (flavona), luteolina (derivado flavónico), sitosterol, estigmasterol (esteróides)²³. Contudo, os efeitos analgésicos da *Eclipta alba* podem ser atribuídos à mandelolactona, um éster com propriedades antiinflamatórias²³ por que as ações analgésica e antiinflamatória dependem da inibição da sínteses de prostaglandinas. Componentes fenólicos do extrato, mostraram *in vitro* inibição da sínteses de prostaglandinas, efeito este, que poderia ser (indiretamente) o responsável pelo menos em parte da ação antiinflamatória da mandelolactona²³. Fernandez e colaboradores²⁴ sugerem que fenóis e polifenóis são os responsáveis pela ação antioxidante no modelo *in vitro* de “omogenato de cérebro”, portanto a mandelolactona e wedelolactona (polifenol encontrado no referido extrato fluído, com ação inibidora enzimática comprovada¹⁴) também poderiam possuir ação antioxidante (estabilizadora das membranas biológicas) direta ou indiretamente, e ação inibidora da sínteses de prostaglandinas. Estudos mostram que os flavonóides em geral e principalmente os que possuem sistemas “catecois” (benzenodiol) participam na inibição da fosfolipase A2 presente no veneno de serpentes^{14,25}, trazendo como consequência a não liberação (a partir das membranas) e consequente não transformação metabólica do ácido araquidônico. A inibição enzimática antes referida poderia estar presente em camundongos, por que os flavonóides estão na composição dos diferentes extratos de *Eclipta alba*.²³

Portanto, a partir da composição química e ações analgésicas mensuradas, o possível mecanismo de ação do extrato fluído da *Eclipta alba*, pode ser atribuído à inibição da síntese de prostaglandinas, sobretudo do tipo “E” atuando assim em nível periférico e/ou central. As prostaglandinas, bradicinina e fator de crescimento nervoso, causam alterações nos receptores vanilóides específicos (TRPV1) acoplados a canais iônicos-ligantes-dependente via ativação do

AMPC e protein cinase, reduzindo o tempo de pós-hiperpolarização da membrana neural, gerando queda do limiar para o disparo da fibra²⁶(hiperalgesia). Os receptores TRPV2 e receptores “indeterminados”(os quais não precisam dos receptores TRPV1 e TRPV2) poderiam estar participando também na detecção do calor nocivo²⁷. É provável que uma substância “endovanilóide” se forme na lesão tecidual e faça mediação entre a estimulação térmica e a resposta receptora²⁷. Portanto (no experimento 3) o aumento do limiar de excitação desses terminais nervosos poderiam estar condicionando hipoalgesia. A inibição na síntese de prostaglandinas da série E poderia estar provocando queda na frequência de descarga de potenciais de ação por parte do sistema da dor devido à redução da expressão funcional dos receptores TRPV1²⁸, efeito que poderia ser acompanhado ou não de uma ação antiinflamatória local, uma vez que, as prostaglandinas são importantes mediadores inflamatórios.

A ação antioxidante antes referida preserva a estrutura e integridade das membranas plasmática e intracelulares, trazendo como consequência maior estabilidade destas e, portanto, menor probabilidade de liberação dos seus componentes e entre eles o ácido araquidônico²⁹, o qual sabemos é catalisado pelas enzimas cicloxigenases se transformando em prostaglandinas, prostaciclina e tromboxanos²⁹, substâncias mediadoras de diferentes respostas fisiológicas entre elas as inflamatória e algésica. Todos esses mecanismos atuando em sinergia, inibindo de uma forma ou outra a sínteses de prostaglandinas, principalmente da série “E” produziriam aumento do limiar de excitação do sistema nociceptivo e, portanto analgesia.

CONCLUSÕES

Tendo em conta as doses administradas aos animais experimentais e o modelo experimental escolhido para realizar as determinações do efeito analgésico assim como os tempos de provas utilizados em ditas determinações, pode-se concluir que o $MgCl_2$ na dose de 100 mg/kg de massa corporal não mostrou atividade analgésica nos tempos 90 e 120 minutos, enquanto que na dose de 130 mg/Kg de massa corporal, potencializou o efeito analgésico de Paracetamol nos tempos de 90 e 120 minutos, além disso, mostrou atividade analgésica “per si” nos tempos antes referidos provavelmente devido a efeitos similares aos “efeitos eletrofísicos” induzidos pelas correntes galvânicas. Já o clonazepam na dose empregada, parece ter bloqueado o efeito analgésico do $MgCl_2$ aos 90 e 120 minutos. Pelo menos parte do efeito analgésico do $MgCl_2$ pode ser atribuído à ação despolarizante do mesmo, sobre o sistema analgésico endógeno. O extrato hidroalcoólico a 30% da raiz de *Eclipta alba* nas doses de 500 mg/Kg e 250 mg/Kg de massa corporal mostraram atividade analgésica “per si” entre 60 e 120 minutos, esse efeito parece ser comparável (em intensidade) com o efeito analgésico do Paracetamol.

REFERÊNCIAS

1. GUYTON, A.; HALL, J. *Tratado de Fisiologia Médica*. Editora: Guanabara Koogan. 12^a Ed. 2011. 617-628 p.
2. ARAÚJO, C.C.; ASHMAWI, H.A.; PAULA POSSO, I. Sexo e Percepção da dor e analgesia. *Rev. Bras. Anesthesiol*, v. 61, n.6, p.814-828, 2011.
3. GAUMOND, I.; ARSENAULT, P.; MARCHAND, S. Specificity of female and male sex hormone on excitatory and inhibitory phases of formalin-induced nociceptive response. *Brain. Res*, 1052, p.105-111, 2005.
4. BARBOSA, F.T.; BARBOSA, L.; CUNHA, R.M. Uso do sulfato de magnésio por via intravenosa e nebulização para tratamento de asma aguda na emergência. *Rev. Bras. Ter. Int.*, v. 19, n.3, p.369-373, 2007.
5. LI, X.; MARKOU, A. Metabotropic glutamate receptor 7 (mGluR7) as a target for the treatment of psychostimulant dependence. *CNS Neurol Disord Drug Targets*, v.14, n.6, p.738-44, 2015.
6. BOANCA, M. et al. The effects of magnesium nanovesicle formulations on partial memory performance in mice. *Rev Med Chir Soc Med Nat Iasi*, v.118, n.3, p.847-53, Jul/sep, 2014.
7. Neurofisiologia da memória. Disponível em: <http://www.wikipedia.org/wiki/neurofisiologia_da_memoria>. Acesso em: 06 jan. 2014.
8. BARBOSA, F.T.; BARBOSA, L.; CUNHA, R.M. Usos do sulfato de magnésio em obstetrícia e em anestesia. *Rev. Bras. Anesthesiol*, v. 60, n.1, p.104-110, 2010.
9. DE ROSI, R. et al. Sulfato de magnésio prolonga a analgesia epidural lombosacral induzida pela quetamina em carneiros. *Ata Cirúrgica Brasileira*, v.27, n.2, p.137, 2012.
10. TAUBEN, D. Nonopioid medications for pain. *Phys Med Rehabil Clin N Am*, v.26, n.2, p.219-248, May, 2015.
11. CORRIGAN, R. et al. Clonazepam for neuropathic pain and fibromyalgia in adults. *Cochrane Database Syst. Rev*, v.16, n.5, May, 2012.
12. Rivotril. Disponível em: <<http://www.bulas.med.br/bula/3486/rivotril.htm>>. Acesso em: 10 jan. 2014.
13. LITTER, M. *Farmacologia Experimental e Clínica*. Buenos Aires: 7^a Edição, 1986. 329-333p.
14. SANTOS, E.M.O et al. Estudo da ação do LED e do extrato hidroalcoólico de *Eclipta alba* em modelo experimental de edema de pata, induzido pela carragenina. X Encontro Latinoamericano de Iniciação Científica e VI Encontro Latinoamericano de Pós-Graduação-Universidade do Vale de Paraíba. *Rev Univap*, v. 24, p.733-736, 2006.

15. LORKED, D. A new approach to practical acute toxicity testing. *Arch. of Toxicol*, v.54, p.275-287, 1983.
16. CABRAL, J.S. et al. Modelos experimentais para avaliação de atividade antinociceptiva de produtos naturais: Uma revisão. *Rev. Bras. Farm*, v.94, n.1, p.18-23, 2013.
17. DA FONSECA, J.S.; DE ANDRADE, G. *Curso de Estatística*. SÃO PAULO: Atlas S.A 6ª Edição, 1996. 240-243p.
18. MACHADO, ANGELO. *Neuroanatomia funcional*. Atheneu. 2ª Edição, 2000. 35-47p.
19. CALIXTO, J.B.; YUNES, R.A. Natural Bradykinin antagonist. *Men-Inst. Oswaldo Cruz*, v.86 Suppl. 2, p.195-202, 1991.
20. RESCHETNIAK, V.K.; KUKUSHKIN, M.L.; GURKO, N.S. The importance of the cortex and subcortical structures of the brain in the perception of acute and chronic pain. *Patol Fiziol Eksp Ter*, v.4, p.96-110, Oct/Dec, 2014.
21. COLLINS, J. *Anestesiologia*. La Habana: Edición Revolucionaria, 1985. 795-796p.
22. SMITH, H.S. Potential analgesic mechanism of acetaminophen. *Pain Physician*, v.12, n.1, p.269-80, 2009.
23. Agrião do Brejo. Disponível em: <erikschulz.blogspot.com/2010/.../agrião-do-brejo-eclipta-alba-i-hassk.ht...>. Acesso em: 10 jan. 2014.
24. FERNANDEZ, F. et al. Características químico-farmacéuticas y propiedades farmacológicas de extractos de *Musa sp* ABB (plátano burro). *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, Ciudad de La Habana, v.2, n.2, Mayo/Ago. 1997.
25. Pesquisas desvendam funções das proteínas presentes em venenos de cobras. Disponível em: <http://www.unicamp.br/unicamp/unicamp_hoje/ju/.../ju457_pag_0607>. Acesso em: 13 jan. 2014.
26. CARVALHO, AP et al. Dor: Aspectos atuais da sensibilização periférica e central. *Rev Bras Anesthesiol*, v.57, n.1, p.94-105, 2007.
27. Nociceptores. As células que sentem dor. PhD Alan Fein. Riberão Preto-SP: Dor on line: 2011. 106p. Disponível em: <<http://www.dol.inf.br/nociceptores>>. Acesso em: 12 mai. 2015.
28. DURVAL CAMPOS KRAYCHETE et al. Dolor neuropático: aspectos neuroquímicos. *Rev. Bras. de Anesthesiol*, v.58, n.5, Campinas Sept./Oct. 2008.
29. CALDER, P.C. Polyunsaturated fatty acids, inflammation and immunity. *Lipids*, v.36, n.9, p.1007-1024, 2001.

