

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

JULIA MARIA MIRANDA

AVALIAÇÃO DA ASSOCIAÇÃO ENTRE CANABIGEROL (CBG) E SULFATO DE  
MAGNÉSIO ( $MgSO_4$ ) COMO ABORDAGEM ANALGÉSICA NO MODELO DE DOR  
NEUROPÁTICA DIABÉTICA.

CURITIBA

2024

JULIA MARIA MIRANDA

**AVALIAÇÃO DA ASSOCIAÇÃO ENTRE CANABIGEROL (CBG) E SULFATO DE  
MAGNÉSIO (MGSO<sub>4</sub>) COMO ABORDAGEM ANALGÉSICA NO MODELO DE DOR  
NEUROPÁTICA DIABÉTICA.**

Monografia apresentada à disciplina de Estágio Supervisionado em Biologia II, do Setor de Ciências Biológicas, como requisito obrigatório para a obtenção do Título de Bacharel em Ciências Biológicas, na Universidade Federal do Paraná.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Joice Maria da Cunha  
Coorientador: M.Sc. Matheus Vinicius Ferreira

CURITIBA

2024



Este trabalho é dedicado a todos aqueles que, de alguma forma, contribuíram para o meu crescimento pessoal e profissional. – Especialmente à minha família, amigos, professores e orientadores.

## AGRADECIMENTOS

À minha mãe e à minha irmã, cujo amor, apoio incondicional e sacrifícios tornaram possível a realização deste sonho. Sem vocês, eu não chegaria a lugar algum.

A todos os meus amigos que me apoiaram e ajudaram de diversas formas, incluindo o incentivo nos momentos difíceis. À Aline, Bruna, Bianca, Deborah, Rayssa, Mateus e Wagner, que permaneceram meus amigos desde o primeiro ano do curso, expresso minha profunda gratidão. Obrigada por ajudarem no entendimento de várias disciplinas desafiadoras, como Biofísica, Bioquímica, Cálculo, Genética e afins. A amizade de cada um de vocês é um presente inestimável. Expresso também minha gratidão à minha amiga Kelly, que conheci durante a trajetória acadêmica, pelos seus valiosos ensinamentos e por me acompanhar em todos os momentos.

Minha sincera gratidão vai a todos os professores desta jornada, com destaque especial para Joice, minha orientadora. Desde o momento em que a procurei, após concluir a disciplina de Fisiopatologia da Dor, ela não mediu esforços para me orientar. Dedicou-se a apresentar a linha de pesquisa de cada professor do Departamento de Farmacologia, o que possibilitou a escolha da minha linha de pesquisa para a monografia. Agradeço também por seu apoio e acolhimento quando apresentei minha ideia de projeto, na expectativa de que ela me orientasse. Seu comprometimento e orientação foram fundamentais para o desenvolvimento deste trabalho.

Ao Matheus, meu coorientador, agradeço por me orientar e ensinar sobre os métodos científicos da minha pesquisa. Agradeço pela paciência e por ter me ensinado o que sei hoje. Não conseguiria realizar uma administração intraperitoneal ou um teste de Von Frey se não fosse por você. Também agradeço por ser meu amigo e tornar os experimentos no laboratório mais descontraídos e divertidos. Sem você, eu não conseguia sozinha.

Ao Bruno, meu namorado, que me ajudou sem medir esforços, oferecendo apoio essencial durante minha trajetória acadêmica final.

Agradeço também à minha família de consideração aqui em Curitiba, Maria Elisa e Gustavo, por me acolherem e darem todo o amor e apoio.

E, especialmente, à UFPR, por me proporcionar a oportunidade de obter este admirável título de Bióloga.

*"Nada na Biologia faz sentido exceto à luz da evolução."*  
**Theodosius Dobzhansky**

## RESUMO

O diabetes representa um desafio significativo para a saúde global, causando complicações crônicas e tendo um impacto socioeconômico em escala mundial. Dentre suas complicações, destaca-se a neuropatia, que se manifesta por hiperalgesia, alodinia e dor espontânea. A maioria dos tratamentos tem eficácia moderada e efeitos colaterais que limitam seu uso. O uso de opioides, por exemplo, aumenta o risco de efeitos colaterais graves e dependência. Nesse sentido, é importante investigar alternativas terapêuticas mais seguras e eficazes. Este estudo teve como objetivo investigar a ação antinociceptiva do sulfato de magnésio (MgSO<sub>4</sub>) e do canabigerol (CBG) no tratamento da dor neuropática diabética. Na etapa 1, utilizou-se um modelo de dor induzido por NMDA para determinar a dose efetiva de MgSO<sub>4</sub>. Administrou-se a ratos Wistar machos uma dose de 100 mg/kg de MgSO<sub>4</sub>, 20 minutos antes da injeção intratecal de NMDA (100 mM). Avaliou-se comportamentos nociceptivos como contorções, lambidas, coceiras e *grooming*. Observou-se que o pré-tratamento com MgSO<sub>4</sub> não bloqueou os comportamentos nociceptivos induzidos por NMDA. Nas etapas 2 e 3, ratos Wistar machos foram induzidos ao diabetes experimental com uma única dose de estreptozotocina (60 mg/kg). A hipersensibilidade mecânica foi avaliada com o teste de Von Frey um dia antes da indução e nos dias 14, 21 e 28 após a indução. A partir da segunda semana, os ratos foram tratados diariamente com CBG (1, 3, 10 ou 30 mg/kg; i.p.) ou MgSO<sub>4</sub> (100 mg/kg ou 300 mg/kg; i.p.). O magnésio não reverteu significativamente a hipersensibilidade mecânica, enquanto o CBG, em todas as doses, foi eficaz em revertê-la. A hipersensibilidade mecânica foi avaliada com o teste de Von Frey nos dias 7, 14, 21 e 28. Os animais foram submetidos ao teste de campo aberto para avaliar parâmetros locomotores. O tratamento agudo com CBG demonstrou efeito antinociceptivo ao reduzir a hipersensibilidade mecânica em ratos diabéticos, sem prejudicar o comportamento exploratório. Além disso, a administração crônica de CBG reverteu a hipersensibilidade mecânica, indicando um potencial terapêutico significativo para a neuropatia diabética.

Palavras-chave: antinociceção; cannabinoides; diabetes; *Cannabis sativa*; nociceção; NMDA.

## ABSTRACT

Diabetes represents a significant challenge to global health, causing chronic complications and having a socioeconomic impact on a global scale. Among its complications, neuropathy stands out, manifesting as hyperalgesia, allodynia, and spontaneous pain. Most treatments have moderate efficacy and side effects that limit their use. The use of opioids, for example, increases the risk of severe side effects and dependence. In this sense, it is important to investigate safer and more effective therapeutic alternatives. This study aimed to investigate the antinociceptive action of magnesium sulfate (MgSO<sub>4</sub>) and cannabigerol (CBG) in the treatment of diabetic neuropathic pain. In stage 1, a model of NMDA-induced pain was used to determine the effective dose of MgSO<sub>4</sub>. Male Wistar rats were administered a dose of 100 mg/kg of MgSO<sub>4</sub>, 20 minutes before the intrathecal injection of NMDA (100 mM). Nociceptive behaviors such as writhing, licking, scratching, and grooming were evaluated. It was observed that pre-treatment with MgSO<sub>4</sub> did not block nociceptive behaviors induced by NMDA. In stages 2 and 3, male Wistar rats were induced to experimental diabetes with a single dose of streptozotocin (60 mg/kg). Mechanical hypersensitivity was evaluated with the Von Frey test one day before induction and on days 14, 21, and 28 after induction. From the second week, 14 days after induction, the rats were treated daily with CBG (1, 3, 10, or 30 mg/kg; i.p.) or MgSO<sub>4</sub> (100 mg/kg or 300 mg/kg; i.p.). Magnesium did not significantly reverse mechanical hypersensitivity, while CBG, at all doses, was effective in reversing it. Additionally, the animals were subjected to the open field test to evaluate locomotor parameters. Acute treatment with CBG demonstrated an antinociceptive effect by reducing mechanical hypersensitivity in diabetic rats without impairing exploratory behavior. Moreover, chronic administration of CBG reversed mechanical hypersensitivity, indicating significant therapeutic potential for diabetic neuropathy.

Keywords: antinociception; cannabinoids; diabetes; *cannabis sativa*; nociception; NMDA.

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 LINHA TEMPORAL - ETAPA 1 .....	25
FIGURA 2 - LINHA TEMPORAL – ETAPA 2.....	26
FIGURA 3 - LINHA TEMPORAL – ETAPA 3.....	27
FIGURA 4 - EFEITO DO TRATAMENTO AGUDO E CRÔNICO DE MGSO4 NA HIPERSENSIBILIDADE MECÂNICA EM RATOS DIABÉTICOS.....	35
FIGURA 5 - AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DO CBG NA SENSIBILIDADE MECÂNICA, COMPORTAMENTO DE RETIRADA DE PATA E LOCOMOÇÃO EM RATOS COM DIABETES INDUZIDO POR STZ.....	37
FIGURA 6 - EFEITO DO TRATAMENTO COM CBG NO LIMIAR MECÂNICO EM RATOS COM DIABETES INDUZIDO POR STZ.....	38

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - COMPORTAMENTOS NOCICEPTIVOS INDUZIDOS POR INJEÇÃO INTRATECAL DE NMDA EM GRUPOS CONTROLE E COM PRÉ-TRATAMENTO COM MGSO4 (MÉDIA $\pm$ EPM).....	29
TABELA 2 - ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS COMPORTAMENTOS NOCICEPTIVOS APÓS A INJEÇÃO INTRATECAL DE NMDA COM OU SEM PRÉ-TRATAMENTO COM MGSO4 (MÉDIA $\pm$ EPM) .....	30
TABELA 3 - INFLUÊNCIA DO TRATAMENTO REPETIDO COM CBG OU MGSO4 NA GLICEMIA E NO GANHO DE PESO (MÉDIA $\pm$ EPM) .....	33
TABELA 4 - ANÁLISE ESTATÍSTICA DO TRATAMENTO REPETIDO COM CBG OU MGSO4 NA GLICEMIA E NO GANHO DE PESO EM RATOS DIABÉTICOS INDUZIDOS POR STZ (MÉDIA $\pm$ EPM).....	34
TABELA 5 - ANÁLISE ESTATÍSTICA DO TRATAMENTO COM MGSO4 E CBG SOBRE A HIPERSENSIBILIDADE MECÂNICA E COMPORTAMENTOS EM RATOS DIABÉTICOS.....	39

## **LISTA DE SIGLAS**

AEA - N-arquidonoiletanolamina  
AMPAR - Receptor de ácido  $\alpha$ -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolpropiónico  
CB1 - Receptor canabinoide tipo 1  
CB2 - Receptor canabinoide tipo 2  
CBG - Canabigerol  
CBD - Canabidiol  
cAMP - Adenosina 3'5'-monofosfato cíclico  
CEUA - Comitê de Ética em Utilização Animal  
DAGL - Lipase diacilglicerol sn-1  
DM - Diabetes Mellitus  
DM1 - Diabetes tipo 1  
DM2 - Diabetes tipo 2  
EPM - Erro padrão da média  
Glu - Glutamato  
GS - Glicose sérica  
IDF - International Diabetes Federation  
MAPK - Quinase ativada por mitógeno  
MgSO<sub>4</sub> - Sulfato de magnésio  
NMDA - N-metil-D-aspartato  
NMDAR - Receptor N-metil-D-aspartato  
NAPE-PLD - Fosfatidiletanolamina N-acilfosfatidiletanolamina  
PKA - Proteína quinase A  
PKC - Proteína quinase C  
RCPG - Receptores acoplados à proteína G  
SEC - Sistema Endocanabinoide  
SNC - Sistema Nervoso Central  
SNRI - Inibidores da recaptação de serotonina e norepinefrina  
STZ - Estreptozotocina  
TRPV1 - Receptor potencial vaniloide 1  
VEI - Veículo  
VF - Von Frey Eletrônico  
 $\alpha$ 2-AR - Receptor  $\alpha$ 2-adrenérgico

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>11</b>
1.1 OBJETIVOS .....	12
1.1.1 Objetivo geral .....	12
1.1.2 Objetivos específicos .....	12
1.2 JUSTIFICATIVA .....	13
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA .....</b>	<b>14</b>
2.1 DIABETES .....	14
2.2 NEUROPATHIA DIABÉTICA .....	16
2.3 SULFATO DE MAGNÉSIO E O BLOQUEIO DOS RECEPTORES NMDA.....	19
2.4 SISTEMA ENDOCANABINOIDE .....	20
<b>3 MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>22</b>
3.1 ANIMAIS .....	22
3.2 DROGAS .....	22
3.3 ADMINISTRAÇÃO INTRATECAL DE NMDA.....	23
3.4 INDUÇÃO DO DIABETES .....	23
3.5 TESTE DE VON FREY ELETRÔNICO .....	23
3.6 TESTE DE CAMPO ABERTO.....	24
3.7 DESENHO EXPERIMENTAL.....	24
3.7.1 ETAPA 1: MODELO DE DOR INDUZIDO POR NMDA EM RATOS NÃO DIABÉTICOS TRATADOS COM MgSO4 .....	24
3.7.2 ETAPA 2: TRATAMENTO COM MgSO4 EM RATOS DIABÉTICOS .....	25
3.7.3 ETAPA 3: TRATAMENTO COM CANABIGEROL EM RATOS DIABÉTICOS .....	26
3.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	27
<b>4 RESULTADOS.....</b>	<b>28</b>
4.1 PRÉ-TRATAMENTO COM MgSO4 NÃO BLOQUEIA COMPORTAMENTOS NOCICEPTIVOS INDUZIDOS POR UMA INJEÇÃO INTRATECAL DE NMDA EM RATOS NAÍVE .....	28
4.2 EFEITO DA INDUÇÃO DO DIABETES EXPERIMENTAL NA GLICEMIA E GANHO DE PESO, E A INFLUÊNCIA DO TRATAMENTO CRÔNICO COM MgSO4 OU CBG.....	32
4.3 O TRATAMENTO AGUDO E CRÔNICO DE MgSO4 NÃO ATENUA HIPERSENSIBILIDADE MECÂNICA EM RATOS DIABÉTICOS .....	35
4.4 O TRATAMENTO AGUDO DE CBG DEMONSTRA EFEITO ANTINOCICEPTIVO AO REDUZIR A HIPERSENSIBILIDADE MECÂNICA EM	

RATOS DIABÉTICOS, SEM PREJUDICAR O COMPORTAMENTO EXPLORATÓRIO.....	36
4.5 ADMINISTRAÇÃO CRÔNICA DE CBG REVERTE HIPERSENSIBILIDADE MECÂNICA EM RATOS DIABÉTICOS.....	37
<b>5. DISCUSSÃO .....</b>	<b>41</b>
<b>6. CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>43</b>
<b>7. REFERÊNCIAS.....</b>	<b>45</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O Diabetes Mellitus (DM) é uma condição crônica caracterizada pela deficiência na produção ou ação da insulina, resultando em hiperglicemia. Essa condição leva a complicações crônicas, tanto microvasculares quanto macrovasculares. As complicações microvasculares incluem neuropatia, retinopatia e nefropatia, enquanto as complicações macrovasculares incluem doenças coronarianas, cerebrovasculares e arteriais periféricas (Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes 2019 – 2020). A neuropatia diabética (ND) é um distúrbio neurodegenerativo do sistema nervoso periférico que afeta principalmente os axônios sensoriais, autônomos e, em menor grau, os motores (Feldman *et al.*, 2019). Seus sintomas variam de dor e dormência nas pernas e pés a problemas digestivos, urinários, vasculares e cardíacos (9<sup>a</sup> Edição do Atlas da Federação Internacional do Diabetes, 2021). Pacientes com dor neuropática – um sintoma da neuropatia difícil de tratar – têm uma menor qualidade de vida devido à complexidade do manejo farmacológico por conta de sua fisiopatologia complexa (Wang *et al.*, 2024).