4.0 ARTIGO 2

Estudo da atividade motora em camundongos *Swiss* submetidos a tratamento prévio com Cloreto de magnésio ($MgCl_2$) e Clonazepam

Treto RRR, Cunha RM, Pinto WJ, Souza MN, Gutierrez LAS

Estudo da atividade motora em camundongos *Swiss* submetidos a tratamento prévio com Cloreto de magnésio ($MgCl_2$) e Clonazepam

Treto RRR, Cunha RM, Pinto WJ, Souza MN, Gutierrez LAS

Resumo

O magnésio (Mg^{+2}) é o antagonista natural do cálcio e é responsável por diversas ações fisiológicas tais como a fluidez das membranas e modulação na liberação da acetilcolina. A excitabilidade neuronal depende dentre outros fatores, dos níveis de magnésio intracelular e extracelular, portanto a excitabilidade do sistema motor somático nos mamíferos dependerá da excitabilidade dos motoneurônios localizados nos sistemas nervosos central e periférico, sendo assim, mudanças na composição ambiental extracelular do sistema motor deve trazer como resultado alterações na atividade (função) deste sistema. **Objetivo:** Determinar a ação de diferentes doses de $MgCl_2$ (associado ou não a Clonazepam) bem como a ação do clonazepam associado ao exercício físico sobre a atividade motora em camundongos *Swiss* e no relaxamento muscular esquelético dos mesmos. **Material e Métodos:** Camundongos *Swiss* foram submetidos a tratamento com $MgCl_2$, Clonazepam e exercício físico. Determinou-se a atividade motora através do teste de “Campo aberto” e o relaxamento muscular mediante o teste da “grade metálica vertical”. **Resultados e Discussão:** O $MgCl_2$ (24.4 e 27.7mg de Mg/Kg) parece ter induzido aumento da atividade motora espontânea, provavelmente devido à despolarização e/ou aumento na liberação de neurotransmissores nas estruturas motoras. O $MgCl_2$ (100 e 130mg/Kg) combinado com clonazepam (0.066mg/Kg) provocou redução na velocidade de queda da atividade motora em animais submetidos pela segunda vez à prova de “campo aberto” se opondo ao fenômeno normal de habituação ao ambiente, provavelmente a ação despolarizante do $MgCl_2$ seja responsável deste resultado. O Clonazepam (0.033mg/Kg) combinado com o exercício físico (natação) provocou redução expressiva na velocidade de queda da atividade motora dos camundongos, provavelmente devido a mecanismos relacionados à plasticidade neuronal [depressão em longo termo(LTD) e potenciação em longo termo(LTP)], apoiados pelo influxo de cloreto. A prova de relaxamento muscular estriado não acusou alterações no tônus, força, equilíbrio e coordenação motora. **Conclusões:** As doses de 24.4 e 27.7mg de Mg/Kg de peso provocaram aumento da atividade motora espontânea. As doses de 100 e 130mg de $MgCl_2$ /Kg de

peso corporal combinado com Clonazepam provocaram aumento da atividade motora. O Clonazepam (0.033mg/Kg) combinado com atividade física potencializou o sistema motor (aumento da atividade motora), provavelmente através dos mecanismos de plasticidade neuronal.

Palavras chaves: Cloreto de magnésio. atividade motora. atividade física. plasticidade neuronal.

Abstract

*Magnesium, a natural calcium antagonist has different physiological actions: the increase of the membrane fluidity, modulation of acetylcholine secretion, and others. Thus the neurological excitability will depend, among others, on the levels of intracellular and extracellular magnesium and the mammal motor system excitability. Changes in the environmental composition surrounding the nervous cellular membranes of the motor system will induce hyperactivity or hypoactivity in the somatic motor system. **Objectives:** To determine the pharmacologic action of different doses of magnesium chloride associated or not with Clonazepam on the motor behavior (motor activity) and the muscular relaxation level on Swiss mice. To determine the pharmacologic action of Clonazepam associated with the physical activity on the motor behavior. **Material and Methods:** The Swiss mice were treated with magnesium chloride, Clonazepam and physical activity (in the swimming pool). The motor activity was determined by the "Open Field" test and the muscular relaxation level was determined by the "Vertical metallic wall" test. **Results and Discussion:** The magnesium chloride (24.4 and 27.7 mg/Kg) stimulated the spontaneous motor activity in mice, depolarization and high secretion of neurotransmitters in the motor system may be considered the causes of this result. Magnesium chloride (100 and 130 mg/Kg) associated with Clonazepam (0.066 mg/Kg), stimulated the motor activity making the low velocity decrease of the motor activity in mice put into the "open field" box twice and three times, in contrast to their natural behavior (habituation). The height motor activities, associated with Clonazepam (0.033 mg/Kg) and physical activities (swimming) may be explained by the neural plasticity mechanisms (long term depression (LTD) and long term potentiation (LTP), associated with the chloride influx. The muscular relaxation level (tone, force, equilibrium and coordination) was normal for all groups, and is not different among the experimental groups. **Conclusions:** Magnesium chloride (24.4 and 27.7 mg of Mg/Kg) increased the motor activity. Magnesium chloride (100 e 130 mg/Kg) associated with Clonazepam increased the motor activity. Clonazepam (0.033 mg/Kg) associated with the physical activity strengthens the motor activity through of neural plasticity mechanisms.*

Key words: *Magnesium chloride. motor activities. physical activity. plasticity mechanism.*

INTRODUÇÃO

O magnésio (Mg^{+2}) é o quarto íon em importância para os mamíferos, e o segundo íon em importância em nível intracelular, se concentra principalmente no interior de todas as células do organismo, é o antagonista natural do cálcio e participa em aproximadamente 300 reações metabólicas diferentes¹. Sabe-se que a fluidez das membranas celulares e mitocondriais depende dos níveis de magnésio². Ações como, por exemplo, a redução da liberação de acetilcolina, diminuição da sensibilidade e intensidade do potencial da placa motora estão associadas à queda dos níveis plasmáticos de magnésio³. O Mg^{+2} ainda está relacionado a diversas outras funções biologicamente importantes tais como, aprendizado, memória e excitabilidade neuronal⁴, além disso, o Mg^{+2} (na forma de sulfato de magnésio), é utilizado como agente analgésico⁵ e como coadjuvante no tratamento da doença de Alzheimer, onde atua retardando os possíveis processos pré-apoptóticos e apoptóticos ocasionados pelo influxo de cálcio nos neurônios pós-sinápticos hipocampais⁶.

De fato, a excitabilidade neuronal e muscular tem relação direta com a correta distribuição de íons em ambas as faces da membrana celular, portanto a atividade motora também dependerá desta distribuição iônica. É possível mensurar a atividade motora somática através da relação matemática entre: dopamina/serotonina ou noradrenalina/serotonina nessas estruturas nervosas motoras¹, devido à enorme quantidade de contatos sinápticos tipo neuro-neuronais dopaminérgicos, adrenérgicos e serotoninérgicos encontrados nas mesmas². Qualquer interferência nessa distribuição iônica e nesses sistemas de neurotransmissores torna possível modular o nível de trabalho do sistema motor somático. O íon Mg^{+2} faz parte da estrutura do receptor NMDA (N-metil-D- aspartato), importante receptor glutamatérgico⁷ que se comporta como um canal de sódio e cálcio nas membranas neuronais e que faz parte de diversos sistemas funcionais. A maior parte dos alimentos processados industrialmente não possui as quantidades de magnésio requeridas pelo organismo humano, o que torna comum a hipomagnesemia, sobretudo, na população adulta e da terceira idade.

O Clonazepam, é um medicamento da família das benzodiazepinas, capaz de desencadear ações sedativas, ansiolíticas e anticonvulsivantes, dentre outras⁸. Parece interagir com os receptores gabaérgicos tipo A, responsáveis, junto com o neurotransmissor inibidor ácido gama amino butírico (GABA), do aumento na permeabilidade da membrana celular (neuronal) ao íon

cloreto⁸. Esta interação medicamento-receptor potencializa a ação do neurotransmissor antes referido e aumenta o influxo de Cl^- gerando hiperpolarização⁸ nos neurônios e conseqüentemente alterando a excitabilidade neuronal. Desse modo, o clonazepam modula a excitabilidade dos centros nervosos tendo, portanto ação de potenciação com relação ao GABA⁹.

Portanto, a excitabilidade neural é base fisiológica das ações anteriormente referidas e dessa excitabilidade dependerão as atividades motoras voluntárias e involuntárias, daí que o córtex motor primário, áreas pré-motoras, gânglios basais, sistemas piramidal e extrapiramidal e até mesmo sistema muscular esquelético¹⁰ poderiam estar hiper ou hipo ativados em dependência das condições fisiológicas existentes no ambiente que por sua vez definem a excitabilidade neuronal. Uma das formas de estudar o sistema motor somático em mamíferos, e especialmente em camundongos, é através da atividade motora, espontânea e induzida¹¹, provas estas, que também determinam o nível de ansiedade dos animais de experimentação dado que a atividade motora nos mamíferos depende dentre outros fatores do desejo ou necessidade de conhecer o “novo” ambiente e o medo de encarar uma “nova” situação ou nova realidade externa, o temor gera ansiedade e redução da atividade motora, muitas vezes até imobilidade. Sendo assim, neste trabalho propõe-se um estudo da ação do cloreto de magnésio, clonazepam e do exercício físico, sobre a atividade motora em camundongos.

OBJETIVO GERAL

Estudar através de um modelo de atividade motora, a ação do cloreto de magnésio ($MgCl_2$), Clonazepam e exercício físico sobre a excitabilidade do sistema motor em camundongos.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

- a) Estudar a ação de diferentes doses de $MgCl_2$ sobre a atividade motora espontânea em camundongos Swiss;
- b) Aferir o nível de relaxamento muscular estriado em camundongos Swiss submetidos a diferentes doses de $MgCl_2$ combinado ou não com clonazepam;
- c) Determinar a ação de diferentes doses de $MgCl_2$ combinado com uma única dose de clonazepam sobre a atividade motora em camundongos Swiss;

d) Determinar a ação de diferentes doses de Clonazepam combinado com exercício físico (natação) sobre a atividade motora em camundongos Swiss.

MATERIAIS E MÉTODOS

MATERIAIS

Foram utilizados 60 camundongos machos Swiss adultos jovens além de equipamento laboratorial e vidraria, seringas com agulha para administração oral, caixa de conduta (campo aberto) cronômetro digital e piscina plástica. $MgCl_2$ hexahidratado da UNIPHAR/Brasil e comprimidos de 0.5 mg de Clonazepam (Cloram/Laboratório Cristália/Brasil).

MÉTODOS

Preparação e administração da solução de $MgCl_2$ – Dissolveu-se 1,0 grama de $MgCl_2$ hexahidratado em água destilada até o volume de 10ml (aproximadamente 100 mg/mililitro). Aos animais experimentais foram administradas doses de solução de $MgCl_2$ de acordo com as tabelas 1 e 2. Em contrapartida, aos animais pertencentes ao grupo controle lhes foi administrado água destilada.

Preparação e administração do Clonazepam – Dissolveu-se 0,125mg de Clonazepam em água destilada até o volume de 10 mL (aproximadamente 0.0125mg /mililitro). Foram administradas doses dessa solução de acordo com as tabelas 2 e 3. Em contrapartida, aos animais pertencentes ao grupo controle lhes foi administrado água destilada.

As doses utilizadas foram definidas da forma seguinte:

a- Cloreto de magnésio: A partir das doses de magnésio utilizadas em trabalhos anteriores e fazendo uma curva dose-resposta em camundongos, se definiu a faixa de doses com atividade mais expressiva segundo os objetivos do trabalho. *b- Clonazepam:* A partir das doses utilizadas em humanos e referidas nas bulas do medicamento e fazendo uma curva dose-resposta em camundongos, se escolheu a dose mais adequada tendo em vista que se precisava induzir, influxo de cloreto no neurônio para gerar assim uma relativa hiperpolarização no interior neuronal e não sedação e sono no animal. O excipiente misturado com o princípio ativo não foi extraído.

Procedimento– Foram utilizados 60 camundongos machos Swiss, adultos, entre 8 e 9 semanas de idade e massa corporal entre 30 e 45 gramas, fornecidos pelo Biotério do Laboratório de Fisiologia Farmacologia da Universidade Federal do Acre (UFAC). Os animais foram mantidos em regime de claro/escuro de 12/12 horas, com água e comida *ad libitum* bem como temperatura ambiental constante (25°C). Os grupos experimentais compostos por 6 animais cada, foram selecionados de maneira aleatória partindo do pré requisito da homogeneidade da população e estratificação por massa corporal. As tabelas 1, 2 e 3 apresentam os tratamentos propostos, a composição dos grupos experimentais 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 23107.014618/2014-78.