Os mecanismos fisiopatológicos da dor neuropática envolvem a potencialização da atividade dos receptores N-metil-D-aspartato (NMDA) (Carles *et al.*, 2024). Esses receptores estão amplamente distribuídos no sistema nervoso central, incluindo áreas como o hipocampo, córtex cingulado anterior, córtex insular e corno dorsal da medula espinhal (Morel *et al.*, 2021). Ao sinalizarem, os receptores NMDA aumentam a concentração de cálcio intracelular, ativando vias de sinalização dependentes de cálcio e proteínas. Isso desencadeia uma cascata de eventos que aumenta a excitabilidade neuronal e facilita a transmissão de sinais de dor ao cérebro, resultando em sensibilização central (Basbaum *et al.*, 2009).

Neste contexto, o sulfato de magnésio (MgSO<sub>4</sub>) demonstrou efeito antinociceptivo em estudos pré-clínicos e clínicos de dor neuropática e inflamatória, evidenciando suas propriedades analgésicas. Esse efeito é atribuído ao bloqueio do receptor NMDA (NMDAR) no corno dorsal da medula espinhal, reduzindo o influxo de cálcio nas células e impedindo a sinalização excitatória glutamatérgica (Bennett, 2000; Urits *et al.*, 2021).

O sistema endocanabinoide desempenha uma função complexa de neuromodulação no organismo e é composto pelos canabinoides endógenos,

receptores, e enzimas de catabolismo e anabolismo dos endocanabinoides. Os canabinoides encontrados na planta *Cannabis* sp. e os canabinoides sintéticos ativam o sistema endocanabinoide, mas não fazem parte dele. A *Cannabis sativa* contém aproximadamente 100 canabinoides, sendo o delta-9-tetrahidrocannabinol ( $\Delta$ -9-THC) conhecido por suas propriedades psicotomiméticas, e o canabidiol (CBD) o mais estudado (Bagher, 2022; Crocq, 2020; Martinez Naya *et al.*, 2024). Sabe-se também que os canabinoides conseguem interagir com os receptores NMDA e outros mecanismos (Soderstrom *et al.*, 2017).

Dessa forma, esta pesquisa busca oferecer novas perspectivas no tratamento da dor neuropática, uma vez que a maioria dos tratamentos disponíveis tem eficácia moderada e apresenta efeitos colaterais que limitam seu uso (Cavalli *et al.*, 2019). O uso de opioides, por exemplo, aumenta o risco de efeitos colaterais, como depressão respiratória, hiperalgesia, constipação e desenvolvimento rápido de tolerância, além do crescente risco de dependência, que atingiram níveis epidêmicos recentemente (Kulik *et al.*, 2021). Encontrar um fármaco que ofereça os mesmos benefícios analgésicos dos opioides, mas sem os efeitos colaterais, seria um avanço significativo. Nesse sentido, os canabinoides têm demonstrado um potencial significativo no manejo da dor neuropática e de outros tipos de dores crônicas. Por isso, este estudo visa explorar o potencial do canabigerol (CBG) – um fitocanabinoide ainda pouco estudado – no tratamento da dor neuropática.

## 1.1 OBJETIVOS

### 1.1.1 Objetivo geral

Investigar o potencial antinociceptivo do canabigerol (CBG) isolado ou em associação com o sulfato de magnésio ( $MgSO_4$ ) sobre a alodinia mecânica em ratos machos da variedade Wistar com diabetes induzido quimicamente por estreptozotocina (STZ).

### 1.1.2 Objetivos específicos

1. Avaliar a dose efetiva de  $MgSO_4$  utilizando um modelo de dor induzido por NMDA em ratos não diabéticos.

2. Caracterizar as doses efetivas de MgSO<sub>4</sub> sobre a hipersensibilidade mecânica em ratos com diabetes induzido quimicamente por STZ, através do teste de Von Frey eletrônico.

3. Caracterizar as doses efetivas de CBG sobre a hipersensibilidade mecânica em ratos com diabetes induzido quimicamente por STZ, através do teste de Von Frey eletrônico.

4. Avaliar o efeito do tratamento com CBG sobre a atividade locomotora de ratos com diabetes induzido quimicamente por STZ, utilizando o teste de campo aberto.

5. Avaliar o efeito do tratamento combinado de CBG e MgSO<sub>4</sub> sobre a alodinia mecânica em ratos com diabetes induzido quimicamente por STZ, utilizando o teste de Von Frey eletrônico.

6. Avaliar o efeito do tratamento com CBG isolado ou MgSO<sub>4</sub> sobre parâmetros biofísicos, como peso e níveis de glicose plasmática, em ratos com diabetes induzido quimicamente por STZ.

## 1.2 JUSTIFICATIVA

A neuropatia é decorrente de lesões ou disfunções do sistema nervoso somatossensorial periférico ou central, geralmente se manifestando como queimação, pontadas ou choque elétrico (Scully, 2014). O diabetes, por sua alta prevalência, é a principal causa de neuropatias (9<sup>a</sup> Edição do Atlas da Federação Internacional do Diabetes, 2021).

O tratamento farmacológico é um desafio clínico devido à sua complexa fisiopatologia. Antidepressivos tricíclicos são efetivos no alívio da dor neuropática periférica (DPN), mas seus efeitos anticolinérgicos e sedativos podem ser mal tolerados. Antidepressivos duais, como a duloxetina, podem aumentar os níveis de açúcar no sangue a longo prazo (Hardy *et al.*, 2007).

Anticonvulsivantes, como pregabalina e gabapentina, são amplamente utilizados e recomendados para o tratamento da dor neuropática, conforme diretrizes da *National Institute for Health and Care Excellence* (NICE) e da *American Academy of Neurology* (Mathieson *et al.*, 2020). Opioides, embora eficazes, apresentam efeitos colaterais significativos, como depressão respiratória, hiperalgesia, constipação, rápido desenvolvimento de tolerância e risco de dependência (Kulik *et al.*, 2021).

Os canais dos receptores NMDA são bloqueados pelos íons de magnésio (Rosenberger *et al.*, 2020), resultando em efeito analgésico (Kulik *et al.*, 2021; Shin *et al.*, 2020) ao prevenir a cascata de eventos intracelulares responsáveis pela sensibilização (Begon *et al.*, 2001). O CBG tem demonstrado propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias e potencial antinociceptivo ao ligar-se a receptores como TRPV1, TRPA1, CB1, CB2, α2-adrenérgico e 5-HT1A. No entanto, ainda há pouca investigação sobre seu potencial antinociceptivo em modelos animais de dor (Wen *et al.*, 2023).

Este projeto visa examinar a eficácia antinociceptiva do CBG em ratos Wistar machos com diabetes induzido quimicamente por estreptozotocina, e entender a interação farmacológica do CBG com o sulfato de magnésio (MgSO<sub>4</sub>), que também tem demonstrado potencial efeito antinociceptivo. Considerando a eficácia moderada e os efeitos colaterais dos tratamentos atuais, a combinação de CBG e MgSO<sub>4</sub>, pode oferecer novas perspectivas no tratamento da dor neuropática.

Portanto, investigar a combinação entre CBG e MgSO<sub>4</sub> no tratamento da neuropatia diabética visa compreender melhor o potencial dessas substâncias no controle da dor e oferecer alternativas terapêuticas mais eficazes e bem toleradas.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 DIABETES

O DM é uma condição crônica caracterizada pela deficiência na produção ou ação da insulina, resultando em altos níveis de glicose no sangue (hiperglicemia). Essa condição representa um desafio significativo de saúde global devido às suas complicações crônicas e ao seu impacto socioeconômico em escala mundial (Diretrizes Da Sociedade Brasileira de Diabetes 2019 – 2020).

Em 2021 os custos com saúde relacionados ao DM atingiram pelo menos 966 bilhões de dólares em todo o mundo, representando um aumento de 316% nos últimos 15 anos. Atualmente, 537 milhões de pessoas possuem DM no mundo, o que equivale a uma pessoa diabética para cada dez indivíduos. No Brasil cerca de 6,9% da população nacional, ou aproximadamente 13 milhões de pessoas, enfrentam o diabetes. Estimativas globais indicam que até 2045, 783 milhões de pessoas em todo o mundo serão afetadas pelo diabetes, correspondendo a 12,2% da população mundial (9<sup>a</sup> Edição do Atlas da Federação Internacional do Diabetes, 2021).

A classificação do DM é organizada da seguinte forma: diabetes tipo 1 (DM1), caracterizado pela destruição autoimune das células  $\beta$  (beta) pancreáticas; o diabetes tipo 2, não relacionado à autoimunidade, mas sim a problemas na secreção de insulina pelas células  $\beta$ , levando à resistência à insulina e síndrome metabólica; o diabetes mellitus gestacional, referindo-se às gestantes não diagnosticadas anteriormente com diabetes ou sem um metabolismo de risco em glicose; e o diabetes de outras causas, abrangendo síndromes de diabetes monogênicas, doenças do pâncreas exócrino e diabetes induzido por drogas ou substâncias químicas (Rodacki *et al.*, 2023; 9<sup>a</sup> Edição do Atlas da Federação Internacional do Diabetes, 2021). O DM1 é mais comum na infância, embora também possa ocorrer em outras faixas etárias, mas com menos frequência em comparação com o tipo 2 (Rodacki *et al.*, 2023).

O Brasil registrou um total de 588.800 casos de diabetes tipo 1 em todas as idades, colocando-o como o terceiro país com maior número de casos prevalentes. Os Estados Unidos lideram essa estatística. Em relação aos números de casos prevalentes em crianças, o Brasil também foi considerado o terceiro país, com 112.240 casos em indivíduos com menos de 20 anos, enquanto a Índia ocupa o primeiro lugar (9<sup>a</sup> Edição do Atlas da Federação Internacional do Diabetes, 2021). Devido ao diagnóstico geralmente ser feito na infância, muitos indivíduos vivem por muitos anos com DM1.

O DM é caracterizado por hiperglicemia, caracterizada pela elevação dos níveis de glicose no sangue, o que pode desencadear uma série de complicações crônicas que afetam tanto os pequenos vasos sanguíneos (microvasculares) quanto os grandes vasos (macrovasculares). Entre as complicações microvasculares estão a retinopatia (afetando os olhos), nefropatia (afetando os rins) e neuropatia (afetando os nervos), enquanto as complicações macrovasculares, como doença coronariana (afetando os vasos sanguíneos do coração), doença cerebrovascular e doença arterial periférica, comprometem o funcionamento do sistema circulatório. Além disso, entre as complicações da diabetes, as mais prevalentes são as síndromes clínicas causadas por danos nos sistemas nervoso periférico e autônomo (Zhao *et al.*, 2024; 9<sup>a</sup> Edição do Atlas da Federação Internacional do Diabetes, 2021).

## 2.2 NEUROPATHIA DIABÉTICA

A neuropatia diabética (ND) é um distúrbio neurodegenerativo do sistema nervoso periférico e tem como alvo preferencial os axônios sensoriais, axônios autônomos e, posteriormente, em menor grau, os axônios motores (Feldman *et al.*, 2019). Esse distúrbio é caracterizado pela presença de sinais ou sintomas de disfunção dos nervos, que podem ocorrer de forma difusa, afetando uma ampla área, ou focal, concentrando-se em um ponto específico. Em resumo, a neuropatia pode afetar um único nervo, um grupo de nervos ou todos os nervos do corpo (Rolim *et al.*, 2023; Feldman *et al.*, 2019). Em geral, a prevalência da neuropatia periférica diabética na população é de 49,4% (Rolim *et al.*, 2023). Os sintomas da ND podem variar de dor e dormência nas pernas e pés a problemas no sistema digestivo, trato urinário, vasos sanguíneos e coração, dependendo dos nervos afetados (Calcutt, 2020; Feldman *et al.*, 2019). Cerca de um terço dos diabéticos com DN relatam parestesias intermitentes ou contínuas juntamente com a dor (Calcutt, 2020).

Segundo a Associação Internacional para o Estudo da Dor, a dor é aquela que surge como consequência direta de uma lesão ou doença que afeta o sistema somatossensorial. A dor é uma capacidade essencial para a sobrevivência do organismo, desempenha um papel crucial em alertar o corpo sobre a presença de estímulos adversos ou nocivos. Alterações fisiopatológicas na via da dor causam distúrbios como alodinia (dor em resposta a estímulos não nocivos), hiperalgesia (dor exacerbada em resposta a estímulos nocivos) ou dor espontânea (na ausência de estímulos). O alerta se dá a partir da nocicepção na qual as células nociceptoras, localizada no gânglio da raiz dorsal e gânglio trigeminal, com ramos nervosos ligando tanto para o órgão onde o estímulo ocorreu quanto para a medula espinhal, detectam o estímulo nocivo, como calor intenso, pressão mecânica forte ou substâncias químicas irritantes (Basbaum *et al.*, 2009).

Como relatado por Marshall *et al.*, (2023), é cada vez mais aceito que ocorram alterações fisiopatológicas pró-nociceptivas na medula espinhal em diabéticos, o que poderia gerar ou manter a dor. As fibras responsáveis por essa nocicepção são divididas em fibras A $\delta$  (delta), que transmitem uma dor rápida e bem localizada por serem mielinizadas, e fibras C, não mielinizadas e de diâmetro pequeno, que transmitem uma dor mais lenta e mal localizada (Basbaum *et al.*, 2009; Meyer *et al.*, 2008).

Os mecanismos fisiopatológicos associados à dor neuropática envolvem a potencialização da atividade dos receptores excitatórios de glutamato do tipo N-metil-D-aspartato (NMDA), os quais são compostos por quatro subunidades diferentes, formando heterotetrameros. Essas incluem duas subunidades GluN1, que possuem os sítios de ligação para a glicina ou D-serina, e duas subunidades GluN2/3, que possuem os sítios de ligação para o glutamato. Os sítios de ligação não competitivos estão localizados dentro do poro do canal iônico. O glutamato (Glu) é o neurotransmissor excitatório mais importante no sistema nervoso central, ligando-se a receptores metabotrópicos, que pertencem à superfamília dos receptores acoplados à proteína G (RCPG), e a receptores ionotrópicos, incluindo o receptor de ácido  $\alpha$ -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolpropiónico (AMPAR), o receptor de N-metil-d-aspartato (NMDAR) e o receptor cainato (Carles *et al.*, 2024).

Os receptores NMDA estão amplamente distribuídos no sistema nervoso central, abrangendo áreas como o hipocampo, córtex cingulado anterior, córtex insular e corno dorsal da medula espinhal (Morel *et al.*, 2021). A excitação em um neurônio tem início na membrana pós-sináptica de uma sinapse, onde os receptores  $\alpha$ -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolpropiónico (AMPA) e NMDA colaboram em conjunto. Os canais de AMPA provocam uma rápida e breve despolarização da membrana pós-sináptica, seguida por uma rápida desativação. Essa despolarização resultante dos canais de AMPA facilita a ativação dos receptores NMDA. Como consequência, os receptores NMDA sinalizam e aumentam a concentração de cálcio intracelular, ativando uma série de vias de sinalização dependentes de cálcio e proteínas, tais como a quinase ativada por mitógeno (MAPK), a proteína quinase C (PKC) e a proteína quinase A (PKA). Isso desencadeia uma cascata de eventos que aumentará a excitabilidade do neurônio e facilitará a transmissão de mensagens de dor ao cérebro (sensibilização central) (Basbaum *et al.*, 2009).

A Associação Internacional para o Estudo da Dor define a sensibilização central como um “aumento da responsividade dos neurônios nociceptivos no sistema nervoso central (SNC) ao seu *input* aferente normal ou sub-limiar” (Loeser & Treede, 2008). Isso significa que, na sensibilização central, os neurônios nociceptivos no SNC se tornam mais sensíveis e respondem de forma mais intensa a estímulos que normalmente não seriam dolorosos ou que estão abaixo do limiar de dor. Essa maior responsividade pode resultar em uma percepção amplificada da dor, onde estímulos leves ou moderados podem ser percebidos como intensamente dolorosos.

O aumento subsequente no influxo de cálcio pode fortalecer as conexões sinápticas entre os nociceptores e os neurônios transmissores da dor no corno dorsal, o que, por sua vez, exacerbará as respostas a estímulos nocivos (Chen *et al.*, 2018; Makarov *et al.*, 2024).

A neuropatia diabética quando completamente desenvolvida, se manifesta como polineuropatia, afetando os nervos periféricos do sensório-motor distal (DSP) de forma simétrica nos membros inferiores. Isso significa que a condição afeta os nervos nas extremidades dos membros, como pernas e pés, de maneira uniforme em ambos os lados do corpo. Além disso, inclui o envolvimento do sistema nervoso autônomo, responsável pela regulação de funções involuntárias do corpo, como a pressão arterial e a digestão (Pathak *et al.*, 2022). Os diferentes tipos de neuropatias afetam 50% dos diabéticos, sendo mais comum a polineuropatia simétrica distal (DSP). Os outros tipos incluem neuropatia predominantemente de fibras pequenas ou neuropatia induzida por tratamento; radiculoplexopatia ou radiculopatia; mononeuropatia; e neuropatia autonômica ou neuropatia induzida por tratamento. (Pouwer *et al.*, 2024; Pop-Busui *et al.*, 2022; Feldman *et al.*, 2019).

Como mencionado por Mizukami, H., & Osonoi, S., 2020 e Pop-Busui *et al.*, 2022, a hiperglicemia pode ativar vias inflamatórias colaterais de utilização de glicose. Essas vias incluem. 1) via do poliol, onde a aldose redutase converte o excesso de glicose em sorbitol. 2) via da proteína quinase C (PKC), que aumenta a resistência à insulina, perturba os fatores de crescimento e leva à vasoconstrição dos vasos sanguíneos. 3) via de formação de produtos de glicação avançada (AGEs), em que a ativação de AGEs e RAGEs (receptores de AGEs) leva à inflamação a jusante, ao acúmulo de EROs (espécies reativas de oxigênio) e à diminuição do fluxo sanguíneo para os nervos periféricos. 4) via biossintética da hexosamina, que produz subprodutos inflamatórios e ativa a proteína quinase C. 5) via das pentoses fosfato, responsável pela metabolização da glicose 6-fosfato em uma série de pentoses, como a ribose 5-fosfato. 6) via glicolítica anaeróbica, que ocorre quando o piruvato é metabolizado em ácido láctico pela lactato desidrogenase em condições anaeróbicas, evocadas por isquemia na microangiopatia diabética. Supõe-se que esses mecanismos desencadeiem de modo individual ou sinérgico o início e a progressão da polineuropatia.

Aproximadamente um terço dos pacientes conseguem aliviar a dor em mais de 50% ao utilizar vários medicamentos em conjunto (Wang *et al.*, 2024). Porém,

alguns pacientes com dor refratária, isto é, dor que persiste mesmo após o tratamento, podem apresentar reações adversas graves ou desenvolver dependência de drogas devido ao uso prolongado de doses elevadas de analgésicos. Uma vez que não é possível reverter ou prevenir essa condição, os antidepressivos como duloxetina, amitriptilina e venlafaxina são utilizados como tratamento de primeira linha para o alívio da dor, seguidos pelos anticonvulsivantes gabapentina e pregabalina. Os opioides, como o tapentadol, oxicodona e morfina são considerados como segunda ou terceira linha de tratamento. No entanto, apenas pregabalina, duloxetina, tapentadol e capsaicina (um analgésico tópico) receberam aprovação da Food and Drug Administration (FDA) para o tratamento da DN (Y. Chen & Song, 2024; Committee *et al.*, 2024; Price *et al.*, 2022; Wang *et al.*, 2024).

A gabapentina e a pregabalina ligam-se e modulam as proteínas  $\alpha 2-\delta$  do canal de cálcio no gânglio da raiz dorsal. Já a duloxetina, amitriptilina, venlafaxina, assim como o tapentadol, atuam como inibidores da recaptação da serotonina e norepinefrina (SNRI). Por sua vez, a capsaicina, encontrada na pimenta malagueta, se liga aos receptores TRPV1 responsáveis pela sensação de calor e dessensibiliza esses receptores durante o tratamento repetido, sendo considerada apenas para um tratamento de terceira linha (Alam *et al.*, 2020; Chen & Song, 2024; Eissa *et al.*, 2023; Pop-Busui *et al.*, 2017, 2022; Boulton *et al.*, 2023). De acordo com Schreiber *et al.*, (2015), os efeitos colaterais causados pelos antidepressivos incluem boca seca, hipotensão postural, arritmias, comprometimento cognitivo, constipação e retenção urinária. Já os anticonvulsivantes apresentam tontura, sonolência, edema periférico, dor de cabeça e ganho de peso. Enquanto, os opioides provocam náuseas e vômitos.

### 2.3 SULFATO DE MAGNÉSIO E O BLOQUEIO DOS RECEPTORES NMDA

O sulfato de magnésio ( $MgSO_4$ ) tem demonstrado efeito antinociceptivo em estudos pré-clínicos e clínicos de dor neuropática e inflamatória, evidenciando suas propriedades analgésicas. Esses efeitos são resultado do bloqueio do receptor NMDA (NMDAR) no corno dorsal da medula espinhal, o que leva à redução do influxo de cálcio nas células, impedindo assim a sinalização excitatória glutamatérgica (Urits *et al.*, 2021; Yamanaka *et al.*, 2019; Bennett, 2000).

A modulação da dor com a presença do magnésio ocorre principalmente por sua ação como antagonista sensível à voltagem dos receptores NMDA, podendo

assim prevenir a sensibilização central e abolir a hipersensibilidade existente (Urts *et al.*, 2021). Em neurônios com potencial de membrana em repouso (-70 mV), o íon de magnésio (Mg<sup>2+</sup>) bloqueia o receptor NMDA. A medida que o potencial de membrana é aumentado para -30 mV através da ativação do outro receptor de glutamato, o receptor AMPA, o bloqueio de Mg<sup>2+</sup> é removido, e o receptor NMDA é ativado ocasionando na sensibilização central (Yamanaka *et al.*, 2019; Bennett, 2000; Hua *et al.*, 2024; Goswami *et al.*, 2024).

O magnésio possui efeitos colaterais relativamente leves em doses terapêuticas e é considerado um composto mais seguro e melhor tolerado do que os antagonistas sintéticos do NMDAR, tais como o dextrometorfano, dextrofano, memantina, cetamina e amantadina. A utilidade clínica de alguns desses medicamentos é limitada devido a um índice terapêutico muito estreito, causando efeitos adversos (Kulik *et al.*, 2021; Ghezel-Ahmadi *et al.*, 2019; Huang *et al.*, 2023; Na *et al.*, 2011; Shin *et al.*, 2020; Rondón *et al.*, 2010).

## 2.4 SISTEMA ENDOCANABINOIDE

O sistema endocanabinoide (SEC) desempenha um papel crucial na regulação de diversas funções biológicas, incluindo o neurodesenvolvimento, cognição, humor, sono, apetite, recompensa e modulação da dor (D'Angelo & Steardo, 2024). Além disso, o SEC atua mantendo a homeostase cerebral, sendo vital na formação de novos neurônios (neurogênese) e células gliais (gliogênese), na criação de novas sinapses (sinaptogênese) e na plasticidade cerebral (Alteba *et al.*, 2016).

Esse sistema é composto por dois receptores acoplados à proteína G, os receptores canabinoides CB1 (*cannabinoid receptor type 1*) e CB2 (*cannabinoid receptor type 2*), juntamente com seus endocanabinoides (ligantes endógenos), N-arquidonoiletanolamina (anandamida - AEA) e 2-araquidonoilglicerol (2-AG) e enzimas responsáveis por sua síntese, recuperação e degradação (D'Angelo & Steardo, 2024; Mohammadkhani & Borgland, 2022).

O receptor CB1 é abundantemente encontrado no sistema nervoso central (SNC), especialmente no córtex e no hipocampo. Quando ligado a qualquer agonista endocanabinoide, desencadeia a sinalização retrógrada, resultando na despolarização dos neurônios e na redução da neurotransmissão mediada por GABA (ácido gama-aminobutírico) (Xue *et al.*, 2024). O receptor CB2 é distribuído

principalmente em células imunológicas e queratinócitos (Wen *et al.*, 2023) e está acoplado a proteínas G do tipo inibitório (Gi/o) (Bagher, 2022). Uma vez ativados, eles inibem retrogradamente neurotransmissores como ácido gama-aminobutírico (GABA) e glutamato (Miranda-Cortés *et al.*, 2023).

A anandamida e os fitocannabinoides se ligam competitivamente aos receptores cannabinoides nas membranas pré-sinápticas e pós-sinápticas dos neurônios presentes em astrócitos, oligodendrócitos e células da micróglia. Essas substâncias podem influenciar a excitabilidade dos neurônios pós-sinápticos e ativar proteínas Gi/o e quinases ativadas por mitógenos (MAPK). Isso resulta na inibição da adenil ciclase e dos canais de  $\text{Ca}^{2+}$  dependentes de voltagem. Consequentemente, há uma redução na liberação de vários neurotransmissores, incluindo noradrenalina, acetilcolina, glutamato, GABA, glicina, aspartato, serotonina (5HT), dopamina e colecistoquinina, além da secreção de dinorfinas e  $\beta$ -endorfinas (Miranda-Cortés *et al.*, 2023).

A fosfatidiletanolamina N-acilfosfatidiletanolamina (NAPE-PLD) é atualmente considerada a principal enzima responsável pela produção de AEA. Por outro lado, uma fosfolipase C distinta, seguida pela atividade da lipase diacilglicerol sn-1 (DAGL), leva à síntese de 2-AG (D'Angelo & Steardo, 2024). Os endocannabinoides são liberados pelos neurônios pós-sinápticos e principalmente ativam os receptores CB1 presinápticos para suprimir transitoriamente ou persistentemente a liberação de neurotransmissores tanto de sinapses excitatórias quanto inibitórias (Howlett *et al.*, 2002; Mechoulam & Parker, 2013).

O SEC desempenha um papel na modulação da dor e inflamação através da interação dos endocannabinoides ou fitocannabinoides com os receptores CB1 e CB2. Estudos mostram que o sistema endocanabinoide é expresso e ligado à via nociceptiva, onde os receptores podem ser encontrados nas fibras ascendentes e descendentes da dor (Svíženská *et al.*, 2008).

O canabidiol (CBD) atua como agonista parcial dos receptores CB2 e tem afinidade moderada pelos receptores CB1, além de influenciar outros receptores não cannabinoides, como TRPV1 e GPR55. Seu mecanismo de ação inclui a inibição da adenilil ciclase e a regulação dos canais de cálcio e potássio dependentes de voltagem, resultando na redução da liberação de neurotransmissores pró-nociceptivos como glutamato e substância P. O CBG apresenta maior afinidade pelos receptores CB2, e atua em alvos moleculares como TRPV1 e TRPA1. Suas propriedades anti-

inflamatórias e analgésicas são evidentes na diminuição da liberação de citocinas pró-inflamatórias e na modulação da atividade dos receptores canabinoides, reduzindo a inflamação e a hiperalgesia (Berger *et al.*, 2019).