Determinação da atividade motora- A atividade motora foi estudada mediante o teste de “Campo aberto” que consiste em quantificar o deslocamento do animal em uma “caixa de conduta” construída em madeira com dimensões de 73x73cm² de área, 40 cm de altura e piso quadriculado (25 quadrados)¹². Dita atividade foi determinada (observação visual e cronômetro digital) através da contagem do número de quadrados percorridos pelo animal de experimentação durante cinco minutos. O tempo de prova foi considerado a partir do momento em que o animal de experimentação foi colocado no centro do piso quadriculado da caixa de conduta.¹³

Em todos os casos foi feito um estudo de amostras independentes e a variável utilizada se considerou de razões ou proporcional sendo o indicador da mesma o número total de quadrados percorridos pelo animal em um minuto. No experimento 1 (atividade motora espontânea), o controle foi o grupo experimental IV, sendo que no experimento 2 (atividade motora modulada), o primeiro controle foi o teste de “Campo aberto” realizado antes do tratamento e o segundo controle foi o grupo experimental III. A atividade motora pode ser espontânea ou induzida, dependendo da utilização de algum fármaco ou agente hiper ou hipolocomotor. Neste trabalho empregou-se tanto o teste espontâneo quanto o induzido, no caso específico deste último, a substância ou agente testado se administrou antes do agente indutor ou repressor da atividade motora ¹². No experimento 3, a atividade motora (campo aberto) esteve precedida por um treino na piscina. A atividade física é considerada a melhor situação geradora de uma resposta de alarme, já que, promove alterações funcionais em todos os sistemas orgânicos simultaneamente,

aumentando o nível e eficiência da atividade funcional de todos eles em um tempo relativamente curto. Esta situação é extremamente importante no sistema motor somático e na “plasticidade neural”¹⁴ associada a este sistema, já que aumenta sua eficiência. De fato, ocorre aumento do número de sinapses neurais e até mesmo estimulação de processos fisiológicos como, por exemplo, a potenciação (LTP) e depressão (LTD) em longo prazo¹⁵.

Determinação do relaxamento muscular - O relaxamento muscular estriado foi aferido em uma grade metálica vertical onde foram colocados os animais de experimentação, com a finalidade de observar a conduta postural, locomoção, forma de fixar-se à grade assim como, se caem ou não, mensurando-se o tempo que demoram afixados à mesma. O tempo máximo desta prova é de 60 segundos e sempre foi feita imediatamente após o teste de “Campo aberto”.

Experimento 1

Tabela 1 - Esquema de tratamento- Efeitos do MgCl₂ sobre a atividade motora espontânea em camundongos.

GRUPO EXPERIMENTAL/TRATAMENTO	ATIVIDADE MOTORA			n
	CA/GV	CA/GV	CA/GV	
I- 17,5mg de Mg/Kg/peso	CA/GV	CA/GV	CA/GV	6
II- 24,4mg de Mg/Kg/peso	CA/GV	CA/GV	CA/GV	6
III- 27,7mg de Mg/Kg/peso	CA/GV	CA/GV	CA/GV	6
IVc-. Água destilada (0,20mL) (controle)	CA/GV	CA/GV	CA/GV	6
Tempo (minutos)	0	60	120	180

Tanto a administração de MgCl₂ quanto a de água destilada foram feitas por via subcutânea. Após cada uma das determinações da atividade motora, os animais foram submetidos à prova na grade vertical e posteriormente todos os resultados obtidos foram comparados estatisticamente. c-: controle negativo; CA: campo aberto; GV: grade vertical;n: número de animais/grupo.(*): Diferença estatisticamente significativa.

Experimento 2

Tabela 2 - Esquema de tratamento- Efeitos do MgCl₂ sobre a atividade motora modulada por clonazepam em camundongos.

GRUPO	ATIV. MOTOR A BASAL	TRATAMENTO		ATIV. MOT./RELAX.		n
		MgCl ₂ (mg/Kg/peso)	Clonazepam (mg/Kg/peso)	CA/GV	CA/GV	
I	CA	(100mg/Kg/peso)	0,066mg/Kg de peso	CA/GV	CA/GV	6
II	CA	(130mg/Kg/peso)	0,066mg/Kg de peso	CA/GV	CA/GV	6
IIIc+ (controle)	CA	0,20 mL de Água destilada	0,066mg/Kg de peso	CA/GV	CA/GV	6
Tempo (min.)	-60	0	30	120	180	

Tanto a administração de MgCl₂ quanto à de água destilada foram feitas por via subcutânea. O Clonazepam foi administrado por via oral. Após cada uma das determinações da atividade motora, os animais foram submetidos à prova na grade vertical e posteriormente todos os resultados obtidos foram comparados estatisticamente. c+:controle positivo;ATIV.:atividade;MOT.:motora;RELAX.:relaxamento;CA: campo aberto;GV:grade vertical;n:número de animais/grupo. -60: indica uma hora antes de iniciado o experimento. (*):Diferença estatisticamente significativa.

Experimento 3

Tabela 3 - Esquema de tratamento – Efeitos do Clonazepam e a natação sobre a atividade motora em camundongos.

GRUPO	TRATAMENTO	TREINO NA PISCINA	ATIV. MOTORA		n
I	Clonazepam (0,033 mg/Kg)	5 tempos de 5 min.cada	CA	CA	6
II	(0,066 mg/Kg)	5 tempos de 5 min.cada	CA	CA	6
IIIc+ (controle)	Água destilada (0,30 mL)	5 tempos de 5 min.cada	CA	CA	6
Tempo (min//horas)	0	60 min	144h	145 h	

O clonazepam e a água destilada foram administrados por via oral. O clonazepam foi administrado antes de iniciar o treino diário (durante os 5 dias).O treino na piscina realizou-se uma vez por dia durante 5 dias, da seguinte forma: um minuto nadando e um minuto de repouso, até atingir o minuto 5 do dia (total 5 minutos nadando e 5 minutos em repouso), este foi o primeiro bloco, este esquema se repete 5 vezes no dia (25 minutos nadando e 25 minutos em repouso) e entre um bloco e outro realizou-se intervalos de 5 minutos de repouso. Este esquema repetiu-se durante 5 dias. As provas de "campo aberto" realizaram-se no sexto dia após iniciado o experimento (às 144 e 145 horas respectivamente).Os resultados obtidos foram então comparados estatisticamente.c+:controle positivo;CA:campo aberto;n:número de animais/grupo. (*):Diferença estatisticamente significativa.

Foram realizados os testes de Mann Whitney (teste não paramétrico) e o teste *t* de Student (teste paramétrico) para amostras consideradas muito pequenas ($n < 8$) e independentes com intervalo de confiança de 95%, ($p < 0,05$)^{12,16}. Para comprovar a distribuição normal dos

valores obtidos utilizou-se a prova de *Shapiro-Wilk* com uma confiança de 95%. Os resultados se expressam através da “média aritmética grupal” e o “erro padrão da média”. Para considerar diferenças entre grupos, ambas as provas devem indicar diferenças estatísticas significativas.

RESULTADOS E DISCUSÃO

Experimento 1

Aos 60 minutos de prova (Gráfico 1 A) não foram detectadas diferenças estatísticas significativas entre os Grupos tratados (I, II e III) e o Grupo IVc- (controle negativo). Aos 120 e 180 minutos de prova somente os Grupos II e III apresentam diferenças estatisticamente significativas quando comparados com o Grupo IVc- (Gráfico 1 B/Gráfico 1 C). No Gráfico 2 A, se consideram os Grupos I, II e III (17,5mg de Mg/Kg, 24,4mg de Mg/Kg e 27,7mg de Mg/Kg de peso corporal respectivamente) como um só grupo comparando-se com o Grupo IVc-, nota-se que somente aos 120 e 180 minutos é que existem diferenças estatísticas significativas. Finalmente, quando se consideram os diferentes tempos de prova como uma seqüência temporal única, e se compara cada um dos Grupos tratados (I, II e III) com o Grupo controle IVc-, verifica-se que não houve diferenças estatisticamente significativas entre o Grupo I e IVc-, mas somente quando se comparam os Grupos II e III com o Grupo IVc- (Gráfico 2 B).

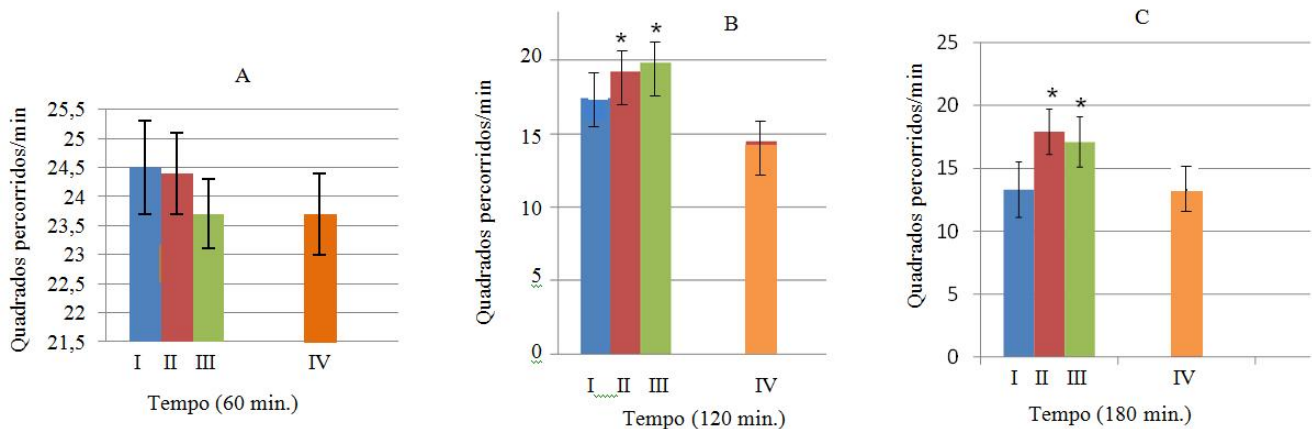


Gráfico 1 - Efeitos do $MgCl_2$ sobre a atividade motora espontânea em camundongos aos 60, 120 e 180 minutos. Grupo I: 17,5mg de Mg/Kg/peso; Grupo II: 24,4mg de Mg/Kg/peso; Grupo III: 27,7mg de Mg/Kg/peso e Grupo IVc-: Água destilada. n=6 para cada grupo. Se representa a média e o erro padrão da média dos quadrados percorridos/minuto.

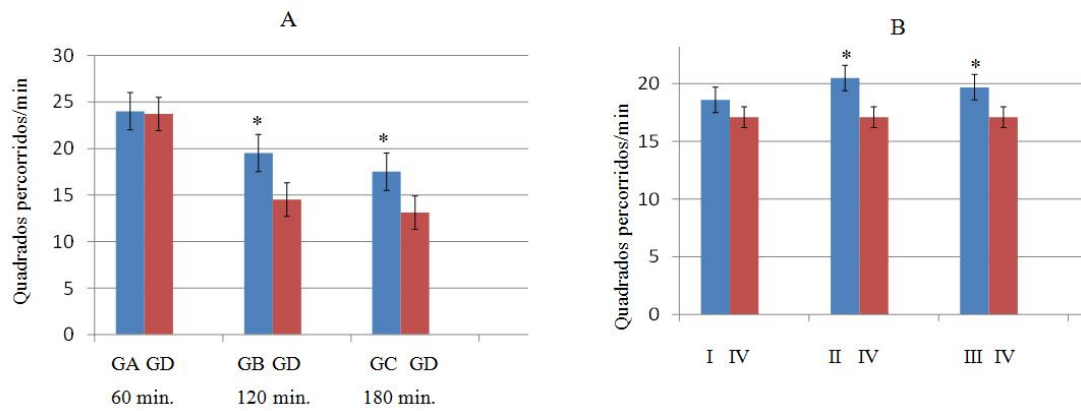


Gráfico 2 - Em “A” efeitos do MgCl₂ sobre a atividade motora espontânea em camundongos. Considerando os Grupos I, II e III como um único grupo e o comparando com o Grupo controle aos 60, 120 e 180 minutos. Diferenças significativas aos 120 e 180 minutos. GA (grupos I, II e III); GC (grupo controle). Em “B”, efeitos do MgCl₂ sobre a atividade motora espontânea em camundongos (valores médios por grupo ao longo de 180 minutos). Os Grupos II e III são estatisticamente diferentes do Grupo IV- enquanto que o Grupo I não.

Grupo I: 17,5mg de Mg/Kg/peso; Grupo II: 24,4mg de Mg/Kg/peso; Grupo III: 27,7mg de Mg/Kg/peso e Grupo IV: Água destilada. n=6 para cada grupo. Se representa a média e o erro padrão da média dos quadrados percorridos /minuto.

O MgCl₂ na dose utilizada no Grupo I (17,5mg de Mg/Kg/peso) não se mostrou efetiva em todos os tempos de prova, provavelmente porque a dose administrada não foi suficiente ou não houve uma absorção capilar adequada para atingir uma concentração plasmática terapêutica. Em contrapartida, as doses utilizadas nos Grupos II e III (24,4 e 27,7mg de Mg/Kg/peso respectivamente) parecem apresentar influência na estimulação das estruturas motoras dos animais de experimentação aos 120 e 180 minutos de prova. Assim, o MgCl₂ de alguma forma parece ter participado no aumento da excitabilidade dos neurônios motores trazendo como consequência elevação na atividade motora espontânea destes animais, talvez modificando especificamente o potencial de membrana em repouso (PMR) acompanhado ou não de uma estimulação direta ou até mesmo indireta na síntese e liberação de neurotransmissores.

De fato, o PMR do neurônio é muito parecido com o potencial de equilíbrio para o íon K⁺ no repouso, quando as concentrações deste íon estão em torno de 140 mEq-g/L no interior da célula e de 4mEq-g/L no exterior¹⁰. A administração de MgCl₂ incrementa a concentração de cargas positivas (Mg⁺²) no meio extracelular promovendo assim, o influxo destas cargas ao interior celular, facilitando a despolarização intracelular de duas formas: a) diminuição do gradiente químico de efluxo para o Mg⁺²; b) retenção do Mg⁺² no meio intracelular já que o

gradiente elétrico no repouso e durante a maior parte do potencial de ação, não favorece a saída do íon, aproximando para zero milivolts o valor do PMR.

Portanto, sobre os íons Mg^{+2} atua uma força elétrica, que pode ser calculada através da equação $F=+q.E$, onde $+q$ =carga elétrica e E =campo elétrico transmembranar (reflexo do potencial de membrana). A elevada concentração extracelular de íons Mg^{+2} cria uma condição similar à de aumento extracelular de K^+ (a concentração extracelular de cargas positivas de potássio, reduz a tendência eletroquímica de efluxo de K^+ criando assim, uma despolarização temporária). A despolarização “induzida” neste caso por Mg^{+2} em princípio torna o neurônio mais excitável em função de aproximar o potencial de membrana em repouso ao limiar de excitabilidade (-59 mv)¹⁰, condição essa que pode estar relacionada à maior liberação de neurotransmissores excitatórios em sinapses neuro-neuronais e até mesmo nas sinapses neuromusculares. Nas sinapses neuroneuronais, devem estar envolvidos os receptores NMDA (N-metil-D-aspartato) que essencialmente são canais Na^+ e Ca^{+2} e que sofrem “bloqueio” por parte do íon magnésio⁷, uma vez que, o magnésio faz parte da estrutura do receptor, portanto um aumento da concentração de Mg^{+2} extracelular reduz o potencial de equilíbrio para este íon (localmente) e facilita provavelmente seu influxo a partir do próprio receptor. O potencial de membrana em repouso facilita o influxo de sódio e cálcio na célula.

No primeiro momento, o próprio magnésio ligado ao canal pode sofrer influxo, esse fenômeno, associado à descarga de glutamato proporcionaria a entrada de mais Mg^{+2} no meio intracelular. Fenômeno similar ocorre na estimulação glutamatérgica, resultando em influxo de Na^+ que desloca o magnésio do receptor facilitando a entrada de mais sódio e cálcio⁷. Esses eventos parecem indicar que o aumento da excitabilidade do sistema motor nos animais dos Grupos II e III foi capaz de manter a atividade motora espontânea mesmo contrariando de alguma forma o fenômeno de habituação, típico de todos os mamíferos quando expostos pela segunda ou terceira vez ao mesmo ambiente. No teste de mio relaxamento da musculatura estriada (grade metálica vertical) todos os animais de experimentação ficaram fixos à grade e se locomoveram na vertical (para abaixo) durante mais de 60 segundos (tempo máximo de prova). Considera-se, portanto, que não existem alterações na coordenação motora, no equilíbrio corporal nem da força muscular e tônus muscular esquelético, de modo que, não se observa

relaxamento muscular. Sendo assim, parece que não ocorre diminuição na excitabilidade do sistema motor bem como na liberação dos neurotransmissores associados a este sistema¹⁰.

Experimento 2

Neste experimento se utilizou um modelo de atividade motora “induzida”. O Gráfico 3 A, mostra que os três grupos experimentais tratados com clonazepam, apresentam redução estatisticamente significativa na atividade motora ao longo do experimento com relação à atividade mostrada por esses grupos no momento inicial do mesmo (determinação basal). Essa redução deve-se principalmente ao fenômeno de habituação dos animais (tal vez apoiado por clonazepam) quando expostos pela segunda e terceira vez a um mesmo ambiente. Portanto, o aspecto interessante que deve ser observado neste experimento não é a redução na atividade motora e sim, a velocidade dessa redução, mensurada através da tangente do ângulo (velocidade) da curva que indica a redução da atividade motora entre provas.

Aos 120 minutos de prova (primeira prova), os Grupos I e II mostraram uma pequena diferença nas velocidades de queda da atividade motora (Gráfico 3 A) sendo portanto estatisticamente iguais, reflexo provavelmente da despolarização predominante do sistema motor neste tempo. Quando comparados o Grupo III (controle positivo) com os Grupos I e II comprovamos que a diferença entre as velocidades de queda na atividade motora é estatisticamente significativa (maior velocidade de queda no Grupo IIIc+). Neste caso o Grupo II, tenta se aproximar ao Grupo IIIc+ e se afasta do Grupo I. O Gráfico 3 B, mostra que a atividade motora aos 180 minutos de prova se manteve igual para os Grupos I, II e IIIc+, sendo igual estatisticamente a velocidade de queda desta atividade motora entre os Grupos II e IIIc+ (entre provas), e diferente da velocidade de queda, entre esses dois grupos com relação ao Grupo I (também entre provas), onde o Grupo I mostrou uma velocidade de queda maior estatisticamente significativa como consequência da maior atividade motora deste grupo aos 120 minutos.

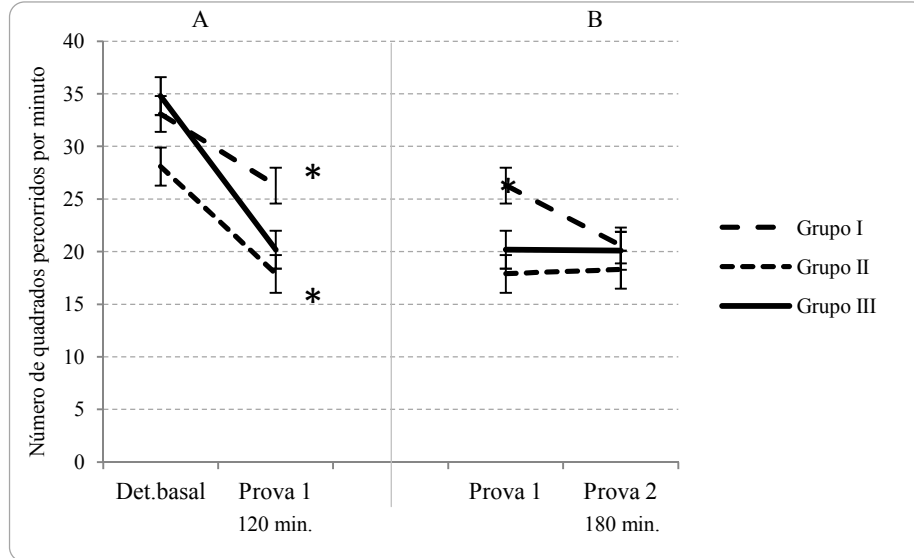


Gráfico 3 - Perfil da atividade motora dos grupos I, II e III tratados com a mesma dose de Clonazepam. Grupos I e II pré-tratados com Cloreto de magnésio. Grupo III pré-tratado com Água destilada (controle positivo). Na letra B, a atividade motora foi menor provavelmente em função do fenômeno de habituação. Se representa a média e o erro padrão da média dos quadrados percorridos/minuto.

O clonazepam potencializa a ação do neurotransmissor GABA, facilitando o influxo de Cl^- para o meio intracelular dos neurônios pós-sinápticos. Nos Grupos I e II a concentração de Cl^- extracelular é maior quando esses grupos são comparados com o Grupo IIIc+. Os Grupos I e II apresentam maior tendência à despolarização neuronal, isso ocorre porque o Mg^{+2} é um íon predominantemente intracelular¹ de modo que, quando suas concentrações extracelulares se elevam, o Mg^{+2} difunde-se para o meio intracelular sob um gradiente elétrico favorável e um gradiente químico que facilita a retenção intracelular do cátion, despolarizando a célula enquanto que o Cl^- difunde-se para o interior da célula seguindo um gradiente químico e não elétrico¹⁰ (distribuição passiva).

No Grupo III (controle positivo) o clonazepam provavelmente atuou potencializando a ação do neurotransmissor GABA, trazendo como consequência o aumento expressivo da condutância ao íon Cl^- em neurônios motores, causando talvez hiperpolarização⁸ em decorrência da falta de magnésio no meio (extracelular) e causando, portanto velocidade de queda expressiva da atividade motora aos 120 minutos do experimento (habituação + influxo de cloreto). Já no

Grupo I o influxo de Cl^- esteve provavelmente equilibrado pelo influxo de Mg^{+2} e também pela tendência à distribuição passiva do Cl^- em ambos os lados da membrana neuronal, em função do valor do potencial de membrana, portanto deve ter ocorrido uma despolarização expressiva aos 120 minutos nos neurônios motores deste grupo, trazendo como consequência uma atividade motora mantida de forma mais constante ao longo do tempo do experimento.

O Grupo II apresenta comportamento intermediário entre os Grupos I e IIIc+, porque poderia acontecer que, mesmo com tendência à hiperpolarização nos neurônios do sistema motor devido ao influxo de Cl^- e em consequência da ação do clonazepam⁸, simultaneamente ocorreu influxo de Mg^{+2} facilitado pelo gradiente de concentração do magnésio e o potencial transmembranar. Dessa forma, talvez, não houve predomínio da hiperpolarização, daí que não há diferenças significativas na velocidade de queda da atividade motora do Grupo II com relação ao Grupo I aos 120 minutos. Nos Grupos I e II, o aumento da permeabilidade ou condutância ao Cl^- talvez nos primeiros momentos do experimento (antes dos 120 minutos) facilitou o incremento do potencial negativo na face interna da membrana neuronal o que parece não ter sido expressivo em função da elevada concentração de Mg^{+2} no líquido extracelular e da intensa difusão do mesmo ao interior neuronal. Dessa forma, o fato dos animais do Grupo II, estar submetidos a maior concentração extracelular de cloreto (130mg de MgCl_2/Kg), provavelmente facilitou a difusão desse íon ao interior do neurônio antes do valor do PMR ser re-estabelecido definitivamente (equilíbrio de concentrações a ambos os lados da membrana neuronal), e isto poderia ser também a causa do número menor de quadrados percorridos pelos animais deste Grupo II neste tempo.