### **3 MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1 ANIMAIS**

Foram utilizados ratos machos da linhagem Wistar, provenientes do biotério da Universidade Federal do Paraná. Os mesmos foram alojados em grupos em caixas plásticas (41×32×16,5 cm) em número máximo de 4 por gaiola em condições padrão de laboratório, com um ciclo claro-escuro de 12 horas e temperatura adequada (21 ± 2 °C), com acesso livre a água e comida (*ad libitum*). Todos os animais foram tratados de acordo com as diretrizes para o cuidado e uso de animais de laboratório preparadas pelo Comitê de Ética em Pesquisa Animal. Todos os procedimentos foram submetidos à aprovação do Comitê de Ética em Utilização Animal (CEUA/BIO-UFPR, nº 1584). Além disso, todos os esforços foram feitos para minimizar o número de animais utilizados e o seu sofrimento durante o estudo.

#### **3.2 DROGAS**

NMDA (100mM) (*Sigma Aldrich*) em um volume de 1,2 µl de solução salina. Eflurano 4% em uma mistura de ar ambiente/oxigênio (1:1). Estreptozotocina (STZ; Santa Cruz *Biotechnology Inc.*, Califórnia, EUA) (60 mg/kg) dissolvida em tampão citrato de sódio (10 mM, pH 4,5) (Merck S.A. Indústrias Farmacêuticas, São Paulo, Brasil). Sulfato de magnésio hepta-hidratado (MgSO<sub>4</sub>; Neon, Suzano, São Paulo, Brasil) diluído em solução salina estéril (0,9% NaCl). Canabigerol (CBG) (99,8% puro, Sandwich Pharma, U.K.) administrado com veículo (DMSO, Tween 80, solução salina na proporção de 1:1:18, via intraperitoneal).

### 3.3 ADMINISTRAÇÃO INTRATECAL DE NMDA

Os ratos foram anestesiados com indução de 4% de halotano. O animal foi colocado em decúbito ventral com as patas esticadas. A administração do NMDA foi feita por via intratecal (i.t.) através de punção lombar nos segmentos espinhais L1-L2.

### 3.4 INDUÇÃO DO DIABETES

Os animais foram induzidos ao estado diabético após jejum de 12 horas por meio de uma única injeção intraperitoneal (i.p.) de estreptozotocina (STZ). A STZ (60 mg/kg) foi dissolvida em tampão citrato (10 mM, pH 4,5). Este procedimento é amplamente utilizado experimentalmente para estabelecer um modelo de diabetes mellitus tipo 1 (Furman, 2021). Após esse procedimento, a condição de diabetes foi confirmada três dias após a injeção de STZ pela aplicação de um pequeno volume de sangue periférico obtido por meio de uma pequena picada na cauda, nas tiras de teste impregnadas com glicose oxidase (*Accu-Chek Active®*, *Roche*). No terceiro dia após a administração da STZ, os animais cuja glicemia foi igual ou superior a 250 mg/dL foram considerados diabéticos e permaneceram no estudo.

### 3.5 TESTE DE VON FREY ELETRÔNICO

Para avaliação do limiar mecânico, os animais foram colocados para aclimatação na sala experimental por cerca de 60 minutos. Após a aclimatação à sala, os ratos foram colocados em um aparato constituído por caixas de acrílico (12x20x17 cm) com piso em grade de arame (5 mm<sup>2</sup>) por 15 minutos ou até cessar o comportamento exploratório para iniciar o teste. A alodinia mecânica foi avaliada com o equipamento eletrônico von Frey (VF) (*Insight Equipamentos, Pesquisa e Ensino*, Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil). O estímulo mecânico foi produzido por meio de uma ponta plástica semiflexível acoplada a um transdutor de força. Um estímulo de pressão crescente foi aplicado perpendicularmente à superfície plantar das patas traseiras e cessou quando o animal apresentou a retirada da pata. Um espelho abaixo da grade foi usado para visualizar as patas traseiras do animal. O limiar mecânico, a pressão responsável pela retirada da pata, foi calculado pela média de três medidas feitas em cada pata. O limiar mecânico foi avaliado antes (linha de base) e em

diferentes momentos após os tratamentos. A pressão de corte de 60g foi usada neste estudo e consideramos um efeito antinociceptivo quando os grupos tratados foram estatisticamente significativos quando comparados ao grupo induzido por diabetes tratado com solução salina. Um grupo controle normoglicêmico tratado com veículo foi conduzido em paralelo.

### 3.6 TESTE DE CAMPO ABERTO

A atividade locomotora foi avaliada em um aparelho de arena constituído por uma caixa de madeira (40 × 50 × 63 cm), com fundo dividido em nove quadrantes idênticos. Os animais foram colocados individualmente no quadrante central e durante cinco minutos, o número de quadrantes cruzados foi registrado usando uma câmera de ação Sony 4K para posterior análise (Leão *et al.*, 2022). Após o término dos experimentos, foram avaliados os comportamentos de *rearings* (apoiados e não apoiados), o tempo no quadrante central, a quantidade de cruzamentos totais e a quantidade de cruzamentos para o campo central.

### 3.7 DESENHO EXPERIMENTAL

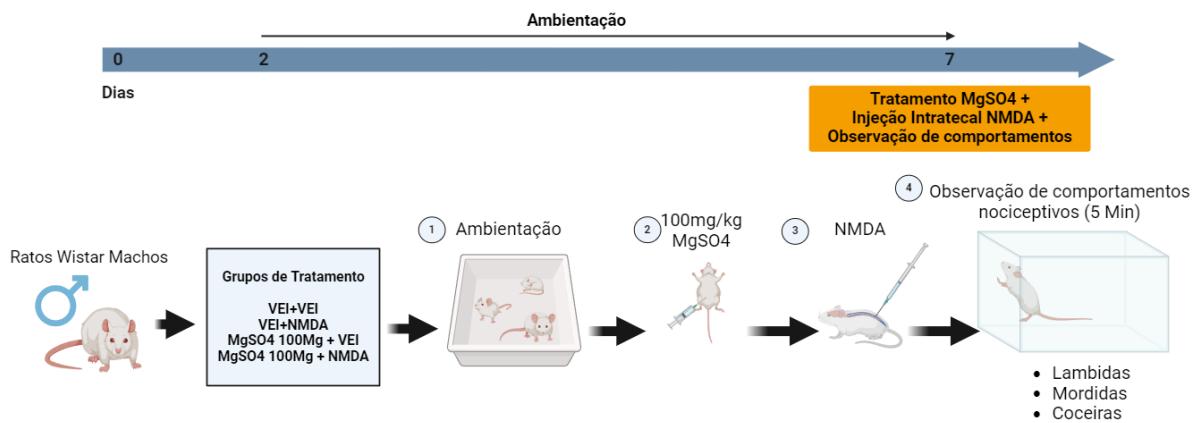
#### 3.7.1 ETAPA 1: MODELO DE DOR INDUZIDO POR NMDA EM RATOS NÃO DIABÉTICOS TRATADOS COM MgSO<sub>4</sub>

Animais não diabéticos foram divididos em grupos randomizados para determinar a dose efetiva de MgSO<sub>4</sub>, que seria utilizada posteriormente em combinação com CBG. Foi utilizado um modelo de dor induzido por NMDA administrado por via intratecal (i.t.).

Inicialmente, no dia 0, os animais foram retirados do biotério da Universidade Federal do Paraná e alojados no biotério do laboratório 202A. No dia 2, os animais foram pesados e separados em quatro grupos. Em seguida, permaneceram em período de ambientação até o dia 7. No dia 7, os animais foram transferidos para a sala de experimentação e permaneceram em ambientação por 20 minutos. Após esse período, foi administrada uma dose intraperitoneal de 100 mg/kg de MgSO<sub>4</sub>, 20 minutos antes da injeção intratecal de NMDA (100 mM) em um volume de 1,2 µl de solução salina, utilizando uma seringa de 2,5 microlitros. Após a injeção, os animais

foram colocados em uma cuba de vidro e observados por cinco minutos quanto aos comportamentos de dor, como lambidas, mordidas e coceiras.

FIGURA 1 LINHA TEMPORAL - ETAPA 1



Nota: Linha temporal etapa 1, VEI – Veículo.

FONTE: O autor (2024).

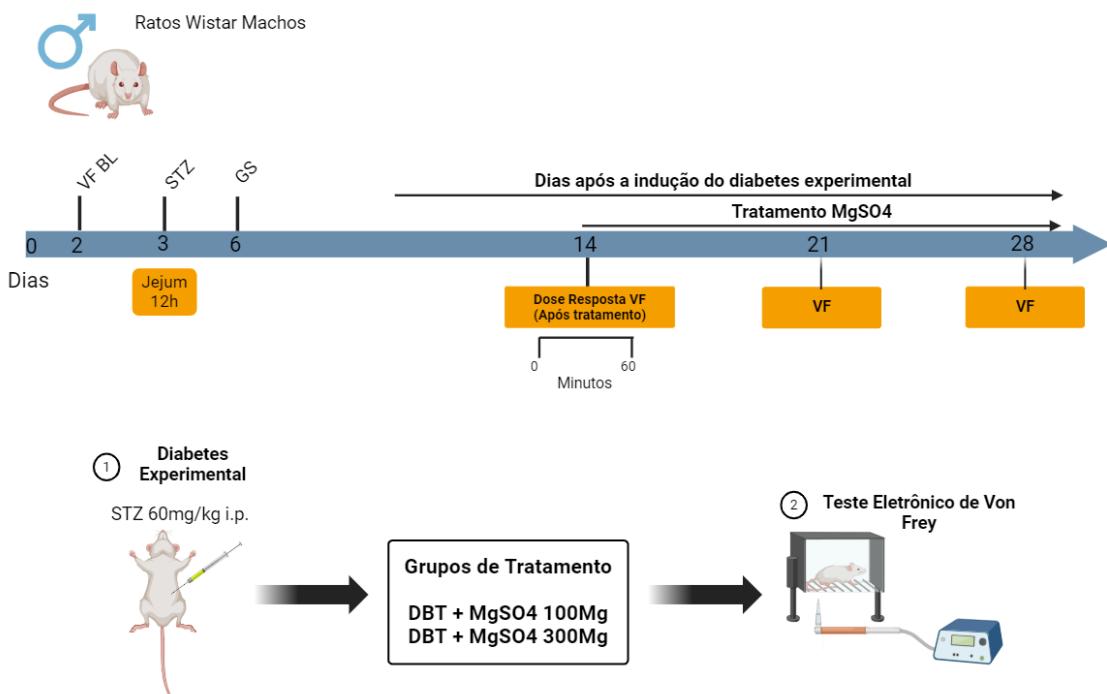
### 3.7.2 ETAPA 2: TRATAMENTO COM MgSO4 EM RATOS DIABÉTICOS

Animais diabéticos induzidos por STZ foram divididos em grupos randomizados para tratamento com 100 e 300 mg/kg de MgSO4. Inicialmente, no dia 0, os animais foram retirados do biotério da Universidade Federal do Paraná e alojados no biotério do laboratório 202A. No dia 2, os animais foram pesados e realizada uma avaliação basal do limiar mecânico pelo teste de Von Frey. Em seguida, os animais foram submetidos a 12 horas de jejum. Após, foi iniciado o processo de indução do diabetes, com os animais recebendo uma dose intraperitoneal de STZ de 60 mg/kg, diluída em uma solução tampão de citrato. Três dias após essa administração, a glicemia foi medida para confirmar a eficácia da indução do diabetes.

No dia 14, foi realizada novamente a avaliação do limiar mecânico pelo teste de Von Frey. Em seguida, os grupos foram tratados com as doses de MgSO4 (100, 300 mg/kg), e o limiar mecânico foi medido novamente após 60 minutos da administração de MgSO4 para avaliar a resposta ao longo do tempo. No dia 21, foi realizada outra avaliação do limiar mecânico pelo teste de Von Frey.

No dia 28, ocorreu a última avaliação do limiar mecânico e uma última medição da glicemia para confirmar se os animais permaneciam em estado diabético. Após a conclusão deste segmento experimental, os animais foram eutanasiados.

Figura 2 - LINHA TEMPORAL – ETAPA 2



Nota: Linha temporal Etapa 2: VF- Von Frey Eletrônico; BL – Baseline; GS – Glicose sérica; STZ – Estreptozotocina; DBT – Diabético; MgSO4 – Sulfato de magnésio.

FONTE: O autor (2024).

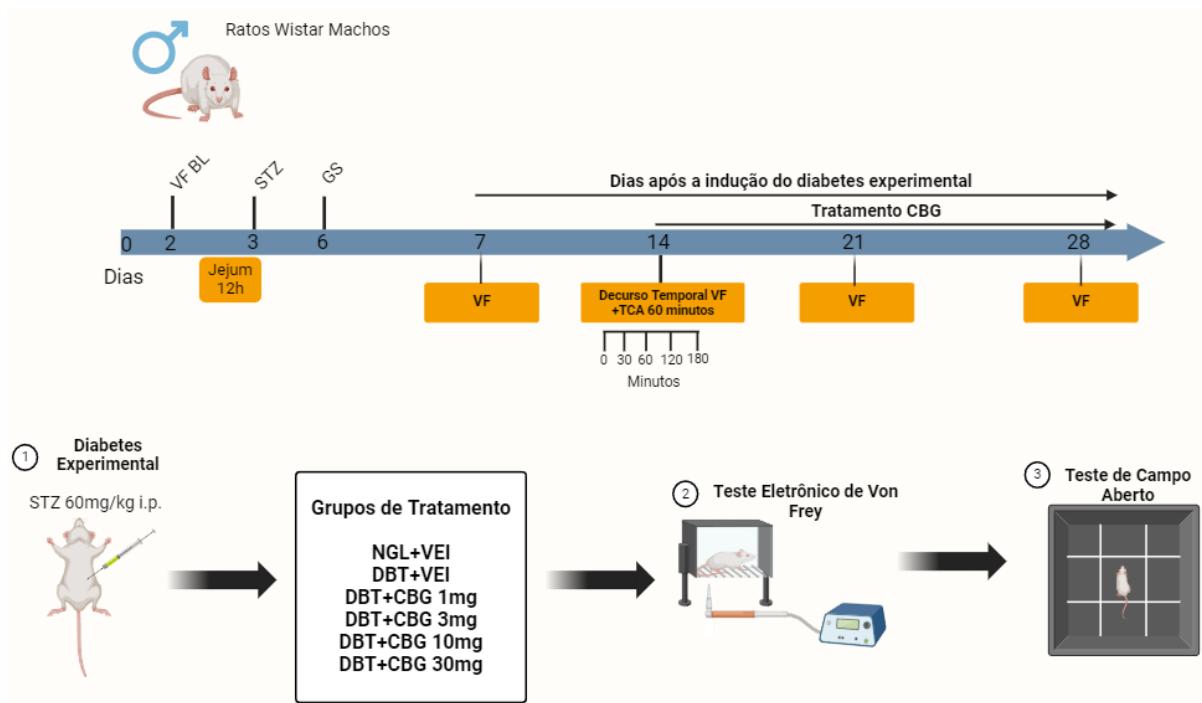
### 3.7.3 ETAPA 3: TRATAMENTO COM CANABIGEROL EM RATOS DIABÉTICOS

Os animais sujeitos a indução do diabetes por STZ passaram por uma avaliação basal do limiar mecânico. Em seguida, foram submetidos a 12 horas de jejum. Após esse período, para induzir o diabetes, os animais receberam uma dose intraperitoneal de STZ de 60 mg/kg, diluída em uma solução tampão de citrato. Três dias após essa administração, a glicemia foi medida para confirmar a eficácia da indução do diabetes. Subsequentemente, aferições do limiar mecânico foram realizadas com o teste de von Frey nos dias 7, 14, 21 e 28. Concomitantemente, o peso dos animais foi monitorado semanalmente. Após a confirmação do estado diabético, os animais foram distribuídos aleatoriamente em grupos experimentais. Os grupos receberam tratamentos em paralelo com as doses de CBG (1, 3, 10 e 30mg/kg).

No dia 14 foi avaliado o efeito do tratamento com CBG (1 mg/kg, 3 mg/kg, 10 mg/kg e 30 mg/kg) sobre o limiar mecânico (g) em ratos diabéticos ao longo de 180 minutos, 30, 60, 120 e 180 minutos após a administração do tratamento. O tratamento foi realizado diariamente e seguiu até o dia 28, quando foi realizado o teste de campo

aberto. Ao término deste período experimental, uma última avaliação da glicemia confirmou se os animais permaneciam em estado diabético. Após a conclusão deste segmento experimental, os animais foram eutanasiados.

Figura 3 - Linha Temporal – Etapa 3



Nota: Linha temporal Etapa 3: VF- Von Frey Eletrônico; BL – Baseline; GS – Glicose sérica; STZ – Estreptozotocina; DBT – Diabético; NGL – Normoglicêmico; VEI – Veículo; CBG – Canabigerol.

FONTE: O autor (2024).

### 3.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram apresentados como média  $\pm$  erro padrão da média para grupos com 3 a 6 ratos em cada experimento. As análises estatísticas foram conduzidas utilizando o software *GraphPad Prism* versão 8.0.1. Foi utilizado o teste ANOVA de uma e duas vias, seguido pelos testes *post hoc* de *Bonferroni*. Também foi utilizado o teste *t* de *Student* para comparações entre dois grupos. O nível de significância adotado foi  $p < 0,05$ .

## 4 RESULTADOS

### 4.1 PRÉ-TRATAMENTO COM MgSO4 NÃO BLOQUEIA COMPORTAMENTOS NOCICEPTIVOS INDUZIDOS POR UMA INJEÇÃO INTRATECAL DE NMDA EM RATOS NAIVE

Conforme observado na Tabela 1, a injeção intratecal de NMDA (10 µg) produziu comportamentos nociceptivos, como contorções, lambidas e *groomings*, embora esses comportamentos não tenham sido estatisticamente significativos quando comparados ao grupo controle (VEI+VEI). O pré-tratamento com MgSO4 (100 mg/kg; i.p.) não foi capaz de reverter ou atenuar esses comportamentos, embora tenha aumentado significativamente a frequência de coceiras em comparação ao grupo controle ( $p<0,05$ ). Curiosamente, observou-se um aumento nos comportamentos nociceptivos nos ratos que receberam o pré-tratamento com MgSO4 seguido pela injeção intratecal de NMDA, em comparação com o grupo VEI+NMDA, embora esse aumento não tenha sido estatisticamente significativo ( $p>0,05$ ) (Tabela 1; Tabela 2).

TABELA 1 - COMPORTAMENTOS NOCICEPTIVOS INDUZIDOS POR INJEÇÃO INTRATECAL DE NMDA EM GRUPOS CONTROLE E COM PRÉ-TRATAMENTO COM MGSO4

Grupos	Contorcidas		Lambidas		Coceira		Grooming	
	Tempo (s)	Frequência	Tempo (s)	Frequência	Tempo (s)	Frequência	Tempo (s)	Frequência
VEI+VEI	0±0	0±0	1,23±1,23	0,66±0,66	0±0	0±0	3,72±1,88	1±0,57
VEI+NMDA	0,45±0,29	2,33±1,49	1,18±1,18	0,16±0,16	0±0	0±0	1,69±1,07	0,5±0,34
MgSO4 100mg+VEI	0±0	0±0	0,24±0,13	0,5±0,28	2,55±1,75	<b>1,75±0,75<sup>#</sup></b>	5,94±2,63	1,75±0,85
MgSO4 100mg+NMDA	19,73±13,46	68,33±52,27	47,22±35	7,33±4,16	0±0	0±0	4,83±3,11	1,66±0,91

NOTA: Tempo e frequência dos comportamentos nociceptivos (contorções, lambidas, coceira e grooming) em ratos após injeção intratecal de NMDA (10 µg) com ou sem pré-tratamento com MgSO4 (100 mg/kg, i.p.). Os valores são apresentados como Média ± EPM. O símbolo (#) indica uma diferença estatisticamente significativa em comparação com o grupo VEI + NMDA ( $p < 0.05$ ). A análise estatística foi realizada utilizando ANOVA de uma via seguida pelo teste *post hoc* de Bonferroni.

FONTE: O autor (2024).

TABELA 2 - ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS COMPORTAMENTOS NOCICEPTIVOS APÓS A INJEÇÃO INTRATECAL DE NMDA COM OU SEM PRÉ-TRATAMENTO COM MGSO4

(continua)

Tabela	Descrição	Análise estatística	F (DFn, DFd)	Valor de p	n/grupo
Tabela 1	Tempo de Contorcidas	ANOVA de uma via – <i>Bonferroni</i> post hoc	F (3, 15) = 1,438	p=0,2712	3-6
Tabela 1	Frequência de Contorcidas	ANOVA de uma via – <i>Bonferroni</i> post hoc	F (3, 15) = 1,133	p=0,3674	3-6
Tabela 1	Tempo de Lambidas	ANOVA de uma via – <i>Bonferroni</i> post hoc	F (3, 15) = 1,196	p=0,3448	3-6
Tabela 1	Frequência de Lambidas	ANOVA de uma via – <i>Bonferroni</i> post hoc	F (3, 15) = 1,898	p=0,1734	3-6
Tabela 1	Tempo de Coceira	ANOVA de uma via – <i>Bonferroni</i> post hoc	F (3, 15) = 2,777	p=0,0774	3-6
Tabela 1	Frequência de Coceira	ANOVA de uma via – <i>Bonferroni</i> post hoc	F (3, 15) = 7,164	p=0,0033	3-6
Tabela 1	Tempo de Grooming	ANOVA de uma via – <i>Bonferroni</i> post hoc	F (3, 15) = 0,5962	p=0,6272	3-6

TABELA 2 - ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS COMPORTAMENTOS NOCICEPTIVOS EM RATOS NAIVE APÓS INJEÇÃO INTRATECAL DE NMDA COM OU SEM PRÉ-TRATAMENTO COM MGSO4

(conclusão)

Tabela 1	Frequência de Grooming	ANOVA de uma via – <i>Bonferroni</i> post hoc	$F (3, 15) = 0,7042$	$p=0,5642$	3-6
----------	------------------------	--------------------------------------------------	----------------------	------------	-----

NOTA: Análise estatística dos tempos e frequências dos comportamentos nociceptivos (contorções, lambidas, coceira e grooming) em ratos naive após injeção intratecal de NMDA (10 µg) com ou sem pré-tratamento com MgSO4 (100 mg/kg, i.p.). A análise estatística foi realizada usando ANOVA de uma via, seguido de teste *post hoc* de *Bonferroni*. Valores de F (DFn, DFd) e valores de p são apresentados. n/grupo indica o número de ratos por grupo.

FONTE: O autor (2024).

#### 4.2 EFEITO DA INDUÇÃO DO DIABETES EXPERIMENTAL NA GLICEMIA E GANHO DE PESO, E A INFLUÊNCIA DO TRATAMENTO CRÔNICO COM MgSO4 OU CBG

Conforme observado na Tabela 3, os animais diabéticos (DBT+VEI) apresentaram aumento nos níveis de glicemia e diminuição no ganho de peso quando comparados ao grupo NGL+VEI ( $p<0,05$ ). Os tratamentos crônicos com MgSO4 (100 mg e 300 mg) ou CBG (1 mg, 3 mg, 10 mg e 30 mg) não foram eficazes em atenuar ou reverter o estado hiperglicêmico, nem em melhorar o ganho de peso, quando comparados ao grupo DBT+VEI (Tabela 3; Tabela 4).

TABELA 3 - INFLUÊNCIA DO TRATAMENTO REPETIDO COM CBG OU MGSO4 NA GLICEMIA E NO GANHO DE PESO

Grupos	Glicemia 3 dias após STZ (mg/dL)	Glicemia antes da eutanásia (mg/dL)	Diferença Glicemia (mg/dL)	Diferença no Ganho de Peso (g)
<i>NGL+VEH</i>	118,6±2,85	114,8±8,64	-3,83±8,46	108,6 ± 8,64
<i>DBT+VEH</i>	487,6±31,39 <sup>#</sup>	536,6±24,65 <sup>#</sup>	49±39,21	8± 12,60 <sup>#</sup>
<i>DBT+MgSO4 100mg/kg</i>	400,0±19,00	550,0±50,00	150,0±69,00	-70,50±15,50
<i>DBT+MgSO4 300mg/kg</i>	396,7±15,38	544,30±25,21	147,7±35,37	-60,33±7,78
<i>DBT+CBG 1mg/kg</i>	541,0±18,76	476,6±29,30	-64,40±32,21	-2,40 ± 9,97
<i>DBT+CBG 3mg/kg</i>	508,5±29,24	489,1±23,70	-63,82±53,71	-18,45± 11,01
<i>DBT+CBG 10mg/kg</i>	522,3±23,52	509,1±20,89	-34,80±35,46	-27,70± 6,41
<i>DBT+CBG 30mg/kg</i>	508,6±24,56	522,3±25,21	13,64±30,28	-19,09± 6,18

NOTA: Efeitos do tratamento repetido com CBG (Canabigerol) ou MgSO4 (sulfato de magnésio) na glicemia e ganho de peso em ratos diabéticos induzidos por STZ (estreptozotocina). Os parâmetros avaliados são: glicemia 3 dias após a indução de diabetes com estreptozotocina (STZ), glicemia antes da eutanásia, diferença nos níveis de glicose no sangue entre essas duas medições, e diferença no ganho de peso ao longo do período experimental. Os valores são apresentados como média ± erro padrão da média (EPM). O símbolo # indica diferenças estatisticamente significativas ( $p<0,05$ ) em relação ao grupo controle normoglicêmico tratado com veículo (NGL+VEH). A análise estatística foi realizada utilizando o teste t de Student bicaudal não pareado e ANOVA de uma via seguida pelo teste *post hoc* de Bonferroni.

FONTE: O autor (2024).

TABELA 4 - ANÁLISE ESTATÍSTICA DO TRATAMENTO REPETIDO COM CBG OU MGSO4 NA GLICEMIA E NO GANHO DE PESO EM RATOS DIABÉTICOS INDUZIDOS POR STZ

Tabela	Descrição	Análise estatística	t Valor	F Valor	ANOVA F Interação	ANOVA F Sujeitos
Tabela 1	Glicemia 3 dias após STZ	Teste-t de <i>Student</i> não pareado bicaudal; ANOVA de uma via – <i>Bonferroni</i> post hoc	$t=14,46$ , df=18; $p<0,0001$	$F (6, 51) = 3,026$ ; $p=0,0131$	N.A	N.A
Tabela 1	Glicemia antes da eutanásia	Teste-t de <i>Student</i> não pareado bicaudal; ANOVA de uma via – <i>Bonferroni</i> post hoc	$t=18,72$ , df=18; $p<0,0001$	$F (6, 50) = 0,9324$ ; $p=0,402$	N.A	N.A
Tabela 1	Diferença da glicemia	Teste-t de <i>Student</i> não pareado bicaudal; ANOVA de uma via – <i>Bonferroni</i> post hoc	$t=1,589$ , df=18; $p>0,1296$	$F (6, 51) = 3,314$ ; $p=0,0079$	N.A	N.A
Tabela 1	Diferença no ganho de peso	Teste-t de <i>Student</i> não pareado bicaudal; ANOVA de uma via – <i>Bonferroni</i> post hoc	$t=6,827$ , df=18; $p<0,0001$	$F (4, 45) = 2,172$ ; $p=0,0874$	N.A	N.A

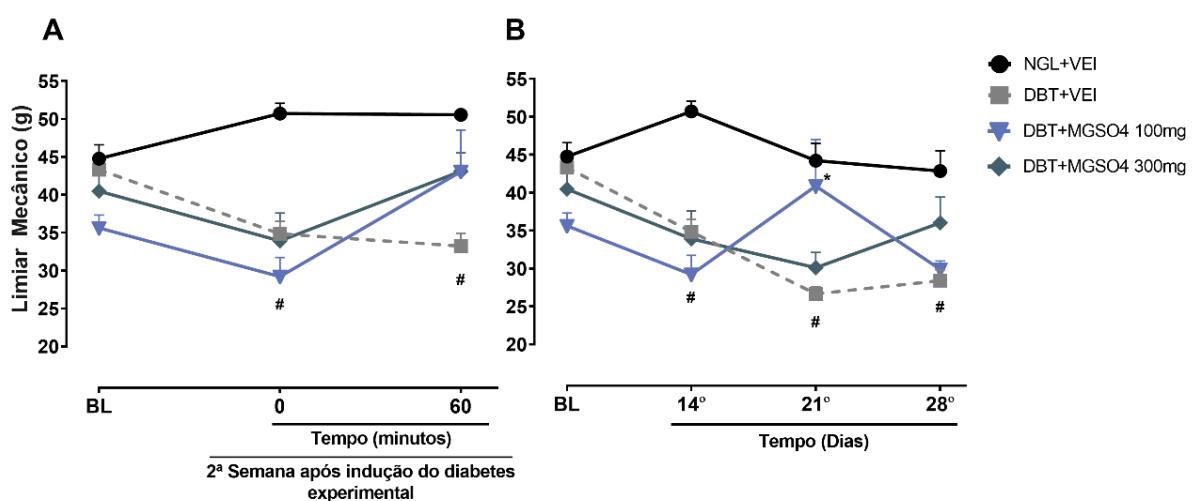
NOTA: Avaliação dos efeitos do tratamento repetido com CBG (Canabigerol) ou MgSO4 (sulfato de magnésio) na glicemia e ganho de peso em ratos diabéticos induzidos por STZ (estreptozotocina). A tabela apresenta os valores de glicemia 3 dias após a indução com STZ, glicemia antes da eutanásia, a diferença na glicemia ao longo do tratamento, e a diferença no ganho de peso. Os valores são apresentados como média  $\pm$  erro padrão da média (EPM). Os valores com # indicam diferenças estatisticamente significativas ( $p<0,05$ ) em relação ao grupo controle. A análise estatística foi realizada utilizando o teste t de *Student* bicaudal não pareado e ANOVA de uma via seguido pelo teste *post hoc* de *Bonferroni*.