Os resultados mostraram que os animais pertencentes ao Grupo I, mantiveram a atividade do sistema motor em nível mais elevado ao longo dos primeiros 120 minutos do experimento possivelmente em função da presença de Mg^{+2} em excesso no líquido intracelular. O Grupo IIIc+ mostrou uma queda expressiva na velocidade da atividade motora neste tempo, indicando provavelmente forte tendência à hiperpolarização, além do fenômeno da habituação e finalmente o Grupo II mostrou atividade motora com velocidade de redução intermediária entre ambos os Grupos I e IIIc+, refletindo fraca tendência à hiperpolarização, possivelmente decorrente do excesso de cloreto extracelular ao mesmo tempo em que apresenta tendência expressiva à despolarização devido ao influxo de Mg^{+2} , nos primeiros 120 minutos. Entre 120 e 180 minutos

(Gráfico 3 B) os Grupos II e IIIc+ parecem ter atingido o menor nível de atividade motora enquanto que o Grupo I, ainda expressa maior atividade motora como consequência provavelmente da despolarização causada pelo Mg^{+2} .

Finalmente, ao analisar o quociente entre o número de quadrados percorridos no final e início das provas observa-se queda da atividade motora de todos os grupos, nos tempos estudados (Gráfico 4). No primeiro tempo do experimento, o Grupo I manteve o índice de atividade mais alto se comparado com a determinação basal, indicando que o sistema motor manteve melhor atividade e, portanto processos de despolarização e liberação de neurotransmissores no sistema motor¹⁰ mais eficientes.

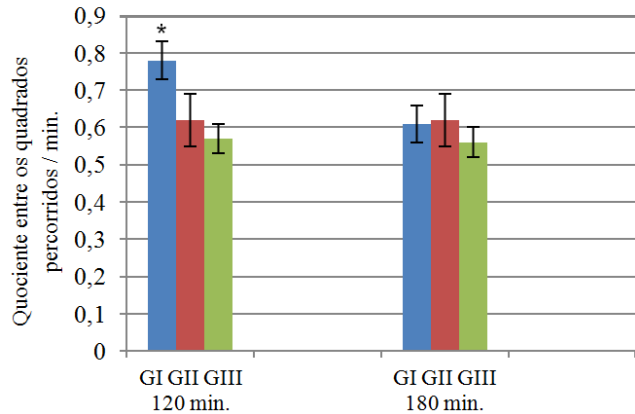


Gráfico 4 - Quociente entre o número de quadrados percorridos ao final e início do experimento. Os animais foram tratados com a mesma dose de Clonazepam. Grupos I e II pré-tratados com Cloreto de magnésio. Grupo III pré-tratado com Água destilada. Estão representados a média e o erro padrão da média.

Aos 180 minutos de prova os três grupos se comportam sem diferenças estatísticas com relação ao número de quadrados percorridos, refletindo claramente que o Grupo I não consegue manter seu nível de atividade motora e sendo assim a despolarização nele encontra-se enfraquecida, provavelmente a depuração renal do Mg^{+2} contribuiu com a queda da concentração plasmática do mesmo atingindo valores abaixo da concentração terapêutica, predominando a participação do Cl^- e a ação do clonazepam. Os Grupos II e IIIc+, não apresentam diferenças estatísticas entre si, com relação ao tempo de prova. O fenômeno de depuração renal do Mg^{+2} poderia ter influenciado sem dúvidas também nos resultados do Grupo II.

O modelo experimental “campo aberto” também é utilizado para se estudar a atividade ansiolítica de diferentes substâncias, devido a fatores que induzem situações alarmantes nos mamíferos, potencializam o temor e o animal diminui a sua atividade motora de exploração¹¹. Finalmente, em função dessas considerações, podemos afirmar que o $MgCl_2$, em determinadas doses e tempos específicos nos experimentos 1 e 2, parece mostrar também uma ação ansiolítica. No teste do mio relaxamento da musculatura estriada (grade), todos os animais conservaram o

equilíbrio corporal, coordenação motora, tônus e força muscular esquelética, portanto se deduz que não houve queda na excitabilidade neural, nem na liberação de neuro-transmissores.

Experimento 3

Neste experimento se utilizou um modelo de atividade motora “induzida”. De acordo com o Gráfico 5, o Grupo I, que recebeu clonazepam (0,033mg/Kg de peso) e que foi submetido a exercício físico durante 5 dias consecutivos, mostrou a mesma atividade motora em ambos os tempos de prova demonstrando assim, que longe de uma queda na atividade motora na segunda prova, houve uma discreta tendência ao aumento. Essa resposta reflete estabilidade motora ao longo do experimento, o que se corresponde com velocidade de decrescimento da atividade motora, aproximadamente de zero. O Grupo III (controle positivo) mostrou queda mais expressiva na atividade motora na segunda prova quando comparado com o Grupo I, portanto a velocidade de decrescimento foi maior estatisticamente se comparado com o Grupo I, fato este que pode ser explicado principalmente através da habituação. Já o Grupo II que recebeu clonazepam (0,066mg/Kg de peso), mostrou velocidade de decrescimento maior estatisticamente significativa com relação ao Grupo I e se comportou igual estatisticamente com relação à velocidade de decrescimento, quando comparada com o Grupo IIIc+, evidenciando a importância da habituação biológica junto à “possível” ação de uma dose maior de clonazepam.

O Gráfico 6 mostra o quociente da atividade motora na segunda prova com relação à primeira, para cada um dos grupos testados. O Grupo I apresenta quociente aproximadamente de 1,0 indicando, que a atividade motora se manteve praticamente constante ao longo do experimento. O Grupo II apresenta quociente de 0,7, queda do mesmo, reflexo da menor atividade motora na segunda prova e finalmente o Grupo III (controle positivo) mostra um quociente de 0,8 e também reflexo da menor atividade motora na segunda prova. Assim, as diferenças foram estatisticamente significativas entre os Grupos I e III (controle positivo) e entre os Grupos I e II.

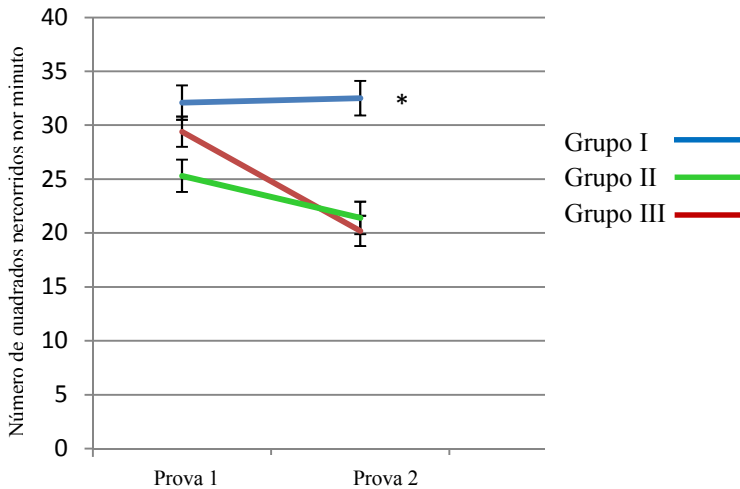


Gráfico 5 - Perfil da atividade motora dos Grupos I, II e III. Grupos I e II tratados com Clonazepam e submetidos a exercício físico. Grupo III tratado com Água destilada e submetidos a exercício físico (controle). Estão representados a média e o erro padrão da média dos quadrados percorridos/minuto.

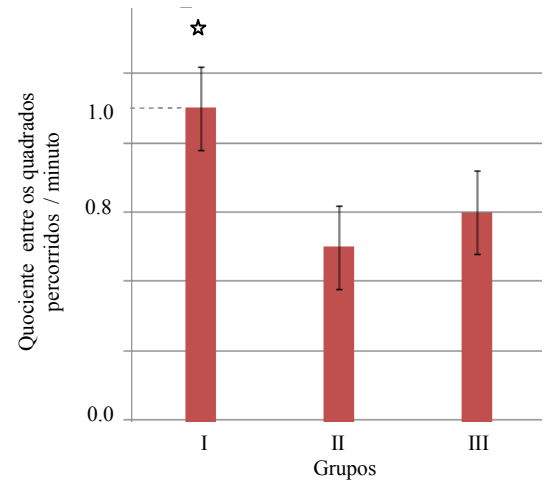


Gráfico 6 - Quociente entre o número de quadrados percorridos ao final e início do experimento. Todos os animais foram submetidos a exercício físico. Os Grupos I e II receberam clonazepam enquanto que o Grupo III recebeu Água destilada. Estão representados a média e o erro padrão da média.

No caso do Grupo IIIc+ o exercício físico parece não ter evitado a queda da atividade motora dos animais, indicando que os mecanismos fisiológicos envolvidos em dita atividade motora natural (habituação) parecem não interferir com as respostas fisiológicas desencadeadas pelo exercício físico de modo que, provavelmente, o comportamento desse grupo, responde à conduta biológica do animal em relação à habituação ao ambiente¹². Os resultados do Grupo I mostram que a conduta dos animais de experimentação se afasta da conduta biológica, exibindo atividade motora maior que pode ser associada com elevada atividade neuronal, especialmente motora¹⁰. Dita atividade deve estar relacionada com o aumento na síntese e liberação de neurotransmissores tais como dopamina, noradrenalina, acetilcolina, nas fendas sinápticas e conseqüentemente maior freqüência de potenciais de ação deflagrados refletindo-se em maior resposta muscular. Essa cadeia de eventos poderia estar relacionada a processos funcionais de plasticidade neuronal¹⁴, denominados depressão em longo prazo ou LTD (*long term depression*) e potenciação em longo prazo ou LTP (*Long term potentiation*)¹⁴, processos típicos que ocorrem quando se estimula eletricamente com baixa e elevada freqüência, um centro nervoso respectivamente (Figura 1). O LTD é considerado um mecanismo de plasticidade neuronal,

caracterizando-se por uma queda parcial na atividade do centro nervoso (onde pode aumentar progressivamente o glutamato nas fendas sinápticas). Seguidamente a esse fenômeno, tem-se comprovado que surge subsequentemente uma resposta compensatória, o LTP, também considerado como um mecanismo de plasticidade neuronal, caracterizando-se por uma atividade neuronal bem maior e compensadora da LTD. A participação dos receptores, AMPA e NMDA nestes mecanismos é fundamental. O exercício físico provoca aumento do número e complexidade das sinapses neuroneuronais, bem como dos processos funcionais associados a estas sinapses como parte dos mecanismos adaptativos do sistema nervoso (plasticidade neuronal)¹⁴. O clonazepam através dos receptores gabaérgicos potencializa o influxo de Cl^- ao interior dos neurônios, conduzindo a célula (neurônio) provavelmente até um estado de hiperpolarização e, portanto queda da atividade elétrica neuronal (depressão).