FONTE: O autor (2024).

#### 4.3 O TRATAMENTO AGUDO E CRÔNICO DE MgSO4 NÃO ATENUA HIPERSENSIBILIDADE MECÂNICA EM RATOS DIABÉTICOS

Conforme mostrado na Figura 4, os ratos diabéticos apresentaram uma redução significativa no limiar mecânico a partir da segunda semana após a indução do diabetes, em comparação com o grupo normoglicêmico. Quando administrado de forma aguda, o magnésio (100 e 300 mg/kg) resultou em um aumento no limiar mecânico 60 minutos após o tratamento, em comparação com os ratos diabéticos que receberam o controle. No entanto, esse aumento não foi suficiente para reverter ou atenuar a hipersensibilidade, resultando em um valor não significativo. Na terceira semana de tratamento, o grupo de diabéticos tratados com magnésio (100 mg/kg) apresentou um aumento no limiar mecânico em comparação com os diabéticos controle. No entanto, o magnésio (300 mg/kg) não mostrou um aumento significativo no limiar mecânico. Na quarta semana, o magnésio (300 mg/kg) teve um leve aumento no limiar mecânico, enquanto o magnésio (100 mg/kg) apresentou uma queda, embora nenhuma dessas mudanças tenha relevância estatística.

FIGURA 4 - EFEITO DO TRATAMENTO AGUDO E CRÔNICO DE MgSO4 NA HIPERSENSIBILIDADE MECÂNICA EM RATOS DIABÉTICOS



NOTA: (A) Efeito do tratamento agudo de MgSO4 (100 mg/kg e 300 mg/kg) sobre o limiar mecânico (g) em ratos diabéticos 2 semanas após a indução do diabetes experimental, medido em diferentes intervalos de tempo (0 e 60 minutos). (B) Efeito do tratamento crônico de MgSO4 (100 mg/kg e 300 mg/kg) sobre o limiar mecânico (g) em ratos diabéticos ao longo de 28 dias, medido nos dias 14, 21 e 28. Os valores são apresentados como média  $\pm$  erro padrão da média (EPM) (n=3-6 animais por grupo). Os símbolos # indicam diferenças estatisticamente significativas ( $p<0,05$ ) em relação ao grupo controle (NGL+VEH). ANOVA de duas vias com medidas repetidas seguida do teste post-hoc de Bonferroni foi utilizada para comparar os grupos NGL+VEI e DBT+VEI. Para comparar os grupos diabéticos, foi utilizado um teste de ANOVA de uma via, seguido da análise post-hoc de Bonferroni.

FONTE: O autor (2024).

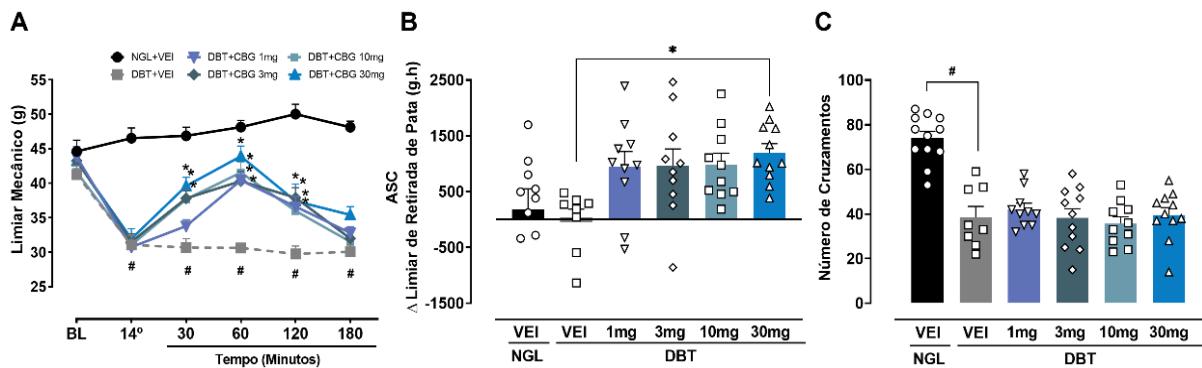
#### 4.4 O TRATAMENTO AGUDO DE CBG DEMONSTRA EFEITO ANTINOCICEPTIVO AO REDUZIR A HIPERSENSIBILIDADE MECÂNICA EM RATOS DIABÉTICOS, SEM PREJUDICAR O COMPORTAMENTO EXPLORATÓRIO

Conforme observado na Figura 5A, duas semanas após a indução do diabetes, os animais diabéticos apresentaram uma redução significativa do limiar mecânico quando comparados ao grupo NGL+VEI. Em comparação ao grupo DBT+VEI, a administração de CBG aumentou significativamente o limiar mecânico em todas as doses testadas, com um pico de efeito uma hora após a injeção, que se manteve até a segunda hora, desaparecendo na terceira hora após a administração (Figura 5A; Tabela 5).

A análise da área sob a curva da diferença do limiar de retirada de pata (gramas por hora) não mostrou diferença estatística entre os grupos NGL+VEI e DBT+VEI, visto que ambos não receberam intervenção farmacológica. No entanto, o grupo tratado com CBG 30mg demonstrou uma diferença significativa na ASC, quando comparados ao grupo DBT+VEI ( $p<0,05$ ) (Figura 5B; Tabela 5).

Ao observar o comportamento locomotor dos animais, verificou-se uma diminuição no número de cruzamentos no grupo DBT+VEI em comparação ao grupo NGL+VEI ( $p<0,05$ ). O tratamento com CBG, em nenhuma das doses testadas, alterou o número de cruzamentos no campo aberto em comparação ao grupo DBT+VEI (Figura 5C; Tabela 5).

FIGURA 5 - AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DO CBG NA SENSIBILIDADE MECÂNICA, COMPORTAMENTO DE RETIRADA DE PATA E LOCOMOÇÃO EM RATOS COM DIABETES INDUZIDO



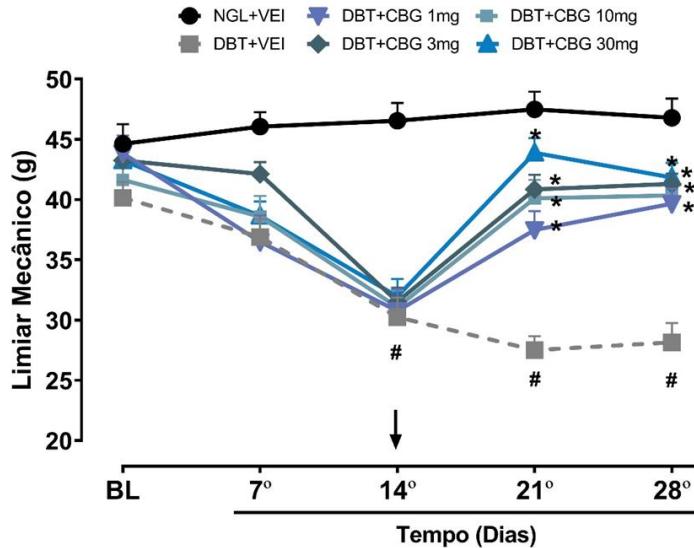
(A) Efeito do tratamento com CBG (1 mg/kg, 3 mg/kg, 10 mg/kg e 30 mg/kg) sobre o limiar mecânico (g) em ratos diabéticos ao longo de 180 minutos, medido nos dias 14, 30, 60, 120 e 180 minutos após a administração do tratamento. (B) Área sob a curva (ASC) do limiar de retirada de pata ao longo do tempo. (C) Número de cruzamentos em um teste de campo aberto, utilizado para avaliar a atividade locomotora e a ansiedade em ratos. Os valores são apresentados como média  $\pm$  erro padrão da média (EPM). Os símbolos # indicam diferenças estatisticamente significativas ( $p<0,05$ ) em relação ao grupo controle (NGL+VEH). Os símbolos \* indicam diferenças estatisticamente significativas ( $p<0,05$ ) entre os diferentes grupos tratados com CBG. ANOVA de duas vias com medidas repetidas seguida do teste post-hoc de Bonferroni foi utilizada para comparar os grupos NGL+VEI e DBT+VEI. Para comparar os grupos diabéticos, foi utilizado um teste de ANOVA de uma via, seguido da análise post-hoc de Bonferroni. No gráfico do teste de campo aberto: teste t de Student para comparar NGL+VEI e DBT+VEI, seguido de um teste de ANOVA de uma via para comparação entre os grupos diabéticos, seguido da análise de post-hoc de Bonferroni.

FONTE: O autor (2024).

#### 4.5 ADMINISTRAÇÃO CRÔNICA DE CBG REVERTE HIPERSENSIBILIDADE MECÂNICA EM RATOS DIABÉTICOS

Conforme observado na Figura 6, a indução do diabetes experimental promove o desenvolvimento de hipersensibilidade mecânica duas semanas após a injeção de STZ, quando comparado ao grupo NGL+VEI, atingindo seu pico na quarta semana após a indução do diabetes experimental. A administração diária de CBG em todas as doses testadas foi capaz de reverter a hipersensibilidade mecânica, quando comparada aos grupos DBT+VEI e NGL+VEI (Figura 6A; Tabela 5).

FIGURA 6 - EFEITO DO TRATAMENTO COM CBG NO LIMIAR MECÂNICO EM RATOS COM DIABETES INDUZIDO POR STZ



Efeito do tratamento com CBG (1 mg/kg, 3 mg/kg, 10 mg/kg e 30 mg/kg) sobre o limiar mecânico (g) em ratos diabéticos ao longo de 28 dias, medido nos dias 7, 14, 21 e 28 após a administração do tratamento. BL representa a linha de base antes do início do tratamento. Os valores são apresentados como média  $\pm$  erro padrão da média (EPM). Os símbolos # indicam diferenças estatisticamente significativas ( $p<0,05$ ) em relação ao grupo controle (NGL+VEI) e os símbolos \* indicam diferenças estatisticamente significativas ( $p<0,05$ ) entre os diferentes grupos tratados com CBG e o grupo DBT+VEI. A análise estatística foi realizada utilizando ANOVA de duas vias seguida pelo teste *post hoc* de Bonferroni.

FONTE: O autor (2024).

TABELA 5 - ANÁLISE ESTATÍSTICA DO TRATAMENTO COM MGSO4 E CBG SOBRE A HIPERSENSIBILIDADE MECÂNICA E COMPORTAMENTOS EM RATOS DIABÉTICOS

Figura	Descrição	Análise Estatística	F ou t Valor	ANOVA F Fator 2	ANOVA F Interação	ANOVA F Sujetos
3A	Tratamento agudo do MgSO4 sobre a hipersensibilidade mecânica	ANOVA de Duas Vias – <i>Bonferroni</i> post hoc	F (3, 14) = 47,22; p<0,0001	F (2, 28) = 3,081; p=0,0617	F (6, 28) = 2,715; p=0,0332	F (14, 28) = 0,2313; p=0,9971
3B	Tratamento crônico do MgSO4 sobre a hipersensibilidade mecânica	ANOVA de Duas Vias – <i>Bonferroni</i> post hoc	F (3, 14) = 25,53; p<0,0001	F (3, 42) = 4,028; p=0,0132	F (9, 42) = 2,993; p=0,0076	F (14, 42) = 0,6831; p=0,7773
4A	Tratamento agudo do CBG sobre a hipersensibilidade mecânica	ANOVA de Duas Vias – <i>Bonferroni</i> post hoc	F (5, 56) = 42,68; p<0,0001	F (5, 280) = 43,44; p<0,0001	F (25, 280) = 4,911; p<0,0001	F (56, 280) = 2,391; p<0,0001
4B	ASC do $\Delta$ Limiar de retirada de pata	ANOVA de Uma Via – <i>Bonferroni</i> post hoc	F (5, 53) = 3,373; p<0,0102	N.A	N.A	N.A
4C	Número de cruzamentos na arena do campo aberto	Teste-t de <i>Student</i> bicaudal não pareado; ANOVA de Uma Via – <i>Bonferroni</i> post hoc	t=6,533, df=18; p<0,0001; F (4, 43) = 0,6901; p=0,6029	N.A	N.A	N.A

(continua)

TABELA 5 - ANÁLISE ESTATÍSTICA DO TRATAMENTO COM MGSO4 E CBG SOBRE A HIPERSENSIBILIDADE MECÂNICA E COMPORTAMENTOS EM RATOS DIABÉTICOS

(conclusão)

5A	Tratamento crônico do CBG reverte a hipersensibilidade mecânica	ANOVA de Duas Vias – <i>Bonferroni</i> post hoc	F (5, 54) = 51,08; p<0.0001	F (3, 162) = 42,22; p<0.0001	F (15, 162) = 5,887; p<0.0001	F (54, 162) = 0,8707; p=0.7180
----	-----------------------------------------------------------------	-------------------------------------------------	--------------------------------	---------------------------------	----------------------------------	--------------------------------

NOTA: Análise estatística dos efeitos do tratamento agudo e crônico com MgSO4 e CBG sobre a hipersensibilidade mecânica e comportamentos em ratos diabéticos. A análise foi realizada utilizando ANOVA de duas vias e de uma via, seguido do teste *post hoc* de *Bonferroni*, exceto onde indicado o teste *t* de Student. Os valores F e t são apresentados juntamente com os graus de liberdade (DF) e valores de p. As análises incluem fatores como hipersensibilidade mecânica, Área Sob a Curva (ASC) do limiar de retirada de pata e número de cruzamentos na arena de campo aberto. "N.A." indica que a análise não é aplicável para aquele teste.