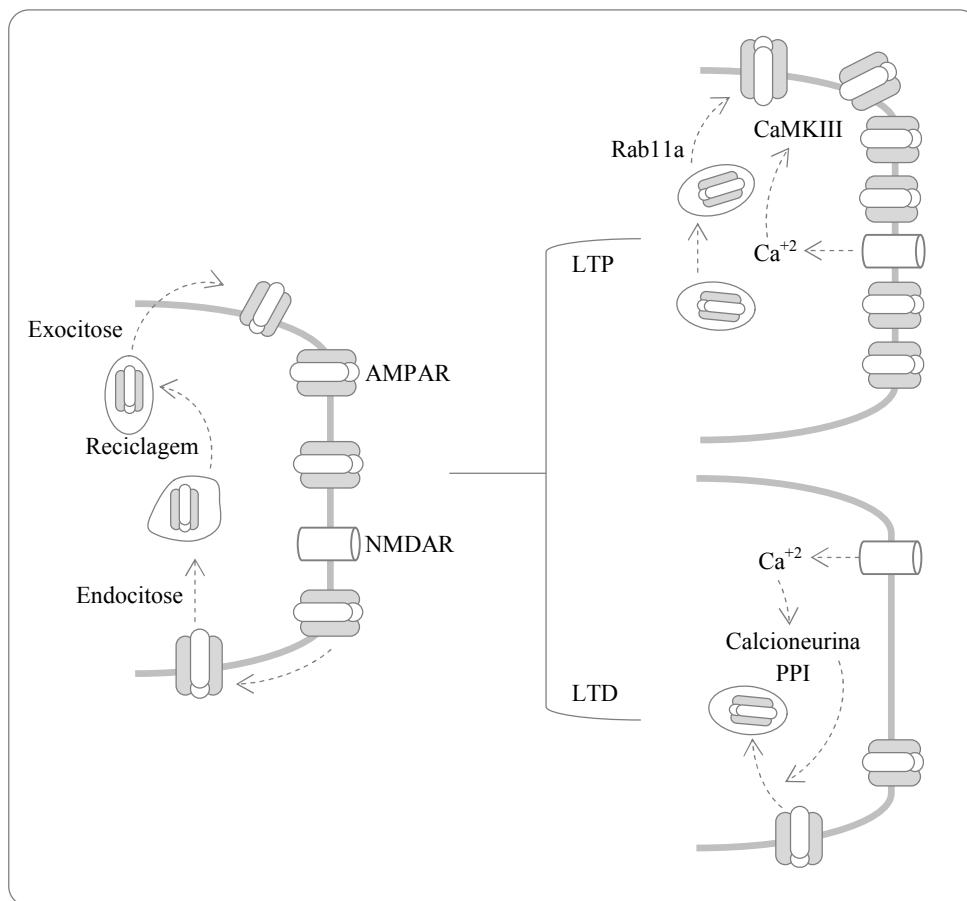


Figura 1 - Potenciação em longo prazo (LTP) e Depressão em longo prazo (LTD). Se observa que na LTP os receptores AMPA migram em direção da fenda sináptica, tornando a sinapse mais eficiente. Na LTD os receptores AMPA migram se afastando da fenda sináptica reduzindo a resposta celular, o receptor AMPA é de fato um canal de sódio.

Sendo assim, pode-se concluir que a depressão é seguida de potenciação nos centros nervosos, e neste caso essa seqüência parece ter sido induzida e reproduzida por meio da utilização de clonazepam (0,033mg/Kg de peso) e a possível hiperpolarização ocasionada por ele, de tal forma que no Grupo I permanece constante a atividade motora entre provas (144-145 horas), sendo estatisticamente diferente se comparado com o Grupo III (controle positivo). Contrário ao que se poderia pensar, o clonazepam, neste caso (Grupo I) não contribuiu à reduzir a atividade motora. A plasticidade neuronal explica a capacidade adaptativa do sistema nervoso central, e é de fato o mecanismo essencial do sistema nervoso, portanto, o fato de ter submetido aos animais experimentais a treino diário estimulou a formação de novas sinapses que finalmente estiveram aperfeiçoando a capacidade adaptativa do sistema motor, assim como seu nível de atividade. Esses mecanismos devem ter ocorrido tanto no Grupo I quanto no Grupo III. A diferença de respostas fisiológicas entre esses dois grupos poderia, portanto ser atribuída à depressão inicial tal vez, gerada pelo influxo de Cl^- , seguida da potenciação funcional nas estruturas do sistema motor (LTP), fato este que provavelmente aconteceu no Grupo I. Resultados similares a estes, foram obtidos utilizando este esquema de tratamento nas atividades de aprendizado e memória (dados não publicados). O Grupo II que recebeu 0,066mg/kg de peso corporal de clonazepam, também submetido ao treino durante cinco dias (natação), mostrou resultados na atividade motora intermediários entre o Grupo I e o Grupo IIIc+, provavelmente, o exercício físico tenha induzido aumento da eficiência do sistema motor neste grupo (plasticidade) expressando essa resposta através da tendência maior à atividade motora, com base na despolarização, reflexo também de uma tendência maior à ativação neuronal. Por outro lado, a maior dose de clonazepam, parece ter sido decisiva para a tendência à hiperpolarização do próprio sistema motor, e é provável que por essa razão, o Grupo II se afasta do Grupo I e se aproxima mais ao Grupo III, com relação, claro à atividade motora.

CONCLUSÕES

Tomando por base as doses administradas aos animais experimentais e o modelo animal utilizado para realizar as determinações pode-se concluir que a dose de 17,5 mg de Mg/Kg de peso corporal não provocou mudanças na atividade motora espontânea dos animais de experimentação nos tempos utilizados no experimento 1. As doses de 24,4 e 27,7 mg de Mg/Kg de peso corporal provocaram aumento na atividade motora espontânea dos animais de experimentação aos 120 e 180 minutos após o início do experimento provavelmente devido a efeitos similares aos “efeitos eletrofísicos” gerados pelas correntes galvânicas.

As doses utilizadas de MgCl₂ (experimento 1) e MgCl₂ + Clonazepam (experimento 2) não interferem com a força muscular, tono muscular, coordenação motora e equilíbrio corporal dos animais de experimentação. As doses de 100 e 130 mg de Cloreto de magnésio/Kg de peso corporal combinado com clonazepam (0,066 mg/Kg de peso), provocaram diminuição na velocidade de decrescimento da atividade motora dos animais de experimentação aos 120 minutos após ter iniciado o experimento. O clonazepam (0,033 mg/kg de peso) combinado com atividade física (natação) potencializou a atividade do sistema motor (aumento expressivo da atividade motora) provavelmente através dos mecanismos de plasticidade neuronal.

REFERÊNCIAS

1. BARBOSA, F.T.; BARBOSA, L.; CUNHA, R.M. Uso do sulfato de Mg^{+2} por via intravenosa e nebulização para tratamento de asma aguda na emergência. *Rev. Bras. Ter. Int.* v.19, n.3, p.369-373, 2007.
2. NIELSEN, F.H.; LUKASKI, H.C. Update on the relationship between magnesium and exercise. *Magnes Res.*, v.19, n.3, p.180-9, Sep 2006.
3. LYSAKOWSKI, C.; DUMONT, L.; CZARNETZKI, C. Magnesium is a adjuvant pos operative analgesia: A systematic review of randomized trials. *Anesth. Analg.*, v.104, n.6, p.1532-39, 2007.
4. TORIMITSU, K.; FURUKAWA, Y.; TSUKADA, S. Role of magnesium in nerve tissue. *Clin Calcium*, v.22, n.8, p.1197-203, Aug, 2012.
5. DE ROSI, R. et al. Sulfato de Mg^{+2} prolonga a analgesia epidural lombosacral induzida pela quetamina em carneiros. *Ata Cirúrgica Brasileira*, v.27, n.2, p.137, 2012.
6. SALA-LLONCH, R.; BARTRÉS-FAZ, D.; JUNQUÉ, C. Reorganization of brain networks in aging: a review of functional connectivity studies. *Front Psychol*, v.21, n.6, p.663, May, 2015.
7. Principios de fisiologia animal. Disponível em: <<http://www.books.google.com.br/books?isbn=8536323248>>. Acesso em: 06 jan. 2014.
8. Clonazepam. Disponível em: <<http://www.bulas.med.br/bula/294745/clonazepam.htm>>. Acesso em: 10 jan. 2014
9. LITTER, M. *Farmacologia Experimental e Clínica*. Buenos Aires: 7ª Ed. 1986. 329-33 p.
10. GUYTON, A.C.; HALL, J.C. *Tratado de Fisiologia Médica*. Guanabara Koogan, 10ª Ed., 2002. 580-616p.
11. BUZNEGO, M.T. et al. Efecto de los extractos acuoso y etanólico de *Cestrum nocturnum* L. sobre la conducta exploratoria y pruebas de analgesia. *Revista cubana de Plantas Medicinales*, Ciudad de la Habana. v.10, n.2, Mayo/Ago. 2005.
12. FERNANDEZ, F. et al Características químico-farmacéuticas y propiedades farmacológicas de extractos de *Musa sp* ABB (plátano burro). *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, Ciudad de La Habana, v.2, n.2, Mayo/Ago. 1997.
13. FERREIRA, I. et al. Avaliação da atividade motora exploratória de camundongos infectados com a assemblagem A de *Giardia duodenalis*. Anais do VI CONCCEPAR. Faculdade Integrado de Campo Mourão-Campo Mourão, PR: Faculdade Integrado de Campo Mourão, 2015. ISSP 1983-7178.

14. Neurofisiologia-Neurofisiologia Ebah. Disponível em:
<<http://www.ebah.com.br/content/ABAAABdMMAJ/neurofisiologia>>. Acesso em: 08 jan. 2014.
15. OLIVA, A. D.; DIAS, G. P.; REIS, R. A. M. Plasticidade Sináptica: Natureza e Cultura Moldando o Self. *Psicologia: Reflexão e Crítica*, v. 22, n. 1, p. 128-135.
16. DA FONSECA, J. S.; DE ANDRADE, G. *Curso de Estatística*. São Paulo: Atlas S.A. 6ª Ed., 1996. 240-243p.

5.0 ARTIGO 3 - SUBMETIDO

Fisiologia da algésia-Uma revisão

Treto RRR, Pinto WJ




Rio Branco, 03 de março 2015

Prezado(s) autor(es)

Agradecemos a submissão do trabalho intitulado "*Fisiologia da Algesia, uma revisão*" para a revista JOURNAL OF AMAZON HEALTH SCIENCE. Acompanhe o progresso da sua submissão por meio da interface de administração do sistema, disponível em: <http://revistas.ufac.br/revista/index.php/ahs/author/submission/179>.

Em caso de dúvidas, entre em contato via e-mail.

Agradecemos mais uma vez considerar nossa revista como meio de compartilhar seu trabalho.


Romeu Paulo Martins Silva

JOURNAL OF AMAZON HEALTH SCIENCE

JOURNAL OF AMAZON HEALTH SCIENCE

<http://revistas.ufac.br/revista/index.php/ahs>

6.0 ARTIGO 4

O paradoxo da vida aeróbica

Pinto WJ, Fernades CC, Santos FGA, Lacerda RF, Treto **RRR**

O PARADOXO DA VIDA AERÓBICA THE AEROBIC LIFE PARADOX

Pinto WJ¹, Fernandes CC², Santos FGA², Lacerda RF², Treto, RRR¹

1 Centro de Ciências da Saúde e Desporto da Universidade Federal do Acre.

2 Centro de Ciências Biológicas e da Natureza, da Universidade Federal do Acre.

RESUMO - Os radicais livres estão intimamente relacionados à vida aeróbica na Terra, seja ela vegetal ou animal, tal fato decorre da natureza química do oxigênio que, embora seja um poderoso oxidante, é quase impossível evitar reações de oxidação secundária, ou seja, oxidações não relacionadas aos processos bioquímicos de obtenção de ATP. Embora existam outras fontes celulares de geração de radicais livres tais como as cicloxigenases e peroxissomas a maior parte é gerada na mitocôndria. Em vários pontos ao longo da cadeia de citocromos, elétrons derivados do NADH ou do FADH podem reagir diretamente com o oxigênio dando origem as Espécies Reativas de Oxigênio (ERO's). Assim, a respiração celular aeróbica forneceu um ganho energético incomparavelmente superior aos processos fermentativos, contudo, conduziu as células a um ambiente altamente oxidante. Por essa razão, as células desenvolveram uma poderosa maquinaria enzimática antioxidante. Essa revisão trata da discussão aprofundada dos elementos e processos envolvidos na fosforilação oxidativa com enfoque na geração de ERO's fornecendo assim um ponto de vista não convencional dos processos mitocondriais de obtenção de energia. Apresenta a utilização do oxigênio como aceptor final de elétrons em organismos aeróbios como uma saída bem sucedida para o desenvolvimento de organismos mais complexos, mas que, inexoravelmente conduz esses organismos a um colapso lento e progressivo uma vez que expõem as células a um ambiente fortemente oxidativo.

PALAVRAS CHAVE: Mitocôndria, radicais livres, fosforilação oxidativa, cadeia respiratória.