FONTE: O autor (2024).

## 5. DISCUSSÃO

O principal achado deste estudo mostra que o MgSO<sub>4</sub> é ineficaz em atenuar comportamentos nociceptivos induzidos por NMDA e em reduzir a hipersensibilidade mecânica em ratos diabéticos. No entanto, nossos resultados demonstram que o CBG consegue reverter a hipersensibilidade mecânica sem comprometer o comportamento locomotor desses ratos. Embora ambas as substâncias não tenham melhorado parâmetros biofísicos, como peso e glicemia, em ratos diabéticos, os resultados sugerem potenciais terapêuticos distintos para o CBG no manejo da dor neuropática diabética.

Nossos achados estão de acordo com a literatura quanto ao modelo de indução do diabetes experimental, em que os ratos diabéticos geralmente têm um aumento nos níveis de glicemia, uma diminuição do ganho de peso, hipersensibilidade mecânica e diminuição no comportamento exploratório (Jesus *et al.*, 2019; Gasparin *et al.*, 2021; Leão *et al.*, 2022).

Além disso, o MgSO<sub>4</sub> não foi capaz de reverter os quadros de hipersensibilidade mecânica induzidos pelo NMDA intratecal. Embora não tenha sido estatisticamente significativo, observamos até um aumento na hipersensibilidade em alguns casos, o que ainda não está claro como pode ser explicado. Acredita-se que o Mg<sup>2+</sup> pode agir como um bloqueador dependente de voltagem nos receptores NMDA, conforme descrito por Mayer *et al.*, (1984), mas essa ação pode ser influenciada por muitos fatores, incluindo a concentração de NMDA utilizada, a variabilidade na resposta individual dos animais e a via de administração.

Quanto às alternativas para o tratamento da dor neuropática diabética, o MgSO<sub>4</sub> tem demonstrado potencial, no entanto, os estudos carecem de uma evidência forte. Alguns demonstram o potencial analgésico, enquanto outros não evidenciam esse efeito. Por exemplo, Begon *et al.*, (2002) investigaram a coadministração de magnésio (30 mg/kg, intraperitoneal) e morfina (1 mg/kg, intravenosa) em modelos experimentais de dor crônica e tônica. Eles descobriram que o magnésio sozinho induziu um efeito antihiperalgésico significativo em ratos mononeuropáticos e diabéticos após uma dose cumulativa de 90 mg/kg. Além disso, o magnésio aumentou significativamente a analgesia da morfina em modelos de dor neuropática, sugerindo que o magnésio pode amplificar os efeitos analgésicos dos opioides.

Em nosso estudo, as doses de MgSO<sub>4</sub> (100 mg/kg e 300 mg/kg) podem não ter sido suficientes para alcançar um efeito terapêutico significativo. Além disso, a via intraperitoneal utilizada pode apresentar limitações na biodisponibilidade do magnésio em comparação com outras vias, como a intratecal, que foi utilizada em alguns estudos citados (Ko *et al.*, 2001).

A falta de eficácia do MgSO<sub>4</sub> na redução da dor neuropática pode ser atribuída a vários fatores. Primeiramente, a via de administração e a dosagem podem não ter sido ideais para atingir os níveis terapêuticos necessários. Segundo a administração sistêmica de MgSO<sub>4</sub> pode não garantir uma concentração adequada no tecido alvo devido à barreira hematoencefálica. No entanto, estudos indicam que o magnésio pode atravessar a BHE em certas condições, como em estados de sepse. Em modelos de sepse em ratos, o magnésio ajudou a reduzir a permeabilidade da BHE e a formação de edema cerebral, mantendo a integridade da barreira ao interagir com as células endoteliais e inibir sua ativação (Esen *et al.*, 2004). Além disso, o bloqueio dependente de voltagem do Mg<sup>2+</sup> nos receptores NMDA, como descrito por Mayer *et al.* (1984), pode ser menos efetivo em condições de dor neuropática crônica, onde há uma alteração na excitabilidade neuronal e na expressão dos receptores.

Embora o magnésio tenha mostrado potencial em ampliar os efeitos analgésicos de opioides em modelos experimentais com ratos (Begon *et al.*, 2002), nossos resultados indicam que o MgSO<sub>4</sub>, na dosagem e via de administração utilizadas, não proporcionou alívio significativo da dor neuropática em ratos diabéticos. Esses achados sugerem que, embora o magnésio tenha um papel potencial como coadjuvante em terapias combinadas, ele pode não ser eficaz como monoterapia para o tratamento da dor neuropática.

Em contraste com os resultados para o MgSO<sub>4</sub>, o CBG mostrou-se promissor no tratamento da dor neuropática. O CBG, embora tenha uma afinidade relativamente baixa para os receptores CB1 e CB2 em comparação com outros cannabinoides, pode modulá-los indiretamente (Wen *et al.*, 2023). Estudos indicam que o CBG pode atuar como agonista parcial do CB2, o que é relevante para seus efeitos anti-inflamatórios e analgésicos (Navarro *et al.*, 2018). Além disso, Li e Ward (2024), destacaram que o CBG atua como um potente agonista nos receptores α2-adrenérgicos, conhecidos por reduzir a dor através da hiperpolarização neuronal e diminuição da liberação de norepinefrina.

Esse presente trabalho também está de acordo o estudo de Kogan et al. (2021), que demonstraram que o CBG pode ser significativos na modulação da dor. O CBG, tanto em sua forma pura quanto em *oléo broad spectrum*, combinado com CBD, proporciona efeitos antinociceptivos significativos em um modelo murino de neuropatia induzida por quimioterapia (Sepulveda et al., 2022). Esse estudo é particularmente relevante para a nossa pesquisa, pois sugere que o CBG pode ser eficaz em reduzir a dor neuropática.

Em conclusão, nossos resultados destacam a eficácia do CBG na modulação da dor neuropática diabética, em contraste com a ineficácia do MgSO<sub>4</sub> nas condições testadas. O CBG mostrou um potencial significativo ao reverter a hipersensibilidade mecânica sem comprometer o comportamento locomotor dos ratos, alinhando-se com a literatura atual que aponta seus efeitos antinociceptivos. Embora o MgSO<sub>4</sub> não tenha apresentado resultados positivos na dosagem e via de administração utilizadas, seus efeitos e outras vias de administração merecem investigação futura. Esses achados reforçam a necessidade de continuar explorando a atividade do CBG, que oferece novas perspectivas para o manejo da dor neuropática diabética, e de refinar as abordagens terapêuticas envolvendo o magnésio.

## 6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente estudo abordou o uso do canabigerol (CBG) como um potencial efeito antinociceptivo para o manejo da dor neuropática diabética. Os principais achados incluem a demonstração de que o CBG reduz significativamente a hipersensibilidade mecânica em ratos diabéticos, sugerindo seu potencial como uma alternativa terapêutica eficaz para a neuropatia diabética.

Os dados referentes ao sulfato de magnésio (MgSO<sub>4</sub>) e ao NMDA intratecal apresentaram algumas observações intrigantes. Em alguns casos, o magnésio pareceu potencializar o efeito do NMDA, resultando em uma hipersensibilidade aumentada, fenômeno que ainda não está totalmente claro. Acredita-se que o Mg<sup>2+</sup> pode agir como um bloqueador dependente de voltagem nos receptores NMDA, mas sua eficácia pode ser influenciada por fatores como a concentração de NMDA, variabilidade na resposta individual dos animais e a via de administração. Vale ressaltar que a realização de futuros estudos com um tamanho amostral maior podem ser necessária para confirmar a significância estatística dessas observações.

A combinação de CBG e MgSO<sub>4</sub> não foi explorada neste estudo, mas futuros estudos poderiam investigar o possível efeito sinérgico entre essas substâncias. No entanto, esse trabalho trouxe à luz a potencialidade do CBG no contexto da dor neuropática diabética. Os resultados apresentados reforçam a importância do CBG como uma potencial abordagem terapêutica para o manejo da dor neuropática.

## 7. REFERÊNCIAS

ALTEBA, S.; KOREM, N.; AKIRAV, I. Cannabinoids reverse the effects of early stress on neurocognitive performance in adulthood. *Learning & Memory (Cold Spring Harbor, N.Y.)*, v. 23, n. 7, p. 349-358, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1101/LM.041608.116>. Acesso em: 29 jun. 2024.

ALAM, U.; SLOAN, G.; TESFAYE, S. Treating Pain in Diabetic Neuropathy: Current and Developmental Drugs. *Drugs*, v. 80, n. 4, p. 363-384, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/S40265-020-01259-2/METRICS>. Acesso em: 29 jun. 2024

BAGHER, A. The Endocannabinoid System as a Therapeutic Target in Diabetic Peripheral Neuropathic Pain: A Review. *Journal of Microscopy and Ultrastructure*, v. 10, n. 2, p. 47, 2022. Disponível em: [https://doi.org/10.4103/JMAU.JMAU\\_97\\_20](https://doi.org/10.4103/JMAU.JMAU_97_20). Acesso em: 02 jun. 2024.

BASBAUM, A. I.; BAUTISTA, D. M.; SCHERRER, G.; JULIUS, D. Cellular and Molecular Mechanisms of Pain. *Cell*, v. 139, n. 2, p. 267–284, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.CELL.2009.09.028>. Acesso em: 17 abr. 2024.

BEGON, S.; PICKERING, G.; ESCHALIER, A.; DUBRAY, C. Magnesium increases morphine analgesic effect in different experimental models of pain. *Anesthesiology*, v. 96, p. 627-632, 2002. Disponível em: <https://doi.org/10.1097/00000542-200203000-00019>. Acesso em: 23 jun. 2024.

BENNETT, G. J. Update on the neurophysiology of pain transmission and modulation: Focus on the NMDA-receptor. *Journal of Pain and Symptom Management*, v. 19, n. 1 SUPPL. 1, p. 2–6, 2000. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0885-3924\(99\)00120-7](https://doi.org/10.1016/S0885-3924(99)00120-7). Acesso em: 14 maio 2024.

BERGER, G.; ARORA, N.; BURKOVSKIY, I.; XIA, Y.; CHINNADURAI, A.; WESTHOFEN, R.; HAGN, G.; COX, A.; KELLY, M.; ZHOU, J.; LEHMANN, C. Experimental Cannabinoid 2 Receptor Activation by Phyto-Derived and Synthetic

Cannabinoid Ligands in LPS-Induced Interstitial Cystitis in Mice. *Molecules (Basel, Switzerland)*, v. 24, n. 23, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/MOLECULES24234239>. Acesso em: 30 jun. 2024.

BOULTON, A. J. M.; JENSEN, T. S.; LUECKE, T.; PETERSEN, E. A.; POP-BUSUI, R.; TAYLOR, R. S.; TESFAYE, S.; VILEIKYTE, L.; ZIEGLER, D. Where does spinal cord stimulation fit into the international guidelines for refractory painful diabetic neuropathy? a consensus statement. *Diabetes Research and Clinical Practice*, v. 206, p. 110763, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2023.110763>. Acesso em: 30 abr. 2024.

CALAPAI, F.; CARDIA, L.; ESPOSITO, E.; AMMENDOLIA, I.; MONDELLO, C.; LO GIUDICE, R.; GANGEMI, S.; CALAPAI, G.; MANNUCCI, C. Pharmacological aspects and biological effects of cannabigerol and its synthetic derivatives. *Evid Based Complement Alternat Med.*, v. 2022, p. 3336516, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1155/2022/3336516>. Acesso em: 01 jun. 2024.

CARLES, A.; FREYSSIN, A.; PERIN-DUREAU, F.; RUBINSTENN, G.; MAURICE, T. Targeting N-Methyl-d-Aspartate Receptors in Neurodegenerative Diseases. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 25, n. 7, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/IJMS25073733>. Acesso em: 15 maio 2024.

CHEN, J.; LI, L.; CHEN, S. R.; CHEN, H.; XIE, J. D.; SIRRIEH, R. E.; MACLEAN, D. M.; ZHANG, Y.; ZHOU, M. H.; JAYARAMAN, V.; PAN, H. L. The  $\alpha$ 2 $\delta$ -1-NMDA Receptor Complex Is Critically Involved in Neuropathic Pain Development and Gabapentin Therapeutic Actions. *Cell Reports*, v. 22, n. 9, p. 2307, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.CELREP.2018.02.021>. Acesso em: 12 maio 2024.

CHEN, Y.; SONG, X.-J. Diabetic Neuropathic Pain: Directions for Exploring Treatments. *Biomedicines*, v. 12, n. 3, p. 589, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/BIOMEDICINES12030589>. Acesso em: 18 abr. 2024.

COMMITTEE, A. D. A. P. P.; ELSAYED, N. A.; ALEPPO, G.; BANNURU, R. R.; BRUEMMER, D.; COLLINS, B. S.; EKHLASPOUR, L.; GIBBONS, C. H.; GIURINI, J.

M.; HILLIARD, M. E.; JOHNSON, E. L.; KHUNTI, K.; LINGVAY, I.; MATFIN, G.; MCCOY, R. G.; PERRY, M. L.; PILLA, S. J.; POLSKY, S.; PRAHALAD, P.; GABBAY, R. A. Retinopathy, Neuropathy, and Foot Care: Standards of Care in Diabetes. *Diabetes Care*, v. 47, Supplement\_1, p. S231–S243, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.2337/DC24-S012>. Acesso em: 18 abr. 2024.

CROCQ, M. A. History of cannabis and the endocannabinoid system. *Dialogues in Clinical Neuroscience*, v. 22, n. 3, p. 223, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.31887/DCNS.2020.22.3/MCROCQ>. Acesso em: 02 jun. 2024.

D'ANGELO, M.; STEARDO, L. Cannabinoids and Sleep: Exploring Biological Mechanisms and Therapeutic Potentials. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 25, n. 7, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/IJMS25073603>. Acesso em: 23 jun. 2024.

DIRETRIZES da Sociedade Brasileira de Diabetes 2019 – 2020. Disponível em: <https://portaldeboaspraticas.iff.fiocruz.br/biblioteca/diretrizes-da-sociedade-brasileira-de-diabetes-2019-2020/>. Acesso em: 21 maio 2024.

ESEN, F.; ERDEM, T.; AKTAN, D. et al. Effect of magnesium sulfate administration on blood–brain barrier in a rat model of intraperitoneal sepsis: a randomized controlled experimental study. *Critical Care*, v. 9, p. R18, 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/cc3004>. Acesso em: 01 jul. 2024.