ABSTRACT - *The free radicals are intimately related to the aerobic life in the Earth, vegetable or animal, this fact elapses of the chemical nature of the oxygen that, although it is a powerful oxidant agent, it is almost impossible to avoid reactions of secondary oxidation, in other words, oxidations not related to the biochemical processes of obtaining of ATP (Sorg, 2004). Although other cellular sources of free radicals generation like cicloxigenases and peroxissomes for exemple most of it is generated in the mitochondria (Lambeth, 2004; Balaban et al., 2005). In several points along the citochromes chain, electrons from NADH or of FADH can react directly with the oxygen creating reactivate species of oxygen (ROS's). Like this, aerobic cellular process supplied an incomparable increase of energy by the cell when it is compare to the fermentative process, however, it led they to highly oxidant moiety. For that reason, the cells developed a powerful enzymatic antioxidant apparatus. That revision treats of the deepened discussion of the elements and processes involved in the phosphorilative oxidation with focus in the generation of ROS's supplying like this a point of view non conventional of the mitochondrial energy process. It presents the use of the oxygen as electron final aceptor in aerobics organisms as an efficient for the development of more complex organisms, but that, inexorably it leads those organisms to a slow and progressive collapse once they expose the cells to an strongly oxidative moiety.*

KEY WORDS: *Mitochondria, free radicals, oxidative phosphorylation, electron transport chain.*

Autor para correspondência: Prof. Dr. Wagner de Jesus Pinto Wagner.wp@gmail.com

Campus Universitário Reitor Aulio Gelio Alves de Souza - Rodovia BR 364, nº 6637 (Km 04) – Distrito Industrial Caixa Postal 500 ☉ Cep: 69915-900 - Rio Branco - Acre ☉ PABX: (0xx68) 3901-2500 Centro de Ciências da Saúde (CCSD)-sala107

7.0 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Conforme o modelo animal utilizado, doses administradas e os tempos das determinações podemos dizer que:

O cloreto de magnésio ($MgCl_2$) parece ter ação analgésica “per si” baseada provavelmente na despolarização neuronal do sistema nociceptivo além de potencializar o efeito do Paracetamol em determinada dose. O fato do clonazepam ter bloqueado o efeito analgésico do cloreto de magnésio nos leva a pensar que a ação deste último poderia ser através de uma ação despolarizante no nível do sistema analgésico endógeno, provavelmente no componente “off”.

O cloreto de magnésio parece ativar o sistema motor somático através da despolarização das suas estruturas, se opondo à ação hiperpolarizante do Clonazepam.

A hiperpolarização como consequência da ação do clonazepam junto ao exercício físico parece facilitar a ativação dos mecanismos de plasticidade neuronal (através da potenciação em longo prazo) contribuindo assim à ativação e maior eficiência do sistema motor somático.

Finalmente baseado nas provas de analgesia e atividade motora parece ser que o mecanismo de ação do cloreto de magnésio nas doses utilizadas, é através da despolarização parcial e/ou total dos neurônios pertencentes aos sistemas estudados nestes trabalhos.

8.0 REFERÊNCIAS

1. CARNEIRO DE A,C.;ASHMAWI,H.A.;DE PAULA,I. Sexo e percepção da dor e analgesia. *Rev.Bras.Anesthesiol*,v.61,n.6,p.814-828,2011.
2. DINA,O.A.;GEAR,E.W.;MESSING,R.O. Severity of alcohol induced painful peripheral neuropathy in female rats: role of estrogen and protein kinase (A and C). *Neuroscience*,v.145,p.350-356,2007.
3. SERRANO,M.S.;PERANO,F.;CAÑAS,A.;GARCIA-SAURA,P.;SERRANO-ALVAREZ,C.;CABALLERO,J. Modulación descendente de la información nociceptiva(I). *Rev.Soc.Esp.Dolor*,v.9,p.382-390,2002.
4. SANTOS,E.M.O et al. Estudo da ação do LED e do extrato hidroalcoólico de *Eclipta alba* em modelo experimental de edema de pata, induzido pela carragenina. X Encontro Latinoamericano de Iniciação Científica e VI Encontro Latinoamericano de Pós-Graduação-Universidade do Vale de Paraíba. *Rev Univap*,v.24,p.733-736,2006.
5. GRAY, J.A.; MCNAUGAHTON, N. The neuropsychology of anxiety: an enquiry into the functions of the septo-hippocampal system. *Oxford University Press*, 2nd Ed. London, England, 2000.
6. BARBOSA,F.T.;BARBOSA,L.;CUNHA,R.M. Uso do sulfato de magnésio por via intravenosa e nebulização para tratamento de asma aguda na emergência. *Rev.Bras.Ter.Int.*,v.19,n.3,p.369-373,2007.
7. Neuroanatomia humana <Disponível em: <http://neuroanatomia humana.blogspot.com.br>>. Acesso julho de 2014.
8. DE LUCIA,R.;BUSCARIOLO,I.A.;AIZENSTEIN,M.L. Habituation of exploratory activity in aged rats: Effects of pyritinol. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*,v.41,n.1,jan./mar. 2005.
9. LEITE,M.P. et al. Behavioral effects of essential oil of *Citrus aurantium* L. inhalation in rats *Revista Brasileira de Farmacognosia*,v.18(Supl.),p.661-666,Dez.2008.
10. GUYTON,A.;Hall,J. *Tratado de Fisiologia Médica*. Guanabara-Koogan, 10^aEd.,2002.516-517p.
11. TANG,B.;JI,Y;TREUB,R.J. Estrogens alters spinal NMDA receptor activity via PKA signaling pathway in a visceral pain model in the rat. *Pain*,v. 137,p.540-549,2008.
12. DA SILVA,J.A.;PINTO,N. A dor como um problema psicofísico. *Rev.Dor*.São Paulo, v.12,n.2,p.138-51,abr./jun.2011.
13. BARCELO DE SUZA,J. Poderia a atividade física induzir analgesia em pacientes com dor crônica?. *Rev.Bras.Med.Esporte*,v.15,n.2, mar./abr. 2009.
14. GUYTON,A.;HALL,J. *Tratado de Fisiologia Médica*,Guanabara-Koogan,10^a Ed.,2002. 518p.

- 15.LIMA,M.A.;ALVES,L. Dor crônica:Objeto insubordinado. *Historia Ciências da Saúde-Manguinhos*,Rio de Janeiro.v.15,n.1,p.117-133,jan./mar. 2008.
- 16.ARAÚJO DOS REIS,L.;VASCONCELOS,G.;ARAÚJO DOS REIS,L. Pain characterization in institutionalized El derly patients. *Arq.Neuropsiquiatr*,v.66,n.(2-B),p.331-335,2008.
- 17.KLAUMANN,P.R.;WOUK,A.P.F.;SILLAS,T. Patofisiologia da dor. *Archives of Veterinary Science*,v.13,n.1,p.1-12,2008 printed in Brazil.
- 18.PETERSEM,F.;CURATOLO,M.Neuroplasticity an important factor in acute and cronic pain. *Swiss Med Wkly*,v.132,p.21-22,273-78, jun.2002.
- 19.CAMPOS,D.;DE ANDRADE,M.T.;LEAL,C.M.Citocinas pro-inflamatórias e dor. *Rev.Bras. de Reumatol*, v.46,n3,p.199-206 mai./jun. 2006.
- 20.ROCHA,G.;DE MENEZES,A.;ALVES,J.J.;PAULINO,M. Avaliação clínica comparativa entre a cetamina e a clonidina por via peridural no tratamento da dor crônica neuropática. *Rev.Bras.Anestesiol*,v.52,n.1,p.34-40, 2002.
- 21.GAZI,M.;MACHADO,A.I.;KIMIKO,R. Estudo comparativo da analgesia entre Bupivacaína e Morfina intraarticular em osteoartrite de joelho.*Rev. Bras.Anestesiol*,v.55,n.5,p.491-499,2005.
- 22.QUEIROZ,T.P et al. Dipirona versus paracetamol no controle da dor pós-operatória *Rev.Odontol.UNESP*,v.42,n.2,p.78-82-issn1807-2577,mar./abr. 2013.
- 23.CHUANG,H.H.;PRESCOTT,E.D.;KONG,H et al. Bradykinin and nerve growth factor release the capsaicin receptor from ptdins(4,5)p2-mediated inhibition. *Nature*,v. 411,n.9,p.57-62, 2001.
- 24.JI,RR.;KOHNO,T.;MOORE,K.A.;WOOLF,C.J. Central sensitization and ltp:Do pain and memory share similar mechanism?. *Trends Neurosci*,v.26,p.696-705,2003.
- 25.RANDIC,M.;JIANG,M.C.;CERNE,R. Long term potentiation and long term depression of primary aferent neurotransmission in the rat spinal Cord. *J.Neurosci*,v. 13,p.228-41,1993.
- 26.BASBAUM,A.;BUSHNELL,M.A. Pain:Basic Mechanism.In Giamberardino M.A(Ed). *Pain* 2002.-na updated review: Refresher course syllabuss.1ª ed,IASP Press:Seattle,2002. 3-7 p.
- 27.CROSS,S.A. Pathophysiology of pain. *Mayo Clin.Proc*,v.69,p.375-83,1994.
- 28.BASBAUM,A.I.;FIELDS,H.L. Endogenous pain control mechanism review and hypothesis. *Ann.Neurol*,v.4,p.451-62,1978.
- 29.FLOREZ,J.;REIG,E. *Terapêutica Farmacológica del Dolor*.Ediciones Universidad de Navarra.Panplona.Eunsa 1993.
- 30.ANDRADE,W.;LEMÔNICA,L. Central mechanisms of transmission and pain modulation.A therapeutic review. *Rev.Bras.Anestesiol*,v.48,n.3,p.221-240,1998.

31. VANEGAS, H.A. Aspirina, os opiáceos e a maconha no sistema endógeno de controle da dor. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S0103-40142013000100003>>. Acesso em: 10 set. 2014.
32. HUA, S.; CABOT, P.J. Mechanisms of peripheral immune cell-mediated analgesia in inflammation: clinical and therapeutic implications. *Trends Pharmacol Sci*, v.31, p.427-33, 2010.
33. BERTILINI, G.R et al. Uso do exercício resistido antagonizado por naloxone como fator de analgesia em sinovite aguda de joelho de ratos Wistar. *Rev. Bras. Med. Esporte*, v.18, n.2, mar./abr. 2012.
34. GELMAN, P.L.; HERRERA, N.E.G.; ORTEGA, M.E.M.; ROMERO, L.P.; SANTILLAN, C.T. JUAREZ, A.S. PALMA, B.A. Endomorphin peptides: pharmacological and functional implications of these opioid peptides in the brain of mammals. Part one. *Salud Mental* v.33, p.179-196, 2010.
35. ALDAY, E.; UMA, R.; REDONDO, F.J. et al. Magnésio em anestesia y reanimación. *Rev. Esp. Anesthesiol. Reanim*, v.52, p.223-228, 2005.
36. BARBOSA, F.; BARBOSA, L.; JUCA, M.J.; MARTINS DA CUNHA, R. Uso do sulfato de magnésio em obstetrícia e em anestesia. *Rev. Bras. Anesthesiol*, v.60, n.1, p.104-110, 2010.
37. GLOVER, M.L.; MACADO, C.; TOTAPALLY, B.R. Magnesium sulfate administered via continuous intravenous infusion in pediatric patients with refractory wheezing. *J. Crit. Care*, v.17, p.255-258, 2002.
38. PASSOS, C.; ARBO, M.; RATES, S.; VON POSTER, G. Terpenoides com atividade sobre o sistema nervoso central (SNC). *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v.19(1ª), p.140-149, Jan./Mar. 2009.
39. POZIOMCZYK, C.; KOCHE, B.; DORNELLES, M.; DORNELLES, S. Avaliação da dor em cirurgia de ceratose actínicas. *An Bras Dermatol*, v. 86, n.4, p.645-50, 2011.
40. PEREIRA, Y.; GOMEZ, R.S.; ALVES, T.; SIMOES, A.C. Avaliação da dor em Neonatologia. *Rev Bras Anesthesiol*, v.57, n.5, p.565-57, 2007.
41. CABRAL, J.S et al Modelos experimentais para avaliação de atividade antinociceptiva de produtos naturais: Uma revisão. *Rev. Bras. Farm.* v.94, n.1, p.18-23, 2013.
42. BOTELHOS, D.C.; BOMFIM, T.V. Influência da informação sensorial adicional no treinamento sensorio-motor. *Fisioter Pesq*, v.19, n.3, p.268-274, 2012.
43. CONTRERASA, O.M.; ROSAS, G.J. Física Moderna I-conevyt. Disponível em: <http://www.conevyt.org.mx/bachillerato/material_bac>. Acesso em: 10 nov. 2014.
44. JANDVI, A. Sistemas Humanos. Sistema Nervoso: O ato reflexo. Disponível em: <http://www.passeiweb.com/estudos/sala_de_aula/biologia/sist_nervoso_ato_reflexo>. Acesso em: 05 jul. 2014.

45. GUYTON, A.C.; HALL, J.E. *Tratado de Fisiologia Médica*. Guanabara Koogan, 10ª Ed. 2002. 592-611p.
46. BARRAQUER-BORDAS, L. Sobre la concepción del síndrome piramidal y del componente yuxtapiamidal después de 21 años. *Arq. Neuro-Psiquiat*, São Paulo, v.31, n.4, Dez. 1973.
47. Neuroanatomia. Disponível em: <<http://sistemanervoso.com>>. Acesso em: 05 jul. 2014.
48. MARTINS, J.W. Nervos cranianos e suas funções. Disponível em: <<http://pt.scrib.com/doc/132361473/nervos-cranianos-e-suas-funcoes>>. Acesso em: 05 jul. 2014.
49. MOELLER, K.; WILLMES, K.; KLEIN, E. A review on functional and structural brain connectivity in numerical cognition. *Front Hum Neurosci*, v.13, n.9, p.227, May, 2015.
50. FILIZ, O.; SAFIYE, C. Cerebellar connections: hypothalamus. *The Cerebellum* 2.4, p.263-9, Dec 2003.
51. ANDRADE, L.A.; BERTOLUCCI, P.H.; SANTOS, J. Discinesia Tardia. *Arq. Neuro-Psiquiatria*, São Paulo, v.42, n.4, Dez. 1984.
52. AFIFI, A.K.; BERGMAN, R.A. *Neuroanatomia Funcional*. 2ª Ed. Texto e atlas Editorial Roca Ltda, 2007. 195p.
53. KATZUNG, B.G.; MASTERS, S.B.; TREVOR, A.J. *Farmacologia Básica e Clínica*. Mcgraw Hill 12ª Ed. 2013.
54. MATOS, J.P. Novos agonistas dopaminérgicos. *Arq. Neuropsiquiatr*, v.57, n.2-A, p.329-333, 1999.
55. JÚNIOR, C.O.G.; FELICIO, A.C.; DO PRADO, G.F. Sistema Extrapiramidal: Anatomia e Síndromes Clínicas. *REVISTA NEUROCIÊNCIAS* v.14, n.1, p.048-051, Jan/Mar, 2006.
56. SCHEPENS, T.; CAMMU, G. Neuromuscular blockade: what was, is and will be. *Acta Anaesthesiol Belg*, v.65, n.4, p.151-9, 2014.
57. SAKAMOTO, N.T.M.N. Conexões aferentes da formação reticular mesencefálica : um estudo com a peroxidase do rabano silvestre (HRP) no rato. Tese de doutorado. Unicamp, 1982.
58. BURTON, L.L et al As Bases Farmacológicas da Terapêutica de Goodman & Gilmore. Disponível em: <<http://books.google.com.br/books?isbn=858055117x>>. Acesso em: 10 nov. 2014.
59. WITTER, L.; DE ZEEUW, C.I. Regional functionality of the cerebellum. *Curr Opin Neurobiol*, v.14, n.33, p.150-155, Apr, 2015.
60. AFIFI, A.K.; BERGMAN, R.A. *Neuroanatomia Funcional* 2ª Ed. Texto e Atlas editora Roca Ltda 2007. 67-70 e 430p.
61. PAVLOVA, O.G. Primary motor cortex as one of the levels of the construction of movements. *Zh Vyssh Nerv Deiat Im I P Pavlova*, v.64, n.6, p.600-614, Nov-Dec, 2014.

62. FERREIRA, H.; MORO, M. Movimento repetitivo e fadiga muscular. *Revista Brasileira de Fisiologia do Exercício*, v.10, n.2, Abr/jun 2011.
63. SABINO, M. Unidades motoras e a musculação. Disponível em: <<http://tafitness.net/unidades-motoras-musculacao>>. Acesso em: 08 jun. 2014.
64. DURIGAN, J.L.Q.; CANCELLIERO, K.M.; DIAS, C.K.N.; SILVA, C.A.; GUIRRO, R.R.J.; POLACOW, M.L.O. Efeitos da estimulação elétrica neuromuscular sobre o membro posterior imobilizado de ratos durante 15 dias: análises metabólicas e morfométricas. *Rev. bras. Fisioter.* São Carlos, v. 10, n. 3, p. 297-302, jul./set. 2006.
65. GUYTON, A.C.; HALL, J.E. *Tratado de Fisiologia Médica*. Guanabara Koogan, 10ª Ed. 2002. 78-80p.
66. BEAR, M.F.; CONNORS, B.W.; PARADISO, M.A. Neurociências: desvendando o sistema nervoso. Artmed Editora, 3ed. 2008.
67. SZULE, J.A.; JUNG, J.H.; MCMAHAN, U.J. The structure and function of “active zone material” at synapses. *Philos Trans R. Soc Lond B Biol Sci.*, 2015 Jul 5; 370(1672).
68. CECCHINI, M.; CHANGEUX, J.P. The nicotinic acetylcholine receptor and its prokaryotic homologues: Structure, conformational transitions & allosteric modulation. *Neuropharmacology*. 2014 Dec 18. pii: S0028-3908(14)00450-X.
69. SPITZER, N.C. Neurotransmitter Switching? No Surprise. *Neuron.*, 2015 Jun 3; 86(5):1131-1144.
70. GANONG, B. Fisiologia Médica 23 Ed. Disponível em: <pt.slideshare.net/jonbonachon/fisiologia-mdica-ganong-23-edicin>. Acesso em: 12 ago. 2014.
71. Transmissão neuromuscular-Sistema nervoso. Disponível em: <www.sistemanervoso.com/pagina.php?secao=9&matéria>. Acesso em: 12 ago. 2014.
72. SILVERTHORN, D.V. Fisiologia humana uma abordagem integrada. Disponível em: <books.google.com.br/books?isbn=8536323388>. Acesso em: 10 nov. 2014
73. Neurofarmacologia. Disponível em: <<http://www.sistemanervoso.com/pagina.php?...matéria...materiaver>>. Acesso em: 10 nov. de 2014.
74. EI-MERAHBI, R.; LOFFLER, M.; MAYER, A.; SUMARA, G. The roles of peripheral serotonin in metabolic homeostasis. *FEBS Lett.* 2015 Jun 9. pii: S0014-5793(15)00455-X.
75. SWEADNER, K.J.; DONNET, C. Structural similarities of Na,K-ATPase and SERCA, the Ca²⁺-ATPase of the sarcoplasmic reticulum. *Biochem. J.* (2001) 356, 685±704.
76. BANE, V.; LEHANE, M.; DIKSHIT, M.; O'RIORDAN, A.; FUREY, A. Tetrodotoxin: chemistry, toxicity, source, distribution and detection. *Toxins* (Basel). 2014 Feb 21; 6(2):693-755.
77. HALLIDAY, D. ; RESNICK, R.; WALKER, J. Fundamentos de Física. 4 ed. v. II. Rio de Janeiro: LTC, 1995.

78. MOCHIZUKI, L.; AMADIO, A.C. As funções do controle postural durante a postura ereta. *Fisioterapia Pesquisa*, v.10, n.1, p.7-15, 2003.
79. SILVA, M.T et al. Memória de procedimentos e spect cerebral. Avaliação do fluxo sanguíneo cerebral em córtex pré frontal durante uma tarefa visuo-motora. *Arq Neopsiquiatr*, v.65, n.2-B, p.476-481, 2007.
80. CORREA, M. Neuroanatomia funcional de los aprendizajes implícitos: asociativos, motores y de hábito. *Rev Neurol*, v.44, n.4, p.234-242, 2007.
81. MIYADAHIRA, A.K.M. Capacidades motoras envolvidas na habilidade psicomotora da técnica de resucitação cardiopulmonar: subsídios para o processo de aprendizagem. *Rev Esc Enferm USP*, v.35, n.4, p.366-73, 2001.
82. ROLAND, P.E.; FRIBERG, L. Localization of cortical areas activated by thinking. *J. Neurophysiol*, v.53, n.5, p.1219-43, May. 1985.
83. ROSSI, L.; TIRAPÉGUI, J. Implicações do sistema serotoninérgico no exercício físico. *Arq Bras Endocrinol Metab*, v.48, n.2, Abr. 2004.
84. VOLCHAN, E et al. Estimulos emocionais: Processamento sensorial e respostas motoras. *Rev Bras Psiquiatr*, v.25, (Supl II), p.29-32, 2003.
85. LOPES, D.; SANTANA, I.; SERODIO, C.; BRANCO, E.; DA NOBREGA, A.C. Estresse mental e Sistema cardiovascular. *Arq. Bras. Cardiol*, São Paulo, v.78, n.5, may. 2002.
86. DE OLIVEIRA, M. As proteínas de relógios e o eixo hipotálamo-hipófise-gonadal de fêmeas de roedores. *Revista da Biologia*, v.9, n.3, p.41-44, Dez. 2012.
87. LOMBROSO, P. Aprendizado e Memória. *Rev Bras Psiquiatr*, 26, n.3, p.207-10, 2004.
88. BOMFIM, T.C et al. Neonatal exposure to citalopram, a serotonin selective reuptake inhibitor, programs a delay in the reflex ontogeny in rats. *Arq Neuropsiquiatr*, v.66, n.3-B, 2008.
89. FERNANDEZ, F et al. Características químico-farmacéuticas y propiedades farmacológicas de extratos de Musa SP ABB (plátano burro). *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, v.2, n.2-3, p.40, 1997.
90. XAVIER, C.A.C. Êxtase (MDMA): Efeitos farmacológicos e tóxicos, mecanismo de ação e abordagem clínica. *Rev. Psiq. Clin*, v.35, n.3, p.96-103, 2008.
91. DE AZEVEDO, L.L.; CARDOSO, F. Ação da levo-dopa e sua influência na voz e na fala de indivíduos com doença de Parkinson. *Rev Soc Bras Fonoaudiol*, v.14, n.1, p.136-41, 2009.
92. BALLONE, G.J.; ORTOLANI, I.V. Psicofarmacologia para não psiquiatras. Antipsicóticos. Disponível em: <<http://www.psiqweb.med.br>>. Acesso em: ago. 2014.

9.0 ANEXOS

Jornada Nacional de Terapias Naturales


TRIOLIT 2015

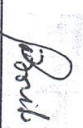
A: Rafael Tzeto Rodríguez, Wagner de Jesús Brito, Lucas Sierias


Tema: Estudio de la actividad analéptica en ratones Swiss
Aplicados a la dieta extracto de la raíz de alho
de mar de capita blanca


- Conferencia Invitado Comité Organizador Poster Tema Libre Asistente Tribunal


Por haber participado en la primera Jornada Nacional de Terapias Naturales Triolet 2015
 Dada en Matanzas a los 26 y 27 días del mes de febrero 2015

 Presidente SCMBNCPM
 MSc. Leivis Casas Insua

 Directora Museo Farmacéutico
 Lic. Marcia Brito Hernández

 Decana CCM M
 MSc. Juana M. Cuervo Ledo

 Presidente CIPES
 MSc. Jafeth Salazar Ordo

Ortega 1 Crédito Folio 12 No. 401 Fecha: 29-2-2015 Firma: 

Jefe Depto. Secretaría Docente
 MATANZAS