EISSA, R. G.; EISSA, N. G.; EISSA, R. A.; DIAB, N. H.; ABDELSHAFI, N. A.; SHAHEEN, M. A.; ELSABAHY, M.; HAMMAD, S. K. Oral proniosomal amitriptyline and liraglutide for management of diabetic neuropathy: Exceptional control over hyperglycemia and neuropathic pain. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 647, p. 123549, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.IJPHARM.2023.123549>. Acesso em: 29 abr. 2024.

FELDMAN, E. L.; CALLAGHAN, B. C.; POP-BUSUI, R.; ZOCHODNE, D. W.; WRIGHT, D. E.; BENNETT, D. L.; BRIL, V.; RUSSELL, J. W.; VISWANATHAN, V. Diabetic

neuropathy. ***Nature Reviews Disease Primers***, v. 5, n. 1, p. 1–18, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41572-019-0092-1>. Acesso em: 16 abr. 2024.

GASPARIN, A. T.; ROSA, E. S.; JESUS, C. H. A.; GUIOSKI, I. C.; DA SILVA DE ASSIS, H. C.; BELTRAME, O. C.; DITTRICH, R. L.; PACHECO, S. D. G.; ZANOVELI, J. M.; DA CUNHA, J. M. Bixin attenuates mechanical allodynia, anxious and depressive-like behaviors associated with experimental diabetes counteracting oxidative stress and glycated hemoglobin. ***Brain Research***, v. 1767, p. 147557, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2021.147557>. Acesso em: 23 jun. 2024.

GHEZEL-AHMADI, V.; GHEZEL-AHMADI, D.; SCHIRREN, J.; TSAPOPIORGAS, C.; BECK, G.; BÖLÜKBAS, S. Perioperative systemic magnesium sulphate to minimize acute and chronic post-thoracotomy pain: a prospective observational study. ***Journal of Thoracic Disease***, v. 11, n. 2, p. 418, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.21037/JTD.2019.01.50>. Acesso em: 13 maio 2024.

HARDY, T.; SACHSON, R.; SHEN, S.; ARMBRUSTER, M.; BOULTON, A. J. M. Does treatment with duloxetine for neuropathic pain impact glycemic control? ***Diabetes Care***, v. 30, n. 1, p. 21–26, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.2337/DC06-0947>. Acesso em: 24 jun. 2024.

HUA, X.; CHEN, Y.; WU, Z.; ZHENG, G.; YANG, D.; LI, J.; WU, Q.; FAN, W. Effects of intra-operative magnesium sulfate infusion on orthognathic surgery: A prospective and randomized controlled trial. ***Heliyon***, v. 10, n. 9, p. 30342, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e30342>. Acesso em: 14 maio 2024.

HUANG, T. H.; LAI, M. C.; CHEN, Y. S.; HUANG, C. W. The roles of glutamate receptors and their antagonists in status epilepticus, refractory status epilepticus, and super-refractory status epilepticus. ***Biomedicines***, v. 11, n. 3, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/BIOMEDICINES11030686>. Acesso em: 13 maio 2024.

IDF Diabetes Atlas 2021 | IDF Diabetes Atlas. Disponível em: <https://diabetesatlas.org/atlas/tenth-edition/>. Acesso em: 21 maio 2024.

JESUS, C. H. A.; REDIVO, D. D. B.; GASPARIN, A. T.; SOTOMAIOR, B. B.; DE CARVALHO, M. C.; GENARO, K.; ZUARDI, A. W.; HALLAK, J. E. C.; CRIPPA, J. A.; ZANOVELI, J. M.; DA CUNHA, J. M. Cannabidiol attenuates mechanical allodynia in streptozotocin-induced diabetic rats via serotonergic system activation through 5-HT1A receptors. *Brain Research*, v. 1715, p. 156-164, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2019.03.014>. Acesso em: 02 jun. 2024.

KNIGHT, P.; CHELLIAN, R.; WILSON, R.; BEHNOOD-ROD, A.; PANUNZIO, S.; BRUIJNZEEL, A. W. Sex differences in the elevated plus-maze test and large open field test in adult Wistar rats. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, v. 204, p. 173168, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.PBB.2021.173168>. Acesso em: 23 jun. 2024.

KO, SEONG-HOON; LIM, HYE-RIN; KIM, DONG-CHAN; HAN, YOUNG-JIN; CHOE, HUHN; SONG, HE-SUN. Magnesium sulfate does not reduce postoperative analgesic requirements. *Anesthesiology*, v. 95, p. 640-646, 2001. Disponível em: <https://doi.org/10.1097/00000542-200109000-00016>. Acesso em: 23 jun. 2024.

KOGAN, N. M.; LAVI, Y.; TOPPING, L. M.; WILLIAMS, R. O.; McCANN, F. E.; YEKHTIN, Z.; FELDMANN, M.; GALLILY, R.; MECHOULAM, R. Novel CBG derivatives can reduce inflammation, pain and obesity. *Molecules*, v. 26, n. 18, p. 5601, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/molecules26185601>. Acesso em: 23 jun. 2024.

KULIK, K.; ŹYŻYŃSKA-GRANICA, B.; KOWALCZYK, A.; KUROWSKI, P.; GAJEWSKA, M.; BUJALSKA-ZADROŻNY, M. Magnesium and Morphine in the Treatment of Chronic Neuropathic Pain—A Biomedical Mechanism of Action. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 22, n. 24, p. 13599, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/IJMS222413599>. Acesso em: 13 maio 2024.

LEÃO, F. F.; WALTRICK, A. P. F.; VERRI, W. A. Jr; DA CUNHA, J. M.; ZANOVELI, J. M. Resolvin D5 disrupts anxious- and depressive-like behaviors in a type 1 diabetes mellitus animal model. *Naunyn Schmiedebergs Archives of Pharmacology*, v. 395, n. 10, p. 1269-1282, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00210-022-02274-8>. Acesso em: 02 jun. 2024.

LI, H.; WARD, S. J. Paclitaxel-associated mechanical sensitivity and neuroinflammation are sex-, time-, and site-specific and prevented through cannabigerol administration in C57Bl/6 mice. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 25, n. 8, p. 4277, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ijms25084277>. Acesso em: 23 jun. 2024.

LOESER, J. D.; TREDE, R. D. The Kyoto protocol of IASP Basic Pain Terminology. *Pain*, v. 137, n. 3, p. 473–477, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.PAIN.2008.04.025>. Acesso em: 14 jun. 2024.

MAKAROV, M.; PAPA, M.; KORKOTIAN, E. Computational Modeling of Extrasynaptic NMDA Receptors: Insights into Dendritic Signal Amplification Mechanisms. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 25, n. 8, p. 4235, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/IJMS25084235>. Acesso em: 12 maio 2024.

MARTINEZ NAYA, N.; KELLY, J.; CORNA, G.; GOLINO, M.; POLIZIO, A. H.; ABBATE, A.; TOLDO, S.; MEZZAROMA, E. An Overview of Cannabidiol as a Multifunctional Drug: Pharmacokinetics and Cellular Effects. *Molecules*, v. 29, n. 2, p. 473, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/MOLECULES29020473>. Acesso em: 17 maio 2024.

MATHIESON, S.; LIN, C. W. C.; UNDERWOOD, M.; ELDABE, S. Pregabalin and gabapentin for pain. *BMJ*, v. 369, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1136/BMJ.M1315>. Acesso em: 24 jun. 2024.

MAYER, M.; WESTBROOK, G.; GUTHRIE, P. Voltage-dependent block by  $Mg^{2+}$  of NMDA responses in spinal cord neurones. *Nature*, v. 309, p. 261-263, 1984. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/309261a0>. Acesso em: 23 jun. 2024.

MIRANDA-CORTÉS, A.; MOTA-ROJAS, D.; CROSIGNANI-OUTEDA, N.; CASAS-ALVARADO, A.; MARTÍNEZ-BURNES, J.; OLMOS-HERNÁNDEZ, A.; MORA-MEDINA, P.; VERDUZCO-MENDOZA, A.; HERNÁNDEZ-ÁVALOS, I. The role of cannabinoids in pain modulation in companion animals. *Frontiers in Veterinary*

**Science**, v. 9, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/FVETS.2022.1050884>. Acesso em: 29 jun. 2024.

MOHAMMADKHANI, A.; BORGLAND, S. L. Cellular and behavioral basis of cannabinoid and opioid interactions: Implications for opioid dependence and withdrawal. **Journal of Neuroscience Research**, v. 100, n. 1, p. 278–296, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/JNR.24770>. Acesso em: 23 jun. 2024.

MOREL, V.; PICKERING, M. E.; GOUBAYON, J.; DJOBO, M.; MACIAN, N.; PICKERING, G. Magnesium for Pain Treatment in 2021? State of the Art. **Nutrients**, v. 13, n. 5, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/NU13051397>. Acesso em: 13 maio 2024.

NA, H. S.; RYU, J. H.; DO, S. H. The role of magnesium in pain. **Magnesium in the Central Nervous System**, p. 157–166, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1017/UPO9780987073051.012>. Acesso em: 13 maio 2024.

NAVARRO, G.; VARANI, K.; REYES-RESINA, I.; SÁNCHEZ DE MEDINA, V.; RIVAS-SANTISTEBAN, R.; SÁNCHEZ-CARNERERO CALLADO, C.; VINCENZI, F.; CASANO, S.; FERREIRO-VERA, C.; CANELA, E. I.; BOREA, P. A.; NADAL, X.; FRANCO, R. Cannabigerol action at cannabinoid CB1 and CB2 receptors and at CB1-CB2 heteroreceptor complexes. **Frontiers in Pharmacology**, v. 9, p. 632, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fphar.2018.00632>. Acesso em: 01 jun. 2024.

POP-BUSUI, R.; ANG, L.; BOULTON, A. J. M.; FELDMAN, E. L.; MARCUS, R. L.; MIZOKAMI-STOUT, K.; SINGLETON, J. R.; ZIEGLER, D. Diagnosis and Treatment of Painful Diabetic Peripheral Neuropathy. **ADA Clinical Compendia**, v. 2022, n. 1, p. 1–32, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.2337/DB2022-01>. Acesso em: 18 abr. 2024.

POP-BUSUI, R.; BOULTON, A. J. M.; FELDMAN, E. L.; BRIL, V.; FREEMAN, R.; MALIK, R. A.; SOSENKO, J. M.; ZIEGLER, D. Diabetic Neuropathy: A Position Statement by the American Diabetes Association. **Diabetes Care**, v. 40, n. 1, p. 136, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.2337/DC16-2042>. Acesso em: 29 abr. 2024.

PRICE, R.; SMITH, D.; FRANKLIN, G.; GRONSETH, G.; PIGNONE, M.; DAVID, W. S.; ARMON, C.; PERKINS, B. A.; BRIL, V.; RAE-GRANT, A.; HALPERIN, J.; LICKING, N.; O'BRIEN, M. D.; WESSELS, S. R.; MACGREGOR, L. C.; FINK, K.; HARKLESS, L. B.; COLBERT, L.; CALLAGHAN, B. C. Oral and Topical Treatment of Painful Diabetic Polyneuropathy: Practice Guideline Update Summary: Report of the AAN Guideline Subcommittee. *Neurology*, v. 98, n. 1, p. 31–43, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000013038/ASSET/02220279-CD6E-4697-90EC-4E53867BD160/ASSETS/GRAPHIC/13TTU1.GIF>. Acesso em: 25 abr. 2024.

SEPULVEDA, D. E.; MORRIS, D. P.; RAUP-KONSAVAGE, W. M.; SUN, D.; VRANA, K. E.; GRAZIANE, N. M. Cannabigerol (CBG) attenuates mechanical hypersensitivity elicited by chemotherapy-induced peripheral neuropathy. *European Journal of Pain*, v. 26, n. 9, p. 1950–1966, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/EJP.2016>. Acesso em: 21 maio 2024.

SHIN, H. J.; NA, H. S.; DO, S. H. Magnesium and Pain. *Nutrients*, v. 12, n. 8, p. 1–13, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/NU12082184>. Acesso em: 13 maio 2024.

SMITH, J.; BROWN, L. The effects of CBG on neuropathic pain. *Journal of Pain Research*, v. 12, n. 3, p. 145-155, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.2337/cd24-a002>. Acesso em: 21 maio 2024.

SODERSTROM, K.; SOLIMAN, E.; DROSS, R. VAN. Cannabinoids Modulate Neuronal Activity and Cancer by CB1 and CB2 Receptor-Independent Mechanisms. *Frontiers in Pharmacology*, v. 8, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/FPHAR.2017.00720>. Acesso em: 23 jun. 2024.

SVÍŽENSKÁ, I.; DUBOVÝ, P.; ŠULCOVÁ, A. Cannabinoid receptors 1 and 2 (CB1 and CB2), their distribution, ligands and functional involvement in nervous system structures — A short review. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, v. 90, n. 4, p. 501–511, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.PBB.2008.05.010>. Acesso em: 23 jun. 2024.

URITS, I.; JUNG, J. W.; AMGALAN, A.; FORTIER, L.; ANYA, A.; WESP, B.; ORHURHU, V.; MCORNETT, E.; KAYE, A. D.; IMANI, F.; VARRASSI, G.; LIU, H.; VISWANATH, O. Utilization of Magnesium for the Treatment of Chronic Pain. *Anesthesiology and Pain Medicine*, v. 11, n. 1, p. 1–10, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.5812/AAPM.112348>. Acesso em: 13 maio 2024.

WANG, Q.; YE, Y.; YANG, L.; XIAO, L.; LIU, J.; ZHANG, W.; DU, G. Painful diabetic neuropathy: The role of ion channels. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, v. 173, p. 116417, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.BIOPHA.2024.116417>. Acesso em: 29 abr. 2024.

WEN, Y.; WANG, Z.; ZHANG, R.; ZHU, Y.; LIN, G.; LI, R.; ZHANG, J. The antinociceptive activity and mechanism of action of cannabigerol. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, v. 158, p. 114163, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.BIOPHA.2022.114163>. Acesso em: 21 jun. 2024.

XUE, T.; MA, R. H.; XU, C.; SUN, B.; YAN, D. F.; LIU, X. M.; GAO, D.; LI, Z. H.; GAO, Y.; WANG, C. Z. The endocannabinoid system is involved in the anxiety-like behavior induced by dual-frequency 2.65/0.8 GHz electromagnetic radiation in mice. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, v. 17, p. 1366855, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/FNMOL.2024.1366855/FULL>. Acesso em: 16 maio 2024.